

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Bachorová degradovatelnost organické hmoty jetele lučního  
stanovená metodou *in situ***

**Bc. Ondřej Koukol**

**2011**

Vedoucí bakalářské práce:

Prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.

Děkan Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

Konzultant:

Doc. Ing. Petr Homolka, CSc., Ph.D.

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhřetěves

Oddělení výživy a krmení hospodářských zvířat

Diplomová práce byla uskutečněna s finanční podporou MZE0002701404.

## **Poděkování**

Děkuji **Prof. Ing. Miloslavu Šochovi, CSc.** a **Doc. Ing. Petru Homolkovi, CSc., Ph.D.** za odborné vedení a poskytnuté technické zázemí týkající se mé diplomové práce. Také děkuji **Ing. Veronice Koukolové, Ph.D.**, **Ing. Filipu Jančíkovi, Ph.D.** a paní **Vlastě Hladké** za předávání odborných zkušeností a užitečných podnětů, kterými svědomitě přispívali ke zpracování této práce.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a použil pramenů, které uvádím v seznamu použité literatury.

.....

V Českých Budějovicích dne ..... 2011

# OBSAH

	stránka
1. ÚVOD.....	1
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	
2.1. Charakteristika jetelovin.....	2
2.2. Význam živin ve výživě přežvýkavců.....	7
2.2.1. Voda.....	8
2.2.2. Sušina.....	10
2.2.3. Organická hmota.....	10
2.2.4. Organické kyseliny.....	10
2.2.5. Lipidy.....	10
2.2.6. Dusíkaté látky.....	11
2.2.7. Sacharidy.....	11
2.3. Fyziologie trávení přežvýkavců.....	15
2.4. Trávení organické hmoty u přežvýkavců.....	17
2.4.1. Trávení sacharidů.....	17
2.4.2. Trávení dusíkatých látek.....	19
2.4.3. Trávení lipidů.....	22
3. CÍL PRÁCE.....	23
4. MATERIÁL A METODIKA	
4.1. Pokusný materiál (krmivo).....	24
4.2. Chemické rozbory základních živin, spalné teplo, koeficient stravitelnosti organické hmoty a energie původního krmiva.....	24
4.3. <i>In situ</i> analýzy.....	25
4.3.1. Bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny.....	27
4.3.2. Bachorová degradovatelnost organické hmoty.....	28
4.4. Statistické vyhodnocení.....	28
5. VÝSLEDKY A DISKUZE	
5.1. Pokusný materiál (krmivo).....	30
5.2. Chemické rozbory základních živin, energie a stravitelnost krmiva.....	31
5.3. <i>In situ</i> analýzy.....	36
5.4. Statistické vyhodnocení.....	38
6. ZÁVĚR.....	44
7. SOUHRN.....	45
8. SUMMARY.....	46
9. SEZNAM LITERATURY.....	47
10. PŘÍLOHA.....	53

## 1. Úvod

Výživa zvířat je souborem fyziologických a biochemických pochodů, které jsou spojeny s příjmem, trávením, vstřebáváním a metabolismem živin, které jsou potřebné k udržení všech životních funkcí. Výživa je jedním z mnoha faktorů ovlivňující celý ekonomický výsledek chovu hospodářských zvířat. Kvalitní výživa zajišťuje dobrý zdravotní stav, vysokou a kvalitní produkci, reprodukci a welfare zvířat.

Hodnocení krmiv vychází z chemického složení a stravitelnosti krmné dávky. Pro správnou funkci bachoru je důležité, aby byla zajištěna odpovídající krmná dávka pro požadovanou produkci. Nezbytnou součástí správně sestavené krmné dávky pro přežvýkavce je vyjádření nutriční hodnoty krmiv s ohledem na fyziologii trávení krmiva v bachoru a následná využitelnost v bachoru nezdegradovaných živin vstupujících do tenkého střeva.

Předžaludek přežvýkavců (bachor, čepec a kniha) plní funkci rezervoáru přijaté potravy, ve kterém dochází k fermentačním procesům umožňujících využití živin, především celulózy z rostlinných buněk. Optimální zastoupení jednotlivých živin, především strukturních sacharidů, v krmné dávce přežvýkavců ovlivňuje její stravitelnost. Významný vliv na kvalitu (výživnou hodnotu) objemné píce má růstová fáze rostlin. Bachorová degradovatelnost a následná stravitelnost organické hmoty je ovlivněna procesem lignifikace, ke kterému dochází v průběhu stárnutí porostu. Vytvořený lignin stoupá se stářím buněk, a tím významně limituje (snižuje) využitelnost organické hmoty, především celulózy jakožto základní stavební látky rostlinné buňky.

Současné systémy vyjadřující výživnou hodnotu krmiv vycházejí z principu hodnocení degradovatelnosti a stravitelnosti organické hmoty, dusíkatých látek a sacharidů v krmivech. Z této skutečnosti vycházel cíl a metodický postup předkládané diplomové práce. V této práci byla stanovena nutriční hodnota jetele lučního (*Trifolium pratense* L., odrůda Kvarta) pomocí základních laboratorních postupů (stanovení obsahu jednotlivých živin), *in situ* metody (stanovení bachorové degradovatelnosti organické hmoty a neutrálně detergentní vlákniny) a *in vivo* bilanční metody (stanovení stravitelnosti organické hmoty a brutto energie). Zvolené postupy k získání těchto výsledků jsou důležité pro upřesňování stávajících systémů hodnocení krmiv pro přežvýkavce.

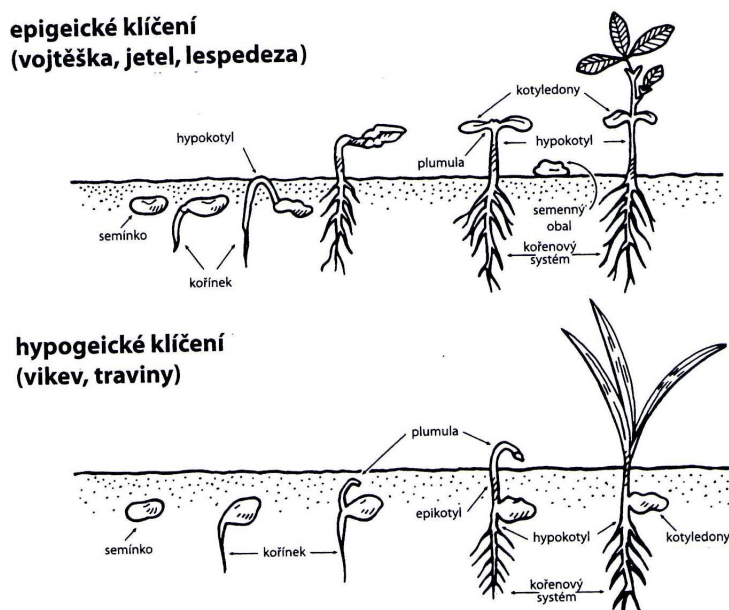
## 2. Literární přehled

### 2.1. Charakteristika jetelovin

Jeteloviny je souhrnné označení pro byliny z čeledi bobovitých, zahrnující jedny z nejdůležitějších píceň pěstovaných na polích a trvalých porostech luk a pastvin. Bobovité (*Fabaceae*), někdy motýlokvěté (*Papilionaceae*) či vikvovité (*Viciaceae*) patří do čeledi dvouděložných rostlin, řád novotvaré (*Fabales*) (Wikipedie, 2009). Jeteloviny se vyznačují epigeickým typem vzcházení semen (obrázek 1, Čermák a kol., 2004a). Název čeledi se odvozuje buď podle rodů bob a vikev, nebo v případě motýlokvětých podle charakteristického typu květu. Ten má pětičetný kalich rozdělený na pavézu, křídla a člunek. Mezi obecně známé bobovité rostliny patří jetel, sója, fazol, hrách, či vojtěška. Jeteloviny jsou významné nejen z hlediska pícninářského, ale i z hlediska fixace vzdušného dusíku díky své symbióze s hlízkovými bakteriemi (rodu *Rhizobium* a *Bradyrhizobium*) a zlepšování struktury půdy (Wikipedie, 2009). Morfologický popis jetelovin a některých druhů listů luskovin podle Čermáka a kol. (2004a) je uveden v obrázku 2.

Obrázek 1

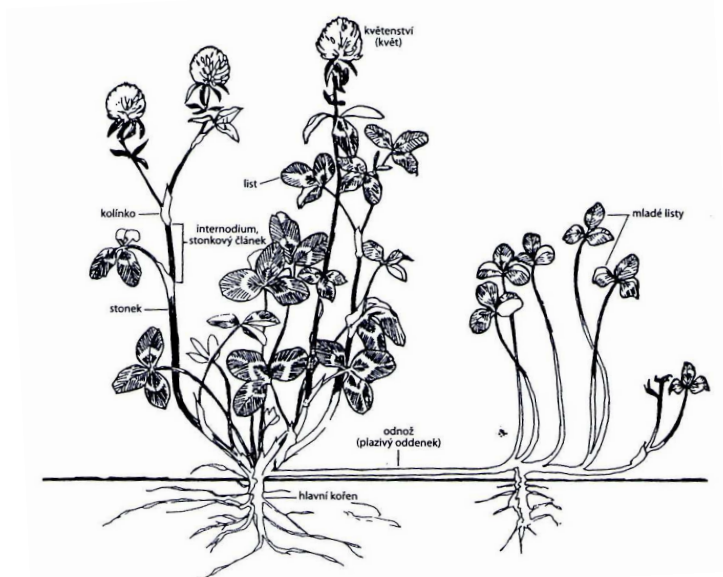
Dva typy vzcházení semen pícnin (Čermák a kol., 2004a).



Obrázek 2

Popis jetelovin (A) a některých typických druhů listů (B) luskovin (Čermák a kol., 2004a).

A)



B)

Jetel luční



Vojtěška



Peluška



Komonice



Jeteloviny uplatnitelné ve výživě skotu rozdělujeme na (Kudrna a kol., 1998):

Základní jeteloviny:

1. Vojtěška setá (*Medicago sativa* L.)
2. Jetel luční (*Trifolium pratense* L.)

Ostatní jeteloviny:

1. Jetel zvrhlý (*Trifolium hybridum* L.)
2. Štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus* L.)
3. Vičeneček libris (*Onobrychis viciaefolia* Scop.)
4. Jetel inkarnát (*Trifolium incarnatum* L.)
5. Komonice bílá (*Melilotus albus* Des.)
6. Čičorka pestrá (*Coronilla varia* L.)
7. Úročník bolhoj (*Athyllis vulneraria* L.)



8. Jetel zvrácený (*Trifolium resupinatum* L.)
9. Jetel egyptský (*Trifolium alexandrianum* L.)
10. Tolice dětelová (*Medicago Lupulina* L.)
11. Jestřabina východní (*Galega orientalis* L.)

Vedle monokultur má jetel luční rozhodující uplatnění v jetelotrávách. Pěstuje se především v bramborářských a podhorských výrobních oblastech, v řepařské se osvědčuje na těžších a vlhčích půdách. Spolu s vojtěškou je naší nejrozšířenější jetelovinou (Kudrna a kol., 1998). Podle dostupných údajů ČSÚ (Českého statistického úřadu) v letech 2005 až 2007 poklesla v České republice průměrná osevní plocha jetele červeného z 93 389 ha na 46 481 ha a vojtěšky seté ze 102 070 ha na 68 974 ha (Statistická ročenka České republiky, 2010).

V současné době slouží jetel luční jako významný přerušovač v osevních postupech s vysokým zastoupením obilnin. Příprava půdy na podzim začíná kvalitně provedenou a ošetřenou podmítkou po sklizni předplodiny. Orbu provádíme středně hlubokou. Jarní předset'ová příprava spojená s aplikací hnojiv musí být kvalitní, důležité je jemné zpracování povrchové vrstvy do hloubky 2 až 3 cm a zajištění přívodu kapilární vody k osivu ze spodní, utuženější vrstvy půdy. Při letním výsevu jetele následuje bezprostředně po sklizni předplodiny střední orba s následným urovnáním a utužením pozemku. Kvalitní příprava půdy s aplikací hnojiv a následným výsevem v čisté kultuře následuje po částečném slehnutí pozemku za 2 až 3 týdny. V případě příznivých vláhových podmínek je možné tuto dobu zkrátit. Jetel luční vyséváme buď na jaře v době setí jarních obilnin a to do krycích plodin, nebo i v letním období po sklizni raných předplodin a to v čisté kultuře (Selgen, 2009).

Jetel luční není vhodné hnojit dusíkem s výjimkou porostů silně zeslabených, u nichž připadá v úvahu regenerační dávka do 20 kg N/ha ve formě kombinovaného hnojiva po přezimování. Potřebu dusíku jetel plně pokrývá symbiotickou fixací. Základní hnojení fosforem a draslíkem provádíme na připravený pozemek před výsevem. Doporučené roční dávky P a K na základě obsahu živin v půdě jsou 35 až 45 kg P/ha a 80 až 100 kg K/ha. Hořčíkem hnojíme na slabě zásobených půdách již k předplodině. Jetel snáší kyselou půdní reakci, je však náročný na vápník jako živinu. Optimální je pH 6, při poklesu pH pod 5,6 vápníme k předplodině. Jetel luční využíváme v čisté kultuře zpravidla dvou až třísečně na jeden užitkový rok. Porosty v druhém užitkovém roce (tj. třetí rok vegetace) se již zaplevelují a jejich pěstování je bez přisevu trav neefektivní. Optimální termín sklizně

pícního porostu je na začátku kvetení - zejména při využití na seno či senáž by měla sušina píce převyšovat 18 %. Intenzivní jetelotravní směsky na orné půdě zakládáme pro víceleté využití - zpravidla na 2 až 3 užitkové roky (Selgen, 2009).

Sklizeň jetele na píci se provádí vždy před květem, pro přímé zelené krmení již od fáze zakládání květních pupat. Píce je stravitelnější s vyšším obsahem dusíkatých látek a menším obsahem vlákniny. Obsah vodorozpustných cukrů v sušině píce je 2 až 3 krát větší než u vojtěšky. Kvalitativní ztráty způsobené opožděnou první sečí mají za následek snížení výnosu píce druhé seče. Výnosy současných odrůd jetele mohou v praxi běžně překračovat výnosovou hranici 10 t sena/ha. Mezi odrůdami jetele lučního je již rozdíl v odstupňování pícní zralosti 14 až 18 dní. Na rozdíl od vojtěšky se jetel lépe konzervuje senážováním (při 35 až 45 % sušiny), hůře se však suší na strništi (odrol lístků) (Kudrna a kol., 1998).

Tabulka 1

Obecná klasifikace některých jetelovin teplého a mírného podnebního pásma (Čermák a kol., 2004a).

<b>Podnební pásmo (PP)</b>			
<b>Teplé PP</b>	<b>Mírné PP</b>	<b>Teplé PP</b>	<b>Mírné PP</b>
<b>Vytrvalé jeteloviny</b>		<b>Jednoleté jeteloviny</b>	
Kudzu	Vojtěška	Peluška	Jetel egyptský
Podzemnice vytrvalá <sup>1</sup>	Jetel vytrvalý	<i>Kummerowia stipulacea</i>	Tolice dětelová
<i>Sericea lespedeza</i>	Štírovník růžkatý	Sója	Vikev setá
	Jetel luční	<i>Lespedeza cuneata</i>	Inkarnát
	Jetel plazivý	Velvetbean	Vikev huňatá
			Jetel ladní <sup>3</sup>
			Jetel perský
			Jetel nachový
			Jetel podzemní
			Komonice <sup>2,3</sup> , aj.

<sup>1</sup>často nebo výhradně se rozmnožuje vegetativně, <sup>2</sup>tato rostlina může být jednoletou nebo dvouletou, <sup>3</sup>na jihu se vyskytuje více než jeden druh

Jeteloviny jsou hlavním zdrojem rostlinných bílkovin s vysokou biologickou hodnotou a stimulačním mlékotvorným účinkem. Nejvyšší obsah bílkovin je obsažen v listech – až 70 %, které jsou lépe stravitelné. Stonky jetelovin se vyznačují velmi rozdílným stupněm lignifikace, který negativně ovlivňuje výslednou stravitelnost. Jeteloviny jsou obecně bohaté na Ca a jsou cenným zdrojem beta-karotenu. Oproti travinám mají menší obsah lehce rozpustných sacharidů (v sušině 5 až 12 %). Přednosti jetelovin jsou redukovány jejich zvýšeným nadýmavým účinkem, který je patrný vždy po

náhlém zařazení jetelovin do krmných dávek, při krmení mokrých, silně orosených nebo zapářených pícnin. Zvýšené nadýmání účinky jsou způsobeny tvorbou pěny v bachoru z vodorozpustných bílkovin a obsahem saponinů (sapogenin) (Zeman a kol., 2006).

Jeteloviny v porovnání s trávami běžně obsahují více dusíkatých látek, méně buněčných stěn, v průběhu stárnutí píce pomaleji hromadí lignin a pomaleji klesá i stravitelnost. Ačkoli celkový obsah ligninu v jetelovinách bývá vyšší, vzhledem k méně difúznímu charakteru lignifikace jsou fermentační charakteristiky jetelovin lepší (Míka, 1988; cit. Čermák a kol., 2004b). Nejvyšší výživnou hodnotu z jetelovin má vojtěška setá, která má poměrně i vysokou degradovatelnost dusíkatých látek (75 až 78 %). Její nutriční hodnota se během vegetace velmi rychle mění, neboť rychle lignifikuje. Jetel luční má oproti vojtěšce méně dusíkatých látek (165 až 191 g/kg sušiny) a méně sirných aminokyselin. Jetel luční se vyznačuje v porovnání s vojtěškou vyšším obsahem vodorozpustných sacharidů (8 až 12 %), nižší koncentrací vlákniny, tj. pomalejší lignifikace. Využití hybridů různého stupně zralosti (Vesna, Kvarta, Tempus, Radegast) prodlouží dobu hospodářského využití (Zeman a kol., 2006). Mezi významné druhy jetelovin z hlediska výživy polygastrů lze zařadit jetel luční, odrůda Tábor, jetel zvrhlý, odrůda Tábořský a štírovník růžkatý, odrůda Majelovský. Hodnocený jetel luční (odrůda Tábor) byl sklizen na 1. seči ve třech vegetačních fázích a to od květních pupat neznatelných po fázi po odkvětu. Analyzované hodnoty vyjadřují změny vlákninového spektra v závislosti na vegetační fázi. V ranějších fázích se obsah neutrálně detergentní vlákniny (NDF) pohybuje rozmezí 27 až 28 % a acido detergentní vlákniny (ADF) okolo 20 %. Podíl ADF z NDF je 77 až 79 %, což je vyšší než u trav. Ve fázi odkvětu se obsah NDF zvýšil na 49 % a ADF na 40 %. Podíl ADF z NDF se rovněž mírně zvýšil. Se stářím porostu se zvyšuje i celkový obsah celulózy, hemicelulózy a ligninu. Stejně jako u trav nebyly u jetele lučního zjištěny změny vlákninového spektra po silážování. Se stářím porostu se snížila bachorová degradovatelnost NL z 83 % na 74 % (Kadlec a kol., 2000; cit. Čermák a kol. 2004b).

