

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

Czech Journal of
ANIMAL SCIENCE

ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

3

VOLUME 45
PRAGUE
MARCH 2000
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. Josef Bulla, DrSc. (Výzkumný ústav živočišné 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)

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)

Dr. Yves Nys (Station de Recherches Avicoles, Centre de Tours, Nouzilly, France)

Ing. Ján Poltársky, DrSc. (Výzkumný ústav živočišné výroby, Nitra, SR)

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

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

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

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Marie Černá, CSc.

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

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

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 45 appearing in 2000.

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: cerna@uzpi.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 2000 is 195 USD (Europe), 214 USD (overseas).

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

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

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 45 vychází v roce 2000.

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: cerna@uzpi.cz.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslané na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 2000 je 816 Kč.

Actual information are available at URL address: <http://www.uzpi.cz>.

Aktuální informace najdete na URL adrese: <http://www.uzpi.cz>.

INFLUENCE OF EXOGENOUS TRANSFERRIN ON CHICKEN SKELETAL MUSCLES

VLIV EXOGENNÍHO TRANSFERINU NA KOSTERNÍ SVALY KUŘAT

V. Horák¹, C. Rehfeldt², A. Stratil¹, P. Bobák¹

¹ *Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Liběchov, Czech Republic*

² *Research Institute for Biology of Farm Animals, Dummerstorf, Germany*

ABSTRACT: The effects of transferrin (Tf) were tested *in vivo* using chicken embryos as a model. Purified, iron saturated chicken serum Tf was injected intravenously at the 15th day of incubation in doses of 1 mg (TF1 group) and 5 mg/embryo (TF5 group). At the 9th day after hatching, the *pectoralis major* (P) and *sartorius* (S) muscles were histochemically analysed for fibre type composition and a mitotic activity of nuclei was evaluated by the ³H-thymidine incorporation. Mean live weight as well as mean weights of P and S were non-significantly higher in both experimental groups in comparison with control group at the 9th day of age. Proliferation of nuclei was generally low and very similar in all groups (about 1.5% in P and 0.4% in S). However, the deep muscle layer of P near the *clavicula* (composed of fast and slow fibres) exhibited a higher mean value (2.6%; $P < 0.05$) in TF1 group. In S, mean slow and fast fibre diameters were slightly larger in both experimental groups (significantly in TF1 only). Total number of slow fibres was reduced in TF1 and TF5 by approximately 450 and 850 fibres, respectively, in comparison with control group. Calculated total fibre number was the highest in TF1 and the lowest in TF5. No clear differences in mean fibre type diameters were found among groups in the superficial layer (composed of fast fibres only) and in the deep layer of P. Slow fibre type frequencies were reduced in the deep layer of P in both experimental groups in a similar manner as in S. Mentioned differences between experimental and control groups were mostly statistically non-significant due to individual variability. The obtained results, however, suggest that the exogenous Tf applied into the chicken embryo could manifest a slight myotrophic effect promoting muscle growth and changing histochemical muscle composition in post-hatching chicks. To prove or exclude this possibility further *in vivo* experiments are needed.

Key words: transferrin; chicken muscles; growth; histochemical composition

ABSTRAKT: Na kuřecích embryích byl testován účinek transferinu (Tf) *in vivo*. Purifikovaný, železem nasycený slepičí sérový Tf byl injikován intravenózně v dávce 1 mg (skupina TF1) a 5 mg na embryo (skupina TF5) 15. den inkubace. Histochemická analýza typů vláken a mitotická aktivita jader (stanovená podle inkorporace ³H-thymidinu) byly hodnoceny ve svalích *m. pectoralis major* (P) a *m. sartorius* (S) ve věku 9 dní po vylíhnutí. Průměrná živá hmotnost i průměrné hmotnosti P a S byly ve věku 9 dní neprůkazně vyšší u obou experimentálních skupin v porovnání s kontrolní skupinou. Proliferace jader byla obecně nízká a velmi podobná u všech skupin (asi 1,5 % u P a 0,4 % u S). Hluboká oblast P v blízkosti *claviculy* (složená z rychlých a pomalých vláken) však vykazovala u skupiny TF1 poněkud vyšší průměrnou hodnotu (2,6 %; $P < 0,05$). Průměrný průměr pomalých a rychlých vláken byl u S mírně větší u obou experimentálních skupin (průkazně pouze u TF1). Celkový počet pomalých vláken byl proti kontrolní skupině snížen u TF1 o 450 vláken a u TF5 o 850 vláken. Vypočtený celkový počet vláken byl nejvyšší u TF1 a nejnižší u TF5. V povrchové (tvořené pouze rychlými vláčky) ani v hluboké vrstvě P nebyly nalezeny mezi skupinami zřetelné rozdíly v průměrném průměru obou typů vláken. U obou experimentálních skupin byl podíl pomalých vláken snížen v hluboké oblasti P podobným způsobem jako u S. Vzhledem k relativně vysoké individuální variabilitě byly uvedené rozdíly mezi experimentálními a kontrolní skupinou většinou statisticky neprůkazné. Získané výsledky však přesto naznačují, že exogenní Tf aplikovaný do kuřecího embrya by mohl mít mírný myotrofní efekt, který by se u kuřat po vylíhnutí projevil podporou růstu svalů a změnou jejich histochemického složení. Pro potvrzení nebo vyloučení této možnosti jsou nutné další pokusy *in vivo*.

Klíčová slova: transferin; svaly kuřat; růst; histochemické složení

INTRODUCTION

Transferrin (Tf) is a serum glycoprotein which has an essential function in vertebrates *in vivo* to supply

cells with iron. Tf/Fe³⁺ complex (holo-Tf) is taken up via specific cell-surface receptors by endocytosis, and after release of iron apo-Tf is liberated from the cell and recycled (for review see De Jong *et al.*, 1990; Lash

and Saleem, 1995). *In vitro*, purified Tf is supplemented generally into serum-containing or serum-free medium to support growth and proliferation of cultured cells (Tormey *et al.*, 1972; Barnes and Sato, 1980; Davis, 1994). The growth-promoting activity of Tf is explained by transport of iron to cells since other iron compounds (e.g. ferric citrate, chloride, nitrate; pyridoxal isonicotinoyl hydrazone; ferrous sulphate) show similar effect (Perez-Infante and Mather, 1982; Tsao *et al.*, 1987; Damgaard *et al.*, 1993; Keenan and Clynes, 1996). However, *in vitro* studies suggest that Tf exhibits another iron-independent influence on cell growth, proliferation and viability (Tormey *et al.*, 1972; Ekblom *et al.*, 1983; Kovář and Franěk, 1989; Bruinink *et al.*, 1996).

The following results found in cultured skeletal muscle cells agree well with this suggestion. Chicken muscle cells require medium with chicken embryo extract. Its effect can be substituted by chicken serum as well as by chicken peripheral nerve extract (e.g. Ozawa and Kohama, 1973; Ozawa, 1977; Konigsberg, 1979; Markelonis and Oh, 1979; Popiela and Ellis, 1981). A factor promoting myogenesis (i.e. increasing myoblast multiplication and preventing myotube degradation) was later isolated from these sources and identified as Tf (Ozawa and Hagiwara, 1982; Ii *et al.*, 1982; Markelonis *et al.*, 1982; Beach *et al.*, 1983). A class specificity of avian and mammalian Tf was demonstrated *in vitro* using primary myogenic cells isolated from various animal species (Ozawa and Hagiwara, 1981; Beach *et al.*, 1985; Shimo-Oka *et al.*, 1986). Tf was also identified as one of the myotrophic factors in crushed mouse muscle extract which stimulate proliferation of myoblasts and satellite cells in culture (Chen and Quinn, 1992; Chen *et al.*, 1994).

Supposing the similar effect of Tf *in vivo*, its experimentally increased level would stimulate the proliferation of myoblasts during embryogenesis. Such promotion of mitotic activity of myoblasts would subsequently result in increase of skeletal muscle mass and live body weight after birth. Until now, no attempt has been made to study the myotrophic effect of Tf *in vivo*. Therefore, the objective of this study was to test it using chicken embryos as a model. We applied purified chicken serum Tf intravenously into chicken embryos and we analysed its influence on growth and histochemical composition of skeletal muscles in post-hatching chicks.

MATERIALS AND METHODS

Crude transferrin was isolated by rivanol-ammonium sulphate fractionation (Stratil and Spooner, 1971) of chicken serum. Tf in rivanol supernatant was precipitated between 2.0 and 3.0 M ammonium sulphate and was further purified on DEAE-Sephadex A-50 in 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 8.0. The holo-Tf (saturated with iron) was eluted by a linear gradient from 0 to 0.25 M NaCl. The middle part of the Tf peak was used

which consisted of two main components with one and two sialic acid residues, respectively. The isolated Tf was pure when tested on polyacrylamide gel electrophoresis and by electrospray mass spectrometry. It was lyophilized and stored at -20 °C until use.

Eggs of Leghorn breed (HISEX-line 32, the chicken farm in Dobřenice) were used in this experiment. At 15th day of incubation (when the circulation system of chicken embryos was developed sufficiently), a small hole (5 x 10 mm) was made into the shell above the embryo. The purified Tf (dissolved in physiological solution and sterilized by 0.85 µm membrane filtration) was injected into a large embryonic vena in doses of 1 mg (TF1 group) and 5 mg (TF5 group) in 0.1 ml of physiological solution per embryo. Control embryos (C group) received 0.1 ml of physiological solution. The hole was covered with paraffin and the eggs were further incubated until hatching. In each group, 25 embryos were injected from which 11, 7 and 10 chicks hatched in C, TF1 and TF5 group, respectively, and were used for following analyses.

Chicks were weighed at the 1st and 9th day of age. At the 9th day of age, ³H-thymidine (Institute for Research, Production and Application of Radioisotopes, Praha, Czech Republic) was applied intravenously in doses of 1.3 MBq per chick. Chicks were decapitated 1 h later and samples of the *pectoralis major* and *sartorius* muscles from the left body side were taken for estimation of proliferation of nuclei by autoradiography. Cryostat longitudinal muscle sections (5 µm) were covered with Ilford K5 emulsion diluted 1 : 1 with 1% glycerin, air dried at room temperature for 1 h and exposed for 2 weeks at +4 °C. Thereafter, the autoradiograms were developed, muscle sections were counterstained with Harris haematoxylin and 1% eosin and embedded in glycerol jelly. Nuclei with at least 5 grains and more were considered as labelled and proliferating. Percentage of labelled nuclei was estimated in the superficial and deep areas of *pectoralis* muscle and in the deep area of *sartorius* muscle. At least 1 000 nuclei in each muscle area were evaluated.

Whole *pectoralis* and *sartorius* muscles from the right body side were weighed. Small samples (taken through whole muscle thickness of the *pectoralis* muscle near to the *clavicula* and in the middle of muscle belly of the *sartorius* muscle) were frozen in liquid nitrogen. Cryostat cross-sections (8 µm) were stained histochemically for demonstration of the myofibrillar (actomyosin) ATPase activity after acid preincubation at pH 4.2 (Guth and Samaha, 1970). Photos were taken from the stained muscle sections and fibre type frequencies were ascertained in the deep areas of *pectoralis* and *sartorius*. Fibre type diameters were measured according to Brooke and Engel (1969) in the superficial and deep areas of *pectoralis* muscle and in the deep area of *sartorius* muscle. For fibre type frequencies and diameters at least 600 and 200 fibres were evaluated, respectively. Moreover, the following characteristics of *sartorius* muscle were ascertained: (a) whole muscle

cross-section area (CSA) measured by planimetry of the projected microscopic image; (b) muscle CSA occupied by slow fibres calculated multiplying the total number of slow fibres by the mean slow fibre CSA (estimated on the basis of mean slow fibre diameter); (c) total number of slow fibres counted on whole muscle cross-section; (d) total fibre number calculated dividing the whole muscle CSA by mean fibre CSA.

Mean values of analysed parameters ascertained in the TF1, TF5 and C groups were statistically compared using the Student's *t*-test. Significance of differences is concluded for $P < 0.05$.

RESULTS

Effect of Tf on live weight and skeletal muscle weights

Mean live weight (Table 1) was approximately 36 g at the 1st day after hatching without any clear difference among individual groups. At the 9th day of age, however, mean live weight was higher in TF1 and TF5 groups by 9.4% and 8.1%, respectively, in comparison with C group.

Two skeletal muscles – the *pectoralis major* and *sartorius* – were chosen for analysis after Tf treatment since they differ in course of their growth after hatching (Hikami and Mizuno, 1965) and in histochemical composition (Suzuki, 1972; Barnard *et al.*, 1982). In agreement with the above described differences in mean live weights, the mean weights of these skeletal muscles were also higher in both experimental groups at the 9th day of age. Due to individual variability in skeletal muscle weights and live weights in each group, however, the observed differences between experimental and control groups were mostly statistically non-significant (see Table 1).

Fibre type composition of skeletal muscles

Muscle fibres of chick skeletal muscles at the 9th day of age were classified into two main types on the basis of myofibrillar ATPase (m-ATPase) activity after acid preincubation at pH 4.2. The acid preincubation reverses the m-ATPase activity of fibre types. Thus, the slow (type I) and fast (type II) fibres showed dark and light staining, respectively. The *pectoralis* muscle was almost exclusively composed of fast fibres with the exception of the deepest area at the clavícula where

a mixture of both fibre types was found. The *sartorius* muscle exhibited very uneven distribution of both fibre types. The superficial region consisted of fast fibres only. Down into the depth of the muscle, frequency of slow fibres increased gradually.

Influence of Tf on histochemical composition of the *sartorius* muscle

The deep region of *sartorius* muscle with the highest percentage of slow fibres was selected for histochemical and autoradiographic analyses. Approximately 20% of slow fibres and 80% of fast fibres were found in this muscle area showing non-significantly lower proportion of slow fibres in TF1 and TF5 groups (Fig. 1A). A similar tendency was observed in the total number of slow fibres (counted on whole muscle cross-section) which was reduced in TF1 and TF5 groups by approximately 450 and 850 fibres, respectively, in comparison with C group (Fig. 1D). Generally, slow fibres exhibited a smaller mean diameter than fast fibres in all groups. Both experimental groups showed higher mean slow and fast fibre diameters in comparison with C group. These differences were statistically significant in TF1 group only (Fig. 1B). Proliferation of nuclei was very low and similar in all three groups. Labelled nuclei represented approximately 0.4% of the total number of nuclei only.

Whole muscle CSA revealed non-significant differences among groups (about 5.7 mm²) but a tendency to slightly higher values in both experimental groups was observed (Fig. 1C). Calculated CSA occupied by slow fibres represented in all groups a very stable portion of the whole CSA (C – 11.4%, TF1 – 11.5%, TF5 – 10.7%). Calculated total fibre number was increased in TF1 group by about 1600 fibres and reduced in TF5 group by about 960 fibres in comparison with C group but these differences were statistically non-significant (Fig. 1D).

Influence of Tf on histochemical composition of the *pectoralis major* muscle

Fibre type proportion was estimated in the deep muscle area near the *clavícula*. This muscle area is composed of both slow and fast fibres. As in the *sartorius* muscle, slightly lower values (statistically non-significant) in frequency of slow fibres were observed in both experimental groups in comparison with

Table 1. Influence of transferrin on live weight and skeletal muscle weights

Group	Number of chicken (<i>n</i>)	Live weight (g)		<i>Pectoralis</i> muscle (mg)	<i>Sartorius</i> muscle (mg)
		1 day	9 days	9 days	9 days
C	11	36.3 ± 2.2	52.1 ± 6.0	875 ± 223	98 ± 14
TF 1	7	37.4 ± 1.8	57.0 ± 5.2	1 110* ± 204	109 ± 15
TF 5	10	36.2 ± 2.2	56.3 ± 8.0	1 025 ± 304	112* ± 17

Values are expressed as mean weights s.d. (* $P < 0.05$)

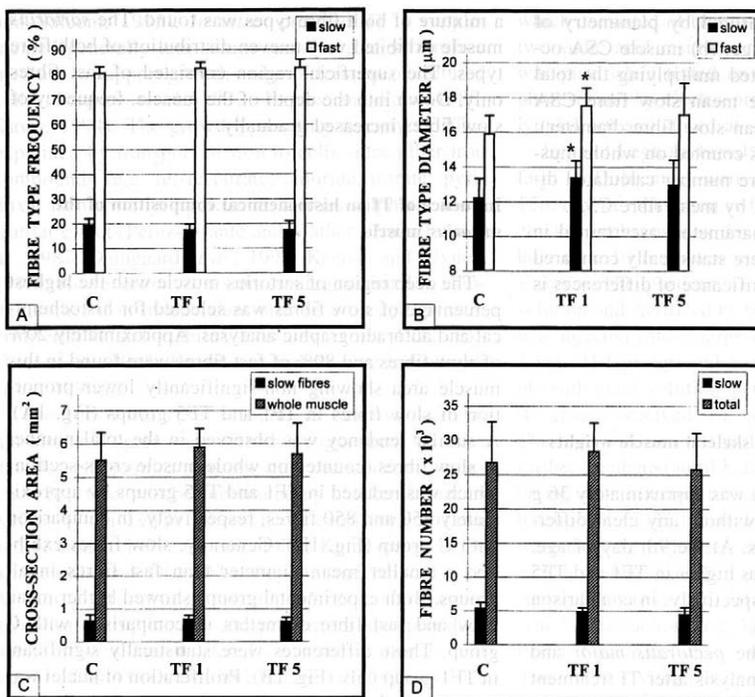


Fig. 1. Influence of transferrin on composition of the *sartorius* muscle at the 9th day of age. Slow and fast fibre type frequencies (A) and diameters (B) in deep muscle area (with the highest slow fibre percentage); whole muscle cross-section area and area occupied by slow fibres (C) and total fibre number and number of slow fibres (D) in the middle of muscle belly ($P < 0.05$).

C group (Fig. 2A). Mean fibre type diameters were very similar without any clear differences among groups, muscle areas or fibre types (Fig. 2B). Generally, fibre type diameters showed higher values in comparison with those of *sartorius* muscle. Autoradiography revealed relatively low and roughly the same proliferation of nuclei in all three groups (approximately 1.5%). However, the deep muscle area (with fast and slow fibres) in TF1 group showed significantly higher mean value (2.6%) (Fig. 2C).

DISCUSSION

Myoblasts show a high proliferative activity during early embryogenesis. As soon as they start to synthesize muscle specific proteins they are irreversibly withdrawn from the cell cycle thus gradually decreasing the proliferating portion of myogenic cell population in fetal skeletal muscles. The post-mitotic myoblasts are able to fuse forming multinuclear myotubes. They develop successively into muscle fibres. Formation of new muscle fibres ceases generally at the end of fetal life and their differentiation and maturation take place mainly after birth (Rowe and Goldspink, 1969; Swatland, 1973; Goldspink and Ward, 1979; Ontell, 1979; Snow, 1981; Rehfeldt *et al.*, 1987; Timson and Dudenhofer, 1990). An increase of the total fibre number was found, however, in some skeletal muscles of the rat (Chiakulas and Pauly, 1965; Rayne and Crawford, 1975; Schmalbruch, 1990) and mouse (Rehfeldt *et al.*,

1987) shortly after birth suggesting differences among skeletal muscles.

In chicken muscles, rapid formation of myotubes was found from 11 to 18 days of incubation followed by subsequent muscle fibre formation (Marchok and Herrmann, 1967). Total number of muscle fibres increased in the *pectoralis major* muscle during the first 4–6 weeks after hatching whereas it was not changed in the *sartorius* muscle (Hikami and Mizuno, 1965). For these reasons, we applied exogenous Tf at the 15th day of incubation when it could promote myoblast proliferation and formation of new fibres in both skeletal muscles studied.

Data about synthesis of Tf in chicken are very limited. In addition to the liver, chicken oviduct synthesizes ovotransferrin (conalbumin), an iron-binding glycoprotein, of the egg white. Both transferrin and ovotransferrin are products of the same gene and they differ in carbohydrate parts only (Lee *et al.*, 1978; McKnight and Palmiter, 1979). More details about Tf expression in embryonal chicken skeletal muscles or other embryonal tissues are not known up to now. Due to this situation and the finding that Tf influenced myoblast proliferation *in vitro* in a dose-dependent manner (Popiela, 1978; Popiela *et al.*, 1982) we tested in our experiment two empirically chosen Tf concentrations – 1 mg (TF1 group) and 5 mg of Tf/embryo (TF5 group). Since it was demonstrated *in vitro* that holo-Tf stimulated proliferation of the L6 myoblast line whereas apo-Tf showed no effect (Byatt *et al.*, 1990) we used Tf saturated with iron.

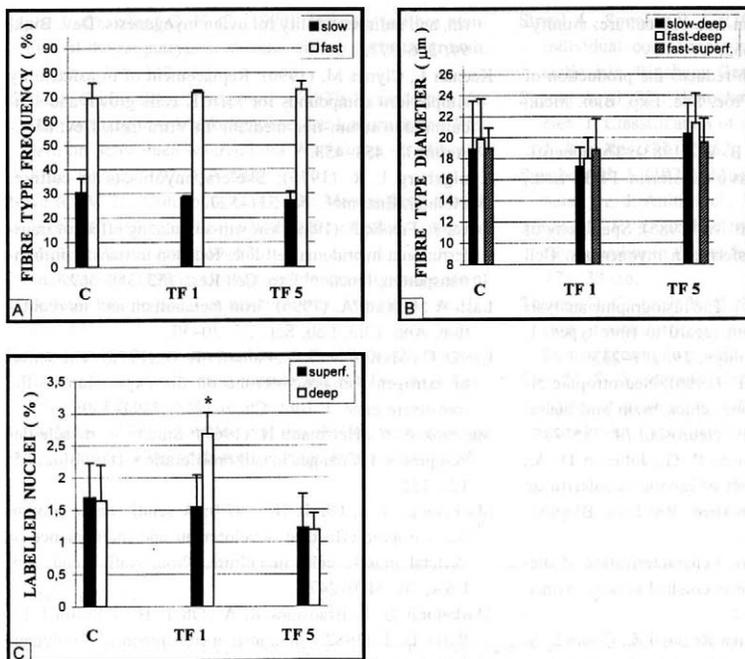


Fig. 2. Influence of transferrin on composition of the *pectoralis major* muscle at the 9th day of age. Slow and fast fibre type muscle area (near to the *clavicula*) which is formed by both fibre types (A); fibre type diameters (B) and proliferation of nuclei (C) in superficial (composed of fast fibres only) and deep muscle area ($P < 0.05$)

The main prerequisite to obtain any effect of exogenous Tf is a sufficient number of cell surface Tf-receptors (Tf-R). Baynes (1995) demonstrated that Tf-R expression *in vitro* was decreased by diferric transferrin in culture medium in a dose-dependent manner. In addition, higher iron status of an animal reduced Tf synthesis as well as the number of cell membrane Tf-R. In adult rat liver, iron deficiency induced transcriptional activity of the Tf gene whereas iron overloading reduced Tf mRNA content (Idzerda *et al.*, 1986). Induction of Tf mRNA by iron deficiency was reported also in chicken liver (McKnight *et al.*, 1980).

In the light of these findings and conclusions from *in vitro* experiments which showed that low Tf doses had a myotrophic effect whereas higher ones inhibited the growth of myoblasts (Popiela, 1978), we can suggest possible explanations for the relatively low effects of exogenous Tf in our experiment: (1) The higher dose of injected Tf in TF5 group increased probably the total Tf level beyond a threshold when it exerts an inhibitory effect on muscle growth. In both experimental groups, moreover, iron delivered by exogenous Tf could cause an iron overloading so that synthesis of Tf and Tf-R were down-regulated. (2) The expression of Tf-R could also be decreased directly by injected Tf. (3) Endogenous Tf level in chicken embryos is already near optimal, physiologically effective concentration for muscle growth. Thus, its experimental increase through injected exogenous Tf would not have any clear myotrophic effect. All these presumptive negative regulations could reduced the putative myogenic effect of

exogenous Tf. In addition, the differences between experimental and control groups caused by exogenous Tf were often statistically non-significant due to relatively high individual variability in the studied parameters. It would be explained by a distinct level of endogenous Tf which could exist in chicken embryos. Thus, Tf could reach an effective level after application of exogenous Tf in some chicks only.

In summary, results of this study suggest that exogenous Tf applied during embryogenesis slightly promoted growth and changed fibre type proportion (decreasing the number of slow fibres) in chick skeletal muscles shortly after hatching. Empirically chosen dose of 1 mg Tf/embryo seems to be more effective than the dose of 5 mg Tf/embryo which suggests even an inhibitory effect. To prove Tf as a putative embryonic myotrophic factor further *in vivo* experiments are needed.

Acknowledgements

The authors thank Mrs. M. Hoření for excellent technical assistance.

REFERENCES

- Barnard E. A., Lyles J. M., Pizzey J. A. (1982): Fibre types in chicken skeletal muscles and their changes in muscular dystrophy. *J. Physiol.*, 331: 333-354.

