

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
**Ústav výživy zvířat a pícninářství**

---



**Význam mikroorganismů v bachoru přežvýkavců**

Bakalářská práce

*Vedoucí práce:*

Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.

*Vypracovala:*

Andrea Roztočilová

Brno 2015



# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Andrea Roztočilová**  
Studijní program: Zootechnika  
Obor: Zootechnika  
Konzultant: Mgr. Ing. Ludmila Křížová, Ph.D.  
Název tématu: **Význam mikroorganismů v bachoru přežvýkavců**  
Rozsah práce: ca 30 stran

Zásady pro vypracování:

1. V literární rešerši pojednejte o rozdílnosti trávení u přežvýkavců.
2. Shrňte dosavadní poznatky o mikroorganismech v bachoru a o možnostech jejich ovlivňování.
3. Pojednejte o významu kvasinek v krmných dávkách přežvýkavců.
4. Proveďte odběry bachorové tekutiny u ca 10 ks skotu a vyhodnoťte pH, obsah amoniaku a přítomnost nálevníků v tekutině.
5. Vyhodnoťte získané hodnoty ve vztahu ke krmné dávce dojníc.



Seznam odborné literatury:

1. BARTOŠ, S. *Mikrobiologie a biochemie trávení v bachoru přežvýkavců*. 1. vyd. Praha: Academia, 1987. 183 s. Studie ČSAV.
2. FELDMANN, H. *Yeast : molecular and cell biology*. 2. vyd. Weinheim: Wiley-Blackwell, 2012. 444 s. ISBN 978-3-527-33252-6.
3. MARVAN, F. a kol. *Morfologie hospodářských zvířat*. 4. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze v nakl. Brázda, 2007. 303 s. ISBN 978-80-213-1658-4.
4. JELÍNEK, P. – KOUDELA, K. a kol. *Fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. 409 s. ISBN 80-7157-644-1.
5. *Animal Feed Science and Technology*. ISSN 0377-8401.
6. *Animal Science*. ISSN 1357-7298.
7. *Canadian Journal of Animal Science*. ISSN 0008-3984.
8. *Czech Journal of Animal Science*. ISSN 1212-1819.
9. *Journal Animal Science*. ISSN 1525-3163.
10. *Slovak Journal of Animal Science*. ISSN 1337-9984.

Datum zadání bakalářské práce:

říjen 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

duben 2015



**Andrea Roztočilová**  
Autorka práce





**Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.**  
Vedoucí práce

  
**prof. MVDr. Ing. Petr Doležal, CSc.**  
Vedoucí ústavu

  
**prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.**  
Děkan AF MENDELU

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Význam mikroorganismů v bachoru přežvýkavců vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne 29. 4. 2015

Andrea Roztočilová

### Poděkování

Na tomto místě si dovoluji upřímně poděkovat Mgr. Ing. Evě Mrkvicové, Ph.D. za odborné vedení a ochotnou spolupráci při zpracování mé bakalářské práce. Dále bych touto cestou chtěla vyjádřit veliký dík Doc. MVDr. Leoši Pavlatovi, Ph.D. a pracovnímu týmu výzkumného ústavu pro chov skotu s pracovištěm v Pohořelicích za ochotu, trpělivost a cenné rady při zpracování bakalářské práce. Cenné poděkování patří i mé rodině a přátelům za úžasnou podporu a trpělivost v průběhu celého vypracovávání bakalářské práce i samotného studia.

## ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá významem mikroorganismů v batoru přežvýkavců.

Práce obsahuje teoretickou i praktickou část. V teoretické části je popsána anatomie trávicího traktu přežvýkavců, činnost batoru, zastoupení jednotlivých mikroorganismů v něm a hlavní část je věnována jejich významu a působení. V závěru teoretické části se pojednává o významu zkrmování kvasinek, jejich vlivu na zdraví jedince a možnou prevenci metabolických chorob. V rámci praktické části byl proveden pokus. V průběhu našeho pokusu jsme prováděli pravidelné odběry batorové tekutiny a cílem bylo vyhodnocení vlivu přídatku sorbentu do krmné dávky dojnic na pH batorové tekutiny a další parametry charakterizující batorovou fermentaci (obsah TMK, počet nálevníků, koncentrace amoniaku). V provedeném pokusu nebyly zjištěny průkazné rozdíly mezi jednotlivými skupinami dojnic krmných krmnou dávkou bez přídatku kvasinek a s přídatkem kvasinek.

Klíčová slova: přežvýkavci, bator, batorová tekutina, mikroorganismy

## ABSTRACT

The bachelor thesis deals with the importance of the microorganisms in the rumen.

Work includes both theoretical and practical parts. The theoretical part describes the anatomy of the digestive tract of ruminants, rumen activity and microorganisms occurring in the rumen and the main part is devoted to their importance and impact. At the end of the theoretical part discusses the importance of feeding yeast, their impact on the health of individuals and the possible prevention of metabolic disorders.

In the practical part, an attempt was made with two groups of cows (n = 5 in every group) with and without yeasts. Ruminant fluid was taken and content of volatile fatty acids, NH<sub>3</sub> concentration and quantity of protozoa was measured. There were non-significant differences between groups.

Key words: ruminants, rumen, ruminant fluid, microorganisms

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADF – acidodetergentní vlákna

ATP – adenosintrifosfát

BNLV – bezdusíkaté látky výtahové

CF – vlákna

KS – krmná směs

KUKSI – kukuřičná siláž

LS – luční seno

NDF – neutrálně detergentní vlákna

NH<sub>3</sub> – amoniak

NL – dusíkaté látky

S – sorbent

TMK – těkavé mastné kyseliny

TS – travní senáž

## Obsah

1 ÚVOD .....	10
2 LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	11
2.1 Specifika trávení u přežvýkavců .....	11
2.1.1 Morfologický popis trávicího traktu přežvýkavců .....	13
2.1.2 Bachor a jeho osídlování .....	14
2.2 Mikroorganismy bachoru .....	14
2.2.1 Bakterie .....	16
2.2.2 Prvoci – protozoa .....	21
2.2.3 Houby .....	22
2.3 POPIS BACHOROVÉHO TRÁVENÍ .....	23
2.3.1 Metabolismus sacharidů .....	23
2.3.2 Metabolismus dusíkatých látek .....	24
2.3.3 Metabolismus lipidů .....	25
2.4 VÝZNAM KVASINEK V KRMNÝCH DÁVKÁCH DOJNIC .....	26
2.4.1 Zařazení kvasinek do výživy .....	26
2.4.2 Kvasinková probiotika .....	27
2.4.3 Vliv kvasinek na dojnice .....	27
2.5 HODNOCENÍ KVALITY BACHOROVÉ TEKUTINY .....	30
2.5.1 Bachorová tekutina a její odběr .....	30
2.5.2 Vyšetření bachorové tekutiny .....	30
2.6 Poruchy metabolismu .....	36
2.6.1 Akutní acidóza bachorového obsahu .....	36
2.6.2 Chronická acidóza bachorového obsahu .....	38
2.6.3 Alkalóza bachorového obsahu .....	41
3 CÍL VLASTNÍ PRÁCE .....	43
4 MATERIÁL A METODIKA .....	44



Analýza bachorové tekutiny.....	46
Pozorování nálevníků.....	46
5 VÝSLEDKY A DISKUSE .....	47
6 ZÁVĚR .....	49
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	50

## 1 ÚVOD

Přežvýkavci jsou podřádem sudokopytníků, zahrnují savce, jež mají trávící trakt uzpůsobený k trávení velkého objemu rostlinné potravy. Řada ze zástupců představuje významný zdroj potravin živočišného původu. Vzhledem k požadavkům na vysokou produkci je nutné zajistit u zvířat životní pohodu, vyhovující technologie chovu a dobrý zdravotní stav, který významně ovlivňuje užitkovost. K zajištění dobrého zdravotního stavu je nutné znát anatomické a fyziologické vlastnosti přežvýkavců.

