

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

*Czech Journal of*  
**ANIMAL SCIENCE**

ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

8

VOLUME 45  
PRAGUE  
AUGUST 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. Jozef Bulla, DrSc. (Výzkumný ústav živočišnej výroby, Nitra, SR)

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

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

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

Doc. 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 Margétin, 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 živočišnej výroby, Nitra, SR)

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

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

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

**Aim 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*.

**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. Zdeňka Radošová, Institute of Agricultural and Food Information, Slezska 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic, tel.: + 420 2 24 25 34 89, fax: + 420 2 22 51 40 03, e-mail: edit@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, Slezska 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic. Subscription price for 2000 is 195 USD (Europe) and 214 USD (overseas).

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

**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*.

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

**Přijímání rukopisů:** Rukopisy ve dvou kopiích je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Zdeňka Radošová, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezska 7, 120 56 Praha 2, Česká republika, tel.: + 420 2 24 25 34 89, fax: + 420 2 22 51 40 03, e-mail: edit@uzpi.cz.

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

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

# EFFECTS OF BUSERELIN AND HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN ON FERTILITY OF DAIRY COWS WITH OR WITHOUT RETAINED PLACENTA

## VLIV BUSERELINU A LIDSKÉHO CHORIONOVÉHO GONADOTROPINU NA PLODNOST DOJNIC SE ZADRŽENOU PLACENTOU NEBO BEZ NÍ

D. Drgurić<sup>1</sup>, B. Antunović<sup>2</sup>, M. Šperanda<sup>2</sup>, Z. Steiner<sup>2</sup>, T. Florijančić<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *The Centre for Cattle Breeding Advancement, Osijek, Croatia*

<sup>2</sup> *University of J. J. Strossmayer, Faculty of Agriculture, Osijek, Croatia*

**ABSTRACT:** Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH), as well as gonadotrophin hormones, control the whole reproductive cycle of mammals. GnRH analogue buserelin and extracted hCG (human chorionic gonadotrophin) have a wide spectrum of application in the world. Ovarian dysfunction during early PP (*post partum*) period, especially in cows with r.p. (retained placenta), results in prolonged service-period and decreased rate of conception. Therefore, reproductive status of cows is expected to be improved by inducing physiological processes of ovaries by hormonal treatment. The results from various authors that have been published until now are rather contradictory. During investigations, the effects of administering 20 micrograms Gn-RH analogue buserelin (Receptal, "Hoechst"), or 1 500 i.u. hCG (Chorulon, "Intervet") per cow between d 14 and 16 PP were observed. The investigation has included 150 Holstein-Friesian cows with or without r.p. The cows were divided in six groups ( $n = 25$ ), depending on hormonal treatment and placenta status: two untreated groups – with or without r.p.; two buserelin treated groups – with or without r.p.; two hCG treated groups – with or without r.p. The two parameters of fertility were observed: service period (time from calving to first insemination) and CCI (calving-to-conception interval). Applications of mentioned hormonal prophylactics on the fixed days of PP period on a farm with management deficiencies, low feed quality and low level of hygiene, did not have any significantly beneficial effects on resumption of ovulation and fertility after calving. Therefore, these prophylactics cannot be recommended in herds with low fertility caused by these factors.

**Keywords:** GnRH; buserelin; hCG; fertility; cow; retained placenta

**ABSTRAKT:** Celý reprodukční cyklus savců je řízen hormonem uvolňujícím gonadotropin (GnRH) a gonadotropinovými hormony. Ve světě mají široké spektrum uplatnění analog GnRH buserelin a extrahovaný hCG (lidský chorionový gonadotropin). Ovariální dysfunkce v raném období po porodu vede zejména u dojnic se zadržanou placentou k prodloužení servis periody a k nižšímu oplodnění. Proto se očekává, že se reprodukční stav dojnic zlepší navozením fyziologických procesů ve vaječnicích pomocí hormonální léčby. Dosud publikované výsledky jednotlivých autorů jsou poněkud rozporné. Při našich šetřeních jsme zjišťovali vliv dávky 20 mikrogramů analogu GnRH buserelinu (Receptal, „Hoechst“) nebo 1 500 m.j. hCG (Chorulon, „Intervet“) na dojnici, které jsme aplikovali v období mezi 14. a 16. dnem po porodu. Dojnice jsme v závislosti na hormonální léčbě a stavu placenty rozdělili do šesti skupin ( $n = 25$ ): dvě neošetřené skupiny – se zadržanou placentou nebo bez ní; dvě skupiny s aplikací buserelinu – se zadržanou placentou nebo bez ní; dvě skupiny s aplikací hCG – se zadržanou placentou nebo bez ní. Sledovali jsme dva ukazatele plodnosti: servis periodu (interval od otelení do první inseminace) a CCI (interval od otelení do zabřeznutí). Aplikace uvedených hormonálních profylaktik v pevně stanovené dny v období po porodu na farmě s nedostatky v řízení, nízkou kvalitou krmiv a nízkou úrovní hygieny nepřinesly kladné účinky na obnovení ovulace a plodnosti po otelení. Tato profylaktika nelze tedy doporučit v chovech s nízkou plodností způsobenou uvedenými faktory.

**Klíčová slova:** GnRH; buserelin; hCG; plodnost; dojnice; zadržaná placenta

### INTRODUCTION

FSH (follicle stimulating hormone) and LH (luteinizing hormone), as the hormones secreted by the front lobe of

the pituitary gland, play a key role in the development of reproductive organs and regulation of sexual cycles in mammals. Their secretion depends mainly on the hypothalamus, which produces GnRH (gonadotrophin-releas-

ing hormone), and so stimulates the pituitary gland for FSH and LH release. Beside the pituitary gland, placenta also synthesizes and extracts these hormones, especially in the second part of pregnancy.

Receptal ("Hoechst") is an injection solution of a synthetic releasing hormone that has the same influence on the pituitary gland as natural GnRH. It is made of buserelin acetate and indications for administration are fertility disorders of ovarian origin and their prophylaxis. The answer of the organism, as an early control of ovarian cycle and ovulation, is generally expected to appear within 24 hours from administering Receptal administration. This should reduce ovarian functional disorders and incline fertility, especially in cows with r.p. (retained placenta) and in pathological conditions caused by ovarian cysts.

Chorulon ("Intervet"), which was also used in this investigation, is white freeze-dried crystalline plug that contains 1500 i.u. hCG per vial. It is a complex glycoprotein capable to substitute LH in order to promote development and maturation of follicles, ovulation and, at last, formation of corpus luteum. Unlike Receptal, it has a direct effect on the ovaries.

Examining 11 different veterinarian services in Ontario from 1990 to 1993, Etherington *et al.* (1996) found that GnRH analogues, PGF<sub>2</sub>α and hCG were among the most frequently used hormonal therapeutics. However, their effects in PP (*post partum*) period have not been examined enough yet. Moreover, the comparison of their effects in cows with r.p. has not been carried out yet.

The cow is an animal species that often suffers from r.p. High production dairy cows are, because of the way of feeding, housing and exploiting, more likely to suffer from this disease which has a great influence on one of the most sensible functions of the organism, on fertility. Because of using antibiotics and chemotherapeutics, there are not many cases of serious health disturbances and deaths in cows that suffer from r.p., but reproduction problems often occur. On many intensive production farms in Croatia, as well as in other developing countries, about 20% of cows suffer from r.p., mainly as a result of bad conditions they are kept in. This results in retarded involution of uterus, reduced function of ovaries, postponed first estrus after calving, and finally in extended CCI (calving-to-conception interval) and reduced rate of conception. Researching the influence of different types of PP ovarian dysfunctions and endometritis on further reproduction performances, Nakao *et al.* (1991) found out that the postponed first ovulation occurs in 60–70% of cases and discontinuance of ovarian activity in 30% of cases. According to the authors, the most harmful effects on the next conception are caused by discontinuance of ovarian function after calving.

The efficacy of GnRH or synthetic analogues in improving the reproductive performances of dairy cows less than 40 days *post partum* has not been established. It was postulated that disparity observed between the results of similar trials may have arisen from differences in

experiment design, including the dosage of GnRH used; the number of days after calving when GnRH was administered; the concurrent use of prostaglandins to induce oestrus; and the enrollment of cows with an abnormal puerperium. Comparing the results of 24 trials extracted from 12 research papers that were assessed using meta-analysis, Beckett and Lean (1997) found out that treatment with GnRH did not significantly alter the number of days to first oestrus or first service or the relative risk of pregnancy at first service. The authors emphasize a need to concentrate further research on the potential for treatment with GnRH during the PP period to improve the reproductive performances of cows with abnormal puerperium.

Many breeders are trying to solve such fertility problems by routine use of hormone prophylactics, without taking care of feeding and management failures. To find out how efficient routinely administering of these hormones on such farms could be, we tried to improve the reproductive status of our experimental cows only by hormonal induction of ovaries' physiological processes combined with gynaecological supervision and medical care after calving. The fact that various authors have obtained different results on different farms and that the most recent results (Foote and Riek, 1999) emphasize beneficial effects in cows with slow involution of the reproductive tract on a farm with good conditions rises some new questions. For this purpose, we compared prophylactic effects of GnRH analogue buserelin (Receptal, "Hoechst") and hCG (Chorulon, "Intervet") on cows with or without r.p., kept on a farm with management deficiencies, low level of feed quality and hygiene, on reducing the service period and CCI.

## MATERIAL AND METHODS

The experiment was carried out on an intensive production farm in Croatia with the capacity of 850 Holstein-Friesian cows from March 1997 to October 1998. The subject of the investigation was the influence of buserelin and hCG on 75 cows without r.p. and 75 cows that did not expel placenta within 12 hours from calving (registered as cows with r.p.). Therefore, the cows were divided into six groups ( $n = 25$  for each group), depending on hormonal treatment and placenta status:

- Two untreated groups – with or without r.p.;
- Two buserelin (Receptal, "Hoechst", 20 micrograms) treated groups – with or without r.p.;
- Two hCG (Chorulon, "Intervet", 1500 i.j.) treated groups – with or without r.p.

The cows were treated with hormones by a single i.m. injection between d 14 and 16 PP. All cows with r.p. in the mentioned period were included in the experiment and the cows without r.p. were assigned randomly. The cows were at the age between 2.5 and 9 years (average 4.3 years). Some cows were tied, while the others were in loose-housing barns. The average lactation on the farm at the

time of investigations (reduced to 305 days and 3.2% fat) was 7 795 l per cow. The farm was with some management deficiencies (low stimulation and responsibility of workers) and low level of hygiene. The cows were fed mainly feed mixture, maize silage, lucerne hay and green lucerne. The feed was of deficient quality and quantity and not properly balanced. During the dry period, the cows were on a straw-based diet. The conception rate was about 40%, with about 3.5 inseminations per conception. Such a farm was selected intentionally to find out whether these factors could be among the reasons for the lack of hormonal influence found by some authors.

In all cows ( $n = 75$ ) that had r.p., 24 hours after calving placentas were removed manually if it was possible in an easy manner. In other cases, the attempts were repeated every two days. Beside that, "Geomycin F" oblates were administered to the uterus every two days until the cows recovered, with general therapy included according to the one's need. All the cows, no matter if they expelled placentas or not, received 5 ml of "Hypophysan" (synthetic oxytocin) i.m. within the first three days after calving. Rectal and vaginal examinations were carried out between d 18 and 25 PP. In the cases of endometritis, cows were treated with antibiotics administered to the uterus and in harder cases i.m., too. All experimental cows were treated with high doses of AD<sub>3</sub>E vitamin solution. The cows were gynaecologically examined every 20 days until they re-established the ovarian function. Eight cows with the ovaries out of function after d 45 PP were excluded from the experiment. The cows in oestrus were found according to vaginal and rectal diagnosis and their typical behaviour. The cows with production under 5 000 l of milk were not artificially inseminated before d 45, and the cows with higher production of milk not before d 60 of PP period.

The parameters that were monitored to compare the effects of buserelin and hCG on fertility of cows were as follows:

- service period - time from calving to first insemination;
- CCI - calving-to-conception interval.

As a statistical method for determining the differences between untreated, buserelin and hCG treated groups, but with the same placenta status, single factor ANOVA

(analysis of variance) - single factor was used. T-test was used for determining the differences between the groups with or without r.p., but with the same treatment. The calculation was done by means of statistical programme SPSS (Nie *et al.*, 1975).

## RESULTS

Determining the first parameter - service period (Table 1, Fig. 1), the results for 139 cows were obtained as eight cows had ovaries out of function after d 45 PP. Furthermore, one cow was excluded because of arthritis and two cows perished of sepsis and intoxication before the first oestrus. Administration of buserelin or hCG to cows with or without r.p. between d 14 and 16 PP did not cause any significant shortening of service period in any of the experimental groups. However, it is to be pointed out that the best results for cows without r.p. were obtained in hCG treated group compared to untreated or buserelin treated group (73.38 vs. 88.28 and 90.56 d, respectively). The values obtained in the groups with r.p. were quite similar. Neither did the status of cows without r.p. have any influence on shortening the service period in cows with the same treatment.

Table 1. Average service period in days in cows with different hormonal treatment and placenta status in PP period

Item		Hormonal prophylactic			Significance	
		-	buserelin	hCG		
Retained placenta	-	statistical parameters	$n = 25$	$n = 25$	$n = 22$	-
		$\bar{x}$	88.28	90.56	73.38	
		$s$	35.33	29.78	31.02	
	$v$	40.02	32.88	42.27		
	+	statistical parameters	$n = 22$	$n = 22$	$n = 23$	
		$\bar{x}$	91.05	87.00	92.82	
$s$		32.42	32.35	49.52		
	$v$	35.61	37.18	52.30		
Significance		-	-	-		

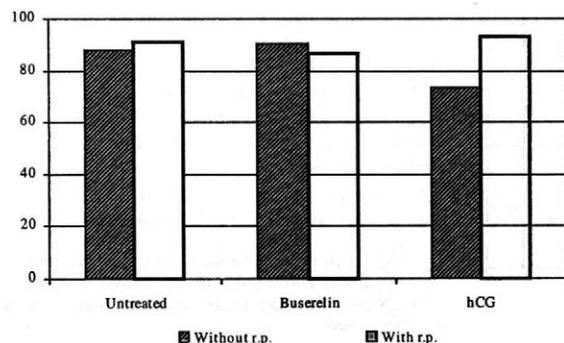


Fig. 1. Differences between the groups according to the service period in days in cows with different hormonal treatment and placenta status in PP period

Determining the second parameter – CCI (Table 2, Fig. 2), the results for 131 cows were obtained as another 8 cows, besides the mentioned 11 cows, had been excluded before they became pregnant. Five of them had been excluded because of long of infertility, two of them because of problems with legs and one of them because of low milk production at old age. The hormonal treatment with busserelin or hCG did not have any influence on shortening the time from calving to another conception in the cows without r.p., but that time was also shortest in untreated group (131.60 vs. 141.64 and 164.64 d, respectively). In contrast with these cows, in the cows with r.p. the worst results were obtained in untreated group, slightly better results in hCG treated group and the best results in busserelin treated group (224.55, 207.15 and 188.07 d, respectively), but also without significant differences. The cows with r.p. and with the same treatment, as expected, had significantly longer CCI than the cows without r.p. However, because of the best results in untreated group without r.p. and the worst results in untreated group with r.p., the differences were most significant between these groups (131.60 vs. 224.55 d, respectively,  $P < 0.001$ ).

Table 2. Average calving-to-conception interval in days in cows with different hormonal treatment and placenta status in PP period

Item	statistical parameters	Hormonal prophylactic			Significance
		–	busserelin	hCG	
		n = 23	n = 23	n = 21	
Retained placenta –	$\bar{x}$	131.60	141.64	164.64	–
	s	69.51	60.44	86.64	
	v	52.82	42.67	52.83	
Retained placenta +	$\bar{x}$	n = 22	n = 20	n = 22	–
		224.35	188.07	207.15	
	s	86.00	87.42	70.58	
	v	38.30	46.49	34.07	
Significance		$P < 0.001$	$P < 0.05$	$P < 0.1$	

## DISCUSSION

The results from other authors that have been published until now are rather contradictory. Contrary to our investigation (it has to be considered that most cows from other authors' experiments did not have r.p.), administering 20 micrograms busserelin (Receptal) between d 10 and 12 PP, Bostedt *et al.* (1980) achieved the first oestrus in dairy cows significantly earlier. Administering the same quantity of busserelin in the same PP period, Mori *et al.* (1988) managed to reduce the service period, but with a lower level of significance ( $P < 0.1$ ). Roberge *et al.* (1992) administered microencapsulated luteinizing hormone – releasing hormone analogue (LHRH) in early PP period and so significantly reduced the service period. Bell *et al.* (1983) obtained similar results with 100 micrograms of busserelin on d 14 PP. As hCG has rarely been used as a hormonal prophylactic in PP, little is written about its influence on cows' fertility. Hajurka and Choma (1998) induced ovulation in 50% of cows by treating them with 25 and 50 micrograms of GnRH analogue (Ferring – Lěčiva, Praha, Czech Republic) on d 12 and 13 PP.

The results that support our investigation results (the lack of influence on reducing the service period), were obtained by Leslie *et al.* (1984), who administered 200 micrograms of busserelin between d 8 and 14 PP, Berger (1986), who administered 1 000 micrograms of busserelin on d 10 PP, Rudan (1990), who administered 500 micrograms of gonadorelin to cows with r.p. between d 10 and 15 PP, Zdunczyk and Zebracki (1986), who administered 20 micrograms of busserelin between d 10 and 12 PP and Risco *et al.* (1994), who administered 20 micrograms of busserelin on d 12 PP to cows with dystocia, r.p. or both.

Contradictory results by other authors have been obtained concerning the second parameter (CCI), too. Administering GnRH in early PP period, Bostedt *et al.* (1980), Mori *et al.* (1988) and Rudan (1990) achieved a significantly shorter period from calving to another conception. Contrary to that, administering GnRH in early PP period did not reduce the number of days open in the mentioned investigations of Leslie *et al.* (1984), Berger (1986),

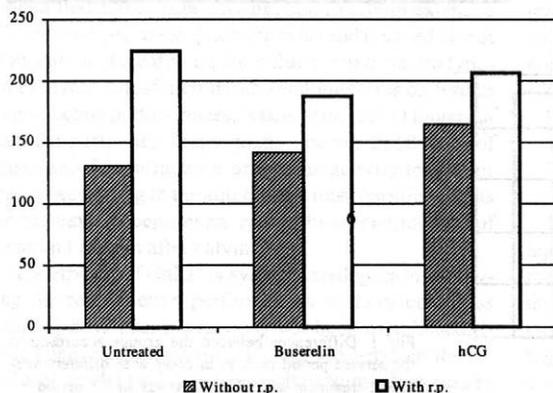


Fig. 2. Differences between the groups according to the calving-to-conception interval in days in cows with different hormonal treatment and placenta status in PP period

Zdunczyk and Zebracki (1986) and Risco *et al.* (1994), which is in agreement with our results. Roberge *et al.* (1992), administering LHRH, did not obtain any beneficial effects, either.

One of the factors that can have an influence on hormonal prophylaxis of cows' fertility is the dosage and proper time of administering hormones. Goehring *et al.* (1999) found out that a dose of 20 micrograms (used in our investigation) induces a more pronounced LH release than 4, 8, 40 and 80 micrograms. Crowe *et al.* (1993) examined the ovaries daily by ultrasound to determine the time of GnRH injection and ovulation. The ovulation was induced in most cows that had received GnRH analogue during the growing-plateau or declining phase of the first PP dominant follicle. Investigating the optimal time to induce ovulation in PP cows, Twagiramungu *et al.* (1994) found out that buserelin-induced ovulation is dependent on progesterone concentrations at the time of treatment. Furthermore, Deen *et al.* (1995), administering 20 micrograms of buserelin between d 15 and 20 and between d 30 and 35 PP, concluded that GnRH could induce ovarian activity only when a responsive follicle was present in the ovary. McDougall *et al.* (1995) found out that administration of 250 micrograms GnRH approximately 3 weeks after calving (when the follicle checked by ultrasound is over 10 mm large) to primiparous cows can induce ovulation. According to the authors, a hypothalamic release of GnRH, rather than pituitary or ovarian insufficiency, appears to be the factor limiting resumption of cyclic activity in primiparous cows. Even though ovulation can be induced, it does not always lead to the resumption of normal cyclicity. According to Smith and Wallace (1998), early ovulation after calving is associated with reduced pregnancy rates and prolonged days open period in multiparous but not in primiparous dairy cows.

From a critical point of view and after reviewing the variations between studies, Heuwieser *et al.* (1990) say that the routine use of GnRH or agonists during the PP period cannot be supported. Investigating the influence of gonadorelin (as a GnRH analogue) on fertility, Mijten and De Kruijff (1993) administered 25 micrograms of gonadorelin per cow on d 13, 14 and 15 PP to 335 cows. Having found the lack of influence of gonadorelin on fertility, they concluded that administration of gonadorelin in early PP period is not always recommended, although there are many publications with positive, as well as with negative results. According to Thatcher *et al.* (1993), the use of GnRH, with or without PGF (prostaglandins), as a reproductive management programme in the early PP period has not shown any clear improvement in subsequent reproductive efficiency. Investigating the results of various treatments of bovine r.p. and their effects, Peters and Laven (1996) say that the use of GnRH and prostaglandin in order to reduce the deleterious effect of r.p. on fertility has given inconsistent results. However, the most recent investigation, carried out by Foote and Riek (1999), rises some new questions. On a farm with good management, feed and hygiene, the authors managed to signifi-

cantly shorten the period to first service after calving (67 vs. 81 d) and CCI (87 vs. 121 d) in cows with slow cervical and uterine involution treated with GnRH between d 13 and 14 PP, compared to untreated cows. Interesting is the fact that the treatment of cows with normal uterine involution did not show any significant differences. The same trend (better results in cows with r.p.) was registered on our experimental farm as well, but only for CCI (Fig. 2). It seems that bad conditions on our, as well as on some other experimental farms, which prolonged the service period and CCI, were among of the greatest reasons for failures of hormonal improvement of cow fertility. Therefore, advancements must be based on a clear understanding of GnRH-induced physiological effects and ability to take advantage of good management of the farm unit. Achievement of optimum CCI of 85 to 115 days requires concentrated management activities during the first 90 days following calving. However, continuous gynaecological supervision of cows with problems in the PP period combined with hormonal treatment was not sufficient for improving cows' fertility in our investigation. This is in agreement with Bosted and Maurer (1990), who managed to improve cows' fertility by administration of 20 micrograms of buserelin in cows under continuous gynaecological supervision only in some aspects (uterine involution, ovarian cyst incidence), but the conception rates were the same. The cows on farms with bad management are exposed to many stressors, that according to Dobson and Smith (1995), can affect reproductive functions via actions at the hypothalamus, as well as impairing pituitary LH release induced by GnRH. According to Szenci (1999), careful surveillance at calving, avoiding trauma and infection of the tract, selection against families that encounter problems of maternal-foetal disproportion and postnatal examination and treatment have to be assured. Many of these parameters were missing on the experimental farm, which resulted in extended days open period even in the cows without r.p. (Table 2).

Furthermore, cows should be challenge-fed during early lactation to minimise the negative energy balance. According to the same author, it appears that cows with significant negative energy balance suffer damage to the developing population of follicles that we recruit for ovulation 2 to 3 months later. The most favoured biologic treatment to restore oestrous cycling after parturition is the maintenance of good condition at calving and the provision of a high-energy diet that does not produce fatty liver in early lactation. According to Whitaker *et al.* (1993), the median calving interval and the onset of cyclicity are shorter and conception rates are better for the cows with a better energy status at seven and 14 days after calving. In this trial, cows fed a silage-based diet during the dry period had higher conception rates and great luteinising hormone responses to buserelin than cows fed a straw-based diet (the case on our experimental farm). The straw-fed cows lost more weight before calving and had significantly higher non-esterified fatty

acid levels. According to Gauthier and Mauleon (1983), the maximal plasma LH concentrations recorded after GnRH injection are highly correlated with the mean PP daily weight gain. Evaluating the influence of negative energy balance on the sensitivity of the pituitary for GnRH, Bergmann *et al.* (1999) found out that the sensitivity of the pituitary gland is not directly influenced by negative energy balance, but the hypothalamus has the inhibiting priority over the pituitary delaying PP cyclicity.

According to Schiele *et al.* (1994), the medical care of the uterus with high doses of antibiotics combined with the application of GnRH must be recognized as a good supplement to the therapy of r.p. or other puerperal disorders such as lochiometra, especially in regard to compatibility and high pregnancy rates. However, good medical care of the experimental cows on our farm combined with hormone prophylaxis and gynaecological supervision PP was not sufficient for improvement of cows' fertility as we could not change the conditions the cows lived in.

## CONCLUSION

Administration of 20 micrograms of buserelin or 1500 i.j. of hCG to dairy cows (Holstein-Friesian) with or without retained placenta on the fixed days of post partum period (between d 14 and 16 PP) on a farm with management deficiencies, low feed quality and low level of hygiene did not have any beneficial effects on reducing service the period or calving-to-conception interval. Therefore, these prophylactics cannot be recommended in herds with low fertility caused by these factors.

## REFERENCES

- Beckett S. D., Lean I. J. (1997): Gonadotrophin-releasing hormone in postpartum dairy cattle: a meta-analysis of effects on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci.*, *41*: 93–112.
- Bell M. R., Lodge J. R., Jaster E. H., Murphy M. R. (1983): Reestablishment of ovarian cyclicity in the postpartum dairy cow – manual stimulation versus gonadotrophin releasing hormone (GnRH). In: *Proc. Am. Dairy Sci. Assoc.*, June 26–29: 228.
- Berger B. (1986): Zur metaphylaktischen Applikation von GnRH am 10. Tag post partum bei Kühen mit potentiell gestörtem Puerperium. *Mh. Vet. Med.*, *41*: 701–703.
- Bergmann J., Heuwieser W., Fischer B., Bruckmann A. (1999): Reaction of the pituitary gland to a single GnRH administration in dependence on energy balance in cattle in the puerperium. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Gross Tiere Nutztiere*, *27*: 154–160.
- Bostedt H., Peche K., Strobl K. (1980): Zur Auswirkung frühzeitig post partum verabreichter Gn-RH-Gaben auf Puerperal Verlauf und Konzeptionsergebnis bei Kühen nach Retentio secundinarum. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, *93*: 184–188.
- Bostedt H., Maurer G. (1990): Relationship between the intensity of gynecologic supervision during the postpartum period and fertility results in dairy cow herds. *Tierärztliche Praxis*, *18*: 449–457.
- Crowe M. A., Goulding D., Baguisi A., Boland M. P., Roche J. F. (1993): Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. *J. Reprod. Fertil.*, *99*: 551–555.
- Deen A., Khar S. K., Galhotra M. M., Khurana N. K. (1995): Effects of GnRH on reproductive activity of postpartum cow. *Indian J. Anim. Sci.*, *65*: 970–974.
- Dobson H., Smith R. F. (1995): Stress and reproduction in farm animals. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*, *49*: 451–461.
- Etherington W. G., Kinsel M. L., Marsh W. E. (1996): Relationship of production performance in Ontario dairy cows-herd level and individual animal descriptive statistics. *Theriogenology*, *46*: 935–959.
- Foote R. H., Riek P. M. (1999): Gonadotropin-releasing hormone improves reproductive performance of dairy cows with slow involution of the reproductive tract. *J. Anim. Sci.*, *77*: 12–16.
- Gauthier D., Mauleon P. (1983): Influence of dietary and weight variation on LH release after a gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) injection during post-partum period of the nursing cow. *Reprod., Nutr., Develop.*, *23*: 829–835.
- Goehring C., Aurich C., Lange J., Hoppen H. O., Aurich J. E. (1999): Therapeutic and prophylactic effect of LH-release in cattle. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Gross Tiere Nutztiere*, *27*: 25–29.
- Hajurka J., Choma J. (1998): Induction of first postpartum ovulation by GnRH analogue in suckled dairy cows. *Veter. Med.*, *43*: 169–172.
- Heuwieser W., Guard C. L., Ferguson J. D., Foote R. H., Mansfeld R. (1990): The effect of gonadotropin releasing hormone (GnRH) and analogs on the conception rate in cattle. A critical review. *DTW – Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, *97*: 430–433.
- Leslie K. E., Doig P. A., Bosu W. T. K., Curtis A., Martin S. W. (1984): Effects of gonadotropin releasing hormone on reproductive performance of dairy cows with retained placenta. *Can. J. Comp. Med.*, *48*: 354–359.
- McDougall S., Williamson N. B., Macmillan K. L. (1995): GnRH induces ovulation of a dominant follicle in primiparous dairy cows undergoing anovulatory follicle turnover. *Anim. Reprod. Sci.*, *39*: 205–214.
- Mijten P., De Kruif A. (1993): Kan de fertiliteit van het rund worden verbeterd door toediening van gonadotroop releasing hormoon (Gn-RH). *Tijdschr. Diergeneesk.*, *118*: 257–263.
- Mori J. K., Ouchi K., Kawate N., Inaba T. (1988): Gn-RH-analogue leads to improve breeding efficiency in cows with retained foetal membranes. *Vet. Rec.*, *123*: 352.
- Nakao T., Moriyoshi M., Kawata K. (1991): The effects of postpartum ovarian dysfunction and endometritis on sub-

- sequent reproductive performance in high and medium producing dairy cows. *Theriogenology*, 37: 341–349.
- Nie N. H., Hull C. H., Jenkins G. J., Steinbrenner K., Dale H. B. (1975): *Statistical Package for the Society Sciences*. 2nd ed. New York, Mc Graw-Hill.
- Peters A. R., Laven R. A. (1996): Treatment of bovine retained placenta and its effects. *Vet. Rec.*, 139: 535–539.
- Risco C. A., Archbald L. F., Elliott J., Tran T., Chavatte P. (1994): Effect of hormonal treatment on fertility in dairy cows with dystocia or retained fetal membranes at parturition. *J. Dairy Sci.*, 77: 2562–2569.
- Roberge S., Schramm R. D., Schally A. V., Reeves J. J. (1992): Reduced postpartum anestrus of suckled beef cows treated with microencapsulated luteinizing hormone – releasing hormone analogue. *J. Anim. Sci.*, 70: 3825–3830.
- Rudan D. (1990): Utjecaj davanja Gn-RH kod krava sa zaostalom posteljicom od 10. do 15. dana poslije teljenja na trajanje vremena odmora i servis-perioda. [Magistarska radnja.] Veterinarski fakultet, Zagreb.
- Schiele R., Kolling S., Dieckhoff H. J. (1994): The therapy of postpartum secretion (lochiometra) in high-yielding cows. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, 101: 222–227.
- Smith M. C. A., Wallace J. M. (1998): Influence of early post partum ovulation on the re-establishment of pregnancy in multiparous and primiparous dairy cattle. *Reprod., Fertil., Develop.*, 10: 207–216.
- Szenci O. (1999): Reproductive management of dairy cows in the postpartum period. *Magyar Allatorvosok Lapja*, 121: 78–81.
- Thatcher W. W., Drost M., Savio J. D., Macmillan K. L., Entwistle K. W., Schmitt E. J., Delasota R. L., Morris G. R. (1993): New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 33: 27–49.
- Twagiramungu H., Guibault L. A., Proulx J. G., Dufour J. J. (1994): Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol. *J. Anim. Sci.*, 72: 1796–1805.
- Whitaker D. A., Smith E. J., Darosa G. O., Kelly J. M. (1993): Some effects of nutrition and management on the fertility of dairy cattle. *Vet. Rec.*, 133: 61–64.
- Zdunczyk S., Zebracki A. (1986): Versuch einer metaphylaktischen Anwendung des Gn-RH-Analogons Buserelin in einer Problemherde mit Berücksichtigung der hormonanalytischen und histologischen Untersuchungen. *Wien. Tierärztl. Mschr.*, 73: 314–320.