Omezení zkrmovaného množství jetelovin spočívá rovněž v nepříznivých nadýmacích účincích, zejména u ladných nebo mokrých pícnin s různě vysokým obsahem fytoestrogenních látek. Jeteloviny jsou pěstovány buď jako monokultura, ale velký význam mají i jako součást lučních a pastevních porostů, kde výrazným způsobem ovlivňují kvalitu těchto porostů (Čermák a kol., 2004b). Významnými pícninami zejména v pastevních porostech jsou jetel plazivý (bílý) a švédský (zvrhlý). Ve vyšších bramborářských oblastech nacházejí uplatnění především jetelotravní směsky (vojtěškotrávy, jetelotravy).

Tyto jetelotravní směsky jsou polobilkovinným krmivem s vyrovnaným poměrem živin a nízkou inkrustací ligninem. Termín sklizně určují fenologicky jeteloviny. Významným zdrojem živin jsou krátkodobé směsky (2 až 3 roky) tetraploidních jetelů s různými mezirodovými hybridy trav. Tyto směsky se vyznačují nízkou koncentrací vlákniny (do 22 až 24 %), vyšší produkcí biomasy a rozšířeným poměrem živin (Zeman a kol., 2006).

Tabulka 2

Růstové fáze a morfologický popis růstu vojtěšky a jetele červeného (Skinner a Moore, 2007).

Index	Fáze	Morfologický popis	
		Vojtěška <sup>a</sup>	Jetel červený <sup>b</sup>
<i>Vegetativní fáze</i>			
0	Časná	Délka stonku ≤ 15 cm, bez pupat, květů a semen	Délka stonku ≤ 15 cm, bez pupat, květů a semen
1	Střední	Délka stonku 16-30 cm, bez pupat, květů a semen	Délka stonku 15-30 cm, bez pupat, květů a semen
2	Pozdní	Délka stonku ≥ 31 cm, bez pupat, květů a semen	Délka stonku ≥ 31 cm, bez pupat, květů a semen
<i>Tvorba pupat</i>			
3	Časná	1-2 kolénka s pupaty, bez květů a semen	1-2 kolénka s pupaty, bez květů a semen
4	Pozdní	≥3 kolénka s pupaty, bez květů a semen	≥3 kolénka s pupaty, bez květů a semen
<i>Kvetení</i>			
5	Časné	1 kolénko s 1 rozvitým květem, bez semen	Rozvitý květ na hlavním stonku, bez semen v květenství
6	Pozdní	≥ 2 kolénka s rozvitými květy, bez semen	Rozvité květy na hlavním a axilárních stoncích, bez semen v květenství
<i>Tvorba semen</i>			
7	Časná	1-3 kolénka se zelenými semeny	Tvorba semen v květech na hlavním stonku
8	Pozdní	≥4 kolénka se zelenými semeny	Tvorba semen v květech na hlavním a axilárních stoncích.
9	Zralá	Kolénka se zralými (většinou hnědými) semeny	Hnědnoucí kališní lítky květů

<sup>a</sup>Fick a Mueller, 1989.

<sup>b</sup>Ohlsson a Wedin, 1989.

## 2.2. Význam živin ve výživě přežvýkavců

Krmiva, která zvířata přijímají, mají schopnost zaplnit do určité míry trávicí trakt a tím uspokojit pocit hladu. Avšak ne všechna krmiva jsou schopna v přijatém množství

dodat organismu látky – živiny potřebné pro stavbu jeho tkání, případně dodat látky, které mohou být zpracovány na tvorbu produktu. Podle skladby živočišných orgánů a skladby živočišné produkce známe živiny, které musí být organismu dodány. Proto při praktickém krmení, sestavování krmné dávky, vycházíme z porovnání kolik a jakých živin zvíře potřebuje a kolik a jakých živin je obsaženo v podávaných krmivech. Prostá znalost obsahu živin v krmivech však nestačí, protože ne všechny živiny v rozličných krmivech jsou stejně tráveny a stejně využívány. Živiny v krmivech jsou látky, které jsou po přijetí a strávení schopny být v organismu zvířete metabolizovány. Jsou to látky organického i neorganického původu. Organické látky vedle schopnosti zabudovat se do nově tvořených tkání vlastního těla, případně produktů, uvolňují při jejich štěpení energii. Anorganické látky jsou zabudovávány do tkání těla nebo produktu, ale neuvolňují při svém štěpení energii. Hlavní energetické živiny jsou dusíkaté látky, tuky a sacharidy (Kudrna a kol., 1998).

Výživná hodnota krmiv se posuzuje podle energetické hodnoty stanovené na základě obsahu živin a stravitelnosti. Obsah živin se zajišťuje chemickou analýzou krmiva a stravitelnost živin biologickými testačními metodami *in vivo* nebo *in vitro* (Kacerovský a kol., 1990).

Tabulka 3  
Chemické složení krmiv (Zeman a kol., 2006).

Voda				
Sušina	dusíkaté látky		bílkoviny aminokyseliny Lys, Met, Thr, Trp	
			nebílkovinné látky	močovina
	lipidy		tuky	k.linolová
			vosky	
			jiné	
	sacharidy	vláknina	celulóza	hexóza
			hemicelulóza	pentózy (a hexózy)
			lignin	
		BNLV	polysacharidy	škroby
	monosacharidy		cukry	
popeloviny		makroprvky	Ca, P, Na, K, S, Mg, Cl	
		stopové prvky	Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Se, I	

### 2.2.1. Voda

Voda, která je v důsledku slabé disociace chemicky inertní, se účinkem enzymů zapojuje do řady biochemických reakcí. V těle plní transportní funkci. Vodou se přenášejí

živiny, metabolity, enzymy a hormony z jednoho orgánu do druhého. Vodou se z tkání odstraňují a z organismu odvádějí konečné produkty metabolismu. Rovněž se podílí na tepelně regulačních procesech, zabraňuje přehřátí organismu při namáhavé práci, zabezpečuje rovnoměrné rozdělování tepla v organismu aj. Voda se v organismu rozděluje na dvě části: (1) nitrobuněčná voda (asi 70 % z celkového množství vody) a (2) mezibuněčná voda (30 %). Vodu, kterou zvířata dostávají, se rozděluje na: (1) exogenní (pitná voda, voda obsažená v krmivech) a (2) endogenní (oxidační voda) (Zeman a kol., 2006).

Nedostatek vody snáší organismus hůře než hladovění. Při hladovění může organismus ztratit až 40 % vlastní hmotnosti. Naopak při snížení hmotnosti žízněním o 4 až 5 % pozorujeme neklid a odmítání krmiva, při snížení hmotnosti o 6 až 8 % se objevují příznaky dehydratační vyčerpanosti, která se projevuje poruchami funkcí centrální nervové soustavy (CNS), při ztrátě 15 až 20 % živé hmotnosti v důsledku dehydratace dochází k úhynu zvířat. Denní potřeba vody (orientačně): tele (8 – 25 litrů), mladý skot (25 – 60 litrů), dospělý skot (45 – 250 litrů), prase ve výkrmu (8 – 11 litrů), kojící prasnice (18 – 25 litrů) a kůň dospělý v tréninku (30 – 60 litrů) (Zeman a kol., 2006).

Voda je obsažena v různém množství prakticky ve všech krmivech. V převážné míře se vyskytuje v krmivech ve formě volné vody, sloužící v buňkách jako rozpouštědlo organických a anorganických látek. Volná voda se ze vzorku lehce odstraňuje sušením. Druhou formou je voda vázaná, a to hlavně fyzikálně-chemickými a chemickými vazbami. Tato forma se především vyskytuje v minerálních krmivech a krmných doplňcích. Z krmivářského hlediska má praktický význam volná voda. Všechny živiny, které krmivo kromě vody obsahuje, se nazývá sušina (Kacerovský a kol., 1990).

Obsah vody je důležitý z hlediska výživné hodnoty krmiva. Krmiva s vysokým obsahem vody (např. zelená krmiva, okopaniny) mají málo sušiny, a proto také málo živin. Naopak krmiva s nízkým obsahem vody, tedy s vysokým obsahem sušiny (např. suchá objemná krmiva a hlavně jadrná krmiva), mají i vysoký obsah živin. Na obsahu vody v podstatné míře záleží skladovatelnost krmiv. Krmiva s vysokým obsahem vody mají omezenou skladovatelnost a s nízkým obsahem sušiny např. zhoršenou silážovatelnost. V oblasti krmivářství a výživy je častějším pojmem obsah sušiny než obsah vody, popř. vlhkosti (Kacerovský a kol., 1990).

### **2.2.2. Sušina**

Sušina je zbytek krmiva po vysušení. Předsušený vzorek krmiva se suší při 103 °C do konstantní hmotnosti (Zeman a kol., 2006). Sušina reprezentuje vše ve vzorku krmiva kromě vody (tj. dusíkaté látky, sacharidy, vláknina, tuk, minerály, vitamíny) (Bečvářová, 2010).

Z hlediska významnosti pro organismus dělíme živiny obsažené v sušině na energetické, stavební a účinné látky. Energetické živiny jsou výlučně látky organické a jsou nezbytné pro zachování energetické rovnováhy organismu, pro tvorbu tělní hmoty atd. (Zeman a kol., 2006). Při stanovení výživné hodnoty krmiv je třeba vždy stanovit sušinu původní hmoty. Sušinu rozborového vzorku je nutno zjistit vždy současně s každým stanovením dalších živin (Kacerovský a kol., 1990).

### **2.2.3. Organická hmota**

Organická hmota (OH) se stanovuje z chemické analýzy výpočtem jako rozdíl mezi obsahem sušiny a popele (g/kg krmiva) (Zeman a kol., 2006).

### **2.2.4. Organické kyseliny**

K energetickým živinám patří i organické kyseliny. Z mnoha, které mohou do metabolismu zvířat vstoupit, mají ve výživě zvláštní důležitost kyselina mléčná, octová, propionová, mravenčí a máselná, a to proto, že některé z nich jsou produkovány bachorovou mikroflórou, jiné mikroflórou při silážování a jsou využívány jako energetické zdroje, zejména přežvýkavci. Mimořádný význam ve výživě přežvýkavců mají kyseliny octová, propionová a máselná, jejichž energetické potřeby jsou kryty zhruba ze 70 % právě prostřednictvím těkavých mastných kyselin (TMK), vznikajících ze sacharidů v průběhu bachorové fermentace (Zeman a kol., 2006).

### **2.2.5. Lipidy**

Třetí hlavní skupinou energetických živin jsou lipidy, z nich nejvýznamnější složkou jsou tuky. Lipidy a lipoproteiny jsou heterogenní skupinou látek. Jsou strukturálně odlišné, ale jsou si blízké svými fyzikálními vlastnostmi. Tyto fyzikální vlastnosti je předurčily k jejich hlavním úkolům v organismu. Jde hlavně o stavbu buněčných membrán, které jsou tvořeny převážně cholesterolem a fosfolipidy. Lipidy jsou klasifikovány na (1) lipidy jednoduché (mastné kyseliny, volný cholesterol) a (2) lipidy složené (esterifikovaný cholesterol, triacylglyceroly, fosfolipidy) (Zeman a kol., 2006).

### 2.2.6. Dusíkaté látky

Dusíkaté látky jsou ve výživě zvířat nezastupitelné. Existence živočichů a jejich produkce jsou podmíněny přítomností a zdroji využitelných forem dusíkatých látek. Dusíkaté látky patří svým charakterem do stavebních živin, ale část z nich může být využita v organismu jako energetický zdroj. Dusíkaté látky vyjadřují obsah dusíku v krmivu jako prvku násobeného zpravidla koeficientem 6,25 (resp. podobným koeficientem), který je odvozen ze skutečnosti, že bílkoviny obsahují 16 % dusíku. Tento koeficient je u některých krmiv odlišný, např. pro mléko je 6,38, živočišné moučky 6,0, obiloviny a mlýnská krmiva 5,25. Z výživářského hlediska jsou dusíkaté látky rozdělovány na: (1) bílkoviny (dělí se na proteiny a proteidy) a (2) nebílkovinné dusíkaté látky (dělí se na aminokyseliny, amidy, alkaloidy, peptidy, nukleové kyseliny, glykosidy obsahující dusík, purinové a pyrimidinové zásady, amonné soli, amoniak, močovinu aj.) (Zeman a kol., 2006).

### 2.2.7. Sacharidy

Optimální zastoupení sacharidů ve výživě zvířat je základním předpokladem pro dosažení požadované produkce, zachování zdraví zvířat, reprodukce i vysoké nutriční hodnoty vyráběných potravin. Sacharidy se člení na monosacharidy, disacharidy, trisacharidy a polysacharidy. Polysacharidy jsou ve výživě přežvýkavců nejdůležitější skupinou energetických živin, z nichž velmi významné jsou zvláště hexózy, např. škrob a celulóza. Celulóza je základní podpůrnou látkou rostlinné buňky. Čistá celulóza se vyskytuje v rostlinách zcela vyjíměčně. V krmivech bilancujeme celulózu s dalšími látkami, a to především pod pojmem vláknina (Zeman a kol., 2006).

Kvantitativní i kvalitativní změny nutriční hodnoty pastervevní píce jsou přímo úměrně závislé na botanickém druhu píce, vegetační fázi, půdním typu, klimatických podmínkách (množství srážek, teplotní režim), způsobu případného hnojení porostu, době sklizně i nadmořské výšce (Beever a Mould, 2000; Dubbs a kol., 2003). Vliv vegetační fáze jetelovin na kvalitu objemného krmiva je vyjádřen v obrázku 3 (Ball a kol., 2001).

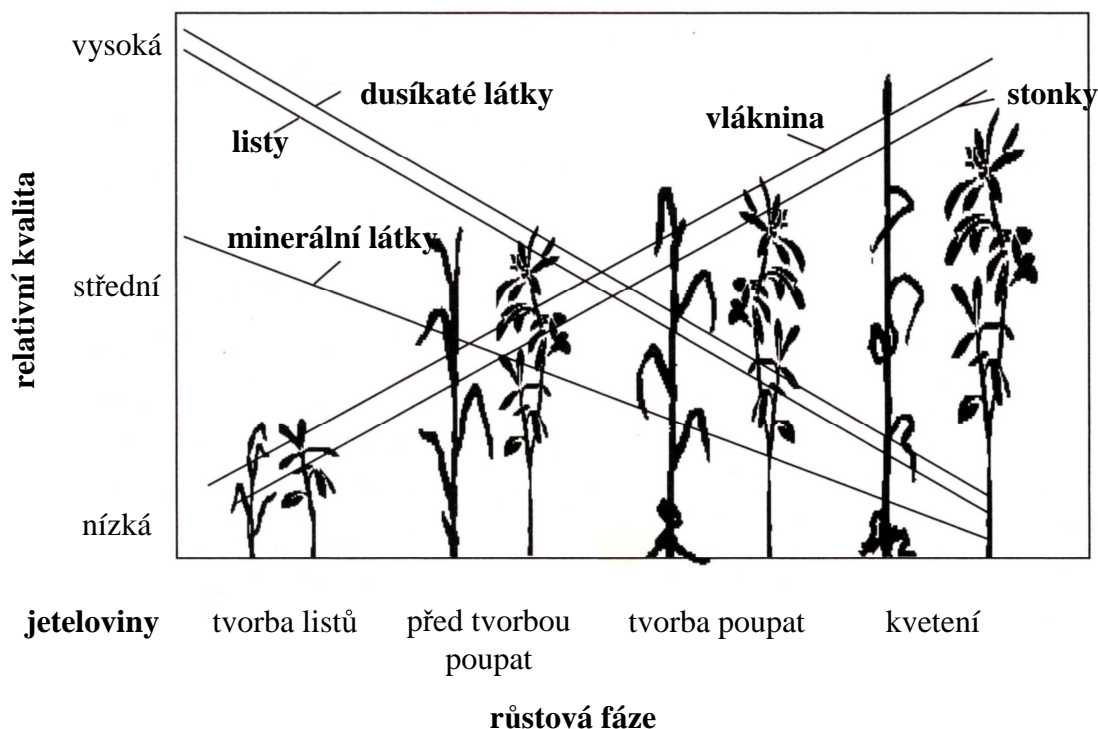
Nutriční hodnota a kvalita píce je mimo jiné výslednicí působení pozitivních a negativních faktorů prostředí. Kvalita píce se zhoršuje vlivem stárnutí rostliny. Variabilita ve složení rostlin ve stejném stáří a vegetačním období je způsobena také genotypovými rozdíly v rámci píce nebo jednotlivých druhů píce, stejně tak jako fyziologické parametry jednotlivých rostlin jsou výsledkem vlivu prostředí, které ovlivňuje chemické složení



(Van Soest, 1994). V tabulce 4 jsou uvedeny faktory ovlivňující užitkovost rostlin a hospodářských zvířat (Marten a kol., 1988).

Obrázek 3

Vliv vegetační fáze jetelovin na příjem a stravitelnost píce (Ball a kol., 2001).



Tabulka 4

Faktory ovlivňující nutriční potenciál objemného krmiva a užitkovost zvířat (Marten a kol., 1998).

Užitkovost zvířete					
Využitelné živiny (skutečná nutriční hodnota)					
Komplex rostlina/zvíře					
<ul style="list-style-type: none"> <li>- obsah živin ve vztahu k doporučené potřebě</li> <li style="padding-left: 20px;">- rozsah stravitelnosti živin</li> <li>- rychlost trávení živin a efektivní využitelnost (utilizace) živin</li> <li style="padding-left: 20px;">- dostupnost a chutnost píce, příjem píce</li> <li style="padding-left: 20px;">- odezva na antinutriční faktory, aj.</li> </ul>					
Nutriční hodnota píce			Užitkovost zvířete		
Nutriční hodnota píce	Antinutriční faktory	Příjem píce	Genetické dispozice	Fyziologické dispozice	Vliv faktorů prostředí
<ul style="list-style-type: none"> <li>- genotyp</li> <li>- část píce (stonek, list)</li> <li>- zralost rostlin</li> <li>- klimatické podmínky</li> <li>- půdní podmínky</li> <li>- škůdci</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>- genotyp</li> <li>- hmotnost</li> <li>- pohlaví</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- stáří</li> <li>- kondice</li> <li>- zdravotní stav</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- klimatické podmínky</li> <li>- vliv stáda</li> <li>- obtěžující hmyz</li> </ul>

Sacharidový komplex (vláknina) je jedním z nejvýznamnějších složek píce. Sacharidy obsažené v rostlinných krmivech jsou uloženy v buněčných stěnách (celulóza, hemicelulóza a pektin) a v buněčné protoplazmě (zejména škrob a rozpustné sacharidy, převážně cukry) (Urban a kol.,1997). Podle Van Sauna a Koukala (2003) dělíme veškeré sacharidy na strukturní a nestrukturní sacharidy (tabulka 5).

