

SRPSKO VETERINARSKO DRUŠTVO



ZBORNIK RADOVA I KRATKIH SADRŽAJA

32. SAVETOVANJE VETERINARA SRBIJE



Zlatibor, 9–12. septembar 2021.

32. SAVETOVANJE VETERINARA SRBIJE
Zlatibor, 09–12. septembar, 2021.

Organizator:
Srpsko veterinarsko društvo

Suorganizatori:
Fakultet veterinarske medicine Univerzitet u Beogradu
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Departman za veterinarsku medicinu

Pokrovitelji:
Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Uprava za veterinu
Veterinarska komora Srbije

Predsednik SVD: Prof. dr Milorad Mirilović, dekan FVM

Organizacioni odbor:
Predsednik: Milorad Mirilović
Potpredsednici: Stamen Radulović i Miodrag Rajković
Sekretar: Jasna Stevanović
Tehnički sekretar: Katarina Vulović
Marketing menadžer: Nebojša Aleksić

Programski odbor:
Neđeljko Karabasil (predsednik), Danijela Kirovski, Sonja Radojičić, Sanja Aleksić Kovačević, Bojan Toholj, Slobodanka Vakanjac, Ivan Vujanac, Vitomir Ćupić, Dragan Šefer, Milan Maletić, Vladimir Dimitrijević

Počasni odbor:
Branislav Nedimović, Emina Milakara, Nedeljko Tica, Ivan Bošnjak, Ivan Stančić, Mišo Kolarević, Saša Bošković, Nenad Budimović, Ratko Ralević

Sekretarijat:
Slobodan Stanojević, Sava Lazić, Ivan Miloš, Miodrag Bošković, Radislava Teodorović, Milutin Simović, Zoran Rašić, Milan Đorđević, Predrag Maslovarić, Zoran Jevtić, Zoran Knežević, Vojislav Arsenijević, Ljubinko Šterić, Dragutin Smoljanović, Miloš Petrović, Bojan Blond, Vesna Đorđević, Dobrila Jakić-Dimić, Branislava Belić, Slavica Kuša Jelesijević, Milica Lazić, Laslo Matković, Darko Bošnjak, Petar Milović, Rade Došenović, Nikola Milutinović, Gordana Žugić, Jasna Stevanović, Željko Sladojević

Izdavač:
Srpsko veterinarsko društvo, Beograd

Za izdavača:
Prof. dr Milorad Mirilović, predsednik SVD

Urednici:
Prof. dr Miodrag Lazarević i prof. dr Neđeljko Karabasil

Lektura i korektura: Prof. dr Lazarević Miodrag

Tehnički urednik: Lazarević Gordana

Tehnička izrada korica: Branislav Vejnović

Štampa: Naučna KMD, Beograd, 2021

Tiraž: 400 primeraka

ISBN 978-86-83115-43-3

PATOHISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE DRVENASTIH GRUDI I KVALITET MESA BROJLERA

*Antonija Rajčić¹, Milan Ž. Baltić¹, Ivana Branković Lazić²,
Branislav Baltić², Marija Starčević³, Slađan Nešić¹*

¹Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd, R. Srbija;

²Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, R. Srbija;