Received for publication on November 16, 1999

Accepted for publication March 20, 2000

---

*Contact Address:*

Boris Antunović DVM, MSc., University of J. J. Strossmayer in Osijek, Faculty of Agriculture, Trg svetog Trojstva 3, 31 000 Osijek, Croatia, tel.: + 385 31 22 42 20, fax: + 385 31 20 70 17, e-mail: bantunov@suncokret.pfos.hr

---

# Česká potravinová legislativa

*Soubor české potravinové legislativy ve znění změnových právních předpisů s případnými komentáři, průběžně aktualizovaný v závislosti na vydávání novel nebo nových předpisů, soustředěný v jednom svazku (jako veškerá relevantní legislativa) včetně souvisejících zákonů a prováděcích vyhlášek i s jejich změnami.*

Materiál je vydáván formou volných listů formátu A5, které se zakládají do pořadače a v případě změn se vyměňují příslušné listy.

*První část obsahuje konsolidované znění tří následujících prováděcích vyhlášek k zákonu o potravinách, jejichž novelty byly vydány v březnu 2000:*

*220/1998 o posuzování shody – s komentářem*

*326/1997 o zmrazených potravinách*

*335/1997 o nealkoholických a alkoholických nápojích*

*Druhá část obsahuje 6 komoditních vyhlášek novelizovaných v dubnu 2000:*

*327/1997 o mase, rybách, vejcích a výrobcích z nich*

*328/1997 o mléce a výrobcích*

*330/1997 o kávě a čaji*

*332/1997 o ovoci, zelenině, bramborách a houbách a výrobcích z nich*

*333/1997 o mlýnských, pekařských a cukrářských výrobcích a těstovinách*

*334/1997 o cukru, medu, cukrovinkách, kakau a čokoládě*

*Ve třetí části se předpokládá konsolidované znění zákona 110/1997 Sb., jehož novela se v nejbližší době očekává, v dalších doplňcích budou zpracovány komentáře, ostatní již dříve novelizované potravinové předpisy a předpisy s potravinami související a předpisy, které budou postupně novelizovány.*

**Cena první části v rozsahu 90 stran 130 Kč**

**Cena druhé části v rozsahu 190 stran 180 Kč**

**Cena pořadače (není podmínkou objednávky) 85 Kč**

Materiál je možné si objednat na adrese:

Ústav zemědělských a potravinářských informací

Slezská 7, 120 56 Praha 2

kontaktní osoba: Ing. Suková

tel.: 02/24 25 79 39 1. 223, fax: 02/22 51 40 03

e-mail: [vyziva@uzpi.cz](mailto:vyziva@uzpi.cz)

<http://www.uzpi.cz>

# THE EFFECT OF COPPER AND COBALT SUPPLEMENTATION ON THE RUMEN CILIATE POPULATION IN SHEEP

## VPLYV PRÍDAVKU KOBALTU A MEDI NA POPULÁCIU BACHOROVÝCH CILIÁT OVIEC

S. Kišidayová, P. Sviatko, I. Zelenák

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

**ABSTRACT:** The effect of physiological doses of the sulfate form of copper (12 mg.kg<sup>-1</sup> DM), cobalt (2 mg.kg<sup>-1</sup> DM) and cobalt + copper (2 + 12 mg.kg<sup>-1</sup> DM) in two different diets on the rumen ciliate protozoa of four Merino rams with rumen cannula was investigated. The total number of ciliates, *Entodinia* spp., Trichostomatids (*Dasytricha* and *Isotricha*) and large Entodiniomorphids (*Polyplastron multivesiculatum* and *Ophryoscolex caudatus tricornatus*) was counted in the rumen fluid 3 h after feeding the animals. The experiment lasted 30 days; 14 days presented the adaptation period after changing the diet. The number of *Entodinium* spp. and thus the total number of ciliates significantly increased with diet A (complete feed ration: meadow hay, feed mixture, corn, molasses, mineral supplement, treated beech sawdust) without microelement supplementation. The population of *Entodinium* spp. was decreased by 69% with diet B (meadow hay and barley meal). No significant effect of Co, Cu or Cu + Co supplementation on the growth of *Entodinium* spp. was observed with diet A. Supplementation of Cu significantly decreased the number of *Entodinium* spp. by 45% with diet B. The number of Trichostomatids was significantly decreased by 80% with diet A. It was probably due to feeding molasses. After supplementation with Co their growth was significantly higher with diet A (control values were lower by 87%). No significant effect of Cu or Cu + Co supplementation on the growth of trichostomatids was observed with diet A or diet B. Neither diet A nor diet B revealed any significant effect of Co, Cu or Cu + Co supplementation on the growth of large Entodiniomorphids.

**Keywords:** microelements; cobalt; copper; rumen ciliate protozoa; sheep

**ABSTRAKT:** Bol sledovaný vplyv úrovne príjmu mikroelementov medi, kobaltu a kombinácie medi a kobaltu v dvoch rôznych diétach na populáciu bachorových prvokov – ciliát – u fistulovaných baranov plemena merino. Po rannom podaní krmiva sa aplikovala baranom cez fistulu do bachora meď vo forme CuSO<sub>4</sub>·5 H<sub>2</sub>O tak, aby výsledná hladina Cu v kŕmnej dávke bola 12 mg.kg<sup>-1</sup> DM, kobalt vo forme CoSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O v množstve, ktoré zabezpečilo jeho celkový obsah v diéte 2 mg.kg<sup>-1</sup> DM alebo Cu + Co spolu. Kontrolná skupina nedostávala prídavok mikroelementov. Sledovaný bol celkový počet ciliát, počet entodínií, trichostomatíd (rody *Dasytricha* a *Isotricha*) a veľkých entodiniomorfov (druhy *Polyplastron multivesiculatum* a *Ophryoscolex caudatus tricornatus*). Odbery bachorovej tekutiny boli robené tri hodiny po nakŕmení zvierat. Pri diéte B (lúčne seno a jačmenný šrot) bol počet entodínií a zároveň celkový počet ciliát v kontrolnej skupine významne znížený o 69 % oproti diéte A (kompletná kŕmna dávka: lúčne seno, kŕmna zmes, kukurica, opracované bukové piliny a melasa). Doplnenie medi pri diéte B významne znižovalo rast entodínií (o 45 %) a tým aj celkový počet bachorových ciliát. Rast entodínií nebol pri diéte A ovplyvnený doplnkom mikroelementov. Počet trichostomatíd v kontrolnej skupine pri diéte A bol významne znížený o 80 % oproti diéte B, čo bolo pravdepodobne spôsobené melasou. Po doplnení kobaltu bol rast trichostomatíd významne vyšší. Doplnok Cu a Cu + Co nemal vplyv na rast trichostomatíd pri daných diétach. Rast veľkých entodiniomorfov nebol významne ovplyvnený doplnkom mikroelementov ani pri jednej diéte.

**Kľúčové slová:** mikroelementy; kobalt; meď; bachorové ciliáty; ovca

### INTRODUCTION

In the rumen microelements are of endogenous and food origin forming complexes with the organic and inorganic anions. There is a low concentration of dissolved microelements in the supernatant or rumen fluid despite the sufficient supply in food probably caused by the for-

mation of insoluble complexes and by accumulation in the microorganisms (bacteria). The protozoon need can be completed in part by the ingestion of these bacteria (Durand, Kawashima, 1980). It is assumed that rumen protozoa need a larger amount of microelements for optimal growth and metabolism than bacteria (Durand, Kawashima, 1980). There are few studies that deal with the metab-

The study was supported by funds from the Grant Agency for Science of the Slovak Academy of Science (No. 2/702920).

olism of microelements in the rumen ciliates themselves or (and) in relation to both the host animal and the rumen environment.

The effect of copper and cobalt supplementation on the digestibility of fibrous feed in sheep was investigated (Zeleňák *et al.*, 1992). In the present paper the authors described the effect of the microelements on the rumen ciliate population.

## MATERIAL AND METHODS

Four adult rams (Merino breed) were fed diet A for 30 days and then diet B for 30 days with 14-day adaptation period between these experimental treatments. The complete feed ration (diet A) consisted of 510 g meadow hay, 200 g commercial feed mixture for ewes (BAK), 200 g ground corn, 120 g molasses and 90 g processed beech sawdust. The beech sawdust was processed according to the defibration method (Bučko *et al.*, 1987). The content of cobalt was 1.7 mg.kg<sup>-1</sup> dry matter (DM) and that of copper 10.0 mg.kg<sup>-1</sup> DM of feed. Diet B consisted of 800 g meadow hay and 200 g ground barley. The content of cobalt was 0.2 mg.kg<sup>-1</sup> DM and that of copper 9.5 mg.kg<sup>-1</sup> DM. The animals were fed twice daily. Following morning feeding the microelement supplement was applied through the rumen cannula. In the first animal copper (as CuSO<sub>4</sub>·5 H<sub>2</sub>O) was supplemented so that its total intake level was 12 mg.kg<sup>-1</sup> dry matter of feed. In the second animal cobalt (as CoSO<sub>4</sub>·7 H<sub>2</sub>O) was supplemented so that its total intake level was 2 mg.kg<sup>-1</sup> dry matter of feed. The third animal was supplemented a mixture of Cu + Co. The fourth animal was a control without microelement supplementation. The doses of microelements used are the recommended physiological doses (Kovalskij, 1964; Underwood, 1977; Káldy, 1980). The rumen fluid was sampled in 2 day intervals during 14 days (6 samples per diet per treatment). Rumen fluid was withdrawn through a rumen cannula 3 hours after the morning feeding and fixed with 8% formalin solution. The following fractions of rumen ciliates were counted: *Entodinium* species, Trichostomatids (*Isotricha* and *Dasytricha*), large Entodiniomorphids (*Polyplastron multivesiculatum* and

*Ophryoscolex caudatus tricornatus*) and the total number of the rumen ciliates. The protozoa were counted according to Coleman (1978). All data are presented as means ± standard error of the mean (SEM). The statistical analysis used was the one factor analysis of variance. Differences between means were considered significant at  $P < 0.05$  (\*),  $P < 0.01$  (\*\*) and  $P < 0.001$  (\*\*\*).

## RESULTS

The protozoan population of rams was of A type. Genus composition was as follows: *Entodinium* spp., *Dasytricha*, *Isotricha*, *Polyplastron*, *Ophryoscolex*, *Diploplastron*, *Diploplastron* and *Enoploplastron*.

A marked effect of the diets used on the rumen protozoan population was observed (Figs. 1a, b). During feeding the complete feed ration (diet A) the number of Entodinia and thus the total number of rumen ciliates was significantly higher (Fig. 1a). With diet B the number of *Entodinium* spp. appeared to be decreased by 69%. On the other hand with diet A the number of *Dasytricha* and *Isotricha* was significantly lowered by 80% (Fig. 1b). With diet B the population density of the large ciliates tended to be lower but no significant difference was seen in comparison to diet A (Fig. 1b).

Supplementation of diet A with cobalt resulted in the significantly better growth of trichostomatid ciliates (Fig. 2c). The control values were lower by 87%. No significant differences were observed in the growth of Trichostomatids following supplementation of diet A with both Cu and Cu + Co. No significant changes in the Trichostomatid population were observed after feeding the diet B with any microelement supplementation.

Copper supplementation of diet B significantly decreased the total number of ciliates and the *Entodinium* spp. population by 45% (Figs. 2a, b). Supplementation of the diet with both Co and Cu + Co had no marked effect on the *Entodinium* spp. In diet A the supplementation of Cu, Co and Cu + Co tended to decrease the *Entodinium* population; however, the decrease was not significant (Fig. 2b).

Cu, Co and Cu + Co supplementation of both diet A and diet B did not significantly affect the population of

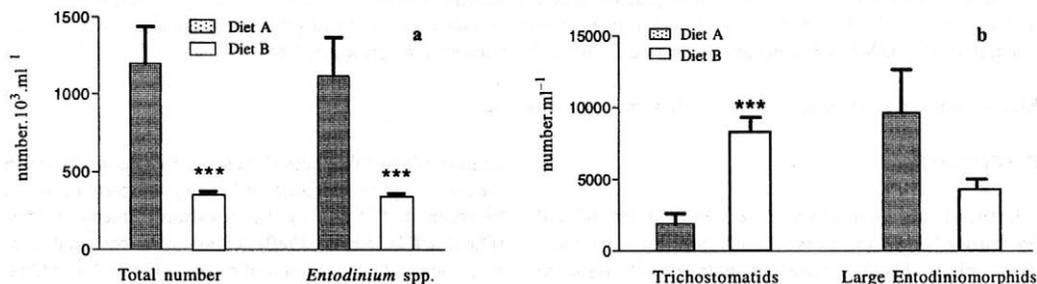


Fig. 1a, b. Effect of different feed on the total protozoan population, *Entodinium* spp., Trichostomatids and large Entodiniomorphids in sheep. The control groups were compared. Diet A: meadow hay, feed mixture (BAK), ground corn, molasses, processed beech sawdust. Diet B: meadow hay and ground barley. The values are means ± SEM. Probability value is  $P < 0.001$  (\*\*\*)

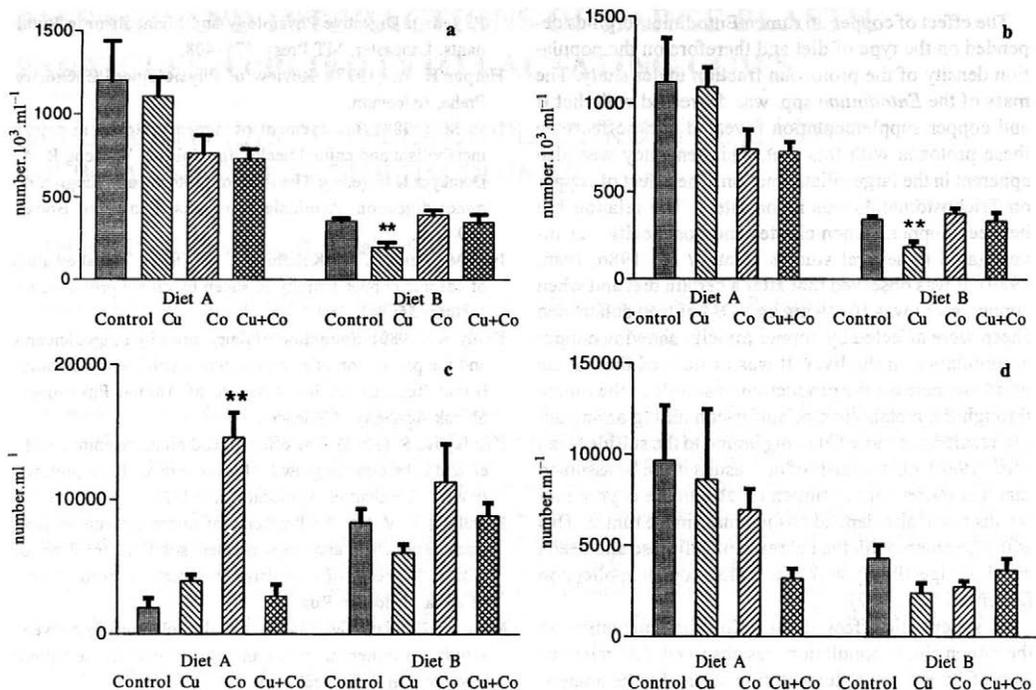


Fig. 2. Effect of microelement supplementation on the total protozoan population (a), *Entodinium* spp. (b), Trichostomatids (c) and large Entodiniomorphids (d) in sheep. Cu - 12 mg.kg<sup>-1</sup> DM, Co - 2 mg.kg<sup>-1</sup> DM, Cu + Co - 12 + 2 mg.kg<sup>-1</sup> DM. Diet A: meadow hay, feed mixture (BAK), ground corn, molasses, processed beech sawdust. Copper and cobalt contents were 10.0 and 1.7 mg.kg<sup>-1</sup> DM, respectively. Diet B: meadow hay and ground barley. Copper and cobalt contents were 9.5 and 0.2 mg.kg<sup>-1</sup> DM, respectively. The values are means  $\pm$  SEM. Probability value is  $P < 0.01$  (\*\*)

large ciliates (*Ophryoscolex* and *Polyplastron*); however, following microelement supplementation a decrease in the growth of these ciliates could be observed (Fig. 2d).

## DISCUSSION

The results of the experiment indicate a different need for the tested microelements in different rumen ciliates. The impact of microelements upon the ciliate population density was also related to the initial ciliate density as the result of feeding a certain type of feed. The mass of *Entodinium* spp. and large Entodiniomorphids was increased with diet A in contrast to the decreased mass of Trichostomatids. Molasses could probably lead to a significant decrease of the Trichostomatid population with diet A (complete ration). Excess of soluble carbohydrates impairs the metabolism of ciliates due to an overaccumulation of storage polysaccharides resulting in the bursting of the cells (Oxford, 1958; Quinn *et al.*, 1962; Clarke, Hungate, 1966; Williams, Harfoot, 1976; Van Hoven, Prins, 1977; Williams, 1979). The great increase in the Trichostomatid population following Co supplementation of diet A can be explained as the restoration of the synchronisation of cell division with higher energy intake. As far as we know this phenomenon has so far not been described. In addition to other functions cobalt is a part of enzymes

called "cobamids" which are essential during building DNA of some bacteria (Harper, 1977). It can be speculated whether a higher intake of cobalt could balance its possible lack during synthesizing trichostomatid DNA or the DNA of some endosymbiotic organisms. Further studies are needed to obtain evidence on the essentiality of cobalt for Trichostomatids. On the other hand, Entodiniomorphids tend to decrease the population density during cobalt supplementation. The low need for cobalt in Entodiniomorphids was confirmed *in vitro* (Kišidayová, 1996) when the best growth of *Entodinium caudatum* and *Ophryoscolex caudatus tricornatus* occurred at the dose of 0.006 mg.l<sup>-1</sup> of the medium. It was observed that a cobalt concentration from 0.1 to 1.0 mg.l<sup>-1</sup> and vitamin B<sub>12</sub> concentration from 0.12 to 0.24 mg.l<sup>-1</sup> stimulated the growth of *Entodinium* spp. (Bonhomme *et al.*, 1982). The latter authors assumed ciliates to need bacteria in order to utilize the organic cobalt for growth. Mori and Kandatsu (1975) suggested that the cobalt level of 0.2-0.7 mg.kg<sup>-1</sup>, which is usual with common feeds, might not be enough for the appropriate activity of microorganisms in the rumen. The cellulose, beech sawdust and hay digestibility *in vitro* increased after Co application in the complete food ration - diet A (Zeleňák *et al.*, 1992). The latter results probably reflect the bacterial activity of rumen liquor since the number of Entodiniomorphids was decreased in this treatment.

The effect of copper on rumen Entodiniomorphids depended on the type of diet and therefore on the population density of the protozoan fraction under study. The mass of the *Entodinium* spp. was decreased with diet B and copper supplementation revealed toxic effects on these protozoa with this diet. This tendency was also apparent in the large ciliate fraction. The effect of copper on Trichostomatids was inconsistent. The relationship between copper, rumen ciliates and host health was investigated in several studies (Ivan *et al.*, 1986; Ivan, 1989). It was observed that after a certain diet and when copper intake was 10–14 mg kg<sup>-1</sup> DM of feed defaunated sheep were affected by copper toxicity showing copper accumulation in the liver. It was postulated that ciliate protozoa increase the production of sulfide in the rumen through the metabolism of sulfur-containing amino acids, resulting in more Cu being bound to the sulfide (Ivan *et al.*, 1986). On the basis of our results it can be assumed that this buffer role of rumen ciliates in the copper metabolism will also depend on their mass in the rumen. This is in agreement with the decrease of cellulose and beech sawdust digestibility with diet B after copper application (Zešleňák *et al.*, 1992).

No synergistic effect of Cu + Co supplementation on the rumen ciliate population was observed. The relationship of Cu + Co supplementation seemed to be antagonistic which was probably caused by the inorganic form of microelement supplement.

As can be concluded from the results the rumen ciliates revealed a different need for microelements. In contrast to the Trichostomatids Entodiniomorphids examined had a low need for cobalt. Cobalt seems to play an important role in the metabolism of Trichostomatids. The effect of copper depended on the mass of ciliates, and had no stimulatory effect on the implicated intake level.

## REFERENCES

- Bonhomme A., Durand M., Quintana C., Halpera S. (1982): Influence du cobalt et de la vitamin B<sub>12</sub> sur la croissance et la survie des ciliés du rumen *in vitro*, en fonction de la population bactérienne. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 22: 107–122.
- Bučko J., Boďa K., Eisner K., Zešleňák I., Beracková D. (1987): Preparation of roughage from nontraditional wood resources. Patent AO no. 231-753.
- Clarke R. T. J., Hungate R. E. (1966): Culture of the rumen holotrich ciliate *Dasytricha ruminantium* Schuberg. *Appl. Microbiol.*, 14: 340–345.
- Coleman G. S. (1978): Rumen Entodiniomorphid Protozoa. Chapter 3. In: Taylor A. E. R., Baker J. R. (eds.): *Methods of Cultivating Parasites in vitro*. London, Acad. Press: 39–54.
- Durand M., Kawashima R. (1980): Influence of minerals in the rumen microbial digestion. In: Ruckebush Y., Thivend P. (eds.): *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Lancaster, MT Press: 375–408.
- Harper H. A. (1977): *Review of Physiological Chemistry*. Praha, Avicenum.
- Ivan M. (1989): Involvement of rumen protozoa in copper metabolism and animal health. In: Nolan J. V., Leng R. A., Demeyer D. I. (eds.): *The roles of protozoa and fungi in ruminal digestion*. Armidale, Australia, Penambul Books: 199–210.
- Ivan M., Veira D. M., Kelleher, C. A. (1986): The alleviation of chronic copper toxicity in sheep by ciliate protozoa. *Br. J. Nutr.*, 55: 361–367.
- Káldy A. (1980): Saturation of dairy cows by microelements and the prevention of microelement insufficiency diseases. [Final Report.] Košice, Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences.
- Kišidayová S. (1996): The effect of cadmium, selenium, nickel, and cobalt on the growth of some rumen ciliate protozoa *in vitro*. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 43: 14A.
- Kovalskij V. V. (1964): Problems of microelements in livestock production and ways of their solution. In: *Proc. of Works "Aspects of chemistry in livestock production"*, Moskva, Kolos (in Russian).
- Mori B., Kandatsu M. (1975): On the relationship between activity of rumen microbes and cobalt level in the culture medium. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 46: 558–564.
- Oxford A. E. (1958): Bloat in cattle. IX. Some observations on the culture of the rumen ciliate *Epidinium ecaudatum* Crawley occurring in quantity in cows fed on red clover (*Trifolium pratense* L.). *N. Z. J. Agr. Res.*, 1: 809–824.
- Quinn L. Y., Burroughs W., Christiansen W. C. (1962): Continuous culture of ruminal microorganisms in chemically defined medium. III. Culture medium studies. *Appl. Microbiol.*, 10: 583–592.
- Underwood E. C. (1977): *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. New York Academia Press.
- Van Hoven W., Prins, R. A. (1977): Carbohydrate fermentation by the rumen ciliate *Dasytricha ruminantium*. *Protistologica*, 13: 599–606.
- Williams A. G. (1979): Exocellular carbohydrase formation by rumen holotrich ciliates. *J. Protozool.*, 26: 665–672.
- Williams A. G., Harfoot C. G. (1976): Factors affecting the uptake and metabolism of soluble carbohydrates by the rumen ciliate *Dasytricha ruminantium* isolated from ovine rumen contents by filtration. *J. Gen. Microbiol.*, 96: 125–136.
- Zešleňák I., Jalč D., Plachá I., Sviatko P., Ventrák T., Siroka P., Gyulai F. (1992) The effect of copper and cobalt supplementation on the digestibility of fibrous feeds in sheep. *Vet. Med. (Praha)*, 37: 221–229.

Received for publication on November 2, 1999

Accepted for publication on March 20, 2000

Contact Address:

RNDr. Svetlana Kišidayová, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésovej 4–6, 040 01 Košice, Slovenská republika, tel: + 421 95 76 31 21, fax: + 421 95 76 21 62, e-mail: kisiday@saske.sk

# PASSAGE AND INTERACTIONS OF LARGE PLASTIC PARTICLES APPLIED INTO LACTATING COWS

## PASÁŽ A INTERAKCE VELKÝCH PLASTIKOVÝCH ČÁSTIC APLIKOVANÝCH LAKTUJÍCÍM DOJNICÍM

J. Třináctý<sup>1</sup>, M. Šustala<sup>1</sup>, P. Doležal<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic

**ABSTRACT:** Two trials were performed on two lactating cows. In the first trial the diet consisted of 5.4 kg maize silage, 3.7 kg lucerne hay and 5.3 kg mixture (in DM), the mean milk yield was 17.09 kg. Plastic particles of 6, 8, 10 and 12 mm were used, 50 particles of each size. In the second trial with similar diet the mean milk yield was 22.12 kg, only particles 6 and 10 mm (768 and 172 pieces, respectively) were applied separately or together. The specific gravity of particles, which were applied orally, was  $1.25 \pm 0.05 \text{ g/cm}^3$ . The aim was to determine the recovery and retention time of individual particles, in the second trial the interaction of 6 and 10 mm particles was also evaluated. Mean cumulative faecal recovery of 6, 8, 10 and 12 mm particles in the first trial was: 98.7, 98.7, 96.0 and 82.7%, total mean retention time was 39.7, 41.4, 44.5 and 58.4 hours, respectively. In the second trial the highest interaction between 6 and 10 mm particles was found when 28 hours had elapsed after application, when the cumulative faecal recovery was 60.3 and 54.8%, respectively.

**Keywords:** cow; passage; plastic particle; recovery

**ABSTRAKT:** Byly provedeny dva pokusy na laktujících dojnících. V prvním pokusu obsahovala krmná dávka 5,4 kg kuřičné siláže, 3,7 kg vojtěškového sena a 5,3 kg směsi (v sušině), průměrná denní užitkovost dojnic byla 17,09 kg mléka. Byly použity plastické částice 6, 8, 10 a 12 mm, 50 kusů každé velikosti. Ve druhém pokusu s podobnou krmnou dávkou byla mléčná užitkovost 22,12 kg a byly použity jen částice 6 a 10 mm (768 a 172 kusů), které byly aplikovány buď odděleně, nebo společně. Specifická hmotnost částic aplikovaných orálně byla  $1,25 \pm 0,05 \text{ g/cm}^3$ . Cílem bylo stanovit návratnost a retenční čas jednotlivých částic, ve druhém pokusu byla také hodnocena interakce 6mm a 10mm částic. Průměrná kumulativní návratnost ve výkalech u částic 6, 8, 10 a 12 mm v prvním pokusu byla 98,7, 98,7, 96,0 a 82,7 %, celkový průměrný retenční čas byl 39,7, 41,4, 44,5 a 58,4 hodin. Ve druhém pokusu byla nalezena největší interakce mezi 6mm a 10mm částicemi 28 hodin po aplikaci, kdy byla zjištěna návratnost ve výkalech 60,3 % a 54,8 %.

**Clíčová slova:** dojnice; pasáž; plastické částice; návratnost

### INTRODUCTION

The passage of particles through the digestive tract of cattle depends in part on their specific gravity. The optimum density for maximum passage of plastic particles was established by King and Moore (1957). Their trials with steers showed that the highest rate of particle passage was achieved when the particle density was about  $1.2 \text{ g/cm}^3$ . Campling and Freer (1962) found out that the lowest ruminal mean retention time was achieved when the specific particle gravity was  $1.1\text{--}1.2 \text{ g/cm}^3$ . Stetter Neel *et al.* (1995) reported that the ruminal passage rate of 1 and 3 mm inert particles increased on average from 0.68 to  $5.79\%/h$  when their specific gravity increased from 0.9 to  $1.32 \text{ g/cm}^3$ . From the above-mentioned values the

ideal specific gravity range of  $1.2\text{--}1.3 \text{ g/cm}^3$  was derived for plastic particles in this study.

Larger particles pass generally more slowly through the digestive tract of cattle. Also the recovery values presented in literature are with these particles lower. In a trial with dry cows Campling and Freer (1962) related the size of particles 3.2, 4.0 and 4.8 mm directly to the total tract mean retention time (TMRT) values (80, 86 and 91 h, respectively). In the trial of Prigge *et al.* (1990), when cylindrical nylon particles of 1, 3 and 5 mm length were placed in the rumen of steers, the ruminal retention time was 17.4, 20.7 and 61.36 h, respectively. Ehle and Stern (1986) introduced 3.2, 6.4 and 12.7 mm spheres to the rumen of heifers and they achieved the recovery values 78.2, 79.5 and 68.8%, respectively.

Research was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Project No 523/99/1539).

Published values of trials with the mutual influencing (interactions) of feed particles in the digestive tract did not give any consistent results. Owens and Goetsch (1986) found out that an increase in the proportion of long roughage in the diet increased the rate of small particle passage. In agreement with this finding Poore *et al.* (1990) mentioned a decrease in the hay and straw passage rate when the concentrate mixture level in the diet of steers increased from 60% to 90%. According to Willie *et al.* (1990) an increase in the proportion of roughage in the diet exponentially reduced the retention time of corn residues in the rumen-reticulum. On the contrary, Grant (1997) found that an increase of coarse forage in diet with soybean hulls caused an increase of their ruminal retention time.

The interactions between plastic particles during their passage through the digestive tract of cattle were observed in our previous work (Třinácý *et al.*, 1999a). In this article the hypothesis with the working name "rake effect" was mentioned. This hypothesis says that when a larger amount of similar particles is applied into the animal (cow), the particles can be mutually influenced. On the basis of this hypothesis the following question was asked. Can the particles with the higher passage rate (generally smaller particles) accelerate the slower particles (larger particles) and vice versa? Passage of particles and their interactions mentioned above are related to the nylon capsule method in the presented article (Třinácý *et al.*, 1999b). This method uses capsules made of nylon cloth, filled with feed samples and orally inserted into the cow. The size of capsules is 10 mm and there is a question if the capsules can be larger. For this purpose the plastic particles of various sizes were tested in the first trial as a model. The interactions of particles in the digestive tract are simulated in the second trial in this article, where the plastic particles 6 and 10 mm in size were used. When the conclusions were made, the fact was respected that the nylon capsules and plastic particles can have different physiological responses.

## MATERIAL AND METHODS

### Animals

The passage of plastic particles was tested in two trials. In the first trial two lactating crossbred cows were used (Czech Pied > 75% × Black Friesian < 25%). Live-weight of the lactating cows at beginning of the first trial was 593 and 665 kg. The diet (in DM) consisted of 5.4 kg of maize silage (with 272 g/kg DM), 3.7 kg of lucerne hay and 5.3 kg of mixture (25% maize meal, 23% soybean meal, 17% oat meal, 12% wheat meal, 12% lucerne meal, 8% wheat bran, 2.5% dicalcium phosphate and 0.5% sodium chloride). The diet was calculated according to the performance of the cows (Czech Standard ČSN 467070), components of the ration were fed separately. The diet was fed twice daily, at 5.00 a.m. and 3.00 p.m. Mean daily

consumption of nutrients during the first trial was 14.4 kg of DM, 2.44 kg of crude protein and 2.61 kg of crude fibre with small or no refusals (0.08 and 0 kg per day). The mean milk yield was 17.6 (s.e. 0.18) and 16.6 kg (s.e. 0.14), respectively.

In the second trial the liveweight of the lactating cows was 582 and 556 kg and the cows were of the same breed. The animals were fed the same diet as in the first trial, only the maize silage (with 284 g/kg DM) in diet was increased to 6.8 kg. The mean daily consumption being 15.8 kg of DM, 2.47 kg of crude protein and 2.76 kg of crude fibre. Small refusals were found (0.34 and 0.04 kg). The mean milk yield was 21.7 (s.e. 0.15) and 22.6 kg (s.e. 0.31), respectively.

### Plastic particles

Cylinder-shaped plastic particles were used. They were made of polypropylene with limestone as the filler (Chirana, Brno). The specific gravity of the particles was  $1.25 \pm 0.05$  g/cm<sup>3</sup>. The particles were applied orally as a paper bolus using the "balling gun" device (Corio, 1976) at 8.00 a.m.. Each application and cow had its own particle colour.