Jednou z nejdůležitějších oblastí je bachor a mikroorganismy žijící v něm. Samotný mikrobiální systém je stále aktuálním tématem, neboť přes mikrobiální populaci se dá ovlivnit bachorová činnost a díky ní celkové zdraví zvířete, což významně napomáhá při řešení metabolických poruch a snižování tak ekonomických ztrát vlivem poklesu užitkovosti.

## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Specifika trávení u přežvýkavců

Jedním z nejvýznamnějších procesů v těle je trávení, bez jehož správné funkčnosti nelze dosáhnout maximální využitelnosti přijaté potravy, následné pohody zvířat, dobrého zdravotního stavu, příznivých hodnot užitkovosti, reprodukce a dlouhověkosti. Právě v procesu trávení se nejvíce liší přežvýkavci od zvířat nepřežvýkavých, jelikož trávicí pochody a orgány jsou uzpůsobené k trávení rostlinné potravy. Uzpůsobení trávicího traktu přežvýkavců umožňuje přijatou potravu nejprve fermentovat v segmentech trávicí trubice zvaných předžaludky a až poté dochází k trávení potravy v žaludku zvaném slez a následně ve střevech (URBAN a kol., 1997). MARVAN a kol. (2011) doplňují, že předžaludek je dělen na tři komory a to bachor, čepec, kniha a tyto předžaludky plynule navazují na vlastní žaludek slez.

KUDRNA (1998) uvádí, že bachorová fermentace je velmi důležitá, protože se podílí ze 75 % na dotaci energie a dusíkatých látek pro organismus a proto je nutná správná funkce předžaludku, která ovlivňuje průběh samotné fermentace.

ŽITŇAN a SOMMER (2002) konstatují, že fermentace probíhající v bachoru je výsledkem mnoha vzájemných vztahů bachorové mikroflóry, kvality krmiv, frekvence krmení a vlastního organismu zvířete. Fermentace po příjmu pevných částic je asi čtyřikrát rychlejší než po příjmu kapalných složek. Vysvětlením je skutečnost, že v kapalném obsahu bachoru se vyskytuje méně prvoků z důvodu nižšího zastoupení živného substrátu oproti zastoupení živin v pevném obsahu (HUNGATE, 1966). HOFÍREK a kol. (2009) uvádějí, že indikátorem dobře fungujících fermentačních procesů je přítomnost protozoí v bachorové tekutině.

Průběh fermentace má vysokou vypovídající diagnostickou hodnotu při procesu hodnocení úrovně výživy (VAJDA a kol., 2003). Výživa je klíčovým faktorem pro řadu dějů v těle, kdy významně ovlivňuje celkovou motoriku bachoru, která následně ovlivňuje výše jmenovanou fermentaci v podobě navyšování, či naopak úbytku zastoupených kyselin – octové, propionové a máselné. Důležitý je podíl sušiny a vlákniny v přijímané krmné dávce, neboť při nevyhovujícím poměru dochází ke sníženému dráždění mechanoreceptorů bachoru a tím celkovému snížení motoriky bachoru (HOFÍREK a kol., 2009).

V bachoru probíhá více procesů, jedním z nich je mechanické narušení přijatého krmiva a to díky mobilitě bachoru, dále dochází k promíchávání trávené potravy, reakcím chemického charakteru a to díky symbiontním organismům, kteří v bachoru žijí a k nejvýznamnějšímu procesu patří vstřebávání. SLANINA a kol. (1993) uvádějí, že za fyziologických podmínek a minimálně dvě hodiny po nakrmení je frekvence rotací bachoru 7-14 za pět minut.

Přijatá potrava v bachoru vykonává v průběhu zpracovávání přibližně kruhovitý pohyb (HOFÍREK a kol., 2009).

Výhodou samotného trávení přežvýkavců je více faktorové působení na přijaté krmivo, kdy na něj nejprve působí mechanické síly v podobě kousání, přežvykování, promíchání se slinami a biologické síly kdy je krmivo rozkládáno pomocí enzymů produkovaných bachorovými mikroorganismy.

Hustota osídlení bachorového prostředí vypovídá o intenzitě látkové přeměny probíhající v bachoru (SLANINA a kol., 1993).

Obsah bachoru má, při standartním způsobu krmení, uspořádání do tří vrstev a to horní, střední a tekutá vrstva (HULSEN a ARDEN, 2014). Horní vrstva je tvořená bachorovým plynem, který je zastoupen z části plynem přichozím z vnějšího prostředí společně s konzumovaným krmivem a z části plynem vznikajícím v průběhu fermentace krmiva v oblasti předžaludků. Za časový úsek jedné hodiny se vytvoří v průměru okolo 40 litrů objemu plynu. Z chemického složení je plynná složka tvořená oxidem uhličitým, metanem, v menším množství sirovodíkem a prvky jakož jsou vodík, dusík a v omezeném množství i kyslík. Za fyziologických podmínek se část bachorového plynu vyloučí plícemi při výdechu, což je umožněno přestupem plynu přes tkáň do krve a větší část je z bachoru odstraňována dějem zvaným eruktace neboli krkání (BARTOŠ, 1987). REECE (2010) vysvětluje proces krkání jako jev, při kterém dochází k odvodu plynu jícnem a hltanem do dutiny ústní a následně ven z těla. Opakuje se v intervalech jednou za minutu.

Střední vrstva bývá chápána jako povrchová vrstva neboli vrstva plovoucí složky, jež tvoří krmivo, které bylo zkonzumováno v nedávné době a spodní tekutá vrstva je tvořená bachorovou tekutinou (HULSEN a ARDEN, 2014). Řada autorů uvádí, že obsah bachoru není uspořádán do tří vrstev, ale do čtyř vrstev, neboť započítávají jako vrstvu spodní část bachoru, na které se nacházejí sedimentované částice. Při krmení

mléčnými krmnými dávkami se utváří jen dvě vrstvy, a to plynná a plovoucí, která obsahuje směsi krmiva i bachorovou tekutinu (HULSEN, ARDEN, 2014).

Větší částice potravy plovoucí na povrchu bachorové tekutiny aktivně dráždí okolí kardie a stimulují tak reflex rejekce, kterým se dostávají částice do dutiny ústní pro důkladné přežvýkání (HOFÍREK a kol., 2009).

Právě zastoupení jednotlivých výše jmenovaných vrstev může při vyšetření vypovědět o aktuálním stavu bachoru, kdy pouhou adspekci zjistíme, zdali je bachor naplněn dle potřeb zvířete, či nedostatečně v opačném případě nadměrně a při hlubším vyšetření pomocí palpce a perkuse vnímáme zvukový a konzistenční charakter jednotlivých vrstev. Nejtemnější pokleповý zvuk je patrný v části vrstvy obsahující plovoucí pevné částice. Konzistence se mění od elastické, která je typická pro vrstvu plynnou a tekutou až po těstovitou charakterizující vrstvu plovoucích částic (HOFÍREK a kol., 2009).