³Vojska Srbije, Beograd, R. Srbija

Kratak sadržaj

*Moderna industrija brojlera, pored značajnih proizvodnih rezultata koje beleži uzgoj novih hibrida koji dostižu veliku telesnu masu za veoma kratko vreme i odličnu konverziju hrane. U novije vreme, zapažen je porast broja jedinki koje su osjetljivije na stres i na razvoj novih miopatija koje imaju ključnu ulogu za zdravstveni status brojlera i posebno na kvalitet mesa. Poslednjih deset godina, proizvođače širom sveta najviše zabrinjava pojava nove miopatije pod nazivom „drvenaste grudi“ koja zahvata najvredniji deo trupa brojlera – filete grudi (*m. pectoralis major*). Naziv ove miopatije potiče od promena zahvaćenih mišića koji postaju znatno tvrde konzistencije, najverovatnije kao posledica fibroze. Pored promene konzistencije, mišić je bleđe boje, sa mestimičnim mrljastim ili tačkastim krvavljenjima, a po površini mišića često se može zapaziti prisustvo mutne, lepljive i želatinozne materije. Histološki, drvenaste grudi predstavljaju polifazno miodegenerativno oboljenje, što se uočava istovremenim nalazom degenerativnih i regenerativnih promena u mišićnom tkivu. Zapaža se povećan broj degenerisanih i atrofičnih mišićnih vlakana, koja nemaju karakterističnu poprečnu ispruganost. Mišićna vlakna su različitog oblika i veličine, a čest je i nalaz gigantskih vlakana. Takođe su prisutne vakuolarna degeneracija i liza miofibrila, infiltracija mononuklearnih ćelija (limfocita), izražena lipidoza i intersticijalna fibroza. Promene mogu biti fokalne ili difuzne, a intenzivnije su sa starošću brojlera. Ove patohistološke i biohemijske modifikacije mišića ne predstavljaju pitanje rizika bezbednosti hrane, ali se i te kako odražavaju na kvalitet mesa. Dokazan je negativan uticaj ove miopatije na sposobnosti vezivanja vode prilikom zamrzavanja i kuhanja mesa, slabijeg upijanja marinade tokom mariniranja i izmenu teksture. Meso drvenastih grudi je tvrde, gumastije, elastičnije i ima veću otpornost prilikom žvakanja u odnosu na normalne filete. Svi ovi faktori zajedno dovode do nepoželjnog izgleda takvih fileta koji odbijaju potrošače. Njihova tehnološka obrada je često nemoguća, tako da sveukupno, drvenaste grudi nanose ogromne gubitke proizvođačima. Udruženim snagama, naučnici širom sveta istražuju što efikasnije i pristupačnije metode prevencije u borbi protiv ove značajne miopatije.*

Ključne reči: brojleri, drvenaste grudi, kvalitet mesa

UVOD

Kvalitet mesa je u literaturi definisan na osnovu četiri karakteristike: (1) hranljive vrednosti (sadržaj masti, proteina, ugljenih hidrata, mineral i svarljivih

vost); (2) kvaliteta obrade (pH vrednost, sposobnost vezivanja vode - SVV, sila sečenja, dužina sarkomera); (3) bezbednosti (zagadivači, ostaci, aditivi, mikrobiološki status) i (4) kvaliteta senzorne ocene (boja, aroma, tekstura). Na ove karakteristike mesa mogu uticati različiti spoljašnji i unutrašnji faktori kao što su genetika (uključujući pol pilića), rasa, ishrana, uslovi uzgoja (temperatura, ventilacija, osvetljenje, aktivnost jedinki), bolesti, uslovi transporta, klanja i postupaka nakon klanja (hlađenje, skladištenje), obrada mesa (topljeni tretmani), formulacija proizvoda i dodavanje aditiva. Trenutno, jedna od najvećih zabrinutosti za modernu industriju živinarstva je pojava miopatije drenaste grudi (engl. *wooden breast* - WB), koja znatno narušava kvalitet mesa i nanosi ogromne ekonomске gubitke proizvođačima širom sveta.

Makroskopske promene pektoralne muskulature kao posledica WB miopatije

Naziv "drvenaste grudi" je u vezi sa karakterističnim morfološkim promenama koje se zapažaju na pektoralnoj muskulaturi (*m. pectoralis major*) i karakteriše se grubom i tvrdom konzistencijom ovog mišića (1). Ova miopatija se najčešće pojavljuje u kombinaciji sa drugom ranije detektovanim miopatijom koja se naziva „bela prugavost“ (engl. *white stripping*), koja se prepoznaje po prisustvu belih pruga koje idu paralelno sa pravcem pružanja mišićnih vlakana (2,3,4,5,6). Histološki je teško razlikovati ove dve miopatije, ali je zaključeno da se radi o dva različita oboljenja jer je moguća i njihova pojedinačna pojava (7,8).