In the first trial 6 × 6, 8 × 8, 10 × 10 and 12 × 12 mm cylindrical particles were used. Fifty particles of each size (200 pieces together) were applied into each cow at a time. The particles were applied three times in three periods. One period took 14 days, in each of them excrements were collected for 166 hours (7 days minus 2 hours) into pans which were changed in regular intervals (faecal collection intervals). The faecal collection interval was 22 hours on the first day, and 24 hours on the following days.

In the second trial 6 × 6 and 10 × 10 mm cylindrical particles were only used. The number of particles applied into the cows was given by the capacity of the three paper boluses used for the application (200 ml total). The second trial consisted of three periods, each of them divided into three time sections, with the particles applied as follows: In the first section 768 pieces of 6 mm particles were applied into cow A and 172 pieces of 10 mm particles into cow B. In the second section the amounts applied into cow A and cow B were interchanged. Mean weight of 768 pieces of plastic particles was 162.69 g (s.e. 0.048; *n* = 6), mean weight of 172 pieces of particles was 162.48 g (s.e. 0.053; *n* = 6). In the third section identical amounts of 384 pieces of the 6 mm particles (i.e. one half of 768) and 86 pieces of the 10 mm particles (i.e. one half of 172) were applied into both A and B cows. Mean weight of 384 + 86 pieces of particles was 162.33 g (s.e. 0.485; *n* = 6). The faecal collection intervals were 6 hours during the first two days (except the first faecal collection interval after application, which was 10 hours) and 24 hours during the following days. The intervals between individual applications of particles were 7 days.

Excrements were rinsed in running water on a 4 mm screen. The regurgitated particles were collected by the

24-h service from near the forelegs of the animals. The particles damaged (marked) by the teeth were found in faeces. The results were evaluated using multifactor analysis of variance (Statgraphic ver. 7.0) by the following model:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + S_j + C_k + P_l + E_{ijkl}$$

where:  $Y_{ijkl}$  – dependent variable  
 $\mu$  – overall mean  
 $T_i$  – effect of time after application ( $i = 1-7$  in trial 1;  $i = 1-14$  in trial 2)  
 $S_j$  – effect of size of particles in trial 1, ( $j = 1-4$ ) and the effect of size and particle combination (particles 6, 6 (+10), 10, 10 (+6)) in trial 2 ( $j = 1-4$ )  
 $C_k$  – effect of cow ( $k = 1-2$ )  
 $P_l$  – effect of period ( $l = 1-3$ )  
 $E_{ijkl}$  – residual

TMRT was calculated according to Thielemans *et al.* (1978) by means of the following formula:

$$\text{TMRT} = \Sigma (Q_i \cdot t) / \Sigma (Q_i \cdot dt)$$

where: TMRT – total tract mean retention time  
 $Q_i$  – quantity of particles in faeces collected during the faecal collection interval  
 $t$  – time interval elapsed after particles application  
 $dt$  – faecal collection interval

## RESULTS AND DISCUSSION

### Trial 1

Mean cumulative recovery (particles found in faeces), regurgitation, total recovery (particles found in faeces + regurgitated particles) and TMRT are presented in Table 1. Low recovery (less than 4%) was found with all particles within 22 hours after application. The highest proportion of particles was excreted between 22 and 46 hours after

application. The amount of 6, 8 and 10 mm particles excreted during this time was higher ( $P < 0.05$ ) than that of excreted 12 mm particles (43.7%). After 166 hours the cumulative recovery of 6, 8 and 10 mm particles reached the values in the range of 96.0–98.7%, while the recovery of the 12 mm particles was 82.7% ( $P < 0.05$ ).

The lower recovery of the 12 mm particles is related to their higher regurgitation values (15.0%;  $P < 0.05$ ). Smaller particles were regurgitated at the rate of less than 3.7%. Regurgitation of spheres of 12.7 mm size and 1.34 g/cm<sup>3</sup> density was evaluated at trial with heifers by Ehle and Stern (1986) with the resultant value of 15.5%. The mentioned result is almost identical to our value (15.0%).

The total recovery (recovery in faeces + regurgitation) varied between 97.7 and 99.7%. The chosen specific gravity of 1.2–1.3 g/cm<sup>3</sup>, derived from trials performed by King and Moore (1957), was probably the main reason of the high values of this particular parameter in our trials.

TMRT was higher with larger particles; significant differences ( $P < 0.05$ ) being observed between 12 mm particles (58.4 h) and the other sizes. This is in agreement with the findings of Welch and Smith (1978), Prigge *et al.* (1993) and Stetter Neel *et al.* (1995), who tested the effect of the plastic particle size on their recovery as well as with Mambrini and Peyraud (1997), who studied the effect of feed particles.

Mean cumulative values of particles damaged by the teeth (Table 2) show that a high proportion of particles was damaged within 70 hours after application. After this time only 12 mm particles showed an extensive damage, reaching 19.7% after 166 hours from the application ( $P < 0.05$ ).

### Trial 2

Particles of 6 and 10 mm sizes were applied either individually or together (Table 3). As 6 mm particles general-

Table 1. Mean cumulative faecal recovery, regurgitation, total recovery<sup>2</sup> (%) and total mean retention time (h) of 6, 8, 10 and 12 mm particles in trial 1

Time after application (h)	Cumulative faecal recovery of plastic particles (%)							
	6 mm	(s.e.)	8 mm	(s.e.)	10 mm	(s.e.)	12 mm	(s.e.)
22	3.7	(1.58)	3.3	(1.61)	2.7	(1.52)	2.3	(1.31)
46	81.3 <sup>a</sup>	(4.58)	79.0 <sup>a</sup>	(4.09)	70.0 <sup>a</sup>	(6.49)	43.7 <sup>b</sup>	(7.80)
70	95.0 <sup>a</sup>	(2.35)	92.7 <sup>a</sup>	(3.00)	86.3 <sup>a</sup>	(3.40)	62.7 <sup>b</sup>	(10.50)
94	98.3 <sup>a</sup>	(1.31)	97.7 <sup>a</sup>	(0.80)	94.3 <sup>a</sup>	(0.80)	73.7 <sup>b</sup>	(10.28)
118	98.7 <sup>a</sup>	(0.99)	98.3 <sup>a</sup>	(0.61)	95.3 <sup>a</sup>	(0.42)	79.0 <sup>b</sup>	(9.62)
142	98.7 <sup>a</sup>	(0.99)	98.3 <sup>a</sup>	(0.61)	95.7 <sup>a</sup>	(0.61)	80.7 <sup>b</sup>	(8.76)
166	98.7 <sup>a</sup>	(0.99)	98.7 <sup>a</sup>	(0.67)	96.0 <sup>a</sup>	(0.73)	82.7 <sup>b</sup>	(8.31)
Reg (after 166 h) <sup>1</sup>	0.3 <sup>a</sup>	(0.33)	1.0 <sup>a</sup>	(0.68)	3.7 <sup>a</sup>	(0.80)	15.0 <sup>b</sup>	(6.88)
Total recovery <sup>2</sup>	99.0	–	99.7	–	99.7	–	97.7	–
TMRT (h)	39.7 <sup>a</sup>	(1.27)	41.4 <sup>a</sup>	(1.88)	44.5 <sup>a</sup>	(2.85)	58.4 <sup>b</sup>	(5.57)

<sup>1</sup>Reg (after 166 h) = regurgitation 166 h after application

<sup>2</sup>Total recovery = recovery 166 h after application (in faeces) + regurgitation

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

Table 2. Mean cumulative values of 6, 8, 10 and 12 mm particles damaged by teeth in trial 1

Time after application (h)	Plastic particles damaged (%)							
	6 mm	(s.e.)	8 mm	(s.e.)	10 mm	(s.e.)	12 mm	(s.e.)
22	0.3	(0.33)	0.0	(0.00)	0.7	(0.42)	0.7	(0.42)
46	3.7	(1.58)	6.0	(1.15)	7.0	(2.86)	7.3	(2.29)
70	5.3	(1.76)	7.3	(1.43)	9.0	(3.42)	10.3	(3.67)
94	5.3 <sup>a</sup>	(1.76)	7.7 <sup>a</sup>	(1.31)	9.7 <sup>ab</sup>	(3.40)	14.0 <sup>b</sup>	(4.07)
118	5.3 <sup>a</sup>	(1.76)	8.0 <sup>a</sup>	(1.26)	10.7 <sup>a</sup>	(3.29)	17.3 <sup>b</sup>	(5.95)
142	5.3 <sup>a</sup>	(1.76)	8.0 <sup>a</sup>	(1.26)	10.7 <sup>a</sup>	(3.29)	18.0 <sup>b</sup>	(6.18)
166	5.3 <sup>a</sup>	(1.76)	8.0 <sup>a</sup>	(1.26)	10.7 <sup>a</sup>	(3.29)	19.7 <sup>b</sup>	(7.24)

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

Table 3. Mean cumulative faecal recovery, regurgitation, total recovery<sup>2</sup> (%) and total mean retention time (h) of 6, 6 (+10), 10, and 10 (+6) mm particles in trial 2

Time after application (h)	Cumulative faecal recovery of plastic particles (%)							
	6 mm	(s.e.)	6 (+10) mm	(s.e.)	10 mm	(s.e.)	10 (+6) mm	(s.e.)
16	2.8	(0.92)	0.9	(0.40)	0.0	(0.00)	0.2	(0.20)
22	18.8 <sup>a</sup>	(2.44)	18.5 <sup>a</sup>	(4.58)	10.6 <sup>b</sup>	(3.65)	9.3 <sup>b</sup>	(2.55)
28	60.3 <sup>A</sup>	(3.00)	54.8 <sup>B</sup>	(4.93)	39.6 <sup>b</sup>	(6.78)	40.1 <sup>b</sup>	(6.55)
34	80.4 <sup>a</sup>	(1.45)	78.3 <sup>a</sup>	(3.20)	66.2 <sup>b</sup>	(5.39)	70.0 <sup>b</sup>	(3.36)
40	91.7 <sup>a</sup>	(1.17)	89.2 <sup>ab</sup>	(1.58)	81.0 <sup>c</sup>	(2.78)	84.3 <sup>bc</sup>	(1.76)
46	94.4 <sup>a</sup>	(1.03)	92.6 <sup>ab</sup>	(0.96)	84.7 <sup>c</sup>	(2.80)	87.6 <sup>bc</sup>	(2.05)
52	96.6	(0.76)	94.9	(1.38)	89.5	(2.45)	90.5	(2.70)
58	98.2	(0.38)	97.2	(0.36)	94.3	(1.46)	93.0	(2.24)
70	98.7	(0.25)	99.1	(0.15)	96.8	(0.90)	95.7	(1.47)
94	99.2	(0.12)	99.4	(0.21)	98.2	(0.56)	97.3	(0.78)
118	99.4	(0.11)	99.5	(0.15)	98.7	(0.58)	98.1	(0.72)
142	99.4	(0.06)	99.6	(0.17)	98.7	(0.58)	98.3	(0.72)
166	99.4	(0.06)	99.6	(0.17)	98.7	(0.58)	98.3	(0.72)
Reg (after 166 h) <sup>1</sup>	0.02	(0.02)	0.00	(0.00)	0.96	(0.68)	1.16	(0.74)
Total recovery <sup>2</sup>	99.4	–	99.6	–	99.7	–	99.5	–
TMRT (h) *	30.0 <sup>a</sup>	(0.78)	31.0 <sup>a</sup>	(0.97)	36.6 <sup>b</sup>	(1.94)	37.0 <sup>b</sup>	(3.32)

<sup>1</sup>Reg (after 166h) = regurgitation 166 h after application

<sup>2</sup>Total recovery = recovery 166 h after application (in faeces) + regurgitation

The values in the same row marked with different small letters (a, b, c) differ significantly ( $P < 0.05$ )

The values in the same row marked with different small underlined letters (a, b) differ significantly ( $P < 0.10$ )

The values in the same row marked with different capital letters (A, B) differ significantly ( $P < 0.1$ )

ly pass more quickly than the larger 10 mm particles (results of the first trial in this work, Camping and Freer, 1962; Welch and Smith, 1978; Prigge *et al.*, 1990), one could expect that they would be slowed down by 10 mm particles. The highest difference was found 28 hours after application, when the recovery of 6 and 6 (+10) mm particles was 60.3 and 54.8%, respectively ( $P < 0.11$ ). The difference in this case was 5.5%. The differences found later than in 28 hours after application were smaller and the recoveries found 166 h after application were almost identical (99.4 vs. 99.6%).

Similar results were obtained when 10 mm particles were applied either individually or together with 6 mm particles. It was expected that the 6 mm particles could accel-

erate the passage of 10 mm particles. The highest difference but not significant was found 34 hours after application (3.8% units), when the recovery values were 66.2 and 70.0%, respectively ( $P > 0.05$ ). After 34 hours the differences decreased, becoming negligible 70 h after application (96.8 vs. 95.7 h).

Like in the first trial regurgitation of 10 mm particles was slightly higher (0.96%) than that of 6 mm particles (0.02%). With TMRT values significant differences ( $P < 0.10$ ) were only found between smaller [6, 6 (+10)] and larger [10, 10 (+6)] particles. Also in this trial high total recovery value was obtained (99.4–99.7%), which confirmed suitability of the particular (1.2–1.3 g/cm<sup>3</sup>) specific gravity of the plastic particles used here.

Table 4. Mean cumulative values of 6, 6 (+10), 10, and 10 (+6) mm particles damaged by the teeth in trial 2

Time after application (h)	Plastic particles damaged (%)							
	6 mm	(s.e.)	6 (+10) mm	(s.e.)	10 mm	(s.e.)	10 (+6) mm	(s.e.)
16	0.02	(0.02)	0.00	(0.00)	0.00	(0.00)	0.00	(0.00)
22	0.52	(0.14)	0.58	(0.23)	0.58	(0.36)	0.78	(0.58)
28	2.80	(0.73)	1.77	(0.42)	3.28	(0.76)	2.72	(1.81)
34	4.42	(1.10)	2.55	(0.41)	6.37	(1.42)	5.43	(2.35)
40	5.23	(1.35)	3.18	(0.44)	8.18	(1.66)	6.97	(3.07)
46	5.63	(1.56)	3.43	(0.47)	8.77	(1.92)	7.37	(3.29)
52	5.85	(1.58)	3.57	(0.54)	9.37	(1.83)	7.75	(3.64)
58	6.03	(1.63)	3.82	(0.45)	10.32	(1.68)	8.35	(3.51)
70	6.17 <sup>ab</sup>	(1.63)	3.92 <sup>a</sup>	(0.45)	10.42 <sup>b</sup>	(1.68)	8.92 <sup>ab</sup>	(3.47)
94	6.25 <sup>ab</sup>	(1.63)	3.98 <sup>a</sup>	(0.42)	11.00 <sup>b</sup>	(1.86)	9.30 <sup>ab</sup>	(3.50)
118	6.32 <sup>ab</sup>	(1.67)	3.98 <sup>a</sup>	(0.42)	11.10 <sup>b</sup>	(1.89)	9.70 <sup>ab</sup>	(3.47)
142	6.32 <sup>ab</sup>	(1.67)	3.98 <sup>a</sup>	(0.42)	11.10 <sup>b</sup>	(1.89)	9.70 <sup>ab</sup>	(3.47)
166	6.33 <sup>ab</sup>	(1.68)	4.03 <sup>a</sup>	(0.40)	11.10 <sup>b</sup>	(1.89)	9.70 <sup>ab</sup>	(3.47)

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

Mean cumulative amounts of particles damaged by the teeth are presented in Table 4. 10 mm particles had higher values of this parameter, significant differences ( $P < 0.05$ ) being only found later than in 70 hours after application between 6 (+10) and 10 mm particles (166 hours after application the values were 4.03 vs. 11.10%), which is in agreement with the slower passage of 10 mm particles and the higher values of their regurgitation.

Interactions between particles during their passage through the digestive tract have been discussed in the literature mainly in relation to the various ratios of concentrate to forage in the diet. The results obtained in this type of trials depend on many different factors, e.g. forage quality (Poore *et al.*, 1990), stratification (Owens and Goetsch, 1986), ruminal mat consistency (Grant, 1997), specific gravity, particle mastication (Luginbuhl *et al.*, 1994). As it has been shown, interactions between particles in the digestive tract are not a simple phenomenon. The process of mutual slowing down and acceleration of particle passage has not been sufficiently studied yet and we can suppose that the plastic particles with the larger difference between their size could give more clear results.

## CONCLUSIONS

According to the results obtained in the first trial it can be assumed that the 12 mm plastic particles (and probably also nylon capsules) are too large for optimum passage through the digestive tract of lactating cows (higher recovery and TMRT values). The question asked at the beginning of this article if the particles with the higher passage rate (generally smaller particles) can accelerate the slower particles (larger particles) and vice versa, was partly answered 28 hours after application, the recovery

of 6 mm particles applied individually was higher in this case (60.3%) than with the 6 mm particles applied together with 10 mm particles (54.8%;  $P < 0.11$ ). It can be deduced that interactions between the nylon capsules and feed particles can be expected, further research in this area is needed.

## Acknowledgements

The authors would like to thank L. Poláková, M. Bzduchová, M. Fojtíková, V. Hlaváček, M. Jelínková, E. Kopecká, A. Kvapilová, J. Kříž and Z. Laštovičková for their assistance in the research and to Professor L. Zeman for his constructive comments.

## REFERENCES

- Campling R. C., Freer M. (1962): The effect of specific gravity and size on the mean time of retention of inert particles in the alimentary tract of the cow. *Brit. J. Nutr.*, 16: 507-518.
- Corio N. N. (1976): Pat. U.S.A. 3934584. Balling gun.
- ČSN 46 7070 (1982): Pořeba živin pro hospodářská zvířata (Nutrient requirements of farm animals). Praha.
- Ehle F. R., Stern M. D. (1986): Influence of particle size and density on particulate passage through alimentary tract of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 69: 564-568.
- Grant R. J. (1997): Interactions among forages and non forage fibre sources. *J. Dairy Sci.* 80: 1438-1446.
- King K. W., Moore W. E. C. (1957): Density and size as factors affecting passage rate of ingesta in the bovine and human digestive tracts. *J. Dairy Sci.*, 40: 528-536.
- Luginbuhl J. M., Pond K. R., Burns J. C. (1994): Whole-tract digesta kinetics and comparison of techniques for the estimation of fecal output in steers fed Coastal Bermudagrass hay at four levels of intake. *J. Anim. Sci.*, 72: 201-211.

- Mambrini M., Peyraud J. L. (1997): Retention time of feed particles and liquids in the stomachs and intestines of dairy cows. Direct measurement and calculations based on faecal collection. *Rep. Nutr. Develop.*, 37: 427-442.
- Owens F. N., Goetsch A. L. (1986): Digesta passage and microbial protein synthesis. In: Milligan L. P., Grovum W. L., Dobson A. (eds.): *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.Y.: 196-223.
- Poore M. H., Moore J. A., Swingler R. S. (1990): Differential passage rates and digestion of neutral detergent fiber from grain and forages in 30, 60 and 90% concentrate diets fed to steers. *J. Anim. Sci.*, 68: 1965-2973.
- Prigge E. C., Stuthers B. A., Jacquemet N. A. (1990): Influence of forage diets on ruminal particle size, passage of digesta, feed intake and digestibility by steers. *J. Anim. Sci.*, 68: 4352-4360.
- Prigge E. C., Fox J. T., Jacquemet N. A., Russell R. W. (1993): Influence of forage species and diet particle size on the passage of digesta and nylon particles from the reticulorumen of steers. *J. Anim. Sci.*, 71: 2760-2769.
- Stetter Neel J. P., Prigge E. C., Townsend E. C. (1995): Influence of moisture content of forage on ruminal functional specific gravity and passage of digesta. *J. Anim. Sci.*, 73: 3094-3102.
- Thielemans M. F., Francois E., Bodart C., Thewis A. (1978): Mesure du transit gastrointestinal chez le porc à l'aide des radiolanthanides. Comparaison avec le mouton. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 18, (2A): 237-243.
- Třináctý J., Šimek M., Zeman L., Harazim J. (1999a): Passage of large plastic particles through the digestive tract of lactating and dry cows. *J. Anim. and Feed Sci.*, 8: 263-272.
- Třináctý J., Šimek M., Homolka P. (1999b): Nylon capsule method and alfalfa hay crude protein digestibility evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79: 269-278.
- Welch J. G., Smith A. M. (1978): Particle sizes passed from rumen. *J. Anim. Sci.*, 46: 309-312.
- Willie M. J., White T. W., Ellis W. C., Matis J. H. (1990): The flow of undigested corn residues through the gastrointestinal tract of cattle. *J. Anim. Sci.*, 68: 3843-3852.

Received for publication on December 14, 1999

Accepted for publication on March 20, 2000

---

*Contact Address:*

Dr. Ing. Jiří Třináctý, Výzkumný ústav výživy zvířat, s. r. o., 691 23 Pohořelice, Česká republika, tel.: + 420 626 42 45 41, fax: + 420 626 42 43 66, e-mail: [Trinacty@vuvv.cz](mailto:Trinacty@vuvv.cz)

---

# EFEKTÍVNA DEGRADOVATEĽNOSŤ N-LÁTOK A ZMENY V SPEKTRE AMINOKYSELÍN PO INKUBÁCII ZRNÍN A MLYNSKÝCH KRMÍV V BACHORE

## EFFECTIVE PROTEIN DEGRADABILITY AND CHANGES IN AMINO ACID SPECTRUM AFTER INCUBATION OF GRAINS AND MILL FEEDS IN RUMEN

Z. Čerešňáková, A. Sommer, M. Chrenková, M. Poláčiková, P. Dolešová, V. Kráľová

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

**ABSTRACT:** An *in sacco* method was used in three bulls to determine effective protein degradability and amino acid decrease after incubation of barley, corn, oats, wheat, wheat feeding meal, wheat and rye bran in the rumen. Dietary amino acid N content ranged from 12.6 to 21.9 g/kg dry matter; it was 60.8–87.6% of the total N content. The highest proportion of nonessential amino acids in grains was determined in Glu, of essential amino acids in Leu, and also in Lys in wheat bran. Except corn, effective degradability of proteins in other feeds was high at  $k = 0.06$ , amounting to about 80%. Differences between the types of feeds were significant ( $P < 0.01$ ). Degradation rate of protein ranged from 0.064 per hour for corn to 0.176 per hour for rye bran. Similar decreases in proteins and total amino acids were determined in feed residues after 16-hour incubation. There were differences between the amino acids and between the feeds. Decreases in rumen amino acids were from 47 to 80.6% while decreases in all amino acids in other feeds were higher than 80%, up to 96.9% in rye bran Glu. Following the incubation, the amino acid spectrum showed great changes in comparison with that of original feed. His and Glu proportions in grains largely decreased, the same applies to Arg and Pro in bran. Lys proportion increased except in barley and corn. Small changes were observed in the proportions of amino acids with branched chain and Met.

**Keywords:** cereals; mill feeds; crude protein; amino acids; degradability *in sacco*

**ABSTRAKT:** Efektívnu degradovateľnosť N-látok a úbytok aminokyselín po inkubácii jačmeňa, kukurice, ovsa, pšenice, pšeničnej krmnej múky, pšeničných a ražných otrúb v bachore sme stanovili metódou *in sacco* na troch býkoch. V krmivách bol obsah dusíka aminokyselín 12,6 až 21,9 g/kg sušiny, čo je 60,8 až 87,6 % z celkového obsahu dusíka. V zrninách z neesenciálnych aminokyselín najvyššie zastúpenie mala Glu a z esenciálnych Leu, v pšeničných otrubách aj Lys. S výnimkou kukurice bola u ostatných krmív efektívna degradovateľnosť N-látok pri  $k = 0,06$  vysoká, okolo 80 %. Rozdiely medzi krmivami boli významné ( $P < 0,01$ ). Rýchlostná konštanta degradácie N-látok sa pohybovala od 0,064 h<sup>-1</sup> pre kukuricu do 0,176 h<sup>-1</sup> pre ražné otruby. Po 16hodinovej inkubácii sme vo zvyšku krmív stanovili podobný úbytok N-látok a celkových aminokyselín. Rozdiely boli medzi jednotlivými aminokyselinami a tiež medzi krmivami. V kukurici sa pohyboval úbytok aminokyselín od 47 do 80,6 %, v ostatných krmivách bol úbytok všetkých aminokyselín vyšší ako 80 %, Glu v ražných otrubách až 96,9 %. Po inkubácii sme vo zvyškoch krmív zaznamenali veľké zmeny v spektre aminokyselín oproti pôvodnému krmivu. Výrazne sa znížil v zrninách podiel His a Glu, v otrubách aj Arg a Pro. Okrem jačmeňa a kukurice sme zistili zvýšenie podielu Lys. Malé zmeny boli v zastúpení aminokyselín s rozvetveným reťazcom a Met.

**Kľúčové slová:** zrniny; mlynské krmivá; N-látky; aminokyseliny; degradovateľnosť *in sacco*

### ÚVOD

Zrniny a mlynské krmivá sú dôležitými zložkami krmných zmesí pre hovädzí dobytok. I keď sú označované ako glycidové krmivá a sú hlavne nositeľmi energie, nie je zanedbateľný ich podiel na zásobovaní zvierat dusíkom. Z pohľadu hodnotenia kvality N-látok v jadrových krmivách je najmä pre vysokoprodukčné zvieratá dôležitá miera degradovateľnosti N-látok a množstvo aminokyselín, ktoré sa dostanú do tenkého čreva z pôvodného krmiva.

Efektívna degradovateľnosť N-látok zrnín sa pohybuje od 74 do 92 % (Žebrowska *et al.*, 1997). Podstatne nižšie hodnoty boli stanovené pre kukuricu (41 %) pri rýchlosti pasáže 0,06 h<sup>-1</sup> (Fahmy *et al.*, 1991; Susmel *et al.*, 1994), resp. 33 % pri rýchlosti pasáže 0,08 h<sup>-1</sup> (Madsen a Hvelplund, 1985).

Vplyv bachorovej fermentácie na aminokyselinový profil nedegradovaných bielkovín krmív nie je dostatočne známy. Van Straalen *et al.* (1997) zistili veľké rozdiely v úbytku jednotlivých aminokyselín v bachore v závis-

losti od krmiva, podobne i Susmel *et al.* (1989) a Erasmus *et al.* (1994). Messman *et al.* (1992) však nepozorovali žiadny efekt.

Cieľom našej práce bolo stanoviť v zmlinách a mlynských krmivách efektívnu degradovateľnosť N-látok a vplyv 16hodinovej inkubácie v bachore na spektrum aminokyselín v nedegradovanom zvyšku krmív.

## MATERIÁL A METÓDY

Pokusy *in sacco* sme urobili na troch býkoch čiernostrakatého plemena (priemerná ž. h. 350 kg) s veľkými bachorovými fistulami (priemer 100 mm). Zvieratá sme kŕmili záchovnou kŕmnom dávkou zloženou z lucernového sena, kukuričnej siláže a obilného šrotu (pšenica : jačmeň, 1 : 1). Objemové krmivá tvorili 70 % sušiny kŕmnej dávky.

Degradovateľnosť N-látok a spektrum aminokyselín v nedegradovanom zvyšku sme stanovili v týchto krmivách: pšenica, jačmeň, ovos, kukurica, pšeničná kŕmna múka, pšeničné a ražné otruby. Krmivá sme pomleli v kladivkovom mlyne so sitom s otvormi o priemere 3 mm, inkubovali (cca 5 g krmiva/vrecko) vo vreckách z Uhelonu 130T s otvormi o veľkosti 42 µm. Vrecká mali rozmery 9 × 15 cm a doby inkubácie boli 3, 6, 9, 16 a 24 hodín. Pre každé krmivo, zviera a inkubáciu sme použili tri vrecká ( $n = 9$ ). Súčasne sme urobili aj nultú inkubáciu, pri ktorej sme pred praním v cykle 3 × 5 min bez odstreďovania vrecká namočili na 10 min do vody teplej 37 °C, aby sme zistili straty praním. Po vybratí z bachora sme vrecká vyprali v automatickej práčke v cykle bez odstreďovania (3 × 5 min), sušili 24 hodín pri 60 °C, vážili a spojili zvyšky pre každé krmivo a inkubáciu.

V pôvodných krmivách sme stanovili obsah N-látok ( $N \times 6,25$ ), hrubej vlákniny, popola a škrobu (Výnos MP 1492/1997) a vo zvyškoch po každej inkubácii obsah sušiny a N-látok. Aminokyselinové zloženie krmív a nedegradovaných lyofilizovaných zvyškov po 16hodinovej inkubácii sme stanovili na AAA 400 (INGOS Praha) po hydrolyze 6M HCl. Cystín a metionín sme stanovili po oxidácii ako kyselinu cysteovú a metioninsulfón.

Úbytok N-látok po každej inkubácii a aminokyselín po 16hodinovej inkubácii sme vypočítali z rozdielu medzi

obsahom v krmivách a v nedegradovaných zvyškoch. Na výpočet efektívnej degradovateľnosti sme použili rovnice odporúčené autormi Ørskov a McDonald (1979) a McDonald (1981) so zohľadnením strát praním.

Rozdiely úbytku N-látok po 16hodinovej inkubácii a efektívnej degradovateľnosti N-látok medzi krmivami sme vyhodnotili jednofaktorovou analýzou rozptylu a pomocou *t*-testu.

## VÝSLEDKY

Obsah živín v pokusných krmivách je uvedený v tab. 1. Väčšie rozdiely medzi krmivami sú v obsahu vlákniny (s najvyšším obsahom v ovse 142,8 g.kg<sup>-1</sup> sušiny) a v obsahu škrobu. Škrob má najvyššie zastúpenie v kukurici a najnižšie v pšeničných otrubách. Obsah celkového dusíka v krmivách sa pohybuje od 16 do 28,8 g.kg<sup>-1</sup> sušiny a obsah dusíka aminokyselín od 12,6 do 21,9 g.kg<sup>-1</sup> sušiny, čo predstavuje 60,8 až 87,6 %, pričom podiel dusíka esenciálnych aminokyselín (NEAK) na celkovom obsahu dusíka dosahuje maximálne 45,6 % v kukurici, potom nasleduje jačmeň 43,2 % a najnižší je v ovse, len 30,4 %.

Z jednotlivých esenciálnych aminokyselín v 100 g sušiny krmiva (tab. 2) je najviac zastúpený Leu, najmä v kukurici a v pšeničných otrubách, kde je najviac i Lys. Najnižšie koncentrácie sme stanovili pre Tyr, His a Met. Z neesenciálnych aminokyselín je najviac zastúpená Glu, ktorej koncentrácia v pšenici je až 4,1 g.10<sup>-2</sup> g sušiny (čo je 30 % z celkového obsahu AK), nasleduje Pro a Asp.