### 2.1.1 Morfologický popis trávicího traktu přežvýkavců

U přežvýkavých zvířat není trávení stejné po celou dobu života, ale liší se trávení u mláďat a dospělců v důsledku postupné organogeneze jednotlivých částí trávicího traktu. U narozeného telete je poměr předžaludku a slezu jen 1 : 9, kdežto již v 8. týdnu věku se daný poměr vyrovná a ve věku 12. týdnů je poměr bachoru a slezu 2:1. U dospělého jedince se poměr obrací ve prospěch předžaludku, tedy na poměr 9:1 (KUDRNA a kol., 1998). Zvětšování jednotlivých částí trávicího traktu probíhá v důsledku nastartování trávicích procesů pomocí postupného zařazení jednotlivých pevných krmných složek.

Vývoj bachorové sliznice pozitivně ovlivňují těkavé mastné kyseliny, které stimulují aktivní vývoj papil, díky kterým se zvyšuje resorpční plocha bachoru (HOFÍREK a kol., 2009).

Jak je již z výše uvedených velikostních poměrů zřejmé, bachor je největší představitel ze segmentů předžaludku s objemem 80 – 150 litrů. Bachor zaujímá většinu prostoru v levé polovině dutiny břišní (REECE, 1998).

### 2.1.2 Bachor a jeho osídlování

Symbióza přežvýkavého zvířete s anaerobními mikroorganismy se odehrává v oblasti předžaludků. Do prvního kontaktu se zástupci mikroorganismů přichází přežvýkavci již krátce po narození díky slinám matky. Nejprve se jedná o fakultativně anaerobní bakterie, které jsou do několika dní vystřídány přísně anaerobními mikroorganismy. V průběhu prvního týdne života se rozvíjí metanové bakterie, následují celulolytické bakterie a ve dvou týdnech se objevují plísňe. Postupné osídlování bachoru souvisí s jeho funkčností. Jeho maximální funkčnosti je dosaženo až po zaznamenání výskytu jednotlivých zástupců prvoků (RYTINA, 2004).

Mikroorganismy napomáhají schopnosti využívání energie zvířetem ze strukturálních sacharidů původem z krmiv rostlinného charakteru (BARTOŠ, 1987). Jak je již z textu patrné, mikroorganismy bachoru jsou v pozitivním vztahu se svým hostitelem a působí synergicky při rozkladu přijímané potravy na těkavé mastné kyseliny (KAMRA, 2002). Těkavé mastné kyseliny má přežvýkavec jako zdroj uhlíku a energie. KUDRNA a kol. (1998) uvádějí, že těkavé mastné kyseliny propionová, máselná a octová se vstřebávají do krve přes bachorovou stěnu a k tomu doplňují KOWALCZYK a ZEBROWSKA (2000), že po vstřebání slouží ke krytí energetických potřeb zvířete. Produkci těkavých mastných kyselin, stejně tak pH bachoru, samotnou aktivitu mikroorganismů a příjem krmiva ovlivňuje složení krmné dávky (JANKNECHT, 2000).

## 2.2 Mikroorganismy bachoru

V bachorovém prostředí se vyskytuje velmi rozmanitý ekosystém mikroorganismů.

Bachorová tekutina nazývaná též "*ruminální*" obsahuje velké množství mikroorganismů, uvádí se, že více než miliarda mikroorganismů na mililitr. Tato mikrobiální flóra seskládá z prvoků (40 – 50 %), bakterií (40 – 50 %), hub (5 – 10 %) a prokaryot (1 – 2 %) (HULSEN a ARDEN, 2014). SLANINA a kol. (1993) dodávají, že součástí bachorové mikroflóry jsou i kvasinky.

Mikrobiální ekosystém je dynamický a dynamicky reaguje svým složením na složky v přijímaném krmivu, proto je třeba provádět změnu krmné dávky postupně, aby mělo

mikrobiální společenstvo dostatek času na adaptaci (KAMRA, 2005). Důvodem delší adaptace je skutečnost, že zástupci mikroorganismů jsou buďto vysoce specializovaní na rozklad konkrétní složky potravy, nebo se přizpůsobí živinám, které jsou aktuálně k dispozici a jako zdroj energie využívají větší škálu živin (HUNGATE, 1966). V případě nedodržení postupného přechodu na nové krmivo, dochází k destabilizaci mikrobiální populace, neboť například při rychlém přechodu z krmiva bohatého na celulózu na krmivo s vyšším obsahem škrobu, dojde ke zvýšení počtu zastoupených bakterií oproti jiným mikroorganismům a ty budou produkovat zvýšené množství kyseliny mléčné, v důsledku čehož dojde k výkyvu pH bacheru a v těžších případech až k acidóze (ULANOWICZ, 1997).

FELLNER (2004-2005) uvádí, že přijímaná potrava přežvýkavců je bohatá na velkou škálu různorodých sloučenin jako jsou například sacharidy, tuky, bílkoviny, minerální látky a řada dalších, které je potřeba v bacheru patřičně rozštěpit a dále zpracovat.

Bacherové mikroorganismy jsou spíše obligatorními anaeroby, neboť absence kyslíku nejvíce vyhovuje jejich životním požadavkům, ale většina je schopná tolerovat i nižší koncentraci kyslíku, která se do bacheru dostane společně s přijímaným krmivem a vodou (DOLEŽAL a kol., 2010).

Dle toho na jakém místě se mikroorganismy nacházejí, rozlišujeme mikroorganismy přichycené na potravě, na epiteliální stěně bacheru a mikroorganismy, které se volně pohybují v již výše zmíněné třetí vrstvě bacherové tekutiny (FELLNER, 2004-2005).

Do fáze volného pohybu v bacherové tekutině se nakonec dostanou všechny mikroorganismy poté, co dojde k vyčerpání jejich živného substrátu, nebo po odumření (BARTOŠ, 1987).

Jednotlivé skupiny mikroorganismů vykazují různé synergické a antagonistické známky projevu, tudíž je mnohdy velmi těžké přesně stanovit roli určité skupiny, či daného rodu (KAMRA, 2005).

Za fyziologických podmínek, by nemělo docházet ke kontaminaci bacheru i přes skutečnost, že nejrůznější druhy mikroorganismů zvíře přijímá vodou, potravou, vzduchem. Děje se to díky tomu, že zvíře krmnou dávkou do sebe přijímá rostliny, které syntetizují různé antinutriční látky, jako jsou třeba ligniny, saponiny, taniny, kterými se rostlina brání před mikroorganismy a obdobný účinek sloučeniny vyvolají i v těle zvířete kde brání růstu některých skupin mikrobů (KAMRA, 2005).

Zástupci mikroorganismů bez ohledu na preferovaný substrát v průběhu fermentace produkují metabolické odpady jako je metan, oxid uhličitý, kyselina propionová, kyselina máselná a kyselina octová. Řada z těchto metabolických odpadů slouží hostiteli jako zdroj energie (HUNGATE,1966).

Bachorové mikroorganismy se dělí dvakrát až čtyřikrát za den (HUNGATE,1966). Hlavní složku mikrobiální populace tvoří bakterie.

### 2.2.1 Bakterie

Bakterie jsou jedny ze zástupců bachorové mikroflóry, které jsou přizpůsobené k životu v bachorovém prostředí při tělesné teplotě 39 – 40 °C, za absence kyslíku a při průměrném pH od 5,5 do 7 (HUNGATE, 1966). JELÍNEK a kol. (2003) upřesňují, že některé bachorové bakterie jsou fakultativně anaerobní, tudíž jsou schopné jisté množství přítomného kyslíku zpracovat, a tak udržovat stálost anaerobního prostředí v bachoru.