Tabulka 5

Dělení sacharidových frakcí (Van Saun a Koukal, 2003).

Veškeré sacharidy	
Nestrukturní sacharidy	Strukturní sacharidy (NDF)
a) Cukry	a) Hemicelulóza
b) Škroby	
c) Neutrálně detergentní rozpustná vláknina	b) Acido detergentní vláknina (ADF)
- pektiny	- celulóza
- fruktany	- lignin
- beta-glukany	- mailard protein

Sacharidy (uhlohydráty) tvoří 50 až 80 % biomasy píce. Mají důležité úlohy v primárním metabolismu, přenosu energie, zásob i ve stavbě struktury rostlin. Fotosyntetická energie se váže na sacharidy v Calvinově cyklu a tyto sacharidy jsou výchozími látkami téměř pro všechny prvotní metabolické dráhy v rostlině. Pro přežvýkavce jsou sacharidy hlavním zdrojem energie v krmivu, uvolněné z cca 90 % v bachoru. Strukturní sacharidy zajišťují normální funkci bachoru, stimulují žvýkání, slinění, přispívají k pufrovací kapacitě v bachoru, podílejí se na regulaci příjmu píce (Míka a kol.,1997; cit. Nováková, 2002).

Vláknina je směs celulózy, hemicelulóz a nestavitelných inkrustujících látek (lignin, kutin, křemičitany atd.) (Zeman a kol., 2006). Při jejím posuzování ji nelze hodnotit pouze jako živinu, ale také jako faktor, který zásadním způsobem ovlivňuje kvalitu a množství živočišných produktů a zdravotní stav zvířat (Nováková, 2002). Sacharidy tvoří 70 % a více sušiny krmné dávky (Třináctý a kol., 2000). Zeman a kol. (2006) uvádí, že vláknina jako zdroj stravitelných živin se podílí na energetické hodnotě krmiv, ale také tuto hodnotu výrazně ovlivňuje, a to negativně. Zvlášť výrazný je vztah obsahu vlákniny v krmivu ke stravitelnosti ostatních živin. Podle vzájemného poměru sacharidů (hemicelulóz, celulózy atd.) k ligninu se mění stravitelnost vlákniny. Čím vyšší je zastoupení vlákniny v krmivech, tím je stravitelnost organické hmoty nižší. Podle metabolické zátěže (zejména užítkovosti) kolísá optimální zastoupení vlákniny v sušině

krmné dávky přežvýkavců (18 až 20 % pro ovce a 15 až 26 % pro skot) (Zeman a kol., 2006).

V souvislosti se stupněm lignifikace je nejdůležitějším ovlivňujícím faktorem vegetační fáze. Stárnutí rostlin je doprovázeno zvětšováním podílu buněčných stěn a jejich lignifikací. Tím dochází k relativnímu úbytku rozpustných, daleko rychleji degradovatelných sacharidů. Vysoká teplota zvyšuje lignifikaci buněčných stěn. Je to spojeno s tím, že při vysokých teplotách rostliny daleko rychleji vývojově dozrávají, stárnou a jejich buněčná stěna je daleko méně rozpustná v bachoru. To je důvod, proč krmiva ze třetích sečích, sklízená v chladnějším prostředí, mají daleko menší množství NDF a nedegradovatelných zbytků. Světlo naopak působí pozitivně na zvýšení stravitelnosti. Souvisí to s efektem fotosyntézy, při kterém jsou vytvářeny rozpustné sacharidy. Obsah ligninu se v rostlinách zvyšuje jejich stárnutím (Kowalczyk a Zebrowska, 2000), lignifikovaná rostlinná pletiva brání stravení ostatních složek rostlinné hmoty (Grenet a Jamot, 1990). Stárnutí rostlin je provázeno zvětšováním podílu buněčných stěn a jejich lignifikací, tím dochází k relativnímu úbytku rozpustných, daleko rychleji degradovatelných sacharidů. S procesem lignifikace je spojena i nižší využitelnost buněčných stěn (Grenet, 1970). Proces stárnutí rostlin nejvíce ovlivňují teplo a světlo jakožto nejdůležitější podmínky životního prostředí. Vysoká teplota zvyšuje lignifikaci buněčných stěn, rostliny rychleji dozrávají, stárnou a jejich buněčná stěna je daleko méně rozpustná mikrobiální činností v bachoru. Světlo naopak zvyšuje stravitelnost, to je dáno efektem fotosyntézy, při které jsou vytvářeny rozpustné sacharidy (Van Saun a Koukal, 2003). Růstová fáze bývá často používána jako empirický indikátor kvality píce a doby sklizně. Vysoká kvalita píce je spojena s rychlým trávením vlákniny a vysokým příjmem „neutrálně detergentní vlákniny (NDF)“ (Míka, 1988). Dalším z mnoha faktorů, který také ovlivňuje využitelnost sacharidů v bachoru, je úprava krmiv. Druhá skladba a způsob zpracování krmiv má též značný vliv na jejich využitelnost a rychlost fermentace (Van Saun a Koukal, 2003).

Obsah ligninu negativně koreluje se stravitelností organické hmoty. V trávicím traktu je lignin prakticky nestravitelný (Grenet a Jamot, 1990), neboť struktura ligninu je chaotická (Vencl, 1990). Acetylové skupiny jsou vázány hlavně na hemicelulózy a pektin (Grenet a Jamot, 1990). To spolu s těmito velmi stabilními uhlíkovými (C-C) a esterovými vazbami způsobuje jeho obtížnou štěpitelnost (Vencl, 1990), neboť lignin způsobuje především vznik balastu (Kowalczyk a Zebrowska, 2000), který mechanicky brání kontaktu digestivních hydrolytických enzymů s živinami krmiva (Grenet a Jamot, 1990).

Jsou známé inhibiční účinky ligninu i jeho degradačních produktů na trávicí enzymy a jejich reakce ve snížení resorpce proteinů z krmiva (Kowalczyk a Zebrowska, 2000).

### 2.3. Fyziologie trávení přežvýkavců

Výživa přežvýkavců významně ovlivňuje produkci bakteriální biomasy v bachoru, kvalitu bachorové fermentace, zdravotní stav a užitkovost zvířat (Koukolová a Homolka, 2008).

Předžaludek přežvýkavců se skládá z bachoru (*rumen*), čepce (*reticulum*) a knihy (*omasus*). Vlastní žaludek se nazývá slez (*abomasus*) (Reece, 1998). Bachor, čepce a kniha zaujímají 52 % celkového objemu trávicí soustavy dospělé dojnice, slez 6 %, tenké střevo 28 % a tlusté střevo 14 % (Kudrna a kol., 1998).

Největší objem trávicího ústrojí skotu představuje bachor. Bachorové prostředí má parametry vhodné pro mikroorganismy podílející se na trávení krmiva. Vyznačuje se anaerobiózou, stálou teplotou (39°C), mírně kolísajícím osmotickým tlakem a hodnotami pH zpravidla mezi 5,8 a 7,2. Stabilita pH je v bachoru udržována přísunem pufrujících látek slinami a odvodem kyselých fermentačních produktů bachorovou stěnou (Urban a kol., 1997).

Předžaludek přežvýkavců je adaptován pro bakteriální fermentaci přijatého krmiva (Reece, 1998). Bakteriální fermentace v předžaludcích umožňuje přežvýkavcům získávat energii, která by se jiným způsobem získat nedala (Sova a kol., 1990). Mikrobiální enzymy tráví rostlinné buňky fermentací. Fermentace vyžaduje řízené podmínky pro dosažení maximální rychlosti degradace. Tyto podmínky se udržují odpovídající sekrecí, motilitou a teplotou. Vyvrhování soust k přežvykování napomáhá fermentaci tím, že se potrava rozmělnuje na jemnější částice s větším povrchem, což umožňuje lepší mikrobiální fermentaci. Během přežvykování dochází znovu i k dokonalejšímu proslinění, které rovněž přispívá k dobrému průběhu fermentačního procesu (Reece, 1998).

Funkce předžaludku přežvýkavců (Reece, 1998):

- 1) Bachor umožňuje provlhčení a fermentaci objemného krmiva s vysokým obsahem vlákniny. Vzhledem k jeho pohybům se zde krmivo neustále promíchává.

- 2) Čepec slouží jako pumpa, která způsobuje to, že tekutina se dostává do bachoru a zase zpět. Čepec řídí průchod řídkého obsahu bachoru do knihy a pumpuje krmivo k česlu pro rejekci a následné přežvýkání.
- 3) Kniha umožňuje pokračující fermentaci a resorpci (vstřebávání je podporováno velkým povrchem listů uvnitř knihy) a reguluje přemísťování krmiva mezi čepcem a slezem.
- 4) Slez, jako vlastní žaludek, umožňuje běžné funkce žaludku. Trávení rozloženého objemného nebo koncentrovaného krmiva začíná u zbytků fermentace, které se dosud nevstřebaly. Tráví se zde i mikrobi namnožení při fermentaci v předžaludku.

Chemické i mikrobiální procesy v bachoru (fermentace), která v bachoru a čepci přežvýkavců probíhá je způsobena činností bakteriálních a protozoálních mikroorganismů. Mikroorganismy bachoru se zúčastňují hydrolýzy sacharidů a bílkovin (Reece, 1998). Štěpení peptidů se uskutečňuje se snižující se délkou řetězce až na volné aminokyseliny, které jsou většinou destruovány fermentativní deaminací doprovázenou produkcí oxidu uhličitého, amoniaku a těkavých mastných kyselin) a především sacharidů. Trávení sacharidů v bachoru přežvýkavců je podrobně popsáno v kapitole 2.4.1.

Bakterie realizují asi 80 % bachorového metabolismu (okolo  $10^{11}$  bakterií v 1 ml bachorového tekutiny). Prvoci – nálevníci provádějí asi 20 % bachorového metabolismu (asi  $10^6$  nálevníků v 1 ml bachorového obsahu). Tyto mikroorganismy jsou anaerobní, což znamená, že žijí bez přístupu kyslíku. Jak bakterie, tak i prvoci produkují při fermentaci krmiva těkavé mastné kyseliny s krátkým řetězcem, oxid uhličitý a metan (Reece, 1998). Výsledným produktem této fermentace jsou těkavé mastné kyseliny (TMK) – octová, propionová a máselná (Illek a Matějček, 2002). Mikrobiální fermentací vzniklé kyseliny se vstřebávají do krve přes bachorovou stěnu (Kudrna a kol., 1998) a slouží tak k nezbytné úhradě energetických potřeb zvířete (Kowalczyk a Zebrowska, 2000). Vzájemný poměr produkce acetátu a propionátu závisí na zastoupení vlákniny a koncentrátů v krmné dávce (Kudrna a kol., 1998), proto je nutné ve výživě přežvýkavců vycházet ze speciálního způsobu přeměny krmiv v jejich trávicím traktu na konečné živočišné produkty.

Bachorová mikrobiální populace vytváří jeden z nejkompexnějších mikrobiálních ekosystémů (Vajda a kol., 2003), který lze rozdělit do tří fází (Bartoš S., 1987; Van Soest, 1994):

- 1) Mikrokolonie mikroorganismů přichycených na částech krmiva.
- 2) Populace mikroorganismů přichycených na epiteliální buňky mukosy retikulo-rumenu.
- 3) Populace mikroorganismů, které se nachází volně v bachorové tekutině. Do této fáze s konečnou platností přecházejí mikrobiální buňky, uvolněné z obou výše zmíněných fází, až již po vyčerpání substrátu nebo po odumření.

## **2.4. Trávení organické hmoty u přežvýkavců**

Praktický projev geneticky daného užitkového potenciálu hospodářských zvířat je do značné míry dán mírou uspokojení jejich potřeb v oblasti výživy a krmení. Pro predikci výživné hodnoty krmiv je vedle informací o jejich složení významná znalost stravitelností. V současném systému vyjadřování výživné hodnoty krmiv se jedná o stravitelnost organické hmoty, dusíkatých látek a v oblasti dusíkatých živin degradovatelnost dusíkatých látek (Deg) a stravitelnost nedegradovatelných látek v tenkém střevě (Dsi) (Pozdíšek, 1999).

### **2.4.1. Trávení sacharidů**

Sacharidy jsou hlavním komponentem výživných látek rostlin, které jich obsahují podle druhu 40 až 80 %. Sacharidy se v rostlinách nacházejí ve formě jednodušších cukrů a polysacharidů. Předpokládá se, že převážná část přijatých sacharidů se štěpí už v bachoru. Podle některých údajů se v bachoru štěpí do 95 % jednoduchých cukrů a škrobu. Sacharidy, které přicházejí do bachoru, se účinkem bakteriálních enzymů nejdříve přeměňují na jednoduché cukry, které se dalším působením bakterií zkvašují až na mastné kyseliny (Sova a kol., 1990).

Trávení vlákniny. Součástí vlákniny je celulóza, hemicelulóza, lignin a jiné látky. Základní význam pro výživu přežvýkavců má celulóza, které rostliny obsahují 20 až 45 % (Sova a kol., 1990). Rozlišujeme frakce na NDF, ADF a ADL (acido detergentní lignin). Hlavní funkcí NDF frakce v krmné dávce přežvýkavců je poskytovat energii pro

mikrobiální syntézu, zajišťovat správnou činnost bachoru a tím i zdravotní stav zvířat (Mertens, 1994; Eastridge, 2006). Avšak příliš vysoké množství NDF v krmné dávce může negativně ovlivnit příjem krmiva zvířaty, neboť tato frakce krmiva pak převažuje v obsahu bachoru. Vlákna ovlivňuje plnivost bachoru – příjem krmiva je ovlivňován koncentrací přijaté vlákniny v krmné dávce spolu s kinetickou činností bachoru (Mertens, 1994; Stensig a kol., 1994). Variabilitu využitelnosti vlákninové frakce v krmné dávce přežvýkavců lze tedy charakterizovat jako parametr závislý na celé řadě asociativních faktorů - botanickém druhu píce, vegetační fázi porostu, způsobu konzervace, apod. (Marten a kol., 1998; tabulka 4). Proto je stanovení NDF prioritní chemickou analýzou užívanou k predikci příjmu píce (Van Soest, 1994).

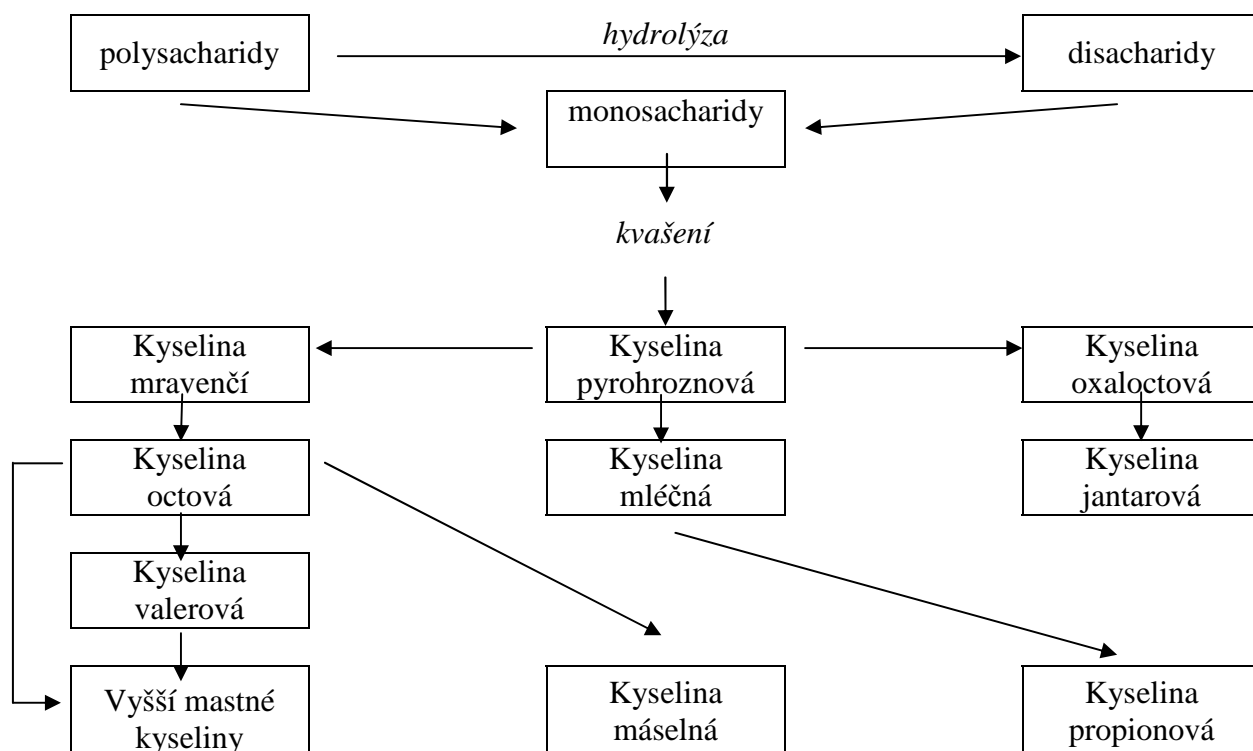
Vzhledem k tomu, že zvířata nemají trávicí žlázu vylučující enzymy pro trávení vlákniny, je její trávení a utilizace nejdůležitější funkcí bachorových mikroorganismů. Na trávení v bachoru se nemůžeme dívat izolovaně od ostatních výživných látek, protože mikroorganismy potřebují pro své životní pochody, růst a rozmnožování i další výživné látky. V bachoru se využívá celkem 60 až 70 % stravitelné vlákniny v těle. Celková stravitelnost vlákniny v trávicím ústrojí přežvýkavců kolísá v rozsahu 30 až 80 % (Sova a kol., 1990).

Hydrolyza celulózy probíhá v těchto stádiích (Míka a kol., 1997):

- 1) Působením enzymu depolymerázy se celulóza štěpí na menší, rozpustné a nerozpustné části.
- 2) Enzym podobný amyláze štěpí glykosidové sloučeniny, přičemž vzniká cellobiáza a jiné disacharidy.
- 3) Enzym cellobiáza štěpí tyto sloučeniny na glukózu. Glukóza se dále zkvašuje na různé mastné kyseliny.

Strukturní komponenty (celulóza, hemicelulóza a lignin) mají velký význam pro biochemické pochody v bachoru přežvýkavců (Janknecht, 2000). Štěpení celulózy je jedním z nejdůležitějších pochodů v bachoru přežvýkavců (Urban a kol., 1997). Hydrolyza celulózy pomocí enzymů 1,4- $\beta$ -glukosidázou (celulázou) v bachoru přežvýkavců souvisí se vznikem důležitých metabolických meziproduktů a s uvolňováním energie, transformované do molekul ATP (Horák a Staszková, 1998).

Schéma 1. Přeměna sacharidů v bachoru přežvýkavců (Sova a kol., 1990).