V tab. 3 uvádzame charakteristiky degradovateľnosti N-látok, z ktorých je zaujímavá pomerne vysoká rýchlostná konštanta degradácie u všetkých krmív okrem kukurice. Rýchlostná konštanta degradácie N-látok kukurice je takmer dva- až trikrát nižšia ako u ostatných nami testovaných krmív. Medzi jednotlivými krmivami sú veľké rozdiely v hodnotách pre rýchlo rozpustnú frakciu *a* (30,2–63,5 %), z čoho vyplývajú aj hodnoty degradovateľnej nerozpustnej frakcie *b* (62,1–26,1 %) a tiež efektívna degradovateľnosť N-látok, ktorej hodnoty sú medzi krmivami štatisticky významne rozdielne ( $P < 0,05$ , resp.  $P < 0,001$ ). Najnižšiu hodnotu sme zistili pre kukuricu

Tab. 1. Obsah živín v zmlinách a mlynských krmivách (g/kg sušiny) – Nutrient contents in grains and mill feeds (g/kg dry matter)

Krmivá <sup>1</sup>	Jačmeň <sup>2</sup>	Kukurica <sup>3</sup>	Ovos <sup>4</sup>	Pšenica <sup>5</sup>	Pšeničná múka <sup>6</sup>	Pšeničné otruby <sup>7</sup>	Ražné otruby <sup>8</sup>
Dusík <sup>9</sup>	17,8	16,0	20,7	23,4	26,4	28,8	25,8
Vláknina <sup>10</sup>	56,6	25,4	142,8	30,8	51,0	109,1	67,4
Škrob <sup>11</sup>	559	701	449	690	472	266	314
OH	972	985	967	982	972	950	954
NAK	15,6	13,8	12,6	17,7	21,9	21,9	20,1
NeAK	7,7	7,3	6,3	7,5	10,7	10,8	9,8

OH = organická hmota – organic matter, NAK = dusík celkových aminokyselín – nitrogen of total amino acids, NeAK = dusík esenciálnych aminokyselín – nitrogen of essential amino acids

<sup>1</sup>feeds, <sup>2</sup>barley, <sup>3</sup>corn, <sup>4</sup>oats, <sup>5</sup>wheat, <sup>6</sup>wheat meal, <sup>7</sup>wheat bran, <sup>8</sup>rye bran, <sup>9</sup>nitrogen, <sup>10</sup>fiber, <sup>11</sup>starch

Tab. 2. Obsah aminokyselín v pokusných krmivách pred inkubáciou (g AK/100 g sušiny) – Amino acid content in experimental feeds before incubation (g AA/100 g dry matter)

AK (n = 4)	Jačmeň <sup>1</sup>	Kukurica <sup>2</sup>	Ovos <sup>3</sup>	Pšenica <sup>4</sup>	Pšeničná múka <sup>5</sup>	Pšeničné otruby <sup>6</sup>	Ražné otruby <sup>7</sup>
Thr	0,45	0,36	0,36	0,42	0,54	0,55	0,52
Val	0,63	0,46	0,46	0,63	0,72	0,82	0,78
Ile	0,68	0,35	0,31	0,47	0,52	0,58	0,48
Leu	1,06	1,23	0,65	0,93	1,04	1,10	0,97
Tyr	0,32	0,18	0,25	0,22	0,29	0,41	0,32
Phe	0,61	0,56	0,48	0,45	0,62	0,65	0,63
His	0,23	0,26	0,19	0,36	0,36	0,40	0,36
Lys	0,49	0,43	0,46	0,48	0,66	0,80	0,67
Arg	0,75	0,71	0,66	0,65	1,32	1,22	1,14
Met	0,22	0,21	0,18	0,26	0,29	nest. <sup>8</sup>	0,31
EAK	5,44	4,75	4,00	4,87	6,36	6,53	6,18
Asp	0,81	0,76	0,83	0,81	1,02	1,21	1,18
Ser	0,54	0,49	0,50	0,65	0,68	0,64	0,66
Glu	3,02	2,13	1,82	4,10	3,84	3,84	3,42
Pro	0,99	1,14	0,84	1,41	0,52	1,74	1,58
Gly	0,55	0,41	0,48	0,60	0,73	0,84	0,74
Ala	0,75	0,75	0,53	0,61	0,86	0,81	0,78
Cys	0,27	0,17	0,29	0,31	0,29	nest. <sup>8</sup>	0,36
NeAK	6,93	5,85	5,29	8,49	7,94	9,08	8,72

AK = aminokyseliny – amino acids, EAK = esenciálne aminokyseliny – essential amino acids, NeAK = neesenciálne aminokyseliny – nonessential amino acids

<sup>1</sup>barley, <sup>2</sup>corn, <sup>3</sup>oats, <sup>4</sup>wheat, <sup>5</sup>wheat meal, <sup>6</sup>wheat bran, <sup>7</sup>rye bran, <sup>8</sup>not evaluated

(63,4 %), hodnoty pre ostatné krmivá sa pohybovali od 77,6 do 84,8 %.

Úbytok N-látok jadrových krmív po 16 hodinách inkubácie bol pre obilniny vyšší (88–93 %), s výnimkou kukurice (64 %). Rozdiely medzi kukuricou, resp. pšenicou a ostatnými krmivami boli vysoko významné ( $P < 0,01$ ). Degradácia celkových aminokyselín bola podobná degradácii N-látok (tab. 4). Zistili sme ale rozdiely medzi jednotlivými aminokyselinami a medzi krmivami. Najväčšie rozdiely v úbytku medzi aminokyselinami sme zistili

v kukurici – od 80,6 % pre Arg po 47,0 % pre Tyr. Najvyššie straty sme zistili pre Glu v ražných otrubách (96,9 %) a pre Pro v pšeničných otrubách (95,2 %). V priemere boli straty neesenciálnych aminokyselín vyššie ako straty aminokyselín esenciálnych.

Ak porovnáme spektrum aminokyselín v pôvodnom krmive so spektrom vo zvyškoch po inkubácii, môžeme konštatovať veľké zmeny v ich zastúpení (tab. 5). V zrnách sa výrazne znížil podiel His a Glu, v otrubách Arg a Pro. Okrem jačmeňa a kukurice sa výrazne zvýšil v nedegra-

Tab. 3. Charakteristiky degradovateľnosti a efektívna degradovateľnosť N-látok pokusných krmív inkubovaných v bachore (n = 9) – Degradability characteristics and effective degradability of crude protein of rumen-incubated experimental feeds (n = 9)

Parametre <sup>1</sup> (%)	Jačmeň <sup>7</sup>	Kukurica <sup>8</sup>	Ovos <sup>9</sup>	Pšenica <sup>10</sup>	Pšeničná múka <sup>11</sup>	Pšeničné otruby <sup>12</sup>	Ražné otruby <sup>13</sup>
Straty praním <sup>2</sup> a	37,3	36,9	67,0	44,2	59,7	49,9	46,7
Rýchlo rozpustná frakcia <sup>3</sup> a'	30,2	24,7	63,5	37,6	51,4	46,5	36,5
Degradovateľná frakcia <sup>4</sup> b	62,1	51,1	26,1	52,2	38,7	43,8	44,8
Rýchlostná konštanta degradácie <sup>5</sup> c (h <sup>-1</sup> )	0,117	0,064	0,117	0,141	0,120	0,159	0,176
Efektívna degradovateľnosť <sup>6</sup>	77,6 ± 0,29	63,4 ± 0,40	84,8 ± 0,44	80,8 ± 0,33	84,1 ± 0,47	81,7 ± 0,40	80,1 ± 0,58

Vysvetlivky – Explanatory notes:  $b = (a' + b')$  – a (McDonald, 1981)

Hodnoty s rovnakým indexom sú významne rozdielne pri  $P < 0,05$ ; ostatné, bez indexu, sú významne rozdielne pri  $P < 0,001$  – Values with identical superscripts are significantly different at  $P < 0,05$ ; the other values without superscripts are significantly different at  $P < 0,001$

<sup>1</sup>parameters, <sup>2</sup>washing loss, <sup>3</sup>fast-soluble fraction, <sup>4</sup>degradable fraction, <sup>5</sup>degradability rate constant, <sup>6</sup>effective degradability, <sup>7</sup>barley, <sup>8</sup>corn, <sup>9</sup>oats, <sup>10</sup>wheat, <sup>11</sup>wheat meal, <sup>12</sup>wheat bran, <sup>13</sup>rye bran

Tab. 4. Úbytok N-látok ( $\bar{x} \pm s.d.$ ) a jednotlivých aminokyselín po 16 h inkubácie pokusných krmív v bachore (% z pôvodného obsahu pred inkubáciou) – Decreases in crude protein ( $\bar{x} \pm s.d.$ ) and amino acids after 16-hours incubation of experimental feeds in rumen (% of the initial content before incubation)

AK <sup>1</sup>	Jačmeň <sup>4</sup>	Kukurica <sup>5</sup>	Ovos <sup>6</sup>	Pšenica <sup>7</sup>	Pšeničná múka <sup>8</sup>	Pšeničné otruby <sup>9</sup>	Ražné otruby <sup>10</sup>
N-látky <sup>2</sup>	89,3 <sup>a</sup> ± 1,13	64,6 ± 0,76	90,1 <sup>ab</sup> ± 1,25	93,5 ± 1,34	91,0 <sup>a</sup> ± 0,83	90,2 <sup>abc</sup> ± 0,99	88,3 <sup>a</sup> ± 1,30
Suma AK <sup>3</sup>	88,4	64,7	92,9	91,3	93,2	89,6	94,0
Thr	89,2	60,2	89,5	89,9	91,9	85,7	92,0
Val	89,7	64,8	92,3	91,0	92,3	87,1	82,6
Ile	92,5	56,8	88,6	90,6	91,0	86,8	81,5
Leu	82,5	54,5	92,0	91,2	84,9	87,2	92,7
Tyr	89,5	47,0	92,5	88,8	92,9	89,5	94,1
Phe	88,7	54,0	92,6	90,0	91,0	88,0	93,7
His	90,0	72,4	93,8	93,2	93,0	90,4	94,4
Lys	90,0	75,0	88,7	88,7	90,0	85,9	92,9
Arg	88,5	80,6	93,2	88,0	94,2	89,2	95,0
Met	85,3	56,8	90,8	91,5	92,0	nest.	94,3
Asp	89,5	78,0	92,3	90,8	92,9	85,8	92,6
Ser	89,0	62,6	94,8	91,8	92,9	88,7	92,7
Glu	90,2	64,0	95,2	92,7	95,9	92,6	96,9
Pro	83,9	77,6	85,42	92,9	nest.	95,2	95,6
Gly	90,0	73,5	92,6	90,7	92,0	87,6	90,8
Ala	90,8	55,0	92,9	90,7	92,6	86,7	93,8
Cys	88,0	63,0	95,1	92,3	91,9	nest.	95,6

Hodnoty s rovnakými indexami nie sú medzi sebou významne rozdielne, medzi ostatnými sú rozdiely významné ( $P < 0,01$ ) – Differences between the values with identical superscripts are not significant, differences between the other values are significant ( $P < 0.01$ )

<sup>1</sup>amino acid, <sup>2</sup>crude protein, <sup>3</sup>sum of amino acids, <sup>4</sup>barley, <sup>5</sup>corn, <sup>6</sup>oats, <sup>7</sup>wheat, <sup>8</sup>wheat meal, <sup>9</sup>wheat bran, <sup>10</sup>rye bran

dovanom zvyšku podiel Lys. Po inkubácii v bachore sa zvýšil vo zvyškoch všetkých krmív podiel Ile a okrem jačmeňa a ovsa tiež Leu. Najmenšie zmeny oproti pôvodnému zastúpeniu v krmivách sme zaznamenali pre Met.

## DISKUSIA

Profil stráviteľných aminokyselín pritekajúcich do tenkého čreva je dôležitý faktor určujúci účinnosť utilizácie bielkovín prežúvavcami. K dosiahnutiu ideálnej bielkoviny vstupujúcej do dvanástnika je nevyhnutné vybilancovať aminokyselinové zloženie mikrobiálnych bielkovín produkovaných v bachore s bielkovinami krmiva, ktoré uniknú degradácii v bachore (Boisen *et al.*, 1998). Vzhľadom na vysoký podiel mikrobiálnych bielkovín neovplyvnia aminokyseliny krmiva zloženie duodenálnych bielkovín, ako uvádzajú Bergen *et al.* (1968). Výsledky mnohých pokusov však dokazujú, že v bachore nedegradované bielkoviny krmív sú zdrojom doplnkových aminokyselín k mikrobiálnym bielkovinám. Veľkosť tohoto príspevku súvisí s obsahom N-látok v krmive a ich degradovateľnosťou v bachore.

Cereálne krmivá nie sú podľa obsahu dusíka zaradené k významným zdrojom dusíka a dusík aminokyselín (NAK) sa podielá na jeho celkovom obsahu od 60,8 % v ovse do 87,6 % v jačmeni. Variabilitnosť podielu dusíka

esenciálnych aminokyselín na celkovom dusíku je v rozpätí 30,4 až 45,6 %. Rozdiel medzi celkovým obsahom dusíka a NAK čiastočne zdôvodňujú van Straalen *et al.* (1997) nestanoveným tryptofanom a variabilným obsahom nebielkovinového dusíka (nitrátov, amoniakálneho dusíka, purínov, DNK a RNK). Erasmus *et al.* (1994) v súbore 12 krmív rastlinného a živočíšneho pôvodu tiež nestanovili hodnotu podielu NAK na celkovom obsahu dusíka vyššiu ako 95,3 % (v krvnej múčke) a 84,5 % (v kukurici), čo je hodnota blízka našej (86,2 %).

Cereálne krmivá sú intenzívne degradované, čoho dôkazom sú hodnoty úbytku N-látok po 16 hodinách inkubácie, vysoká rýchlosť degradácie, ako aj vyššie hodnoty efektívnej degradovateľnosti. Rozdiely v hodnotách efektívnej degradovateľnosti medzi jednotlivými druhmi zrnín sú dané rôznym zastúpením bielkovinových frakcií, ktoré majú rozdielnu rozpustnosť a tým aj prístupnosť k degradácii bachorovou mikroflórou. Madsen a Hvelplund (1985) zistili pri rýchlosti pasáže 0,08 h<sup>-1</sup> degradovateľnosť N-látok jačmeňa v rozpätí 60 až 74 %, kukurice 26 až 33 %, pšenice 60 až 64 % a pšeničných otrúb 62 až 64 %. Žebrowska *et al.* (1997) zistili rozdiely efektívnej degradovateľnosti aj medzi odrodami jačmeňa a pšenice a najvyššiu efektívnu degradovateľnosť stanovili pre ovos a najnižšiu pre kukuricu, podobne ako my.

Z charakteristik degradovateľnosti vyplýva, že medzi cereálnymi krmivami nie sú veľké rozdiely v rozsahu de-

Tab. 5. Spektrum aminokyselin pokusných krmív pred inkubáciou (1) a po 16 h inkubácie v bachore (2) (g AK/100 g AK) – The amino acid spectrum of experimental feeds before incubation (1) and after 16-hour incubation in rumen (2) (g AA/100 g AA)

Krmivo <sup>1</sup> n = 4	Jačmeň <sup>2</sup>		Kukurica <sup>3</sup>		Ovos <sup>4</sup>		Pšenica <sup>5</sup>		Pšeničná múka <sup>6</sup>		Pšeničné otruby <sup>7</sup>		Ražné otruby <sup>8</sup>	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<b>EAK</b>														
Thr	3,7	3,7	3,4	3,6	3,5	5,2	3,1	3,8	3,3	4,6	3,5	6,1	3,5	5,0
Val	5,4	4,9	4,3	4,1	5,3	4,9	4,7	5,0	4,4	5,5	5,2	6,6	4,9	6,3
Ile	1,9	3,9	3,3	3,8	3,9	4,9	3,5	3,9	3,2	3,6	3,7	4,6	3,3	4,3
Leu	8,1	7,9	11,6	14,2	7,8	7,1	6,9	7,3	6,4	8,7	7,0	8,9	6,5	8,3
Tyr	2,6	2,5	1,7	2,4	1,8	2,6	1,6	2,2	1,8	3,1	2,6	2,9	2,1	2,2
Phe	5,3	5,2	5,3	6,6	3,8	4,9	3,4	4,0	3,8	4,2	4,2	5,2	4,2	4,6
His	2,2	1,7	2,4	1,8	3,0	1,6	2,7	2,2	2,1	2,5	2,6	2,7	2,4	2,3
Lys	4,7	4,1	4,0	2,6	4,0	7,1	3,6	4,5	4,0	5,2	5,1	7,6	4,5	5,6
Arg	6,4	6,2	6,7	3,5	5,4	6,2	4,9	6,8	8,1	9,4	7,8	3,4	7,7	6,5
Met	1,9	2,5	2,0	2,3	2,2	2,4	1,9	1,9	1,8	2,2	nest. <sup>9</sup>	nest. <sup>9</sup>	2,1	2,0
<b>NeAK</b>														
Asp	6,7	6,4	7,2	6,4	6,8	8,8	6,1	6,5	6,2	9,5	7,8	11,1	7,9	10,3
Ser	4,5	4,5	4,6	4,7	5,4	3,6	4,8	4,7	4,2	5,6	4,1	5,1	4,4	5,5
Glu	27,1	22,3	20,1	19,5	34,3	12,0	30,7	26,4	23,6	12,2	24,6	18,2	23,0	12,2
Pro	8,4	12,0	10,8	6,5	9,1	16,9	10,6	8,8	15,5	5,8	11,1	6,4	10,6	8,2
Gly	4,3	4,2	3,9	2,8	5,0	4,9	4,5	4,9	4,5	7,7	5,4	7,8	5,0	8,0
Ala	4,5	5,2	7,1	8,6	5,1	5,2	4,7	5,0	5,2	7,0	5,2	5,9	5,3	6,1
Cys	2,5	2,4	1,6	1,6	2,6	1,9	2,3	2,1	1,8	3,0	nest. <sup>9</sup>	nest. <sup>9</sup>	2,4	2,6

<sup>1</sup>feed, <sup>2</sup>barley, <sup>3</sup>corn, <sup>4</sup>oats, <sup>5</sup>wheat, <sup>6</sup>wheat meal, <sup>7</sup>wheat bran, <sup>8</sup>rye bran, <sup>9</sup>not evaluated

gradácie v bachore a degradácii uniklo cca 10 % N-látok, s výnimkou kukurice, kde nedegradovaný podiel bol 25 %. Vysoký úbytok jednotlivých i celkových aminokyselín po 16 hodinách inkubácie poukazuje na nízky podiel aminokyselín pôvodného krmiva v tenkom čreve. V zhode s mnohými autormi (Erasmus *et al.*, 1994; O'Mara *et al.*, 1997; Žebrowska *et al.*, 1997; Van Straalen *et al.*, 1997) sme zistili rozdielne spektrum aminokyselín v pôvodnom krmive a vo zvyškoch po inkubácii. Stanovili sme výrazný pokles podielu Glu v šiestich zo siedmich krmív, v kukurici len nepatrný, čo stanovili v podobných krmivách aj Žebrowska *et al.* (1997). Erasmus *et al.* (1994) zaznamenali v kukurici významne nižší podiel Arg, podobne ako my. Vo zvyškoch jačmeňa, kukurice, ovsu a pšenice sme stanovili aj nižšie zastúpenie His a v kukurici tiež Lys, ktorý je považovaný za jednu z limitujúcich aminokyselín pre dojnice. Vyšší podiel Lys a Arg v ostatných krmivách je podľa autorov van Straalen *et al.* (1997) spôsobený kontamináciou zvyšku krmiva bakteriálnymi bielkovinami, ktoré majú relatívne vysoký obsah týchto aminokyselín. Dôkazom kontaminácie je podľa autorov O'Mara *et al.* (1997) aj nižší úbytok (%) týchto aminokyselín, ako je priemerná hodnota úbytku celkových aminokyselín.

Pomerne stabilné zastúpenie v spektre aminokyselín pred inkubáciou a po nej sme zistili pre sírne aminokyseliny a aminokyseliny s rozvetveným reťazcom, čo zistili mnohí autori aj v bielkovinových krmivách (Erasmus *et al.*, 1994; Cozzi *et al.*, 1995; O'Mara *et al.*, 1997). Tento fakt vysvetľujú vyššou rezistenciou uvedených aminokyselín voči bachorovej degradácii. Okrem jačmeňa sme vo zvyškoch ostatných krmív zistili tiež vyššie zastúpenie Tyr, Phe, Thr ako v pôvodnom krmive a Ala vo zvyškoch všetkých krmív.

Zastúpenie jednotlivých aminokyselín pred inkubáciou a po nej v bachore dokumentujú rozdiely v spektre aminokyselín medzi pôvodným krmivom a ich zvyškami, ale aj rozdiely v úbytku jednotlivých aminokyselín medzi krmivami. Z toho vyplýva, že z pôvodnej koncentrácie aminokyselín v krmivách je možné predikovať množstvo aminokyselín vstupujúcich do tenkého čreva len po zohľadnení procesu degradácie v bachore.

## LITERATÚRA

Bergen W. G., Purser D. B., Cline J. H. (1968): Effect of ration on the nutritive quality of rumen microbial protein. *J. Anim. Sci.*, 27: 1497–1501.

Boisen S., Hvelplund T., Weisbjerg M. R. (1998): Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. In: 49th Annual Meet. of the EAAP, Warsaw, Poland, 57.

Cozzi G., Andrighetto I., Berzaghi P. (1995): *In situ* ruminal disappearance of amino acids in protein feedstuffs. *J. Dairy Sci.*, 78: 161–171.

Erasmus L. J., Botha P. M., Cruywagen C. W., Meissner H. H. (1994): Amino acid profile and intestinal digestibility in dairy cows of rumen-undegradable protein from various feedstuffs. *J. Dairy Sci.*, 77: 541–551.

Fahmy W. G., Aufrère J., Graviou D., Demarquilly C., El-Shazly K. (1991): Comparison between the mechanism of protein degradation of two cereals by enzymatic and *in situ* methods, using gel electrophoresis. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 25: 115–130.

Madsen J., Hvelplund T. (1985): Protein degradation in the rumen. *Acta Agric Scand. (Suppl.)*, 25: 103–124.

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

Messman M. A., Weiss W. P., Erickson D. O. (1992): Effects of nitrogen fertilization and maturity of bromegrass on nitrogen and amino acid utilisation by cows. *J. Anim. Sci.*, 70: 566–575.

O'Mara F. P., Murphy J. J., Rath M. (1997): The amino acid composition of protein feedstuffs before and after ruminal incubation and after subsequent passage through the intestines of dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 75: 1941–1949.

Ørskov E. R., McDonald I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci., Camb.*, 92: 499–503.

Susmel P., Stefanon B., Mills C. R., Manuela C. (1989): Change in amino acid composition of different protein sources after rumen incubation. *Anim. Prod.*, 49: 375–385.

Susmel P., Cozzi G., Masoero F., Piva G., Stefanon B. (1994): Valutazione degli alimenti di interesse zootecnico. 3. Degradabilità e valore proteico degli alimenti per i ruminanti. *Zoot. Nutr. Anim.*, 40: 281–291.

Van Straalen W. M., Odinga J. J., Mostert W. (1997): Digestion of feed amino acids in the rumen and small intestine of dairy cows measured with nylon-bag techniques. *Br. J. Nutr.*, 77: 83–97.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva SR 1492/97.

Žebrowska T., Długolecka Z., Pająk J. J., Korczyński W. (1997): Rumen degradability of concentrate protein, amino acids and starch, and their digestibility in the small intestine of cows. *J. Anim. Feed Sci.*, 6: 451–470.

Došlo 19. 10. 1999

Prijaté k publikovaniu 20. 3. 2000

Kontaktná adresa:

Ing. Zuzana Čerešňáková, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovenská republika, tel.: + 421 87 65 46 225, fax: + 421 87 65 50 453, e-mail: ceresnak@vuzv.sk

# VPLYV ROZDIELNEJ ÚROVNE VÝŽIVY NA PRODUKCIU A ZLOŽENIE MLIIEKA BAHNÍC

## EFFECT OF DIFFERENT NUTRITION ON EWES' MILK YIELD AND ITS COMPONENTS

J. Kica, M. Margetín, J. Margetínová, D. Ochodnický

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

**ABSTRACT:** A trial was conducted to determine the effect of different planes of nutrition on ewes' milk yield and its components during suckling by 62nd day of lactation and for the whole lactation. Bulk feed rations were identical in all groups, amounts of feed mixture were different. The trial comprised 3 groups of ewes of Tsigai (C) breed and Improved Wallachian (ZV) breed at a 1:1 ratio. Different planes of nutrition were found to influence milk yield and productivity per kg of ewe's metabolizable energy highly significantly ( $P < 0.001$ ). The live weight of ewes did not decrease in any group during the trial. The higher plane of nutrition in the first four weeks of lactation increased dry matter and fat content in milk ( $P < 0.001$ ). Experimental ewes with twins had higher milk yield by 20.1%. Group 1, which received 0.65 kg feed mixture per head/day, had average milk yield of 91.35 l milk by 62nd day of lactation, until lamb weaning, while group 2 receiving 0.5 kg feed mixture during the whole trial had average production of 90.53 l milk. Group 3, which received 0.30 kg feed mixture at the beginning of lactation and 0.65 kg in the second half of lactation, showed the lowest milk yield on average (71.74 l only). The ewes of group 1, 2 and 3 produced on average 146.769 l, 141.783 l and 120.363 l milk, respectively, for the whole lactation. The low plane of nutrition in the first five weeks of lactation in group 3 ewes had negative impacts on their efficiency even in 8 weeks after the plane of nutrition was normalized.

**Keywords:** ewe; nutrition effect; litter size; milk yield; milk composition

**ABSTRAKT:** V pokuse sme sledovali vplyv rôznej úrovne výživy bahnic na produkciu a zloženie mlieka počas dojenia do 62. dňa a za celú laktáciu. Dávky objemových krmív boli vo všetkých skupinách rovnaké, rozdielne boli množstvá krmnej zmesi. V pokuse boli zostavené 3 skupiny bahnic so zastúpením cigajského plemena (C) a zošľachtenej valašky (ZV) v pomere 1 : 1. V pokuse sme zistili vysoko preukazný vplyv ( $P < 0,001$ ) rôznej úrovne výživy na množstvo produkcie mlieka a na produkciu na kg metabolizovateľnej hmotnosti bahnice. V priebehu pokusu nedošlo k zníženiu živej hmotnosti bahnic v žiadnej skupine. Zvýšená úroveň výživy v prvých 4 týždňoch laktácie sa pozitívne prejavila v zvýšení obsahu sušiny a tuku v mlieku ( $P < 0,001$ ). V pokuse sme zistili vyššiu produkciu mlieka o 20,1 % u bahnic s dvojičkami. Do 62 dňa laktácie, do odstavu jahniat sme zistili v 1. skupine, ktorá dostávala prvých 5 týždňov 0,65 kg krmnej zmesi na kus a deň, v priemere produkciu 91,35 l mlieka, v 2. skupine pri dávke 0,5 kg krmnej zmesi počas celého pokusu bola priemerná produkcia 90,53 l mlieka. Pri skŕmovaní 0,30 kg krmnej zmesi na začiatku laktácie a 0,65 kg v druhej polovici laktácie v 3. skupine bola v priemere najnižšia produkcia mlieka (len 71,47 l). Bahnice v 1. skupine vyprodukovali za celú laktáciu v priemere 146,769 l, v 2. skupine 141,783 l a v 3. skupine len 120,363 l mlieka. Nízka úroveň výživy prvých 5 týždňov laktácie u bahnic v 3. skupine mala nepriaznivý vplyv na úžitkovosť ešte 8 týždňov po jej vyrovnaní.

**KLúčové slová:** bahnica; vplyv výživy; početnosť vrhu; produkcia mlieka; zloženie mlieka

### ÚVOD

Pri úžitkovom zameraní chovu oviec na produkciu mlieka a mäsa má veľký význam produkcia mlieka, keďže rast jahniat v prvých 6 týždňoch je od nej silne závislý. Jahňatá síce začínajú prijímať rastlinné krmivo skôr už od druhého týždňa veku, ale ich príjem je nízky a neovplyvňuje podstatne intenzitu rastu až do veku 5–6 týždňov. Z hľadiska zabezpečenia intenzívneho rastu jahniat do odstavu je potom nutné venovať veľkú pozornosť zvyšovaniu produkcie mlieka bahnic prostredníctvom vybilancovanej intenzívnej výživy.

V literatúre je pomerne dobre rozpracovaná výživa bahnic počas gravidity a problémy s tým súvisiace, ako na to poukazujú Odý a Holst (1991), Vulich *et al.* (1991) a Hall *et al.* (1992). Pri zabezpečovaní výživy počas gravidity sú rozpracované v podstate univerzálne zásady pre všetky mliekové aj mäsové plemená oviec. Zložitejšia situácia je pri zabezpečovaní zodpovedajúcej výživy pri jednotlivých špecializovaných plemenách po obahnení a počas laktácie. Pomerne veľa prác je venovaných produkcii mlieka v súvislosti s rastom jahniat pri mäsových plemenách oviec, ako na to poukazujú Doney (1982), Martin *et al.* (1991), Rossi *et al.* (1991).

V súčasnom období pri zvýšenom záujme o produkciu ovčieho mlieka možno očakávať tendenciu predlžovať obdobie dojnej periódy a skracať obdobie odchovu jahniat tak, aby sa produkcia mlieka zvýšila. V zahraničí sa najčastejšie uskutočňuje odstav jahniat v 30 dňoch po uliahnutí. Takto je to napr. pri francúzskom plemene la-caune (Barill a Roussely, 1986), španielskom plemene latxa (Maria a Gabina, 1992) a gréckom plemene chios (Mavrogenis *et al.*, 1988). V posledných rokoch sa problematike mliekovej úžitkovosti oviec začala venovať väčšia pozornosť aj u nás, čoho výsledkom sú práce autorov Margetín *et al.* (1990, 1991).

## MATERIÁL A METÓDA

Bahnice plemien cigája a zošľachtená valaška boli na základe analogických dvojíc zaradené do troch skupín. Bahnice v skupinách boli vyrovnané, čo sa týka plemena, veku, úžitkovosti hmotnosti a poradia laktácie, ako to uvádzame v nasledujúcom prehľadu.

Ukazovateľ	Skupina		
	1	2	3
Celkový počet bahnic	30	31	32
z toho cigajské (C)	15	15	16
valašky (ZV)	15	16	16
Vybrané pre oxytocinovú metódu (C : ZV - 1 : 1)	10	12	10
Priemerný vek v rokoch	4,9 0,3	4,8 0,3	4,9 0,2
Hmotnosť (kg)	59,9 2,7	61,6 2,8	60,5 2,7
Poradie laktácie	2,9 0,3	2,8 0,2	2,9 0,2
Produkcia tržného mlieka v predchádzajúcom roku (l)	62,0 2,4	63,5 2,8	62,8 2,5

Bahnenie pokusných bahnic prebiehalo od 2. do 28. februára a u bahnic oxytocinovej skupiny od 16. do

24. februára. Kŕmenie pokusných bahnic vo všetkých skupinách bolo dvakrát denne so skupinovým navažovaním jednotlivých krmív a odvažovaním nevyžratých zvyškov. Objemová časť kŕmnej dávky bola vo všetkých skupinách rovnaká a pozostávala z kukuričnej siláže, lucného a lucernového sena, jačmennej slamy a kŕmnej repy. Priemerné kŕmné dávky počas pokusu uvádzame v tab. 1. Celkové množstvo skrmenej kŕmnej zmesi bolo v jednotlivých skupinách rovnaké, ale malo rozdielne časové rozloženie do odstavu jahniat. Po odstave jahniat a prechode na pastvu sa kŕmné zmesi bahniciam neskrmovali. V prvej skupine bahnice dostávali prvých 5 týždňov vyššiu dávku kŕmnej zmesi a potom polovičnú, v tretej skupine tomu bolo naopak. Druhá skupina dostávala v priebehu celého pokusu rovnaké množstvo kŕmnej zmesi. Zmes OV-O5 DZ obsahovala v sušine 6,62 MJ NEL, 95 g PDI a 163 g N-látok. Hlavné pokusné obdobie trvalo 62 dní, do odstavu jahniat, kedy sme u vybraných bahnic z každej skupiny zisťovali produkciu mlieka po aplikácii oxytocínu metódou podľa autora McCance (1959). V prvej a tretej skupine sme produkciu zisťovanú touto metódou vyhodnotili u 10 bahnic a v druhej skupine u 12 bahnic. Prvý odber bol urobený 14. deň po obahnení a ďalšie v 14dňových intervaloch. Po odstave jahniat sme produkciu mlieka zisťovali u všetkých pokusných bahnic. Živú hmotnosť bahnic sme zisťovali pred bahnením, po obahnení a každé dva týždne pri meraní produkcie mlieka až do odstavu jahniat. Produkciu mlieka pre lepšie vzájomné porovnanie sme prepočítali aj na metabolizovateľnú hmotnosť bahnic  $H^{0,75}$  (hmotnosť umocnená exponentom 0,75). Pri spracovaní výsledkov sme použili analýzu rozptylu pri viacstupňovom triedení pre nevyvážené pokusy, kde sme brali do úvahy faktory plemeno, úroveň výživy a veľkosť vrhu, pri súhrnom hodnotení za celé sledované obdobie aj faktor kontrolného odberu. Všetky efekty boli uvažované ako pevné a boli testované *F*-testom. Výpočty boli vykonané použitím programu STATGRAPHIC.