- Barnes D., Sato G. (1980): Serum-free cell culture: a unifying approach. *Cell*, 22: 649–655.
- Baynes R. D. (1995): Transferrin reduces the production of soluble transferrin receptor. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 209: 286–294.
- Beach R. L., Popiela H., Festoff B. W. (1983): The identification of neurotrophic factor as a transferrin. *FEBS Lett.*, 156: 151–156.
- Beach R. L., Popiela H., Festoff B. W. (1985): Specificity of chicken and mammalian transferrin in myogenesis. *Cell Different.*, 16: 93–100.
- Brooke M. H., Engel W. K. (1969): The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fibre types. I. Adult male and female. *Neurology*, 19: 221–233.
- Bruninink A., Sidler C., Birchler F. (1996): Neurotrophic effect of transferrin on embryonic chick brain and neural retinal cell cultures. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 14: 785–795.
- Byatt J. C., Schmuke J. J., Comens P. G., Johnson D. A., Collier R. J. (1990): The effect of bovine lactoferrin on muscle growth *in vivo* and *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 173: 548–553.
- Chen G., Quinn L. S. (1992): Partial characterization of skeletal myoblast mitogens in mouse crushed muscle extract. *J. Cell. Physiol.*, 153: 563–574.
- Chen G., Birnbaum R. S., Yablonka-Reuveni Z., Quinn L. S. (1994): Separation of mouse crushed muscle extract into distinct mitogenic activities by heparin affinity chromatography. *J. Cell. Physiol.*, 160: 563–572.
- Chiakulas J. J., Pauly J. E. (1965): A study of postnatal growth of skeletal muscle in the rat. *Anat. Record*, 152: 55–61.
- Damgaard B., Sanfeliu A., Cairo J. J., Casas C., Sola C., Godia F. (1993): Substitution of transferrin by FeCl₃ in the development of a low foetal calf serum concentration medium for KB-26.5 hybridoma cell line. *Cytotechnology*, 13: 133–141.
- Davis J. M. (1994): *Basic Cell Culture. A Practical Approach*. New York, Oxford Univ. Press.
- De Jong G., van Dijk J. P., van Eijk H. G. (1990): The biology of transferrin. *Clin. Chim. Acta*, 190: 1–46.
- Ekblom P., Thesleff I., Saxén L., Miettinen A., Timpl R. (1983): Transferrin as a fetal growth factor: Acquisition of responsiveness related to embryonic induction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 2651–2655.
- Goldspink G., Ward P. S. (1979): Changes in rodent muscle fibre types during post-natal growth, undernutrition and exercise. *J. Physiol.*, 296: 453–469.
- Guth L., Samaha F. J. (1970): Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp. Neurol.*, 28: 365–367.
- Hikami Y., Mizuno T. (1965): The effect of growth on the cell diameter, cell number and nucleic acid content of the skeletal muscles of chicks. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 36: 384–390.
- Idzerda R. L., Huebers H., Finch C. A., McKnight G. S. (1986): Rat transferrin gene expression: Tissue-specific regulation by iron deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83: 3723–3727.
- Ii I., Kimura I., Ozawa E. (1982): A myotrophic protein from chick embryo extract: Its purification, identity to transferrin, and indispensability for avian myogenesis. *Dev. Biol.*, 94: 366–377.
- Keenan J., Clynes M. (1996): Replacement of transferrin by simple iron compounds for MDCK cells grown and subcultured in serum-free medium. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Anim.*, 32: 451–453.
- Konigsberg I. R. (1979): Skeletal myoblasts in culture. *Method. Enzymol.*, 58: 511–527.
- Kovář J., Franěk F. (1989): Growth-stimulating effect of transferrin on a hybridoma cell line: Relation to transferrin iron-transporting function. *Exp. Cell Res.*, 182: 358–369.
- Lash A., Saleem A. (1995): Iron metabolism and its regulation. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 25: 20–30.
- Lee D. C., McKnight G. S., Palmiter R. D. (1978): The action of estrogen and progesterone on the expression of the transferrin gene. *J. Biol. Chem.*, 253: 3494–3503.
- Marchok A. C., Herrmann H. (1967): Studies of muscle development: I. Changes in cell proliferation. *Dev. Biol.*, 15: 129–155.
- Markelonis G. J., Oh T. H. (1979): A sciatic nerve protein has a trophic effect on development and maintenance of skeletal muscle cells in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76: 2470–2474.
- Markelonis G. J., Bradshaw R. A., Oh T. H., Johnson J. L., Bates O. J. (1982): Sciatin is a transferrin-like polypeptide. *J. Neurochem.*, 39: 315–320.
- McKnight G. S., Palmiter R. D. (1979): Transcriptional regulation of the ovalbumin and conalbumin genes by steroid hormones in chick oviduct. *J. Biol. Chem.*, 254: 9050–9058.
- McKnight G. S., Lee D. C., Palmiter R. D. (1980): Transferrin gene expression: regulation of RNA transcription in chick liver by steroid hormones and iron deficiency. *J. Biol. Chem.*, 255: 144–147.
- Ontell M. (1979): The source of “new” muscle fibers in neonatal muscle. In: Mauro A. (ed.): *Muscle Regeneration*. New York, Raven Press: 137–146.
- Ozawa E. (1977): Trophic effects on chick muscle cells of a factor promoting chick myoblast multiplication. *Proc. Jap. Acad.*, 53: 130–132.
- Ozawa E., Hagiwara Y. (1981): Avian and mammalian transferrins are required for chick and rat myogenic cell growth *in vitro*, respectively. *Proc. Jap. Acad.*, 7: 406–409.
- Ozawa E., Hagiwara Y. (1982) Degeneration of large myotubes following removal of transferrin from culture medium. *Biomed. Res.*, 3: 16–23.
- Ozawa E., Kohama K. (1973): Partial purification of a factor promoting chicken myoblast multiplication *in vitro*. *Proc. Jap. Acad.*, 49: 852–856.
- Perez-Infante V., Mather J. P. (1982): The role of transferrin in the growth of testicular cell lines in serum-free medium. *Exp. Cell Res.*, 142: 325–332.
- Popiela H. (1978): Trophic effects of adult peripheral nerve extract on muscle cell growth and differentiation *in vitro*. *Exp. Neurol.*, 62: 405–416.
- Popiela H., Ellis S. (1981): Neurotrophic factor: characterization and partial purification. *Dev. Biol.*, 83: 266–277.
- Popiela H., Ellis S., Festoff B. W. (1982): Dose dependent initiation of myogenesis by neurotrophic factor. *J. Neurosci. Res.*, 8: 547–567.

- Rayne J., Crawford G. N. C. (1975): Increase in fibre numbers of the rat pterygoid muscles during postnatal growth. *J. Anat.*, *119*: 347–357.
- Rehfeldt C., Fiedler I., Wegner J. (1987): Veränderung der Mikrostruktur des Muskelgewebes bei Labormäusen, Rindern und Schweinen während des Wachstums. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, *101*: 669–680.
- Rowe R. W. D., Goldspink G. (1969): Muscle fibre growth in five different muscles in both sexes of mice. I. Normal Mice. *J. Anat.*, *104*: 519–530.
- Schmalbruch H. (1990): Growth and denervation response of skeletal muscle fibers of newborn rats. *Muscle Nerve*, *13*: 421–432.
- Shimo-Oka, T., Hagiwara Y., Ozawa E. (1986): Class specificity of transferrin as a muscle trophic factor. *J. Cell. Physiol.*, *126*: 341–351.
- Snow M. H. (1981): Satellite cell distribution within the soleus muscle of the adult mouse. *Anat. Rec.*, *201*: 463–469.
- Stratil A., Spooner R. L. (1971): Isolation and properties of individual components of cattle transferrin: the role of sialic acid. *Biochem. Genet.*, *5*: 347–365.
- Suzuki A. (1972): Histochemistry of chicken skeletal muscles. I. Classification of individual muscle fibers. *Tohoku J. Agr. Res.*, *23*: 45–52.
- Swatland H. J. (1973): Muscle growth in the fetal and neonatal pig. *J. Anim. Sci.*, *37*: 536–545.
- Timson B. F., Dudenhoefter G. A. (1990): Skeletal muscle fibre number in the rat from youth to adulthood. *J. Anat.*, *173*: 33–36.
- Tormey D. C., Imrie R. C., Mueller G. C. (1972): Identification of transferrin as a lymphocyte growth promoter in human serum. *Exp. Cell Res.*, *74*: 163–169.
- Tsao M. S., Sanders G. H. S., Grisham J. W. (1987): Regulation of growth of cultured hepatic epithelial cells by transferrin. *Exp. Cell Res.*, *171*: 52–62.

Received for publication on June 29, 1999

Accepted for publication on September 27, 1999

Contact Address:

RNDr. Vratislav Horák, CSc., Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, 277 21 Liběchov, Česká republika, tel.: 0206/69 70 24, fax: 0206/69 71 86, e-mail: horakv@iapg.cas.cz

Upozornění pro autory vědeckých časopisů

Z důvodu rychlejšího a kvalitnějšího zpracování grafických příloh (grafů, schémat apod.) příspěvků zasílaných do redakce Vás žádáme o jejich dodání kromě tištěné formy i na disketách.

Pérovky mohou být zpracovány jako předloha pro skenování nebo mohou být dodány též jako bitmapa ve formátu ***.TIF** (600 DPI). Pro skenování by grafy neměly obsahovat šedivé plochy. Místo šedi se mohou použít různé typy černobílého šrafování.

Jestliže jsou **grafy vytvořeny v programu EXCEL**, je potřeba je dodat uložené v tomto programu (nestačí grafy naimportované do programu WORD).

Obrázky **nezasílejte** ve formátu **Harvard Graphics**, nýbrž vyexportované do některého z výše uvedených formátů.

MELATONIN LEVEL IN GUPPY (*POECILIA RETICULATA* – *OSTEIICTHYES, POECILIIDAE*)

OBSAH MELATONINU U ŽIVORODKY DUHOVÉ (*POECILIA RETICULATA* – *OSTEIICTHYES, POECILIIDAE*)

J. Rajchard¹, I. Hájek², M. Šerý³

¹ University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, Department of Ecology, České Budějovice, Czech Republic

² Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

³ University of South Bohemia, Pedagogical Faculty, Department of Physics, České Budějovice, Czech Republic

ABSTRACT: The aim of this study was to monitor the melatonin level in guppy (*Poecilia reticulata*) under different light conditions: LD 12:12, 16:8, 20:4 (L: 1.00–21.00 and 13.00–9.00 respectively), LL and DD. Melatonin level was detected by radioimmunoanalysis (RIA). Comparison between both sexes and three lines including the original ("wild") form of the used species was accomplished. An average number of 90 adult individuals of both sexes (line A and B together) and 30 embryos were used in each experiment. Fish of original form (Wild) were used in one experiment only. Their number was 84 individuals. For comparison of melatonin levels in brain, eyes and intestine a group of 70 individuals was used. A typical daily melatonin production curve was found in this species under light conditions LD 12:12. All other modifications of daily cycle light conditions caused a destruction of the melatonin level course. Melatonin levels in an aquarium line of standard color (A) under light conditions of LD 12:12 were significantly higher ($P < 0.05$) than those of melanistic line (B). In all other cases no significant differences in melatonin level values between the lines were found. A statistically significant ($P < 0.05$) difference between both sexes (higher in females) was found in LL (permanent light) conditions only. Melatonin levels were also detectable in guppy embryos. Positive correlations between melatonin levels in brain, eyes and gastrointestinal tract (GIT) were found.

Keywords: guppy (*Poecilia reticulata*); melatonin; light conditions

ABSTRAKT: Cílem práce bylo studium produkce melatoninu u živorodky duhové (*Poecilia reticulata*) ve světelných podmínkách LD 12:12, 16:8, 20:4 (L: 1.00–21.00, resp. 13.00–9.00), LL (trvalé osvětlení) a DD (trvalá tma). K experimentům byly použity tři linie této ryby: původní („divoká“) forma pocházející z Venezuely a dvě akvarijní linie, získané záměrným dlouhodobým výběrem potomstva jediné páry. Tyto dvě linie se vzájemně lišily stupněm pigmentace. Linie označovaná jako A (standard) měla zbarvení blízké přirozenému, druhá (označovaná jako B) byla melanistická. Průměrný počet jedinců obou pohlaví a linií v jednom pokusu byl 90, embryí 30. Porovnání obsahu melatoninu v mozku, očích a střevě bylo provedeno u skupiny 70 jedinců. Hladina melatoninu byla stanovena radioimunoanalýzou (RIA) po předchozím vytřepání v dimethylchloridu. Melatonin byl detekován v mozku a očích, u vybraného souboru jedinců zvláště v mozku, očích a střevě pro vzájemné porovnání hladiny tohoto hormonu. Charakteristická křivka průběhu produkce melatoninu s výrazným maximem ve skotofázi a minimem ve fotofázi byla zjištěna v podmínkách světelného režimu LD 12:12 (tj. odpovídajícímu přibližně poměru světla a tmy v oblastech přirozeného výskytu), ostatní modifikace světelného režimu způsobily její destrukci. Pouze v případě světelného režimu LD 12:12 byly nalezeny signifikantně vyšší ($P < 0,05$) hodnoty hladiny tohoto hormonu u standardně zbarvené linie A oproti melanistické linii B, ve všech ostatních případech nebyly meziliniové rozdíly statisticky průkazné. Statisticky významný ($P < 0,05$) rozdíl hladin melatoninu mezi pohlavími (ve prospěch samic) byl nalezen pouze u ryb vystavených trvalému osvětlení. Melatonin byl detekovatelný i u embryí. Mezi hodnotami obsahu melatoninu v mozku, očích a střevě byla nalezena pozitivní korelace.

Klíčová slova: živorodka duhová (*Poecilia reticulata*); melatonin; světelné podmínky

INTRODUCTION

Guppy (*Poecilia reticulata*) is a highly variable species of the *Poeciliidae* family. The large area of distribution of this species and its considerable adaptability to various environmental conditions resulted in morphologically different natural populations, and many domestic lines. As environmental conditions may influence growth and reproduction characteristics, results of such studies can be compared only under controlled conditions (e.g. water temperature, food composition and availability).

Melatonin is one of the signals produced by the pineal organ of vertebrates. This hormone is involved, as an internal timer (in original terminology often referred to as "Zeitgeber") in the control of various circadian and seasonal rhythms. In all vertebrates investigated so far, the LD cycle is the principal environmental factor controlling melatonin secretion. Melatonin biosynthesis is low during daytime and high during nighttime (Illnerová, 1995; Illnerová and Sumová, 1997).

In lower vertebrate pineals, biosynthesis takes place in photoreceptor cells. Their structure and function are analogous to retinal photoreceptors. The afferent nerves bring the light information from the epiphysis to sensoric areas of the brain stem (Falcon and Collin, 1989).

A radioimmunoassay (RIA) for plasma melatonin was simplified for use with the common carp (*Cyprinus carpio*). Results of this study suggest that melatonin is an important hormone in photoperiodism and circadian rhythm in fish (Kezuka *et al.*, 1988). The results of epiphysis cell function study in pike (*Esox lucius*), *in vitro*, indicate that the oscillator, which is synchronized with photoperiod, directs N-acetyl transferase activities and melatonin secretion rhythms (Falcon *et al.*, 1989). Melatonin secretion from the superfused goldfish (*Carassius auratus*) pineal gland is directly photosensitive. Goldfish pineal gland harbors a circadian oscillator which generates melatonin secretion rhythms (Iigo *et al.*, 1991).

Diurnal ultrastructure changes of embryonal retinal photoreceptors in guppy (*Poecilia reticulata*) were studied by Kunz and Ennis (1983). The aim of this study was not to follow the changes of melatonin secretion, however it is interesting with respect to the used experimental fish model. Embryonal photoreceptors are sensitive to destruction of diurnal cycle. Results indicate suitability of guppy for such a study which can also be important for investigating the cause of some human diseases (retinitis pigmentosa).

The different combinations of daily light regime (LD 3:21, 8:16, 12:12, 16:8, 24:0), to which domestic and original guppy lines were exposed, did not cause any changes in the length of interval between births. Melatonin level was not investigated (Munro, 1989).

The retina has been classically regarded as a mediator between light and the central pacemaker, which is located at the suprachiasmatic nucleus of vertebrates.

Sánchez-Vázquez *et al.* (1997) examined melatonin level in plasma and eyes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Sea bass were kept at constant water temperature and salinity, and exposed to LD 12:12. Melatonin levels in plasma peaked in the middle of the dark phase, dropping after lights on. Melatonin in the eye, on the contrary, exhibited an inverse profile, with high levels during daytime and low levels at night. This suggests that melatonin in the plasma and the eye may act independently of the flexible circadian system of sea bass.

Bubenik and Pang (1997) studied melatonin secretion in gastrointestinal tract (GIT) and retina of sturgeon *Acipenser fulvescens*, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). The circadian melatonin level course in retina and gastrointestinal tract showed a similar pattern. There were marked interspecific differences in GIT melatonin levels.

MATERIAL AND METHODS

Basic characteristics of guppy (*Poecilia reticulata*)

Viviparous fish, originally widely distributed in nature in Venezuela, Guyana, Trinidad, Barbados and Northern Brazil; secondarily spread by humans to other tropical and subtropical regions. It became important for aquarium breeding and contributed to the development of aquaristics. In artificial breeding, genetic variability was a major biological prerequisite for development of many types of coloration and other morphological characteristics; for instance, changes in the shape of tail and dorsal fins, and body size. These and other qualities may be used in biological research, especially in genetics, physiology, developmental biology, and other disciplines.

Characteristics of used lines

The original (wild type) form of guppy (*Poecilia reticulata*) was imported from Caracas, Venezuela (about 1 000 m above sea level), in 1996. Two *Poecilia reticulata* lines of common origin were used for comparison to aquarium forms. These lines originated from cross-breeding of a normally colored female and a black male with elongated tail and dorsal fins. Two phenotypically different lines of the same genetic origin were obtained after approximately five years selection.

For comparison, two lines from the Department of Ecology cultures at the Faculty of Agriculture, University of South Bohemia, were used. They differ from each other in the intensity of pigmentation and were designated Standard and Black. However, both lines are of a common origin as they were obtained from a single pair by long-term cross-breeding. The line designated as Standard had the basic *Poecilia reticulata* coloration. The line designated Black was a melanistic line.

Breeding conditions

Aquaria with 30 liters of water were used for breeding. Young fish were kept in larger tanks with 80 liters of water. Their bottom was left without any substrate. Tanks were planted with loose-floating plants (*Microsorium* sp., *Vesicularia dubyana*) and pot plants (*Valisneria* sp., *Cryptocoryne* sp., *Echinodorus* sp., *Marsilea quadrifolia* and others). Only natural light was used. Water temperature was checked regularly: the average temperature was 22 °C, ranging from 21 °C to 24 °C. Tanks were aerated and those with a larger number of fish were equipped with a filter.

Fish was fed with live zooplankton. For the rest of the week, it was fed with commercial aquarium fish mixture; in winter, the diet was supplemented also frozen plankton.

Gravid females at advanced stages of gravidity were moved into "birth tanks" in order to allow newly hatched fish to safely escape from mother's reach after birth (prevention of cannibalism). As birth tanks, slanting pieces of glass with a slot were used placed into small tanks, or plastic birth cages. After birth, females were returned into their original aquarium and four weeks later, they were moved into birth tanks again.

Individual lines of fish were kept separately (prevention of possible inter-linear competition). Their population densities, expressed as numbers of individuals per aquarium space, were set as different densities might influence growth characteristics.

Biorhythm synchronization

Experimental fish were kept in aquaria with 50 liters of water. The aquaria were situated in the laboratory without natural (day) light. The intensity of artificial light on water surface in aquaria was 200 lx. Water temperature was 22–24 °C. Synchronization lasted for 21 days. Light schedules: LD 12:12 (L: 7.00–19.00), 16:8 (L: 3.00–19.00), 20:4 (L: 1.00–21.00, 13.00–9.00), LL, DD (48 hours of dark after 21 days of synchronization to natural light regime LD 12:12).

Sample collection

Tissues were sampled either in 3 hours intervals or in 4 hours intervals, in one series in 1 hour intervals, in order to find the exact time of melatonin changes. Fish were killed with carbon dioxide (CO₂) in a glass with soda-water, at the same temperature as water temperature in aquarium. After killing, fish were measured and sampled for the brainpart of head with eyes, or brain and eyes separately. When pregnant females were in samples of experimental fish, embryos were sampled for melatonin level analysis too. This procedure was carried out in a laboratory with aquaria, in the same light conditions as those of which fish were exposed instantaneously – in a dark part of daily cycle in con-

ditions of damped red light. Samples were immediately put in test-tubes and frozen at a temperature –30 °C.

It was necessary to freeze the samples immediately to prevent changes in melatonin *post mortem* level. Therefore the samples were not weighed after dissection to keep the shortest interval between fish killing and sample freezing. Fish body length was registered. No statistically significant difference between the body length and melatonin level was found, therefore the body size was not considered (fish of uniform age were used in experiments). Usually 3 individuals were in one sample. Melatonin level was calculated to one fish.

Sample preparation and melatonin level detection

Melatonin level was detected by radioimmunoanalysis (RIA) after extraction with dichloromethane, CH₂Cl₂. This method was described by Humlová (1992). Melatonin was measured by a direct radioimmunoassay (Frazer *et al.*, 1983): [³H] melatonin, specific activity 3.15 Tbv/mmol, was purchased from the Radiochemical Center (Amersham, UK). The antiserum, batch G/S 704-8483, was kindly provided by dr. J. Arendt via Stockrand Ltd., Department of Biochemistry, University of Surrey. Samples of 25 and 100 microg melatonin per assay had interassay variations of 13 and 9 %, respectively. The limit of assay detection was 6 pg for 500 microliters of sample. The value of 0 pg/ml was arbitrarily assigned to all baseline daytimes valued which were below the level of detection. Tissue extracts were dissolved in assay buffer, incubated with labelled ligand (about 10 000 cpm/tube) and antiserum (dilution 1 : 4 000) overnight. Free and bound radioactivity was separated by absorption on dextran-charcoal and centrifugation. Antibody-bound radioactivity in supernatant was measured in Bray scintillation fluid. Samples were assayed in duplicate and read against the calibration curve based on melatonin (3–100 pg/assay). This method was used on material from guppy for the first time in our experiments.

An average number of 90 adult individuals of both sexes (line A and B together) and 30 embryos were used in each experiment. Fish of line D (Wild) were used in one experiment only. Their number was 84 individuals. Mean values of melatonin level and also the standard deviation (S_d) were calculated. Single points in figures are mean values calculated from certain values of individual melatonin level. Error bars refer to the standard error (S_e) values. $S_e = S_d/\sqrt{n}$. Statistical significance was calculated on the level P : $P < 0.05$. Correlations between melatonin level values in adults and in embryos were calculated and also correlations between melatonin level values in brain, eyes and intestine. For comparison of melatonin level values in brain, eyes and intestine a group of 70 fishes was used.

RESULTS

Melatonin level under light conditions LD 12:12 (Fig. 1)

Under the basic conditions LD 12:12 (L: 6.00–18.00) melatonin level reached maximal values 2 hours after midnight. In the next hours a decrease in melatonin level was found. It continued after light phase onset. Minimal level of this hormone was detected in the afternoon. An increase at 20.00 was found, it was 2 hours after the onset of dark phase.

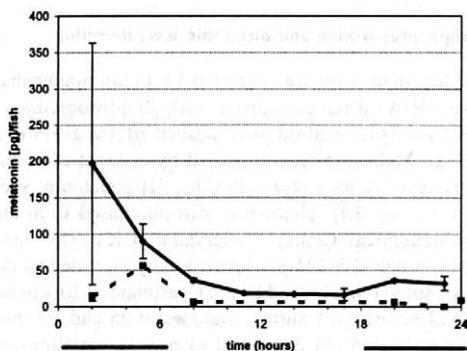


Fig. 1. Melatonin level course in guppy under light conditions LD 12:12

Legend to Figs. 1–6: — melatonin level in adults; - - - melatonin level in embryos

Line below all figures: length of scotophase

Melatonin level under LD 16:8 conditions (Fig. 2)

The adaptation to LD 16:8 (L: 3.00–19.00) caused expressive changes of the original form of melatonin level curve. Maximum level occurred at 18.00, however the peak was not as high as in controls.

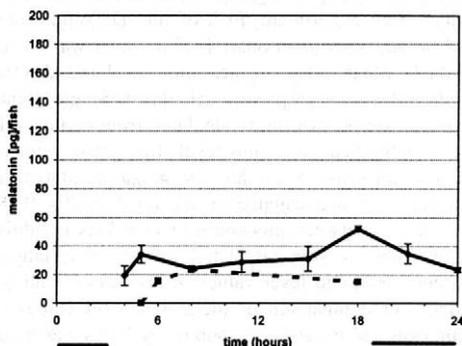


Fig. 2. Melatonin level course in guppy under light conditions LD 16:8

Melatonin level under LD 20:4 (L: 1.00–21.00) conditions (Fig. 3)

In this case very small differences between individual samplings were found and production of hormone was low in all cases, 20–40 pg only/individual.

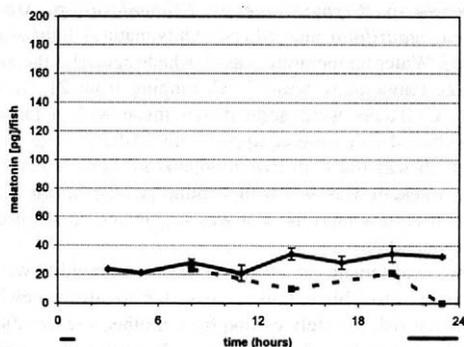


Fig. 3. Melatonin level course in guppy under light conditions LD 20:4 (L: 1.00–21.00)

Melatonin level under light conditions LL (permanent light) (Fig. 4)

This regime caused destruction of daily melatonin fluctuations as well. In Fig. 4 two peaks are evident, one about midday, the second at 19.00. It indicates that permanent light caused desynchronization of bio-rhythms.

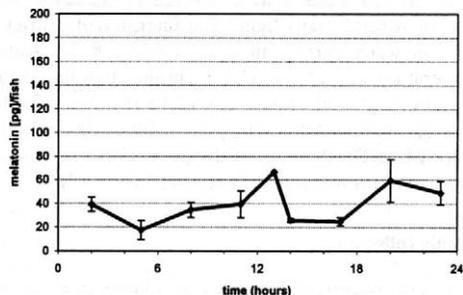


Fig. 4. Melatonin level course in guppy under light conditions LL (permanent light)

Melatonin level under LD 20:4 (L: 13.00–9.00) conditions (Fig. 5)

A decrease in melatonin level was detected in the middle of photophase in experimental individuals under these light conditions. Two small peaks in the daily cycle were found: morning and afternoon. The second

peak occurring at 14.00 and a subsequent decrease in the middle of the long subjective day suggests a possibility of exogenous light synchronization of the melatonin level biorhythm.

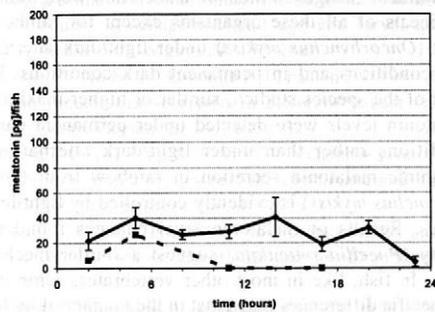


Fig. 5. Melatonin level course in guppy under light conditions LD 20:4 (L: 13.00–9.00)

Melatonin level under conditions of permanent darkness (DD) (Fig. 6)

Experimental individuals were exposed to permanent darkness for 48 hours after synchronization at LD 12:12 conditions. Guppy is a species with daylight activity, in dark they do not take food. A prolonged dark period can cause physiological disfunctions with unknown influence on the melatonin level biorhythm. In this case we found a very small increase in melatonin level in the morning and a higher one in the evening. The evening increase may be due to the synchronization from the previous light regime LD 12:12.

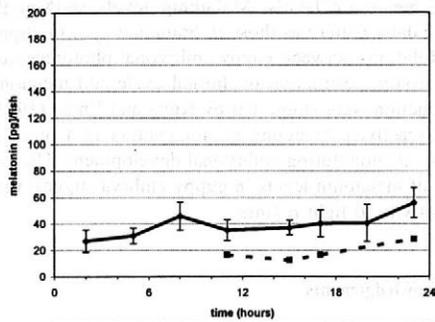


Fig. 6. Melatonin level course in guppy under light conditions DD (permanent dark)

Comparison of melatonin levels between males and females basic light regime LD 12:12 (Fig. 7)

At 2.00 melatonin levels were higher in females than in males. Generally the difference between the sexes

was not significant. No significant difference in melatonin level between males and females was found after a five day exposure to the basic light regime. A significant difference ($P < 0.05$) between the sexes was found only in melatonin levels measured in individuals of the guppy groups from Venezuela, i. e. in the wild type. In these individuals higher melatonin levels were found in females.

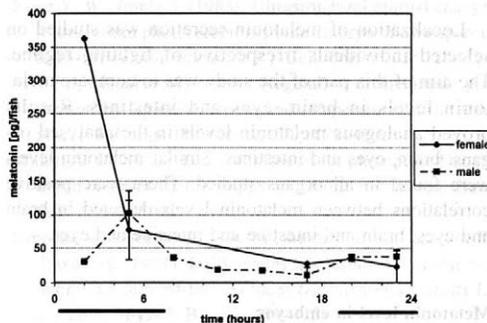


Fig. 7. Comparison of melatonin level course in males and females of guppy under light conditions LD 12:12

Differences of melatonin levels between males and females as modified by light regime

Significantly higher ($P < 0.05$) values in females than in males were found only under light conditions LL (permanent light). Melatonin level values were not significantly affected by other light regimes [(LD 16:8, 20:4 (L: 2.00–22.00), 20:4 (L: 14.00–10.00, DD)].