Bachorové bakterie svou činností ovlivňují metabolické vlastnosti bachorového obsahu (BARTOŠ, 1987). Právě bakterie se podílí z 80 % na bachorovém metabolismu (REECE, 2010). Koncentrace vyskytujících bakterií kolísá mezi  $10^7$ - $10^{12}$  na 1 ml bachorové tekutiny nebo 1 g pevného obsahu (DVOŘÁK, 2005). Množství zastoupených bakterií úzce souvisí se složením krmné dávky, neboť při zkrmování krmiv s vyšším obsahem lehce rozložitelných polysacharidů je počet bakterií vyšší, než při zkrmování krmiv bohatých na vlákninu (BARTOŠ, 1987). V souladu s tímto tvrzením TAJIMA a kol (2001) uvádějí, že se výrazně změnilo zastoupení bakteriální populace při změně krmiva. HOFÍREK a kol. (2009) doplňují, že bakterie si na změnu krmné dávky zvykají po dobu minimálně 7 mnohdy až 14 dní. V bachorové tekutině jedinců, jež jsou krmeny krmnou dávkou tvořenou převážně senem je více gram-negativních bakterií a naopak při příjmu krmné dávky bohaté na obiloviny, je v bachorové tekutině vyšší zastoupení gram-pozitivních bakterií (HUNGATE, 1966).

Právě výše jmenované složení krmné dávky ovlivňuje výsledné pH bachoru, které ovlivňuje výskyt jednotlivých druhů bakterií. HOFÍREK a kol. (2009) dané tvrzení upřesňují na konkrétních typech krmiva a to na kompletní krmné směsi ze sena a koncentrátů, kdy je možné pod mikroskopem pozorovat vyšší zastoupení malých



forem gram-negativních bakterií v podobě koků a sarcin, méně pak gram-pozitivních koků a tyčinek, z nichž mnohé tvoří řetězce. Krmiva obsahující vysoké množství škrobu tvoří opačný obraz, kdy je možné pozorovat gram-negativní koky, tyčinky, které jsou buď krátké, nebo dlouhé, selenomonády a vysoký počet gram-pozitivních bakterií.

BARTOŠ (1987) uvádí, že bachorová mikroflóra obsahuje velké množství bakterií, zhruba okolo 60 druhů. Zástupce bakterií můžeme členit na základě mnoha kritérií, z nichž největší význam má členění na základě preferovaného substrátu a vzniklého metabolitu (BRYDL a ISTVÁN, 2009). DOLEŽAL a kol. (2010) uvádějí, že mezi nejvýznamnější patří bakterie celulolytické, dále pak hemicelulolytické, pektinolytické, amylolytické, metanogenní, proteolytické, urealytické, ale také kyseliny a lipidy, využívající bakterie.

Některé z výše jmenovaných bakterií jsou schopné preferovaný substrát rozložit jen částečně a jiné jej rozloží až do podoby konečných produktů. Ne zcela rozložené metabolity bakterií podléhají působení dalších mikroorganismů (HOFÍREK a kol. 2009).

Dalším kritériem pro dělení bakterií, může být jejich způsob výskytu v bachorové tekutině. Buďto se vyskytují volně, nebo jsou přisedlé na částičky potravy, či přímo na epitel bachorové sliznice (BARTOŠ, 1987). HOFÍREK a kol. uvádějí, že volně se vyskytující bakterie v bachorové tekutině tvoří 12 – 25 % z celkového počtu bakterií a bakterie, které jsou přichycené na povrchu (75 – 78 %). Bakteriím umožňují přichycení k substrátu či epitelu glykokalixy, neboli polysacharidová vlákna, která mají negativní náboj a kromě přichycení umožňují také tvorbu polárních vazeb s jinými bakteriemi. Dále také tato vlákna chrání, shromažďují a následně nasměrovávají uvolněné enzymy bakterií proti cílené buňce rostlinného charakteru. (BARTOŠ, 1987).

### *2.2.1.1 Celulolytické bakterie*

Celulolytické bakterie jak již svým názvem napovídají, využívají jako zdroj energie a potřebného uhlíku di- a trisacharidy a oligosacharidy uvolňované v průběhu hydrolýzy celulosy a hemicelulosy. Mezi nejvýznamnější zástupce patří *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* (BARTOŠ, 1987). Celulolytické bakterie potřebují pro svůj růst přítomnost dostatku vitamínů skupiny B, mastné

kyseliny s rozvětveným řetězcem a amoniak. Dostupnost těchto komponentů zajišťují většinou ostatní mikroorganismy (BARTOŠ, 1987). Jak uvádí BLAKE (1993) celulolytické bakterie jsou nejvíce senzitivní k výkyvům pH bachorové tekutiny, kdy optimální hodnotu je pH  $6,7 \pm 0,5$ . Pokud hodnoty pH klesnou pod 6, aktivita bakterií poměrně rychle ustává (BLAKE, 1993)

### 2.2.1.2 Amylolytické a dextrinolytické bakterie

Amylolytické a dextrinolytické bakterie jsou skupinou bakterií, které fermentují škrob, pentosany, rozpustné cukry a proteiny. Mezi významné zástupce patří *Bacteroides amylophilus*, *Streptococcus bovis*, *Succinomonas amylolytica*, *Succinivibrio dextrinosolvens* (BARTOŠ, 1987). Již v roce 1952 HOBSON a MACPHERSON detailně zkoumali bakterie *Streptococcus bovis*. V témže roce (1952) HUNGATE a kol. pozorovali, že *Streptococcus bovis* rychle roste na škrobu.

### 2.2.1.3 Sacharolytické bakterie

Sacharolytické bakterie zastávají funkci fermentace rozpustných cukrů a produktů hydrolýzy cukerných polymerů. Mezi nejčastěji se vyskytující zástupce patří *Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens* a *Selenomonas ruminantium* (BARTOŠ, 1987). Jsou poměrně nenáročné na živný substrát, neboť jsou v bachoru přítomné při všech dietách. BRYAN a kol. (1958) konstatují, že *Bacteroides ruminicola* je jedna z významných bakterií analyzovaných v bachoru a tvoří 6 – 19 % ze všech přítomných sacharidových fermentorů. Dále uvádějí, že jeho množstevní převaha je pravděpodobně způsobená flexibilitou bakterie vůči přijímanému sacharidovému substrátu.

BARTOŠ (1987) uvádí schopnosti jednotlivých zástupců – *Bacteroides ruminicola* štěpí škrob, pektin a hemicelulosu. *Selenomonas ruminantium* je schopna uklízet škrob i některé konečné fermentační produkty jiných organismů, jako je sukcinin a laktát a metabolizuje je na propionát a acetát. *Megasphaera elsdenii* není v bachoru příliš početně zastoupená, avšak je hlavní bakterií, která v bachoru štěpí laktát. Obsahuje

deaminasu a díky ní dovede z aminokyselin produkovat mastné kyseliny, které mají rozvětvený řetězec. (BARTOŠ, 1987)

#### 2.2.1.4 Bakterie využívající vodík

Mezi bakterie využívající vodík patří bakterie *Methanobacterium ruminantium*, která je zástupcem methanogenních bakterií a předpokládá se, že při produkci metanu v batoru hraje významnou roli (CAROLL a HUNGATE, 1955). Dále doplňuje BARTOŠ (1987) další bakterii *Wolinella succinogenes*, která získává energii pro zachování svého růstu tím, že využívá vodík a formiát jako významné donory elektronů. Redukuje fumarát na sukcinát.