Tab. 1. Denné dávky krmív v jednotlivých obdobiach pokusu (kg) – Daily feed rations in the experimental periods (kg)

Obdobie <sup>1</sup>	Skupina <sup>3</sup>	Kukuričná siláž <sup>4</sup>	Kŕmna repa <sup>5</sup>	Seno <sup>6</sup>		Zmes OV-O5-DZ <sup>9</sup>	Kŕmna slama <sup>10</sup>
				lucerna <sup>7</sup>	lúčne <sup>8</sup>		
20. 02.–04. 03.	1	4,0	–	0,5	0,5	0,65	–
	2	4,0	–	0,5	0,5	0,50	–
	3	4,0	–	0,5	0,5	0,30	–
05. 03.–26. 03.	1	1,5	0,78	0,5	0,5	0,65	0,4
	2	1,5	0,78	0,5	0,5	0,50	0,4
	3	1,5	0,78	0,5	0,5	0,30	0,4
27. 03.–21. 04.	1	–	–	0,9	0,9	0,30	0,4
	2	–	–	0,9	0,9	0,50	0,4
	3	–	–	0,9	0,9	0,65	0,4
Priemer za pokus <sup>2</sup>	1	1,33	0,37	0,57	0,57	0,49	0,37
	2	1,33	0,37	0,57	0,57	0,50	0,37
	3	1,33	0,37	0,57	0,57	0,46	0,37

<sup>1</sup>period, <sup>2</sup>average of the experiment, <sup>3</sup>group, <sup>4</sup>corn silage, <sup>5</sup>fodder beet, <sup>6</sup>hay, <sup>7</sup>alfalfa, <sup>8</sup>meadow, <sup>9</sup>OV-O5-DZ mixture, <sup>10</sup>fodder straw

Tab. 2. Prírodná spotreba živín na bahnicu a deň v jednotlivých skupinách – Average nutrient consumption per ewe/day in the experimental groups

Obdobie do <sup>1</sup>	Skupina <sup>3</sup>	Sušina <sup>4</sup> (kg)	NEL (MJ)	PDI (g)	N-látky <sup>5</sup> (g)	Vláknina <sup>6</sup> (g)	Ca (g)	P (g)
04. 03.	1	2,36	13,5	167	260	0,58	15	9
	2	2,23	12,6	152	239	0,58	14	8
	3	2,05	11,5	133	209	0,58	12	7
26. 03.	1	2,16	11,6	150	232	0,59	15	8
	2	2,03	10,7	135	210	0,65	14	7
	2	1,85	9,6	116	181	0,66	12	6
21. 04.	1	1,87	8,8	124	192	0,63	16	7
	2	2,04	9,9	143	221	0,65	18	8
	3	2,18	10,8	158	243	0,66	19	9
Priemer za pokus <sup>2</sup>	1	2,07	10,7	139	217	0,59	15	8
	2	2,07	10,7	140	218	0,60	15	8
	3	2,04	10,5	136	212	0,59	14	8

<sup>1</sup>period by, <sup>2</sup>average of experiment, <sup>3</sup>group, <sup>4</sup>proteins, <sup>5</sup>N-compounds, <sup>6</sup>fibre

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kŕmne dávky v priebehu pokusu uvádzame v tab. 1, spotrebu živín na kus a deň a na 1 liter vyprodukovaného mlieka v tab. 2. Spotreba objemových kŕmív bola v jednotlivých skupinách rovnaká a rozdielny príjem sušiny a živín súvisel s rozdielnou spotrebou kŕmnej zmesi. Priemerná spotreba sušiny na bahnicu a deň za pokusné

obdobie bola takmer rovnaká – 2,07 kg v 1. a 2. skupine a 2,04 kg v 3. skupine. Pri prepočte na 100 kg živej hmotnosti prijímali bahnice 1. skupiny 4,14 kg sušiny, 2. skupiny 3,90 kg a 3. skupiny 4,03 kg, čo je porovnateľná spotreba s výsledkami prác autorov Martin *et al.* (1991), Rossi *et al.* (1991) a Stopka *et al.* (1996). Priemernú produkciu mlieka pri rôznej úrovni výživy a jej vplyv na zloženie mlieka bahnic uvádzame v tab. 3. Pri meraní

Tab. 3. Vplyv rozdielnej úrovne výživy na produkciu a zloženie mlieka bahnic – The effect of different plane of nutrition on milk yield and components in ewes

Dátum merania <sup>1</sup>	Skupina <sup>4</sup>	n	Hmotnosť bahnice <sup>2</sup> (kg)	Produkcia <sup>6</sup>		Obsah zložiek mlieka v 1 000 ml <sup>9</sup>			
				na kus a deň <sup>7</sup> (ml)	na 1 kg <sup>8</sup> H <sup>0,75</sup> (ml)	sušina <sup>10</sup> (g)	tuk <sup>11</sup> (g)	bielkoviny <sup>12</sup> (g)	laktóza <sup>13</sup> (g)
04. 03. (14. deň laktácie <sup>2</sup> )	1	10	50,0	2 168	115,3	205,0 <sup>ab</sup>	99,1 <sup>ab</sup>	48,0	52,2
	2	12	53,1	2 048	104,1	223,3 <sup>a</sup>	114,0 <sup>a</sup>	47,2	53,2
	3	10	50,5	1 773	93,5	196,5 <sup>b</sup>	90,4 <sup>b</sup>	44,8	52,3
	F-test		0,78 <sup>-</sup>	2,798 <sup>-</sup>	1,06 <sup>-</sup>	7,863 <sup>***</sup>	6,31 <sup>***</sup>	1,92 <sup>-</sup>	1,82 <sup>-</sup>
17. 03. (27. deň laktácie)	1	10	52,2	1 711 <sup>a</sup>	88,1	186,1 <sup>1</sup>	83,4 <sup>1</sup>	46,6	47,1
	2	12	55,9	1 767 <sup>ab</sup>	86,4	195,3 <sup>2</sup>	89,5 <sup>2</sup>	48,6	47,7
	3	10	50,5	1 248 <sup>ab</sup>	65,9	173,7 <sup>12</sup>	70,0 <sup>12</sup>	47,8	46,9
	F-test		1,10 <sup>-</sup>	7,567 <sup>***</sup>	0,26 <sup>-</sup>	5,474 <sup>*</sup>	4,24 <sup>*</sup>	0,60 <sup>-</sup>	1,03 <sup>-</sup>
01. 04. (42. deň laktácie)	1	10	52,9	1 076	54,8	181,9	78,1	49,0	45,1
	2	12	56,8	1 126	54,4	198,8	90,4	54,8	45,6
	3	10	51,5	866	45,6	190,1	85,6	50,7	44,8
	F-test		1,78 <sup>-</sup>	2,723 <sup>-</sup>	1,70 <sup>-</sup>	2,683 <sup>-</sup>	1,73 <sup>-</sup>	3,26 <sup>-</sup>	0,13 <sup>-</sup>
16. 04. (57. deň laktácie)	1	10	51,4	950	49,5	181,4	77,8	48,0	46,6
	2	12	55,0	901	44,6	185,9	80,5	49,9	46,4
	3	10	50,2	723	38,3	195,8	92,1	49,2	45,4
	F-test		1,19 <sup>-</sup>	3,203 <sup>-</sup>	0,34 <sup>-</sup>	2,139 <sup>-</sup>	2,20 <sup>-</sup>	0,65 <sup>-</sup>	1,15 <sup>-</sup>
Priemer do odstavu jahniat <sup>3</sup>	1	10	51,7	1 476 <sup>A</sup>	74,1	188,6 <sup>A</sup>	84,6 <sup>1</sup>	47,3 <sup>A</sup>	47,8
	2	12	55,3	1 460 <sup>B</sup>	71,9	200,0 <sup>B</sup>	93,6 <sup>1</sup>	50,1 <sup>A</sup>	47,9
	3	10	50,7	1 153 <sup>AB</sup>	61,0	189,1 <sup>AB</sup>	84,5 <sup>1</sup>	48,1 <sup>A</sup>	47,4
	F-test		1,14 <sup>-</sup>	13,73 <sup>***</sup>	0,56 <sup>-</sup>	7,78 <sup>***</sup>	4,78 <sup>*</sup>	5,72 <sup>**</sup>	1,65 <sup>-</sup>

Významne rozdielne priemery pre všetky tabuľky: 1, 2, +,  $P < 0,05$ ; a, b, ++,  $P < 0,01$ ; A, B, +++,  $P < 0,001$  – Significantly different parameters for all tables: 1, 2, +,  $P < 0,05$ ; a, b, ++,  $P < 0,01$ ; A, B, +++,  $P < 0,001$

<sup>1</sup>date of measuring, <sup>2</sup>day of lactation, <sup>3</sup>average by lamb weaning, <sup>4</sup>group, <sup>5</sup>ewe weight, <sup>6</sup>production, <sup>7</sup>per head/day, <sup>8</sup>per 1 kg, <sup>9</sup>content of milk components per 1,000 ml, <sup>10</sup>dry matter, <sup>11</sup>fat, <sup>12</sup>proteins, <sup>13</sup>lactose

Tab. 4. Vplyv plemena na produkciu a zloženie mlieka – The effect of breed on milk yield and components

Dátum odberu <sup>1</sup>	Plemeno <sup>3</sup>	n	Hmotnosť bahnič <sup>4</sup> (kg)	Produkcia <sup>5</sup>		Obsah zložiek mlieka v 1 000 ml <sup>8</sup>			
				na kus a deň <sup>6</sup> (ml)	na 1 kg <sup>7</sup> H <sup>0,75</sup> (ml)	Sušina <sup>9</sup> (g)	tuk <sup>10</sup> (g)	bielkoviny <sup>11</sup> (g)	laktóza <sup>12</sup> (g)
04. 03.	ZV	15	50,2	1 833	96,5	213,1	105,3	46,0	52,7
	C	17	52,5	2 146	109,2	206,0	99,0	45,5	52,6
	F-test		0,78 <sup>-</sup>	4,025 <sup>-</sup>	1,06 <sup>-</sup>	0,516 <sup>-</sup>	0,395 <sup>-</sup>	0,09 <sup>-</sup>	0,00 <sup>-</sup>
17. 03.	ZV	15	52,2	1 525	78,5	190,0	86,7	47,7	46,6
	C	17	53,9	1 642	82,3	181,9	76,9	47,8	47,9
	F-test		1,10 <sup>-</sup>	0,746 <sup>-</sup>	0,26 <sup>-</sup>	1,396 <sup>-</sup>	2,27 <sup>-</sup>	0,02 <sup>-</sup>	6,01 <sup>-</sup>
01. 04.	ZV	15	52,6	1 072	54,6	189,1	81,8	53,8	44,5
	C	17	55,2	991	49,1	192,3	80,8	50,3	45,1
	F-test		1,78 <sup>-</sup>	0,728 <sup>-</sup>	1,70 <sup>-</sup>	0,197 <sup>-</sup>	0,97 <sup>-</sup>	4,16 <sup>-</sup>	1,14 <sup>-</sup>
16. 04.	ZV	15	51,3	821	43,1	184,3	80,1	48,9	46,3
	C	17	53,3	896	45,4	190,4	86,1	49,2	46,0
	F-test		1,19 <sup>-</sup>	0,962 <sup>-</sup>	0,34 <sup>-</sup>	0,655 <sup>-</sup>	0,82 <sup>-</sup>	0,04 <sup>-</sup>	0,02 <sup>-</sup>
Priemer do odstavu jahniat <sup>2</sup>	ZV	15	51,6	1 313	67,7	194,1	88,5	49,1	47,5
	C	17	53,8	1 419	70,4	192,6	87,5	48,2	47,9
	F-test		1,25 <sup>-</sup>	2,975 <sup>-</sup>	0,58 <sup>-</sup>	0,071 <sup>-</sup>	0,03 <sup>-</sup>	1,58 <sup>-</sup>	2,75 <sup>-</sup>

<sup>1</sup>date of sampling, <sup>2</sup>average by lamb weaning, <sup>3</sup>breed, <sup>4</sup>ewe weight, <sup>5</sup>production, <sup>6</sup>per head/day, <sup>7</sup>per 1 kg, <sup>8</sup>content of milk components per 1,000 ml, <sup>9</sup>dry matter, <sup>10</sup>fat, <sup>11</sup>proteins, <sup>12</sup>lactose

produkcie 14. deň po obahnení sme nezistili štatisticky významné rozdiely medzi skupinami. Pri druhom meraní 27. deň laktácie bola v 3. skupine produkcia v porovnaní s 1. skupinou preukazne nižšia ( $P < 0,05$ ) a vysoko preukazne nižšia ( $P < 0,01$ ) ako v 2. skupine. Pri meraniach 42. a 57. deň laktácie sme opäť v produkcii mlieka nezistili štatisticky významné rozdiely. Priemerná denná produkcia mlieka za 62 dní do odstavu jahniat bola najvyššia v 1. skupine (1 476 ml), potom v 2. skupine (1 460 ml) a najnižšia

v 3. skupine (1 152,7 ml). Rozdiely medzi produkciou mlieka v 3. skupine a produkciou v 1. a 2. skupine boli vysoko preukazné ( $P < 0,01$ ). Za 62 dní laktácie do odstavu jahniat vyprodukovali bahnice 1. skupiny 91,531 l mlieka, 2. skupiny 90,532 l a 3. skupiny 71,467 l mlieka. Rozdielna úroveň výživy sa prejavila vysoko preukazne ešte pri prvom meraní na pastve po 30 dňoch po odstavu medzi 3. skupinou a ostatnými dvoma skupinami. Napriek tomu, že sme nepozorovali zníženie hmotnosti, na začiatku lak-

Tab. 5. Vplyv veľkosti vrhu na produkciu a zloženie mlieka bahnič počas dojcenia – The effect of litter size on milk yield and components in ewes during suckling

Dátum merania <sup>1</sup>	Počet jahniat <sup>3</sup>	n	Hmotnosť bahnič <sup>4</sup> (kg)	Produkcia <sup>5</sup>		Obsah zložiek mlieka v 1 000 ml <sup>8</sup>			
				na kus a deň <sup>6</sup> (ml)	na 1 kg <sup>7</sup> H <sup>0,75</sup> (ml)	sušina <sup>9</sup> (g)	tuk <sup>10</sup> (g)	bielkoviny <sup>11</sup> (g)	laktóza <sup>12</sup> (g)
04. 03.	1	19	50,5	1 842	97,2	213,6	106,1	45,9	52,7
	2	13	52,6	2 230	114,2	203,0	95,9	45,5	52,6
	F-test		0,78 <sup>-</sup>	5,32 <sup>+</sup>	3,12 <sup>-</sup>	3,17 <sup>-</sup>	3,11 <sup>-</sup>	0,07 <sup>-</sup>	0,10 <sup>-</sup>
17. 03.	1	19	53,4	1 414	71,85	187,3	82,4	48,3	47,3
	2	13	52,7	1 840	93,27	183,4	80,1	47,0	47,2
	F-test		0,24 <sup>-</sup>	11,0 <sup>++</sup>	14,17 <sup>+++</sup>	0,37 <sup>-</sup>	0,06 <sup>-</sup>	0,07 <sup>-</sup>	0,20 <sup>-</sup>
01. 04.	1	19	53,8	981	49,6	188,8	82,7	51,5	45,6
	2	13	54,3	1 100	54,8	193,7	88,4	52,5	43,7 <sup>+</sup>
	F-test		0,02 <sup>-</sup>	1,85 <sup>-</sup>	1,86 <sup>-</sup>	0,47 <sup>-</sup>	0,74 <sup>-</sup>	0,64 <sup>-</sup>	6,35 <sup>+</sup>
16. 04.	1	19	52,1	811	41,9	185,6	81,5	48,5	46,5
	2	13	52,8	934	47,9	190,4	85,8	49,9	45,7
	F-test		0,03	1,98	1,95	0,58	0,57	0,85	1,35
Priemer do odstavu jahniat <sup>2</sup>	1	19	52,5	1 262	63,7	193,0	88,2	48,6	48,0
	2	13	53,1	1 526	76,9	192,6	87,6	48,7	47,3
	F-test		0,02 <sup>-</sup>	17,96 <sup>+++</sup>	16,95 <sup>+++</sup>	0,18 <sup>-</sup>	0,06 <sup>-</sup>	0,13 <sup>-</sup>	6,49 <sup>+</sup>

<sup>1</sup>date of measuring, <sup>2</sup>average by lamb weaning, <sup>3</sup>lamb number, <sup>4</sup>ewe weight, <sup>5</sup>production, <sup>6</sup>per head/day, <sup>7</sup>per 1 kg, <sup>8</sup>content of milk components per 1,000 ml, <sup>9</sup>dry matter, <sup>10</sup>fat, <sup>11</sup>proteins, <sup>12</sup>lactose

Dátum merania <sup>1</sup>	Skupina <sup>6</sup>	Súbor bahnic <sup>7</sup>					
		všetkých <sup>8</sup>			s oxitocínom <sup>9</sup>		
		n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s
28. 05.	1	30	683	45 <sup>++</sup>	10	698	49 <sup>+</sup>
	2	31	633	47	12	664	51
	3	32	467	41 <sup>++</sup>	10	608	43 <sup>+</sup>
	F-test			5,972 <sup>++</sup>			3,654 <sup>+</sup>
23. 06.	1	30	492	40	10	496	42
	2	31	454	43	12	442	46
	3	32	504	37	10	476	40
	F-test			1,923 <sup>-</sup>			0,962 <sup>-</sup>
04. 08.	1	30	397	35	10	351	38
	2	31	368	34	12	349	37
	3	32	385	31	10	354	33
	F-test			0,409 <sup>-</sup>			0,220 <sup>-</sup>
25. 08.	1	30	219	30	10	190	27
	2	31	208	24	12	193	25
	3	32	245	25	10	195	26
	F-test			0,952 <sup>-</sup>			0,235 <sup>-</sup>

<sup>1</sup>date of measuring, <sup>2</sup>28th May, <sup>3</sup>23rd June, <sup>4</sup>4th August, <sup>5</sup>25th August, <sup>6</sup>group, <sup>7</sup>set of, <sup>8</sup>all ewes, <sup>9</sup>ewes with oxytocin

tácie došlo zrejme k vyčerpaniu živín v organizme bahnic v 3. skupine, ktoré na začiatku pastvy boli doplňované na úkor produkcie. Pri ďalších meraniach bahnice tejto skupiny už v produkcii nezaostávali. Po odstave bahnice v 1. skupine vyprodukovali v priemere do konca laktácie 55,238 l mlieka, v 2. skupine 51,251 l a v 3. skupine 48,896 l. Najvyššiu celkovú produkciu mlieka za laktáciu sme zistili u bahnic 1. skupiny – 146,769 l. V 2. skupine bola v priemere nižšia produkcia o 4,986 l a najnižšia bola v 3. skupine – len 120,363 l. Rozdiely v produkcii mlieka medzi 1. a 3. skupinou 26,406 l a medzi 2. a 3. skupinou 21,42 l boli vysoko preukazné ( $P < 0,01$ ).

Úroveň výživy v pokuse sa prejavila nielen na množstve vyprodukovaného mlieka, ale aj na jeho zložení, predovšetkým pri prvých dvoch meraniach, t.j. prvé 4 týždne laktácie. Štatisticky vysoko preukazné rozdiely ( $P < 0,01$ ) sme zistili pri prvom odbere v produkcii sušiny a tuku v mlieku medzi prvými dvoma skupinami a treťou, s najnižšou spotrebou živín. Pri druhom kontrolnom meraní boli rozdiely medzi skupinami v uvedených zložkách preukazné ( $P < 0,05$ ). V tab. 4 prepočítavame produkciu mlieka na kg metabolizovateľnej hmotnosti. Ako vyplýva z tabuľky, bahnice 1. skupiny vyprodukovali na 1 kg hmotnosti 74,13 ml mlieka, 2. skupiny 71,92 ml a 3. skupiny vysoko preukazne menej ( $P < 0,01$ ) – len 61,01 ml mlieka. V tab. 5 dokumentujeme vplyv výživy ako celku na produkciu mlieka podľa plemien. V priemernej dennej produkcii mlieka za celé obdobie do odstavy jahniat neboli medzi bahnicami plemena C a ZV štatisticky preukazné rozdiely. Bahnice plemena C nadajili 1 419 ml mlieka a bahnice ZV 1 313 ml. Najväčší rozdiel bol pri prvom me-

raní, kedy bahnice C nadajili v priemere 2 146 ml mlieka a bahnice ZV preukazne menej – len 1 833 ml ( $P < 0,05$ ). Pri prvom meraní niektoré bahnice vyprodukovali okolo 2 500 ml denne a najlepšia bahnica plemena C až 2 880 ml mlieka v priemere.

Na produkciu mlieka bahnic má významný vplyv aj početnosť vrhu (tab. 5). V pokuse sme zistili veľmi vysoko preukazný ( $P < 0,001$ ) vplyv veľkosti vrhu bahnic na produkciu mlieka pri všetkých úrovniach výživy. Bahnice s jedným jahňatom do odstavy vyprodukovali v priemere denne 1 262 ml, bahnice s dvojčkami 1 526 ml, čo predstavuje rozdiel 21,0 %. Obdobné výsledky pri skúmaní vplyvu veľkosti vrhu na produkciu mlieka zistili vo svojich prácach aj Mikuš a Fřak (1985), Geenty (1979), Louda a Doney (1976), Doney *et al.* (1978), Doney (1982), Rhind *et al.* (1991) a Margetin *et al.* (1991), ktorí uvádzajú rozdiely od 15 do 40 %.

Záverom možno povedať, že v pokuse sa ako najlepšia ukázala 1. skupina s vyššou dávkou kŕmnej zmesi prvých 5 týždňov laktácie, potom 2. skupina, ktorá dostávala rovnakú dávku kŕmnej zmesi počas celého obdobia do odstavy, a ako najmenej vhodné sa ukázali nízke dávky kŕmnej zmesi počas prvých 5 týždňov laktácie v 3. skupine. Úroveň výživy mala vplyv nielen na produkciu mlieka, ktorá v prvých dvoch skupinách bola podobná a preukazne vyššia ako v tretej skupine, ale aj na zloženie mlieka. Pri prvých dvoch meraniach boli v obsahu sušiny a tuku medzi prvými dvoma skupinami a treťou skupinou štatisticky preukazné alebo vysoko preukazné rozdiely.

Po zvýšení prídavku kŕmnej zmesi stúpila produkcia sušiny, tuku a bielkovín mlieka aj v 3. skupine. Vplyv

výživy na základné zložky mlieka korešponduje s výsledkami prác autorov Penning *et al.* (1988) a Cowan *et al.* (1981). V pokuse sme nezistili vplyv veľkosti vrhu na základné zložky mlieka. Väčší rozdiel v obsahu laktózy pri jednom odbere bol pravdepodobne spôsobený zdravotným stavom vemena u bahnič s dvojičkami.

## LITERATÚRA

- Barillet F., Rousseley M. (1986): Amelioration genetique de la composition du lait de brebis. Stratégie raisonnée a l'échelle d'une population ovine. In: Journées de la Recherche Ovine et Caprine. Paris, France, INRA, 11: 316-341.
- Cowan R. T., Robinson J. J., McHattie I., Pennie K. (1981): Effect of protein concentration in the diet on milk yield, change in body composition and the efficiency of utilization of body tissues for milk production in ewes. *Anim. Prod.* 33: 111-120.
- Doney J. M. (1982): Inter-relations of milk and pasture in lamb growth systems. In: Sbor. věd. Konf. s mezinárodní účastí ke 30. výročí založení AV VŠZ v Praze: 251-265.
- Doney J. M., Louda F., Křížek J. (1978): Stanovení mléčné produkce ovcí plemene merino dvěma metodami měření. *Živoč. Vyr.*, 23: 909-914.
- Hall D. G., Holst P. J., Shutt D. A. (1992): The effect of nutritional supplements in late pregnancy colostrum production plasma progesterone and IGF-1. *Aust. J. Agr. Res.*, 43: 325-337.
- Geenty K. G. (1979): Lactation performance, growth and carcass composition of sheep. I. Milk production, milk composition, and live weights of Romney, Corriedale, Romney x Dorset and Dorset x Romney ewes in relation to the growth of their lambs. *New Zeal. J. Agr. Res.*, 22: 241-250.
- Louda F., Doney J. M. (1976): Persistency of lactation in the Improved Valachian breed of sheep. *J. Agr. Sci., Camb.*, 87: 455-457.
- Margetin M., Malík J., Čapistrák A. (1990): Reprodukčné parametre krížencov cigájskych oviec s 37,5% genetickým podielom východofrizského plemena. *Ved. Práce VÚO Trenčín*, 15: 25-33.
- Margetin M., Malík J., Apolen D., Čapistrák A. (1991): Vplyv rôznych činiteľov na zloženie a produkciu mlieka bahnič plemena cigája počas dojenej periódy. *Živoč. Vyr.*, 36: 805-816.
- Maria G., Gabina D. (1992): Simplification of milk recording scheme in Latxa milking sheep. *Livest. Prod. Sci.*, 31: 313-320.
- Martin J. H., Phillips C. J. C., Aloock M. B. (1991): Supplementary forage for grazing sheep. 1. Effects on lactating ewes and lambs. *Grass Forage Sci.*, 46: 209-215.
- McCance I. (1959): The determination of milk yield in the Merino ewe. *Aust. J. Agr. Res.*, 10: 839-853.
- Mavrogenis A. P., Papachristoforou C., Lysandrides P., Roushias A. (1988): Environmental and genetic factors affecting uddercharacters and milk production in Chios sheep. *Génét. Sél., Evol.*, 20: 477-488.
- Mikuš M., Ffak P. (1985): Dojnosť cigájok a jej dedivosť. *Vedec. Práce VÚO Trenčín*, 12, 1985: 89-97.
- Oddy V. H., Holst P. J. (1991): Maternal-foetal adaptation to pregnancy feed restriction in single-bearing ewes. *Aust. J. Agr. Res.*, 42: 969-978.
- Penning P. D., Orr R. J., Treacher T. T. (1988): Responses of lactating ewes, offered fresh herbage indoors and when grazing, to supplements containing differing protein concentrations. *Anim. Prod.*, 46: 403-415.
- Rhind S. M., Bass J., Doney J. M., Hunter E. A. (1991): Effect of litter size on milk production, blood metabolite profiles and endocrine status of ewes lambing in January and April. *Anim. Prod.*, 53: 71-80.
- Rossi G., Serra A., Pulina G., Cannas A., Brandano P. (1991): Lutilizzazione di un alimento inuco pellettato (Unipellet) nell'alimentazione delle pecore da latte. *Zootec. Nutr. Anim.*, 17: 23-24.
- Stopka V., Ochodnický D., Margetinová J., Swartvagherová K., Margetin M. (1996): Vplyv rôznej úrovne výživy na produkčné parametre oviec. *Živoč. Vyr.*, 43: 69-74.
- Vulich S. A., Oriordan E. G., Hanrahan J. P. (1991): Effect of litter size on herbage intake at pasture by ewes and their progeny. *Anim. Prod.*, 53: 191-197.

Došlo 28. 12. 1999

Prijaté k publikovaniu 20. 3. 2000

---

### Kontaktná adresa:

Ing. Ján Kica, PhD., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovska 2, 949 92 Nitra, Slovenská republika, tel.: + 421 87 65 46 358, fax: + 421 87 65 46 361, e-mail: slach@vuzv.sk

---

# KLASIFIKÁCIA ŠTRUKTÚRY JATOČNÉHO TEĽA BÝKOV A JALOVÍC V SYSTÉME EUROP

## CLASSIFICATION OF CARCASS STRUCTURE OF BULLS AND HEIFERS IN EUROP SYSTEM

J. Čuboň<sup>1</sup>, V. Nosál<sup>2</sup>, J. Mojto<sup>2</sup>, J. Huba<sup>2</sup>, J. Chudý<sup>1</sup>

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

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

**ABSTRACT:** Carcasses of 213 bulls and 70 heifers have been classified by EUROP system in this study. In the experiment bull carcasses of Slovak Pied (35), Improved Slovak Pied (55), Slovak Pied × Red Holstein (31), Pinzgau (34), crosses by Limousine (11), crosses by Blonde d'Aquitaine (10), crosses by Belgium Blue (26) and crosses by Piemontese (11) were analysed. In the heifer category carcasses of Slovak Pied (17), Improved Slovak Pied (14), Holstein Friesian (10), Pinzgau (12), crosses by Limousine (8) and crosses by Blonde d'Aquitaine (9) were studied. Carcasses were classified to conformation (E, U, R, O, P) and fat (1, 2, 3, 4, 5) classes after slaughter. Significant differences were found between proportions of meat in different conformation classes. The proportion of meat in heifer conformation was highest in E class 81.04% and gradually fell (U = 78.31%, R = 76.60%, O = 75.18% and P = 74.07%). The same tendency was in the bull category. Significant differences were found between proportions of separable fat in different fat classes, too. The proportion of separable fat was lowest in the 1st class (bulls 2.78%, heifers 2.61%) and gradually increased. The highest content of separable fat was in the 5th class (bulls 8.69%, heifers 11.99%). The proportion of kidney fat in carcass weight was analysed as a possible complementary parameter for fat classification. The proportion of kidney fat in different fat classes was of the same tendency as the separable fat, in bull category it was 1.11% in the 1st class and gradually increased to the 5th class (4.74%). Differences in kidney fat proportions between fat classes were also significant.

**Keywords:** beef; carcass composition; bull; heifer; EUROP conformation; EUROP fat

**ABSTRAKT:** Cieľom práce bolo zhodnotiť štruktúru jatočného teľa býkov a jalovic v jednotlivých triedach mäsitosti (E, U, R, O, P) a pretučnenia (1, 2, 3, 4, 5) klasifikovaných systémom EUROP. V práci sme vyhodnotili býky plemien slovenské strakaté (35), zošľachtené slovenské strakaté (55), pinzgauské (34), krížence slovenské strakaté × červenostrakaté holštajnské (31), krížence s plemenom limousine (11), krížence s plemenom blonde d'aquitaine (10), krížence s plemenom belgické modré (26) a krížence s plemenom piemontese (11) a jatočné teľa jalovic týchto genotypov: slovenské strakaté (17), zošľachtené slovenské strakaté (14), holštajnsko-frízske (10), pinzgauské (12), krížanky s plemenom limousine (8), krížanky s plemenom blonde d'aquitaine (9). Do 30 minút po zabití boli jatočné teľa klasifikované a zaradené do tried podľa mäsitosti a pretučnenia. Technologickou rozrábkou sme zistili podiel tkanív v jatočnom tele. Zistili sme štatisticky preukazné rozdiely v podiele mäsa medzi triedami mäsitosti u oboch kategórií. V kategórii jalovic bolo najviac mäsa (81,04 %) v triede E a jeho podiel postupne klesal: U = 78,31 %, R = 76,60 %, O = 75,18 % a P = 74,07 %. Analýzou tried pretučnenia sme zistili najnižší podiel oddeliteľného loja v 1. triede u jalovic 2,61 %, u býkov 2,78 % a postupne sa zvyšoval – v 5. triede u jalovic 11,99 % a u býkov 8,96 %. Pre posúdenie pretučnenia jatočného teľa sme vyhodnotili aj podiel obličkového loja z hmotnosti jatočného teľa. Podiel obličkového loja bol najnižší v 1. triede (býky 1,11 %) a postupne sa preukazne zvyšoval – v 2. triede na 2,07 %, v 3. triede na 2,56 %, v 4. triede na 3,23 % a v 5. triede na 4,74 %. Zhodná tendencia bola aj v kategórii jalovic.