Rezultati histoloških i morfoloških analiza ukazuju da postoji određena sličnost WB sa drugim poznatim miopatijama (kao što je nasledna mišićna distrofija, nutritivne i toksične miopatije, duboka pektoralna miopatija, PSE i DFD meso), detaljnija istraživanja ipak dokazuju da se radi o različitim oboljenjima (9). Karakteristika drvenastih grudi (po kojoj je oboljenje i dobilo naziv) je odlika tvrde konzistencije grudne muskulature koja se zapaža samo na *m. pectoralis major*, dok ostali skeletni mišići, glatki mišići i srce nisu zahvaćeni što nije slučaj kod ostalih miopatija (10, 11). Promenu konzistencije prati i bleda boja mišića, sa pojavom ispuštenih zadebljanja muskulature, mestimičnim petehijama ili hemoragijsima i tankim slojem mutne, lepljive i želatinozne mase rasprostranjene po površini pektoralne muskulature. Tvrda konzistencija mišića se može objasniti istaknutom fibrozom koja prati hroničnu fazu WB, iako postoje nalazi u kojima fibroza nije potvrđena kao samostalni faktor nastanka drvenastih grudi, već su zajedno sa fibrozom bile prisutne degeneracija i edem miofibrila (10).

Patohistološke promene *m. pectoralis major* kod miopatije WB

Nakon uočavanja karakterističnih makroskopskih promena, dijagnostika drvenastih grudi zahteva i patohistološku potvrdu. Makroskopske lezije WB su praćene patohistološkim nalazom polifazne miodegeneracije. Lezije polifaznog tipa znače da su u jednoj regiji istovremeno prisutne i degenerativne i regenerativne promene. Ovim se dokazuje da su mišićne ćelije izložene progresivnim

oštećenjima i isključuje se pojedinačni etiološki faktor patologije WB. Patohistološkim pregledom uzoraka *m. pectoralis major* uzetim direktno iz zahvaćenih lezija, zapažaju se intenzivnije degenerativne i atrofične promene mišićnih vlakana kod kojih je izgubljena poprečna ispruganost, veličina vlakana je varijabilna, a postoje vakuolarna degeneracija i liza miofibrila. Takođe, u tkivnim isečcima se zapažaju: blaga mineralizacija, infiltracija mononuklearnim ćelijama (limfociti), lipidoza, intersticijalna inflamacija i fibroza, tako da sve ove odlike ukazuju da se radi o hroničnom inflamatornom procesu (1,4). Promene počinju da se razvijaju najranije nakon dve nedelje starosti i razvijaju se u vidu hronične miodegeneracije sa 3-4 nedelje starosti, da bi sa 5-6 nedelja starosti (period klanja) mišićna degeneracija bila najizraženija. Lezije se najpre javljaju fokalno i zahvataju jednu stranu grudi, a potom postepeno prelaze u difuznu formu koja u potpunosti prekriva *m. pectoralis major*. Stepen tvrdoće prilikom palpacije fileta grudi, direktno zavisi, kako od starosti brojlera, tako i od raširenosti lezija. Blaže i fokalne lezije WB su češće kod mlađih ptica, dok su kod starijih jedniki lezije mnogo izraženije i difuzno rasprostranjene po mišićnom tkivu. Ovo ukazuje na činjenicu da se WB lezije prvo javljaju u fokalnoj formi, a potom se progresivno difuzno šire, što se dodatno potvrđuje miodegenerativnim lezijama u makroskopski nezahvaćenim regijama kod slučajeva sa fokalnom formom (11).

Etiologija nastanka drvenastih grudi i posledice

Brajne izvedene studije su imale za cilj da se otkrije pravi razlog zbog kojeg nastaje ovo oboljenje, ali je etiologija još uvek ostala nejasna. Kao neki od mogućih razloga koji mogu inicirati miopatije navode se: smanjena mogućnost mišića da iskoriste ugljene hidrate kao izvor energije (12, 13, 14), nakupljanje jona kalcijuma (15, 7), hipoksija, oksidativni stres (16) i nedovoljan razvoj kapilarne mreže u mišićima brzo rastućih brojlera (17). Ono što je zapaženo, gotovo na svim trupovima brojlera, su veća telesna masa i deblji fileti (18, 19, 20).