#### 2.4.2. Trávení dusíkatých látek

Do bachoru přicházejí dusíkaté látky z několika zdrojů. Největším zdrojem je krmivo. Jsou v něm obsaženy bílkoviny, aminokyseliny, nukleové kyseliny, močovina, dusičnany aj. Druhým, co do významu, je endogenní močovina. Vzniká detoxikací amoniaku v játrech a do bachoru je transportována slinami nebo bachorovou stěnou, jde o tzv. hepatoluminální cyklus močoviny. Jistý význam pro zásobování bachorových mikroorganismů bílkovinami má i deskvance epitelu v bachoru. Fixace vzdušného dusíku v bachoru je mizivá a bylo zjištěno, že se pohybuje od 0,1 do 0,2 mg N<sub>2</sub>/den, což představuje 0,02 – 0,2 % N krmiva. Schopnost vázat plynný dusík v bachoru je zřejmě způsobena kontaminací bakteriemi, schopnými vázat tento plyn (Bartoš, 1984).

Hlavním a přirozeným zdrojem dusíkatých látek jsou bílkoviny. Jejich kvalita a množství v různých krmivech značně kolísají. Bílkoviny jsou v bachoru odbourávány skupinou proteolytických mikroorganismů přes polypeptidy, peptidy, aminokyseliny až na amoniak. Bachorové mikroorganismy jsou schopny využívat amoniak pro syntézu svých vlastních bílkovin. Bakteriální proteázy jsou složité enzymy, které nepodléhají metabolické kontrole, jejich zastoupení se příliš nemění a není závislé na různých podílech proteinů v



potravě. V bachoru může být degradováno 40 až 90 % bílkoviny krmiva, které mohou být transformovány na mikrobiální bílkoviny (Zahrádková a kol., 2009).

Tvorba amoniaku a syntéza bakteriální bílkoviny jsou závislé na (Zahrádková a kol., 2009):

- množství a složení bílkovin a dusíkatých látek v krmivu
- rozpustnosti proteinu
- obsahu pohotové energie v krmivu
- stabilním bachorovým prostředím (pH 6 až 7)

Podle Richtera a Třináctého (2009) je cílem současných systémů výživy přežvýkavců v oblasti dotace proteinu (dusíkatých látek) co nejpřesněji predikovat tok jednotlivých proteinových frakcí do tenkého střeva. Principem systému hodnocení proteinu dle NRC (2001) pro optimalizaci krmných dávek je správná predikce duodenálního toku stravitelné složky tří frakcí: (1) mikrobiálního proteinu, (2) ruminálně nedegradovaného proteinu (RUP) a (3) endogenního proteinu (ECP). Nejvýznamnější frakcí je mikrobiální protein, který je stavební látkou mikroorganismů podílejících se na trávicím procesu v bachoru. Svým aminokyselinovým složením se řadí ke kvalitním proteinům a nahrazuje tak z velké části nepřítomnost živočišného proteinu v krmivu přežvýkavců. Druhou významnou frakcí je nedegradovaný protein krmiva (ruminálně nedegradovaný protein (RUP)). Je to protein, který unikl degradačnímu procesu v bachoru a jehož množství pozitivně koreluje s rychlostí degradace proteinu odpovídající danému typu krmiva a s výtokovou rychlostí ovlivněné především příjmem sušiny. V této souvislosti je třeba zmínit složku proteinu krmiva, která je v bachoru degradovaná (ruminálně degradovaný protein (RDP)), která se podílí spolu s energetickou složkou krmiva na syntéze výše zmiňovaného mikrobiálního proteinu. Třetí frakce zahrnuje endogenní protein (ECP), pocházející ze slin, trávicích enzymů a odumřelých buněk epitelu trávicího traktu. Vzhledem k jejímu minoritnímu významu není tato frakce, např. v případě systému INRA (1988) do výpočtu toku stravitelného proteinu zahrnuta. Naopak, systém NRC (2001) za účelem zpřesnění predikce hodnoty metabolizovatelného proteinu počítá i s touto frakcí (Richter a Třináctý, 2009).

V naší republice používaný systém hodnocení dusíkatých látek pro přežvýkavce, označovaný jako PDI systém (PDI = protein skutečně stravitelný v tenkém střevě), vychází z francouzského systému INRA. PDI systém hodnocení dusíkatých látek zohledňuje

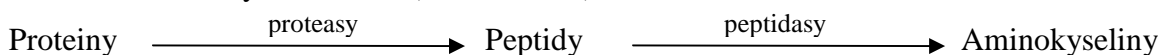
mikrobiální fermentaci v bachoru, degradaci dusíkatých látek krmiva i rozdílné využití dusíkatých látek vstupujících do tenkého střeva. Větší část tvoří mikrobiální protein, menší část nedegradovaný protein krmiva a zbytek proteinu je endogenního původu. Vzájemný poměr proteinu z obou exogenních zdrojů je ovlivňován degradovatelností dusíkatých látek krmiva. Degradovatelné dusíkaté látky představují zdroj dusíku pro bachorové mikroorganismy, nedegradovatelné dusíkaté látky jsou přímým zdrojem aminokyselin v tenkém střevě pro zvíře (Zeman a kol., 2006).

V trávicím traktu přežvýkavců probíhá proces dvojí konverze proteinu. První konverze probíhá v bachoru, kde protein i dusíkaté látky nebílkovinné jsou odbourávány na amoniak a z amoniaku je zpětně resyntetizován mikrobiální protein. Z dusíkatých látek krmiva se 50 až 80 % přemění v bílkoviny mikroorganismů. Druhá konverze bílkovin probíhá v tenkém střevě, kde pomocí enzymů obsažených ve střevní a pankreatické šťávě dochází k odbourávání mikrobiálního proteinu na aminokyseliny, které jsou vstřebány a využívány v intermediárním metabolismu a slouží k syntéze mléčných nebo tělních bílkovin. Z těchto hledisek je výhodné, aby krmná dávka obsahovala degradovatelný a nedegradovatelný protein. Degradovaný protein je v bachoru rozštěpen (degradován), přeměněn na amoniak, který slouží jako substrát k syntéze mikrobiálního proteinu, a ten po průchodu do tenkého střeva je odbourán na aminokyseliny. Jinak řečeno, v bachoru musí být k dispozici takové množství degradovatelného proteinu, aby uspokojilo potřebu k optimálnímu rozvoji bachorové mikroflóry. V bachoru se denně vytvoří přibližně 1200 g mikrobiálních bílkovin. Zbývající část bílkovin by měla být přijímána ve formě v bachoru nedegradovatelného proteinu, tj. proteinu, který uniká mikrobiální degradaci v bachoru a prochází tak zvaným by-passem přímo do střeva. Tento nedegradovaný protein má význam zejména u vysokoužitkových krav, kdy mikrobiální protein není schopen hradit vysoké požadavky zvířat (Zahrádková a kol., 2009).

### Proteolýza bílkovin

Proteiny obsažené v krmivu podléhají v bachoru extenzivní bakteriální i protozoální proteolýze, ve které jsou hydrolýzou peptidických vazeb proteinového řetězce postupně štěpeny na peptidy a dále až aminokyseliny (Schéma 2, Bartoš, 1987).

Schéma 2. Proteolýza bílkovin (Bartoš, 1987).



### 2.4.3. Trávení lipidů

Lipidy, přicházející do bachoru s krmivem jsou činností bachorových mikroorganismů hydrolyzovány a uvolňované mastné kyseliny redukovány na nasycené a monoenoové mastné kyseliny. Protože glycerol i galaktosa, uvolněné hydrolýzou rostlinných mono- a di-galaktoglyceridů, troacylglycerolů a fosfolipidů, jsou rychle fermentovány, tvoří většinu lipidů bachorové tekutiny neesterifikované mastné kyseliny a lipidy mikroorganismů. Neesterifikované mastné kyseliny nejsou v bachoru ani odbourávány, ani absorbovány bachorovou stěnou. Až na malou část, která je inkorporována do mikrobiálních buněk, se neesterifikované mastné kyseliny po svém uvolnění pevně spojují s částicemi krmiva a ve formě tohoto nerozpustného komplexu se pasážují z bachoru do tenkého střeva (Bartoš, 1987).

Biosyntéza žlučových kyselin probíhá v játrech. Žlučové kyseliny se ve formě solí zúčastňují nepřímé aktivace lipas díky povrchové aktivitě a tím související emulgační schopnosti tuků (zvětšení povrchu tuku a usnadnění jejich ataku lipasami). Štěpení tuků pokračuje dále v tenkém střevě za spoluúčasti pankreatické lipasy a monoacylglycerolové lipasy enterocytů (buněk střevní sliznice). Výsledkem štěpení tuku lipasami je směs volných mastných kyselin, glycerolu, diacylglycerolů a monoacylglycerolů. Mastné kyseliny s krátkým a středně dlouhým uhlíkatým řetězcem jsou ve formě solí resorbovány enterocyty, zatímco ostatní minoritní části tuků jsou resorbovány do mezibuněčných prostor enterocytů nebo buňkami střevní sliznice (Horák a Staszková, 1998).

### 3. Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo u vybraných vzorků objemného krmiva (jetele lučního):

- 1) vyhodnotit efektivní bachorovou degradovatelnost organické hmoty pomocí *in situ* metody,
- 2) efektivní bachorovou degradovatelnost organické hmoty uvést do vztahu k základnímu chemickému složení, *in vivo* stravitelnosti organické hmoty a efektivní bachorové degradovatelnosti neutrálně detergentní vlákniny stanovené *in situ* metodou.

## 4. Materiál a metodika

Diplomová práce svým řešením navazuje na bakalářskou práci (Koukol, 2009), ve které byl u totožného souboru vzorků jetele lučního stanoven stravitelný a nestravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny (NDF), vyhodnocena efektivní bachorová degradovatelnost NDF stanovená *in situ* metodou. Parametry popisující profil degradovatelnosti NDF byly uvedeny do souvislosti k základnímu chemickému složení sledovaných vzorků objemných krmiv.

Experimentální část diplomové práce byla realizována ve Výzkumném ústavu živočišné výroby, v.v.i. Praha Uhřetěves na Oddělení výživy a krmení hospodářských zvířat.

### 4.1. Pokusný materiál (krmivo)

V průběhu vegetačního období byl ze sledovaného porostu jetele lučního (*Trifolium pratense* L., odrůda Kvarta) odebírán reprezentativní vzorek v termínech 10. 5., 18. 5., 25. 5., 29. 6., 7. 7., 13. 7. a 17. 8. Průměrná roční teplota sledované lokality byla 8,9 °C a celkové roční srážky dosahovaly 626 mm. Nadmořská výška lokality 240 m.n.m. Pozemek byl ošetřen 40 kg/ha/rok P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a 60 kg/ha/rok K<sub>2</sub>O.

Čerstvě odebrané vzorky jetele byly sušeny v sušárně při teplotě do 50 °C podle metodiky „Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců“ (Harazim a kol., 1999). Usušený materiál byl semletý na mlýnku s řezacím ústrojím na 1 mm pro chemické rozbory základních živin a na 2 mm pro *in situ* pokusy.

### 4.2. Chemické rozbory základních živin, spalné teplo, koeficient stravitelnosti organické hmoty a energie původního krmiva

Pro základní chemické rozbory byly usušené vzorky jetele pomlety na 1 mm a byly stanoveny jednotlivé podíly sacharidového spektra, tj. obsah neutrálně detergentní vlákniny (NDF), acido detergentní vlákniny (ADF) a acido detergentního ligninu (ADL) podle Van Soesta a kol. (1991). Dále byl stanoven obsah živin: dusíkaté látky (NL; metoda

podle Kjeldahla, N  $\times$  6,25), tuku přímou extrakcí dle Soxhleta a hrubá vláknina (AOAC, 1990). Popel byl stanoven po 4,5 hodinovém spálení v peci při teplotě 550 °C. Bezdušikáté látky výtažkové (BNLV) byly vypočteny vzorcem (1):

$$(1) \quad \text{BNLV} = \text{sušina} - (\text{dusíkaté látky} + \text{hrubá vláknina} + \text{tuk} + \text{popel}).$$

Obsah spalného tepla (brutto energie, BE) byl stanoven na kalorimetrickém přístroji (IKA C 5000 control, Germany). Stravitelná energie (SE), metabolizovatelná energie (ME), netto energie laktace (NEL) a netto energie výkrmu (NEV) byly vypočteny rovnicemi (2 - 5) podle Sommera a kol. (1994):

$$(2) \quad \text{SE (MJ/kg)} = \text{BE} \times \text{koeficient } in \text{ vivo stravitelnosti BE}$$

$$(3) \quad \text{ME (MJ/kg)} = (\text{koeficient } in \text{ vivo stravitelnosti dusíkatých látek} \times 0,00137) + (\text{koeficient } in \text{ vivo stravitelnosti organické hmoty} \times 0,01504)$$

$$(4) \quad \text{NEL (MJ/kg)} = \text{ME} \times (0,463 + 0,24 \times (\text{ME/BE}))$$

$$(5) \quad \text{NEV (MJ/kg)} = \text{ME} \times [((0,554 + (0,287 \times (\text{ME/BE}))) \times (0,006 + (0,780 \times (\text{ME/BE}))) \times 1,5) / ((0,006 + (0,780 \times (\text{ME/BE}))) + (0,554 + (0,287 \times (\text{ME/BE}))) \times 0,5)]$$

Koeficienty stravitelnosti organické hmoty (KS OH) a BE (KS BE) byly získány v *in vivo* bilančních pokusech na skopcích Romanovského plemene. Tato *in vivo* metoda je založena na precizní evidenci individuálního příjmu krmiva, zbytků krmiv a výkalů pokusných zvířat.

Koeficient *in vivo* stravitelnosti byl vypočten rovnicí (6) podle Vencla (1988), kde P = příjem (živiny, sušiny, organické hmoty a energie), V = množství (živiny, sušiny, organické hmoty a energie) vyloučené ve výkalech:

$$(6) \quad \text{In vivo stravitelnost} = (P - V) / P \times 100$$

### **4.3. *In situ* analýzy**

*In situ* metoda je založena na inkubaci vzorků krmiva v nylonových sáčcích v příslušných časových intervalech v bachoru přežvýkavců. *In situ* metoda zajišťuje přes stěnu nylonového sáčku přímý kontakt bachorových mikroorganismů (aktivní

enzymatickou činnost) s testovaným krmivem. Takto lze výstižně vyčíslit průběh procesu degradovatelnosti a různý stupeň mikrobiální fermentace krmiva v bachoru kanylovaného zvířete (Jančík a kol., 2008a).

Degradovatelnost NDF a organické hmoty byla zjišťována zvolenými inkubačními intervaly 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 a 288 hodin (Hvelplund a Weisbjerg, 2000). Vzorky byly inkubovány vždy ve dvou opakováních na jedné kanylované krávě, tj. 6 opakování na 3 suchostojných kanylovaných kravách. Kanylované krávy byly krmeny dvakrát denně. Interval mezi ranním a večerním krmením byl 10 hodin (krmení bylo do žlabu zakládáno v 7 hodin ráno a v 17 hodin odpoledne). Krmná dávka obsahovala seno luční (4 kg/ks/den), kukuřičnou siláž (10 kg/ks/den), ječný šrot (1 kg/ks/den) a vitaminominerální doplněk (0,1 kg/ks/den). Napájení vodou bylo ad libitní.

Usušené a na 2 mm namleté krmivo bylo navažováno do nylonových sáčků (velikost ok použitých nylonových sáčků byla 42 mikronů a aktivní volnou plochou materiálu 30 % (50 × 120 mm; Uhelon 130 T, Silk and Progress Moravská Chrastová)) vždy šestkrát pro konkrétní inkubační interval v množství 0,5 až 1 g s přesností navážky  $10^{-4}$  g dle následujícího schématu 3:

### Schéma 3

Navážky krmiva pro konkrétní inkubační intervaly.

Inkubační intervaly (h)	0 <sup>1</sup>	2	4	8	16	24	48	72	96	288 <sup>2</sup>
Navážka <sup>3</sup>	0,5	0,5	0,5	0,75	1	1	1	1	1	1

<sup>1</sup>0 hodinový inkubační interval (tzv. korekce pro případný únik částic) – sáček nebyl inkubován v bachoru zvířete, byl pouze propírán ve studené vodě

<sup>2</sup>288 hodinový inkubační interval (tj. 12 dní) sloužil ke stanovení absolutně nestravitelné části neutrálně detergentní vlákniny (INDF).

<sup>3</sup>g/1 nylonový sáček

Sáčky pro nulový inkubační interval (0 h) se inkubovaly 10 minut ve vodě teplé cca 39 °C. Nosič s inkubovaným krmivem (inkubační intervaly 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 a 288 h) se ihned po vyjmutí z bachoru opláchnul od hrubého bachorového obsahu a sáčky se propíraly studenou vodou 20 minut v tekoucí vodě (orientační ukazatel vyprání sáčků je, že nezabarvují vodu) (Harazim a kol., 1999). Poté podle metodiky Hvelplunda a Weisbjerga (2000) byly nainkubované vzorky důkladně propláchnuty, byla provedena filtrace reziduí krmiva do filtračních sáčků Ankom F57 (Anonymous, 1998). Po tomto přefiltrování následovala lyofilizace a zvážení těchto reziduí krmiva pro stanovení bachorové degradovatelnosti organické hmoty.

#### 4.3.1. Bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny

Po lyofilizaci a zvážení filtračních sáčků Ankom F57 (Anonymus, 1998) spolu s reziduí krmiva následovalo laboratorní stanovení NDF pomocí přístroje Ankom 220 Fiber Analyzer podle metodiky Anonymous (1998). Získané hodnoty degradovatelnosti NDF po *in situ* inkubacích byly korigovány na eventuální nežádoucí ztrátu (vyplavení) částiček krmiva z původní navážky z nylonového sáčku podle autorů Hvelplund a Weisbjerg (2000).