**KLúčové slová:** hovädzí dobytok; štruktúra jatočného teľa; býk; jalovica; klasifikácia EUROP

### ÚVOD

Snaha o objektívnejšie hodnotenie jatočného teľa hovädzieho dobytku viedla postupne k prijatiu jednotného európskeho klasifikačného systému. Jednotný EUROP systém klasifikácie jatočného hovädzieho dobytku bol v bývalej ČSSR prepracovaný v jeho základnej forme. To znamená, že pozostáva len zo základných tried mäsitosti

vyjadrených E, U, R, O, P a pretučnenia 1, 2, 3, 4, 5 bez podtried. Jednotný EUROP systém klasifikácie jatočného hovädzieho dobytku je síce stále založený na subjektívnom posudzovaní, ale celý rad presne definovaných hodnotiacich znakov umožňuje objektívnejšie diferencovať rozdiely v osvalení a pretučnení jatočného teľa. Kögel *et al.* (1995) vyjadрили EUROP číslami 5 až 1 a zistili priemernú hodnotu mäsnosti býkov plemena

fleckvieh 3,34, blonde d'aquitaine 3,97, charolaise 4,15 a limousine 3,97. Napriek skutočnosti, že v súčasnosti jalovice predstavujú pomerne malý podiel z jatočného hovädzieho dobytky, v budúcnosti sa predpokladá zvýšenie ich počtu hlavne zo stád mäsového hovädzieho dobytky. Všeobecne môžeme konštatovať, že jalovice majú oproti býkom nižšiu úžitkovosť, ale ich mäso je jemnejšie a chutnejšie (Lazarevič, 1988; Ďurečko *et al.*, 1996; Bozó *et al.*, 1992; Gyorkos *et al.*, 1995; Šubrt, 1994).

V poslednom období sa začínajú výraznejšie využívať hlavne európske mäsové plemená. Krížanky po býkoch mäsových plemien ako aj jalovice mäsových plemien sú vo väčšej miere intenzívne vykrmované (Golda, Ponížil, 1997). Jalovice vykrmované do hmotnosti 400 až 450 kg majú intenzitu rastu len o málo nižšiu ako býky a kvalita ich mäsa je veľmi dobrá. Pri výkrme do vyšších porážkových hmotností však už dochádza k nežiadúcemu ukladaniu tuku (Zahrádková, 1997).

Intenzita rastu je do značnej miery ovplyvnená geneticky. Vyššie denné prírastky dosahujú zvieratá mäsových plemien s veľkým telesným rámcom (charolaise, chianino, ako so stredným, resp. malým telesným rámcom maine) anjous, limousine, hereford (Golda, Ponížil, 1997; Vavrišinová *et al.*, 1999). Intenzitu rastu okrem zisťovania hmotnosti môžeme sledovať aj nepriamo pomocou telesných mier. Huba *et al.* (1997) na základe sledovania telesných mier zistili vysokú intenzitu rastu u jalovic plemien slovenské strakaté a braunvieh.

Najväčšiu časť jatočného hovädzieho dobytky predstavujú býky. V porovnaní s jalovicami majú vyššiu intenzitu rastu. Plemená simentálskeho pôvodu chované v ČR a SR majú dobrú intenzitu rastu a kvalitu mäsa, ale pre zlepšenie úžitkovosti a hlavne kvality mäsa sa využíva úžitkové kríženie s mäsovými plemenami. Šubrt *et al.* (1999) zistili najvyššiu intenzitu rastu u býkov-krížencov českého strakatého dobytky s plemenom blonde d'aquitaine (1 150 g) a nepatrne nižšiu (1 139 g) u krížencov s plemenom charolaise.

Štruktúra jatočného tela je veľmi zaujímavý ukazovateľ hlavne z pohľadu ekonomiky mäso priemyslu. Zastúpenie jednotlivých tkanív v jatočnom tele má vzťah jednak ku genotypu, ale aj k výžive a tiež porážkovej hmotnosti. Ponížil (1993) zistil, že krížence čiernostrakatého plemena s plemenom limousine mali vyšší podiel mäsa (80,95 %) ako býky čiernostrakatého plemena (79,13 %). Voříšková *et al.* (1998) uvádzajú vyšší podiel mäsa (77,74 %) u krížencov českého strakatého plemena s plemenom blonde d'aquitaine ako u krížencov s plemenom limousine (76,96 %). Taktiež Nosál *et al.* (1996) uvádzajú priaznivý vplyv úžitkového kríženia s mäsovými plemenami. Avšak na rozdiel od predchádzajúcich autorov zistili vyšší podiel mäsa (80,72 %) u krížencov slovenského strakatého dobytky s plemenom limousine oproti krížencom s plemenom blonde d'aquitaine (79,39 %). Bartoň *et al.* (1998) uvádzajú u krížencov po býkoch plemena belgické modré pri porážkovej hmotnosti 580,9 kg podiel mäsa 82,2 % a súčasne nízky podiel tuku v jatočnom tele 1,1 %. Porovnaním štruktúry jatoč-

ného tela býkov zistili Čuboň *et al.* (1996) takmer rovnaký podiel mäsa u zošľachteného slovenského strakatého a zošľachteného pinzgauského plemena, avšak v jatočnom tele holštajnsko-frízskych býkov uvádzajú o 1,19 % menej mäsa.

Cieľom práce bolo oklasifikovať mäsitosť a pretučnenie jatočných tiel hovädzieho dobytky systémom EUROP a následne technologickou rozrábkou stanoviť podiel tkanív v jatočnom tele.

## MATERIÁL A METÓDA

Jatočný hovädzí dobytok bol zabíjaný na experimentálnom bitúnku VÚŽV v Nitre a vybraných bitúnoch SR. V zmysle novelizovanej STN 46 6120 „Jatočný hovädzí dobytok“, kompatibilnej s EUROP normou, sme oklasifikovali 213 býkov a 70 jalovic. Pokusný súbor tvorilo 35 býkov slovenského strakatého plemena, 55 býkov zošľachteného slovenského strakatého plemena, 31 krížencov plemien slovenské strakaté × červenostrakaté holštajnsko-frízske, 11 krížencov slovenského strakatého plemena s limousinským plemenom, 10 krížencov slovenského strakatého dobytky s plemenom blonde d'aquitaine, 34 býkov pinzgauského plemena, 26 krížencov slovenského strakatého plemena s belgickým modrým dobytkom a 11 krížencov slovenského strakatého plemena s plemenom piemontese. Pokusný súbor 70 jalovic tvorilo 17 jalovic slovenského strakatého dobytky, 14 jalovic zošľachteného slovenského strakatého dobytky, 10 jalovic holštajnsko-frízskeho plemena, 8 kríženiek zošľachteného slovenského strakatého s limousinským plemenom, 9 kríženiek zošľachteného slovenského strakatého dobytky po býkoch plemena blonde d'aquitaine a 12 jalovic pinzgauského plemena. Jatočné telá jalovic a býkov sme ihneď po opracovaní oklasifikovali triedami mäsitosti E, U, R, O, P a triedami pretučnenia 1, 2, 3, 4, 5. Za účelom analýzy štruktúry jatočného tela v triedach E a U sme do sledovania zaradili aj krížence po býkoch mäsových plemien.

Pri zabíjaní sme sledovali hmotnosť jatočného tela v teplom stave (do 30 minút po zabíjaní). Po 24hodinovom chladení sme disekciou pravej jatočnej polovičky zisťovali podiel mäsa, kostí a oddeliteľného loja.

Získané údaje sme spracovali variačno-štatisticky pomocou programu STATGRAPHICS. Rozdiely medzi triedami sme testovali *F*-testom a *LSD*-testom.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Na základe analýzy pokusného súboru môžeme konštatovať, že najlepšiu mäsitosť mali krížence po býkoch mäsových plemien. Keď sme triedy mäsitosti E, U, R, O, P vyjadřili číslami 5, 4, 3, 2, 1, v kategórii býkov sme zistili najvyššiu priemernú mäsitosť u krížencov po býkoch plemena limousine (4,36) a takmer rovnakú (4,30) u krížencov po býkoch plemena blonde d'aquitaine.

V triedach mäsitosti E, P a v triedach pretučnenia 1, 5 bol nízky počet jatočných tiel, avšak získané údaje sme spracovali, aj keď ich výpovedná hodnota je len orientačná. V porovnaní s našimi výsledkami uvádzajú Kögel *et al.* (1995) za EUROP triedu mäsitosti u krížencov fleckviev × limousine a fleckviev × blonde d'aquitaine zhodne 3,97.

Menej priaznivé osvalenie vyjadrené priemernou triedou mäsitosti mali krížence po býkoch plemien belgické modré (3,46) a piemontese (3,36) oproti býkom slovenského strakatého plemena (3,57). Horšie hodnotenie mäsitosti krížencov po býkoch plemien piemontese a belgické modré by bolo možné vysvetliť skutočnosťou, že uvedené plemená dosahujú jatočnú zrelosť pri vyššej porážkovej hmotnosti.

Túto skutočnosť potvrdzujú aj výsledky autorov Vavrišinová *et al.* (1999), ktorí uvádzajú priaznivú štruktúru jatočného tela býkov plemena charolaise pri porážkovej hmotnosti 690 kg.

V porovnaní s našimi výsledkami uvádzajú Pullar *et al.* (1999) u krížencov limousine × (hereford × friesland) nižšiu triedu mäsitosti R, čo v číselnom vyjadrení je trieda 3.

Na základe výsledkov klasifikácie sledovaného súboru býkov (tab. 1) sme zistili priemernú triedu 3,4, čo poukazuje na priemerné zatriedenie medzi triedou U a R. Menej priaznivé zaradenie (2,95) uvádzajú Kögel *et al.* (1995). Taktiež sme zistili priaznivejšie priemerné zatriedenie pretučnenia 2,81 oproti výsledkom autorov Kögel *et al.* (1995) 2,95. Na rozdiel od našich výsledkov uvádzajú Pullar *et al.* (1999) u býkov krížencov (hereford × frízsky dobytok) × limousine priemernú triedu mäsitosti R a triedu pretučnenia 4L. Vysoké pretučnenie jatočného tela býkov však súvisí s požiadavkou anglického konzumenta na vyšší podiel intramuskulárneho tuku. Naopak Golda *et al.* (1999) konštatujú, že vyššia tvorba povrchového a medzivalového tuku je nežiaduca, pretože pri konečnej úprave je väčší odpad oddeliteľného tuku a pre českého konzumenta sa stáva takéto mäso cenovo nezáujímavé. V kategórii jalovic (tab. 1) sme zistili, že požia-

Tab. 1. Zastúpenie jatočných tiel v jednotlivých triedach mäsitosti a pretučnenia – Proportion of carcasses in conformation and fat classes

Ukazovateľ <sup>1</sup>		Býky <sup>4</sup>		Jalovice <sup>5</sup>	
		n	%	n	%
Trieda mäsitosti <sup>2</sup>	E	14	6,57	2	2,86
	U	84	39,44	15	21,43
	R	88	41,31	34	48,57
	O	27	12,68	17	24,28
	P	0	0	2	2,86
Trieda pretučnenia <sup>3</sup>	1	10	4,69	2	2,86
	2	65	30,52	25	35,71
	3	93	43,66	28	40,00
	4	44	20,66	10	14,29
	5	1	0,47	5	7,14

<sup>1</sup>parameter, <sup>2</sup>EUROP conformation, <sup>3</sup>EUROP fat, <sup>4</sup>bulls, <sup>5</sup>heifers

dvakrát triedy E mäsitosti vyhovovalo 2,86 % zvierat. Do triedy U bolo zaradených 21,43 %, R 48,57 %, O 24,28 % a P 2,86 % jatočných jalovic. Na rozdiel od našich výsledkov Golda a Ponížil (1997) nezistili v triede E žiadnu jalovicu a v triede U uvádzajú o 10,43 % menej jatočných tiel. Na rozdiel od uvedených autorov sme však zámerne za účelom zistenia štruktúry jatočného tela v triedach E a U mäsitosti vyhodnotili krížence po býkoch mäsových plemien z intenzívneho výkrmu. Pre účely vyhodnotenia priemernej triedy mäsitosti sme triedy E, U, R, O, P vyjadřili 5, 4, 3, 2, 1. Priemerná trieda mäsitosti jatočných jalovic bola 2,95. Na základe analýzy údajov v tab. 2 môžeme konštatovať, že pri rozdelení jatočných tiel jalovic podľa tried mäsitosti sme nezistili preukazné rozdiely. V kategórii býkov však v triede E mali jatočné telá najvyššiu hmotnosť 322,60 kg a boli vysoko preukazne ťažšie ako v triedach R (286,61 kg) a O (274,09 kg). U pretučnenia (tab. 3) sme zistili, že so zvyšujúcou sa triedou pretučne-

Tab. 2. Hmotnosť jatočného tela a podiel obličkového loja podľa tried mäsitosti – Carcass weight and kidney fat by conformation grading

Ukazovateľ <sup>1</sup>		Býky <sup>4</sup>						Jalovice <sup>5</sup>					
		jatočné telo <sup>6</sup>		obličkový loj <sup>7</sup>				jatočné telo <sup>6</sup>		obličkový loj <sup>7</sup>			
		kg		kg		%		kg		kg		%	
		$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$	$\bar{x}$	$s_x$
Trieda mäsitosti <sup>2</sup>	E	322,60	10,66	8,26	1,09	2,57	0,32	252,50	19,64	6,50	3,14	2,53	1,45
	U	311,25	6,65	8,32	0,72	2,66	0,21	224,85	7,42	8,05	1,14	3,58	0,53
	R	286,61	7,03	8,56	0,76	2,88	0,22	216,56	5,07	11,04	0,76	4,97	0,35
	O	274,09	8,51	8,01	0,92	2,86	0,27	232,12	6,94	12,44	1,07	4,51	0,49
	P	–	–	–	–	–	–	221,00	19,64	8,05	3,14	2,96	1,45
Významnosť rozdielov <sup>3</sup>		E : R <sup>++</sup> E : O <sup>++</sup> U : R <sup>++</sup> U : O <sup>++</sup>							U : R <sup>+</sup> U : O <sup>++</sup>				

<sup>+</sup> nepreukazný rozdiel – no significant difference; <sup>+</sup>P < 0.05; <sup>++</sup>P < 0.01

<sup>1</sup>parameter, <sup>2</sup>EUROP conformation, <sup>3</sup>significance of differences, <sup>4</sup>bulls, <sup>5</sup>heifers, <sup>6</sup>carcass weight, <sup>7</sup>kidney fat

Tab. 3. Hmotnosť jatočného tela a podiel obličkového loja podľa tried pretučnenia – Carcass weight and kidney fat by fat grading

Ukazovateľ <sup>1</sup>		Býky <sup>4</sup>						Jalovice <sup>5</sup>					
		jatočné telo <sup>6</sup>		obličkový loj <sup>7</sup>				jatočné telo <sup>6</sup>		obličkový loj <sup>7</sup>			
		kg		kg		%		kg		kg		%	
		$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Trieda pretučnenia <sup>2</sup>	1	275,91	9,52	2,96	1,03	1,11	0,30	225,00	20,45	7,00	2,38	2,72	0,82
	2	299,61	3,87	6,21	0,42	2,07	0,12	220,68	5,78	8,26	0,67	2,99	0,23
	3	307,37	3,84	7,83	0,41	2,56	0,12	224,10	5,46	9,82	0,63	4,22	0,22
	4	311,91	4,98	9,99	0,54	3,23	0,16	216,70	9,14	14,10	1,06	6,61	0,36
	5	298,38	0,00	14,46	0,00	4,74	0,00	220,20	12,93	20,08	1,50	9,17	0,52
Významnosť rozdielov <sup>3</sup>		1 : 2*, 1 : 3** 1 : 4**, 2 : 4*		1 : 2**, 1 : 3** 1 : 4**, 1 : 5** 2 : 3**, 2 : 4** 2 : 5**, 3 : 4**		1 : 2** 1 : 3** 1 : 4** 1 : 5** 2 : 3** 2 : 4** 2 : 5** 3 : 4**		-		1 : 4** 1 : 5** 2 : 4** 2 : 5** 3 : 4**		1 : 4** 1 : 5** 2 : 3** 2 : 4** 3 : 5** 3 : 4**	

\* nepreukazný rozdiel – no significant difference; \*P < 0.05; \*\*P < 0.01

<sup>1</sup>parameter, <sup>2</sup>EUROP fat, <sup>3</sup>significance of differences, <sup>4</sup>bulls, <sup>5</sup>heifers, <sup>6</sup>carcass weight, <sup>7</sup>kidney fat

nia sa zvyšuje aj podiel obličkového loja. Hlavne v kategórii býkov sme zistili štatisticky vysoko preukazné rozdiely v podiele obličkového loja takmer medzi všetkými triedami pretučnenia. V kategórii jalovic má podiel obličkového loja síce zhodnú tendenciu, ale v jednotlivých triedach sa štatisticky neprejavil, pravdepodobne pre nižší počet zvierat. Podiel jednotlivých tkanív v jatočnej polovičke býkov uvádzame v tab. 4. Medzi jednotlivými triedami mäsitosti sme zistili štatisticky preukazné rozdiely v podiele mäsa z jatočnej polovičky. Štatisticky preukazne najvyšší podiel mäsa (78,75 %) sme zistili v triede mäsnosti E a súčasne sa v tejto triede potvrdil aj preukazne najnižší podiel oddeliteľného loja.

V kategórii jalovic (tab. 4) sme v triede E zistili najvyšší podiel mäsa (81,04 %) a súčasne najnižší podiel loja

(4,18 %). S klesajúcou triedou mäsitosti sa postupne znižoval podiel mäsa a naopak zvyšoval podiel loja, avšak preukazné rozdiely sme nezistili. Zistili sme však štatisticky preukazné rozdiely v podiele kostí z jatočnej polovičky, čo však skôr môžeme dávať do vzťahu s plemenou príslušnosťou. Je všeobecne známe, že hlavne jalovice plemena limousine a ich krížanky sa vyznačujú jemnejšou kosťou a teda aj nižším podielom kostí. Sledovanie štruktúry jatočnej polovičky býkov v jednotlivých triedach pretučnenia (tab. 5) poukazuje na vysoko preukazne najnižší podiel oddeliteľného loja (2,78 %) v 1. triede pretučnenia, ktorý sa postupne zvyšoval v 2. triede na 4,56 %, v 3. triede na 6,96 %, v 4. triede na 8,14 % a v 5. triede na 8,96 %. Zhodne aj v kategórii jalovic (tab. 5) sme zistili preukazne najnižší podiel oddeliteľného loja v 1. triede

Tab. 4. Technologická rozrábka jatočnej polovičky (%) podľa tried mäsitosti – Technological analysis of carcass sides (%) by conformation grading

Ukazovateľ <sup>1</sup>		Býky <sup>4</sup>						Jalovice <sup>5</sup>					
		mäso <sup>6</sup>		kosti <sup>7</sup>		oddeliteľný loj <sup>8</sup>		mäso <sup>6</sup>		kosti <sup>7</sup>		oddeliteľný loj <sup>8</sup>	
		$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Trieda mäsitosti <sup>2</sup>	E	78,75	0,68	15,97	0,53	5,27	0,65	81,04	1,20	14,77	1,55	4,18	1,76
	U	77,57	0,45	16,36	0,35	6,07	0,43	78,31	0,44	15,26	0,56	6,34	0,62
	R	75,97	0,47	17,35	0,37	6,66	0,45	76,60	0,29	16,22	0,37	7,17	0,42
	O	74,50	0,57	18,35	0,45	7,13	0,55	75,18	0,41	17,32	0,53	7,41	0,60
	P	-	-	-	-	-	-	74,07	1,20	18,63	1,55	7,29	1,76
Významnosť rozdielov <sup>3</sup>		E : U*, E : R** E : O** U : R** U : O** R : O**		E : R** E : O** U : R** U : O** R : O**		E : R* E : O** U : O*		E : U* E : R** E : O** E : P** U : R** O : U** U : P** O : R** R : P*		-		-	

\* nepreukazný rozdiel – no significant difference; \*P < 0.05; \*\*P < 0.01

<sup>4</sup>bulls, <sup>5</sup>heifers, <sup>6</sup>meat, <sup>7</sup>bones, <sup>8</sup>separable fat

Tab. 5. Technologická rozrábka jatočnej polovičky (%) podľa tried pretučnenia – Technological analysis of carcass sides (%) by fat grading

Ukazovateľ <sup>1</sup>		Býky <sup>4</sup>						Jalovcie <sup>5</sup>					
		mäso <sup>6</sup>		kosti <sup>7</sup>		oddeliteľný loj <sup>8</sup>		mäso <sup>6</sup>		kosti <sup>7</sup>		oddeliteľný loj <sup>8</sup>	
		$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Trieda pretučnenia <sup>2</sup>	1	78,63	0,63	18,56	0,50	2,78	0,61	81,14	1,37	16,24	1,35	2,61	1,12
	2	77,62	0,26	17,80	0,20	4,56	0,25	76,73	0,38	17,76	0,38	5,37	0,31
	3	76,12	0,26	16,90	0,20	6,96	0,24	77,03	0,36	15,82	0,36	7,13	0,29
	4	76,14	0,33	15,70	0,26	8,14	0,32	75,68	0,61	15,22	0,60	9,07	0,50
	5	74,95	0,00	16,08	0,00	8,96	0,00	74,60	0,86	13,40	0,85	11,99	0,70
Významnosť rozdielov <sup>3</sup>		1 : 3**		1 : 3**		1 : 2**, 1 : 3**		1 : 2**, 1 : 3**		2 : 3**		1 : 2*, 1 : 3**	
		1 : 4**		1 : 4**		1 : 4**, 1 : 5**		1 : 4**, 1 : 5**		2 : 4**		1 : 4**, 1 : 5**	
		2 : 3**		2 : 3**		2 : 3**, 2 : 4**		2 : 5**		2 : 5**		2 : 3**, 2 : 4**	
		2 : 4**		2 : 4**		2 : 5**, 3 : 4**						2 : 5**, 3 : 4**	

<sup>1</sup> nepreukazný rozdiel – no significant difference; \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$

<sup>2</sup> parameter, <sup>3</sup> EUROP conformation, <sup>4</sup> significance of differences, <sup>5</sup> bulls, <sup>6</sup> heifers, <sup>7</sup> meat, <sup>8</sup> bones, <sup>9</sup> separable fat

(2,61 %). So zvyšujúcou sa triedou sa postupne podiel oddeliteľného loja zvyšoval. Súčasne môžeme konštatovať, že aj podiel mäsa klesal s triedou pretučnenia z 81,14 % v 1. triede na 74,60 % v 5. triede.

Na základe uvedenej analýzy môžeme konštatovať, že jednotný EUROP systém klasifikácie jatočného hovädzieho dobytku umožňuje pomerne presne odhadnúť zastúpenie mäsa triedami mäsitosti a podiel oddeliteľného tuku triedami pretučnenia. Pomerne presný odhad mäsitosti a pretučnenia potvrdili aj štatisticky prekazné rozdiely medzi jednotlivými triedami. Vzhľadom na skutočnosť, že hmotnosť obličkového loja je ľahko stanoviteľná, v práci sme vyhodnotili aj jeho podiel z hmotnosti jatočného tela. Uvedený ukazovateľ má zhodnú tendenciu ako podiel oddeliteľného loja z jatočnej polovičky, ktorý sa však stanovuje veľmi pracne. Z tohto dôvodu by bolo vhodné zaradiť podiel obličkového loja z jatočného tela ako doplnujúci ukazovateľ pretučnenia jatočného tela v systéme klasifikácie EUROP.

## LITERATÚRA

Bartoň L., Teslík V., Herrmann M., Zahrádková R. (1998): Porovnaní masné užitkovosti kříženců po otcích plemen charolais a belgické modrobílé a býků českého strakatého skotu. *Czech J. Anim. Sci.*, 43: 237–343.

Bozó S., Sardi J., Kollár N., Rada N., Volgyi K., Csík J. (1992): Az ivar, a típus és ahasított test tomegeinek hatása a vágómarhág kereskedelmi bontás szerinti reszeinek össze-tételere. *Allattenyésztés takarm.*, 41: 495–510.

Čuboň J., Nosál V., Mojto J., Zaujec K., Pavlič M. (1996): Možnosti predikcie štruktúry jatočného tela hovädzieho dobytku. *Poľnohospodárstvo*, 42: 285–295.

Đurečko J., Zimmermann V., Pavlič M. (1996): Jatočná hodnota a kvalita mäsa křížencov F<sub>1</sub> generácie plemena limousine s kravami mliekového typu. *Acta zootecnica LII*, Univerzitatís agriculturæ, Nitra, Slovakia, 11–19.

Golda J., Ponížil A. (1997): Výkrmová schopnosť a jatečná hodnota jalovic po otcích masných plemen. *Výzk. Chovu Skotu*, 39 (4): 1–11.

Golda J., Vrchlabský J., Župa Z. (1999): Klasifikace jatečných těl skotu a ovcí podle systému SEUROP. *Výzk. Chovu Skotu*, 41 (2): 7–12.

Gyorkos I., Bozó S., Sádri J., Kollár N., Rada K., Volgyi K., Csík J. (1995): Effect of sex, type and quantity of bony meat on carcass composition of slaughter cattle according to commercial dissection. In: 2nd Dummerstorf Muscle-Workshop, Muscle Growth and Meat Quality, Rostock: 219.

Huba J., Chrenek J., Kmeť J. (1997): Porovnanie telesných rozmerov a rozmerov vemena jalovic plemena braunvich so slovenským strakatým a slovenským pinzgaušským plemenom. *Poľnohospodárstvo*, 43: 109–116.

Kögel J., Pick M., Spann B., Obermaier A. (1995): Slaughter value of bulls "French Beef breeds × Fleckvieh". In: 2nd Dummerstorf Muscle-Workshop, Muscle Growth and Meat Quality, Rostock: 223.

Lazarevic R. (1988): Francuske tovine rase za poboljšanje mesa domaceg šarenog govečeta. *Ekonom. Poljopriv.*, Geograd.

Nosál V., Čuboň J., Zaujec K., Mojto J., Pavlič M. (1996): Tvorba tuku a štruktúra jatočného tela býkov rôznych genotypov. *J. Farm. Anim. Sci.*, VÚŽV Nitra, XXIX: 117–122.

Pullar D., Marsh S. P., Parker J. (1999): An evaluation of protein supplements and yeast culture with cereal fet beef bulls. In: *Proc. British Soc. Animal Sci.*: 56.

Ponížil A. (1993): Kvalita jatečného těla býků kříženců s limousinským plemenem. *Výzk. Chovu Skotu*, 35: 1–7.

Šubrt J. (1994): Vliv užitkového křížení s masnými plemeny na skladbu jatečného těla býků a jalovic. *Živoč. Vyr.*, 39: 321–330.

Šubrt J., Frelich J., Polách P., Vofířková J. (1999): Analýza kvality jatečného těla synů plemenných býků masných plemen. *Czech J. Anim. Sci.*, 44: 39–48.

- Vavrišinová K., Zimmermann V., Debreceni O. (1999): Fattening and Carcass Intexes in the Charolais Breed. In: 49th Annual Meet. EAAP Book of Abstr. No. 4, Warsaw: 200.
- Voříšková J., Frelich J., Přibil J. (1998): Jatečná hodnota byků českého strakatého a černostrakatého skotu s masnými plemeny. *Czech J. Anim. Sci.*, 43: 77–86.
- Zahrádková R. (1997): Masná užitkovost jalovic kříženek s plemenem hereford, limousin a belgické modré ve srovnání s plemenem české strakaté. In: Zbor. Ref. Konf. s mezinárodní účastí pri poriadanej pri príležitosti 50. výročia založenia ústavu, I. časť, VÚŽV Nitra: 223–226.

Došlo 8. 11. 1999

Prijaté k publikovaniu 20. 3. 2000

---

*Kontaktná adresa:*

Ing. Juraj Č u b o ň , CSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Agronomická fakulta, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, tel.: + 421 87 65 46 386, fax: + 421 87 65 46 361, e-mail: cubon@afnet.uniag.cz

---

### **Změna publikačního jazyka ve vědeckých časopisech ČAZV**

Předsednictvo České akademie zemědělských věd přijalo na zasedání dne 6. 4. 2000 usnesení, kde mj. doporučuje změnu publikačního jazyka ve vědeckých časopisech vydávaných pod gesci ČAZV. Předsednictvo navrhuje Vydavatelské radě ČAZV zavést angličtinu jako jediný jazyk ve všech vědeckých časopisech od 1. 1. 2001.

Redakční rada časopisu *Czech Journal of Animal Science* tento návrh přijala. Od 1. 7. 2000 redakce přijímá příspěvky psané pouze v angličtině. Příspěvky přijaté do tohoto termínu budou ještě uveřejněny v češtině a slovenštině.



### **A change of publication language in Scientific Journals of the Czech Academy of Agricultural Sciences**

At its session on the 6<sup>th</sup> April 2000, the Presidium of the Czech Academy of Agricultural Sciences adopted a resolution recommending, among other things, to change the publication language in scientific journals published under the Academy patronage. The Presidium proposes to the Publishing Board of the Academy to introduce English as the only language in all scientific journals from the 1<sup>st</sup> January 2001.

The Board of Editors of the *Czech Journal of Animal Science* accepted this proposal. So papers written exclusively in English are accepted by the editor's office from the 1<sup>st</sup> July 2000. The papers that were accepted before this date will be published in Czech and Slovak.