#### 2.2.1.5 Proteolytické bakterie

Proteolytické bakterie jsou neopomenutelnou skupinou bakterií, které mají pro svého hostitele velký význam, neboť působí jako vnitřní recyklační centrum pro buněčné složky. Příkladem recyklované buněčné složky mohou být úlomky keratinizovaných odumřelých epitelových buněk, které jsou díky bakteriím rozloženy až na skelet původní plazmatické membrány (BARTOŠ, 1987).

#### 2.2.1.6 Metanogenní bakterie

Metanogenní bakterie jsou specifickou skupinou bakterií, které mohou žít v endosymbiotickém vztahu s některými nálevníky (VOGELS a kol., 1980). EMBLEY a kol. (2003) vysvětlují důvod endosymbioického vztahu ve prospěch bakterií tak, že metanogenní bakterie získávají od nálevníků  $H_2$ .

Jejich zastoupení a rozmanitost je v přírodě poměrně velká, byly rozděleny do 28 rodů a druhů (GARRITY a kol., 2007). V batoru jich je poměrně málo a to i ve srovnání s jinými mikroorganismy (SHARP a kol., 1998). PAUL a kol., (2012) upřesňují počet metanogenních bakterií nižší než 3 % z celkové batorové prokaryotické mikroflóry a uvádí tři hlavní rody *Methanobrevibacter*, který zahrnuje okolo 62 % metanogenních zástupců, *Metanomicrobium* zhruba 15 % a poslední

*Metanoplasmatales* zahrnující 16 %. Zbytek metanogenních mikroorganismů spadá k menším rodům jako je i *Metan Micrococcus*, *Metanosarcina* a *Metanobacterium* (ST-PIERRE a WRIGHT, 2013).

Celkové zastoupení a rozmanitost metanogenních bakterií ovlivňuje strava, zeměpisná oblast, metoda odběru bacherové tekutiny a další faktory (WRIGHT a kol. 2007).

Přítomnost metanogenních obrvených bakterií představuje jisté energetické ztráty. Ztráty energie činní až okolo 10 % (NOLLET a kol., 1997).

Výskyt metanogenních bakterií v bacheru přežvýkavců není zcela kladný, neboť následkem jejich výskytu a působení skot produkuje do ovzduší metan. Uvolňovaný metan přežvýkavci je značným regulátorem klimatických změn (SMITH a kol., 2007). Z antropogenních emisí tvoří produkce metanu domácími přežvýkavci okolo 4,3 % skleníkových plynů (SCHEEHLE a kol., 2006). Na Novém Zélandu tvoří metanové emise až 32% (SMITH a kol., 2007).

Jak ztráta energie z přijatých krmiv, tak produkce metanu vedla k provedení řad studií, které stále probíhají a snaží se přinést vhodný způsob řešení problematiky produkovaného metanu vedoucí k jeho snížení. Zjištěné techniky zahrnují úpravy skladby krmných dávek, dále zabezpečení rozkladu určitého množství metanu již v bacheru za pomoci bakterií využívající H<sub>2</sub> a dokonce se uvažuje o možné vakcinaci proti metanogenním bakteriím (KREUZER, 1986; MCALLISTER a NEWBOLD, 2008).

Metanogenní bakterie obsahují metyl-koenzym M reduktázu, která je důležitá pro snížení počtu metylových skupin vázajících se na metyl-koenzym při konečné fázi metanogeneze, díky tomuto enzymu jsou bakterie diagnostikovatelné u nálevníků (TAHUER, 1998). Metanogeneze je jev při kterém bakterie využívají elektrony získané z vodíku pro redukci oxidu uhličitýho na metan a vodu (HUNGATE a kol. 1970).

HOEK a kol. (2000) uvádějí specifitu metanogenních bakterií k hostiteli, která je dána vertikálním přenosem, kdy při dělení nálevníka dojde k náhodnému rozdělení i bakterie.

### 2.2.2 Prvoci – protozoa

Obyvatelé bachoru nesoucí název prvoci – protozoa jsou velice rozšířenou skupinou, kdy nejvýznamnější jsou nálevníci dnes řazení do říše *Chromalveolata*.

Prvoci se podílí z 20 % na bachorovém metabolismu (REECE, 2010). HOFÍREK a kol. (2009) uvádějí, že mezi nejčastější produkty protozoálního sacharidového metabolismu patří těkavé mastné kyseliny, laktát, oxid uhličitý, vodík a menší obsah metanu. URBAN a kol. (1997) konstatují pozitivní vliv prvoků na udržování stálého pH bachoru, díky pohlcování škrobových zrn, což znemožňuje jeho rozklad vlivem bakteriálního štěpení. Dále jsou protozoa schopná odbourávat některé druhy polysacharidů, někteří zástupci protozoí i lipidy a předpokládá se, že díky pohlceným bakteriím jsou některé druhy schopny degradovat i celulózu (HOFÍREK a kol., 2009)

Prvoky dělíme na základě umístění bičíků na povrchu svého těla do dvou skupin, *Holotrichia* a *Entodiniomorpha* (RODE, 2000). *Holotricha* mají své bičíky rozmístěné po celém povrchu těla. *Holotricha* jsou reprezentovány rody *Isotricha* a *Dasytricha*. *Entodiniomorpha* mají bičíky soustředěny do určitého místa v podobě svazečků a jsou reprezentovány především rody *Diplodinium*, *Entodinium* a *Espidinium* (BARTOŠ, 1987).

U většiny zástupců prvoků má bičík charakteristickou strukturu tvořenou z mnoha mikrotubulů, jež vykonávají svým pohybem pohyb samotného bičíku. Kromě bičíku prvoci mohou být obohaceni o další orgány pohybu, jako jsou například brvy nazývané též cilie, dále membranely, panožky neboli pseudopodie a další (SMRŽ a kol., 2004).

Prvoci na rozdíl od bakterií jsou mnohem náročnější na potřebu živin, vitamínů, růstových látek a následkem toho při případném dlouhodobém hladovění zvířete se jejich výskyt snižuje, až mnohdy jednotliví zástupci zcela mizí (BARTOŠ, 1987).

Prvoci mají specifické mechanismy příjmu živin, jež je mají rozdělené dle charakteru přijímaných částic. Malé částice přijímají pomocí osmózy, kdy je příjem realizován prostupem přes selektivně propustnou, neboli semipermeabilní membránu. Tekuté částice přijímají díky pinocytóze za pomoci drobných váčků na membráně a velké částice fagocytózou, kdy dochází k obklopení živiny panožkami, jež se svými konci spojí a utvoří tak mezi sebou dutinu zvanou potravní vakuola, kde dochází k trávení obklopené živiny pomocí enzymů (SMRŽ a kol., 2004).

### 2.2.2.1 Nálevníci

Nálevníci jsou nejvýznamnější zástupci prvoků. Uvádí se 3500 popsaných druhů, ale předpokládá se, že jich je mnohem více (ADL a kol. 2007). BARTOŠ (1987) uvádí 40 druhů běžně se vyskytujících nálevníkův bacheru domácích druhů přežvýkavců. HOFÍREK a kol. (2009) upřesňují počet přítomných nálevníků v bacheru na 150 až 200 druhů. Početně jsou nálevníci mnohem menší skupinou než bakterie (v průměru od  $10^4$  do  $10^7$  ml) avšak lineárně jsou prvoci 50 až 150 krát větší než bakterie. Právě jejich velikost umožňuje jejich rozlišení pod mikroskopem a následné taxonomické zařazení (BARTOŠ, 1987).