Obsah NDF po *in situ* byl vypočítán dle vzorce (7):

$$(7) \quad \text{NDF} = ((W_3 - ((W_1 \times C_1) - (W_4 \times C_2))) \times 100) / (W_2 \times \text{DM})$$

Kde:

NDF = obsah neutrálně detergentní vlákniny (%)

$W_1$  = hmotnost sáčku (ANKOM F57) (g)

$W_2$  = navážka (g)

$W_3$  = hmotnost sáčku po NDF hydrolýze (g)

$W_4$  = obsah popelovin (g)

$C_1$  = korekce zahrnující vliv sáčků (g) = (hmotnost prázdného vysušeného sáčku po NDF hydrolýze / hmotnost prázdného vysušeného sáčku před NDF hydrolýzou)

$C_2$  = korekce zahrnující vliv popelovin prázdného sáčku (g) = (úbytek hmotnosti prázdného sáčku po NDF hydrolýze po spálení / hmotnost prázdného vysušeného sáčku před NDF hydrolýzou)

DM = obsah sušiny původního vzorku (% DM/100)

Efektivní bachorová degradovatelnost NDF ( $ED_{\text{NDF}}$ ) byla vypočítána pro výtokovou rychlost částic z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$  dle rovnice (8) Ørskov a McDonald (1979):

$$(8) \quad ED_{\text{NDF}} = b \times (c / (c + k))$$

Kde:

$ED_{\text{NDF}}$  = efektivní bachorová degradovatelnost krmiva (živiny) (%)

$b$  = nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce krmiva (živiny) (%)

$c$  = rychlost degradace frakce  $b$  ( $\text{h}^{-1}$ )

exp = exponenciál



$k$  = rychlost pasáže částic z bachoru ( $\text{h}^{-1}$ ), tj.  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$

Nestravitelný podíl NDF (INDF) byl stanoven po dlouhodobém inkubačním intervalu 288 h následující rovnicí (9) podle Lunda (2002), kde INDF = nestravitelný podíl NDF (%), DNDF = stravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny stanovený po 288 h *in situ* metodou (%).

$$(9) \quad \text{INDF} = 100 - \text{DNDF}$$

#### **4.3.2. Bachorová degradovatelnost organické hmoty**

Bachorová degradovatelnost (úbytek) organické hmoty byla vypočtena podle rovnice (10) (Harazim a kol., 1999), kde  $A$  je obsah organické hmoty ve vzorku před inkubací v bachoru a  $B$  je obsah organické hmoty ve vzorku po inkubaci.

$$(10) \quad \text{Úbytek organické hmoty (\%)} = (A - B)/A \times 100$$

Efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty ( $\text{ED}_{\text{OH}}$ ) byla vypočítána pro výtokovou rychlost částic  $0,02 \text{ h}^{-1}$  dle rovnice (11) McDonald, 1981):

$$(11) \quad \text{ED}_{\text{OH}} = a + b \times (c/(c + k)) \times \exp^{-k \times \text{lt}}$$

Kde:

$\text{ED}_{\text{OH}}$  = efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty (%)

$a$  = rozpustná frakce (organická hmota) krmiva (%)

$b$  = frakce krmiva (organická hmota) nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná (%)

$c$  = rychlost degradace frakce  $b$  ( $\text{h}^{-1}$ )

$\exp$  = exponenciální funkce

$k$  = rychlost pasáže částic z bachoru ( $\text{h}^{-1}$ ), tj.  $0,02 \text{ h}^{-1}$

$\text{lt}$  = lag fáze (h)

#### **4.4. Statistické vyhodnocení**

Statistická část experimentu byla vyhodnocena v programu SAS 9.1, procedura GLM (PROC GLM), (SAS Institute, 2003). Korelační koeficienty mezi jednotlivými

proměnnými byly hodnoceny pomocí procedury PROC CORR. Prostřednictvím metody mnohonásobného srovnávání (Scheffého analýza; PROC GLM) byla testována významnost rozdílů mezi sledovanými skupinami jetele.

## 5. Výsledky a diskuze

### 5.1. Pokusný materiál (krmivo)

V tabulce 6 je uveden popis vegetační fáze použitých vzorků jetele lučního (*Trifolium pratense* L., odrůda Kvarta) odebíraného ve třech různých sečích (I, II, III). První seč (I) a druhá seč (II) jsou reprezentovány třemi termíny odběru průměrného vzorku, třetí seč (III) je zastoupena jedním odběrem.

Odrůda Kvarta je dvou až třísečná pícnina středně raného typu, ve srovnání s diploidními formami má vyšší obsah stravitelných uhlohydrátů na úkor vlákniny, stonky méně inkrustují, a tím se prodlužuje období vegetačního stavu pro přímou sklizeň ke krmení. Přednosti odrůdy Kvarta: dobré obrůstání i po druhé seči, nízký obsah vlákniny a prodloužená doba optimální pícninařské zralosti. Obrůstá dobře po druhé seči, takže poskytuje kvalitní píci i v podzimním období. Jetel luční Kvarta se uplatňuje v tradičních jetelotrávách, např. směsi s našimi odrůdami trav (hybrid Felina, Perun a Bečva) pro produkci středně raných směsí: (1) 11 kg Kvarty + 11 kg rodového hybridu Felina, (2) 17 kg Kvarty + 6 až 7 kg rodového hybridu Perun a (3) 17 kg Kvarty + 6 až 7 kg rodového hybridu Bečva na 1 ha. Tyto směsi lze zakládat i bez krycí plodiny, popřípadě i letním výsemem. Výnosy uvedených směšek poskytují až 800 q zelené hmoty a 180 q sena z 1 ha (Šlechtitelská stanice Hladké Životice, s.r.o., 2010).

Tabulka 6

Seznam použitých vzorků jetele lučního odebíraného ve třech různých sečích.

Jetel luční	Termín odběru	Seč	Průměr/měsíc		Vegetační fáze
			teplota	srážky	
1 (1216)	10. 5.	I	16,2 °C	66 mm	mladý porost
2 (1218)	18. 5.	I			mladý porost 30-35 cm; tvorba květních pupat
3 (1220)	25. 5.	I			výška porostu 60 cm; konec tvorby květních pupat, počátek kvetení
4 (1227)	29. 6.	II	16,5 °C	98 mm	výška porostu 60 cm; počátek kvetení
5 (1229)	7. 7.	II	17,2 °C	103 mm	výška porostu 70 cm; počátek kvetení až plné kvetení
6 (1231)	13. 7.	II			výška porostu 70 cm; plné kvetení
7 (1241)	17. 8.	III	17,7 °C	57 mm	výška porostu 50 cm; po odkvětu

I = první seč, II = druhá seč, III = třetí seč.

## 5.2. Chemické rozbory základních živin, energie a stravitelnost krmiva

Z každého odběru ve sledovaném vegetačním období byly u původního vzorku jetele lučního provedeny základní chemické rozbory. V tabulce 7 je zaznamenán výčet průměrných hodnot chemických rozborů základních živin pro jednotlivé seče (I, II, III). Původní sušina jetele lučního kolísala od 137,3 g/kg (jetel luční 4) do 241,0 g/kg (jetel luční 7). Obsah jednotlivých složek činil v průměru za celé vegetační období pro popel 119,2 g/kg sušiny, tuk 23,2 g/kg sušiny, NL 197,7 g/kg sušiny, CF 214,1 g/kg sušiny a BNLV 423,4 g/kg sušiny. Pokles obsahu NL v průběhu stárnutí porostu byl potvrzen autory Hoffman a kol. (1993) a Rinne a Nykänen (2000). Obsah jednotlivých frakcí vlákniny byl v průměru pro NDF 400,7 g/kg sušiny, ADF 296,2 g/kg sušiny a ADL 73,8 g/kg sušiny. Narůstající obsah NDF, ADF, ADL v rámci jednotlivých sečí je také uváděn ve vědeckých publikacích Hoffman a kol. (1993), Coblenz a kol. (1998) a Elizalde a kol. (1999). Tento narůstající trend jednotlivých frakcí vlákniny je patrný i u sledovaných vzorků jetele lučního (graf 1). V grafech 2, 3 a 4 je vyjádřen vztah mezi obsahem NDF, ADF, ADL a efektivní bachorovou degradovatelností organické hmoty ( $ED_{OH}$ ). Průběh obsahu NL,  $ED_{OH}$  a ED neutrálně detergentní vlákniny ( $ED_{NDF}$ ) u vzorků jetele lučního v průběhu sledovaného vegetačního období je uveden v grafu 5.

Tabulka 7

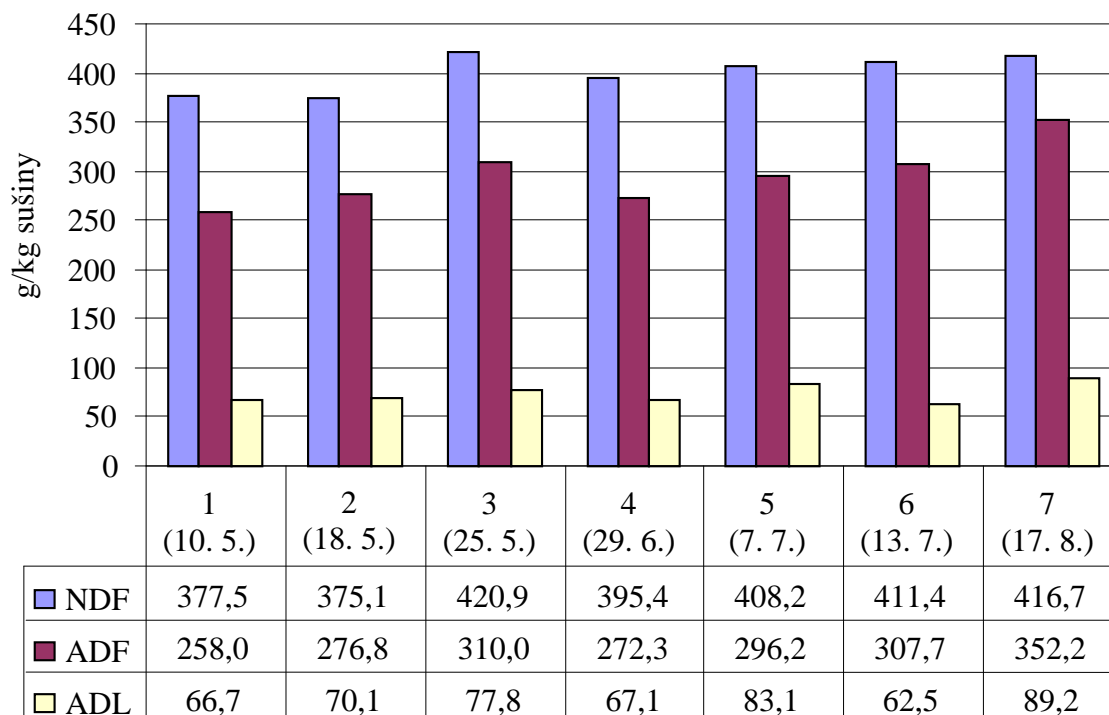
Obsah živin (g/kg sušiny) u vzorků jetele lučního.

Jetel luční	1	2	3	4	5	6	7
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	17. 8.
Seč	I	I	I	II	II	II	III
Sušina původní	154,7	190,1	180,3	137,3	159,4	157,0	241,0
Popel	145,3	103,6	91,2	135,2	98,8	139	121,6
Tuk	24,2	24,1	22,3	22,7	23,7	22,2	23,5
NL	218,8	211,1	179,9	213,9	197,6	181,6	180,7
CF	181,5	181,4	218,8	202,9	230,0	236,4	247,6
BNLV	273,5	479,8	487,8	425,3	449,9	420,8	426,6

BNLV = bezdusíkaté látky výtahkové, CF = hrubá vláknina, NL = dusíkaté látky.

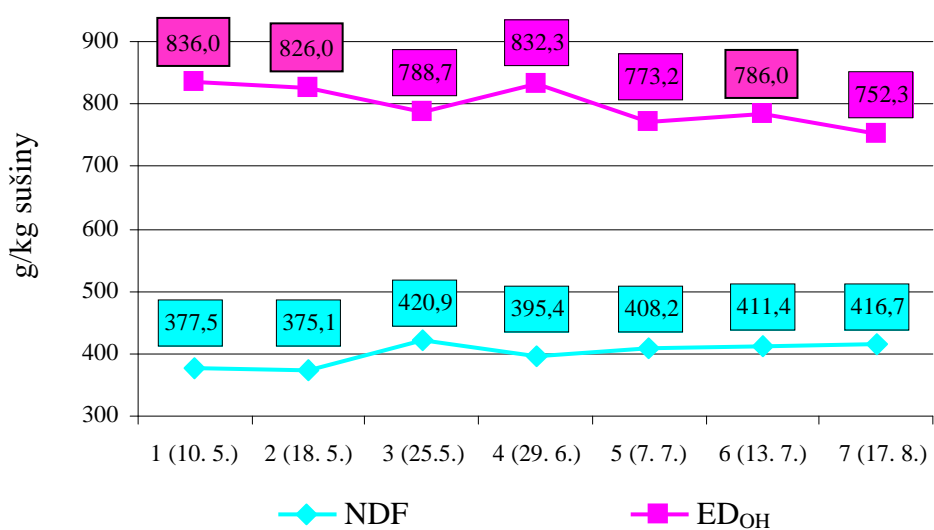
Graf 1

Obsah neutrálně detergentní vlákniny (NDF), acido detergentní vlákniny (ADF) a acido detergentního ligninu (ADL) u vzorků jetele lučního.



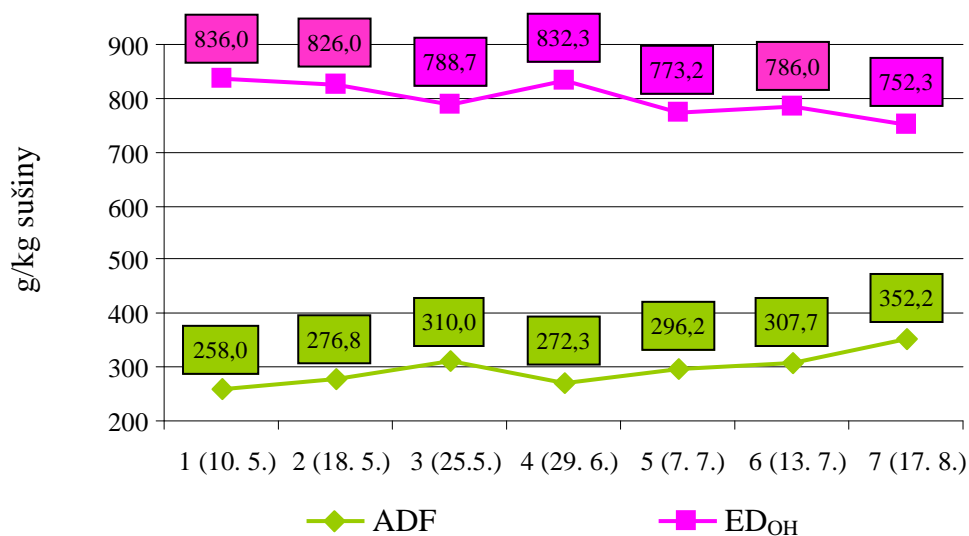
Graf 2

Obsah neutrálně detergentní vlákniny (NDF) a efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty (ED<sub>OH</sub>) u vzorků jetele lučního.



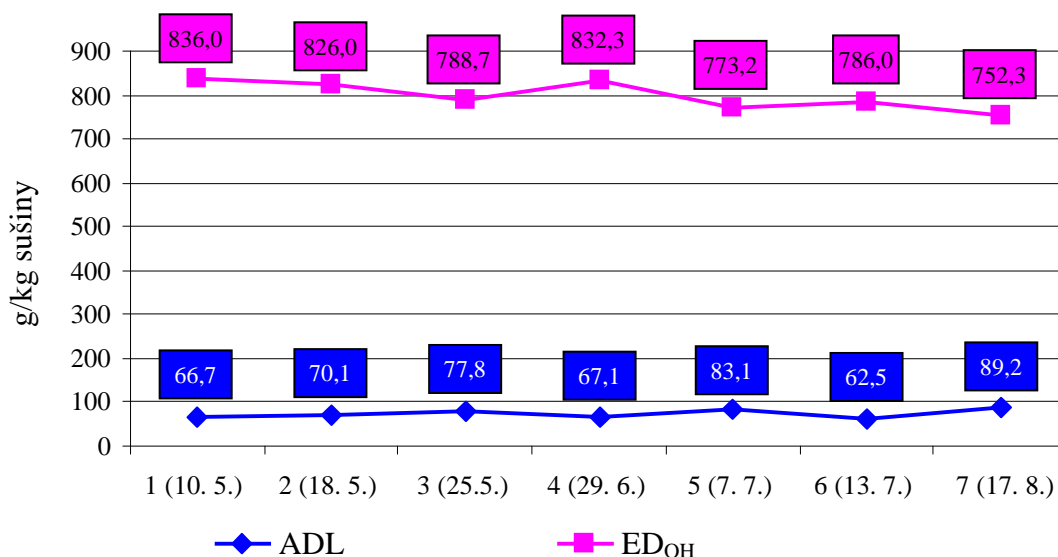
Graf 3

Obsah acido detergentní vlákniny (ADF) a efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty ( $ED_{OH}$ ) u vzorků jetele lučního.



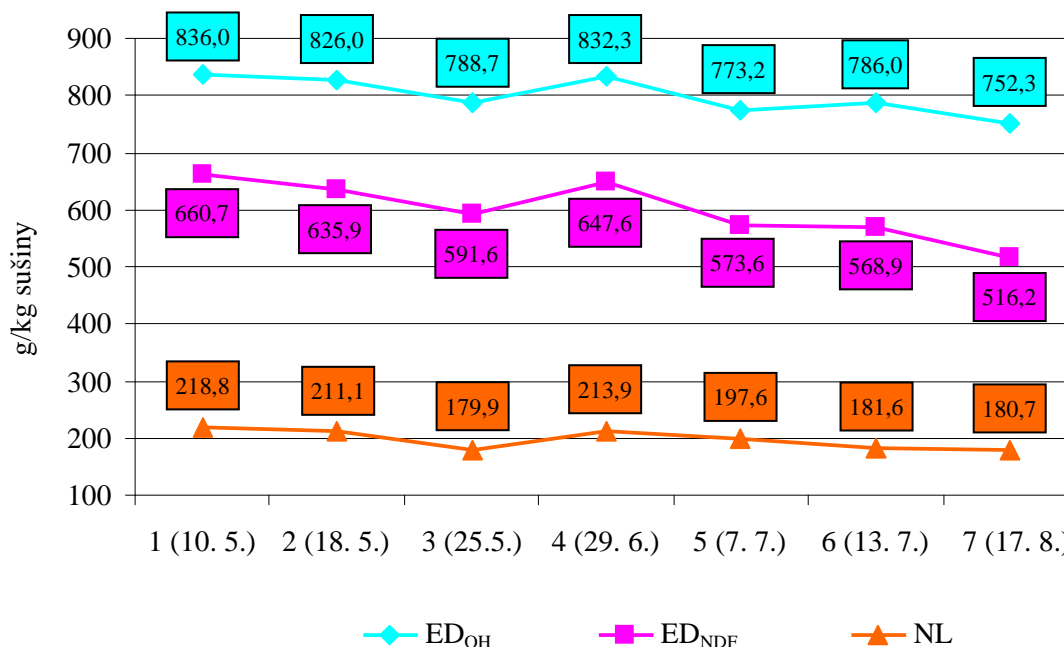
Graf 4

Obsah acido detergentního ligninu (ADL) a efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty ( $ED_{OH}$ ) u vzorků jetele lučního.



Graf 5

Vyjádření obsahu dusíkatých látek (NL), efektivní bachorové degradovatelnosti organické hmoty ( $ED_{OH}$ ) a efektivní bachorové degradovatelnosti neutrálně detergentní vlákniny ( $ED_{NDF}$ ) u vzorků jetele lučního.