# VÝSKYT A IDENTIFIKACE PSYCHROTROFNÍCH BAKTERIÍ S PROTEOLYTICKOU A LIPOLYTICKOU AKTIVITOU V BAZÉNOVÝCH VZORCÍCH MLÉKA V PODMÍNKÁCH TECHNOLOGIÍ PRVOVÝROBNÍHO USKLADNĚNÍ

## THE OCCURRENCE AND IDENTIFICATION OF PSYCHROTROPHIC BACTERIA WITH PROTEOLYTIC AND LIPOLYTIC ACTIVITY IN BULK MILK SAMPLES AT STORAGE IN PRIMARY PRODUCTION CONDITIONS

M. Vyletělová<sup>1</sup>, O. Hanuš<sup>1</sup>, E. Urbanová<sup>2</sup>, P. Kopunec<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Cattle Breeding, Rapotín, Czech Republic

<sup>2</sup> Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>3</sup> Central Laboratory, Pardubice, Czech Republic

**ABSTRACT:** Frequency and identification of proteolytic and lipolytic psychrotrophic microorganisms in raw milk samples and their relations to the total counts of psychrotrophic bacteria and mesophilic bacteria were the principal objectives of the study. Two sample sets (from the transport zones in central and northern Moravia) were analyzed (Table 1 and 3). Samples (30 ml volume) were taken into sterile sampling tubes with Heesch agent (10:1 ratio). GTK agar (Milcom Tábor) enriched with dried milk (IDF standard) was used for cultivation of psychrotrophic and mesophilic bacteria. Samples were cultivated at 6.5 °C for 10 days (CPP) and at 30 °C for 3 days (CPM). Samples were diluted in a sterile saline. Growth amounting to 20–200 CFU per ml was recorded. Milk agar (OXOID) was used for cultivation of proteolytic psychrotrophic microorganisms. Tributyrin agar (OXOID) was applied in the case of lipolytic bacteria cultivation. Samples were cultivated at 6.5 °C for 10 days. Colonies characterized by a clear (evident) lytic zone were recorded and sent to the Czech Collection of Microorganisms (Brno). Routine and specific tests (Lachema Brno) were used for detailed analysis and identification. In both cases, the highest frequency was recorded in *Pseudomonas* bacteria (53% and 76%; Table 2). Ability to form enzymes was mentioned in all identified bacterial strains. Combined formation of both lytic enzymes was found in 49 strains of 79 grown isolates (62%); 21 of them were identified as *Pseudomonas fluorescens* (43%). Linear regression was used for statistical analysis. Regression equation  $y = 0.63x + 0.34$  (Fig. 1) for PPM (proteolytic psychrotrophic microorganisms) and CPP (total count of psychrotrophic microorganisms) resulted from this analysis. Correlation coefficient ( $r$ ) for both studied types of microorganisms amounted to  $r = 0.51$ . The relative index (PPM/CPP) from individual measurements was  $p_i = 0.41$  (Table 1). Regression equation  $y = 0.80x - 1.08$  (Fig. 2) illustrates results of statistical analysis of the CPM/PPM relation. The corresponding values of the correlation coefficient and the relative index amounted to  $r = 0.35$  and to  $p_i = 0.05$ , respectively (Table 1). Regression equation  $y = 1.02x - 1.86$  (Fig. 3) illustrates results of statistical analysis of PLM (psychrotrophic lipolytic microorganisms) and CPP. The correlation coefficient and the relative index (PLM/CPP) in this case are  $r = 0.55$  and  $p_i = 0.06$  (Table 3). Equation  $y = 0.94x - 1.95$  (Fig. 4) resulted from statistical analysis of CPM/PLM relation –  $r = 0.44$  and  $p_i = 0.03$  are the corresponding values of the correlation coefficient and the relative index (Table 3). Some results were similar – they were confronted with values of the preceding sets (Table 4). Correlation coefficients  $\log \text{CPP} \times \log \text{PPM}$  and  $\log \text{CPP} \times \log \text{PLM}$  are evidently higher than coefficients  $\log \text{CPM} \times \log \text{PPM}$  and  $\log \text{CPM} \times \log \text{PLM}$  ( $r = 0.51$  and  $0.55 > 0.35$  and  $0.44$ ); they illustrate closer relations of PPM and PLM to the physiologic and technologic microbial group CPP. Growth pattern of individual microorganism groups (CPM, CPP, PPM and PLM) was monitored in three bulk milk samples at time intervals until 96 h. Results are presented as mean logarithms of values determined in three different milk samples (Figs. 5–8; Table 5). Significant changes were recorded after 61 h (at 4 °C), 41 h (6.5 °C) and after 17 h (10 °C) – Fig. 6. It is evident (Tables 5 and 6) that psychrotrophic microorganisms formed 99–100% of the total bacterial microflora in milk after 48 h (6.5 °C) and after 24 h (10 °C). After 96 h, the proportion of psychrotrophic proteolytic bacteria in the total (mesophilic and psychrotrophic) microflora amounted up to 100% (Table 6). Counts of lipolytic psychrotrophic microorganisms were variable – they varied from 50 to 97% of the total CPP (Table 6). In our study counts of proteolytic and lipolytic microorganisms amounted up to 100 % of total psychrotrophic (or mesophilic) microorganisms, therefore they

Řešeno pomocí výzkumného úkolu MZe ČR, ev. č. EP 7154, Národní agentura pro zemědělský výzkum.

should be regarded as the "key" bacterial groups presenting the highest risk as related to qualitative parameters of milk (sensory and technological parameters). According to bibliographic references, negative impacts of thermostable lytic enzymes on principal milk constituents are associated with adequate concentration levels (CPP:  $10^5$ – $10^6$  CFU per ml) – Fig. 6. PPM and PLM concentrations are indicated in Figs. 7 and 8. In general, CPP concentration initiating eventual technological problems ( $10^5$  CFU per ml) corresponds to the geometric means for PPM (at storage temperatures 4 °C, 6.5 °C, 10 °C) amounting to 20, 60, and 34 thousand CFU per ml, respectively and to the means for PLM amounting to 32, 79, and 35 thousand CFU per ml, respectively (Table 7, Figs. 6–8). PPM and CPM frequencies in individual months were studied in a large set of microbiologic data (Fig. 9, Table 8). The highest CPM values were found in March, July, August (41 ths., 39 ths., 39 ths. CFU per ml), the highest CPP values were recorded in July, September, October (6.7 ths., 6.2 ths., 5.7 ths. CFU per ml). The lowest CPM and CPP values were recorded in November, October, June (23.3 ths., 26.2 ths., 26.7 ths. CFU per ml) and in April, June, February (2.74 ths., 4.5 ths., 4.6 ths. CFU per ml), respectively. It is evident that the calendar month factor is statistically significant ( $P < 0.05$  to  $P < 0.001$ ) in numerous cases of seasonal variations associated with geometric means of CPM and CPP (Fig. 9 and Table 8). The evaluations signalize that CPM and CPP values can be affected by identical technological factors and their variability to the very different extent thanks to the relation with microbiological characteristics of different localities. Seasonal variations of mean CPM and CPP values (Fig. 9) can hardly be synchronized hypothetically with incidence or variation of a typical seasonal factor affecting hygienic parameters in dairy herds (e.g., external temperature variation, modifications of the ration composition related to the vegetation cycle). The mentioned problem has not been studied as the principal objective.

**Keywords:** milk; total counts of microorganisms; proteolytic bacteria; lipolytic bacteria; growth of microorganisms; correlation coefficient; relative index

**ABSTRAKT:** Cílem studie byl screening a identifikace psychrotrofních bakterií s proteolytickou (PPM) a lipolytickou (PLM) aktivitou u dvou souborů bazénových vzorků mléka. Celkem byly zpracovány výsledky od 85 a 82 dodavatelů svozné oblasti severní a střední Moravy. Všechny izolované kmeny byly identifikovány na České sbírce mikroorganismů, Brno. U obou skupin byl nejčastěji zastoupen rod *Pseudomonas* (53 %; 76 %). U všech identifikovaných bakteriálních kmenů byla ověřena schopnost tvorby obou enzymů. Ze 79 narostlých izolátů byla zjištěna kombinovaná tvorba lytických enzymů u 49 kmenů (62 %), z nichž 21 (43 %) bylo identifikováno jako *Pseudomonas fluorescens*. Společně s oběma skupinami mikroorganismů byl stanoven celkový počet mezofilních a psychrotrofních bakterií (CPM a CPP). Výsledky byly statisticky vyhodnoceny a byla zjištěna významná korelace mezi log CPP a výskytem proteolytických (log PPM), resp. lipolytických (log PLM) mikroorganismů ( $r = 0,51$ ;  $r = 0,55$ ). Mezi reálnými hodnotami CPP a celkovým počtem proteolytických mikroorganismů (PPM) byl zjištěn poměrný index  $p_i = 0,41$ . Pro lipolytické kmeny (PLM) byl stanoven  $p_i = 0,06$ . Dalším cílem bylo sledovat dynamiku růstu CPM, CPP, PPM a PLM u tří bazénových vzorků mléka. Vzhledem ke skutečnostem souvisejícím s variabilitou dobou od konce nádoje po pasturaci mléka a s různými průběhy chladících teplot byly sledovány nárůsty během 96 hodin při teplotách 4 °C, 6,5 °C a 10 °C. Počet psychrotrofních bakterií dosahoval během sledované doby až 100 % z CPM; podobně pak počet proteolytických kmenů 100 % z CPP a lipolytických 50–100 % z CPP. Koncentrace CPP  $10^5$  CFU/ml, která představuje počátek možného vzniku technologických problémů, odpovídá geometrickým průměrům (hodnot tří bazénových vzorků při třech úchovných teplotách) pro PPM 34, 60 a 22 tis. CFU/ml a pro PLM 35, 79 a 32 tis. CFU/ml. Na základě uvedeného je obecně možné uvést hranici 45 tis. CFU/ml pro PPM a rovněž pro PLM jako rizikovou pro zpracování syrového kravského mléka na náročnější mlékárenské produkty. Při trvalých teplotách syrového mléka uloženého při 4 °C, 6,5 °C a 10 °C je možné očekávat takové hodnoty cca za 60, 40 a 20 hodin. Dále byl statisticky hodnocen sezonní vývoj zastoupení celkového počtu psychrotrofních a mezofilních mikroorganismů na rozsáhlém souboru vzorků ( $n = 4\ 754$ ) z roku 1997. Největší hodnoty pro CPM byly zjištěny v měsících březen, červenec a srpen (41 tis., 39 tis. a 39 tis. CFU/ml) a pro CPP v měsících červenec, září a říjen (6,7 tis., 6,2 tis. a 5,7 tis. CFU/ml). Nejmenší hodnoty pro CPM pak byly v listopadu (23 tis. CFU/ml) a pro CPP v dubnu (2,7 tis. CFU/ml).

**Klíčová slova:** mléko; celkový počet psychrotrofních mikroorganismů; proteolytické bakterie; lipolytické bakterie; dynamika růstu; korelační koeficient; poměrný index

## ÚVOD

Výskyt psychrotrofní mikroflóry v syrovém kravském mléce je doplňkovým ukazatelem hygieny prvovýroby mléka (ČSN 57 0529). Samotná přítomnost bakteriálních kmenů neznámá negativní zatížení senzoričtých a jiných vlastností mléčné suroviny, ale hlavně tvorbu jejich termorezistentních extracelulárních lytických enzymů.

Teprve při jejich pomnožení a zvýšení enzymatické koncentrace představuje tato eventualita riziko kvalitativních problémů se zpracováním mléka. Vzhledem k možným rozdílným podmínkám technologie uskladnění mléka v prvovýrobě hraje důležitou roli pro případný nárůst psychrotrofních mikroorganismů doba od ukončení nádoje po svoz mléka a dále pak do tepelného ošetření, zejména pasturace. ČSN 57 0529 uvádí teplotu a dobu pro chlazení

nadojeného mléka 4–8 °C při denním svozu a 4–6 °C při obdenním svozu, vždy do 2 hodin od počátku dojení. Na základě odpovědí respondentů jsme zjistili, že se v praxi časové údaje od ukončení nádoje po svoz mléka pohybují od 1 hodiny až (ojediněle) do 48 hodin. Nejčastěji uváděná doba jsou 3 hodiny. Doba svozu do mlékárny probíhá od 4 do 6 hodin a na pasteraci čeká mléko od 2 do 6 hodin, ojediněle do 12 a velmi zřídka do 24 hodin při teplotě 4 °C. Teplota mléka při odběru a dále časová prodleva při svozu až po pasteraci hrají důležitou roli jak pro prvovýrobce, tak pro zpracovatele. Je všeobecně známý úzký vztah mezi výskytem celkové a psychrotrofní mikroflóry mléka. Na rozsáhlém souboru uvádějí Vyletělová *et al.* (1999) poměrný index obou skupin  $p_i = 0,24$ . Během nízkých teplot jsou však psychrotrofní bakterie schopny růstu a mohou pak tvořit 79–100 % celkové bakteriální mikroflóry mléka. Počet psychrotrofních mikroorganismů  $10^5$  až  $10^6$  CFU/ml udává Hušek (1988) jako adekvátní k dosažení dostatečné koncentrace a aktivity termostabilních lipáz a proteáz pro výrazný negativní účinek na složky mléka. Rowe a Gilmour (1985) např. uvádějí, že za těchto podmínek dochází k 5 % snížení výtěžnosti sýrů. Podobné výsledky uvádějí Shelley *et al.* (1986) ve vztahu k lipolytickým defektům a zjistili také nárůst lipolytických kmenů z 12,3 na 99 % celkového počtu psychrotrofní.

V literatuře se uvádí nejčastější zastoupení rodu *Pseudomonas* v syrovém mléce (Muir *et al.*, 1979; Shelley *et al.*, 1986; Ternström *et al.*, 1993; Law, 1979). Tento kmen je i z hlediska mlékárenské praxe a produkce enzymů nejvýznamnější. Muir *et al.* (1979) ve své studii zjistili 70 % výskyt kombinované tvorby obou enzymů u rodů *Pseudomonas* a *Alcaligenes* a charakterizují rody *Pseudomonas*, *Flavobacterium* a *Alcaligenes* jako izoláty s nejvyšším stupněm produkce lipáz a proteáz, přičemž rod *Pseudomonas* tvoří 43 % všech izolátů.

Cílem práce bylo stanovení celkového počtu mezofilních (CPM), psychrotrofních (CPP) a psychrotrofních bakterií s proteolytickou (PPM) a lipolytickou (PLM) aktivitou ve skladované potravinářské surovině. Všechny kmeny s jasnou lytickou zónou byly dále izolovány a identifikovány na České sbírce mikroorganismů, Brno. Dalším cílem bylo sledování růstu všech skupin mikroorganismů v čase a při různých úchovných teplotách. Z uvedených výsledných hodnot byla určena hranice počínajících technologických problémů s hlavním zaměřením na technologicky problematické skupiny mikroorganismů, schopných produkovat termostabilní lytické enzymy (PPM a PLM). Vzájemné vztahy mezi sledovanými skupinami bakterií byly dále statisticky vyhodnoceny.

## MATERIÁL A METODA

### Soubor vzorků mléka

Pro screening výskytu sledovaných mikroorganismů jsme vybrali svoznou oblast severní a střední Moravy.

První soubor vzorků byl sledován v dubnu 1997 a představoval 85 odběrných míst; druhý v květnu 1998 a tvořil 82 odběrných míst.

Na rozsáhlém souboru vzorků ( $n = 4\,754$ ) (Vyletělová *et al.*, 1998, 1999) byla sledována dynamika sezonního vývoje zastoupení mezofilní a psychrotrofní mikroflóry během celého roku 1997. Soubor byl statisticky hodnocen, získané výsledky slouží pouze k orientaci.

### Odběr vzorků mléka a jejich mikrobiologické vyšetření

Vzorky pro stanovení celkového počtu mezofilních, psychrotrofních, psychrotrofních bakterií s proteolytickou a lipolytickou aktivitou (CPM, CPP, PPM a PLM) byly odebrány podle ČSN 57 0529 do sterilních vzorkovnic s konzervačním Heeschovým činidlem (Heeschen *et al.*, 1969) vyškolenými pracovníky a po předání do laboratoře ihned zpracovány. Pro kultivaci psychrotrofních a mezofilních bakterií byl použit GTK agar (Milcom Tábor) obohacený o sušené mléko (norma IDF – Havlová *et al.*, 1993). Kultivace proběhla při 6,5 °C/10 dnů pro CPP a při 30 °C/3 dny pro CPM (Havlová *et al.*, 1993). Vzorky byly ředěny ve sterilním fyziologickém roztoku (0,85 % roztok NaCl) a očkovány vždy po třech po sobě jdoucích ředěních, a to ve dvou opakováních. Byly odečítány misy s nárůstem 20–200 CFU/ml.

Pro kultivaci proteolytických psychrotrofních mikroorganismů byl použit Milk agar (OXOID); pro kultivaci lipolytických bakterií Tributyrin agar (OXOID). Kultivace proběhla při 6,5 °C/10 dnů (Havlová *et al.*, 1993). Byly odečítány kolonie s jasnou lytickou zónou. Izolované kmeny byly vyočkovány pro další identifikaci na Krevní agar (HiMedia) a zamrazeny při –18 °C v uchovávacím médiu (sterilní 5 % glycerol).

### Identifikace izolovaných bakteriálních kmenů

Všechny podezřelé kolonie byly zaslány k identifikaci na Českou sbírku mikroorganismů, Brno, kde byly ověřeny na čistotu křížovým roztěrem, mikroskopicky hodnoceny a dále identifikovány za použití těchto metod:

- konvenční testy – pigmentace (MPA), fluorescentní pigment (King B agar/KGB); King A agar (KGA), hydrolyza želatiny (GEL) a Tweenu 80 (TWE); plotnová metoda), O/F test, OXI a ONPtest (proužky Lachema), fermentace cukrů, lecitináza (LEC) a hydrolyza škrobu (STA; plotnová metoda), růst při 42 °C, resp. v 6 % NaCl
- NEFERMtest 24 – nově koncipovaný diagnostický set Lachema, a. s.
- ENTEROtest 16 – Lachema, a. s.
- identifikační program TNW (Čs. sbírka mikroorganismů)
- diferenační tabulky – Lachema, a. s.

## Postup sledování dynamiky růstu mikroorganismů

Dynamika růstu mezofilních, psychrotrofních, proteolytických a lipolytických mikroorganismů byla sledována na třech bazénových vzorcích mléka. 600 ml bazénového vzorku bylo rozděleno do sterilních vzorkovnic po 200 ml a uchováno při teplotách 4, 6,5 a 10 °C. Kontrola růstu a odečet celkových počtů sledovaných mikroorganismů byla prováděna během 6 až 96 hodin za použití shodných, výše uvedených kultivačních podmínek. Kolonie s jasnou lytickou zónou byly dále identifikovány na Čs. sbírce mikroorganismů, Brno.

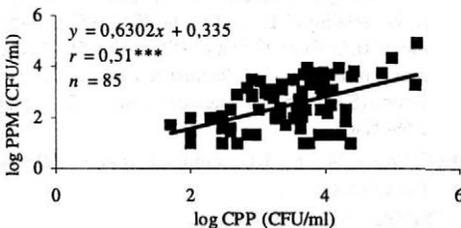
## Statistické zpracování výsledků

Pro statistickou analýzu byly hodnoty bakteriologické kontaminace logaritmičsky transformovány. Tento postup je ověřený a oprávněný vzhledem ke skutečnosti, že původní distribuce mikrobiologických hodnot je obvykle odchýlena od normální. Vhodná transformace přibližuje rozdělení dat normálnímu, snižuje rozptyl, pozitivně modifikuje symetrii a zvyšuje výtěžnost testování statistických hypotéz (Eckschlager, 1961; Eckschlager *et al.*, 1980; Meloun a Militký, 1992). Ze stejných důvodů byly jako střední hodnoty aplikovány geometrické průměry. Pro obě skupiny bakterií (PPM; PLM) byly vypočteny korelační koeficienty ( $r$ ) a určeny poměrné indexy ( $p_i$ ), které byly stanoveny jako poměr reálných hodnot (CPP/PPM; CPP/PLM; CPM/PPM; CPM/PLM).

## VÝSLEDKY A DISKUSE

### Soubor vzorků (85)

Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů se pohyboval v rozmezí 50–222 tis. CFU/ml (tab. 1). U proteolytických kmenů se počet pohyboval od 10 do 90 tis. CFU/ml a celkem bylo izolováno 127 bakteriálních kmenů (tab. 1). Pro další identifikaci bylo vybráno pouze 86 gramnegativních, nefermentujících tyček. Nejčetnější zastoupení (tab. 2) měl rod *Pseudomonas* (46 případů, 53 %), z nichž *Ps. fluorescens* představoval 35 případů, dále *Ps.*



Obr. 1. Graf vzájemné korelace mezi CPP a PPM u I. souboru vzorků (\*\*\*)  $P < 0,001$ ) – Graph of the reciprocal CPP–PPM correlation in the 1<sup>st</sup> sample set (\*\*\*)  $P < 0,001$ )

Tab. 1. Celkový obraz I. souboru ( $n = 85$ ) – Characteristics of the 1<sup>st</sup> set ( $n = 85$ )

Variační rozpětí <sup>1</sup> CPM (CFU/ml)	3 000–310 000
Variační rozpětí CPP (CFU/ml)	50–222 000
Variační rozpětí PPM (CFU/ml)	10–90 000
Geometrický průměr <sup>2</sup> CPM (CFU/ml)	25 118
Geometrický průměr CPP (CFU/ml)	2 431
Geometrický průměr PPM (CFU/ml)	294
Korelační koeficient <sup>3</sup> $r$ (log CPM $\times$ log CPP)	0,53
Korelační koeficient $r$ (log CPP $\times$ log PPM)	0,51
Korelační koeficient $r$ (log CPM $\times$ log PPM)	0,35
Poměrný index <sup>4</sup> $p_i$ (CPP/CPM)	0,21
Poměrný index $p_i$ (PPM/PPM)	0,41
Poměrný index $p_i$ (PPM/CPM)	0,05

<sup>1</sup>variation range, <sup>2</sup>geometric mean, <sup>3</sup>correlation coefficient, <sup>4</sup>ratio index

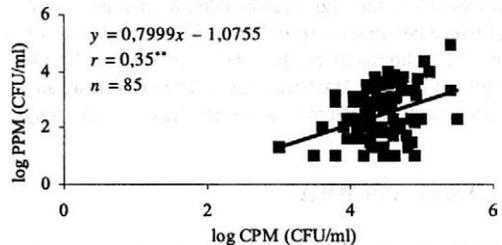
*putida* (3), *Ps. fragi* (3), *Ps. aeruginosa* (1) a *Pseudomonas* sp. (4).

Ke statistickému hodnocení byla použita lineární regrese, jejímž výsledkem je rovnice regresní přímky  $y = 0,63x + 0,34$  (obr. 1). Korelační koeficient pro obě sledované skupiny mikroorganismů  $r = 0,51$  a poměrný index PPM/PPM z jednotlivých měření  $p_i = 0,41$  (tab. 1).

Výsledkem statistického hodnocení vztahu CPM a PPM je rovnice regresní přímky  $y = 0,80x - 1,08$  (obr. 2), korelační koeficient  $r = 0,35$  a poměrný index  $p_i = 0,05$  (tab. 1). Z hodnot poměrných indexů (0,41 a 0,05) lze vypočítat, že limit pro CPP  $\leq 50$  tis. CFU/ml koresponduje s hodnotami 20 500 proteolytických CFU/ml a limit pro CPM  $\leq 50$  tis., resp.  $\leq 100$  tis. CFU/ml koresponduje s hodnotami pro PPM 2 500, resp. 5 000 CFU/ml.

### Soubor vzorků (82)

Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů byl 550–1 400 tis. CFU/ml a počet lipolytických kmenů 10 až 7 400 CFU/ml (tab. 3). Z celého souboru 70 lipolytických izolátů bylo v konečné fázi identifikováno 41 gramnegativních, nefermentujících tyček. Podobně jako u předchozího souboru (tab. 2) měl největší zastoupení rod



Obr. 2. Graf vzájemné korelace mezi CPM a PPM u I. souboru vzorků (\*\*  $P < 0,01$ ) – Graph of the reciprocal CPM–PPM correlation in the 1<sup>st</sup> sample set (\*\*  $P < 0,01$ )

*Pseudomonas* (31 případů, 76 %), z nichž *Ps. fluorescens* představoval 19 případů, dále *Ps. putida* (1), *Ps. fragi* (7), *Ps. aeruginosa* (2) a *Pseudomonas* sp. (2).

Výsledkem statistického hodnocení je rovnice regresní přímky  $y = 1,02x - 1,86$  (obr. 3), korelační koeficient  $r = 0,55$  a poměrný index (PLM/CPM)  $p_i = 0,06$  (tab. 3). Výsledkem statistického hodnocení vztahu CPM a PLM je rovnice  $y = 0,94x - 1,95$  (obr. 4), korelační koeficient  $r = 0,44$  a poměrný index  $p_i = 0,03$  (tab. 3). Z hodnot poměrných indexů (0,06 a 0,03) lze vypočítat, že limit pro CPP  $\leq 50$  tis. CFU/ml (ČSN 57 0529) koresponduje s hodnotami 3 000 lipolytických CFU/ml a limit pro CPM  $\leq 50$  tis., resp.  $\leq 100$  tis. CFU/ml koresponduje s hodnotami pro PLM 1 500, resp. 3 000 CFU/ml.

### Lytická aktivita identifikovaných kmenů a statistické srovnání obou souborů vzorků

U všech identifikovaných bakteriálních kmenů byla zjištěna schopnost tvorby lytických enzymů. Ze 79 narostlých izolátů byla zjištěna kombinovaná tvorba obou lytických enzymů u 49 kmenů (62 %), z nichž 21 bylo identifikováno jako *Pseudomonas fluorescens* (43 %). Ostatní kmeny se nepodařilo oživit.

Jako pozoruhodná se ukazuje skutečnost, že korelační koeficienty  $\log \text{CPP} \times \log \text{PPM}$  a  $\log \text{CPP} \times \log \text{PLM}$  jsou zřetelně vyšší než koeficienty  $\log \text{CPM} \times \log \text{PPM}$  a  $\log \text{CPM} \times \log \text{PLM}$  ( $r = 0,51$  a  $0,55 > 0,35$  a  $0,44$ ). Uvedené svědčí – podobně jako řada dřívějších referencí – o užším vztahu technologicky rizikových mikrobiologických skupin (PPM a PLM) k fyziologicko-technologické mikrobiální skupině CPP, jejíž případný rozvoj je méně omezená moderními technologiemi prvovýrobního chladového

uskladnění syrového mléka než u CPM. Potvrzuje to aktuální potřebu maximálního zkrácení intervalu skladování syrového mléka mezi ukončením dojení a zpracováním, zejména na náročnější mléčné potraviny prostřednictvím moderních technologií.

### Identifikace izolovaných lytických bakteriálních kmenů (tab. 2)

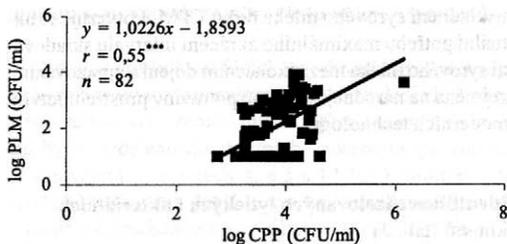
A) V souboru 86 proteolytických izolátů bylo diagnostikováno 46 zástupců rodu *Pseudomonas*, převážně druhu *Ps. fluorescens* (35 kmenů), dále 3 kmeny *Ps. putida* a *Ps. fragi* a jeden kmen *Ps. aeruginosa*. Čtyři kmeny byly zařazeny jako *Pseudomonas* sp., neboť zvolenými testy je nelze jednoznačně zařadit do druhu. Ve skupině dalších šesti nepigmentujících proteolytických izolátů byl jeden kmen diagnostikován jako *Acinetobacter* sp., tři kmeny jako *Chryseobacterium meningosepticum*, jeden kmen se pravděpodobně řadí mezi asacharolytické oxidáza-pozitivní, indol-negativní kmeny, dosud nepojmenované skupiny CDC IVc-2 a jeden kmen se zvolenými testy nepodařilo zařadit.

Skupina proteolytických nefermentujících bakterií produkující pigment (sv. žlutý, sv. oranžový, oranžový) zahrnuje 34 testovaných kmenů. Kmeny produkující nažloutlý až žlutozelený pigment byly identifikovány jako *Stenotrophomonas maltophilia*. Klasifikace zbývajících 32 oranžově pigmentujících kmenů pomocí NEFERMtestu 24, OXI a konvenčně provedených testů (hydrolyza Tweenu 80 a želatiny, produkce fluorescentního pigmentu KGB) nebyla úspěšná, a to jak při použití Diferenciační tabulky dodávané výrobcem se soupravou, tak při použití identifikačního programu TNW. Lze to připsat jed-

Tab. 2. Celkový obraz identifikace jednotlivých izolovaných psychrotrofních lytických mikroorganismů 1. a 2. souboru – Identification scheme specifying isolated psychrotrophic lytic microorganisms in the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> set

	Proteolytické kmeny <sup>1</sup>		Lipolytické kmeny <sup>2</sup>	
	celkem <sup>3</sup>	%	celkem <sup>3</sup>	%
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	35	41	19	46
<i>Pseudomonas putida</i>	3	3	1	2
<i>Pseudomonas fragi</i>	3	3	7	17
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	2	5
<i>Pseudomonas</i> sp.	4	5	2	5
<i>Acinetobacter</i> sp.	1	1	9	22
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	2		
<i>Empedobacter brevis</i>	3	3		
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	3	3		
<i>Chryseobacterium gleum</i>	11	13		
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	9	10		
<i>Myroides odoratus</i>	3	3		
<i>Serratia</i> sp.			1	2
Skupina II b. <sup>4</sup>	2	2		
Nezařazené <sup>5</sup>	6	7		

<sup>1</sup>proteolytic strains, <sup>2</sup>lipolytic strains, <sup>3</sup>total, <sup>4</sup>group II b., <sup>5</sup>unclassified



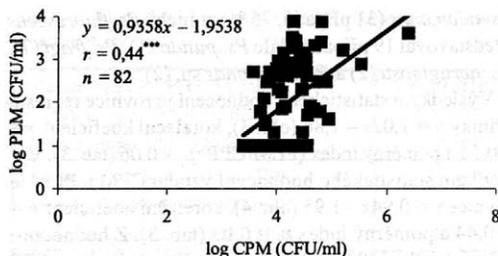
Obr. 3. Graf vzájemné korelace mezi CPP a PLM u 2. souboru vzorků (\*\*\*)  $P < 0,001$ ) – Graph of the reciprocal CPP–PLM correlation in the 2<sup>nd</sup> sample set (\*\*\*)  $P < 0,001$ )

nak ne zcela kvalitním námi použitým diagnostickým deskám, v nichž některé testy dávaly evidentně a stabilně falešné reakce (např. NO<sub>2</sub>), rovněž na výsledky oxidace některých cukrů se nebylo možné spolehnout (např. MLT, FRU), a jednak i obtížné identifikaci těchto nefermentujících bakterií. Některé výsledky, které nabídl program TNW, nejsou korektní, přihlížíme-li ke klíčovým testům pro tuto skupinu bakterií. Kde nebylo možné výsledky uvést, program kmen neidentifikoval, resp. nenabídl žádnou možnost k zařazení a na základě vložených výsledků testů nebo nabízené možnosti vykazoval pouze malou pravděpodobnost úspěšného zařazení vzhledem k číselnému profilu a T-indexu. Většina ze 32 oranžově pigmentovaných proteolytických kmenů byla programem TNW směřována do rodu *Chryseobacterium* a do rodu *Empedobacter*. Oba tyto rody reprezentují silně proteolytické kmeny, což odpovídá primoizolaci testovaných kmenů. Kmeny těchto rodů byly dříve řazeny do rodu *Flavobacterium*, který mimo další druhy zahrnoval i řadu skupin či genomospecies dosud validně nezařazených a nepojmenovaných. Fenotypově se příliš neliší, a proto je pro rutinní diagnostiku obtížné je druhově zařadit. Bakterie řazené do rodu *Empedobacter* a *Chryseobacterium* jsou gram-negativní, oxidáza- a indol-pozitivní nefermentující tyčky. Jedním z klíčových testů k rozlišení

Tab. 3. Celkový obraz 2. souboru ( $n = 82$ ) – Characteristics of the 2<sup>nd</sup> set ( $n = 82$ )

Variační rozpětí <sup>1</sup> CPM (CFU/ml)	3 700–2 400 000
Variační rozpětí CPP (CFU/ml)	550–1 400 000
Variační rozpětí PLM (CFU/ml)	10–7 400
Geometrický průměr <sup>2</sup> CPM (CFU/ml)	17 706
Geometrický průměr CPP (CFU/ml)	6 239
Geometrický průměr PLM (CFU/ml)	105
Korelační koeficient <sup>3</sup> $r$ (log CPM × log CPP)	0,76
Korelační koeficient $r$ (log CPP × log PLM)	0,55
Korelační koeficient $r$ (log CPM × log PLM)	0,44
Poměrný index <sup>4</sup> $p_i$ (CPP/CPM)	0,45
Poměrný index $p_i$ (PLM/CPM)	0,06
Poměrný index $p_i$ (PLM/PLM)	0,03

<sup>1</sup>variation range, <sup>2</sup>geometric mean, <sup>3</sup>correlation coefficient, <sup>4</sup>ratio index



Obr. 4. Graf vzájemné korelace mezi CPM a PLM u 2. souboru vzorků (\*\*\*)  $P < 0,001$ ) – Graph of the reciprocal CPM–PLM correlation in the 2<sup>nd</sup> sample set (\*\*\*)  $P < 0,001$ )

těchto rodů je ESL (eskulin). Do rodu *Empedobacter* se řadí kmeny ESL negativní, do rodu *Chryseobacterium* ESL pozitivní. Z těchto důvodů a vzhledem k tomu, že namátková kontrola výsledků ESL z desky konvenčním testem potvrdila jeho pozitivní výsledky, nemůžeme žádný námi testovaný kmen zařadit do rodu *Empedobacter*. Do rodu *Chryseobacterium* jsme tedy zařadili 22 kmenů.

Na základě použitých testů jsme pak orientačně zařadili 9 kmenů do druhu *Chryseobacterium indologenes* (ureáza negativní kmeny), 11 kmenů do druhu *Chryseobacterium gleum* (ureáza pozitivní kmeny) a 2 kmeny do dosud nepojmenované skupiny II b.