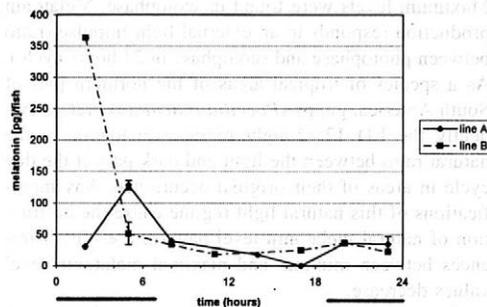


Fig. 8. Comparison of melatonin level course between guppy line A and B under light conditions LD 12:12

Comparison of melatonin levels in different guppy lines

After synchronization in the basic light regime LD 12:12, an earlier and higher onset of night maximum was found in the melanistic line (called line B). Both

lines had a well balanced course of melatonin levels in the other part of daily cycle (Fig. 8). In this case melatonin level was significantly higher ($P < 0.05$) in line A than in line B. In all other cases no significant differences in melatonin levels between the lines were found.

Localization of melatonin secretion

Localization of melatonin secretion was studied on selected individuals irrespective of lighting regime. The aim of this part of the study was to compare melatonin levels in brain, eyes and intestines. Results proved analogous melatonin levels in the analysed organs: brain, eyes and intestines. Similar melatonin levels were found in all organs studied. There were positive correlations between melatonin levels detected in brain and eyes, brain and intestine and intestine and eyes.

Melatonin level in embryos

Melatonin level in whole embryos was detectable in most samples. The time courses of this hormone levels were mostly similar like in adults, a positive correlation was found between melatonin level values in adults and embryos (Figs. 1–6).

DISCUSSION

The results of this study suggest that in this species regular melatonin level patterns exist in 24 hours cycle, similarly like in other organisms, e. g. laboratory mammals (Illnerová, 1995; Illnerová and Sumová, 1997). Maximum levels were found in scotophase. Melatonin production responds to an external light impulse (ratio between photophase and scotophase in 24 hours cycle). As a species of tropical areas of the northern part of South America, guppy (*Poecilia reticulata*) prefers evidently the LD 12:12 light regime, analogous to the natural ratio between the light and dark part of the day cycle in areas of their original occurrence. Any modifications of this natural light regime cause the destruction of natural melatonin level pattern, i. e. the differences between minimal and maximal melatonin level values decrease.

These facts correspond with the results of Iigo *et al.* (1991), who regard melatonin levels in fish as a light dependent function after studying melatonin production in *in vitro* cultured pineals of *Carassius auratus*. Similarly, Alvarino *et al.* (1993) and Max and Menacher (1992) described melatonin secretion in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a direct response to the dark period, which is not subjected to an endogenous circadian control like in other vertebrates. Analogous

results were also found in the taxonomically distant species *Zacco temminckii* (Takabatake and Iga, 1991).

Bolliet *et al.* (1996) followed pineal melatonin levels in nine freshwater and six marine fish species. Rhythmical changes in melatonin secretion were found in pineals of all these organisms except for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under light/dark alternation conditions and in permanent dark conditions. In most of the species studied, similar or higher maximal melatonin levels were detected under permanent dark conditions rather than under light/dark alternation. Rhythmic melatonin secretion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is evidently controlled by light impulses. Results of melatonin level changes found in guppy (*Poecilia reticulata*) suggest a similar mechanism. In fish, like in most other vertebrates, some interspecific differences may exist in the manner of melatonin production control. This aspect is little understood in fish so far.

No significant differences in melatonin levels were found between aquarium (domestic) lines with different pigmentation.

Results concerning localized melatonin production correspond to the data of Takabatake *et al.* (1992), who worked with *Zacco temminckii*. Different results of retinal melatonin analysis were found in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). In this species, the retina probably does not have an endocrine function (Zachman *et al.*, 1992).

Significant correlations between melatonin level in brain, eyes and gastrointestinal tract (GIT) were found in our experiments. Melatonin secretion in GIT and retina correspond to results of Bubenik and Pang (1997) in sturgeon *Acipenser fulvescens*, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). There were marked interspecific differences in GIT melatonin levels. Melatonin levels showed the same daily pattern as those in brain and eyes in guppy.

Relations between guppy embryonal photoreceptors sensitivity, destruction of diurnal cycle and melatonin production were suggested by Kunz and Ennis (1983). The reactivity of guppy photoreceptors is a proof of their function during embryonal development. The pattern of melatonin levels in guppy embryos suggest their sensitivity to light regime.

Acknowledgements

We are grateful to RNDr. Helena Illnerová, DrSc., from the Institute of Physiology of the Academy of Sciences in Prague, Prof. RNDr. František Sehnal, DrSc., the director of the Institute of Entomology, Academy of Sciences, in České Budějovice, who made laboratory procedures and analysis possible, and Mr. Milan Klicpera from Institute of Physiology for RIA analyses of melatonin levels.

REFERENCES

- Alvarino J. M. R., Randall C. F., Bromage N. R. (1993): Effects of skeleton photoperiods on melatonin secretion in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Broodstock-management-and egg and larval quality. *Aquacult. Fish. Mgmt*, 24: 157–162.
- Bolliet V., Ali M. A., Lapointe F. J., Falcon J. (1996): Rhythmic melatonin secretion in different teleost species. *J. Comp. Physiol. B*, 165: 677–683.
- Bubenik G. A., Pang S. F. (1997): Melatonin levels in the gastrointestinal tissues of fish, amphibians and reptiles. *Gen. Comp. Endocr.*, 106, 415–419.
- Falcon J., Collin J. P. (1989): Photoreceptors in the pineal of lower vertebrates: Functional aspects. *Experientia*, 45: 909–913.
- Falcon, J., Marmillon J. B., Claustrat B., Collin J. P. (1989): Regulation of melatonin secretion in a photoreceptive pineal organ: An *in vitro* study in the pike. *J. Neurosci.*, 9: 1943–1950.
- Frazer S., Cowen P., Franklin M. (1983): Direct radioimmunoassay for melatonin in plasma. *Clin. Chem.*, 29: 396–401.
- Humlová M. (1992): Characterization of the circadian pacemaker directing the rhythm of melatonin production on different photoperiods. [PhD Thesis.] Prague. – Academy of Sciences of the Czech Republic.
- Iigo M., Kezuka H., Aida K., Hanyu I. (1991): Circadian rhythm of melatonin secretion from superfused goldfish (*Carassius auratus*) pineal glands *in vitro*. *Gen. Comp. Endocr.*, 83: 152–158.
- Illnerová H. (1995): Chronobiologie. In: Pokroky v neurověděch. Praha, Charles University.
- Illnerová H., Sumová A. (1997): Photic entrainment of the mammalian rhythm in melatonin production. *J. Biol. Rhythm*, 12: 547–555.
- Kezuka H., Furukawa K., Aida K., Hanyu I. (1988): Daily cycles in plasma melatonin levels under long or short photoperiod in the common carp, *Cyprinus carpio*. *Gen. Comp. Endocr.*, 72: 296–302.
- Kunz Y. W., Ennis S. (1983): Ultrastructural diurnal changes of the retinal photoreceptors in the embryo of a viviparous teleost (*Poecilia reticulata* P.). *Cell. Differ.*, 13: 115–124.
- Max M., Menaker M. (1992): Regulation of melatonin production by lights, darkness and temperature in the trout pineal. *J. Comp. Physiol. A*, 170: 479–489.
- Munro A. D. (1989): Lack of influence of photoperiod on the brood interval of the guppy (*Poecilia reticulata*). *Zool. Sci.*, 6: 191–194.
- Sánchez-Vázquez F. J., Iigo M., Madrid J. A., Zamora S., Tabata M. (1997): Daily cycles in plasma and ocular melatonin in demand-fed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.. *J. Comp. Physiol. B*, 167: 409–415.
- Takabatake I., Iga T. (1991): The dependence of pineal melatonin synthesis on light and temperature in the teleost, *Zacco temminckii*. *Zool. Sci.*, 8: 1173.

Received for publication on June 23, 1999

Accepted for publication on September 27, 1999

Contact Address:

RNDr. Ing. Josef Rajchard, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, katedra ekologie, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Česká republika, e-mail: rajchard@zf.jcu.cz

Oznamujeme čtenářům a autorům našeho časopisu,

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

Česká zemědělská univerzita v Praze

časopis

SCIENTIA AGRICULTURAE BOHEMICA

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

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

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

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

UTILIZÁCIA DUSÍKA PRI SKRMOVANÍ ZMESÍ S RÔZNYM OBSAHOM DUSÍKATÝCH LÁTKOK OŠÍPANÝM

NITROGEN UTILIZATION FROM FEED MIXTURES WITH DIFFERENT PROTEIN CONTENTS FOR PIGS

R. Gálik, P. Milly

Slovak University of Agriculture, Faculty of Agronomy, Nitra, Slovak Republic

ABSTRACT: Three metabolic trials (MT) were conducted on 9 barrows of four-breed pig hybrid /♀ (LW x L) x ♂ (Du x Pn)/ at average live weights of 44, 58 and 70 kg. The animals were divided into three experimental groups (EG I, II and III); EG I received feed mixture containing grain coarse meals (74%), wheat bran (5%), peas (6%), alfalfa meal (3.7%), soybean meal (6.5%), meat and bone meal (2.5%) and supplements (0.3% feeding salt, 1% MKP-4, 1% PX P1). The proportions of soybean meal in EG II and III were increased by 4% in either case (as a wheat coarse meal replacement); it provided for increases in protein and lysine contents as well as in lysine/ME_O indicator in g/MJ. In agreement with the metabolic trials, dietary protein contents ranged from 163.6 to 173.0 in EG I, 170.4–183.7 in EG II and 181.2–197.6 g/kg dry matter in EG III. Lysine contents were 7.7–8.2, 8.7–8.8 and 9.5–10.2 g, threonine contents 4.8–6.2, 5.5–6.5 and 5.7–6.9 g/kg dry matter for the same group order. The respective lysine to threonine ratios were 1 : 0.62–0.75, 1 : 0.63–0.74 and 1 : 0.58–0.73. Lysine per MJ of metabolizable energy amounted to 0.60–0.64 g in EG I, 0.68–0.69 g in EG II and 0.74–0.80 g in EG III. The highest, and roughly identical nitrogen deposition in the first MT was determined in EG II and III (25.5 g) while percentage retention from taken up and digested N was lower in EG III (55.20 and 51.25% and/or 64.47 and 61.87%). Protein deposition in the animal body amounted to ca. 160 g in these groups. In the second MT, the highest N retention (27.7 g) was recorded in the animals of EG II, which also showed the highest nitrogen utilization ratio (PER). Percentage retention of nitrogen from taken up N was higher in EG II by 5.67 and 11.05 than in EG I and III respectively ($P < 0.05$), the respective values for digested N were higher by 4.42 ($P < 0.05$) and 10.46 ($P < 0.01$). Protein deposition in the animal body in EG II was about 173.3 g. Renal output of nitrogen was higher in the animals of EG III than in EG I and II ($P < 0.01$). In the third MT, the highest N retention (24.5 g of retained nitrogen corresponded to protein deposition of 153 g), and nitrogen utilization were determined in EG I. Urine output of nitrogen was higher in the animals of EG III than in EG I and II ($P < 0.01$) while their N utilization from digested N was the worst of all. The differences from EG I and II were statistically significant ($P < 0.05$). The results of the above metabolic trials aimed at the study of nitrogen utilization indicators are intended to contribute to determination of a reasonable proportion of proteinaceous component in feed mixtures of the given type in relation to live weight of pigs of the genotype concerned and to the efficiency of dietary protein utilization and N deposition.

Keywords: metabolic trial; pig hybrid /♀ (LW x L) x ♂ (Du x Pn)/; feed mixture; proteins, lysine; N utilization; nitrogen retention from taken up N; nitrogen retention from digested N; protein deposition in the animal body

ABSTRAKT: V troch bilančných pokusoch (BP) s látkovou stráviteľnosťou (pri priemernej hmotnosti 44, 58 a 70 kg) so štvorplemenným hybridom ošípaných /♀ (BU x L) x ♂ (Du x Pn)/ sme preskúmali vplyv aplikácie kŕmnych zmesí s tromi úrovňami N-látok (rôzne zastúpenie sójového extrahovaného šrotu v zmesiach) na ukazovatele využitia dusíka. Retenciu dusíka (ukladanie N-látok v tele), ako aj jeho využitie z prijatého a stráveného množstva dusíka i renálnu exkréciu ovplyvňovala hladina N-látok v zmesi. V 1. BP sa najvyššia retencia dusíka zaznamenala pri obsahu 18,27 a 19,76 % N-látok v sušine zmesi (obsah lyzínu 0,99 a 1,11 %), avšak pri zmesi s vyšším obsahom N-látok boli ukazovatele využitia dusíka (percento retencie z prijatého a stráveného dusíka) horšie. V 2. BP sa najvyššia retencia dusíka a ukazovatele jeho využitia dosiahli pri obsahu 18,37 % N-látok a 0,99 % lyzínu v sušine zmesi a v 3. BP pri obsahu 16,36 % N-látok, resp. 0,93 % lyzínu v sušine kŕmnej zmesi. V skupine kŕmnej zmesou s najvyšším obsahom N-látok sa vo výkaloch a najmä v moči zaznamenalo zvýšenie vylučovania dusíka.

Kľúčové slová: bilančný pokus; hybrid ošípaných /♀ (BU x L) x ♂ (Du x Pn)/; kŕmna zmes; N-látky; lyzín; utilizácia N; retencia dusíka z prijatého dusíka; retencia dusíka zo stráveného dusíka; N-látky uložené v tele

Predpokladom racionálnej výroby bravčového mäsa je plné využitie potenciálnych rastových schopností výkrmových ošípaných. Výživa podmieňuje dokonale rozvinutie úžitkových vlastností ošípaných za podmienky optimálneho obsahu a vzájomného pomeru jednotlivých nutričných zložiek krmiva vo vzťahu k požiadavkám zvierat. Rozpor medzi potrebou a prívodom živín a energie môže narušiť látkový metabolizmus, meniť zloženie prírastku, znížiť úžitkovosť, zhoršiť zdravotný stav a zvýšiť náklady na jednotku produktu.

V posledných rokoch sa v rámci hybridizačného procesu zmenila typová modifikácia ošípaných v zameraní na zvýšenú anabolickú premenu bielkovín a redukovanú tvorbu tuku, čo sa prejavuje zvýšením podielu mäsa v jatočnom tele. V tejto súvislosti by malo byť v dusíkatých látkach použitého krmiva zodpovedajúce zastúpenie esenciálnych aminokyselín a ich vybilancovaný vzájomný pomer.

Šimeček *et al.* (1994) uvádzajú, že v kg kompletnej kŕmnej zmesi pre predvýkrm (15–35 kg), výkrm I (35–65 kg) a výkrm II (65–120 kg) má byť obsiahnuté 9,8; 8,2 a 6,8 g lyzínu, 6,4; 5,3 a 4,4 g treonínu, 5,4; 4,5 a 3,7 g sírnych aminokyselín a 1,9; 1,6 a 1,3 g tryptofánu. Ukazovateľ lyzín/ME_O by mal dosahovať hodnôt 0,76; 0,64 a 0,54 g/MJ. Pre výkrmové ošípané mäsového typu sa požaduje zastúpenie uvedených zložiek a zastúpenie lyzínu na MJ ME_O v zmesi ešte vyššie (Šimeček *et al.*, 1995). Podľa autorov Behm *et al.* (1987) má univerzálna zmes pre výkrm ošípaných s obsahom metabolizovateľnej energie 12–13 MJ/kg na priemerný denný prírastok 700 a 800 g obsahovať v kg 7,5, resp. 8,2 g lyzínu, 4,6, resp. 4,9 g treonínu, 4,9, resp. 5,3 g sírnych aminokyselín a 1,5, resp. 1,6 g tryptofánu. Genči a Gálik (1974) zaznamenali pri skrmovaní jednej zmesi za celý výkrm (30–115 kg) najlepšie výsledky pri obsahu 8,5 g lyzínu v kg kŕmnej zmesi. Podľa autorov Van Lunen (1995) a Cole (1992) má byť vzájomný pomer lyzínu, treonínu, sírnych aminokyselín a tryptofánu vybilancovaný na hodnotu 1 : 0,65 : 0,55 : 0,19. Lindermayer *et al.* (1993) uvádzajú požadovaný pomer lyzín : metabolizovateľná energia (g/MJ) pre úsek výkrmu 20 až 40 kg – 0,75; 40 až 60 kg – 0,65; 60 až 80 kg – 0,60 a 80 až 105 kg – 0,50.

Kompletizáciou dusíkatej zložky krmiva podľa požiadaviek zvierat dochádza k vyššej retencii dusíka v tele, lepšiemu využitiu dusíka zo stráveného dusíka, zvýšeniu biologickej hodnoty bielkovín a súčasnému zníženiu vyľúčovania dusíka močom (Gálik, 1998). Určenie optimálnej potreby aminokyselín je dôležité ako pre plné využitie genetického potenciálu ošípanej, tak aj pre dosiahnutie maximálnej konverzie prijatých bielkovín a minimálnu exkréciu dusíka (Heger *et al.*, 1997). Tvorba mäsa, t.j. schopnosť ukladania bielkovín v tele ošípaných, je geneticky fixovaná vlastnosť. Mlynek (1997) uvádza, že súčasné vysokovýkonné typy ošípaných ukladajú predovšetkým svalovinu. Podľa Zemana (1997) možno pre výkrmové ošípané zostaviť

kŕmnu zmes na dosiahnutie prírastku 900 g, keď popri ostatných činiteľoch ovplyvňujúcich výsledok výkrmu (najmä dosahovanú hmotnosť a zdravotný stav odstavčiat) má prasa schopnosť ukladať viac ako 200 g dusíkatých látok za deň. Ak prasa nemá schopnosť ukladať dusíkaté látky v tele, nie je možné ziadnou kŕmnu technikou dosiahnuť vysokého prírastku. Zmesi musia byť zostavené najmenej na obsah 13,2 MJ ME_O v kg, musia mať dostatočne vysoký obsah lyzínu a ostatné aminokyseliny musia byť v súlade s hladinou lyzínu na úrovni tzv. „ideálneho proteínu“. Požiadavky výkrmových ošípaných z aspektu racionálnej výživy v oblasti aminokyselinového zloženia dusíkatých látok je potrebné riešiť vhodným druhovým zastúpením komponentov v zmesiach a prípadným doplnkom kŕmnych aditív s obsahom esenciálnych aminokyselín (Gálik a Garlík, 1995).

Prokop (1997) uvádza, že ešte pred 10 až 15 rokmi bola u priemernej populácie prasiat schopnosť ukladania dusíkatých látok v tele vykrmovaných prasiat na úrovni 110–120 g denne. Súčasnú úroveň možno odhadnúť na 130–140 g, pričom existujú hybridy so schopnosťou ukladať v tele viac ako 200 g dusíkatých látok denne. Šimeček a Zeman (1998) konštatujú, že v súčasnosti sa ako maximálne množstvo denne uložených bielkovín uvádzajú hodnoty 140 až 190 g. To sa odráža aj vo zvýšených nárokoch na prívod aminokyselín, z ktorých sa bielkoviny syntetizujú. V rámci parametrov úžitkovosti súborov (21–102 kg ž.h.) pre starší typ ošípanej uvádzajú 85 g denne uložených dusíkatých látok, pre bežný typ 103 g, pre mäsový typ 122 g a pre supermäsový typ 146 g. Pri stupňovanom prijíme dusíkatých látok a lyzínu (Seghers Hybrid, priemerná hmotnosť 43 kg) zistil Prokop (1995) zvyšovanie ukladania dusíkatých látok v tele zo 104 na 144 g denne. Pri rôznej hladine energie, treonínu a metionínu (rovnaký hybrid a hmotnosť) dosahovalo denné uloženie 119 až 142 g dusíkatých látok (Prokop, 1996a). V iných pokusoch s rôznou úrovňou príjmu dusíkatých látok a lyzínu u troch rôznych genotypov (BU x L x ČVM x PN; Bu x L x LW; Seghers Hybrid) pri priemernej hmotnosti 46 kg zaznamenal Prokop (1996b) uložené množstvo dusíkatých látok 122–165 g, 106–148 g, resp. 104–144 g. Prokop *et al.* (1996) stanovili u prasiat definovaného genotypu (bravčeky, Bu x L x L85, priemerná hmotnosť 48 kg) pri použití izoenergetických zmesí a dennom prijíme 230,6–326,8 g dusíkatých látok a 14,1–20,9 g lyzínu medzi efektívneho ukladania dusíkatých látok na hranici 160 g denne. Pri vyššom prijíme dusíkatých látok a aminokyselín narastalo ukladanie dusíkatých látok iba mierne, výrazne sa však zhoršovalo využitie dusíka ako aj produkčná účinnosť zmesí. Heger (1996) zistil u prasničiek Bu x L x H pri aplikácii diét na báze cereálií a sójového extrahovaného šrotu so zvyšujúcim sa obsahom lyzínu zo 6,4 na 11,9 g/kg zvyšovanie množstva uložených dusíkatých látok zo 110,3 na 149,3 g/deň.

Cieľom našej práce bolo preskúmať ukazovatele utiľizácie dusíka (skrmované zmesi mali rozdielny obsah

N-látok a lyzínu) vykonaním troch bilančných pokusov pri rôznej hmotnosti na mäsovom štvorplemennom hybridne ošípaných /Q (Bu x L) x ♂ (Du x Pn)/.

MATERIÁL A METÓDA

Do bilančných pokusov s látkovou stráviteľnosťou (BP) sme zaradili 9 bravčiek uvedeného hybridu rozdelených do troch skupín po troch zvieratách v skupine. Bravčky boli umiestnené v kliečkach pre bilančné pokusy s možnosťou individuálneho kŕmenia a kvantitatívneho zachytávania výkalov a moču. Pokusy sa uskutočnili klasickou metódou pri dĺžke prípravných období 8 dní a vlastných pokusných období vždy 6 dní. Priemerná hmotnosť ošípaných v pokusoch bola 44, 58 a 70 kg. Ošípané sa kŕmili kompletnými kŕmnými zmesami (tab. 1), dennými dávkami v 1. BP 1,8 kg, v 2. BP 2,0 kg a v 3. BP 2,2 kg, stanovenými podľa maxima denného konzumu zmesí. Denná dávka krmiva sa podávala nadvakrát (v 7.00 ráno a v 15.30 popoludní) vždy polovičnou dávkou. Krmivo sa riedilo teplou vodou v pomere 1 : 1,5. V čase obeda sa ošípané napájali meraným množstvom pitnej vody podávanej *ad libitum*. Počas pokusných období sa vylučované výkaly od každej ošípanej zhromažďovali v zvláštnych uzatvárateľných nádobách a konzervovali sa toluénom, po ukončení pokusných období sa dôkladne rozmiešali a z celkového množstva sa odobralo 10 % ako priemerná vzorka na predsušenie, zhomogenizovanie a následný chemický rozbor. Z denne vylúčeného moču (konzervácia 10% HCl v množstve 10 % na objem vylúčeného moču) sa odoberali a v nádobách pre každú ošípanú zhromažďovali 10% podiely. Z takto konzervovaného moču sa odmeriavalo potrebné množstvo na stanovenie dusíka.

V priemerných vzorkách kŕmnych zmesí a exkrementov sa obsah dusíka určil podľa ČSN 46 7092. Obsah aminokyselín (lyzínu a treonínu) sa stanovil v hydrolyzátoch vzoriek kŕmnych zmesí na prístroji T-339M.

V pokusoch sme vyhodnotili množstvo stráveného dusíka v gramoch, množstvo zadržaného dusíka v gramoch a percentách z prijatého dusíka, ako aj percento zadržaného dusíka zo stráveného dusíka.

Významnosť rozdielov medzi skupinami sme hodnotili analýzou variancie s následným testovaním Duncanovým reťazovým testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kŕmne zmesi (zloženie udáva tab. 1) aplikované v bilančných pokusoch s látkovou stráviteľnosťou (ďalej BP) obsahovali podľa pokusných skupín (ďalej PS) a vykonaných pokusov (1, 2, 3) 16,57 (I. PS), 18,27 (II. PS) a 19,76 (III. PS) % N-látok v 1. BP, 17,30 (I. PS), 18,37 (II. PS) a 19,71 (III. PS) % N-látok v 2. BP a 16,36 (I. PS), 17,04 (II. PS) a 18,12 (III. PS) % N-látok v sušine kŕmnych zmesí v 3. BP. Tým sa do-

Tab. 1. Zloženie kŕmnych zmesí – Formulations of feed mixtures

Ukazovateľ ¹	Pokusné skupiny ¹²		
	I.	II.	III.
Komponenty zmesi ² (%):			
Jačmeň ³	27,0	27,0	27,0
Kukurica ⁴	23,0	23,0	23,0
Pšenica ⁵	24,0	20,0	16,0
Pšeničné otruby ⁶	5,0	5,0	5,0
Hrach ⁷	6,0	6,0	6,0
Lucernová múčka ⁸	3,7	3,7	3,7
Sójový extrahovaný šrot ⁹	6,5	10,5	14,5
Mäsovokostná múčka ¹⁰	2,5	2,5	2,5
Kŕmna soľ ¹¹	0,3	0,3	0,3
MKP-4	1,0	1,0	1,0
PX P1	1,0	1,0	1,0

Zloženie MKP-4: kŕmny vápenc 55 %, dikalciumfosfát 40 %, doplnok stopových prvkov 5 %

Zloženie PX P1: vitamín A 200 000 m.j., vitamín D₂ 40 000 m.j., vitamín B₂ 240 mg, vitamín B₁₂ 1,2 mg, niacin 150 mg, L-lyzín HCl 32 000 mg, vehikulum do 1 kg

Doplnok stopových prvkov: CuSO₄·5H₂O 8 %, FeSO₄·7H₂O 40 %, ZnO 20 %, MnCO₃ 10 %, KJ 0,1 %, CoSO₄·7H₂O 0,01 %, vehikulum 21,89 %

MKP-4 composition: feeding limestone 55%, dicalcium phosphate 40%, trace element supplement 5%

PX P1 composition: vitamin A 200 000 i.u., vitamin D₂ 40 000 i.u., vitamin B₂ 240 i.u., vitamin B₁₂ 1.2 mg, niacin 150 mg, L-lysine HCl 32 000 mg, vehicle ad 1 kg

Trace element supplement: CuSO₄·5H₂O 8%, FeSO₄·7H₂O 40% ZnO 20%, MnCO₃ 10%, KJ 0.1% CoSO₄·7H₂O 0.01%, vehicle 21.89%

¹ indicators, ² ingredients, ³ barley, ⁴ corn, ⁵ wheat, ⁶ wheat bran, ⁷ peas, ⁸ alfalfa meal, ⁹ soybean meal, ¹⁰ meat and bone meal, ¹¹ feeding salt, ¹² experimental groups

siahol pri rovnakom dávkovaní zmesí diferencovaný príjem dusíka podľa jednotlivých skupín ošípaných v každom BP (tab. 2). Obsah lyzínu a treonínu v sušine zmesí skrmovaných v 1. BP dosahoval 0,88 a 0,55 % (I. PS), 0,99 a 0,63 % (II. PS), 1,11 a 0,65 % (III. PS), v 2. BP 0,93 a 0,58 % (I. PS), 0,99 a 0,63 % (II. PS), 1,16 a 0,67 % (III. PS) a v 3. BP 0,93 a 0,71 % (I. PS), 1,00 a 0,74 % (II. PS) a 1,08 a 0,79 % (III. PS). Ako vidieť z tab. 2, rozdiely medzi skupinami v množstve nestráveného dusíka vylúčeného vo výkaloch neboli štatisticky významné ($P > 0,05$) v žiadnom z vykonaných BP. Tým možno vysvetliť preukazné rozdiely v množstve stráveného dusíka medzi III. a I. PS ($P < 0,01$) ako aj medzi II. a I. PS ($P < 0,05$) v 1. a 2. BP. V 3. BP sa tieto rozdiely štatisticky nepotvrdili ($P > 0,05$), avšak rovnaká tendencia ostala zachovaná. Rozdiely medzi skupinami v množstve dusíka vylúčeného močom v 1. BP sa štatisticky nepotvrdili ($P > 0,05$), aj keď zvieratá III. PS vykazovali vyššiu renálnu exkréciu. V 2. a 3. BP však zvieratá III. PS v porovnaní s I. a II. PS vylúčili močom výrazne vyššie množstvo dusíka, pričom rozdiely boli vysoko preukazné ($P < 0,01$).