Jedan od najbitnijih faktora za razvoj miopatija kod brzo rastućih brojlera (engl. *rapidly growing broiler chickens*), je metabolički distres koji nastaje kao posledica hipertrofisanih mišićnih vlakana što povećava rastojanje između krvnih sudova i centara mišićnih vlakana koja se ishranjuju tim krvnim sudovima (21). Smatra se da kod tovnih pilića razvoj vezivnog tkiva (endomizijuma i perimizijuma u kojima se nalaze krvni sudovi) ne prati brzi porast mišićnih vlakana. Na taj način, mišićna vlakna prerastaju potporno vezivno tkivo, tako da nedovoljan broj kapilara treba da snadbeva hipertrofisana mišićna vlakna krvlju i zato dolazi do ishemije i oštećenja mišića (22, 23). Dokazano je da se kod gotovo svih fileta grudi teških brojlera, koji su poreklom iz intenzivnih sistema gajenja vide lezije koje su histološkim metodama potvrđene kao hijalina degeneracija miofibrila. Oštećena mišićna vlakna su bila kružnog oblika, sa dosta nekrotičnih vlakana (i do preko 20 procenata). Stepen miodegeneracije utiče i na promene hemijskih komponenti, kao i sposobnosti obrade mesa (11).

Još uvek nije poznat mehanizam delovanja ubrzanog rasta brojlera na razvoj miopatiјa, ali je na osnovu brojnih istraživanja evidentno da ptice veće mase imaju veću incidencu oboljevanja od WB sa ozbilnjom miodegeneracijom (6, 19, 20, 24). Posmatrajući ponašanje jedinki kod kojih je kasnije patohistološki potvrđena miopatija drvenih grudi, uočene su suptilne bihevioralne promene koje se manifestuju slabijim kretanjem tih ptica i otežanim ustajanjem iz ležećeg položaja zbog velike telesne mase, što svakako dovodi u pitanje dobrobit tih životinja (10). Ocena hoda je dobar pokazatelj kretanja brojlera (25), a zna se da je sposobnost kretanja obično slabija kod težih i brzo rastućih brojlera (26). Smanjena pokretljivost krila, na osnovu nekih studija, bila je u vezi sa miodegenerativnim lezijama kod WB (10, 27). Ovo bi moglo da pobudi sumnju da se kod ove miopatiјe, bol i diskomfort dovode u vezu sa povećanom senzitivnošću regije grudi, mada je teško proceniti stepen bola koji se javlja kod brojlera usled oboljenja WB. Na osnovu zabeleženih slučajeva teške miodegeneracije i posledičnog bola kod ljudi, moglo bi se zaključiti da i životinje osećaju sličan bol (28).

Uticaj WB na kvalitet mesa brojlera

Oboljenje drvenastih grudi, zajedno sa ostalim miopatiјama (bela prugavost, bledo, meko i vodenasto meso - BMV, deficit vitamina E i selena) odnosi se prvenstveno na osobine kvaliteta mesa (18, 24). Ovo nije pitanje rizika bezbednosti hrane, niti mikrobiološkog kriterijuma, ali u velikoj meri utiče na parametre kvaliteta i donosi ogromne gubitke proizvođačima, zbog toga što je takvo meso nepoželjno od strane potrošača (3).

Pektoralni mišić, osim činjenice da predstavlja najvredniji deo trupa brojlera, čini i značajan udeo mase trupa (1/5 od ukupne mase trupa) (6, 20). Strukturalne promene u filetima WB imaju sveukupno negativni efekat na osobine kvaliteta mesa. Adspeksijskim pregledom, prisustvo belih pruga na ventralnoj površini fileta bez kože, stvara utisak kod potrošača da taj proizvod sadrži visok procenat masti i da je „nezdrav“, te stoga odbija kupce (3). Poznato je da stanje WB utiče na sposobnost zadržavanja vode u mesu. Sveži fileti sa WB imaju veće gubitke vode tokom procesa zamrzavanja i kuvanja od normalnog mesa, bez WB (29). Štaviše, WB meso ima manju sposobnost upijanja marinade tokom mariniranja. Fileti WB uglavnom imaju višu pH vrednost nego normalni fileti (10) i smatra se da je s tim u vezi i smanjena sposobnost vezivanja vode mesa, kao posledica smanjenog sadržaja proteina u tkivu zbog miodegeneracije. Povećanje sadržaja masti (koja je hidrofobna) može dodatno smanjiti sposobnost mesa da vezuje vodu.