Dva žlutě pigmentované testované kmeny, oxidáza- a ureáza-pozitivní, indol-negativní, byly zařazeny do druhu *Myroides odoratus* (dříve *Flavobacterium odoratum*), přes pozitivní výsledek ESL v desce NEFERMtestu 24. Pravděpodobně k těmto rodu můžeme přiřadit i kmen přes pozitivní výsledky oxidace manitolu a xylózy v desce. Kmeny druhu *Myroides odoratus* vykazují rovněž proteolytické vlastnosti. Další dva z oxidáza-pozitivních žlutě pigmentovaných kmenů nebyly zařazeny ani přibližně do rodů, přikládáme se tedy k tomu, že se jedná o nefermentující tyčky, prozatím řazené do skupiny O-2, které oxidují některé cukry (MLT, SUC, GLU), ale nikoliv laktózu a xylózu.

Poslední skupinu žlutě pigmentujících testovaných izolátů tvoří pět oxidáza-negativních kmenů. Dva kmeny částečně oxidující cukry, netvořící indol, ureázu a fosfatázu, ONP-negativní, nehydrolyzující TWE a GEL jsme podle dosažených výsledků testů ani orientačně nezařadili do některé ze skupin nefermentujících tyček.

Zařazení oranžově pigmentujících, nefermentujících proteolytických izolátů do druhů je pouze pravděpodobné. Pro korektní identifikaci by bylo nezbytné provést diagnostiku pomocí konvenčních testů, případně API systémem, resp. dalšími časově i finančně náročnými metodami.

**B)** V souboru 41 lipolytických, gram-negativních, nefermentujících tyček byli na základě výsledků NEFERMtestu a dodatkových konvenčních testů identifikováni zástupci rodů *Pseudomonas* a *Acinetobacter*. Z 31 kmenů *Pseudomonas* bylo 19 testovaných kmenů zařazeno do druhu *Ps. fluorescens* (61,3 % pseudomonád), 7 kmenů do *Ps. fragi* (22,5 %), dva kmeny do *Ps. aeruginosa*

Tab. 4. Retrospektivní konfrontace základních statistických parametrů analyzovaných souborů – Retrospective confrontation of basic statistic parameters in analyzed sets

Mikrobiologická kontaminace <sup>1</sup>	Statistický parametr <sup>2</sup>	Předchozí soubory <sup>3</sup>			Aktuální soubory <sup>4</sup>	
		1.	2.	3.	1.	2.
CPM	$x_g$ (CFU/ml)	26 951	19 941	31 189	25 118	17 706
CPP	$x_g$ (CFU/ml)	2 300	3 858	4 932	2 431	6 239
	$r$ (log CPM $\times$ log CPP)	0,96	0,61	0,63	0,53	0,76
	$p_i$ (CPP/CPM)	0,13	0,35	0,24	0,21	0,45
	$n$	85	163	4754	85	82

$x_g$  = geometrický průměr – geometric mean

<sup>1</sup>microbiological contamination, <sup>2</sup>statistic parameter, <sup>3</sup>previous sets, <sup>4</sup>actual sets

(6,5 %) a jeden kmen do *Ps. putida* (3,2 %). Dva kmény byly na základě použitých testů zařazeny pouze rodově jako *Pseudomonas* (6,5 %).

Devět oxidáza-negativních nefermentujících tyček bylo zařazeno jako *Acinetobacter* sp. Rod *Acinetobacter* reprezentuje komplex několika genomospecies (v současnosti 16), které nelze striktně identifikovat do úrovně druhů biochemickými testy. Tradičně se dělí na sacharolytické a asacharolytické. Námi identifikované kmény *Acinetobacter* sp. jsou asacharolytické, avšak zařazení těchto izolátů by však bylo validní, jen na základě výsledku ribotypizace, resp. restrikce DNA či biotypizace. Jeden oxidáza- a arginin-negativní kmen jsme na základě použitých testů nezařadili.

Jedna oxidáza-negativní fermentující tyčka byla na základě ENTEROtestu 16 zařazena do rodu *Serratia*.

## Konfrontace výsledků

Pro srovnání některých zde prezentovaných výsledků se základními statistickými charakteristikami předchozích souborů (Vyletřelová *et al.*, 1998, 1999) byla sestavena tab. 4. Z této konfrontace lze uvést, že většina statistických charakteristik nejčtenějšího souboru, s výjimkou průměru pro CPM, představuje přibližně střed škály zjištěných hodnot. Podobně také variační rozpětí průměrných hodnot CPM (18–31 tis. CFU/ml), které představují současné praktické poměry, svědčí o tom, že zpracované a analyzované soubory vzorků mléka je možné z tech-

nologicko-mikrobiologického hlediska považovat za reprezentativní. Tyto výsledky umožňují jistý stupeň zevšeobecnění poznatků.

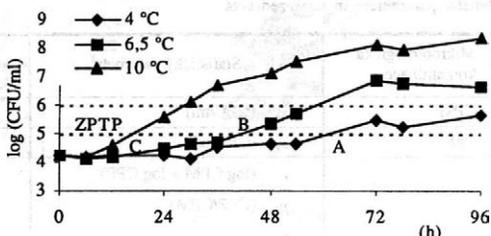
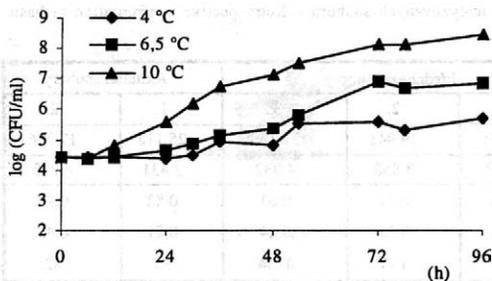
## Dynamika růstu skupin mikroorganismů v čase a při různých teplotách

Podle informací od výrobců a zpracovatelů mléka je maximální doba od ukončení nádoje až po pasteraci 72 hodin. Během této doby došlo při našem sledování k výrazné degradaci mléka při 6,5 °C a 10 °C (tab. 5). Nárůst sledovaných skupin mikroorganismů u tří bazénových vzorků za rozdílných úchovných teplot (4, 6,5 a 10 °C) probíhal různě. Pro obecnější přehled uvádíme výsledky celkových počtů skupin mikroorganismů jako průměrný logaritmus tří bazénových vzorků mléka (obr. 5–8; tab. 5). Podle očekávání se celkový počet všech skupin mikroorganismů zvyšoval se zvyšující se teplotou. Při teplotě 4 °C došlo k výraznějším změnám po 61 hodinách, při teplotě 6,5 °C po 41 a při teplotě 10 °C již po 17 hodinách (obr. 6; body A, B, C). Výsledky korespondují s ČSN 57 0529 pro skladování mléka před svozem. Z tab. 5 a 6 vyplývá, že počet psychrotrofních mikroorganismů tvořil 95 až 97 % z celkového počtu bakteriální mikroflóry mléka při teplotě 6,5 °C po 48 hodinách a při teplotě 10 °C již po 24 hodinách. Psychrotrofní bakterie s proteolytickou aktivitou dosáhly až 100% zastoupení celkové (mezofilní a psychrotrofní) mikroflóry po 96 hodinách (tab. 6). Výsledky psychrotrofních bakterií s lipolytickou aktivi-

Tab. 5. Geometrické průměry tří různých vzorků mléka v čase a při různých teplotách (tis. CFU/ml) – Geometric means of values determined in three different milk samples as related to time and storage temperature (ths. CFU/ml)

Čas <sup>1</sup> (h)	4 °C				6,5 °C				10 °C			
	CPM	CPP	PPM	PLM	CPM	CPP	PPM	PLM	CPM	CPP	PPM	PLM
0	26	17	0,7	0,7	26	17	0,7	0,7	26	17	0,7	0,7
24	25	18	4	2	46	28	6	5	381	368	81	162
48	62	42	20	24	243	232	87	225	13 977	13 236	1 464	5 288
72	400	295	51	49	7 808	7 808	1 533	317	137 643	136 887	31 481	71 920
96	472	464	456	464	7 368	7 368	7 383	4 121	279 455	221 042	28 189	110 181

<sup>1</sup>time



Obr. 5. Růst CPM při různých teplotách (bod v grafu představuje průměrný logaritmus tří různých vzorků mléka; tab. 5) – CPM increase related to temperature variations (individual points of the graph represent mean logarithms of values determined in three different milk samples; Table 5)

Obr. 6. Růst CPP při různých teplotách (bod v grafu představuje průměrný logaritmus tří různých vzorků mléka; tab. 5) – CPP increase related to temperature variations (individual points of the graph represent mean logarithms of values determined in three different milk samples; Table 5)

to byly variabilní a jejich počet se pohyboval kolem 50 % z celkového počtu CPP (tab. 6).

ZPTP (zóna počátečních technologických problémů) = hranice možného vzniku technologicko-zpracovatelských problémů v důsledku produkce termorezistentních systémů lipáz a proteáz (Hušek, 1988; Rowe, Gilmour, 1985) – ZPTP (zone of initial technological problems) = limit of potential incidence of technological and processing problems caused by produced thermoresistant systems of lipase and protease (Hušek, 1988; Rowe, Gilmour, 1985)

Norma ČSN 57 0529 udává teplotu pro obdenní svoz 4–6,5 °C. Pro nejstabilnější zachování mikrobiologického složení syrového kravského mléka a omezení růstu mikroorganismů k uchování mléka se teplota 4 °C ukazuje jako mnohem spolehlivější než teplota 6,5 °C, během které došlo v našem případě již po 24 hodinách téměř k dvojnásobnému (CPM a CPP) až desetinásobnému (PPM a PLM) nárůstu sledovaných skupin mikroorganismů (tab. 5).

Lytické bakteriální kmeny byly izolovány a dále identifikovány na České sbírce mikroorganismů, Brno. Lipolytické kmeny u všech tří bazénů představoval *Acinetobacter johnsonii*, ve dvou případech proteolytický kmen *Pseudomonas fluorescens* a v jednom případě *Chrysobacterium indologenes*. Ve všech případech se jednalo o kmeny s nekombinovanou tvorbou lytických enzymů.

### Specifikace zóny počínajících technologických problémů

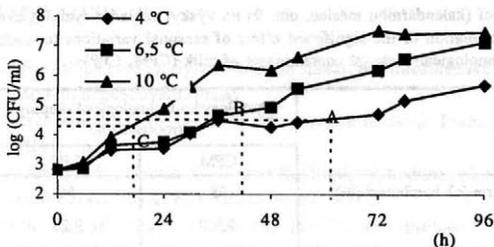
Vzhledem k tomu, že počty proteolytických a lipolytických mikroorganismů dosahovaly během našeho sledování 20 až 100 % všech psychrotrofních (resp. mezofilních) mikroorganismů, jsou tyto bakterie klíčovými skupinami, které představují největší nebezpečí pro uchování sensorických a technologických, resp. všech kvalitativních

vlastností mléka. Jak uvádějí Rowe a Gilmour (1985) a Hušek (1988), dosažení negativních účinků termostabilních lytických enzymů na základní složky mléka je možné až při jejich dostatečné koncentraci, která vzniká pravděpodobně při výskytu CPP 10<sup>5</sup> až 10<sup>6</sup> CFU/ml (obr. 6 – zóna počínajících technologických problémů). Podobně jsou pak pomocí aproximace podle dosažených výsledků uvedeny koncentrace PPM a PLM v korespondujících časech (obr. 7 a 8; tab. 7; body A, B, C). Lze říci, že koncentrace CPP 10<sup>5</sup> CFU/ml, která představuje počátek možného vzniku technologických problémů (čili hranici bezrizikových počtů jednotlivých technologicky škodlivých skupin mikroorganismů), odpovídá geometrickým průměrům PPM při třech úchovných teplotách 34, 60 a 22 tis. CFU/ml a pro PLM 35, 79 a 32 tis. CFU/ml (tab. 7; obr. 6–8). Je patrné, že odhadnuté hodnoty jsou z mikrobiologického pohledu do značné míry srovnatelné. Je proto možné uvést obecnou hranici 45 tis. CFU/ml pro PPM a PLM jako rizikovou pro zpracování syrového kravského mléka na náročnější (zejména fermentované, ale i silněji tepelně namáhané) mlékárenské produkty. Při trvalých

Tab. 6. Procentuální zastoupení jednotlivých skupin mikroorganismů v čase a při různých úchovných teplotách (podle tab. 5) – Percentual proportions of specific groups of microorganisms as related to time and storage temperatures (according to Table 5)

Čas <sup>1</sup> (h)	4 °C			6,5 °C			10 °C		
	CPP/CPM	PPM/CPP	PLM/CPP	CPP/CPM	PPM/CPP	PLM/CPP	CPP/CPM	PPM/CPP	PLM/CPP
0	65	4	4	65	4	4	65	4	4
24	72	22	11	61	21	18	97	22	44
48	68	48	57	95	38	97	95	11	40
72	74	17	17	100	20	4	99	23	53
96	98	98	100	100	100	56	79	13	50

<sup>1</sup>time



Obr. 7. Růst PPM při různých teplotách (bod v grafu představuje průměrný logaritmus hodnot tří různých vzorků mléka; tab. 5) – PPM increase related to temperature variations (individual points of the graph represent mean logarithms of values determined in three different milk samples; Table 5)

Průsečíky souřadnic bodů A, B, C s osou y znamenají počet proteolytických mikroorganismů v korespondujícím čase (obr. 6; tab. 7) – Intersection points of A, B, C coordinates with y-axis specify the counts of proteolytic microorganisms at time intervals corresponding to ZPTP for CPP (Fig. 6; Table 7)

Tab. 7. Geometrické průměry PPM a PLM korespondující s časem dosažení 100 000 CPP (CFU/ml), tzn. ZPTP (obr. 7–8; body A, B, C) – Geometric means of PPM and PLM corresponding to the attainment of 100.000 CPP (CFU/ml) level, i.e. ZPTP (Figs. 7–8; points A, B, C)

	4 °C/61 h (bod A)	6,5 °C/41 h (bod B)	10 °C/17 h (bod C)
PPM	33 884	60 255	22 387
PLM	35 481	79 432	31 622

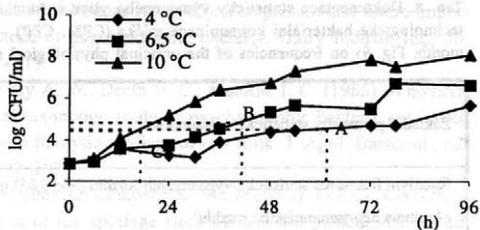
<sup>1</sup>point

teplotách pro uložení syrového mléka (4, 6,5 a 10 °C) je možné očekávat takové hodnoty cca za 60, 40 a 20 hodin (body A, B, C; obr. 7–8; tab. 7). Tyto poznatky je možné doporučit k zohlednění v příslušných technologiích získávání, uskladnění, přepravy a zpracování mléka.

### Vlivy sezony na mikrobiologickou kontaminaci mléka

Přestože mikrobiologická kontaminace syrového kravského mléka je silně ovlivňována řadou především přímých hygienicko-technologických faktorů (např. čistota technologických zařízení), nelze opomíjet skutečnost, že rovněž sezonní kolísání hodnot velkých souborů může být vlivným, i když nepřímým faktorem. Také seriózní identifikace přímých příčin kontaminace v rámci typických sezonních výkyvů je nesnadná, a proto je mnohdy spíše na úrovni poloověřených hypotéz.

Přes uvedené skutečnosti byl zpracován velký soubor mikrobiologických dat také z pohledu sezonní variability (obr. 9 a tab. 8). Největší hodnoty pro CPM byly zjištěny v měsících březen, červenec a srpen (41 000, 39 000 a 39 000 CFU/ml) a pro CPP v měsících červenec, září a říjen (6 700, 6 200 a 5 700 CFU/ml). Nejmenší hodnoty pro CPM pak byly zaznamenány v listopadu, říjnu



Obr. 8. Růst PLM při různých teplotách (bod v grafu představuje průměrný logaritmus tří různých vzorků mléka; tab. 5) – PLM increase related to temperature variations (individual points of the graph represent mean logarithms of values determined in three different milk samples; Table 5)

Průsečíky souřadnic bodů A, B, C s osou y znamenají počet proteolytických mikroorganismů v korespondujícím čase (obr. 6; tab. 7) – Intersection points of A, B, C coordinates with y-axis specify the counts of lipolytic microorganisms at time intervals corresponding to ZPTP for CPP (Fig. 6; Table 7)

a červnu (23 300, 26 200 a 26 700 CFU/ml) a pro CPP v dubnu, červnu a únoru (2 740, 4 500 a 4 600 CFU/ml). Z vyhodnocení je dále patrné, že kalendářní měsíc je statisticky významným ( $P < 0,05$  až  $< 0,001$ ) faktorem v řadě případů sezonních odchylek v hodnotách geometrických průměrů CPM i CPP (obr. 9; tab. 8).

Zatímco vztahy mezi log CPM a log CPP (obr. 9; tab. 8) v celém i v dílčích (měsíčních) souborech byly pozitivní, poměrně těsné a statisticky významné (obr. 9;  $r = 0,58-0,76$ ;  $P < 0,001$ ), nebyl pozitivní ani významný vztah pozorován mezi sezonním vývojem geometrických průměrů CPM a CPP a průměrnými logaritmy CPM a CPP ( $r = -0,04$  a  $-0,10$ ;  $P > 0,05$ ). Přítom i ostatní korelační koeficienty mezi log CPM a log CPP v dalších hodnocených souborech byly podle očekávání pozitivní a statisticky významné ( $r = 0,53-0,96$ ;  $P < 0,001$ ) (tab. 4). Oproti tomu vztahy mezi geometrickými průměry nebo průměrnými logaritmy CPM a CPP (podle tab. 8) byly nevýznamné a korelační koeficienty dosahovaly hodnot  $r = -0,37$  a  $-0,42$  při  $P > 0,05$ . Tyto zdánlivé rozpory a poměrně zajímavé skutečnosti v sezonním i celkovém hodnocení svědčí o tom, že v praktických podmínkách hrají významnou roli vlivy druhově různých mikrobiologických prostředí, a dále že hodnoty CPM a CPP jsou pak lokálně ovlivňovány stejnými technologickými faktory ve velmi rozdílné míře. Jinými slovy, určitý praktický hygienicko-technologický faktor a jeho variabilita v technologii získávání a skladování mléka ovlivňují podle lokality relativně ve větší míře CPP než CPM a naopak. Může tedy např. vlivem sezony nastat i typické období, kdy zatímco CPM celkově vzrůstá, počty CPP klesají (negativní vztah), tedy klesá i hodnota jejich poměrného indexu  $p$ . Tím však není vyloučen naopak vztah pozitivní.

Samotný sezonní vývoj průměrných hodnot CPM, ale zejména CPP (obr. 9) lze jen obtížně hypoteticky synchronizovat s výskytem nebo kolísáním některého obvyklého známého sezonního faktoru s možným vlivem na

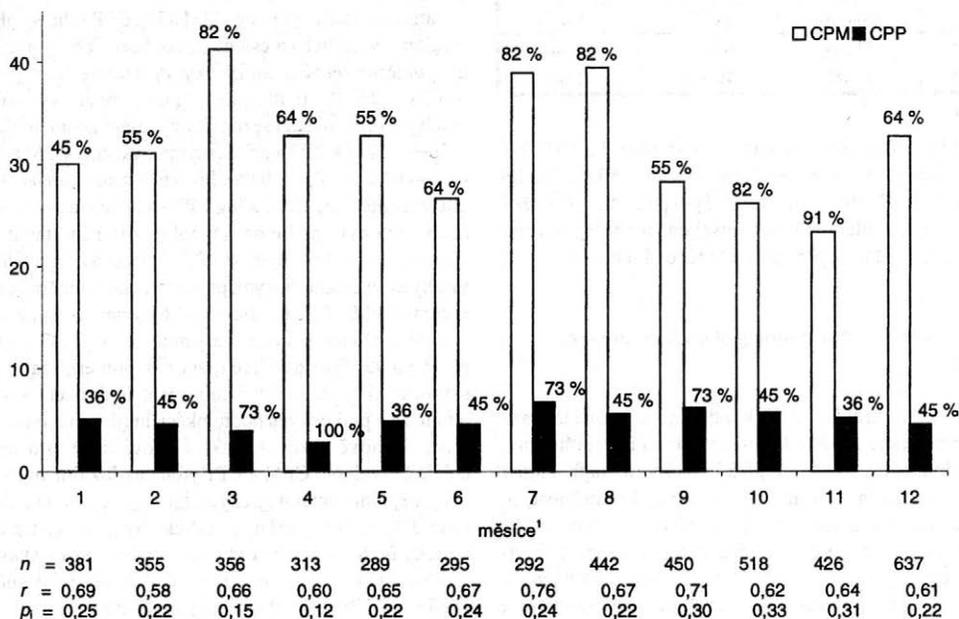
Tab. 8. Dokumentace statisticky významného vlivu sezonních variací (kalendářního měsíce; obr. 9) na výskyt základní fyziologicko-technologické bakteriální kontaminace mléka (CPM, CPP) – Documentation of the significant effect of seasonal variations (calendar month, Fig. 9) on frequencies of the principal physiological and technological bacterial contaminants of milk (CPM, CPP)

Základní parametry statistické významnosti <sup>1</sup>	Fyziologicko-technologické skupiny mikroorganismů <sup>2</sup>	
	CPM	CPP
Relativní frekvence statisticky významných rozdílů ( $P \leq 0,05$ ) uvnitř párových kombinací (%) <sup>3</sup>	68	56
$t$ -hodnota nejvýznamnějšího rozdílu <sup>4</sup>	8,92	9,28
Párová kombinace statisticky nejvýznamnějšího rozdílu (kalendářní měsíce) <sup>5</sup>	III/XI	IX/IV
Geometrické průměry (v tis. CFU/ml) v korespondujících měsících <sup>6</sup>	41/23	6/3
Statistická významnost difference korespondujících měsíců <sup>7</sup>	$P < 0,001$	$P < 0,001$
Počet případů v korespondujících měsících <sup>8</sup>	356 / 426	450/313
Korelační koeficienty $r$ ( $\log \text{CPM} \times \log \text{CPP}$ ) korespondujících měsíců <sup>9</sup>	0,66/0,64	0,71/0,60

<sup>1</sup>basic parameters of statistical significance, <sup>2</sup>physiologico-technological sets of microorganisms, <sup>3</sup>relative frequency of statistically significant ( $P < 0,05$ ) differences within pair combinations (%), <sup>4</sup> $t$ -value of the most significant difference, <sup>5</sup>pair combination of the most significant difference (calendar months), <sup>6</sup>geometric means (in ths. CFU/ml) in corresponding months, <sup>7</sup>statistical significance of corresponding month difference, <sup>8</sup>frequency in corresponding months, <sup>9</sup>correlation coefficients  $r$  ( $\log \text{CPM} \times \log \text{CPP}$ ) in corresponding months

hygienu prostředí dojníc, technologie dojení a uskladnění syrového mléka, jako jsou např. vývoj vnějších teplot nebo změna krmné dávky vázaná na vegetační cyklus. Vrcholy CPM za těchto okolností odpovídají (obr. 9; měsíc březen) možnosti zhoršené kvality zásob nebo zby-

ků zásob objemných krmiv v předjaří a dále pak období nejvyšších průměrných vnějších teplot (měsíce červen a červenec). Druhý vztah je možné přibližně odečíst i pro CPP, tento ukazatel je však třeba hodnotit velmi opatrně.



Obr. 9. Dynamika sezonního vývoje zastoupení celkové mezofilní a celkové psychrotrofní mikroflóry syrového bazénového kravského mléka během roku 1997 – Seasonal variations of the total mesophilic and total psychrotrophic microflora in bulk cow's raw milk in 1997

$n$  = počet případů – frequency,  $r$  = korelační koeficient – correlation coefficient ( $\log \text{CPM} \times \log \text{CPP}$ ),  $p_i$  = poměrný index – ration index, % = procento statisticky významných ( $P \leq 0,05$ ) diferencí mezi párovými kombinacemi měsíců – percentage of significant ( $P \leq 0,05$ ) differences between pair combinations of months

<sup>1</sup>months

## LITERATURA

- ČSN 57 0529 (1997): Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. Praha.
- Eckschlager K. (1961): Chyby chemických rozborů. Praha, SNTL, 163 s.
- Eckschlager K., Horsák K., Kodejš Z. (1980): Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL.
- Havlová J., Jičínská E., Hrabová H. (1993): Mikrobiologické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobků. Praha, ÚZPI: 98–108.
- Heeschen W., Reichmuth J., Tolle A., Ziedler H. (1969): Preservation of milk samples for bacteriologic and cytologic examinations and examinations for inhibitors. *Milchwissenschaft*, 24: 729–734.
- Hušek V. (1988): Mléko – surovina pro mlékárenský průmysl. *Mlékař. Listy*, 14: 86–88.
- Law B. A. (1979): Reviews of the progress of Dairy Science: Enzymes of psychrotrophic bacteria and their effects on milk and milk products. *J. Dairy Res.*, 46: 573–588.
- Lukášová J. (1997): Hygienické podmínky získávání jakostního syrového kravského mléka. *Náš Chov*, 9: 11–12.
- Meloun M., Militký J. (1992): Statistické zpracování experimentálních dat na osobních počítačích. Díl IIA. Pardubice, 102 s.
- Muir D. D., Phillips J. D., Dalgleish D. G. (1979): The lipolytic and proteolytic activity of bacteria isolated from blended raw milk. *J. Soc. D. Techn.*, 32: 19–23.
- Rowe M., Gilmour A. (1985): The present and future importance of psychrotrophic bacteria. *Dairy Industr. Int.*, 50: 14–19.
- Shelley A. W., Deeth H. C., MacRae I. C. (1986): A numerical taxonomic study of psychrotrophic bacteria associated with lipolytic spoilage of raw milk. *J. Appl. Bacteriol.*, 62: 197–207.
- Terström A., Lindberg A. M., Molin G. (1993): Classification of the spoilage flora of raw and pasteurized bovine milk, with special reference to *Pseudomonas* and *Bacillus*. *J. Appl. Bacteriol.*, 75: 25–34.
- Ticháček A., Vyletěllová M., Hanuš O. (1999): Odborné poradenství v prvovýrobě mléka s ohledem na mikrobiologické jakostní ukazatele. In: Sbor. Kvalitativní aspekty prvovýroby mléka: 61–69.
- TNW (1996): Identifikační program verze 5.0. Česká sbírka mikroorganismů, Brno.
- Vyletěllová M., Hanuš O., Kopunec P. (1998): Psychrotrofní a celková mikrobiální kontaminace syrového kravského mléka. *Veterinářství*, 9: 373–374.
- Vyletěllová M., Benda P., Hanuš O., Kopunec P. (1999): Stanovení celkového počtu psychrotrofních mikroorganismů v bazénových vzorcích mléka a jejich vztah k celkovému počtu mikroorganismů. *Czech J. Food Sci.*, 17: 216–222.

Došlo 7. 1. 2000

Přijato k publikování 20. 3. 2000

---

### Kontaktní adresa:

RNDr. Marcela Vyletěllová, Výzkumný ústav pro chov skotu, s. r. o., Rapotín, 788 13 Vikýřovice, Česká republika, tel.: + 420 649 39 21 63, fax: + 420 649 21 57 02, e-mail: vuchs\_rapotin@ova.pvtnet.cz

---

## **Evropská konference o reprodukci bude letos v Praze**

Ve dnech 23.–25. 11. 2000 se bude v Praze konat již čtvrté zasedání Evropské společnosti pro reprodukci domácích zvířat (ESDAR). ESDAR je neziskovou organizací, která podporuje výzkum i výchovu v oblasti reprodukce domácích i volně žijících zvířat. Zvláštní důraz je kladen na biotechnologii a fyziologii reprodukce.

Předchozí konference se konaly v Mariensee (Německo), Keszthely (Maďarsko) a Le Lion d'Angers (Francie). Vysoká kvalita programu byla dána účastí předních světových odborníků.

Pro naši odbornou veřejnost je tato konference jedinečnou příležitostí k získání nejnovějších poznatků o reprodukci zvířat.

Bližší informace je možné získat na <http://www.tzv.fal.de/esdar>.

Předsedou organizačního výboru 4. konference v Praze a zároveň reprezentantem naší republiky v této společnosti je

Prof. Dr. J. Motlík, DrSc.  
Ústav živočišné fyziologie a genetiky ČAV  
277 21 Liběchov  
Tel.: +420 206 69 71 41  
E-mail: [motlik@site.cas.cz](mailto:motlik@site.cas.cz)

*Ing. Miroslav Rozkot, CSc.  
Doc. Ing. Josef Čeřovský, DrSc.  
Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha 10-Uhřetěves  
Pracoviště Kostelec nad Orlicí*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- Grgurić D., Antunović B., Šperanda M., Steiner Z., Florijančić T.: Effects of busserelin and human chorionic gonadotrophin on fertility of dairy cows with or without retained placenta ..... 337
- Kišidayová S., Sviatko P., Zeleňák I.: The effect of copper and cobalt supplementation on the rumen ciliate population in sheep ..... 345

**Nutrition and Feeding**

- Třináctý J., Šustala M., Doležal P.: Passage and interactions of large plastic particles applied into lactating cows ..... 349
- Čerešňáková Z., Sommer A., Chrenková M., Poláček M., Dolešová P., Kráľová V.: Effective protein degradability and changes in amino acid spectrum after incubation of grains and mill feeds in rumen (in Slovak) ..... 355
- Kica J., Margetín M., Margetínová J., Ochodnický D.: Effect of different nutrition on ewes' milk yield and its components (in Slovak) ..... 361

**Animal Products**

- Čuboň J., Nosál V., Mojto J., Huba J., Chudý J.: Classification of carcass structure of bulls and heifers in EUROP systém (in Slovak) ..... 367
- Vyletěllová M., Hanuš O., Urbanová E., Kopunecz P.: The occurrence and identification of psychrotrophic bacteria with proteolytic and lipolytic activity in bulk milk samples at storage in primary production conditions (in Czech) .. 373

**OBSAH**

**Fyziologie a reprodukce**

- Grgurić D., Antunović B., Šperanda M., Steiner Z., Florijančić T.: Vliv buserelinu a lidského chorionového gonadotropinu na plodnost dojnic se zadržanou placentou nebo bez ní ..... 337
- Kišidayová S., Sviatko P., Zeleňák I.: Vplyv prídavku kobaltu a medi na populáciu bachorových ciliát oviec ..... 345

**Výživa a krmení**

- Třináctý J., Šustala M., Doležal P.: Pasáž a interakce velkých plastických částic aplikovaných laktujícím dojnícím .... 349
- Čerešňáková Z., Sommer A., Chrenková M., Poláček M., Dolešová P., Kráľová V.: Efektívna degradovateľnosť N-látok a zmeny v spektre aminokyselín po inkubácii zrnín a mlynských krmív v bachore ..... 355
- Kica J., Margetín M., Margetínová J., Ochodnický D.: Vplyv rozdielnej úrovne výživy na produkciu a zloženie mlieka bahnic ..... 361

**Živočišné produkty**

- Čuboň J., Nosál V., Mojto J., Huba J., Chudý J.: Klasifikácia štruktúry jatočného tela býkov a jalovic v systéme EUROP ..... 367
- Vyletěllová M., Hanuš O., Urbanová E., Kopunecz P.: Výskyt a identifikace psychrotrofních bakterií proteolytickou a lipolytickou aktivitou v bazénových vzorcích mléka v podmínkách technologií prvovýrobního uskladnění ... 373

---

Vědecký časopis CZECH JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE (ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA) ● Vydává Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/22 51 40 03, e-mail: edit@uzpi.cz ● Sazba a tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 2000

Rozšiřuje Ústav zemědělských a potravinářských informací, referát odbytu, Slezská 7, 120 56 Praha 2  
 Podávání novinových zásilek povoleno Českou poštou, s. p., Odštěpný závod Střední Čechy, č. j. NOV-6587/00-P/1 dne 9. 5. 2000