Tab. 2. Ukazovatele využitia dusíka zistené v jednotlivých bilančných pokusoch – Indicators of nitrogen utilization in the separate metabolic trials

Bilančný pokus ¹	Pokusná skupina ²		Obsah sušiny v kŕmnych zmesiach ³ (%)	Prijatý N ⁴ (g)	Vylúčený N vo výkaloch ⁵ (g)	Strávený N ⁶ (g)	Vylúčený N močom ⁷ (g)	Retencia N ⁸		Retencia N zo stráveného N ⁹ (%)
								g	%	
1.	I.	\bar{x}	88,21	42,10	6,46	35,64	14,12	21,52	51,11	60,38
		s			± 0,34	± 0,34	± 1,13	± 0,82	± 1,94	± 2,81
	II.	\bar{x}	87,63	46,11	6,64	39,47	14,02	25,45	55,20	64,47
		s			± 0,45	± 0,45	± 0,54	± 0,99	± 2,15	± 1,78
	III.	\bar{x}	87,59	49,84	8,55	41,29	15,74	25,55	51,25	61,87
		s			± 2,43	± 2,44	± 1,00	± 1,63	± 3,28	± 1,13
Preukaznosť rozdielov medzi skupinami ¹⁰			-	-	-	III-I ⁺⁺ II-I ⁺⁺ III-II ⁻	III-I ⁺⁺ III-II ⁻ II-I ⁺⁺	-	-	
2.	I.	\bar{x}	88,55	49,02	9,20	39,82	16,39	23,43	47,79	58,84
		s			± 0,59	± 0,59	± 0,21	± 0,39	± 0,79	± 0,09
	II.	\bar{x}	88,25	51,87	8,10	43,77	16,04	27,73	53,46	63,26
		s			± 1,77	± 1,77	± 0,85	± 2,57	± 4,96	± 3,39
	III.	\bar{x}	88,87	56,05	11,03	45,02	21,25	23,77	42,41	52,80
		s			± 1,94	± 1,94	± 1,63	± 2,19	± 3,91	± 3,68
Preukaznosť rozdielov medzi skupinami			-	-	-	III-I ⁺⁺ II-I ⁺ III-II ⁻	III-II ⁺⁺ III-I ⁺⁺ I-II ⁻	-	II-III ⁺ II-I ⁻ I-III ⁻	II-III ⁺⁺ II-I ⁻ I-II ⁺
3.	I.	\bar{x}	89,06	51,29	9,69	41,60	17,04	24,56	47,88	59,04
		s			± 1,53	± 1,53	± 1,47	± 1,62	± 3,15	± 3,16
	II.	\bar{x}	88,98	53,37	10,90	42,47	18,08	24,39	45,69	57,18
		s			± 2,49	± 2,49	± 1,69	± 4,15	± 7,78	± 6,39
	III.	\bar{x}	89,42	57,03	12,50	44,53	23,66	20,87	36,59	46,81
		s			± 2,076	± 2,076	± 0,58	± 1,69	± 2,96	± 1,74
Preukaznosť rozdielov medzi skupinami			-	-	-	-	III-I ⁺⁺ III-II ⁺⁺ II-I ⁻	-	-	I-III ⁺ I-II ⁻ II-III ⁺⁺

¹metabolic trial, ²experimental group, ³dietary dry matter content, ⁴N uptake, ⁵N output in excrements, ⁶digested N, ⁷urine N output, ⁸N retention, ⁹N retention from digested N, ¹⁰significance of differences between the groups

Množstvo zadržaného dusíka u zvierat II. a III. PS v I. BP bolo veľmi blízke (tab. 2) a rozdiely oproti I. PS štatisticky vysoko preukazné ($P < 0,01$). Na úrovni obsahu dusíkatých látok 18,27 % a lyzínu 0,99 % v sušine zmesi (II. PS) dosiahlo percento retencie dusíka z prijatého i stráveného dusíka najvyššiu hodnotu (64,47 – tab. 2). Ďalším zvýšením obsahu N-látok a lyzínu (19,76 resp. 1,11 %) v sušine zmesi došlo už k zhoršeniu a poklesu týchto hodnôt (retencia N z prijatého N o 3,95 % a retencia N zo stráveného N o 2,60 %), pričom absolútne množstvo zadržaného dusíka ostalo prakticky rovnaké (tab. 2). Retencia 25,5 g dusíka predstavuje množstvo uložených dusíkatých látok v tele ošípaných definovaného genotypu pri hmotnosti 44 kg na úrovni 160 g. Prísun N-látok a lyzínu daným typom diéty činil u ošípaných II. PS 288,18, resp. 15,61 g, kým pri ošípaných III. PS až 311,54, resp. 17,50 g. Prokop (1997) a Šimeček a Zeman

(1998) konštatujú, že v súčasnom období existujú hybridy ošípaných schopné ukladať v tele i podstatne vyššie množstvá N-látok, ako sme zistili v našom pokuse. V konkrétnych pokusoch na použitých genotypoch ošípaných zaznamenali Prokop (1995, 1996a, b), Prokop *et al.* (1996) a Heger (1996) v niektorých prípadoch vyššie, podobné, prípadne nižšie hodnoty v porovnaní s nami zisteným množstvom N-látok uložených v tele. Súčasne vymedzujú možnosti genetického stropu ukladania N-látok.

Retencia dusíka zistená v 2. BP vykonanom pri vyššej hmotnosti ošípaných (58 kg) vyznieva jednoznačne v prospech II. PS (obsah N-látok a lyzínu v sušine zmesi 18,37 % a 0,99 %), kedy bola dosiahnutá najvyššia retencia dusíka (27,7 g dusíka zodpovedá približne uloženiu 173,3 g N-látok v tele), pri súčasne najvyššom percente retencie dusíka z prijatého i stráveného dusíka. Denný príjem N-látok a lyzínu predstavovo-

val v tejto skupine 324,23, resp. 17,47 g. Pri skrmovaní zmesi s obsahom 19,71 % N-látok a 1,16 % lyzínu v sušine (III. PS) klesla retencia dusíka a významne sa v porovnaní s II. PS zhoršilo využitie dusíka z prijatého ($P < 0,05$), ako aj zo stráveného dusíka ($P < 0,01$). Percento retencie dusíka z dusíka prijatého pokleslo o 11,05 a z dusíka stráveného o 10,46. Oproti I. a II. PS sa preukazuje zvýšilo ($P < 0,01$) množstvo dusíka vylúčeného močom. Rozdiel predstavoval 4,86, resp. 5,01 g (tab. 2). Množstvo denne prijatých N-látok a lyzínu v III. PS sa zvýšilo na úroveň 350,33, resp. 20,62 g.

V 3. BP vykonanom pri priemernej hmotnosti zvierat 70 kg možno ako najpriaznivejšie charakterizovať výsledky dosiahnuté v I. PS. Táto skupina bola kŕmená zmesou s najnižším obsahom N-látok a lyzínu (16,36 % a 0,93 % v sušine). Prijem N-látok a lyzínu na ošípanú a deň dosahoval 320,54, resp. 18,22 g. Retencia dusíka v gramoch, percento retencie dusíka z prijatého dusíka (oproti II. a III. PS $P > 0,05$), ako aj percento retencie dusíka zo stráveného dusíka (oproti III. PS $P < 0,05$) boli v tejto skupine najvyššie. V porovnaní s III. PS bola retencia dusíka vyjadrená zo stráveného dusíka vyššia o 12,23 %. Množstvo zadržaného dusíka 24,5 g predstavovalo asi 153 g v tele uložených N-látok. So zvyšujúcim sa obsahom N-látok (lyzínu) v zmesi sa využitie dusíka zhoršovalo, a to zvlášť výrazne v III. PS. V porovnaní s I. PS bola retencia dusíka vyjadrená zo stráveného dusíka v tejto skupine nižšia o 12,23 %. Použitie takejto zmesi pri uvedenej hmotnosti daného hybridu ošípaných súvisí nielen s nehospodárnym využitím dusíka, ale aj s finančne náročnejšou kŕmnom zmesou (vyššie zastúpenie bielkovinového komponentu) a najmä s podstatne vyššou renálnou exkréciou dusíka do prostredia, čo je zvlášť významné z hľadiska ekologického. Podobný trend vykazuje aj III. PS v 1. BP, ale najmä v 2. BP.

Na základe hlbšej analýzy dusíkovej zložky kŕmnych zmesí chemickým rozborom na obsah celkových N-látok, resp. lyzínu a treonínu možno konštatovať, že zmes použitá v rámci 1. BP (ž.h. 44 kg) v I. PS pri porovnaní s údajmi autorov Šimeček *et al.* (1994) pre úsek výkrmu I (35–65 kg) nepokryvala požiadavku na obsah N-látok, v II. PS bol obsah N-látok na požadovanej úrovni (max. 160 g/kg zmesi pri sušine 88 %), v III. PS túto požiadavku o 8,7 % presahovala. Tento trend možno potvrdiť aj v 2. BP vykonanom pri vyššej hmotnosti ošípaných (58 kg), ktorá tiež zapadá do hodnoteného úseku výkrmu I. V 3. BP (priemerná hmotnosť ošípaných 70 kg) obsah N-látok v zmesi I. PS zodpovedal podľa citovaných autorov požadovanej úrovni N-látok v zmesi (140 g/kg) pre úsek výkrmu II (65–120 kg), v III. PS však už bol následkom vyššieho zastúpenia bielkovinového komponentu v zmesi (tab. 1) o 13,9 % vyšší. Podľa autorov Šimeček *et al.* (1995) kŕmne zmesi všetkých skupín použité v 1. a 2. BP maximálny obsah N-látok pre výkrmové ošípané mäsového typu nedosahujú a iba zmesi aplikované II. a najmä III. PS v 3. BP sa obsahom N-látok pohybujú na úrovni doporučeného maxima.

Pri hodnotení obsahu lyzínu naše výsledky rozborov zmesi použitých v 1. a 2. BP pre I. a II. PS vcelku korešponujú s uvádzanou požiadavkou (Šimeček *et al.*, 1994) 8,2 g lyzínu v kg zmesi pre úsek výkrmu I (35–65 kg), okrem I. PS v 1. BP, kde bol obsah lyzínu o 6,1 % nižší. V 3. BP (ž.h. 70 kg) obsah lyzínu doporučenú potrebu (6,8 g/kg zmesi) pre úsek výkrmu II (65–120 kg) už značne prekročoval (v relatívnom vyjadrení podľa skupín o 20,6–58,3 %). Rovnako tak prekročoval zistený obsah lyzínu v kŕmnej zmesi III. PS požiadavku na jeho zastúpenie v zmesi pre všetky hmotnostné kategórie ošípaných podľa bilančných pokusov (v 1. BP o 19,5 %, v 2. BP o 24,4 % a v 3. BP o 39,7 %). Pokiaľ by sme hodnotili obsah lyzínu v pokusných zmesiach vo vzťahu k požiadavke pre mäsový typ ošípaných (Šimeček *et al.*, 1995), potom sa požadovaná úroveň v 1. a 2. BP (ž.h. 44 a 58 kg, t.j. výkrm I – 35–65 kg) dosiahla iba v III. PS (obsah sójového extrahovaného šrotu v zmesi 14,5 %; tab. 1), zatiaľ čo v 3. BP (ž.h. 70 kg) zmes I. PS obsahom lyzínu požiadavke zodpovedala, v II. a najmä v III. PS ju prekročovala (v III. PS až o 15,6 %). Pre univerzálny typ kŕmnej zmesi, ktorá by sa podávala počas celého obdobia výkrmu ošípaných, sa požiadavka na obsah lyzínu podľa autorov Behm *et al.* (1987) a Genčí a Gálik (1974) najviac približuje zmes aplikovaná v II. PS.

Obsah treonínu v zmesi pre I. PS použitej v 1. a 2. BP úroveň, ktorú doporučujú Šimeček *et al.* (1994), nedosiahol (deficit o 9,4 resp. 3,8 %), v II. PS bol na úrovni potreby, v III. PS už potrebu o 7,5, resp. 13,2 % prekročil. V 3. BP vykonanom pri najvyššej hmotnosti ošípaných bola norma potreby zastúpenia treonínu v kŕmnych zmesiach podľa pokusných skupín I až III prekročená o 40,9–56,8 %. Ak však hodnotíme v zmesiach obsah treonínu doporučený autormi Šimeček *et al.* (1995) pre mäsový typ ošípaných, potom v 1. a 2. BP sa vo všetkých skupinách prejavil jeho nedostatok a iba v 3. BP (vyššia hmotnosť prasiat) bola potreba treonínu plne pokrytá vo všetkých skupinách, s najväčším prebytkom 30,2 % v III. PS. Pri hodnotení vzájomného pomeru celkového lyzínu a treonínu dosahovala zmes použitá pre I. PS v tomto ukazovateli podľa bilančných pokusov hodnotu 1 : 0,62–0,75, pre II. PS 1 : 0,63–0,74 a pre III. PS 1 : 0,58–0,73. Údaje, ktoré uvádzajú napr. Van Lunen (1995) a Cole (1992), zapadajú do uvádzaného rozpätia, bližšie však k jeho spodnej hranici.

Pomer lyzínu ku kalkulovanému obsahu metabolizovateľnej energie (12,8 MJ ME_O/kg zmesi, pri obsahu sušiny 88 %) v g/MJ sa pohyboval v zmesi skrmovanej I. PS v rozpätí 0,60–0,64, v II. PS 0,68–0,69 a v III. PS 0,74–0,80. Podľa autorov Lindermayer *et al.* (1993) by hodnota ukazovateľa lyzín/ME_O na úrovni 0,60 g/MJ (spodná hranica v zmesi našej I. PS) zodpovedala požiadavke pre úsek výkrmu 60–80 kg. Hodnotu 0,65 udávajú citovaní autori pre výkrmový úsek 40–60 kg. K tejto hodnote sa približuje množstvo lyzínu pripadajúce na MJ ME_O v kŕmnej zmesi skrmovanej II. PS. Pre úsek hmotnosti výkrmových prasiat 20–40 kg uvádzajú Lindermayer *et al.* (1993) požiadavku 0,75 g ly-

zínu na MJ ME₀ zmesi. Náš I. BP sme uskutočnili síce pri hmotnosti o niečo vyššej (44 kg), ako je spodná hranica uvedeného rozpätia, avšak v kŕmnej zmesi použitej pre III. PS bola táto požiadavka iba minimálne prekročená (0,77). Pri aplikácii tejto zmesi v 2. a 3. BP ukazovateľ množstva lyzínu pripadajúceho na MJ ME₀ podľa hmotnosti prasiat už výrazne presiahol doporučovanú hodnotu (v 3. BP o 0,14 g lyzínu, t.j. o 23,3 %). Podľa autorov Šimeček *et al.* (1994) je požiadavkou na kŕmnu zmes pre výkrm ošípaných I (35–65 kg) 0,64 g lyzínu na MJ ME₀. K tejto hodnote sa v našom pokuse najviac priblížili I. a II. PS v prvých dvoch BP (0,68), ako aj I. PS v 2. BP (0,64). Hodnoty v zmesi skrmovanej III. PS v 1. a 2. BP boli výrazne vyššie (0,77 a 0,80). V 3. BP bola hodnota ukazovateľa lyzín/ME₀ vzhľadom na hmotnosť ošípaných v porovnaní s normou (0,54) prekročená vo všetkých skupinách, najvýraznejšie v III. PS (0,74). Úroveň ukazovateľa lyzín/ME₀ požadovanú pre mäsový typ ošípaných (Šimeček *et al.*, 1995) sme dosiahli v 1. a 2. BP (ž.h. 44 kg, resp. 58 kg) iba v zmesi skrmovanej pre III. PS (0,77, resp. 0,80 g/MJ). V 3. BP (ž.h. 70 kg) bol pri I. PS hodnotený ukazovateľ na úrovni požiadavky, kým v II. a III. PS (0,69, resp. 0,74 g/MJ) požiadavku prevyšoval.

LITERATÚRA

Behm G., Dressler D., Gaus S., Herrmann H., Küther K., Tanner H. (1987): Aminosäuren in der Tierernährung. Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung e. V., Bonn. 52 s.

Cole D. J. A. (1992): Nové možnosti v produkcii prasat. In: Sbor. Ref. Výživa prasat '92, ČZS a VÚVZ Pohořelice: 9–26.

Gálik R. (1990): Výkrmové ošípané. In: Čupka V., Gálik R., Kabát L.: Kŕmenie ošípaných. Bratislava, Príroda: 115–136.

Gálik R. (1998): Nutričné činitele produkčnej účinnosti kŕmnych zmesí pre ošípané. In: Zbor. Dni výživy a veterinárnej dietiky, Univerzita veterinárskeho lekárstva v Košiciach, Strážske, Chemko a. s.: 9–15.

Gálik R., Garlík J. (1995): Porovnanie produkčného účinku zmesí pre výkrm ošípaných pri použití premixov rôznych kŕmnych aditív. In: Zbor. Najnovšie biotechnologické a technické hľadiská na výrobu a využitie kŕmív, kŕmnych zmesí a kŕmnych aditív vo výžive zvierat, VÚK Ivanka pri Dunaji: 132–138.

Genčí L., Gálik R. (1974): Výskum spotreby energie vo vzťahu k dusíkatým a niektorým minerálnym živinám na jednotku prírastku u ošípaných. [Záverečná správa.] Nitra, AF VŠP. 61 s.

Heger J. (1996): Optimální výživa rostoucích prasat různých genotypů. In: Sbor. mezin. Konf. Aktuální problémy šlechtění, zdraví, růstu a produkce prasat. České Budějovice, Scientific Pedagogical Publishing: 106–108.

Heger J., Šimeček K., Mengesha S., Bláha J. (1997): Optimální potřeba stravitelného lyzínu pro rostoucí prasata masného typu. Živoč. Vyr., 42: 165–173.

Lindermayer H., Straub K., Propstmeier G. (1993): Grundsätze der Schweinefütterung. Staatliche Führungsakademie für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Landshut.

Mlynek J. (1997): Vplyv genetických a negatívnych činiteľov na úžitkovosť ošípaných. Úspech v maštali, 2: 7–8.

Prokop V. (1995): Nitrogen balance in growing pigs at various protein and amino acid levels. Živoč. Vyr., 40: 307–311.

Prokop V. (1996a): Nitrogen balance in growing pigs at various energy, threonine and methionine levels. Živoč. Vyr., 41: 157–161.

Prokop V. (1996b): Ukládání NL a stravitelnost N při různé úrovni NL a lysinu u prasat odlišných genotypů. In: Zbor. Ref. Problémy bielkovinovej výživy zvierat, Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra: 98–99.

Prokop V. (1997): Efektivní výkrm prasat. In: Zbor. Ref. Konf. pri príležitosti 50. výročia založenia ústavu. II. časť. Nitra, Informa: 18–23.

Prokop V., Buchta S., Čechová M. (1996): Ukládání NL u prasat definovaného genotypu. In: Sbor. mezin. Konf. Aktuální problémy šlechtění, zdraví, růstu a produkce prasat. České Budějovice, Scientific Pedagogical Publishing: 59–61.

Šimeček K., Zeman L. (1998): Potřeba živin pro prasata masného typu. Náš Chov (Praha), 58: 13–14.

Šimeček K., Zeman L., Heger J. (1994): Potřeba živin a výživná hodnota krmív pro prasata. VÚVZ Nitra. 77 s.

Šimeček K., Zeman L., Heger J. (1995): Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmív pro prasata. MZE ČR, VÚVZ Pohořelice. 103 s.

Van Lunen T. A. (1995): Ideal protein requirements of modern genotypes. PIGS, Músset, 11: 12–13.

Zeman L. (1997): Lze sestavit směs pro výkrm prasat na přírůstek 900 g/den? Krmivářství, 1, 1997: 50.

Došlo 3. 5. 1999

Prijaté k publikovaniu 27. 9. 1999

Kontaktná adresa:

Prof. Ing. Roman Gálik, DrSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, tel.: 087/60 13 32, 087/51 11 85, fax: 087/41 14 51

USE OF RAPESEED MEAL AND PHOSPHOLIPIDS IN FEED MIXTURES FOR TURKEY PRODUCTION

VYUŽITÍ ŘEPKOVÉHO EXTRAHOVANÉHO ŠROTU A FOSFOLIPIDŮ VE SMĚSÍCH PRO VÝKRM KRŮT

P. Zobač¹, I. Kumprecht¹, V. Prokop¹, J. Čmolík², W. Schwarz²

¹Research Institute of Animal Nutrition, s.r.o., Pohořelice, Czech Republic

²SETUZA a.s., Ústí nad Labem, Czech Republic

ABSTRACT: Partial replacement of soybean meal (SM) by rapeseed meal (RM) in complete feed mixtures KR2 and KR3 for turkey production was studied in a feeding comparative trial on 180 sexed male turkeys of BUT 9 hybrid. The effect of an addition of 1% phospholipids as an energy supplement to RM was also investigated. Turkeys of all groups received feed mixture KR1 from 1st to 28th day of age. Experimental variants were introduced after complete feed mixture KR2 for turkey production started to be administered, in which SM was partly replaced by RM and/or RM fortified with 1% phospholipids (RMP) produced by SETUZA a.s. company, Ústí nad Labem. An experimental two-factor design with replications was used under the formula A (3) x B (2) x (30) for body weight, A (3) x B (2) x (2) for feed consumption per 1 kg weight gain. Average body weight of male turkeys was 3 479 g on day 56 and 12 064 g on day 98 of age. Body weight of male turkeys was not influenced statistically significantly by the RM levels and phospholipids in any of the experimental periods, the values were in the range of natural variability. Feed consumption per 1 kg weight gain in groups of male turkeys receiving mixtures KR2 with 8.8% RM (a_1) and 17.6% RM (a_2) was higher in comparison with control group (a_0) by 4.53% (statistically insignificantly) and by 7.67% (at a significance level), respectively. Average consumption of feed with 1% phospholipids (b_1) per 1 kg weight gain was lower by 1.63% in that period than in control (b_0). The difference was not statistically significant. Feed consumption per 1 kg weight gain of male turkeys receiving feed mixtures KR3 with 8.8% RM (a_1) and 17.6% RM (a_2) was higher by 2.23% and 5.28%, respectively, than in control (a_0). The difference between the groups was not statistically significant. On the contrary, average feed consumption per 1 kg weight gain was insignificantly reduced by 4.42% by a supplement of 1% phospholipids added to mixtures KR3 (b_1). The level of 8.8% RM (a_1) in feed mixtures for male turkeys insignificantly increased feed consumption per 1 kg weight gain by 2.08% while the level of 17.6% RM (a_2) resulted in an increase by 4.90%. The effect of 1% phospholipid supplement (b_1) to feed mixtures for turkey production was reflected in a 4.17% decrease in average feed consumption per 1 kg weight gain. On average higher feed consumption in kg per 1 kg weight gain after application of two RM levels was reduced by 1% phospholipid fortification. The values of dressing percentage of male turkeys at 98 days of age were not influenced by experimental variants and were in the range of natural variability.

Keywords: male turkeys; rapeseed meal; phospholipids; body weight; feed consumption per 1 kg weight gain; dressing percentage

ABSTRAKT: V rozsáhlém krmném srovnávacím pokusu se sexovanými krocany hybridu BUT 9 byla stanovena možnost částečné náhrady sójového extrahovaného šrotu (SEŠ) řepkovým extrahovaným šrotem (ŘEŠ) v kompletních krmných směsích pro výkrm krůt KR2 a KR3. Dále byl sledován účinek přídatku 1 % fosfolipidů jako energetického doplňku ŘEŠ. Krocani byli od 1. dne věku umístěni ve 12 voliérách VÚVZ Pohořelice po 15 kusech. Od 1. do 28. dne věku přijímali krocani všech skupin jednotnou komplexní krmnou směs KR1. Vlastní pokusné zásahy byly provedeny až při přechodu na kompletní krmnou směs KR2 pro výkrm krůt, ve které byl SEŠ částečně nahrazen ŘEŠ a řepkovým extrahovaným šrotem fortifikovaným 1 % fosfolipidů (ŘEŠF), které byly dodány firmou SETUZA, a. s., Ústí nad Labem. Pokus byl koncipován jako dvoufaktoriální s opakováním podle vzorce A (3) x B (2) x (30) pro sledování hmotnosti krocanů, A (3) x B (2) x (2) pro sledování spotřeby směsí na 1 kg přírůstku: a_0b_0 – sójový premix 21 %, ŘEŠ 0 %; a_1b_0 – sójový premix 12,3 %, ŘEŠ 8,8 %; a_2b_0 – sójový premix 3,5 %, ŘEŠ 17,6 %; a_0b_1 – sójový premix 21 %, ŘEŠF 0 %; a_1b_1 – sójový premix 12,3 %, ŘEŠF 8,8 %; a_2b_1 – sójový premix 3,5 %, ŘEŠF 17,6 %. Průměrná hmotnost krocanů (tab. 4) v 28. dni věku byla 1 039 g, v 56. dni 3 479 g a v 98. dni věku 12 064 g. Použití hladiny ŘEŠ a fosfolipidů statisticky významně neovlivnilo hmotnost krocanů v žádném ze sledovaných období a dosažené hodnoty se pohybovaly v mezích přirozené variability. Rovněž aplikace dvou hladin

This project was supported by the Ministry of Agriculture of CR (Project No. EP 7012 of the National Agency for Agricultural Research).