Analize teksture su ukazale na značajno visoku kompresionu silu kod svežih fileta sa WB. Na osnovu analiza profila teksture kuvanog mesa fileta živine može se zaključiti da je, nakon termičke obrade, meso sa WB tvrde, gumastije, elastičnije i ima veću otpornost prilikom žvakanja od normalnih fileta. Generalno, promena profila teksture je odlika složenih hemijskih promena u mišićnim vlaknima i vezivnom tkivu koja prate stanje drvenih grudi (10).

ZAKLJUČAK

Savremeni uzgoj brojlera koji podrazumeva primenu metoda genetičke selekcije brojlera sa ciljem dobijanja što veće mase trupova u što kraćem vremenskom periodu, posebno pektoralne muskulature kao najvrednijeg dela mesa brojlera, dovela je do značajnih promena morfološke strukture mišićnog tkiva. Kao posledica ovakve selekcije, beleži se sve veći broj mana mesa grudi pilića koje zabrinjavaju kako proizvođače tako i potrošače širom sveta. Miopatija "drvene grudi" trenutno prestavlja ozbiljan ekonomski problem za brojlersku industriju. Meso brojlera sa ovom manom se ocenjuje kao nepoželjno od strane potrošača. Takvo meso se odbacuje iz daljeg prometa i ide u preradu. Međutim, sama prerada fileta sa WB donosi poteškoće s obzirom da je takvo meso znatno tvrde konzistencije i ima smanjenu sposobnost vezivanja vode. Do sada, istraživači su pre svega bili preusmereni na opisivanje hroničnih i postmortalnih promena WB koje su bitne sa aspekta kvaliteta mesa. Buduća ispitivanja biće preusmere na prevashodno ka ispitivanju patogeneze i etiologije ovog oboljenja kako bi se sprečio dalji razvoj miopatije, ali i mogućnostima poboljšanja metoda prerade mesa sa manom drvenastom grudom.

Zahvalnica:

Rad je podržan sredstvima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ugovor broj 451-03-9/2021-14/200143).

LITERATURA

1. Sihvo HK, Immonen K, Puolanne E, 2014, Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers, *Vet Pathol*, 51, 619–23;
2. Bauermeister L, Morey A, Moran E, Singh M, Owens C et al., 2009, Occurrence of white striping in chicken breast fillets in relation to broiler size, *Poult Sci*, 88, 33;
3. Kutappan VA, Lee YS, Erf GF, Meullenet JC, McKee SR, Owens CM, 2012, Consumer acceptance of visual appearance of broiler breast meat with varying degrees of white striping, *Poult Sci*, 91, 1240-7;
4. Kutappan VA, Shivaprasad HL, Shaw DP, Valentine BA, Hargis BM et al., 2013, Pathological changes associated with white striping in broiler breast muscles, *Poult Sci*, 92, 331-8;
5. Petracci M, Mudalal S, Bonfiglio A, Cavani C, 2013, Occurrence of white striping under commercial conditions and its impact on breast meat quality in broiler chickens, *Poul Sci*, 92, 1670-5;
6. Russo E, Drigo M, Longoni C, Pezzotti R, Fasoli P, Recordati C, 2015, Evaluation of White Striping prevalence and predisposing factors in broilers at slaughter, *Poult Sci*, 94, 1843-8;
7. Soglia F, Mudalal S, Babini E, Di Nunzio M, Mazzoni M et al., 2016, Histology, composition, and quality traits of chicken Pectoralis major muscle affected by wooden breast abnormality, *Poult Sci*, 95, 651-9;
8. Radaelli G, Piccirillo A, Birolo M, Berotto D, Gratta F et al., 2017, Effect of age on the occurrence of muscle fiber degeneration associated with myopathies in broiler chickens submitted to feed restriction, *Poult Sci*, 96, 309-19;
9. Kutappan V, Hargis B, Owens C, 2016, White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review, *Poult Sci*, 95, 2724-33;
10. Papah MB, Brannick EM, Schmidt CJ, Abasht B, 2017, Evidence and role of phlebitis and lipid infiltration in the onset and pathogenesis of Wooden Breast Disease in modern broiler