Nálevníci jsou nejčastěji ovální a stálost tvaru jejich těla zajišťuje podpovrchová membrána zvaná kortex, která dosahuje tloušťky 1 až 4  $\mu\text{m}$  (LYNN a SMALL, 2002).

Konkrétně nálevníci mají specifikovaný úsek pro příjem potravy. Tvoří ho část buněčné stěny a tento úsek se nazývá cytostom. Bývá umístěn buďto na břišní části, či na vrcholném konci buňky.

Zajímavostí nálevníků je výrazný dimorfismus jader, kdy větší se nazývá makronukleus a menší je mikronukleus. Kromě velikostních rozdílů mají i odlišné funkce, kdy makronukleus se účastní řízení důležitých životních procesů jako je pohyb a metabolismus, mikronukleus ovlivňuje proces konjugace, kdy dochází k výměně části genetické informace mezi dvěma jedinci (SMRŽ a kol., 2004).

Nálevníci mají mnohdy své vnitrobuněčné symbionty, ale dle GÖRTZE (2001) není známo mnoho informací o vzájemných metabolických interakcích. HOEK a kol. (2000) uvádějí za významné symbionty již výše jmenované metanogenní bakterie. GÖRTZ (2001) upřesňuje výskyt metanogeních bakterií v cytoplazmě nálevníka okolo hydrogenosomu, což je organela produkující vodík.

### 2.2.3 Houby

Tito mikroorganismy byly poprvé pod mikroskopem pozorovány již v letech 1910 (LIBETANZ, 1910). Řada zástupců hub, byla původně pokládána za bičíkovce, objasnění této nesprávné myšlenky provedl v polovině sedmdesátých let ORPIN

(1975), který analyzoval v buněčné stěně chitin, který je charakteristický pro houby (ORPIN, 1977).

BARTOŠ (1987) uvádí, že jednou z dalších představ o houbách bylo, že tento druh mikroorganismů je pouze přechodným druhem, který se do bachoru dostane vlivem kontaminace přijímané potravy, a že nemají hlubší význam pro bachorovou mikroflóru.

Dnes se bachorové houby řadí k nižším houbám – *chytridiomycetám*. Pro dané houby je charakteristická morfologická různorodost jednotlivých rodů (HOFÍREK a kol., 2009). U přežvýkavců se jedná o přítomnost převážně primitivních nižších zástupců hub, jež nesou název *Neocallimastix frontalis*, *Sphaeromonas communis* a *Piromonas communis* (BARTOŠ, 1987).

Přítomnost hub, obdobně jako přítomnost výše uvedených organismů, také ovlivňuje výživa, kdy méně kvalitní a strukturální výživa, která rychle projde trávicím traktem, neumožňuje dostatečné dokončení generačního cyklu hub (ROGER a kol., 1990). Bachorové houby se rozmnožují nepohlavně pomocí spor uvolňovaných ze sporangií (HOFÍREK a kol. 2009). U zvířat, jež jsou krmena krmnou dávkou bohatou na vlákninu, tudíž krmivem, které setrvává v trávicím traktu delší dobu, trvá vývojový cyklus zoospor přibližně 24 hodin (BARTOŠ, 1987).

AKIN a RIGSBY (1987) uvádějí, že houby mají pozitivní vliv při degradaci vláknitých krmiv. HOFÍREK a kol. (2009) upřesňují, že zástupci hub kolonizují rostlinné tkáně a to pronikáním výběžků do rostlinných pletiv, kde vypouštějí celulázy, jež jsou v přírodě jedny z nejúčinnějších. Výjimečnou vlastností bachorových hub je schopnost kolonizace i zdřevnatělých částí rostlinných pletiv (URBAN a kol., 1997).

## 2.3 POPIS BACHOROVÉHO TRÁVENÍ

### 2.3.1 Metabolismus sacharidů

Rostlinné sacharidy tvoří 70 – 80 % z celkové přijaté sušiny (HOFÍREK a kol., 2009). Sacharidy můžeme podle počtu uhlíků dělit na monosacharidy, disacharidy a polysacharidy (REECE, 1998). JELÍNEK a kol. (2003) uvádějí, že sacharidy obsažené v rostlinách jsou většinou ve formě polysacharidů. Tyto polysacharidy bývají uloženy v buněčných stěnách a v buněčné cytoplazmě. V buněčných stěnách se nachází

hrubá vláknina, která se skládá z celulózy, hemicelulózy, kutinu a ligninu, který z chemického hlediska do skupiny sacharidů nepatří. V buněčné cytoplazmě se nachází škrob a rozpustné sacharidy s převahou cukrů (URBAN a kol., 1997).

Sacharidy jsou zdrojem energie pro přežvýkavce a jejich bachorové mikroorganismy (JELÍNEK a kol., 2003).

Metabolické procesy rozkladu sacharidů se dají rozdělit do dvou fází. V první fázi se pomocí ATP metabolizují různorodé sacharidy na jednotný energetický substrát. Ve druhé fázi dochází k uvolňování energie v podobě ATP (BARTOŠ a kol., 1987). V bachoru jsou sacharidy štěpeny pomocí mikrobiálních enzymů (HOFÍREK a kol., 2009). FRANDSON a kol. (2009) uvádějí název mikrobiálního enzymu – 1, 4 -  $\beta$  - glukosidáza, nazývaná též celuláza. Tento enzym štěpí celulózu společně s hemicelulózou na úroveň monosacharidů reprezentovaných glukózou a jednoduchými polysacharidy.

Glukóza je cestou anaerobní glykolýzy transformována na kyselinu pyrohroznovou, která je výchozí sloučeninou pro syntézu těkavých mastných kyselin. Denní produkce TMK v bachoru se pohybuje v rozmezí 2 – 4,5 kg. Těkavé mastné kyseliny jsou významným energetickým zdrojem, kdy například octová kyselina je využívána pro zdroj energie v periferních tkáních. Kyselina propionová slouží jako prekurzor glukózy (HOFÍREK a kol., 2009).

### 2.3.2 Metabolismus dusíkatých látek

Proteiny společně s dalšími sloučeninami obsahující dusík, například dusičnany a dusitany jsou metabolizovány z velké části v bachoru díky bachorovým mikroorganismům, jež produkují proteolytické enzymy (HOFÍREK a kol., 2009). Bílkoviny jsou metabolizovány na peptidy, aminokyseliny, amoniak a uhlíkaté fragmenty (BACH a kol., 2005).

Mikroorganismy jsou schopné v průběhu bachorové fermentace syntetizovat z jednoduchých dusíkatých látek všechny nepostradatelné aminokyseliny. Amoniak tvoří z celkového množství nebílkovinných dusíkatých látek 80 – 90 % a slouží jako výchozí sloučenina pro tvorbu mikrobiálního proteinu (HOFÍREK a kol., 2009). BACH a kol. (2005) doplňují, že celkové množství mikrobiálního proteinu závisí na množství



dostupných živin a efektivnosti jejich využívání. Přebytké množství amoniaku přechází portálním oběhem do jater, kde dochází k jeho detoxikaci syntézou na močovinu. V rámci hepatoluminálního koloběhu se vrací část amoniaku zpět do bachoru prostřednictvím slin, nebo přímým přestupem přes stěnu bachoru. Zbytek močoviny je vyloučen pomocí ledvin (HOFÍREK a kol., 2009).