K významným faktorům určujícím nutriční hodnotu krmiv patří stravitelnost živin. V tabulce 8 jsou uvedeny koeficienty stravitelnosti organické hmoty (KS OH) a brutto energie (KS BE) stanovené metodou *in vivo*. Hodnoty *in vivo* KS OH byly v průměru 73,1 % pro I. seč, 72,8 % pro II. seč a 68,9 % pro III. seč, respektive. KS BE stanovené *in vivo* metodou byly v průměru 70,2 % (I. seč), 70,9 % (II. seč) a 68,2 % (III. seč).

Koeficienty *in vivo* stravitelnosti organické hmoty (KS OH) a obsah hrubé vlákniny sledovaných vzorků jetele lučního jsou vyjádřeny v grafu 6. Nutriční kvalita krmiv je ovlivněna mnoha faktory, především vegetační fází, druhem píce, klimatickými podmínkami (teploty, srážky, nadmořská výška), agronomickými podmínkami, technologickými úpravami krmiv i manipulací s nimi před zkrmením (Pozdíšek a Vaculová, 2008; Tyrolová a Výborná, 2008; Jančík a kol., 2009, Koukolová a kol., 2010). Tyto různé podmínky ovlivňující kvalitu píce mají zásadní dopad na užitkovost u přežvýkavců (Hetta a kol., 2004). Například hodnota obsahu dusíkatých látek souvisí s vegetační fází porostu (Písaříková a kol., 2007; Jančík a kol., 2008b), což ovlivňuje bachorovou degradovatelnost (Homolka a kol., 2008), mikrobiální syntézu a rozsah trávení krmiva (González a kol., 2001). Běžně používanými metodami ke stanovení stravitelnosti jsou *in vivo* bilanční metody (Schiemann, 1981; Vencl, 1985), *in situ* metody (Ørskov a

McDonald, 1979), *in vitro* metody (Tilley a Terry, 1963; Tománková a Homolka, 1995; Koukolová a kol., 2004) a predikce pomocí relativně přesné metody NIRS (reflexní spektroskopie v blízké infračervené oblasti) (Pozdíšek, 1999). Metody predikce stravitelnosti vycházející z chemického složení krmiv jsou založeny na korelaci stravitelnosti organické hmoty s konkrétní složkou krmiva (lignin, vláknina, acido detergentní vláknina a neutrálně detergentní vláknina). Společným znakem *in vitro* metod predikujících stravitelnost krmiv je napodobení trávicích pochodů živého zvířete (Koukolová, 2005). Při použití *in vitro* metod odhadu stravitelnosti je nutná jejich kalibrace metodami *in vivo* charakteru (Koukolová, 2005).

Tabulka 8

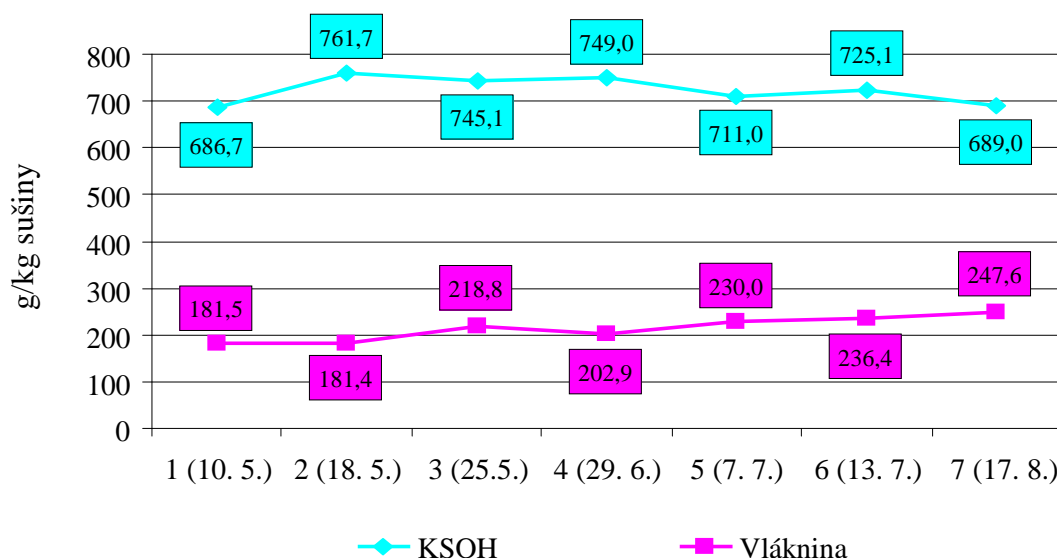
Koeficienty stravitelnosti organické hmoty a brutto energie stanovené *in vivo* metodou u vzorků jetele lučního.

Jetel luční	1	2	3	4	5	6	7
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	17. 8.
Seč	I	I	I	II	II	II	III
KS OH (%)	68,7	76,2	74,5	74,9	71,1	72,5	68,9
KS BE (%)	65,3	73,8	71,6	72,1	69,8	70,7	68,2

KS BE = koeficient stravitelnosti brutto energie, KS OH = koeficient stravitelnosti organické hmoty.

Graf 6

Vyjádření koeficientů *in vivo* stravitelnosti organické hmoty (KSOH) a obsahu hrubé vlákniny u vzorků jetele lučního.



U jednotlivých vzorků jetele lučního byl podle Sommera a kol. (1994) zjištěn obsah brutto energie (BE), stravitelné energie (SE), metabolizovatelné energie (ME), netto energie laktace (NEL) a netto energie výkrmu (NEV) (tabulka 9). Obsah BE byl v průměru



18,2 MJ/kg sušiny, SE 12,8 MJ/kg sušiny, ME 9,8 MJ/kg sušiny, NEL 5,8 MJ/kg sušiny a NEV 5,7 MJ/kg sušiny.

Tabulka 9

Obsah energie (MJ/kg sušiny) u vzorků jetele lučního.

Jetel luční	1	2	3	4	5	6	7
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	17. 8.
Seč	I	I	I	II	II	II	III
BE	18,1	18,4	18,0	17,6	18,9	18,0	18,4
SE	11,8	13,6	12,9	12,7	13,2	12,8	12,6
ME	9,0	10,5	10,4	10,0	9,9	9,6	9,3
NEL	5,3	6,3	6,2	6,0	5,8	5,7	5,4
NEV	5,0	6,3	6,2	5,9	5,6	5,5	5,2

BE = brutto energie, SE = stravitelná energie, ME = metabolizovatelná energie, NEL = netto energie laktace, NEV = netto energie výkrmu.

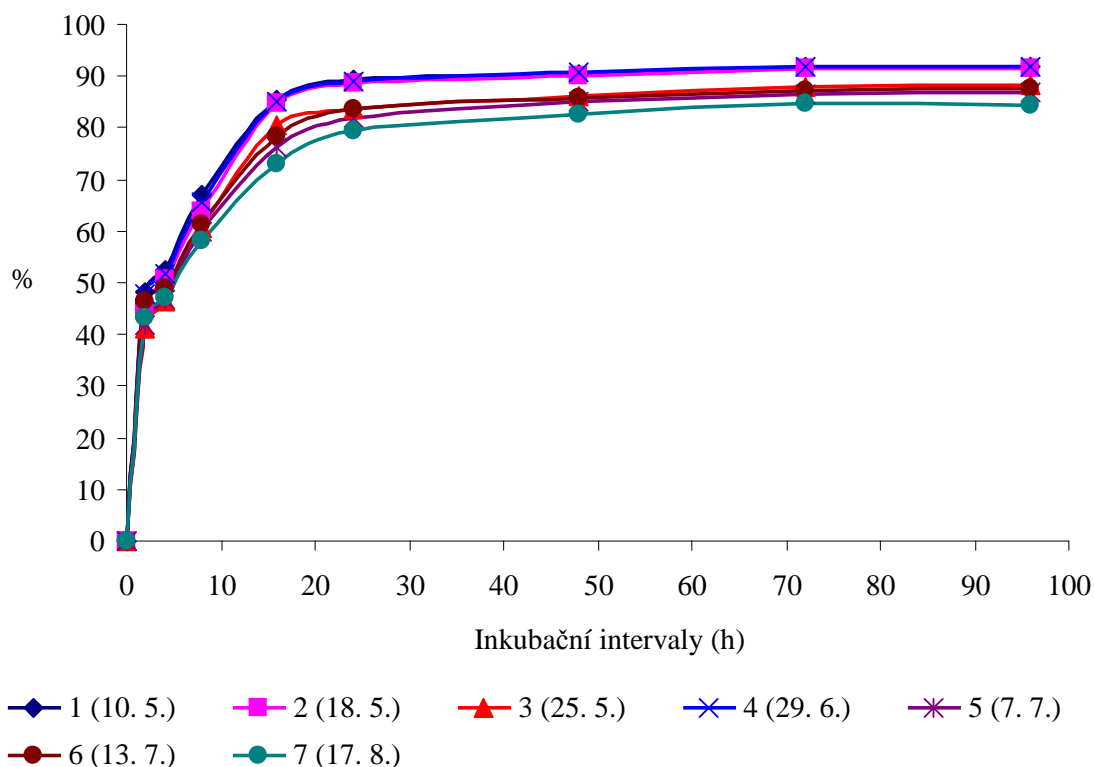
### 5.3. *In situ* analýzy

Bachorová degradovatelnost vzorků jetele lučního byla hodnocena *in situ* metodou. Pro stanovení bachorové degradovatelnosti NDF a organické hmoty byly použity inkubační intervaly 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 (Harazim a kol., 1999; Hvelplund a Weisbjerg, 2000) a 288 hodin (Rinne a kol., 1999). Hodnocení bachorové degradovatelnosti NDF bylo součástí předcházející bakalářské práce Koukol (2009) a vědeckého impakovaného článku Koukolová a kol. (2010). Dlouhodobý inkubační interval 288 hodin byl v předchozí studii uplatňován při výpočtu nestravitelného podílu NDF (INDF) jetele lučního, který kolísal od 15,2 % do 31,4 %. V rámci jednotlivých sečí (seče I, II, III) s postupující vegetační fází (termínem sklizně) byl zaznamenán pokles bachorové degradovatelnosti NDF.

Průběh bachorové degradovatelnosti organické hmoty v jednotlivých inkubačních intervalech je zaznamenán v grafu 7. Bachorová degradovatelnost organické hmoty stanovená po 24 hodinovém inkubačním intervalu vykazovala průměrné hodnoty 89,3 % (jetel luční 1, termín odběru 10. 5.), 88,5 % (jetel luční 2, termín odběru 18. 5.), 83,8 % (jetel luční 3, termín odběru 25. 5.), 88,9 % (jetel luční 4, termín odběru 29. 6.), 82,1 % (jetel luční 5, termín odběru 7. 7.), 83,6 % (jetel luční 6, termín odběru 13. 7.) a 79,5 % (jetel luční 6, termín odběru 17. 8.). Stejně tak jako byl v předchozí studii (Koukol, 2009; Koukolová a kol., 2010) potvrzen vliv doby sklizně na bachorovou degradovatelnost NDF, tak i hodnoty bachorové degradovatelnosti organické hmoty potvrzují vliv ( $P < 0,05$ ) doby sklizně jetele lučního na stupeň bachorové degradovatelnosti organické hmoty.

Graf 7

*In situ* bachorová degradovatelnost (%) organické hmoty u vzorků jetele lučního.



U jednotlivých vzorků jetele lučního byly podle rovnice McDonald (1981) vypočítány jednotlivé parametry vystihující efektivní bachorovou degradovatelnost organické hmoty ( $ED_{OH}$ ) (tabulka 10): parametr  $a$  = rozpustná frakce (organická hmota) krmiva; parametr  $b$  = frakce krmiva (organická hmota) nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná; parametr  $c$  = rychlost degradace frakce  $b$  a parametr  $l_t$  = lag fáze. Pro výpočet  $ED_{OH}$  byla zvolena výtoková rychlost částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ . Časová prodleva doby nástupu degradace krmiva ( $l_t$ ) byla v průměru 1,8 hodiny.  $ED_{OH}$  byla v průměru pro I. seč 81,7 %, pro II. seč 79,7 % a pro III. seč 75,2 %. Sledované parametry bachorové degradovatelnosti organické hmoty vykazovaly průměrné hodnoty 41,9 % (parametr  $a$ ), 47,1 % (parametr  $b$ ) a  $0,105 \text{ h}^{-1}$  (parametr  $c$ ).  $ED_{OH}$  byla v úzkém korelačním vztahu s efektivní bachorovou degradovatelností neutrálně detergentní vlákniny ( $ED_{NDF}$ ), korelační koeficient mezi těmito dvěma proměnnými byl 0,979 na hladině významnosti  $P < 0,05$  (tabulka 11).

Tabulka 10

Hodnoty parametrů efektivní bachorové degradovatelnosti organické hmoty u vzorků jetele lučního.

Jetel luční		1	2	3	4	5	6	7
Termín odběru		10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	17. 8.
Seč		I	I	I	II	II	II	III
a (%)	průměr	45,7	43,5	38,5	44,3	39,1	41,6	40,3
	minima	45,0	43,2	36,1	43,8	38,2	40,3	39,3
	maxima	46,3	44,0	39,5	44,8	39,6	42,2	41,2
	s.odch.	0,4	0,2	1,1	0,4	0,5	0,7	0,5
b (%)	průměr	46,4	48,0	49,7	47,8	47,6	46,0	44,4
	minima	45,7	47,3	48,4	47,3	46,9	45,6	43,3
	maxima	47,5	48,4	52,4	48,0	48,4	47,2	45,6
	s.odch.	0,6	0,5	1,3	0,2	0,5	0,5	0,7
c (h <sup>-1</sup> )	průměr	0,113	0,114	0,111	0,110	0,099	0,098	0,088
	minima	0,103	0,097	0,092	0,099	0,088	0,079	0,076
	maxima	0,127	0,129	0,127	0,122	0,109	0,110	0,102
	s.odch.	0,009	0,011	0,013	0,009	0,007	0,010	0,010
It (h)	průměr	2,0	2,1	1,9	1,8	1,8	1,5	1,6
	minima	1,4	1,9	1,6	1,4	1,5	0,8	0,8
	maxima	2,2	2,4	2,3	2,2	2,1	1,9	1,9
	s.odch.	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,4	0,4
ED <sub>OH</sub> (%)	průměr	83,6	82,6	78,9	83,2	77,3	78,6	75,2
	minima	83,2	81,7	78,0	82,4	76,6	77,4	74,4
	maxima	84,0	83,3	79,9	84,1	78,0	79,4	76,1
	s.odch.	0,3	0,6	0,7	0,7	0,5	0,7	0,7

a = rozpustná frakce (organická hmota) krmiva; b = frakce krmiva (organická hmota) nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná; c = rychlost degradace frakce b, ED<sub>OH</sub> = efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ , It = lag fáze; s.odch. = směrodatná odchylka.

#### 5.4. Statistické vyhodnocení

V tabulce 11 jsou uvedeny korelační koeficienty vyjadřující korelační závislost sledovaných proměnných (chemické rozbory, *in vivo* stravitelnost organické hmoty a parametry bachorové degradovatelnosti NDF a organické hmoty) u vzorků jetele lučního. ED<sub>OH</sub> byla v úzkém ( $P < 0,05$ ) korelačním vztahu s ED<sub>NDF</sub> ( $r = 0,979$ ), tento vztah je graficky znázorněn v grafu 8. ED<sub>OH</sub> dále statisticky významně ( $P < 0,05$ ) korelovala

s obsahem NL ( $r = 0,848$ ), NDF ( $r = -0,857$ ), ADF ( $r = -0,918$ ), ADL ( $r = -0,752$ ), parametrem a ( $r = 0,822$ ) a parametrem c ( $r = 0,716$ ). INDF signifikantně korelovala ( $P < 0,05$ ) s obsahem NL ( $r = -0,848$ ) a ADF ( $r = 0,918$ ), parametrem a ( $r = -0,822$ ; graf 9) a parametrem c ( $r = -0,716$ ; graf 10). Parametr b a lt vykazovaly statisticky průkazný ( $P < 0,05$ ), ale nízký korelační koeficient  $r = -0,301$  a  $r = -0,361$ , respektive (tabulka 11).

Test statisticky významných rozdílů ( $P < 0,05$ ) jednotlivých parametrů bachorové degradovatelnosti organické hmoty (a, b, c, lt,  $ED_{OH}$ ) a efektivní bachorové degradovatelnosti NDF ( $ED_{NDF}$ ) pro sledované vzorky jetele lučního byl proveden metodou mnohonásobného srovnávání Scheffého testem (tabulka 12).

Statisticky významný rozdíl ( $P < 0,05$ ) v parametru a byl zaznamenán v jednotlivých termínech sklizně v rámci konkrétních sečí (I, II, III) (tabulka 12).

Mezi hodnotami parametru b nebyl zaznamenán v seči I rozdíl mezi prvním (10. 5.) a druhým (18. 5.) termínem sklizně, ale tyto první dva termíny sklizně se statisticky významně lišily ( $P < 0,05$ ) od třetího (25. 5.) termínu sklizně. V seči II byl u parametru b potvrzen statisticky významný rozdíl ( $P < 0,05$ ) mezi prvním (29. 6.) a třetím (13. 7.) termínem sklizně (tabulka 12).

Statisticky průkazný rozdíl ( $P < 0,05$ ) v hodnotách parametru c byl potvrzen pro seče I a III (tabulka 12).

U parametru lt nebyl zaznamenán rozdíl mezi termíny sklizně ani jednotlivými sečemi (tabulka 12).

S narůstající vegetační zralostí jetele lučního docházelo k poklesu ( $P < 0,05$ )  $ED_{OH}$  a  $ED_{NDF}$  (tabulka 12). Obsah ligninu negativně koreluje se stravitelností organické hmoty (Grenet a Jamot, 1990). Naše výsledky potvrdily vysokou korelační závislost ( $P < 0,05$ ) mezi jednotlivými frakcemi vlákniny (NDF, ADF, ADL) a efektivní bachorovou degradovatelností ( $ED_{OH}$ ,  $ED_{NDF}$ ) jetele lučního (tabulka 11). U  $ED_{OH}$  (seč I) byla zjištěna prokazatelná odlišnost ( $P < 0,05$ ) třetího termínu sklizně (25. 5.) od prvních dvou termínů sklizně (10. 5. a 18. 5.) této seče (I). Pro  $ED_{OH}$  u seče II nebyl zjištěn statistický rozdíl pouze mezi druhým (7. 7.) a třetím (13. 7.) termínem sklizně. U  $ED_{NDF}$  byly zaznamenány v jednotlivých termínech sklizně v rámci seče I statisticky významné rozdíly ( $P < 0,05$ ). U seče II nebyl zaznamenán rozdíl v  $ED_{NDF}$  mezi druhým (7. 7.) a třetím (13. 7.) termínem sklizně. Seč III se v hodnotách  $ED_{OH}$  a  $ED_{NDF}$  statisticky lišila ( $P < 0,05$ ) od sečí I a II (tabulka 12).