chickens, Avian Pathol, 46, 623-43; **11.** Sihvo HK, Lindén J, Airas N, Immonen K, Valaja J, Puolanne E, 2017, Wooden breast myodegeneration of pectoralis major muscle over the growth period in broilers, Vet Pathol, 54, 119-28; **12.** Abasht B, Mutryn MF, Michalek RD, Lee WR, 2016, Oxidative stress and metabolic perturbations in wooden breast disorder in chickens, PLoS One 11: e0153750. **13.** Kuttappan V, Bottje AW, Ramnathan R, Hartson S, Kong B et al., 2017, Proteomic analysis reveals changes in carbohydrate and protein metabolism associated with broiler breast myopathy, Poult Sci, 96, 2992-9; **14.** Zambonelli P, Zappaterra M, Soglia F, Petracci M, Sirri F, Cavani C, Davoli R, 2016, Detection of differentially expressed genes in broiler pectoralis major muscle affected by white striping – wooden breast myopathies Poult Sci, 95, 12, 2771 – 85; **15.** Petracci M, Mudalal S, Soglia F, Cavani C, 2015, Meat quality in fast-growing broiler chickens, World's Poult Sci J, 71, 363–34; **16.** Mutryn MF, Brannick EM, Fu W, Lee WR, Abasht B, 2015, Characterization of novel chicken muscle disorder through differential gene expression and pathway analysis using RNAsequencing, BMC Genomics 16, 399; **17.** Clark DL, Velleman SG, 2016, Spatial influence on breast muscle morphological structure, myofiber size, and gene expression associated with the wooden breast myopathy in broilers, Poult Sci, 95, 12, 2930 – 45; **18.** Kuttappan VA, Brewer VB, Mauromoustakos A, Mc- Kee SR, Emmert JL et al., 2013, Estimation of factors associated with the occurrence of WS in broiler breast fillets, Poult Sci, 92, 811–9; **19.** Kuttappan VA, Brewer VB, Waldroup PW, Owens CM, 2012, Influence of growth rate on the occurrence of WS in broiler breast fillets, Poult Sci, 91, 2677–85; **20.** Trocino A, Piccirillo A, Birolo M, Radaelli G, Bertotto D et al., 2015, Effect of genotype, gender and feed restriction on growth, meat quality and the occurrence of white striping and wooden breast in broiler chickens, Poult Sci, 94, 2996–3004; **21.** Soike D, Bergmann V, 1998, Comparison of Skeletal Muscle Characteristics in Chicken Bred for Meat or Egg Production: II. Histochemical and Morphometric Examination, J Vet Med Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine, 45, 169-74; **22.** Swatland HJ, 1990, A fibre-optic probe for muscle composition in poultry, Food Sci Technol J, 23, 239–41; **23.** Kranen RW, Lambbooy E, Veerkamp CH, Kuppevelt TH, Veerkamp JH, 2000, Histological characterization of hemorrhages in muscle of broiler chickens, Poult Sci, 79, 110–6; **24.** Lorenzi M, Mudalal S, Cavani C, Petracci M, 2014, Incidence of white striping under commercial conditions in medium and heavy broiler chickens in Italy, J Appl Poult Res, 23, 754–8; **25.** Caplen G, Hothersall B, Nicol CJ, Parker RMA, Waterman-Pearson AE et al., 2014, Lameness is consistently better at predicting broiler chicken performance in mobility tests than other broiler characteristics, Anim Welf, 23, 179–87; **26.** Kestin SC, Gorden S, Su G, Sorensen P, 2001, Relationships in broiler chickens between lameness, live weight, growth rate and age, Vet Rec, 148, 195–7; **27.** Kawasaki T, Takashi Y, Watanabe T, 2016, Simple method for screening the affected birds with remarkably hardened pectoralis major muscles among broiler chickens, J Poult Sci, 53, 291-7. **28.** Silva TD, Massetti T, Monteiro, Carlos Bandeira de Mello, Trevizan IL et al., 2016, Pain characterization in Duchenne muscular dystrophy, Arquivos De Neuro-Psiquiatria, 74, 767-74; **29.** Mudalal S, Lorenzi M, Soglia F, Cavani C, Petracci M, 2015, Implications of white striping and wooden breast abnormalities on quality traits of raw and marinated chicken meat, Animal, 9, 728-34.