### **2.3.3 Metabolismus lipidů**

Lipidy jsou zastoupeny v obsahu sušiny v množství 2 – 3 % (URBAN a kol., 1997). Štěpení triacylglycerolů, fosfolipidů, digalaktosylglyceridů a esterů cholesterolu je umožněno působením mikrobiálních enzymů. Výsledkem fermentace glycerolu a galaktózy jsou těkavé mastné kyseliny, kdy výsledkem fermentace glycerolu je kyselina propionová a fermentace galaktózy je kyselina octová, máselná a propionová (BOUŠKA a kol., 2006). Nenasycené mastné kyseliny podléhají částečné, nebo úplné hydrogenaci v důsledku čehož jsou postupně redukovány dvojně vazby až dojde k transformaci nenasycených mastných kyselin na nasycené mastné kyseliny (HOFÍREK a kol., 2009)

## 2.4 VÝZNAM KVASINEK V KRMNÝCH DÁVKÁCH DOJNIC

### 2.4.1 Zařazení kvasinek do výživy

S rozvojem dobytek stále zvyšují nároky na dojnice, nejen, že od nich požadujeme vyšší a vyšší užitkovost, ale stejně tak i odpovídající zastoupení mléčných složek, k čemuž je třeba patřičně přizpůsobit krmnou dávku přijímanou dojnici. V praxi často bývá krmná dávka sestavována hlavně ze siláže a jadrných krmiv. Nevýhodou tohoto systému výživy je vysoký obsah kyselin a nízký obsah vlákniny v krmné dávce, což mnohdy vede k výskytu metabolických poruch jako je například acidóza bachorového obsahu. (PEYRAUD a APPER-BOSSARD, 2006).

V Evropě je zakázáno užívání antibiotik přidávaných do krmiv pro podporu růstu z důvodu rizika možného šíření genů rezistence. (HONG a kol., 2005) Chovatelé proto začali krmnou dávku obohacovat o komerční přípravky takzvaná probiotika, což jsou preparáty obsahující přirozeně zastoupené mikroorganismy bachoru, jakož jsou například různé druhy bakterií, hub a dalších, jež jsou schopny pozitivně ovlivňovat růst i dalších mikroorganismů (YOON a STERN, 1999). SEO a kol. (2010) uvádějí příklady možných zástupců obsažených v preparátech, jsou to bakterie mléčného kvašení, nebo druhy *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, kmeny *Megasphareaelsdenii*, *Prevotellabryantia* kvasinkové produkty obsahující *Sacharomyces* a *Aspergillus*. Obecně kvasinky spadají do doplňků krmiv, konkrétně do takzvaných energetických doplňků, které se v prostředí bachoru nerozkládají, neboli jsou nedegradovatelné (KOUKAL, 2015).

ROLLE a KOLB (1955) uvádějí názor, že kvasinky nejsou stále přítomné v bachoru přežvýkavců, ale jsou zde pouze přechodně a to díky krmivu, se kterým se do bachoru dostávají. Naproti tomu CLARKE a MENNA (1961) dokládají, že kvasinky rodů *Candida* a *Trichosporon* byly v malém množství pozorovány jako přítomné u skotu. UDEN a kol. (1958) konstatují, že někteří ze zástupců kvasinek se vyskytují i v bachoru koz a ovcí. MUNCH-PETERSEN (1963) uvádějí v průměru 1000 kolonií kvasinek na mililitr bachorové tekutiny u ovcí. U skotu byly nejčastěji pozorovány druhy kvasinek *Absidia* a *Mucor* (BILAI a PIDOPLICHKO, 1962).

### 2.4.2 Kvasinková probiotika

Již více než 60 let se krmná dávka obohacuje o kvasinková probiotika, avšak prováděné studie zabývající se jejich působením na dojnici měly mnohdy odlišné výsledky (SCHINGOETHE a kol., 2004).

Preparáty obsahující kvasinky můžeme rozdělit na tři podkategorie a to na preparáty obsahující speciální kvasinkové kultury, preparáty obsahující hydrolyzované buněčné stěny kvasinek a sušené pivovarské kvasnice, které však bývají pro běžné zkrmování dosti finančně náročné (KOUKAL, 2015)

Energetický doplněk krmné dávky obsahující speciální kvasinkové kultury bývá sestaven z laboratorně šlechtěných živých kvasinek rodu *Saccharomyces cerevisce*. (KOUKAL, 2015)

Jak uvádí firma ACTISAF, kvasinky po vyčerpání zásob odumírají a nejsou schopné se v bachorovém prostředí množit, a proto se doporučuje je denně krmnou dávkou v pravidelných intervalech dodávat. FRYDRICH (2008) upřesňuje množství a uvádí využívané selektované kmeny ve výživě dojnic – *Saccharomyces cerevisce* obvykle v dávce 0,5 – 10 g denně. Právě výběr kmenu kvasinek, které jsou dále zpracovány do přípravků, ovlivňuje jejich následné působení, neboť některé přípravky vykazují prospěch spíše v oblasti užitkovosti zvířat, jiné zase v pozitivním působení na mikrobiotu bachoru. Celková účinnost daného preparátu je závislá na mnoha faktorech, kdy nejdůležitější z nich jsou podmínky kultivace kvasinek, celková koncentrace živých kvasinkových buněk a podávaném množství preparátu (DOLEŽAL, 2004).

### 2.4.3 Vliv kvasinek na dojnice

V průběhu dvou posledních desetiletí, bylo využívání živých kvasinek vyhodnoceno jako velmi přínosné, jednak z důvodu zvýšeného celkového počtu bakterií přítomných v bachoru, dále z důvodu zvýšeného počtu celulólytických bakterií, vyššímu podílu propionátu a prospěšné snížené koncentraci laktátu (NEWBOLD a kol., 1995).

DOREAU a JOUANY (1998) v rámci studie zaměřené na efekt zkrmování kvasinkových kultur zjistili, že množstevní zastoupení protozoí v bachoru se zvýšilo o 30 – 75 %. Řadou opakovaně probíhajících studií bylo potvrzeno pozitivní působení

kvasinkových kultur v podobě zásobené mikroorganismů řadou organických kyselin, vitamínů skupiny B a aminokyselin, které pozitivně působí na růst bakterií. CHAUCHEYRAS a kol., (1995) doplňuje, že kvasinky jsou schopny poskytovat i některé enzymy.

JOUANY (2001) naznačuje, že v průběhu krmení se do bachoru dostává stopové množství kyslíku, což není zcela žádoucí a právě zkrmování kvasinek napomáhá k vyrovnávání koncentrace přítomného kyslíku, což zlepšuje životní komfort anaerobním bakteriím, které se pak lépe množí a rostou. Příkladem bakterií, na které kvasinky pozitivně působí, můžeme uvést celulólytické bakterie, kdy dochází i ke zvýšení jejich celkové aktivity, se zároveň snižující se aktivitou bakterií mléčného kvašení (WILLIAMS sta l., 1991). JOUANY (2006) doplňuje názor, že pravděpodobně dochází i k propojenému potravnímu řetězci mezi kvasinkami a některými zástupci bakterií, jež využívají některé produkty metabolismu živin kvasinek.