ŘEŠ a ŘEŠF (tab. 5) neovlivnily hmotnost krocanů jak v 56., tak i 98 dni věku. Průměrná spotřeba (tab. 6) směsi v 28. dni věku byla 1,630 kg na 1 kg přírůstku. Průměrná spotřeba směsi na 1 kg přírůstku KR2 v období výkrmu krocanů (29.–56. den) činila 2,252 kg. Skupiny krocanů krmných směsmi KR2 s 8,8 % ŘEŠ (a_1) měly statisticky neprůkazně o 4,53 % a s 17,6 % ŘEŠ (a_2) o 7,67 % na hranici statistické průkaznosti vyšší spotřebu směsi oproti skupině kontrolní (a_0). Průměrná spotřeba směsi s 1 % fosfolipidů (b_1) byla v tomto období o 1,63 % nižší oproti kontrole (b_0). Rozdíl nebyl statisticky významný. Průměrná spotřeba směsi KR3 na 1 kg přírůstku byla 2,854 kg. Krocani krmení směsmi KR3 s 8,8 % ŘEŠ (a_1) měli průměrně o 2,22 % a krocani krmení směsmi KR3 s 17,6 % ŘEŠ (a_2) o 5,28 % vyšší spotřebu směsi oproti kontrole (a_0). Rozdíl mezi skupinami nebyl statisticky významný. Aplikace 1 % fosfolipidů do směsi KR3 (b_1) naopak snížila neprůkazně průměrnou spotřebu směsi na 1 kg přírůstku o 4,42 %. Celková spotřeba směsi na 1 kg přírůstku v 1. až 98. dni výkrmu činila 2,798 kg. Aplikací 8,8 % ŘEŠ (a_1) do krmných směsí pro krocany se neprůkazně zvýšila spotřeba směsi na 1 kg přírůstku o 2,08 % a aplikací 17,6 % ŘEŠ (a_2) o 4,90 %. Účinek přidavku 1 % fosfolipidů (b_1) se projevil snížením průměrné spotřeby směsi na 1 kg přírůstku o 4,17 %. Průměrně vyšší spotřeba směsi na 1 kg přírůstku, způsobená aplikací ŘEŠ, byla snížena fortifikací těchto směsí 1 % fosfolipidů (tab. 7). Průměrná hodnota jateční výtěžnosti krocanů (tab. 8) ve věku 98 dní byla 82,61 %. Dosažené hodnoty nebyly ovlivněny sledovanými pokusnými zásahy a pohybovaly se v mezích přirozené variability.

Klíčová slova: krocani; řepkový extrahovaný šrot; fosfolipidy; hmotnost; spotřeba směsi; jateční výtěžnost

INTRODUCTION

Rapeseed meals and phospholipids as waste products of oil production are currently used as sources of proteins for complete feed mixtures for monogastric animals. The nutritive value of rapeseed meals is in the range 75 to 80% of that of similar soya feeds, but the cost of the former feed is at the level of 55–65% of that of soybean meals.

The use of rapeseed meals in diets for monogastric animals brought about controversial results in the past showing depressive effects of higher levels of this dietary ingredient on growth and feed conversion. This negative effect is explained by the content of glucosinolates, and particularly of erucic acid, present in rapeseed. The bulk of erucic acid is a part of produced oil, but glucosinolates are left in rapeseed meal. Breeders task is to reduce contents of glucosinolates and erucic acid. Varieties with reduced contents of glucosinolates or glucosinolates and erucic acid are used at present, and varieties with a lower fiber content have also been produced. Positive results of rapeseed feed use were reported in poultry broilers by Lessire *et al.* (1993), Daenicke *et al.* (1994), Schöne *et al.* (1993), Schlöffel *et al.* (1993), in turkeys by Bouvarel and Van-der-Horst (1994).

The use of rape cake for broiler chick feeding was recently studied by Haščík *et al.* (1994), Kadlec *et al.* (1994), Výmola *et al.* (1996) and Zobač *et al.* (1998).

Soukupová *et al.* (1995) used 00 rapeseed meal at amounts of 7, 10 and 15% in feed mixtures for broiler turkeys in relation to the feeding stage. A decrease in the content of soybean meal, replacement of maize by wheat and use of 00 rapeseed and peas in feed mixtures resulted in a body weight reduction and in an increase in abdominal fat content in carcass. Výmola *et al.* (1996) studied the effect of rape cake used as a replacement for dietary soybean meal on the performance of heavy turkeys fed to the 98th day of age. The rape use

was found as economically advantageous and did not cause any significant depression of turkey growth and feed conversion up to the glucosinolate level of 4 mmol/kg.

The use of phospholipids in form of lecithin slops is very problematic because their content in rapeseed meals is at the level of 1–2%. Pure lecithin is a positive dietary factor but lecithin slops can contain compounds with negative impacts on animal growth.

The objective of the paper was to define to what extent soybean meal can be replaced by rapeseed meal in complete feed mixtures KR2 and KR3 for turkey production, and to determine the efficiency of phospholipids as an energy supplement to rapeseed meal.

MATERIAL AND METHODS

To achieve the above objective, a feeding comparative trial was carried out on sexed male turkeys of hybrid BUT 9 which were supplied by Xaverov a.s. company, Breeding Station at Vlkoš. Male turkeys were kept in aviaries of the RIAN at Pohořelice by 15 individuals. A total of 180 one-day male turkeys divided into 12 aviaries were included in the trial. Turkeys of all groups received single complete feed mixture KR1 from day 1 to day 28 of age, its formulation is shown in Table 1. Experimental variants were introduced from the moment of transition to complete feed mixture KR2 for turkey production, in which soybean meal (SM) was partially replaced by rapeseed meal (RM) and rapeseed meal fortified with phospholipids (RMP) which were supplied by SETUZA a.s. company. In accordance with PN-141483 rapeseed meal contains 1% content of phospholipids in stable form. Phospholipids from the process of rapeseed oil superdegumming are directly applied to RM during the extraction process. Water is evaporated in a toaster at 120 °C within 20 minutes.

Composition of RM and phospholipids from SETUZA a.s., Ústí nad Labem:

Rapeseed meal	(g/kg)	Phospholipids	(g/kg)
Dry matter	885.9	Water content	489.0
Proteins	329.0	Fat content	494.5
Fat	20.9	Impurity content	16.5
Fiber	116.3	Acid number mg KOH/g	31.60
Ash	66.5	P content g/kg fat	13.40
Nitrogen-free extract	353.2		
Organic matter	819.4		
Erucic acid	1.4		
Glucosinolates $\mu\text{mol/g}$	21.00		

In order to compare the effect of an SM aliquot containing a higher proportion of proteins than RM, a soya premix was formulated: 71% SM, 18% wheat starch, 10% wheat coarse meal, 1% cellulose. The nutritive value of this premix with respect to the content of basic nutrients was comparable with the nutritive value of RM. 1% of the premix equaled 0.72% SM.

The feeding comparative trial had a two-factor design with replications according to formulas A (3) x B (2) x (30) for turkey body weight in g, A (3) x B (2) x (2) for feed consumption per 1 kg weight.

a_0b_0 – soya premix 21%, RM 0%

a_1b_0 – soya premix 12.3%, RM 8.8%

a_2b_0 – soya premix 3.5%, RM 17.6%

a_0b_1 – soya premix 21%, RMP 0%

a_1b_1 – soya premix 12.3%, RMP 8.8%

a_2b_1 – soya premix 3.5%, RMP 17.6%

A consideration that the mixtures contained 25% SM was applied when basic feed mixtures KR2 and KR3 for turkey production were formulated. The level of 10% SM was maintained in all mixtures. The nutritive value of 15% SM corresponded to the level of 21.1% soya premix. Formulations of complete feed mixtures KR2 and KR3 for turkey production are given in Table 2 and Table 3, respectively. Mixtures KR2 were used between days 29 and 56 of age, KR3 between days 57 and 98 of age. Male turkeys had a free choice of feed mixtures and water. Air temperature and atmospheric humidity were regulated in accordance with standards for pre-starting and feeding periods.

Body weights of turkeys were determined by weighing all individuals on days 1, 28, 56 and 98 of age. Continuous records of feed consumption in the aviaries were kept. Check slaughters following stunning were made at the end of the trial to determine consumer dressing percentage. A total of 24 turkeys were killed. Consumer dressing percentage (CDP) was determined by the equation:

$$\text{CDP} = \frac{\text{Body weight} - \text{Blood weight (W)} - \text{Feather W} - \text{Head W} - \text{Gizzard W} - \text{Full intestine W} - \text{Crop W} - \text{Shank W}}{\text{Body weight}} \cdot 100$$

Table 1. Formulation and nutrient contents of feed mixtures KR1

Ingredient	Percentage content
Fish meal	9
Meat-bone meal	6
Yeast	3
Soybean meal	32
Corn	40
Wheat	6
¹⁾ Biovitan KR-Start-Super	1
²⁾ Mineral feeding supplement DV	3
Total	100
Dry matter g/kg	890.03
Crude protein g/kg	290.07
Crude fat g/kg	37.0
Crude fiber g/kg	33.7
Ash g/kg	90.1
Nitrogen-free extract g/kg	438.1
ME in MJ/kg	11.43

¹⁾ Biovitan KR-Start-Super (Biofaktory Praha, s.r.o.) contains: vitamin A 1 500 000 I.U., vitamin D₃ 400 000 I.U., vitamin E 5 000 mg, vitamin K₃ 250 mg, vitamin B₁ 300 mg, vitamin B₂ 800 mg, vitamin B₆ 700 mg, vitamin B₁₂ 3 mg, niacin 7 000 mg, calcium pantothenate 2 500 mg, biotin 30 mg, folic acid 250 mg, cholin 40 000 mg, DL-methionin 180 000 mg, L-lysine HCl 200 000 mg

²⁾ 1 kg of mineral feeding supplement DV contains: Ca 265 g, P 72 g, Na 15.2 g, NaCl 40 g, Cu 420 mg, Fe 3 370 mg, Zn 2 400 mg, Mn 2 740 mg, Co 3.6 mg, J 13.5 mg, Se 5.3 mg

Feed mixtures were analyzed in accordance with Procedures for Laboratory Feed Testing (1996). The results were evaluated by two-factor analysis of variance (Snedecor and Cochran, 1969).

RESULTS

Table 4 shows body weight of male turkeys receiving feed mixtures KR2 and KR3 with two levels of RM and RMP, Table 5 documents the relation of male turkey weight to the effect of two RM and RMP levels. Average weight of male turkeys at 28 days of age was 1 039 g and in the range of natural variability, male turkey weight at 56 days of age amounted to 3 497 g and at 98 days of age to 12 064 g. The body weight of turkeys was not statistically significantly influenced by the used RM and phospholipid levels in any of the experimental periods and the values were in the range of natural variability. Neither did the two RM and RMP levels influence the weight of male turkeys at 56 and 98 days of age (Table 5).

Table 6 shows feed consumption in kg per 1 kg weight gain in relation to the two RM and RMP levels. Average consumption of feed mixtures KR1 at 28 days of age was 1.630 kg per 1 kg weight gain. Average consumption of feed mixtures KR2 in the period of male turkey feeding between days 29 and 56 amounted to 2.251 kg. Feed consumption of the groups of male

Table 2. Formulation and nutrient contents of feed mixtures KR2

Ingredient	Diet						
	a ₀ b ₀	a ₁ b ₀	a ₂ b ₀	a ₀ b ₁	a ₁ b ₁	a ₂ b ₁	
	percentage content						
Fish meal	3	3	3	3	3	3	
Meat-bone meal	6	6	6	6	6	6	
Yeast	2	2	2	2	2	2	
Soybean meal	10	10	10	10	10	10	
Soybean premix	21.1	12.3	3.5	21.1	12.3	3.5	
Rapeseed meal	-	8.8	17.6	-	-	-	
Rapeseed meal with 1%							
Phospholipids	-	-	-	-	8.8	17.6	
Maize meal	50	50	50	50	50	50	
Wheat	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9	
¹⁾ Biovitan KR1-Super	1	1	1	1	1	1	
²⁾ Mineral feeding supplement DV	3	3	3	3	3	3	
Total	100	100	100	100	100	100	
Phospholipids g/100 kg	-	-	-	176	-	-	
Dry matter	g/kg	888.9	889.5	890.0	889.1	889.6	890.2
Crude proteins	g/kg	228.0	228.0	228.0	227.4	227.7	227.4
Crude fat	g/kg	34.4	34.9	35.4	36.1	35.7	37.0
Crude fiber	g/kg	33.4	38.3	43.1	33.3	38.2	42.9
Ash	g/kg	76.2	78.3	80.4	76.2	78.3	80.3
Nitrogen-free extract	g/kg	516.9	510.0	503.1	516.1	509.7	502.6
ME in MJ/kg		11.82	11.48	11.09	11.91	11.54	11.21

¹⁾ Biovitan KR1-Super contains: vitamin A 1 200 000 I.U., vitamin D₃ 350 000 I.U., vitamin E 4 000 mg, vitamin K₃ 250 mg, vitamin B₁ 300 mg, vitamin B₂ 800 mg, vitamin B₆ 400 mg, vitamin B₁₂ 3 mg, niacin 5 000 mg, calcium pantothenate 2 000 mg, biotin 30 mg, folic acid 150 mg, cholin 40 000 mg, DL-methionin 140 000 mg, L-lysin HCl 200 000 mg

²⁾ 1 kg of mineral feeding supplement DV contains: see Table 1

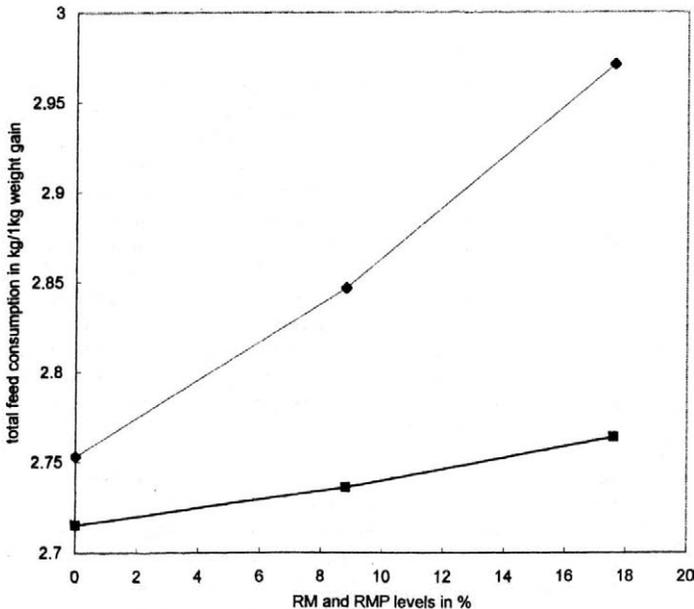


Fig. 1. The effect of two RM and RMP levels on total feed consumption

Table 3. Formulation and nutrient contents of feed mixtures KR3

Ingredient	Diet					
	a ₀ b ₀	a ₁ b ₀	a ₂ b ₀	a ₀ b ₁	a ₁ b ₁	a ₂ b ₁
	percentage content					
Meat-bone meal	8	8	8	8	8	8
Yeast	1	1	1	1	1	1
Soybean meal	10	10	10	10	10	10
Soybean premix	21.1	12.3	3.5	21.1	12.3	3.5
Rapeseed meal	–	8.8	17.6	–	–	–
Rapeseed meal with 1% Phospholipids	–	–	–	–	8.8	17.6
Maize meal	52	52	52	52	52	52
Wheat	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9
¹⁾ Bioviton KR2-Super	1	1	1	1	1	1
²⁾ Mineral feeding supplement DV	3	3	3	3	3	3
Total	100	100	100	100	100	100
Phospholipids	g/100 kg	–	–	–	176	–
Dry matter	g/kg	888.9	889.5	890.0	889.1	889.5
Crude protein	g/kg	215.7	215.7	215.7	215.1	215.4
Crude fat	g/kg	34.4	34.8	35.3	36.0	35.6
Crude fiber	g/kg	34.1	39.0	43.8	34.0	38.9
Ash	g/kg	76.7	78.8	80.8	76.6	78.7
Nitrogen-free extract	g/kg	528.0	521.2	514.4	527.4	520.9
ME in MJ/kg		11.86	11.47	11.08	11.89	11.53

¹⁾ Bioviton KR2-Super contains: vitamin A 1 200 000 I.U., vitamin D₃ 350 000 I.U., vitamin E 2 500 mg, vitamin K₃ 200 mg, vitamin B₁ 200 mg, vitamin B₂ 600 mg, vitamin B₆ 400 mg, vitamin B₁₂ 2 mg, niacin 3 000 mg, calcium pantothenate 2 000 mg, biotin 15 mg, folic acid 150 mg, cholin 40 000 mg, DL-methionin 140 000 mg, L-lysin HCl 200 000 mg

²⁾ 1 kg of mineral feeding supplement DV contains: see Table 1

Table 4. The effect of different levels of RM and fortification with 1% phospholipids on male turkeys weight

Parameter	Unit	Rapeseed meal			Phospholipids	
		a ₀	a ₁	a ₂	b ₀	b ₁
n		55	55	54	83	81
Weight on day 1	g	64	65	64	64	65
Weight on day 28	g	1 029	1 022	1 066	1 039	1 039
S.D.	g	± 125	± 130	± 107	± 123	± 122
Index	%	100.00	99.32	103.60	100.00	100.00
Weight on day 56	g	3 549	3 360	3 527	3 453	3 504
S.D.	g	± 499	± 596	± 501	± 524	± 553
Index	%	100.00	94.67	99.38	100.00	101.48
Weight on day 98	g	12 258	11 706	12 228	12 012	12 116
S.D.	g	± 1 625	± 1 822	± 1 795	± 1 696	± 1 827
Index	%	100.00	95.50	99.76	100.00	100.87

Legend: a₀ – control

a₁ – 8.8% rapeseed meal in the mixtures KR2 and KR3

a₂ – 17.6% rapeseed meal in the mixtures KR2 and KR3

b₀ – mixtures without phospholipids

b₁ – mixtures with 1% phospholipids in the rapeseed meal

S.D. – standard deviation

Table 5. The effect of interaction of different levels of RM and fortification with 1% phospholipids on male turkey weight

Parameter	Unit	Interactions A x B					
		a_0b_0	a_1b_0	a_2b_0	a_0b_1	a_1b_1	a_2b_1
<i>n</i>		28	28	27	27	27	27
Weight on day 1	g	64	64	64	64	66	65
Weight on day 28	g	1 032	1 028	1 056	1 026	1 015	1 076
Index	%	100.00	99.61	102.33	99.42	98.35	104.26
Weight on day 56	g	3 522	3 329	3 509	3 576	3 391	3 544
Index I	%	100.00	94.52	99.63	101.53	96.28	100.62
Index II	%	100.00	94.52	99.63	100.00	94.83	99.11
Weight on day 98	g	12 194	11 670	12 171	12 322	11 743	12 283
Index I	%	100.00	95.70	99.81	101.05	96.30	100.73
Index II	%	100.00	95.70	99.81	100.00	95.30	99.68

Legend: see Table 4

Table 6. The effect of different levels of RM and fortification with 1% phospholipids on feed consumption in kg per 1 kg weight gain of male turkeys

Parameter	Unit	Rapeseed meal			Phospholipids	
		a_0	a_1	a_2	b_0	b_1
Group number		4	4	4	6	6
KR1 mixture consumption from day 1 to day 28	kg/kg	1.664	1.622	1.603	1.633	1.627
S.D.	kg/kg	± 0.039	± 0.041	± 0.019	± 0.052	± 0.032
Index	%	100.00	97.48	96.33	100.00	99.63
KR2 mixture consumption from day 29 to day 56	kg/kg	2.163	2.261	2.329	2.270	2.233
S.D.	kg/kg	± 0.138	± 0.065	± 0.149	± 0.161	± 0.108
Index	%	100.00	104.53	107.67	100.00	98.37
KR3 mixture consumption from day 57 to day 98	kg/kg	2.784	2.846	2.931	2.918	2.789
S.D.	kg/kg	± 0.141	± 0.173	± 0.200	± 0.143	± 0.179
Index	%	100.00	102.22	105.28	100.00	95.58
Total feed consumption from day 1 to day 56	kg/kg	2.080	2.150	2.200	2.156	2.131
S.D.	kg/kg	± 0.118	± 0.057	± 0.115	± 0.127	± 0.088
Index	%	100.00	103.37	105.77	100.00	98.84
Total feed consumption from day 1 to day 98	kg/kg	2.734	2.791	2.868	2.857	2.738
S.D.	kg/kg	± 0.137	± 0.162	± 0.186	± 0.134	± 0.169
Index	%	100.00	102.08	104.90	100.00	95.83

Legend: see Table 4

turkeys receiving mixtures KR2 with 8.8% RM (a_1) was statistically insignificantly higher by 4.53% than in the control group (a_0), and of those with 17.6% RM (a_2) higher by 7.67% at the significance level against the control (a_0). Average consumption of mixtures with 1% phospholipids (b_1) was lower by 1.63% than in the control (b_0) in that period. The difference was not statistically significant. Average consumption of mixtures KR3 per 1 kg weight gain was 2.854 kg. Average feed consumption of male turkeys receiving mixtures KR3 with 8.8% RM (a_1) and 17.6% RM (a_2) was higher by 2.23% and 5.28%, respectively, than in the control (a_0). The difference between the groups was not statistically significant. On the contrary, the application of 1% phospholipids to mixtures KR3 (b_1) reduced average

feed consumption per 1 kg weight gain insignificantly by 4.42%. Total feed consumption in kg per 1 kg weight gain was about 2.798 kg in the feeding period between days 1 and 98 of age. The application of 8.8% RM (a_1) to feed mixtures for male turkeys insignificantly increased feed consumption per 1 kg weight gain by 2.08% while 17.6% RM (a_2) increased this parameter by 4.90%. The effect of 1% phospholipids (b_1) in feed mixtures for turkey production was reflected by a decrease in average feed consumption per 1 kg weight gain by 4.17%. On average higher feed consumption in kg per 1 kg weight gain resulting from RM application was reduced by fortification with 1% phospholipids (Table 7).

Table 8 shows data on dressing percentage when feed mixtures with two levels of RM and RMP were

Table 7. The effect of interaction of different levels of RM and fortification with 1% phospholipids on feed consumption in kg per 1 kg weight gain of male turkeys

Parameter	Unit	Interactions A x B					
		a_0b_0	a_1b_0	a_2b_0	a_0b_1	a_1b_1	a_2b_1
Group number		2	2	2	2	2	2
KR1 mixture consumption from day 1 to day 28	kg/kg	1.691	1.599	1.608	1.637	1.646	1.599
Index	%	100.00	94.56	95.09	96.81	97.34	94.56
KR2 mixture consumption from day 29 to day 56	kg/kg	2.151	2.282	2.376	2.175	2.240	2.283
Index I	%	100.00	106.09	110.46	101.12	104.14	106.14
Index II	%	100.00	106.09	110.46	100.00	102.99	104.97
KR3 mixture consumption from day 57 to day 98	kg/kg	2.806	2.907	3.043	2.763	2.786	2.818
Index I	%	100.00	103.60	108.45	98.47	99.29	100.43
Index II	%	100.00	103.60	108.45	100.00	100.83	101.99
Total feed consumption from day 1 to day 56	kg/kg	2.071	2.161	2.236	2.089	2.139	2.165
Index I	%	100.00	104.35	107.97	100.87	103.28	104.54
Index II	%	100.00	104.35	107.97	100.00	102.39	103.64
Total feed consumption from day 1 to day 98	kg/kg	2.753	2.847	2.971	2.715	2.736	2.764
Index I	%	100.00	103.41	107.92	98.62	99.38	100.40
Index II	%	100.00	103.41	107.92	100.00	100.77	101.80

Legend: see Table 4

Table 8. The effect of different levels of RM and fortification with 1% phospholipids on dressing percentage in male turkeys

Parameter	Unit	Rapeseed meal			Phospholipids	
		a_0	a_1	a_2	b_0	b_1
Number of determinations		8	8	8	12	12
Dressing percentage	%	82.18	82.52	83.11	82.27	82.94
S.D.	%	± 1.291	± 1.976	± 1.222	± 1.886	± 1.006
Index	%	100.00	100.41	101.13	100.00	100.81

Legend: see Table 4

Table 9. The effect of interaction of different levels of RM and fortification with 1% phospholipids on dressing percentage in male turkeys

Parameter	Unit	Interactions A x B					
		a_0b_0	a_1b_0	a_2b_0	a_0b_1	a_1b_1	a_2b_1
Number of determinations		4	4	4	4	4	4
Dressing percentage	%	81.64	81.54	83.63	82.73	83.50	82.60
Index I	%	100.00	99.88	102.44	101.34	102.28	101.18
Index II	%	100.00	99.88	102.44	100.00	100.93	99.84

Legend: see Table 4

used, Table 9 documents the effect of RM x RMP interactions. The average value of dressing percentage of male turkeys at 98 days of age was about 82.6%. The values were not influenced by the experimental variants and were in the range of natural variability.

DISCUSSION

As indicated by the results, the body weight of male turkeys was not influenced by the levels of 8.8% and

17.6% RM and RMP as SM aliquots during the whole production period. This finding is in agreement with conclusions drawn Výmola (1996). The negative effect of RM application to feed mixtures KR2 and KR3 was reflected by increased feed consumption per 1 kg weight gain. This result can be explained by the lower energy value of RM than in SM. The result is also confirmed by the effect of 1% phospholipids in RM, partly eliminating this negative impact (Fig. 1). Our experimental results imply new aspects of rapeseed meal and phospholipid use in diets for turkeys, and it

is not possible to confront them with any results in available literature for the time being.

The experimental results and economic indicators (the cost of soybean meal and the cost of rapeseed meal fortified with 1% phospholipids) suggest that RMP could be used in feed mixtures KR2 and KR3 as a replacement of 6.34% SM on condition that the initial SM level in mixtures KR2 and KR3 was 25%.

REFERENCES

- Bouvaerel I., Van-Der-Horst F. (1994): Influence of glucosinolate very low rapeseed meal on growth performances in young turkeys. *Sciences-et-Techniques-Avicoles*, No. 9: 26–30.
- Daenicke S., Jeroch H., Kracht W., Heidenreich E. (1994): Effect of different technical treatment procedures of rapeseed on the nutrients digestibility and on the conversion of energy by broiler and laying hens. In: 106. VDLUFA Congr., Jena: 816–818.
- Haščík P., Kováč M., Hanzlík K. (1994): Náhrada sójového extrahovaného šrotu repkovými výlisky druhé fáze výkrmu brojlerových kuřat (Substitution of rape-seed oil-cake for soybean meal during the second feeding phase of broilers). *Živoč. Vyr.*, 39: 1041–1047.
- Lessire M., Evrard J., Widiez J. L., Quinsac A., Fauduet H. (1993): Prospects for use of rapeseed meal in broiler. In: Colloquium Glucosinolates, 10 Years of Research, Ardon, 14: 96–103.
- Schöne F., Jahreis G., Richter G., Lange R. (1993): Evaluation of rapeseed meals in broiler chicks: effect of iodine supply and glucosinolate degradation by myrosinase or copper. *J. Sci. Food Agr.*, 61: 245–252.
- Schlöffel J., Jeroch H., Seffner W., Jahreis G. (1993): Toasted rapeseed meal in broilers fattening diet. *Arch. Anim. Nutr.*, 45: 79–87.
- Soukupová Z., Přibyl J., Přibyl J., Výmola J. (1995): Náhrada sóji a kukuřice semenem řepky, pšenici, ječmenem a hrachem při výkrmu krůt (Replacement of soybean meal and maize by rapeseed, wheat and pea in turkey fattening). *Živoč. Vyr.*, 40: 263–268.
- Snedecor G. W., Cochran W. C. (1969): *Statistical Methods*. 6th ed. Ames, The Iowa State University.
- Výmola J., Kodeš A., Obadálek J. (1996): Řepkové výlisky ve výkrmu těžkých krůt (Rapeseed cake in heavy turkey fattening). *Živoč. Vyr.*, 41: 15–19.
- Zobač P., Kumprecht I., Prokop V., Čmolík J. (1998): Use of rapeseed meal and lecithin slops in diets for broiler chicks. *Czech J. Anim. Sci.*, 43: 511–519.
- Postupy pro laboratorní zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů. Příloha č. 9 k vyhlášce č. 222/1996 Sb. (Procedures for Laboratory Testing of Feeds, Supplements and Premixes. Appendix 9 to Regulation no. 222/1996).