Průběh změn parametrů degradovatelnosti a stravitelnosti NDF v závislosti na růstové fázi hodnotil ve své práci Jančík a kol. (2008a). Výrazně lepší stravitelnost NDF u mladších porostů oproti porostům sklízeným později popisují také u trav Harrison a kol. (2003) a u kukuřice Di Marco a kol. (2002). Snižování parametrů b a c pro degradovatelnost sušiny u ovsa v průběhu stárnutí uvádí ve své práci Micek a kol. (2001). Jančík a kol. (2008a) potvrdil patrný pokles parametrů b,  $ED_{NDF}$  a naopak nárůst INDF v době po začátku metání všech sledovaných druhů trav.

Tabulka 11

Korelační koeficienty vybraných proměnných (chemické rozborů, *in vivo* stravitelnost organické hmoty a parametry bachorové degradovatelnosti NDF a organické hmoty).

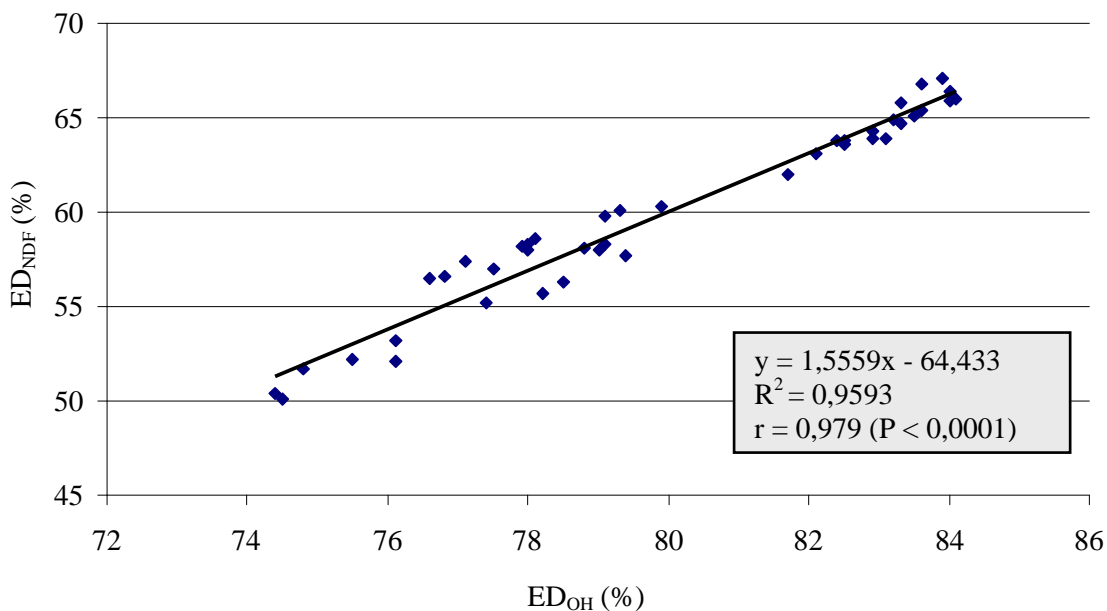
	Sušina původní	Popel	Tuk	NL	CF	BNLV	NDF	ADF	ADL	BE	a	b	c	It	ED <sub>OH</sub>	ED <sub>NDF</sub>	INDF
Popel	-0,316																
Tuk	0,219	-0,001															
NL	-0,503	0,336	0,607														
CF	-0,087	0,562	0,339	0,193													
BNLV	0,274	<b>-0,776</b>	-0,395	-0,484	<b>-0,921</b>												
NDF	0,309	-0,317	-0,680	<b>-0,909</b>	-0,168	0,439											
ADF	<b>0,771</b>	-0,273	-0,324	<b>-0,885</b>	-0,175	0,420	<b>0,812</b>										
ADL	0,715	-0,572	0,201	-0,458	-0,086	0,340	0,532	0,702									
BE	0,387	-0,534	0,546	-0,155	-0,033	0,215	0,068	0,272	0,611								
a	-0,456	0,628	0,433	<b>0,875</b>	0,273	-0,595	<b>-0,918</b>	-0,814	-0,729	-0,395							
b	-0,284	-0,552	-0,313	0,084	-0,390	0,423	0,068	-0,282	-0,033	-0,317	-0,249						
c	-0,385	-0,283	0,122	0,486	-0,382	0,235	-0,612	-0,681	-0,546	-0,143	<b>0,403</b>	0,294					
It	-0,376	-0,488	0,123	0,383	-0,413	0,343	-0,475	-0,610	-0,378	0,053	<b>0,301</b>	0,230	<b>0,332</b>				
ED <sub>OH</sub>	-0,582	0,301	0,261	<b>0,848</b>	0,038	-0,324	<b>-0,857</b>	<b>-0,918</b>	<b>-0,752</b>	-0,471	<b>0,822</b>	0,301	<b>0,716</b>	<b>0,361</b>			
ED <sub>NDF</sub>	-0,607	0,228	0,373	<b>0,903</b>	0,101	-0,360	<b>-0,875</b>	<b>-0,961</b>	-0,662	-0,341	<b>0,742</b>	<b>0,404</b>	<b>0,726</b>	<b>0,387</b>	<b>0,979</b>		
INDF	0,582	-0,301	-0,261	<b>-0,848</b>	-0,038	0,324	0,856	<b>0,918</b>	0,752	0,471	<b>-0,822</b>	<b>-0,301</b>	<b>-0,716</b>	<b>-0,361</b>	<b>-1,00</b>	<b>-0,979</b>	
KS OH	-0,268	-0,405	-0,356	-0,004	<b>-0,831</b>	0,683	-0,149	-0,280	-0,361	-0,298	0,096	0,646	<b>0,770</b>	<b>0,739</b>	0,441	0,365	-0,441

NL = dusíkaté látky; CF = hrubá vláknina; BNLV = bezdusíkaté látky výťažkové; NDF = neutrálně detergentní vláknina; ADF = acido detergentní vláknina; ADL = acido detergentní lignin; BE = brutto energie; a = rozpustná frakce (organická hmota) krmiva; b = frakce krmiva (organická hmota) nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná; c = rychlost degradace frakce b; ED<sub>OH</sub> = efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru k = 0,02 h<sup>-1</sup>; ED<sub>NDF</sub> = efektivní bachorová degradovatelnost NDF počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru k = 0,02 h<sup>-1</sup>; INDF = nestravitelný podíl NDF; KS OH = koeficient stravitelnosti organické hmoty stanovený *in vivo* metodou, It = lag fáze.

„**Tučně**“ zvyrazněné „korelační koeficienty byly stanoveny se statistickou významností P < 0,05.

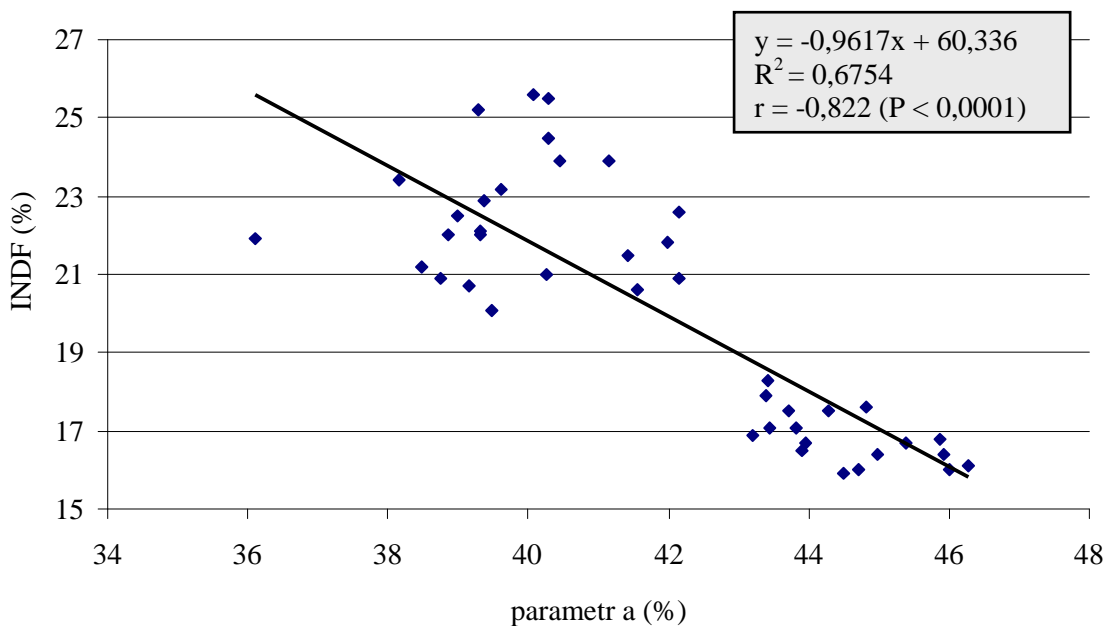
Graf 8

Efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty ( $ED_{OH}$ ;  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ ) versus efektivní bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny ( $ED_{NDF}$ ;  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ ) u jetele lučního.



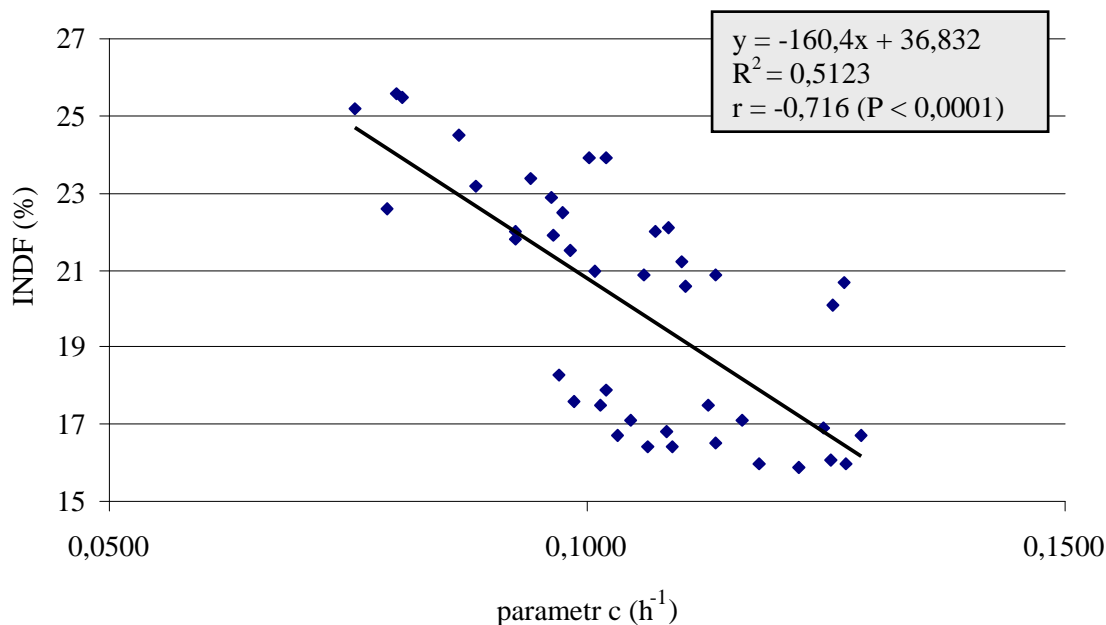
Graf 9

Parametr a (rozpustná frakce (organická hmota) krmiva) versus nestravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny (INDF) u jetele lučního.



Graf 10

Parametr c (rychlost degradace frakce b) versus nestravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny (INDF) u jetele lučního.



Tabulka 12

Test statisticky významných rozdílů ( $P < 0,05$ ) mezi jednotlivými vzorky jetele lučního ve vztahu k parametrům bachorové degradovatelnosti organické hmoty a efektivní bachorové degradovatelnosti NDF.

Jetel luční	1 (1216)	2 (1218)	3 (1220)	4 (1227)	5 (1229)	6 (1231)	7 (1241)
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	17. 8.
Seč	I	I	I	II	II	II	III
a (%)	45,7 <sup>a</sup>	43,5 <sup>b</sup>	38,5 <sup>e</sup>	44,3 <sup>a,b</sup>	39,1 <sup>d,e</sup>	41,6 <sup>c</sup>	40,3 <sup>c,d</sup>
b (%)	46,4 <sup>b,c</sup>	48,0 <sup>b</sup>	49,7 <sup>a</sup>	47,8 <sup>b</sup>	47,6 <sup>b,c</sup>	46,0 <sup>d,c</sup>	44,4 <sup>d</sup>
c (h <sup>-1</sup> )	0,113 <sup>a</sup>	0,114 <sup>a</sup>	0,111 <sup>a,b</sup>	0,110 <sup>a,b</sup>	0,099 <sup>a,b</sup>	0,098 <sup>a,b</sup>	0,088 <sup>b</sup>
lt (h)	2,0	2,1	1,9	1,8	1,8	1,5	1,6
ED <sub>OH</sub> (%)	83,6 <sup>a</sup>	82,6 <sup>a</sup>	78,9 <sup>b</sup>	83,2 <sup>a</sup>	77,3 <sup>c</sup>	78,6 <sup>b,c</sup>	75,2 <sup>d</sup>
ED <sub>NDF</sub> (%)	66,1 <sup>a</sup>	63,6 <sup>b</sup>	59,2 <sup>c</sup>	64,8 <sup>a,b</sup>	57,4 <sup>c,d</sup>	56,9 <sup>d</sup>	51,6 <sup>e</sup>

a = rozpustná frakce (organická hmota) krmiva; b = frakce krmiva (organická hmota) nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná; c = rychlost degradace frakce b; ED<sub>OH</sub> = efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ ; ED<sub>NDF</sub> = efektivní bachorová degradovatelnost NDF počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ ; lt = lag fáze.

a, b, c, d, e průměry se různými písmeny v řádku uvádějí statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými vzorky jetele lučního ( $P < 0,05$ ; Scheffe test).



## 6. Závěr

Uvedené výsledky poskytují základní informaci o kolísajícím obsahu živin u jetele lučního v průběhu jedné vegetační sezóny. Obsah vlákniny, bachorová degradovatelnost NDF, *in vivo* stravitelnost organické hmoty a brutto energie byla v přímé souvislosti s měnícím se obsahem ostatních živin v závislosti na termínu odběru vzorků. Vliv termínu sklizně (vegetační fáze) porostu jetele lučního ve vztahu k parametrům bachorové degradovatelnosti organické hmoty a neutrálně detergentní vlákniny byl statisticky prokázán.

## 7. Souhrn

Ze tří různých sečí, tj. seč I (n = 3), seč II (n = 3) a seč III (n = 1) byly v průběhu jedné vegetační sezóny (10. květen až 17. srpen) odebrány vzorky jetele lučního (*Trifolium pratense L.*). Krmivo bylo analyzováno na základní chemické složení (popel, tuk, dusíkaté látky (NL), hrubou vlákninu (CF), bezdusíkaté látky výtahové (BNLV), neutrálně detergentní vlákninu (NDF), acido detergentní vlákninu (ADF) a acido detergentní lignin (ADL)), obsah brutto energie (BE), *in vivo* stravitelnost organické hmoty (KS OH) a BE (KS BE) a *in situ* degradovatelnost organické hmoty a neutrálně detergentní vlákniny.

Termín odběru statisticky významně ovlivnil ( $P < 0,05$ ) obsah jednotlivých složek jetele lučního (popel, NL, CF, NDF, ADF a ADL a BE). V průměru popel vykazoval 119,2 g/kg sušiny, NL 197,7 g/kg sušiny, CF 214,1 g/kg sušiny, NDF 400,7 g/kg sušiny, ADF 296,2 g/kg sušiny, ADL 73,8 g/kg sušiny a BE 18,2 MJ/kg sušiny. S postupující vegetační fází klesala *in vivo* stravitelnost OH a BE. Koeficienty *in vivo* stravitelnosti OH a BE byly v průměru 72,4 % (KS OH) a 70,2 % (KS BE). Efektivní bachorová degradovatelnost organické hmoty ( $ED_{OH}$ ) vykazovala v průměru 81,7 % pro I. seč, 79,7 % pro II. seč a 75,2 % pro III. seč. Sledované parametry bachorové degradovatelnosti organické hmoty vykazovaly průměrné hodnoty 41,9 % (parametr a, tj. rozpustná frakce krmiva), 47,1 % (parametr b, tj. frakce krmiva nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná) a  $0,105 \text{ h}^{-1}$  (parametr c, tj. rychlost degradace frakce b).  $ED_{OH}$  byla v úzkém ( $P < 0,05$ ) korelačním vztahu s  $ED_{NDF}$  ( $r = 0,979$ ).

## 8. Summary

Seven clover samples (*Trifolium pratense L.*) were collected at three different miter I (n = 3), II (n = 3) and III (n = 1) during the growing season from 10<sup>th</sup> of May to 17<sup>th</sup> of August. The samples were analyzed for chemical composition, gross energy (BE) content, *in vivo* sheep digestibility of organic matter (KS OH) and gross energy (KS BE) and *in situ* rumen degradability of organic matter and neutral detergent fibre (NDF).

The contents of ash, crude protein (NL), crude fibre (CF), NDF, acid detergent fibre (ADF), acid detergent lignin (ADL) and BE were significantly ( $P < 0,05$ ) affected by the date of cutting time. The averaged values were for ash 119,2 g/kg of dry matter, NL 197,7 g/kg of dry matter, CF 214,1 g/kg of dry matter, NDF 400,7 g/kg of dry matter, ADF 296,2 g/kg of dry matter, ADL 73,8 g/kg of dry matter and BE 18,2 MJ/kg of dry matter. KS OH and KS BE generally decreased with higher dates of cutting time. On average KS OH and KS BE amounted 72,4 % and 70,2 %, respectively. The effective ruminal degradability of organic matter ( $ED_{OH}$ ) was in average 81,7 % for miter I, 79,7 % for miter II and 75,2 % for miter III. *In situ* organic matter degradability characteristics were in average 41,9 % for the immediately degradable (soluble) fraction (parameter a), 47,1 % for the potential degradable fraction (parameter b) and 0,105 h<sup>-1</sup> for the fractional rate of degradation (parameter c). The effective ruminal degradability of NDF ( $ED_{NDF}$ ) also generally decreased ( $P < 0,05$ ) with increasing date of cutting time with values of 63,0 % for miter I, 59,7 % for miter II and 51,6 % for miter III. Strong correlation ( $P < 0,05$ ) was observed between the  $ED_{OH}$  and  $ED_{NDF}$  ( $r = 0,979$ ).

## 9. Seznam literatury

1. Anonymous, 1998. Method for Determining Neutral Detergent Fiber (aNDF). Ankom Technology, USA. pp. 2.
2. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> Edition. Washington, DC.
3. Ball D. M., Collins M., Lacefield G. D., Martin N. P., Mertens D. A., Olson K. E., Putnam D. H., Undersander D. J., Wolf M. W., 2001. Understanding forage quality. American Farm Bureau Federation Publication 1-01, Park Ridge, IL.
4. Bartoš S., 1987. Mikrobiologie a biochemie trávení v bachoru přežvýkavců. Academia Praha. 10, 184 p.
5. Bečvářová I., 2010. Klinické vyšetření nutričního stavu koně. Veterinářství. 10 (ročník 60), 575-576.
6. Beever, D.E., Mould, F.L., 2000. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. In: Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.), Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CAB International, pp. 15-42.
7. Coblenz W. K., Fritz J. O., Fick W. H., Cochran R. C., Shirley J. E., 1998. *In situ* dry matter, nitrogen, and fiber degradation of alfalfa, red clover, and eastern gamagrass at four maturities. J. Dairy Sci. 81, 150-161.
8. Čermák B. a kol., 2004a. Pěstování a využití objemných krmiv pro zvířata a ochranu životního prostředí. 160 p., ISBN 80-7040-745-X
9. Čermák B. a kol., 2004b. Vliv kvality krmiv na produkci a zdravotní nezávadnost mléka a masa. 167 p., ISBN 80-7040-744-1
10. Di Marco O. N., Aello M. S., Nomdedeu M., Van Houtte S., 2002. Effect of maize crop maturity on silage chemical composition and digestibility (*in vivo*, *in situ* and *in vitro*). Anim. Feed Sci. Technol. 99, 37-43.
11. Dubbs T. M., Vanzant E. S., Kitts S. E., Bapst R. F., Fieser B. G., Hewlett C. M., 2003. Characterization of season and sampling method effects on measurement of forage duality in fescue-based pastures. J. Anim. Sci. 81, 1308-1315.
12. Eastridge M. L., 2006. Major advances in applied dairy cattle nutrition. J. Dairy Sci. 89, 1311-1323.
13. Elizalde J. C., Merchen N. R., Faulkner D. B., 1999. *In situ* dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. J. Dairy Sci. 82, 1978-1990.
14. Fick G.W., Mueller S. C., 1994. Alfalfa duality, maturity, and mean stage of development. Cornell Coop. Ext. Inform. Bull. 217. Cornell Univ., Ithaca, NY.

15. González J., Faría-Mármol J., Rodríguez C.A., Alvir M.R., 2001. Effect of stage of harvest on the protein value of fresh Lucerne for ruminants. *Reproduction Nutrition Development*. 41, 381-392.
16. Grenet E., 1970. Taille et structure des particules végétales au niveau et des reces chez les bovins. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 4, 643-657.
17. Grenet E., Jamot I., 1990. XVI. International Congree, Nice. 919-920.
18. Harazim J., Pavelek L., Čerešňáková Z., Homolka P., Třináctý J., Jambor V., Pozdříšek J., Zeman L., 1999. Metodika pro stanovení degradovatelnosti dusíkatých látek a aminokyselin krmiv v bachoru přežvýkavců (Metoda „*in situ*, *nylon bag*“). Sborník mezinárodní vědecké konference „Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců“, Opava. 115-118.
19. Harrison J., Huhtanen P., Collins M., 2003. Perennial grasses. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 677 S. segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. *Silage Science and Technology*, Agronomy Monograph no. 42.
20. Hetta M., Gustavsson A., Cone J.W., Martinsson K., 2004. *In vitro* degradation characteristics of timothy and red clover at different harvest times. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Anim. Sci.* 54 (1), 20-29.
21. Hoffman P. C., Sievert S. J., Shaver R. D., Welch D. A., Combs D. K., 1993. *In situ* dry matter, protein, and fiber degradation of perennial forages. *J. Dairy Sci.* 76, 2632-2643.
22. Homolka P., Koukolová V., Němec Z., Mudřík Z., Hučko B., Sales J., 2008. Amino acid contents and intestinal digestibility of lucerne in ruminants as influenced by growth stage. *Czech J. Anim. Sci.* 53, 499-505.
23. Horák V., Staszková L., 1998. *Biochemie*, Skripta České Zemědělské Univerzity v Praze, 200 p.
24. Hvelplund T., Weisbjerg M. R., 2000. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability. In: D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford, H. M. Omed (Editors), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing, 233-258.
25. Illek J., Matějček M., 2002. Použití propylenglykolu ve výživě dojnic. *Náš chov*. 1, 54-55.
26. INRA, 1988. *Alimentation des bovins, ovins et caprins*. Paris, 303 p.
27. Jančík F., Homolka P., Koukolová V., 2008a. Optimální termín sklizně trav z pohledu trávení buněčné stěny. *Metodika*. 33 p. ISBN 978-80-7403-011-6.
28. Jančík F., Homolka P., Koukolová V., 2008b. Optimální termín sklizně trav z pohledu trávení buněčné stěny. *Metodika*. 33 p. ISBN 978-80-7403-011-6

29. Jančík F., Koukolová V., Kubelková P., Čermák B., 2009. Effects of grass species on ruminal degradability of silages and prediction of dry matter effective degradability. Czech J. Anim. Sci. 54, 315-323.
30. Janknecht G., 2000. Americké hodnocení krmiv s NDF a ADF. Úspěch ve stáji. 3, 3-4
31. Kacerovský O. a kol., 1990. Zkoušení a posuzování krmiv. 216 p., ISBN 80-209-0098-5
32. Kadlec J., Čermák B., Lád F., 2000. Změny vlákninového spektra vybraných jetelovin v průběhu vegetace (The fibre spektrum changes of choice legume during vegetation). Collection of Scientific Papers from International Conference: IVth Days of Nutrition and Veterinary Dietetic, Veterinary University in Košice, 247-249.
33. Koukol O., 2009. Efektivní bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny u přežvýkavců. Bakalářská práce. 37 p.
34. Koukolová V., 2005. Stanovení degradovatelnosti NDF u píce *in vitro* metodami a jejich ověření metodou *in situ* na kanylovaných kravách. Disertační práce. 125 p.
35. Koukolová V., Homolka P., 2008. Význam hodnocení vlákniny ve výživě dojnic. Výživa dojnic, Pohořelice 5. 6. 2008. 25-30.
36. Koukolová V., Homolka P., Koukol O., Jančík F., 2010. Nutritive value of *Trifolium pratense* L. for ruminants estimated from *in situ* ruminal degradation of neutral detergent fibre and *in vivo* digestibility of organic matter and energy. Czech J. Anim. Sci. 55, 372-381.
37. Koukolová V., Weisbjerg M. R., Hvelplund T., Lund P., Čermák B., 2004. Prediction of NDF degradation characteristics of grass/clover forages based on laboratory methods. J. Anim. Feed Sci. 13, 691-708
38. Kowalczyk J., Zebrowska T., 2000. Włókno pokarmowe sklad chemiczny i biologiczne dzialanie. Institut Fizjologii i Zwierzat im. Jana Kielanowskiego w Jablonnie, 05-110 Jablonna, 119-127.
39. Kudrna V., Čermák B., Doležal O., Frydrych Z., Hermann H., Homolka P., Illek J., Loučka R., Machačová E., Martínek V., Mikyska F., Mrkvička J., Mudřík Z., Pindík J., Poděbradský Z., Pulkrábek J., Skřivanová V., Šantrůček J., Šimek M., Veselá M., Vrzal J., Zelenka J., Zemanová D., 1998. Produkce krmiv a výživa skotu. Agrospoj Praha. 362 p.
40. Lund P., 2002. The effect of forage type on passage kinetice and digestibility of fibre in dairy cows. Ph.D.- Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University (Denmark). 171 p.
41. Marten G. C., Buton D. R., Barnes R. F., 1988. Feeding value (forage quality). In Alfalfa and Alfalfa Improvement, Monograph no. 29. Madison, Wis.: ASSA/CSSA/SSSA.
42. McDonald I., 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. J. Agr. Sci. 96, 251-252.

43. Mertens D. R., 1994. Regulation of feed intake. In: G. C. Fahey, J. M. Collins, D. R. Mertens, L. E. Moser (eds.), Forage Quality, Evaluation and Utilization. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI. 450 – 493.
44. Micek P., Kowalski Z. M., Borowiec F., Shelford J. A., 2001. Digestibility of whole grain crop silages determined by different methods. *J. Anim. Feed Sci.* 10, 696-706.
45. Míka V., 1988. Hodnocení kvality píce ve šlechtění trav. Doktorská disertační práce. 1. díl, 316 p.
46. Míka V., Harazim J., Kalač P., Kohoutek A., Komárek P., Pavlů V., Pozdíšek J., 1997. Kvalita píce. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha. ISBN 80-96153-59-2, 227 p.
47. Nováková Š., 2002. Rozbor sacharidového spektra – Lignin jako faktor limitující stravitelnost a využití živin. Diplomová práce. Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. 85 p.
48. NRC, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7<sup>th</sup> ed. National Research Council, Washington, USA. pp. 381.
49. Ohlsson C., Wedin W. F., 1989. Phenological staging schemes for predicting red clover quality. *Crop Science.* 29, 416-420.
50. Ørskov E. R., McDonald I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agr. Sci.* 92, 499-503.
51. Písaříková B., Peterka J., Trčková M., Moudrý J., Zralý Z., Herzig I., 2007. The content of insoluble fibre and crude protein value of the aboveground biomass of *Amaranthus cruentus* and *A. Hypochondriacus*. *Czech J. Anim. Sci.* 52, 348-353.
52. Pozdíšek J., 1999. Možnosti stanovení stravitelnosti organické hmoty. In: J. Harazim a kol. (eds.), Metodika pro stanovení degradovatelnosti dusíkatých látek a aminokyselin krmiv v bachoru přežvýkavců (Metoda „*in situ*, *nylon bag*“). Sborník mezinárodní vědecké konference „Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců“, Opava. 85-92.
53. Pozdíšek J., Vaculová K., 2008. Study of wheat (*Triticum aestivum* L.) quality for feeding ruminants using *in vitro* and *in vivo* methods. *Czech J. Anim. Sci.* 53, 253-264.
54. Reece W. O., 1998. Fyziologie hospodářských zvířat. Praha, Grada Publishing, 1. vydání. 456 p.
55. Richter M., Třináctý J., 2009. Použití systému NRC 2001 v oblasti hodnocení proteinu krmiv pro dojnice. Certifikovaná metodika. 33 p. ISBN 978-80-87144-11-4
56. Rinne M., Jaakkola S., Kaustell K., Heikkilä T., Huhtanen P., 1999. Silages harvested at different stages of grass growth v. concentrate foods as energy and protein sources in milk production. *Anim. Sci.* 69, 251-263.

57. Rinne M., Nykänen A., 2000. Timing of primary growth harvest affects the yield and nutritive value of timothy-red clover mixtures. *Agric. Food Sci. Finl.* 9, 121-134.
58. SAS Institute, 2003. SAS; Statistic's Version 9.1 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
59. Selgen, 2009. Agrotechnika jetele lučního-diploidního [online]. [cit 2009-03-06]. <http://www.selgen.cz>
60. Schiemann R., 1981. *Archiv. f. Tierernahr.* 31, 1-19.
61. Skinner H. R., Moore K. J. (2007): Growth and Development of Forage Plants, chapter 4 (I), 53-66. In: R. F. Barnes et al. (eds.), *Forages: The Science of Grassland Agriculture*, 6th Edition is the long-awaited revision of the classic reference that serves as a comprehensive supplement to *An Introduction to Grassland Agriculture*.
62. Sommer A., Čerešňáková Z., Frydrych Z., Králík O., Králíková Z., Krása A., Pajtáš M., Petrikovič P., Pozdíšek J., Šimek M., Třináctý J., Vencel B., Zeman L., 1994. *Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce*. Česká akademie zemědělských věd, 198 p. ISBN 80-901598-1-8.
63. Sova Z., Bukvaj J., Koudela K., Kroupová V., Pješčak M., Podaný J., 1990. *Fyziologie hospodářských zvířat*. SPN Praha, 469 p.
64. *Statistická ročenka České republiky, 2010. Osevní plochy zemědělských plodin* [online]. [accessed March 15, 2010]. <http://www.czso.cz/csu/2010edicniplan.nsf/kapitola/0001-10--1300>
65. Stensig T., Weisbjerg M. R., Madsen J., Hvelplund T., 1994. Estimation of voluntary feed intake from *in sacco* degradation and rate of passage of DM and NDF. *Livest. Prod. Sci.* 39, 49-52.
66. Šlechtitelská stanice Hladké Životice, s.r.o., 2010. Odrůdy. Jetel luční (*Trifolium pratense* L.), Kvarta [online], [accessed February 4, 2010]. Available from [http://www.pbhz.cz/odrudy\\_nase/kvarta.htm](http://www.pbhz.cz/odrudy_nase/kvarta.htm)
67. Tilley J. M. A., Terry R. A., 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forages. *J. Brit. Grassl. Soc.* 18, 104-111.
68. Tománková O., Homolka P., 1995. Predikce střevní stravitelnosti dusíkatých látek nedegradovaných v bachoru enzymatickou metodou. *Czech J. Anim. Sci.* 40, 171-175.
69. Třináctý J., Šustala M., Richter M., Doležal P., 2000. Hodnocení obsahu NDF v krmných dávkách skotu. *Krmivářství.* 5, 41-42.
70. Tyrolová Y., Výborná A., 2008. Effect of the stage of maturity on the leaf percentage of Lucerne and the effect of additives on silage characteristics. *Czech J. Anim. Sci.* 53, 330-335.
71. Urban F., Bouška J., Čermák V., Doležal O., Fulka J. (jr.), Fulka J., Futerová J., Homolka P., Jílek F., Kudrna V., Loučka R., Macháčová E., Marounek M., Miklík J., Mudřík Z., Jaroslav P., Poděbradský Z., Šereda L., Skřivanová V., Váchal J., Vetyška



- J., Žižlavský J., 1997. Chov dojeného skotu. Nakladatelství APROS, ISBN 80-901100-7-X. 288 p.
72. Vajda V., Mitrík T., Maskaľová I., Bachratý M., 2003. Nutričná regulácia bachorových funkcií. Slovenský chov. 4, 32-33.
73. Van Saun J. R., Koukal P., 2003. Výživa přežvýkavců – trávení sacharidů. Farmář. 1, 40-42.
74. Van Soest P. J., 1994. Nutritional Ecology of The Ruminant. Cornell University Press. pp. 476.
75. Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A., 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.
76. Vencl B., 1985. Metodické zásady pro provádění bilančních a skupinových pokusů na přežvýkavcích. VÚŽV Uhřetěves. 36 p.
77. Vencl B., 1988. Současný stav a perspektivy nových analytických metod pro stanovení stravitelnosti krmiv. Nové metody predikce stravitelnosti krmiv. Sborník referátů ze semináře, VÚŽV Uhřetěves. 1-12.
78. Vencl B., 1990. Possibility of digestible organic matter prediction by chemical and *in vitro* methods. In: New Systems of Energy and Protein Evaluation for Ruminants, Praha, 1990.
79. Wikipedie, 2009. Bobovité [online].[cit 2009-03-06]. <<http://cs.wikipedia.org/wiki/>
80. Zahrádková a kol., 2009. Madný skot od A do Z. Český svaz chovatelů masného skotu, ISBN 978-80-254-4229-6. 397 p.
81. Zeman L., Doležal P., Kopřiva A., Mrkvicová E., Procházková J., Ryant P., Skládanka J., Straková E., Suchý P., Veselý P., Zelenka J., 2006. Výživa a krmení hospodářských zvířat, 360 p., ISBN 80-86726-17-7.

## 10. Příloha

1. Koukolová V., Homolka P., **Koukol O.**, Jančík F., 2010. Nutritive value of *Trifolium pratense* L. for ruminants estimated from *in situ* ruminal degradation of neutral detergent fibre and *in vivo* digestibility of organic matter and energy. Czech Journal of Animal Science. 55, 372-381.

Original Paper

Czech J. Anim. Sci., 55, 2010 (9): 372–381

### Nutritive value of *Trifolium pratense* L. for ruminants estimated from *in situ* ruminal degradation of neutral detergent fibre and *in vivo* digestibility of organic matter and energy

V. KOUKOLOVÁ, P. HOMOLKA, O. KOUKOL, F. JANČÍK

Institute of Animal Science, Department of Nutrition and Feeding of Farm Animals, Prague-Uhřetíněves, Czech Republic

**ABSTRACT:** Seven clover (*Trifolium pratense* L.) samples were collected at three different stages of the same sward (first growth (I),  $n = 3$ ; first regrowth (II),  $n = 3$ ; second regrowth (III),  $n = 1$ ) during the growing season from 10<sup>th</sup> of May to 17<sup>th</sup> of August. Samples were analyzed for chemical composition, gross energy (GE) content, *in vivo* organic matter digestibility (OMD) and gross energy digestibility (GED) in sheep, and *in situ* rumen degradability of neutral detergent fibre (NDF). The contents of ash, crude protein (CP), crude fibre (CF), NDF, acid detergent fibre (ADF), acid detergent lignin (ADL) and GE were significantly ( $P < 0.05$ ) affected by the time of cutting. Average values of 119.2, 197.7, 214.1, 400.7, 296.2, 73.8 g/kg of dry matter (DM) and 18.2 MJ/kg of DM were obtained for ash, CP, CF, NDF, ADF, ADL and GE, respectively. In general, OMD and GED decreased as the cutting time progressed, with average values of 72.4% and 70.2%, respectively. Effective ruminal degradability (ED) of NDF generally decreased ( $P < 0.05$ ) with the increasing date of cutting at each stage, with the values 66.1% (May 10), 63.6% (May 18), 59.2% (May 25), 64.8% (June 29), 57.4% (July 7), 56.9% (July 13) and 51.6% (August 17). *In situ* measurements were characterised by an average value of 77.1% for the fraction of NDF potentially degradable in the rumen ( $b$ ), 0.0703 h<sup>-1</sup> for the rate constant of disappearance of fraction  $b$  ( $c$ ), and 77.7% for digestible NDF (DNDF).

**Keywords:** clover; forage; vegetation stage; NDF; indigestible NDF; potential degradability

Clover continues to be important forage for ruminants in the Czech Republic. Red clover is a common forage species, generally grown in mixed leys with large variation in the proportion of legumes and grasses (Rinne and Nykänen, 2000).

Information on ruminal degradability of feeds is crucial for effective diet formulation. Quantitative data on ruminal degradability of forages may be useful to characterise the nutritional value of feeds (Messman et al., 1996). A feed ration with an optimal concentration of structural fibre is an impor-

tant regulator of feed intake, ruminal fermentation process, nutrient digestibility, health, animal production efficiency and profitability. To keep rumen fermentation balanced, high-producing dairy cows require a source of structural fibre to give integrity to the rumen contents, stimulate cud-chewing and produce fermentation end-products that can be used by the cows' tissues to produce milk fat and protein (Robinson and Putnam, 1999).

The above plant/animal interactions can be studied *in vivo*, *in situ*, and by other techniques.

Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Project MZE No. 0002701404).

2. Koukolová V., **Koukol O.**, Homolka P., Jančík F., 2010. Bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny a stravitelnost organické hmoty jetele lučního. Certifikovaná metodika. 25 p., ISBN 978-80-7403-041-3.