Received for publication on June 9, 1999
Accepted for publication on September 27, 1999

Contact Address:

RNDr. Petr Zobač, CSc., Výzkumný ústav výživy zvířat, s. r. o., 691 23 Pohořelice, Česká republika, tel.: 0626/42 45 41, fax: 0626/42 43 66, e-mail: zobac@vuvz.cz

INFLUENCE OF THREE TYPES OF OIL IN DIET UPON SOME BLOOD AND CONDITION INDICES OF RAINBOW TROUT, *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM)

VLIV TŘÍ TYPŮ OLEJŮ V DIETĚ NA NĚKTERÉ KREVŇÍ A KONDIČNÍ UKAZATELE U PSTRUHA DUHOVÉHO, *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM)

J. Řehulka¹, J. Párová²

¹ University of South Bohemia České Budějovice, Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodňany, Department of Aquatic Toxicology and Fish Diseases, Laboratory Opava, Czech Republic

² Research Institute of Animal Nutrition, s.r.o., Pohořelice, Czech Republic

ABSTRACT: After 138 days of administration, rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) at a weight of 234 ± 20.7 g (mean \pm S.D.) was assessed for the biochemical response of some metabolites in the plasma and some condition parameters to a 4% supplement of fish oil (experimental group 1), rape-seed oil (experimental group 2) and sunflower-seed oil (experimental group 3), added to the basic diet containing 37.47 to 38.20% of its weight as crude protein and 10.7 to 12% as crude fat. The groups serving for comparison included an experimental group of fish fed German pellets with a 43.15% proportion of crude protein and a 13.35% proportion of crude fat (no. 4) and an experimental group of fish fed Danish pellets with a 38.3% proportion of crude protein and an 18.49% proportion of crude fat (no. 5). From the viewpoint of nitrogen metabolism, the significantly highest ($P = 0.01$) urea level (BUN) was recorded in experimental group 1 (0.7 mmol.L^{-1}). Also recorded in experimental group 1 was the highest concentration of inorganic phosphate (P) (6.10 mmol.L^{-1}) which highly significantly ($P = 0.01$) exceeded the phosphorus level in experimental group 3 (5.41 mmol.L^{-1}). The highest level of calcium (Ca^{2+}) was observed in experimental group 2 (2.96 mmol.L^{-1}). The concentration of the potassium cation (K^+) ranged between 0.4 and 0.8 mmol.L^{-1} in the experimental groups and was highly significantly ($P = 0.01$) lower in the fish given diet no.5 (2.3 mmol.L^{-1}). In experimental groups 1, 2 and 3, total proteinemia was lower than in the fish given diet no. 4 (35.9 to 39.4 vs 42.4 g.L^{-1}) and higher than in the fish given diet no. 5 (33.6 g.L^{-1}). The higher levels of urea in experimental groups 1, 2 and 3 signaled a significantly higher degree of protein metabolism, compared to experimental group 4 (0.4 mmol) and, in particular, compared to experimental group 5 (0.3 mmol.L^{-1}). The liver somatic index (LSI) was highest in the fish given a supplement of fish oil and sunflower oil (1.39 and 1.4, respectively) and lowest in the experimental group of fish given a rape-seed oil supplement (1.23). Generally, the highest LSI was obtained in the fish to which diet no. 4 was administered (1.44%). The sensitive response of the rainbow trout to the feed composition indicates how important it is to perform biochemical examinations as part of the general approach to the assessment of feeding trials aimed at maintaining and regulating an optimum internal environment inside the fish body.

Keywords: rainbow trout; feeding experiment; additions of oils; biochemical indices of the blood plasma; liver somatic index

ABSTRAKT: U pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) o hmotnosti $234 \pm 20,7$ g (průměr \pm směrodatná odchylka) byla po 138 dnech vyhodnocena biochemická odezva některých plazmatických metabolitů a kondičních ukazatelů na 4% přídavek rybiho (pokusná skupina č. 1), řepkového (pokusná skupina č. 2) a slunečnicového oleje (pokusná skupina č. 3) do základní diety s obsahem 37,47 až 38,20 % dusíkatých látek a 10,7 až 12 % tuku. Jako srovnávací sloužily pokusná skupina ryb krmená granulemi německé proveniencce se 43,15% N-látek a 13,35 % tuku (č. 4) a pokusná skupina ryb krmená granulemi dánské proveniencce se 38,3 % N-látek a 18,49 % tuku (č. 5). Z hlediska dusíkového metabolismu byla zjištěna signifikantně ($P = 0.01$) nejvyšší hladina močoviny (BUN) u 1. pokusné skupiny ($0,7 \text{ mmol.l}^{-1}$). Nejvyšší koncentrace anorganického fosfátu (P) byla rovněž u 1. pokusné skupiny ($6,10 \text{ mmol.l}^{-1}$), která vysoce signifikantně ($P = 0,01$) převyšovala hladinu tohoto minerálu u 3. pokusné skupiny ($5,41 \text{ mmol.l}^{-1}$). Nejvyšší hladinu kalcia (Ca^{+2}) jsme zaznamenali u 2. pokusné

Presented results were obtained during tenure of research grant No. 6556 awarded by the National Agency for Agricultural Research of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic in 1996–1998.

skupiny ($2,96 \text{ mmol.l}^{-1}$). Koncentrace draselného kationtu (K^+) kolísala u experimentálních skupin od 0,4 do 0,8 mmol.l^{-1} a byla enormně signifikantně ($P = 0,01$) nižší u ryb krmených dietou č. 5 ($2,3 \text{ mmol.l}^{-1}$). U pokusných skupin 1, 2 a 3 byla zjištěna nižší celková proteinémie než u ryb krmených dietou č. 4 ($35,9$ až $39,4$ vs $42,4 \text{ g.l}^{-1}$) a vyšší celková proteinémie oproti rybám krmeným dietou č. 5 ($33,6 \text{ g.l}^{-1}$). Vyšší hladiny močoviny u pokusných skupin 1, 2 a 3 signalizovaly signifikantně vyšší stupeň metabolismu dusíkatých látek oproti pokusné skupině 4 ($0,4 \text{ mmol.l}^{-1}$) a zejména oproti pokusné skupině 5 ($0,3 \text{ mmol.l}^{-1}$). Hepatosomatický index (LSI) byl nejvyšší u ryb krmených přidavkem rybiho oleje a slunečnicového oleje ($1,39$ a $1,4 \%$) a nejnižší u pokusné skupiny s přidavkem řepkového oleje ($1,23 \%$). Nevyšší LSI vůbec byl zjištěn u ryb krmených dietou č. 4 ($1,44 \%$). Citlivá reakce pstruha duhového na složení podávaného krmiva ukázala na význam biochemického vyšetření jako součásti komplexního přístupu při hodnocení krmných pokusů v zájmu udržování a regulace vnitřního prostředí organismu v optimu.

Klíčová slova: pstruh duhový; krmný pokus; přidavky olejů; biochemické ukazatele krevní plazmy; hepatosomatický index

INTRODUCTION

The advanced trends of optimization of rainbow trout feed formulae include targeted efforts for an optimum energy balance of the feeds, using the latest findings relating to the use of fat as a source of metabolized energy, while reducing the proportion of protein. This was tested by Austreng (1976a, b) in trials with an increased content of fat in the pellets (16% instead of 8%) and later also by Gropp *et al.* (1982), who proved that 5% of protein can be replaced by a supplement of the same quantity of fat without affecting the growth of the fish and the feed conversion rate. This finding encouraged many authors to formulate feeds lower in crude protein (below 40%) than recommended by other authors (Satia, 1974; Delong *et al.*, 1958; Steffens, 1970a, b, 1989).

Under Czech conditions, a higher content of fat (10–12%) in the granulated feed for rainbow trout was first tested by Pokorný (1982), who examined experimental diets containing poultry meal and poultry fat. Later trials performed by Dvořák (1989) with food lecithin further developed the good experience of Russian researchers who had examined phosphatides (Privoľnev *et al.*, 1964, 1969; Shabalina, Ostroumova, 1976).

However, what is important for the biological and production effectiveness of feeds for the rainbow trout is also the quality of fat. There are discussions in this context, concerning the importance of linoleic acid (Castell *et al.*, 1972) and the content of highly unsaturated fatty acids 20 : 5 w 3, 22 : 6 w 3.

The presented study was conducted within a project of developing a formula and feeding technology in respect of Czech pellets for commercially produced rainbow trout where the content of fat would be increased and the cereal component and the content of crude protein would be minimized. The objective of the research was to optimize the composition of oils in a number of aspects, including, inter alia, the need to make pellets of an optimum strength and structure to allow for sufficient sorption of oils. Comparison with some products as internationally recognized benchmarks is one of the ways of securing compliance with the latest requirements for the nutrition of rainbow trout while respecting the strictest environmental criteria. The feeds pro-

duced by a German company and a Danish company, which currently have a considerable influence on the Czech market of feeds belonging in the same category as theirs, could serve as such benchmarks.

The purpose of the experiments was to assess three types of oils (fish oil, rape-seed oil and sunflower-seed oil) and different levels of fat in the granulated feeds for rainbow trout on the physiological state of the fish, assessed according to some biochemical indices of the blood plasma and the key indices of condition.

The results of the investigation extend and complete our partial conclusions regarding the growth, feed conversion, chemical composition of the body and state of health of the fish, as described in our previous papers (Párová *et al.*, 1997; Párová, Řehulka, 1997).

MATERIAL AND METHODS

To perform the experiments, 4% fish oil (experimental diet no. 1), 4% rape-seed oil (experimental diet no. 2) and 4% sunflower-seed oil (experimental diet no. 3) were added to the basic diet with a fat content of 7–8% (the experimental layout is shown in Table 1). Commercial granulated feed produced in Germany (experimental diet no. 4) and in Denmark (experimental diet no. 5) served as reference feeds with which the tested formulations were compared. The nutrient levels in the experimental diets and in the reference diets used for comparison are shown in Table 2.

The trials were conducted with juvenile rainbow trout, all of the same origin, in good condition and good health, at a starting weight of $107 \pm 18.9 \text{ g}$ and final weight of $234 \pm 20.7 \text{ g}$ (mean \pm S.D.). The fish were fed by hand several times a day, using a ration representing 0.8–1.2 % of the weight of the stock.

The experiments were started on a trout farm on May 21, 1997, in flow-through concrete tanks 6 m^3 in size, and were conducted in three replications, the total number of fish in the experiment being in excess of 17 000 individuals. The water had the following physical and chemical characteristics during the trial: temperature $10.5 \text{ }^\circ\text{C}$, dissolved O_2 content 11.7 mg.l^{-1} , COD_{Mn} 4.85 mg.l^{-1} , $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 21.5 mg.l^{-1} , $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 0.075 mg.l^{-1} and $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 0.245 mg.l^{-1} .

Table 1. Formulations of experimental diets

Ingredients in %	Diets		
	1	2	3
Fish meal	37	37	37
Meat-bone meal	17	17	17
Soya extrudate	18	18	18
Wheat extrudate	16.2	16.2	16.2
Milk powder	2.5	2.5	2.5
Whey powder	4.5	4.5	4.5
Aminovitan Pd	0.8	0.8	0.8
Fish oil	4.0	-	-
Rape-seed oil	-	4.0	-
Sunflower-seed oil	-	-	4.0
Total	100	100	100

Composition of Aminovitan Pd supplement (contents in 1 kg):
 Vitamins: vitamin A 3 000 000 i.u., vitamin D₃ 400 000 i.u., vitamin E 30 000 mg, vitamin K₃ 1 000 mg, vitamin B₁ 2 000 mg, vitamin B₂ 2 000 mg, vitamin B₆ 2 400 mg, vitamin B₁₂ 5 mg, niacin 10 000 mg, calcium pantothenate 10 000 mg, choline 100 000 mg, folic acid 500 mg, vitamin C 100 000 mg, biotin 50 mg, inositol 100 000 mg, antioxidant Endox
 Amino acids: DL-methionine 100 000 mg, L-lysine HCl 100 000 mg
 Microelements: cobalt 45 mg, copper 840 mg, iron 6 450 mg, iodine 75 mg, manganese 8 350 mg, zinc 8 150 mg, selenium 24 mg

Table 2. Nutrient contents in the experimental and comparative diets

Indices	1	2	3	4	5
Dry matter (%)	90.60	91.75	90.23	90.81	92.64
Crude protein (% in dry matter)	38.20	39.90	37.47	43.15	38.30
Crude fat (% in dry matter)	11.03	11.99	10.70	13.35	18.49
Ash (% in dry matter)	10.96	10.93	10.69	6.78	5.59
Crude fibre (% in dry matter)	1.59	1.44	1.84	2.14	3.94
NFE (% in dry matter)	28.82	27.49	29.53	25.39	26.32
Lysine (% in dry matter)	2.30	2.42	2.33	2.70	2.50
Methionine (% in dry matter)	0.83	0.89	0.82	0.81	0.83
Ca (g.kg ⁻¹)	25.80	22.90	24.20	12.70	6.17
P (g.kg ⁻¹)	5.58	12.7	12.9	8.38	6.00
Gross energy (MJ.kg ⁻¹)	16.9	17.4	16.7	16.3	19.2
Metabolized energy (MJ.kg ⁻¹)	15.1	15.5	14.9	18.3	17.4

The closing biochemical examination was performed on October 9 at a water temperature of 10 °C. The fish were anesthetized with Menocaine and then the blood sample was taken by puncturing the blood vessels of the caudal peduncle 24 hours after the last feeding between the 7th and 11th hour. The blood was taken in this way from 8 to 10 fishes of each experimental group. Aqueous solution of heparin was used as anticoagulant: the injection needle was rinsed with the solution before each sampling. To perform the biochemical examination, the blood was centrifuged after collection from each group, the plasma was separated, and except the potassium cation (K⁺) and sodium cation (Na⁺) (flame emission photometry) all charac-

teristics were determined on a HITACHI 717 automatic instrument within 24 hours. The following items were also determined: total protein (TPP), urea (BUN), uric acid (UA), creatinine (CREA), glucose (GLU), calcium (Ca²⁺), and inorganic phosphate (P).

As to the condition parameters, the total weight of the fish and the weight of eviscerated fish were determined to the nearest 1 g and liver weight was determined to the nearest 0.01 g. These results were then used for the calculation of the liver somatic index (LSI) and the condition coefficient (after Fulton) and the Clark formula.

During the mathematical and statistical processing of the results, the selected sets of the experimental groups were assessed from the one-dimensional aspect; the absolute and relative variances were characterized by the arithmetic mean, standard deviation and the coefficient of variance. Confidence intervals of the arithmetic means of the basic sets were calculated at a significance level of $P = 0.05$. The statistical significance of the differences between the arithmetic means of the selected sets was checked by the *t*-test at significance levels of $P = 0.05$ and $P = 0.01$.

RESULTS AND DISCUSSION

The clinical manifestations of the state of health of the stocks in the experimental groups of fish, monitored in monthly intervals, did not show any deviations. The *post mortem* examination performed at the end of the trial did not indicate any pathological changes. The parasitologic finding indicated sporadic occurrence of *Gyrodactylus bohemicus*, *Trichodina* sp. and *Apiosoma* sp. on the skin and fins and *Trichodina* sp. and *Apiosoma* sp. on the gills.

It follows from an over-all evaluation of the results shown in Table 3 that rainbow trout gave a varying response to the tested feeds. This is documented, in

Table 3. Biochemical and condition parameters in 1+ rainbow trout at the end of the experiment

Indices	Experimental group										Statistical significance	
	1		2		3		4		5			
TPP	g.L ⁻¹	35.9 ¹⁾ 33.1–38.7 ³⁾	3.44 ²⁾ 9.58 ⁴⁾	39.4 ^a 37.5–41.3	2.5 6.35	39.4 33.8–45	6.25 15.86	42.4 ^b 35.3–49.5	8.66 20.42	33.6 ^{ab} 28.5–38.7	5.68 16.9	ab: <i>P</i> = 0.05
GLU	mmol.L ⁻¹	4.4 ^{bc} 3.5–5.3	1.06 24.89	4.5 ^b 3.5–5.5	1.30 28.89	5.1 4.2–6	1.06 20.78	6.3 ^{bc} 5.4–7.3	1.16 18.41	6.1 ^a 4.5–7.7	1.78 29.18	a: <i>P</i> = 0.05 bc: <i>P</i> = 0.01
BUN	mmol.L ⁻¹	0.7 ^{adef} 0.6–0.8	0.13 18.57	0.5 ^{bc} 0.4–0.6	0.08 16	0.5 ^{cf} 0.4–0.6	0.12 24	0.4 ^d 0.3–0.5	0.09 22.5	0.3 ^{abc} 0.2–0.4	0.13 43.33	abcdef: <i>P</i> = 0.01
CREA	μmol.L ⁻¹	29 24–34	6.2 21.38	32 30–34	3.1 9.69	31 28–34	3.1 10	33 29–37	5.2 15.76	27 21–33	6.8 25.19	
UA	μmol.L ⁻¹	8 ^a 5–11	3.3 41.25	10 5–15	6.5 65	8 4–12	5 62.5	15 ^a 9–21	7.1 47.3	11 8–14	3.1 28.18	a: <i>P</i> = 0.05
Ca ²⁺	mmol.L ⁻¹	2.86 ^a 2.77–2.95	0.113 3.95	2.96 ^{bdc} 2.85–3.07	0.151 5.10	2.82 ^c 2.69–2.95	0.117 4.15	2.81 ^{cd} 2.72–2.9	0.099 3.52	2.63 ^{abc} 2.47–2.79	0.183 6.96	acde: <i>P</i> = 0.05 b: <i>P</i> = 0.01
P	mmol.L ⁻¹	6.10 ^{ach} 5.66–6.54	0.536 8.79	5.70 ^{bf} 5.3–6.1	0.529 9.28	5.41 ^{cg} 4.77–6.05	0.714 13.2	4.82 ^{defg} 4.25–5.39	0.704 14.61	3.63 ^{abcd} 3.3–3.96	0.365 10.06	abcdefg: <i>P</i> = 0.01 h: <i>P</i> = 0.01
K ⁺	mmol.L ⁻¹	0.4 ^a 0.3–0.5	0.07 17.5	0.6b 0.5–0.7	0.11 18.33	0.8 ^c 0.004–1.6	0.89 111.25	0.8 ^d 0.6–1	0.3 37.5	2.3 ^{abcd} 1.5–3.1	0.91 39.57	abcd: <i>P</i> = 0.01
Na ⁺	mmol.L ⁻¹	160 ^a 159–161	1.5 0.94	161 ^{bc} 160–162	1.7 1.06	158 154–162	4 2.53	159 ^c 157–161	2.1 1.32	157 ^{ab} 156–158	0.9 0.57	ab: <i>P</i> = 0.1 c: <i>P</i> = 0.05
LSI	%	1.39 ^a 1.29–1.49	0.128 9.21	1.23 ^{abc} 1.16–1.30	0.098 7.97	1.4 ^b 1.3–1.5	0.112 8	1.44 ^{cd} 1.3–1.58	0.168 11.67	1.39 ^d 1.24–1.54	0.172 12.37	abc: <i>P</i> = 0.05 d: <i>P</i> = 0.01
Fulton		1.41 1.36–1.46	0.056 3.97	1.48 1.45–1.51	0.041 2.77	1.5 1.38–1.62	0.137 9.13	1.41 1.36–1.46	0.058 4.11	1.49 1.41–1.57	0.090 6.04	
Clark		1.19 1.15–1.23	0.046 3.87	1.27 1.23–1.31	0.050 3.94	1.26 1.18–1.34	0.093 7.38	1.2 1.14–1.26	0.075 6.25	1.25 1.18–1.32	0.076 6.08	

Note: ¹⁾ arithmetic mean, ²⁾ standard deviation, ³⁾ confidence interval for parameter μ with 95% probability (Reisenauer, 1970), ⁴⁾ coefficient of variation in %
The values designated by indexes a, b, c, d, e, f, g, h express a significant difference between the experimental groups

particular, by a number of significant differences not only between the experimental groups given feeds containing fats of different quality but also between the reference groups fed commercially available pellets with different ratios of ingredients and different levels of fat and crude protein.

As to the protein metabolism, attention should be paid to the significantly higher levels of urea in the fish of experimental group 1 to which pellets containing a fish oil supplement were administered. This may indicate to an increased intensity of the protein metabolism. As to the metabolism of minerals, the fish in experimental group 1 had more inorganic phosphate, the difference from experimental group 3 being highly significant. The highest level of calcium in the plasma was recorded in experimental group 2. Potassium level in the plasma of the fish of experimental groups 1, 2 and 3 ranged from 0.4 to 0.8 mmol.L⁻¹; what can be considered as interesting is the great variation range of the potassium cation in the fish of experimental group 3 where the individual values ranged from 0.5 to 1.1 mmol.L⁻¹. The level of Na⁺ was among the most balanced parameters.

Considering the quality of protein metabolism in experimental groups 1, 2 and 3, it can be stated that these groups have a lower total proteinemia than the fish given diet no. 4 and a higher total proteinemia than the fish given diet no. 5. As to the other characteristics of nitrogen metabolism, it is interesting to note the significantly higher urea concentration mainly in comparison with the level of this metabolite in the fish given diet no. 5: the higher values of this parameter signalize a higher rate of nitrogen metabolism in experimental groups 1, 2 and 3.

Glycemia was significantly higher in both reference groups, especially when compared with experimental groups 1 and 2.

The values of calcium and inorganic phosphate were among the most interesting results of the biochemical analysis. This was so mainly because of the frequent differences between the groups and because of the significantly higher levels of inorganic phosphate in the blood of the fish of experimental groups 1, 2 and 3. As to the potassium cation, it is surprising how high is its level in the plasma of the trout fed diet no. 5, compared with the remaining experimental groups. The level of the sodium cation was significantly lower in the fish fed the German and Danish pellets, especially when compared with experimental groups 1 and 2.

When discussing the results, special attention should be paid to the relatively low level of uric acid in the fish of all experimental groups, as compared with the results of our previous experiments (Řehulka, 1999a, b). In these experiments, the concentration of uric acid in the plasma grew with the content of crude protein in the feed from 41 to 47%, regardless of how much fat was present in the feed (between 3.5 and 14% in the experiments). Uric acid concentration in the blood ranged from 73.7 to 295 mmol.L⁻¹. In the same experi-

ments, the content of urea was as high as 1.5 mmol.L⁻¹ and the content of Ca⁺ was up to 3.62 mmol.L⁻¹.

The different types of fats used in the experimental diets also affected the value of the liver somatic index which is, in these types of experiments, a significant condition parameter of the state of the liver parenchyma. The highest LSI was recorded in the fish given pellets with a supplement of fish oil (1) and sunflower-seed oil (3) and the lowest in the experimental group with a supplement of rape-seed oil (2). The absolutely highest LSI was found in the experimental group of fish given diet no. 4. No pathological changes were found in the liver by histological examination.

The results have contributed to the extension and enhancement of the knowledge of the clinical biochemistry of the rainbow trout which, under the conditions of aquaculture in the Czech Republic, is still far from the level needed for adequate differentiation of the biochemical processes in healthy and diseased fish. The fact that rainbow trout responded sensitively to the quality of nutrition in our experiments proves the need of other biochemical studies to be performed in order to extend the knowledge of the metabolic response to the composition of the feed ration which is so important for the targeted implementation of progressive trends in salmonid culture, based on the optimization of life processes and respecting the economic aspect (reduction of the time of feeding) while also respecting the environmental interests, i.e. the need to minimize exposures of the aquatic environment to biogenic elements.

Our next paper will provide information on the biochemical experiments which will be extended to cover also some parameters of the metabolism of fats; in addition, we will provide information on the hematological response to the feed ration in trials focused on reaching optimum proportions of unsaturated and saturated fatty acids.

REFERENCES

- Austreng E. (1976a): Fett og protein i for til laksefisk. II. Fettinnhold i torriør til regnbueaure (*Salmo gairdneri*, Richardson). Meld. norg. Landb.-Hogsk., 55 (16): 1-14.
- Austreng E. (1976b): Fett og protein i for til laksefisk. III. Ulike fettyper i torriør til regnbueaure (*Salmo gairdneri*, Richardson). Meld. norg. Landb.-Hogsk., 55 (7): 1-18.
- Castell J. D., Sinhuber R. O., Wales J. H., Lee D. J. (1972): Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): physiological symptoms of EFA deficiency symptoms. J. Nutr., 102, 1972: 77-85.
- Delong D. C., Halver J. E., Mertz E. T. (1958): Nutrition of salmonid fishes. VI. Protein requirements of chinook salmon at two water temperatures. J. Nutr., 65: 589-599.
- Dvořák J. (1989): Využití řepkového lecitinu v krmných směsích pro pstruha duhového (Using rape-seed lecithin in the compound feeds for rainbow trout). In: Sbor. Ref. Chov lososovitých ryb, Vodňany: 172-176.

- Gropp J., Schwalb-Bühling A., Koops H., Tiews K. (1982): On the protein-sparing effect of dietary lipids in pellet feeds for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Arch. Fisch.-Wiss., 33: 79–89.
- Párová J., Řehulka J. (1997): The effect of dietary fat in market rainbow trout on growth dynamics, specific growth rate and health of trout. Živoč. Výr., 42: 547–551.
- Párová J., Herman M., Prokop V. (1997): The effect of dietary fat in market rainbow trout on fish weight gain, conversion coefficient and chemical composition of body. Živoč. Výr., 42: 495–499.
- Pokorný J. (1982): Drůbeží úšusky jako náhrada rybí moučky v krmných směsích pro pstruha duhového (Dried poultry offal to replace fish meal in feed mixtures for the rainbow trout). Bull. VÚRH Vodňany, 18 (3): 12–27.
- Privoľnev T. I., Strelcova S. V., Brizinova P. N., Ostroumova I. N., Koroleva N. V. (1964): Predokhranenie ot lipidnoi degeneratsii pečeni raduzhnoi foreli vvedeniem v ratsion fosfatidov. DAN SSSR, 156: 3.
- Privoľnev T. I., Strelcova S. V., Brizinova P. N., Ostroumova I. N., Koroleva N. V. (1969): Uskorenienie rosta raduzhnoi foreli i predokhranenie ee ot tseroidnoi degeneratsii pečeni uvedeniem v kormovye smesi fosfatidov. In: Fiziologicheskie Osnovy Razvedeniya Raduzhnoi Foreli. Leningrad, Izd. GosNIORKh, 68: 23–35.
- Řehulka J. (1994a): Hematologický a biochemický profil pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss*, při testování antioxidantu Neox na bázi butylhydroxytoluolu (BHT). Živoč. Výr., 39: 515–537.
- Řehulka J. (1994b): Srovnávací krmný pokus s německým krmivem Alma Forellenfutter 45 pro pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Bull. VÚRH Vodňany, 30 (3): 74–89.
- Satia B. P. (1974): Quantitative protein requirements of rainbow trout. Prog. Fish-Cult., 36: 80–85.
- Shabalina A. A., Ostroumova I. N. (1976): Vvedenie rastitelnykh i sinteticheskikh zhirov v korma foreli. In: Fiziologicheskie Osnovy Sostavleniya Granulirovannykh Kormov Dlya Raduzhnoi Foreli. Leningrad, Izd. GosNIORKh, 72: 95–102.
- Steffens W. (1970a): Vergleichende Fütterung von Regenbogenforellenbrut und -setzlingen mit zwei Trockenfuttermitteln. Dtsch. Fisch.-Ztg., 17: 247–251.
- Steffens W. (1970b): Ergebnisse und Probleme auf dem Gebiet der Ernährung von Fischen unter industriemässigen Produktionsbedingungen. Z. Fish., N.F., 18: 195–207.

Received for publication on July 30, 1999

Accepted for publication on September 27, 1999

Contact Address:

Ing. Jiří Řehulka, CSc., Jihočeská univerzita České Budějovice, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický Vodňany, pracoviště Opava, Nádražní okruh 33, 746 01 Opava, Česká republika, tel.: 0653/62 86 60, fax: 0653/62 13 56, e-mail: vurhjuop@pvtnet.cz

STANOVENIE VÝŽIVNEJ HODNOTY ODRÔD PŠENICE ŠPALDA (*TRITICUM SPELTA* L.) A OZIMNEJ PŠENICE (*TRITICUM AESTIVUM* L.) CHEMICKÝMI A BIOLOGICKÝMI METÓDAMI

ASSESSMENT OF NUTRITIONAL VALUE IN SPELT (*TRITICUM SPELTA* L.) AND WINTER (*TRITICUM AESTIVUM* L.) WHEAT BY CHEMICAL AND BIOLOGICAL METHODS

M. Chrenková¹, Z. Čerešňáková¹, A. Sommer¹, Z. Gálová², V. Kráľová²

¹Research Institute of Animal Production, Nitra, Slovak Republic

²Slovak University of Agriculture, Faculty of Agronomy, Nitra, Slovak Republic

ABSTRACT: The nutritional value of two varieties of spelt wheat (*Triticum spelta* L.) was compared with the conventional variety of winter wheat (*Triticum aestivum*) grown in Slovakia and Sweden. The chemical analysis shows that *T. spelta* has a significantly higher content of crude protein, proteins ($P < 0.001$), more nonessential amino acids and significantly less lysine (16 g N, $P < 0.05$). The assessed values show that with an increasing content of crude protein the content of proteins does not increase proportionately. The representation of individual protein fractions, with different digestibility, changes with the variation of total N content. We did not find any significant differences between the varieties on the basis of biological test of growth in rats. The highest biological value of proteins (BVP) was assessed for the German variety of spelt wheat grown in Slovakia (75.6%) out of the tested wheats, however, the differences between the varieties were not significant. We found significant differences in excrement N output from N uptake, and it manifested itself in significant differences in digestibility of crude protein which was higher in the samples of spelt wheat (80.5 and/or 85.1%). The quality of proteins in spelt wheat is higher than in winter wheat Samanta, which is also demonstrated by higher NPU and UP values.

Keywords: wheat; spelt wheat; crude protein; protein fractions; digestibility of crude protein; BVP and PER; NPU, laboratory rat

ABSTRAKT: V príspevku porovnávame výživnú hodnotu dvoch odrôd špaldy (*Triticum spelta* L.) s konvenčnou odrodou ozimnej pšenice (*Triticum aestivum*) dopestovaných na Slovensku a vo Švédsku. Chemické analýzy ukazujú, že *T. spelta* má preukazne vyšší obsah N-látok, bielkovín ($P < 0.001$), viac neesenciálnych aminokyselín a preukazne menej lyzínu (g/16 g N) ($P < 0.05$). Zo stanovených hodnôt vidieť, že so stúpaním obsahu N-látok nestúpa úmerne obsah bielkovín. Pri zmene celkového obsahu dusíka sa mení zastúpenie jednotlivých bielkovinových frakcií, ktoré majú rôznu stráviteľnosť. Na základe biologického rastového testu na laboratórnych potkanoch sme nezistili medzi odrodami preukazné rozdiely. Z testovaných pšeníc sme najvyššiu biologickú hodnotu bielkovín (BHB) stanovili pre nemeckú odrodu špaldy dopestovanú na Slovensku (75,6 %), avšak rozdiely medzi odrodami boli nevýznamné. Zistili sme významné rozdiely v podiele dusíka vylúčeného výkalmi z dusíka prijatého, čo sa prejavilo na významných rozdieloch v stráviteľnosti N-látok, ktorá bola u vzoriek pšenice špaldy vyššia (80,5, resp. 85,1 %). Kvalita bielkovín špaldovej pšenice je vyššia ako v ozimnej pšenici Samanta, čo dokazujú aj vyššie hodnoty NPU a UP.

Kľúčové slová: pšenica; špalda; N-látky; bielkovinové frakcie; stráviteľnosť N-látok; BHB a PER; NPU; laboratórny potkan

ÚVOD

V Slovenskej republike sa ozimná pšenica, ktorá sa využíva vo výžive ľudí a zvierat, pestuje na vyše 420 tis. hektároch. Hoci väčšia časť svetovej úrody pšenice je z produkcie *Triticum aestivum* (L.) a *Triticum durum*, vzrastá záujem aj o starobylé odrody pšenice, hlavne o špaldu (*Triticum spelta* (L.)), ktorá svojou výživnou hodnotou prevažuje konvenčné odrody pšenice

siatej (Ranhoťra *et al.*, 1996; Šašek, Černý, 1997). Výživná hodnota pšeničného zrna je limitovaná najmä stráviteľnosťou bielkovín, aminokyselinovým zložením a využitelnosťou aminokyselín (Šimeček, 1980; Heger *et al.*, 1990). Obsah bielkovín je veľmi variabilný a je výsledkom genetických, agrotechnických a environmentálnych vplyvov (Prugar, Hraška, 1986; Márová *et al.*, 1992). Nízka výživná hodnota cereálnych bielkovín je podmienená hlavne vysokým podielom (30–49 %)

bielkovinových frakcií typu prolaminov (Karlubík *et al.*, 1976; Michalík, Karlubík, 1988; Gálová *et al.*, 1997), ktoré sa vyznačujú nízkym obsahom esenciálnych aminokyselín, najmä lyzínu, tryptofánu, metionínu a arginínu.

Cieľom práce bolo stanoviť výživnú hodnotu *Triticum spelta* (L.) chemickými a biologickými metódami a porovnať ju s výživnou hodnotou ozimnej pšenice Samanta.

MATERIÁL A METÓDA

Predmetom testovania boli vzorky pšenice Samanta a špalda I (nemecká odroda špaldy dopestovaná na Slovensku), dodané z experimentálnej základne Katedry poľnohospodárskych sústav AF SPU v Nitre a špalda II (dopestovaná vo Švédsku), dodaná z Poľnohospodárskej univerzity v Uppsale.

Chemické metódy

Vo vzorkách pšeníc sme stanovili obsah dusíka Kjeldahlovou metódou, bielkovín metódou podľa Barnsteina a bielkovinových frakcií extrakčnou metódou podľa Golenkova (ICC metóda) v modifikácii Michalíka *et al.* (1989). Obsah aminokyselín po kyslej hydrolyze 6M-HCl a metionínu s cystinóm po oxidačnej hydrolyze sme stanovili na automatickom analyzátoze aminokyselín AAA 400 (fy Ingos Praha).

Biologické metódy

Stráviteľnosť N-látok, bilanciú dusíka, BHB (biologická hodnota bielkovín), NPU (netto využitelnosť bielkovín), UP (využitelné bielkoviny), PER (bielkovinový produkčný index) a spotrebu krmiva na 1 g prírastku sme sledovali na potkanoch kmeňa Wistar z SPF chovu (Velaz Praha) s hmotnosťou cca 75 g. V každej pokusnej skupine bolo 6 zvierat. Zrno pšenice bolo jediným zdrojom dusíka v pokusných dávkach a N-látky testovaných krmív tvorili 10 % sušiny kŕmnej dávky.

Zloženie pokusnej diéty (v % sušiny):

Testované krmivo	10 % N-látok (1,6 g N x 6,25)
Sacharóza	10 %
Sójový olej	5 %
Minéralna zmes	6 %
Vitamínová zmes	2 %
Polyetylén	do 4 % (vrátane vlákny krmiva)
Pšeničný škrob	do 100 %

Hodnotu PER sme stanovili za obdobie 21 dní (kŕmny pokus) a BHB za obdobie 7 dní (bilančný pokus). UP sme dostali vynásobením N-látok a NPU.

Záchovnú potrebu dusíka (ZPN) a metabolický dusík výkalov (MNV) sme vypočítali z týchto regresných rovníc:

$$ZPN = 0,222 x + 22,93$$

$$MNV = 0,081 x + 3,01$$

kde: x – priemerná hmotnosť laboratórneho potkana v bilančnom období

Pokusy na potkanoch sme robili podľa autorov Eg-gum (1973) a Heger *et al.* (1990).

Výsledky pozorovaní medzi jednotlivými odrodami sme vyhodnotili jednofaktorovou analýzou rozptylu (ANOVA) pomocou štatistického integrovaného systému OA. Preukaznosť rozdielov v stredných hodnotách sme testovali F -testom a t -testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky chemických analýz testovaných vzoriek pšeníc (tab. 1) poukazujú na rozdiely v obsahu N-látok a bielkovín ($P < 0,001$). Zo stanovených hodnôt vidieť, že so stúpaním obsahu N-látok nestúpa úmerne obsah bielkovín. Najvyšší obsah N-látok a bielkovín sme stanovili v nemeckej odrode špaldy dopestovanej na Slovensku. Špalda dopestovaná vo Švédsku má nižší obsah N-látok, ale podielom bielkovín z obsahu N-látok sa medzi sebou nelíšia. Z prác viacerých autorov (Abdel-Aal *et al.*, 1995; Capouchová, 1996; Šašek, Černý, 1997) vyplýva, že zrno špaldy sa vyznačuje vyššou výživnou hodnotou v porovnaní s ozimnou pšeniceou. Gálová *et al.* (1997) nezistili preukazné rozdiely v obsahu bielkovín, ako aj jednotlivých frakcií bielkovín medzi odrodami špaldy a porovnávacou odrodou Vlada.

Výsledky, ktoré uvádzajú Moudrý a Vlasák (1996), indikujú, že zrno špaldy má vyšší obsah N-látok a vyšší obsah väčšiny esenciálnych aminokyselín než konvenčné pšenice, čo je v zhode s našimi výsledkami (tab. 1). Šašek a Černý (1997) udávajú až pätnásobne vyšší obsah lyzínu, čo sme my nepotvrдили.

Miera využitia dusíka bielkovín pšeníc je závislá nielen od celkového množstva aminokyselín, ale najmä od ich vybilancovanosti. V pšeničiach je všeobecne nepriaznivé zastúpenie esenciálnych aminokyselín, ako uvádzajú aj Pajtáš *et al.* (1996). S kvalitou bielkovín pšeníc úzko súvisí stráviteľnosť N-látok a bilancia dusíka u pokusných zvierat. Výsledky z biologickej časti testovania na základe výsledkov kŕmnych a bilančných pokusov s potkanmi sú uvedené v tab. 3 a 4.

Zvieratá vylučujú dusík v dvoch formách, a to ako organický viazaný dusík vo výkaloch a ľahko rozpustný dusík v moči. Medzi pokusnými skupinami sme nezistili štatisticky preukazné rozdiely v množstve dusíka vylúčeného močom. Priemerná hodnota podielu dusíka vylúčeného močom z prijatého dusíka predstavuje pre všetky kŕmne zmesi cca 41 %. Nestráviteľná časť N-látok z kŕmnej dávky sa odráža v množstve dusíka vo výkaloch. Zistili sme rozdiely v podiele dusíka vylúčeného výkalmi z dusíka prijatého, čo sa prejavilo na významných rozdieloch v stráviteľnosti N-látok. To zodpovedá aj významným rozdielom v obsahu N-látok v sledovaných vzorkách pšenice. Pri zmenách celkového obsahu N-látok sa mení zastúpenie jednotlivých bielkovinových frakcií (tab. 2), ktoré majú rôznu stráviteľnosť. Stráviteľnosť N-látok bola u vzoriek pšenice

Tab. 1. Obsah N-látok, bielkovín a aminokyselín v testovaných odrodách pšenice (g/100 g sušiny) – Contents of crude protein, proteins and amino acids in tested varieties of wheat (g/100 g dry matter)

Ukazovateľ	Samanta		Špalda I		Špalda II		Preukaznosť rozdielov ⁸
	1		2		3		
n = 4	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	
N-látky ¹ (N x 6,25)	9,99	0,38	16,36	0,37	12,71	0,33	1:2:3+++
Bielkoviny ²	8,98	0,31	14,16	0,13	11,26	0,43	1:2:3+++
Celkové AK ³	8,74	0,40	14,84	0,73	11,30	0,43	1:2:3+++
Esenciálne AK ⁴	3,40	0,19	5,46	0,20	4,12	0,28	1:3:2+++ 1:3++
Lyzín ⁵	0,26	0,01	0,37	0,02	0,31	0,02	1,3:2++++ 1:3+
Treonín ⁶	0,28	0,01	0,45	0,02	0,35	0,03	1:2:3+++
Esenciálne/neesenciálne AK ⁷	0,636	0,593	0,574				

AK – aminokyseliny

¹crude protein, ²proteins, ³total amino acids, ⁴essential amino acids, ⁵lysine, ⁶threonine, ⁷essential/nonessential AA, ⁸significance of differences

Tab. 2. Bielkovinové frakcie zrna testovaných odrôd (percentuálny podiel na celkovom obsahu N) – Protein fractions of the grain of tested varieties (percentual proportions in total N content)

	Samanta	Špalda I	Špalda II
Albumíny + globulíny ¹	26,2	24,8	26,1
Gliadíny ²	31,6	40,3	40,0
Gluteníny ³	29,4	26,5	24,4
Nerozpustný zvyšok ⁴	12,8	8,4	9,5

¹albumins + globulins, ²gliadins, ³glutenins, ⁴insoluble residue

Tab. 3. Výsledky testovania jednotlivých odrôd pšenice v kŕmnych pokusoch na potkanoch – Results of testing the wheat varieties in feeding trials on rats

Ukazovateľ	Samanta		Špalda I		Špalda II		Preukaznosť rozdielov ⁵
	1		2		3		
n = 6	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	
Hmotnostný prírastok ¹ (g)	30,14	5,55	27,00	4,24	32,83	6,14	2:3+
Pomer konečnej a začiatkovej hmotnosti ²	1,40	0,08	1,34	0,07	1,40	0,08	NS
Spotreba krmiva na 1 g prírastku živej hmotnosti ³ (g)	8,84	1,05	9,77	1,32	9,03	1,15	NS
PER ⁴	1,27	0,16	1,10	0,13	1,26	0,15	NS

PER – bielkovinový produkčný index

¹weight gain, ²final to initial weight ratio, ³feed consumption per 1 g of live weight gain, ⁴protein efficiency ratio

špalda vyššia (80,5, resp. 85,1 %), čo potvrdzuje kladný vzťah medzi obsahom dusíka v pšenici a jeho stráviteľnosťou, ako to potvrdila aj Nitrayová (1995). Vyššia stráviteľnosť N-látok okrem iného môže byť aj dôsledkom nižšej hladiny antinutričných látok v zrne špaldy než v bežných pšeničiach, ako uvádza Grela (1996). V pšenici je podľa autorov Coleman a Walden (1982) 2 až 17 % inhibítorov hydrolytických enzýmov v zažívacom trakte v prepočte na celkový obsah rozpustných bielkovín. Prítomnosť bielkovín typu hemaglutinínov, purotionínov, inhibítorov amyláz a proteáz, alfa-gliadínových bielkovín a ďalších bielkovín antinutritívnej povahy (Michalik, 1994) podstatne znižuje nutričnú kvalitu bielkovín. Vysoký obsah týchto látok v kŕmnej dávke inhibuje predovšetkým rast mladých zvierat.

Najvyššie hmotnostné prírastky sme dosiahli u laboratórnych potkanov pri skrmovaní špaldy dopestovanej vo Švédsku. Pre lepšie porovnanie získaných hodnôt hmotnostných prírastkov sme vypočítali podiel konečnej a začiatkovej hmotnosti pokusných zvierat (tab. 3), čo vlastne udáva hodnotu znásobenia hmotnosti vlastného tela, t.j. napr. ak pokusná skupina (6 potkanov) kŕmená pšenicou Samanta dosiahla priemerný podiel konečnej a začiatkovej hmotnosti 1,40, znamená to, že znásobila hmotnosť svojho tela 0,40krát (číslo 1 vyjadruje začiatkovú hmotnosť tela). Ten istý výsledok získame, keď vypočítame podiel hmotnostného prírastku a začiatkovej hmotnosti tela (0,40). Podobné výsledky získal aj Šimeček (1980), ktorý porovnával kvalitu bielkovín triticales s kvalitou bielkovín pšenice, jačme-

Tab. 4. Výsledky testovania jednotlivých odrôd pšenice v bilančných pokusoch na potkanoch – Results of testing the wheat varieties in metabolic trials on rats

Ukazovateľ	Samanta		Špalda I		Špalda II		Preukaznosť rozdielov ⁷
	1		2		3		
<i>n</i> = 6	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	\bar{x}	<i>s</i>	
Stráviteľnosť N-látok ¹ (%)	78,12	2,56	85,08	1,59	80,47	0,65	1, 3:2+++
Podiel N vylúčeného výkalmi z prijatého ² (%)	21,88	2,56	14,92	1,59	19,54	0,65	1:3+ 1, 3:2+++
Podiel N vylúčeného močom z prijatého ³ (%)	41,12	5,40	41,20	5,56	41,71	2,99	NS
BHB ⁴	73,37	6,88	75,63	5,53	72,13	2,57	NS
NPU ⁵	56,50	5,27	63,92	5,89	58,04	2,19	2:1, 3+
Využitelné bielkoviny ⁶ (%)	5,64	0,53	10,46	0,96	7,38	0,28	2:1, 3+++ 1:3+++

BHB – biologická hodnota bielkovín, NPU – netto využitie bielkovín

¹crude protein digestibility, ²excrement N output from N uptake, ³urinary N output from N uptake, ⁴protein biological value, ⁵net protein utilization, ⁶utilizable proteins, ⁷significance of differences

ňa a raže v pokusoch na potkanoch. Pri kŕmení zvierat špaldami a ozimnou pšenicou Samanta sú hodnoty 1,34, resp. 1,40. V prírastkoch hmotnosti na spotrebovaný 1 g bielkovín (PER) boli rozdiely nepreukazné.

V ukazovateli BHB sa odráža podiel dusíka zadržaného z celkového stráveného dusíka. Pri ich porovnaní Nitrayová (1995) zistila kladnú závislosť medzi podielom N zadržaného v organizme zo stráveného N a BHB ($r = 0,95$, $SE = 4,26$). Z testovaných pšeníc sme najvyššiu BHB stanovili pre špaldu dopestovanú na Slovensku (75,6 %). Ostatné hodnoty sú nižšie (tab. 4), avšak rozdiely sú nevýznamné. Šimeček (1980) a Heger (1999 – písomné oboznámenie) udávajú, že v ukazovateli BHB sa výrazne prejavuje obsah lyzínu v dusíkatých látkach. Dôsledkom nízkeho podielu albumínov a globulínov (tab. 2) je aj nízka koncentrácia lyzínu a treonínu. Ak berieme pri porovnávaní odrôd pšenice ako základ sušinu, sú rozdiely medzi všetkými aminokyselinami štatisticky preukazné, a to vzhľadom na veľké rozdiely v obsahu dusíka. Pri prepočte na 16 g N sú významné rozdiely iba pre lyzín ($P < 0,05$) v neprospech špaldy (Chrenková *et al.*, 1999). Podľa autorov Taranov, Sabirov (1987) a Filkorn (1989) je potrebné pri hodnotení BHB pšeníc sledovať nielen aminokyselinové zloženie bielkovín, ale aj obsah voľných funkčných skupín -SH a -NH₂. Čím vyšší je ich obsah, tým má bielkovina vyššiu biologickú hodnotu. Podľa nášho názoru obsah -SH a -NH₂ skupín súvisí priamo úmerne s obsahom a zastúpením jednotlivých aminokyselín. Kvalita bielkovín špaldovej pšenice v porovnaní s ozimnou pšenicou Samanta bola vyššia, čo dokazujú aj vyššie hodnoty netto využitia bielkovín (NPU) a využiteľných bielkovín (UP) – tab. 4.

Záverom môžeme konštatovať, že špalda, čo sa týka nutričnej hodnoty, je ekvivalentná ozimnej pšenici Samanta a v niektorých hodnotách ju dokonca prevyšuje.

LITERATÚRA

- Abdel-Aal E. S. M., Hucl P., Sosulski F. W. (1995): Compositional and nutritional characteristics of spring einkorn and spelt wheats. *Cereal Chem.*, 72: 621-624.
- Capouchová I. (1996): Pěstování pšenice špaldy, její potravinářská jakost a možnosti využití. In: Využitie integrovanej rastlinnej výroby v podmienkach Slovenska, Nitra, Dom techniky ZS VTS: 241-244.
- Coleman W. H., Walden R. K. (1982): Inhibitors of animal cell-free protein synthesis from grains. *Biochim. Biophys. Acta*, N3: 239-244.
- Eggum O. B. (1973): A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs. 406. Beretnig fra forsogslaboratoriet: 17-30.
- Filkorn P. (1989): Pšenica vo výžive hospodárskych zvierat. Materiál pre MP SR. 27 s.
- Gálová Z., Smolková H., Michalík I. (1997): Biochemická charakteristika zrna *Triticum spelta* L. In: Zbor. Sem. Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín, Piešťany 19.-20. 11. 1997: 71-74.
- Grela E. R. (1996): Nutrient composition and content of anti-nutritional factors in spelt (*Triticum spelta* L.) cultivars. *J. Sci. Food Agric.*, 71: 399-404.
- Heger J., Salek M., Eggum B.O. (1990): Nutritional value of some Czechoslovak varieties of wheat, triticale and rye. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 29: 89-100.
- Chrenková M., Čerešňáková Z., Sommer A., Dolešová P., Kráľová V., Dahlstedt L., Gálová Z. (1999): Porovnanie aminokyselinového zloženia rôznych odrôd pšenice. *Vedec. Práce VÚŽV Nitra*, XXXII: 183-186.
- Karlučík M., Kyselovič J. (1976): Bielkoviny a aminokyseliny v kŕmnych zmesiach a ich komponentoch pri výkrme ošípaných. *Poľnohospodárstvo*, 22: 1086-1092.
- Michalík I. (1994): Charakteristika cereálnych bielkovín, ich výživná kvalita a vplyv na zdravotný stav. *Výživa a Zdravie*, (9): 185-186, (10): 159-160, 206.
- Michalík I., Karlučík M. (1988): Nutričná kvalita bielkovín obilnín vo výžive monogastričných zvierat. *Poľnohospodárstvo*, 34: 1079-1088.

- Michalík I., Durková E., Gálová Z. (1989): Návody na cvičenia z biochémie rastlín. Bratislava. Príroda. 156 s.
- Mórová E., Buchtová V., Belická V. (1992): Vplyv dusikátého hnojenia na obsah a aminokyselinové zloženie bielkovín. Poľnohospodárstvo, 38: 15–23.
- Moudrý J., Vlasák M. (1996): Pšenica špalda (*Triticum spelta* L.). Metodiky pro zeměd. praxi, č. 6. 28 s.
- Nitrayová S. (1995): Štúdiom zmeny obsahu a kvality dusíkatých látok u vybraných odrôd obilnín a strukovín a ich využitie vo výžive monogastrických zvierat. KDP, UVL Košice. 176 s.
- Pajtáš M., Nitrayová S., Čerešňáková Z. (1996): Biologická hodnota bielkovín zrna tritikale a pšenice. Poľnohospodárstvo, 42: 481–487.
- Prugar J., Hraška Š. (1986): Kvalita pšenice. Bratislava, Príroda.
- Ranhotra G. S., Gelroth J. A., Glaser B. K., Lorenz K. J. (1996): Baking and nutritional qualities of a spelt wheat sample. Lebensm. Wiss. Technol., 28: 118.
- Šašek A., Černý J. (1997): Gliadinové a gluteninové signální geny pšenice špaldy (*Triticum spelta* L.). Rostl. Vyr., 43: 149–151.
- Šimeček K. (1980): Bílkovinný produkční index (PER) a biologická hodnota bílkovin tritikale, pšenice, ječmene a žita stanovená na kryších. Sbor. věd. Prací VÚVZ Pohořelice, 14: 77–83.
- Taranov M. T., Sabirov A. CH. (1987): Biochémia kormov. Agropromizdat: 13, 17, 20.

Došlo 5. 5. 1999

Prijaté k publikovaniu 27. 9. 1999

Kontaktná adresa:

Ing. Mária Chrenková, PhD., Výskumný ústav živočišnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovenská republika, tel.: +421 87/54 62 17, fax +421 87/54 64 18, e-mail: chrenko@vuzv.sk

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

Current Contents

na disketách

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

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

CHARAKTERISTIKY DEGRADOVATELNOSTI BUNEČNÝCH STIEN A ORGANICKEJ HMOTY PASIEŇKOVÝCH PORASTOV

PARAMETERS OF DEGRADABILITY OF PASTURE HERBAGE CELL WALLS AND ORGANIC MATTER

Z. Čerešňáková¹, R. Žitňan¹, A. Sommer¹, M. Kokardová², J. Szakács¹, A. Ševčík³,
M. Chrenková¹

¹ *Research Institute of Animal Production, Nitra, Slovak Republic*

² *Institute of Farm Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic*

³ *University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic*

ABSTRACT: Experiments *in sacco* were conducted on animals with large rumen fistulas to determine some degradability parameters of pasture herbage with different proportions of grasses, clovers and herbs in the identical growth stage (Table 1). Botanical composition of herbage was reflected in its chemical composition, mainly in the composition of cell walls (Table 2) and in the rate of organic matter (Table 3), NDF and ADF degradation. High content of cell walls (NDF) results in higher values of lag phase for degradability of the tested parameters. Delayed onset of cell wall degradation is illustrated by electron microscopy photos. Substantial impairment of cell walls and bacterial colonization were visible after 24h incubation in the rumen.

Keywords: bulk fodder; neutral detergent fiber (NDF); acid detergent fiber (ADF); degradability parameters; lag phase

ABSTRAKT: Charakteristiky degradovateľnosti vybraných ukazovateľov pasienkových porastov s rôznym zastúpením tráv, dateľín a bylín v rovnakej rastovej fáze sme stanovili v pokusoch *in sacco* na troch zvieratách s veľkými bachorovými fistulami. Botanická skladba porastov sa prejavila na ich chemickom zložení, najmä na zložení bunečných stien a na rýchlosti degradácie organickej hmoty, NDV a ADV. Vysoký obsah bunečných stien (NDV) má za následok vyššie hodnoty lag fázy pre degradovateľnosť sledovaných ukazovateľov. Oneskorený nástup degradácie bunečných stien je dokumentovaný obrázkami z elektrónovej mikroskopie. Výrazné narušenie rastlinných stien a osídlenie baktériami bolo viditeľné po 24 h inkubácie v bachore.

Kľúčové slová: objemové krmivo; neutrálnedetergentná vlákna (NDV); acidodetergentná vlákna (ADV); parametre degradovateľnosti; lag fáza

ÚVOD

Botanická skladba, ktorá určuje aj obsah a zloženie bunečných stien, výrazne ovplyvňuje nutričnú hodnotu pasienkových porastov. Obsah bunečných stien, ktorých hlavné komponenty sú celulóza, hemicelulózy a nesacharidický lignín (Deinum, 1973; Graham a Aman, 1991), vplývajú na trávenie, resp. degradáciu nerozpustnej frakcie objemových krmív. Obsah a zloženie bunečných stien je iné v trávach a iné v dateľinovinách, ale i v listoch a stonkách.

Pri sledovaní degradovateľnosti živín technikou *in sacco* je potrebné pri výpočte efektívnej degradovateľnosti brať do úvahy tzv. lag fázu (Orskov, 1991), ktorá charakterizuje nástup degradácie rastlinných buniek.

Ako zistili Miller a Hobbs (1994), je jej dĺžka závislá od prevládania a adhérence mikroorganizmov k bunečným štruktúram. Mikroskopicky bolo zistené, že určité typy buniek sú k degradácii rezistentné (Akin a Burdick, 1981; Grenet, 1991).

Cieľom našej práce bolo zistiť technikou *in sacco* charakteristiky degradovateľnosti organickej hmoty, NDV a ADV pasienkových porastov s rozdielnym obsahom a zložením bunečných stien.

MATERIÁL A METÓDA

Vzorky porastov sme odobrali z pasienkov, na ktorých sa pásli v stáde jalovic aj tri pokusné jalovice

(priemerná ž.h. 375 kg). Na týchto zvieratách, ktoré boli ošetrované veľkými bachorovými fistulami o vnútornom priemere 10 cm, sme urobili pokusy *in sacco*. Botanické zloženie porastov je uvedené v tab. 1. Vzorky sme odobrali pri výške porastov 15 až 20 cm, posekali ich na dĺžku 1 až 1,5 cm, navážili v množstve cca 5 g sušiny do vrecúšok o rozmeroch 9 x 15 cm, zhotovených z polyamidovej tkaniny UHELON 130 T (veľkosť pórov 47 µm), a vložili do bachora jalovic v počte štyri vrecúška na zviera a inkubáciu. Trvanie inkubácií bolo 0, 6, 9, 12, 24 a 48 hodín. Po inkubácii sme vrecúška dôkladne premyli v studenej vode a vysušili pri teplote 60 °C. Po vysušení sme nedegradované zvyšky pomleli na mlyne s prepadom cez 1mm sito a použili na chemické analýzy. Vo vzorkách pasienkových porastov a zvyškoch po inkubáciách sme stanovili obsah sušiny pri teplote 103 °C, obsah popola získaného spaľovaním pri teplote 550 °C, neutrálnodetergentnú vlákninu (NDV), acidodetergentnú vlákninu (ADV) a kyslý lignín (ADL) metódou van Soesta, ako uvádzajú Lutonská a Pichl (1983).

Elektrónovú mikroskopiu sme použili na vizuálne posúdenie rozsahu degradácie pasienkových porastov po 6, 12 a 24 hodinách inkubácie v bachore. Nestrávené častice porastu sme premyli v kokadylanovom pufrí a ihneď fixovali v zmesi 2 % formaldehydu a 2,5 % glutaraldehydu v kokadylanovom pufrí. Dobre vysušené preparáty boli potiahnuté 20nm vrstvou zlata pri 4 °C. Vzorky sme pozorovali mikroskopom JEM 100CX II (JOEL) s prídavným rastrovacím zariadením AGLD 4D pri akcelurujúcom napätí 40 kV.

Z úbytku organickej hmoty, NDV a ADV za jednotlivé inkubácie sme dosadením do exponenciálnej rovnice podľa autorov Orskov a McDonald (1979) a McDonald (1981) vypočítali charakteristiky degradovateľnosti a , b , c , ako aj lag fázu podľa rovnice, ktorú uvádzajú Huntington a Givens (1997). Pre výpočet efektívnej degradovateľnosti sme použili rýchlosť pasáže $0,04 \cdot h^{-1}$.

VÝSLEDKY

Chemické zloženie

Medzi vzorkami A, B a C, ktoré sme odobrali z pasienkov pri výške porastov 15 až 20 cm, boli rozdiely v obsahu hrubej vlákniny a bunečných stien (NDV). Z hodnôt uvedených v tab. 2 je zrejмый aj rozdiel v obsahu ADV. Rozdiely sú 50 až 70 g.kg⁻¹ sušiny, čo predstavuje v poraste A 29% a v poraste B a C 35% podiel na obsahu organickej hmoty. Porasty sú medzi sebou rozdielne aj v obsahu celulózy a hemicelulózy. Obsah lignínu bol takmer totožný.

Degradovateľnosť živín v bachore

Priebeh degradácie bunečných stien a organickej hmoty v bachore je na obr. 1. Úbytok organickej hmoty po 48 hodinách inkubácie bol 57,9 % až 70,2 % a NDV 45,8 % (B) až 55,9 % (A). Úbytok ADV sa pohyboval od 45,7 % (B) do 51,7 % (A). Hodnoty uvedené v tab. 3 poukazujú na rozdiely v charakteristikách degradovateľnosti porastov. Najnižšiu rýchlosť degradácie organickej hmoty sme vypočítali pre porast C, ktorý mal však najvyššiu potenciálne degradovateľnú frakciu ($a + b$) organickej hmoty (73,6 %), a tým aj najvyššiu hodnotu jej efektívnej degradovateľnosti (46,2 %). Najnižšiu efektívnu degradovateľnosť mal porast B, ktorý mal najväčší podiel (28,9 %) nedegradovateľnej frakcie ($100 - b + a$). Výrazne nižšia bola efektívna degradovateľnosť bunečných stien (NDV) a acidodetergentnej vlákniny, čo vyplýva aj z nízkej rýchlosti degradácie. Pre porast B bola rýchlosť len $0,0212 \cdot h^{-1}$ a pre porast A $0,0312 \cdot h^{-1}$.

Vypočítaná lag fáza pre sledované ukazovatele v pasienkových porastoch bola pomerne vysoká, s najvyššími hodnotami pre ADV – v poraste B bola hodnota až 7,57 h. Najnižšiu lag fázu sme stanovili pre degradovateľnosť organickej hmoty v poraste C (3,91 h).

Tab. 1. Botanické zloženie pasienkových porastov (%) – Botanical composition of pasture herbage (%)

Porast ¹	Trávy ²	Ďateliny ³	Byliny ⁴
A	72 <i>Festuca pratensis</i> L. <i>Poa pratensis</i> L.	2 <i>Trifolium repens</i> L. <i>Trifolium pratense</i> L.	10 <i>Taraxacum pratensis</i> <i>Myosurus minimus</i>
B	85 <i>Festuca pratensis</i> L. <i>Poa pratensis</i> L. <i>Dactylis glomerata</i> L.	10 <i>Trifolium pratense</i> L. <i>Trifolium rubens</i> L.	3 <i>Taraxacum pratensis</i> <i>Myosurus minimus</i>
C	58 <i>Lolium perene</i> L. <i>Poa pratensis</i> L. <i>Festuca pratensis</i> L.	35 <i>Trifolium pratense</i> L. <i>Trifolium rubens</i> L.	4 <i>Taraxacum pratensis</i> <i>Myosurus minimus</i>

Poznámka: Zvyšok do 100 % sú buriny
Note: The remainder to 100% is weeds

¹grassland, ²grasses, ³clovers, ⁴herbs

Tab. 2. Obsah organickej hmoty a sledovaných zložiek bunečných stien v pasienkových porastoch (g/kg sušiny) – Contents of organic matter and cell wall components in pasture herbage (g/kg DM)

Ukazovateľ ¹	Pasienkový porast ⁷		
	A	B	C
Organická hmota ²	912,0	911,3	938,5
Hrubá vlákna ³	241,8	245,0	288,8
NDV	427,5	433,9	560,2
ADV	264,5	316,5	331,4
Hemicelulózy ⁴	163,0	117,4	228,8
Celulóza ⁵	217,1	269,9	288,7
Lignín ⁶	47,4	46,6	42,7

NDV – bunečné steny – neutráldetergentná vlákna, ADV – acidodetergentná vlákna

NDV – cell walls – neutral detergent fiber, ADV – acid detergent fiber

¹parameter, ²organic matter, ³fiber, ⁴hemicellulose, ⁵cellulose, ⁶lignin, ⁷pasture herbage

Vyššie hodnoty lag fázy už výraznejšie ovplyvňujú aj veľkosť efektívnej degradovateľnosti.

Výrazne pomalý nástup degradácie bunečných stien v poraste B sme pozorovali na snímkach získaných rastrovacou elektrónovou mikroskopiou (obr. 2). Po 12 hodinách inkubácie je viditeľné slabé osídlenie povrchu rastlinného epitelu baktériami a len málo degradované bunečné steny (obr. 3). Až po 24 hodinách (obr. 4) vidieť už výraznú degradáciu so značným počtom adherovanej mikroflóry.

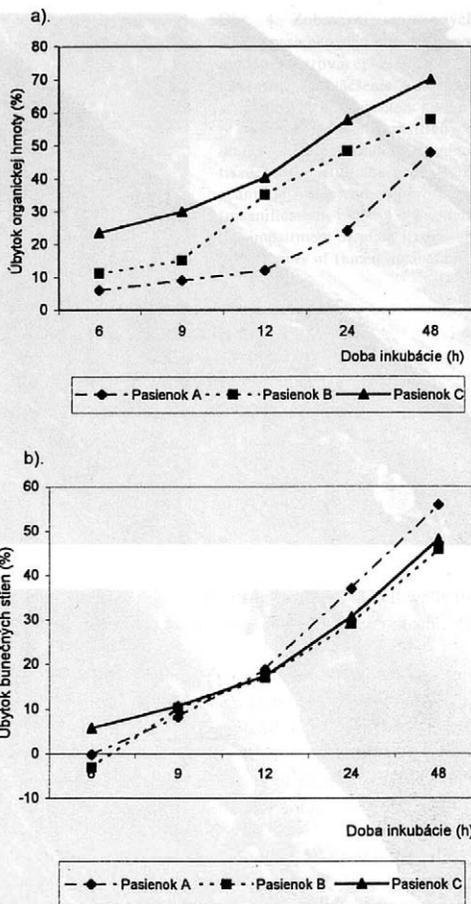
DISKUSIA

Pasienkové porasty v podhorských oblastiach majú mnohozložkovú botanickú skladbu, ako aj rôzny podiel jednotlivých rastlinných druhov. Vysoký je podiel bylin a burín. Vzorky porastov, ktoré sme analyzovali, svojou botanickou skladbou nezodpovedajú požiadavke na ideálny porast, ako uvádza Veselý (1998). Druhové zastúpenie a vegetačná fáza sú v úzkom vzťahu s koncentráciou hrubej vlákny, resp. bunečných stien a ich zložením. Negatívny vplyv na degradáciu buneč-

Tab. 3. Parametre degradovateľnosti organickej hmoty, bunečných stien (NDV) a acidodetergentnej vlákny (ADV) pasienkových porastov – Degradability parameters of organic matter, cell walls (NDV) and acid detergent fiber (ADV) in pasture herbage

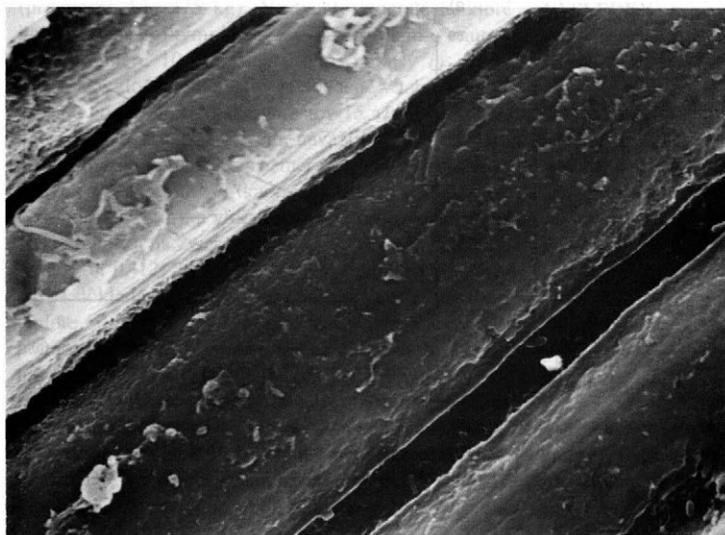
Parametre degradovateľnosti ¹	Organická hmota ⁸			NDV			ADV		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Straty práním ² a (%)	10,2	7,4	5,4	–	–	1,9	–	–	–
Nerozpustná degradovateľná frakcia ³ b (%)	60,9	51,3	58,2	62,6	79,4	59,6	71,6	50,7	59,7
Nedegradovateľná frakcia ⁴ 100 – (a + b)	28,9	41,3	26,4	37,4	20,6	38,5	28,4	49,7	40,3
Rýchlosť degradácie ⁵ (h ⁻¹)	0,0747	0,0932	0,0647	0,0520	0,0212	0,0337	0,0312	0,0559	0,0362
Lag fáza ⁶ (h)	5,22	5,59	3,91	5,97	4,02	3,93	7,18	7,57	6,27
Efektívna degradovateľnosť ⁷ (%)	42,4	36,1	46,15	27,9	23,4	25,2	23,5	21,8	22,1

¹degradability parameters, ²washing loss, ³insoluble degradable fraction, ⁴undegradable fraction, ⁵degradation rate, ⁶lag phase, ⁷effective degradability, ⁸organic matter

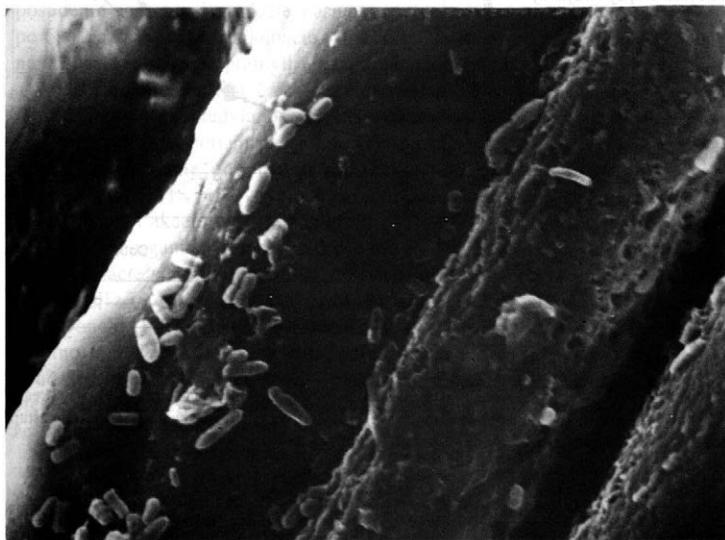


Obr. 1. Úbytok organickej hmoty (a) a bunečných stien (b) v priebehu inkubácie pasienkových porastov v bachore jalovic – Losses of organic matter (a) and cell walls (b) during incubation of pasture herbage in heifer rumen

ných stien a tým aj organickej hmoty u tráv má podobnosť anatomickej štruktúry listov a stoniek, u ktorých bola zistená oveľa nižšia stráviteľnosť ako u listov



Obr. 2. Zobrazenie rastlinných tkanív pasienkového porastu B pomocou rastrovacej elektrónovej mikroskopie (zväčšenie 4 000x) – po 6 hodinách inkubácie v bachore je osídlenie ešte veľmi malé – Representation of plant tissues of pasture herbage B by scanning electron microscopy (magnification 4 000x) – very small colonization after 6 hours of rumen incubation



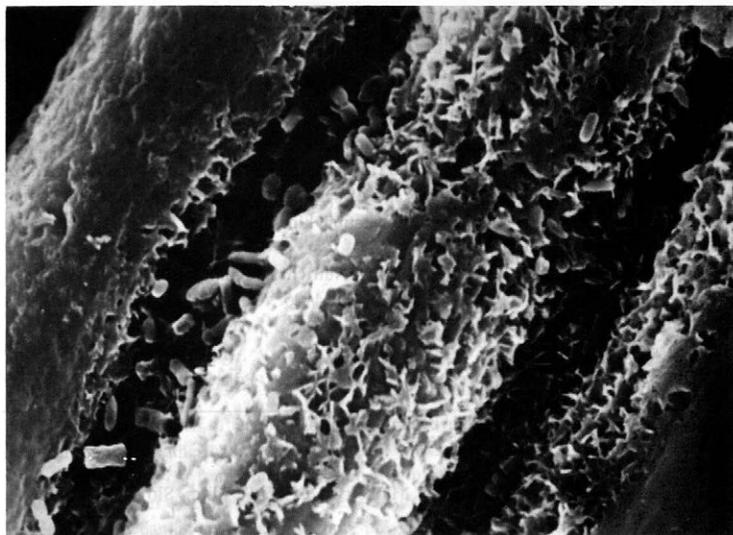
Obr. 3. Zobrazenie rastlinných tkanív pasienkového porastu B pomocou rastrovacej elektrónovej mikroskopie (zväčšenie 4 000x) – po 12 hodinách inkubácie v bachore je viditeľná kolonizácia rastlinných tkanív – Representation of plant tissues of pasture herbage B by scanning electron microscopy (magnification 4 000x) – visible colonization of plant tissues after 12 hours of rumen incubation

leguminóz. Vo veľkej miere vplýva na degradovateľnosť aj prítomnosť lignínu a jeho väzba na celulózu a hemicelulózu.

Degradovateľnosť sušiny porastov zo zmesi tráv s malým podielom leguminóz bola nízka, ako uvádzajú aj Andrighetto *et al.* (1992). V ďatelinovinách i napriek vyššiemu obsahu lignínu nebol pozorovaný tak negatívny vplyv na degradovateľnosť organickej hmoty, sušiny a NDV ako u tráv (Deinum, 1973; Susmel *et al.*, 1990). Všeobecne platí, že so zvyšovaním obsahu ADV a lignínu sa v rámci druhu znižuje degradovateľnosť a stráviteľnosť hmoty (Tamminga *et al.*, 1991; Chrenková *et al.*, 1993; Čerešňáková *et al.*, 1993; Aufrère *et al.*, 1994; Bábnik, 1995), čiže sa znižuje potenciálna degradovateľnosť krmiva. Znižovanie potenciálnej de-

gradovateľnosti so zvyšovaním ADV v porastoch zložených z viac ako troch druhov tráv stanovili De Boever *et al.* (1998). Toto sa potvrdilo aj v našej práci nízkou degradovateľnosťou sledovaných ukazovateľov. V poraste C napriek vyššiemu obsahu NDV sme zistili aj najvyššiu efektívnu degradovateľnosť organickej hmoty a druhú najvyššiu efektívnu degradovateľnosť NDV a ADV. Tento fakt si vysvetľujeme práve vyšším zastúpením ďateliny v poraste.

Časový posun degradácie bunecných stien v krmivách s vyšším obsahom vlákny sledovali viacerí autori a bol zavedený pojem lag fázy (Orskov, 1991; Susmel *et al.*, 1990; Uden, 1992). Hodnoty lag fázy sa líšia medzi krmivami a pohybujú sa v určitom rozpätí aj v rámci krmiva – pre lucernové seno od 6 do 10,5 hodín,



Obr. 4. Zobrazenie rastlinných tkanív pasienkového porastu B pomocou rastrovacej elektrónovej mikroskopie (zväčšenie 4 000x) – po 24 hodinách inkubácie v bachore je výrazné narušenie rastlinných tkanív – Representation of plant tissues of pasture herbage B by scanning electron microscopy (magnification 4 000x) – substantial impairment of plant tissues after 24 hours of rumen incubation

pre reznačku laločnatú od 6,1 do 7,7 hodín. Sattineri *et al.* (1992) zistili pre čistú celulózu lag fázu až 8 hodín. Naše výsledky tieto nálezy potvrdzujú (tab. 3). Najvyššie hodnoty lag fázy sme stanovili pre ADV, ktorú tvorí celulóza a lignín. Tieto hodnoty sú od 6,27 do 7,57 hodín. Beauchemin (1992) a Miller a Hobs (1994) poukázali na ovplyvňovanie trvania lag fázy procesom žuvania a dôkladného prevlhčenia krmíva. Tieto procesy majú význam pre rýchlosť osídľovania krmíva celulolytickými baktériami a následnú degradáciu ADV. Naše výsledky lag fázy preto môžeme považovať za čiastočne nadhodnotené, pretože chýba proces žuvania.

Oneskorený začiatok degradácie bunecých stien (NDV) dokumentujú obrázky získané rastrovacou elektrónovou mikroskopiou. Z obr. 4 (po 24 hodinách inkubácie) vidieť už výrazné narušenie rastlinných vlákien a osídlenie baktériami.

Záverom môžeme konštatovať, že pomerne nízka degradovateľnosť organickej hmoty vyplýva z vysokého podielu bunecých stien na organickej hmote a vysokého zastúpenia tráv s nepriaznivým mikroanatomickým zložením v nami analyzovaných vzorkách pasienkových porastov.

LITERATÚRA

Akin D. E., Burdick D. (1981): Relationships of different histochemical types of lignified cells walls to forage digestibility. *Crop Sci.*, 21: 577–581.

Andrighetto I., Gruber L., Cozzi G., Uray G., Guedetti G., Buchgraber K. (1992): Prediction of digestible organic matter in dry matter *in vivo* from the chemical composition, *in vitro* and *in situ* measurements on native mountain forages. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 39: 323–333.

Aufrère J., Boulberhane D., Graviou D., Demarquilly C. (1994): Comparison of *in situ* degradation of cell wall

constituents, nitrogen and nitrogen linked to cell walls for fresh lucerne and two lucerne silages. *Ann. Zootech.*, 43: 125–134.

Babnik D. (1995): Some environmental effects on relationships between *in sacco* degradability of protein and dry matter and chemical composition of Italian ryegrass. *Arch. Anim. Nutr.*, 48: 303–317.

Beauchemin K. A. (1992): Effects of ingestive and ruminative mastication on digestion of forage by cattle. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 39: 41–56.

Čerešňáková Z., Chovanec J., Sommer A. (1993): Vplyv vegetačnej fázy lucerne na zloženie bunecých stien a stráviteľnosť živín v sene. *Živoč. Vyr.*, 38: 875–881.

De Boever J. L., Antoniewicz A. M., Bouqué Ch. V. (1998): Prediction of *in situ* rumen protein degradability of grass and lucerne by chemical composition or by NIRS. *J. Anim. Feed Sci.*, 7: 437–451.

Deinum B. (1973): Structural inhibitors of quality in forage. *Växtodling*, 28: 42–51.

Graham H., Aman P. (1991): Nutritional aspects of dietary fibres. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 32: 143–158.

Grenet E. (1991): Electron microscopy as a method for investigating cell wall degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 32: 27–33.

Huntington J. A., Givens D. I. (1997): Studies on *in situ* degradation of feeds in the rumen. 3. The effect of freezing forages before and after rumen incubation. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 68: 131–138.

Chrenková M., Čerešňáková Z., Sommer A., Szakács J., Flak P. (1993): Zum Einfluss des Vegetationsstadiums der Luzerne auf die Abbaubarkeit in Pansen und Verdaulichkeit der Nährstoffe im Darm der Wiederkäuer. *Arch. Anim. Nutr.*, 45: 281–291.

Lutonská P., Pichl I. (1983): Vlákna. Bratislava, Vydavateľstvo Príroda.

McDonald I. (1981): A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agr. Sci.*, 96: 251–252.

- Miller J. R., Hobs N. T. (1994): Effect of forage hydration on lag time during *in vitro* digestion of meadow hay. *Grass Forage Sci.*, 49: 107–110.
- Orskov E. R. (1991): Manipulation of fibre digestion in the rumen. *Proc. Nutr. Soc.*, 50: 187–196.
- Orskov E. R., McDonald I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agr. Sci.*, 92: 499–503.
- Saettineri D., Pace V., Annicchico G., Marzoli G. (1992): *In sacco* degradability of some by-products: ADF, ADL and NDF degradability in buffaloes and cattle. In: 43rd Ann. Meet. EAAP, Madrid.
- STN 45 7092 (1986). Analytické metódy skúšania krmív. Bratislava.
- Susmel P., Stefanon B., Mills C. R., Spanghero M. (1990): Rumen degradability of organic matter, nitrogen and fibre fractions in forages. *Anim. Prod.*, 51: 515–526.
- Tamminga S., Ketelaar R., van Vuuren A. M. (1991): Degradation of nitrogenous compounds in conserved forages in the rumen of dairy cows. *Grass Forage Sci.*, 46: 427–435.
- Uden P. (1992): The influence of leaf and stem particle size *in vitro* and of sample size *in sacco* on neutral detergent fibre fermentation kinetics. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 37: 85–97.
- Veselý P. (1998): Nutriční hodnota porostů při pastvě skotu. *Krmivářství* (3): 24–25.

Došlo 13. 5. 1999

Prijaté k publikovaniu 27. 9. 1999

Kontaktná adresa:

Ing. Zuzana Čerešňáková, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovenská republika, tel.: 087/54 62 25, fax: 087/54 64 18, e-mail: ceresnak@vuzv.sk

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Detailed instructions to authors are published in No. 1 of this volume.

POKYNY PRO AUTORY

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

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

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

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

Vlastní úprava rukopisu: formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky 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 přilohy 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 podtituly článků.

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

Rozšířený souhrn (Abstrakt) 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 nedostatcích 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 PSČ, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

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

Podrobné pokyny pro autory jsou uveřejněny v čísle 1 tohoto ročníku.

CONTENTS

Physiology and Reproduction

- Horák V., Rehfeldt C., Stratil A., Bobák P.: Influence of exogenous transferrin on chicken skeletal muscles (in English)..... 97
- Rajchard J., Hájek I., Šerý M.: Melatonin level in guppy (*Poecilia reticulata* – *Osteichthyes*, *Poeciliidae*) (in English)..... 105

Nutrition and Feeding

- Gálik R., Milly P.: Nitrogen utilization from feed mixtures with different protein contents for pigs (in Slovak)..... 113
- Zobač P., Kumprecht I., Prokop V., Čmolík J., Schwarz W.: Use of rapeseed meal and phospholipids in feed mixtures for turkey production (in English)..... 119
- Řehulka J., Párová J.: Influence of three types of oil in diet upon some blood and condition indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) (in English)..... 127
- Chrenková M., Čerešňáková Z., Sommer A., Gálová Z., Králová V.: Assessment of nutritional value in spelt (*Triticum spelta* L.) and winter (*Triticum aestivum* L.) wheat by chemical and biological methods (in Slovak)..... 133
- Čerešňáková Z., Žitňan R., Sommer A., Kokardová M., Szakács J., Ševčík A., Chrenková M.: Parameters of degradability of pasture herbage cell walls and organic matter (in Slovak)..... 139

OBSAH

Fyziologie a reprodukce

- Horák V., Rehfeldt C., Stratil A., Bobák P.: Vliv exogenního transferinu na kosterní svaly kuřat 97
- Rajchard J., Hájek I., Šerý M.: Obsah melatoninu u živorodky duhové (*Poecilia reticulata* – *Osteichthyes*, *Poeciliidae*)..... 105

Výživa a krmení

- Gálik R., Milly P.: Utilizácia dusíka pri skrmovaní zmesí s rôznym obsahom dusíkatých látok ošípaným 113
- Zobač P., Kumprecht I., Prokop V., Čmolík J., Schwarz W.: Využití řepkového extrahovaného šrotu a fosfolipidů ve směsích pro výkrm krůt..... 119
- Řehulka J., Párová J.: Vliv tří typů olejů v dietě na některé krevní a kondiční ukazatele u pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)..... 127
- Chrenková M., Čerešňáková Z., Sommer A., Gálová Z., Králová V.: Stanovenie výživnej hodnoty odrôd pšenice špalda (*Triticum spelta* L.) a ozimnej pšenice (*Triticum aestivum* L.) chemickými a biologickými metódami..... 133
- Čerešňáková Z., Žitňan R., Sommer A., Kokardová M., Szakács J., Ševčík A., Chrenková M.: Charakteristiky degradovateľnosti bunčných stien a organickej hmoty pasienkových porastov..... 139