Vedle pozitivního působení kvasinek na zlepšení trávení vlákniny, se specifickým využíváním škrobu získaného z krmné dávky, zároveň snižují produkci těkavých mastných kyselin. Souhrnně kvasinky zvyšují stabilitu bachorového prostředí (BLAKE, 1993). Tento pozitivní vliv mají kvasinky díky tomu, že adherují k částicám škrobu, čímž jej chrání před rozkladem enzymy, což ovlivňuje přítomnost glukózy. Dostupnost glukózy ovlivňuje počty vyskytujících se fermentativních bakterií a následnou produkci kyselin ohrožující rovnovážný stav v bachoru. NOCEK a kol. (2003) uvádějí tuto skutečnost jako pozitivní prevence i před vznikem acidóz.

Uvádí se, že kvasinky zařazené do výživy vykazují známky selektivně inhibičního působení proti některým bakteriím, například proti *Salmonelle a Escherichii coli* (JENSEN a kol., 2008). Inhibiční působení kvasinek je způsobeno, využitím hydrolyzované buněčné stěny kvasinek, kdy ve vnější stěně jsou mannan-oligosacharidy, které mají velký povrch umožňující absorpci toxinů a G+ bakterií kam právě *Salmonella a Escherichia* spadají (KOUKAL, 2015).

DENEVA kol.(2007) uvádí efektivnější využívání NH<sub>3</sub> se zvyšující se mikrobiální syntézou bílkovin. KŘÍŽOVÁ a kol. (2011) ve svých studiích vlivu kvasinek dosáhli shodných výsledků s jinými studiemi zaměřenými na danou problematiku, v nichž se přidávání kvasinek projevilo snížením redoxního potenciálu bachorové tekutiny a zvýšením celkového pH bachoru.

Podle výsledků studií ČERMÁKOVÉ a kol. (2009), přidávání preparátů obsahujících kvasinky do krmné dávky dojníc vedlo ke zvýšení denního nádoje v průměru o 1,12 kg, v některých případech o 0,73 kg mléka, avšak došlo ke snížení hodnot zastoupeného mléčného tuku a v ojedinělých případech i ke snížení bílkovin.

Některé uvedené výsledky popírají výsledky mnoha studií shrnuté v práci ROBINSONA a ERASMA (2009), kteří uvádějí, že řada studií se shoduje v pozitivním výsledku působení kvasinek na zvýšení příjmu sušiny, zvýšeném obsahu mléčných bílkovin a celkové užitkovosti. OETZEL a kol. (2007) popisují zvýšení mléčného tuku u dojníc na první laktaci a zvýšení bílkovin v mléce u dojníc na druhé a vyšší laktaci. CHIQUETTE a kol. (2008) doplňují, že zvýšení obsahu mléčného tuku je důsledkem zvýšeného zastoupení matných kyselin, které slouží jako prekurzor mléčného tuku.

WOHLT a kol. (1998) uvádí, že pozitivní účinky kvasinkových preparátů závisí na stupni laktace dojnice, PIVA a kol. (1993) na charakteru krmné dávky a SCHINGOETHE a kol. (2004) společně s CHAUCHEYRAS-DURAND a kol. (2008) uvádějí, že i na podmínkách životního prostředí.

Velice zajímavým zjištěním je pozitivní efekt zkrmování kvasinek mladým telatům, která jsou v intenzivních chovech brzy oddělena od matky, kdy ještě jejich trávicí trakt není zcela kolonizován mikroorganismy a hrozí výskyt průjmů, následné ztráty na váze, dehydratace. Daný krizový moment můžeme pozitivně ovlivnit podáním probiotik a tím posílíme mikrobiální osídlení (KUNG, 2001). Stejně tak v náročném období změny výživy, při přechodu na pevné krmivo v podobě jádra, kdy dochází díky přijímaným kvasinkám ke snížení doby výskytu průjmů (GALVA~oa kol., 2005) a snížení výskytu zvýšených teplot a nutnosti léčby pomocí antibiotik v období od narození do 46. dne věku (SEYMOURa kol., 1995). FRIZZO a kol. (2010) ve svých studiích uvádějí poznatek, že u pozorovaných telat po podávání probiotik se dostavil vyšší celkový příjem startéru.

Obecně kvasinky mají prospěšný vliv na zdravotní stav dojníc díky stimulaci imunitního systému (JENSEN a kol., 2007). Tato stimulace je vyvolaná přítomností beta-glukanů obsažených ve vnitřní vrstvě buněčné stěny kvasinek (KOUKAL, 2015). Řada zootechniků na otázku zkrmování kvasnic dojnícím přinesla vesměs pozitivní ohlasy, kdy příkladem může být zemědělský podnik ve kterém v případě vyzpozorování potíží v podobě nižší užitkovosti, lehké apatii zvířat, horší reprodukci a dalších problémů, zařadili nárazově do krmné dávky kvasnice, které nechali přes noc nakvasit

a poté je podávali do žlabu běžným způsobem. Po krátkém čase vyzorovali zlepšení aktivity zvířat, zvýšený příjem sušiny, dosažení vyšší užitkovosti a lepších parametrů reprodukce. DOLEŽAL a kol. (2010) uvádí ve svém pokusu prokázání stabilizačního efektu přidaných kvasinek v podobě zvýšení a následné stabilizace pH bachorové tekutiny dojnic krmených krmnou dávkou s vysokým obsahem škrobu.

## **2.5 HODNOCENÍ KVALITY BACHOROVÉ TEKUTINY**

### **2.5.1 Bachorová tekutina a její odběr**

Řada autorů uvádí, že již od poloviny minulého století se stala běžně využívanou součástí diagnostického vyšetření klinických, či subklinických onemocnění.

U přežvýkavců je ideální odběr bachorové tekutiny provádět v různých časových intervalech s jistým odstupem od nakrmení. Nejčastěji se odběry provádí v čase od tří do pěti hodin po nakrmení. Odběr lze vykonat třemi způsoby. Buďto per orální cestou pomocí jícní sondy, nebo přímou punkcí bachoru, či přes bachorovou kanylu (HOFÍREK a kol., 2004). Právě HOFÍREK a kol. (2009) konstatují, že výsledky odběrů mohou být ovlivněny lidským faktorem, a to vlivem zkrmovaného krmiva, podáváním léků a pochybením při odběru.

Je nutné dbát na správné umístění jícní sondy do ventrálního bachorového vaku, neboť při odběru z předsíně by vzorek obsahoval příměs slin, které by ovlivnily konečné výsledky. Hlavice sondy musí být flexibilní a celková hadice minimálně 2,3 m dlouhá. Při odběru bachorové tekutiny punkcí je třeba dbát přísné hygieny pro eliminování potenciální hrozby zavlečení infekce do těla pomocí jehly 10 cm dlouhé (HOFÍREK a kol., 2009).

### **2.5.2 Vyšetření bachorové tekutiny**

Z odebrané bachorové tekutiny je třeba odstranit hrubé částice pomocí filtrace přes gázu. Vzorek je nutné vyšetřit nejpozději do 6 – 8 hodin po odběru, v případě, že jej zchladíme, je možné vyšetřovací dobu prodloužit do 24 hodin od odběru (SLANINA

a kol., 1993). Dle záměru odběru, Bavorovou tekutinu můžeme posuzovat pomocí základních smyslů, dále biochemicky, mikroskopicky a bakteriologicky (HOFÍREK a kol., 2009).

Smyslové hodnocení vykonáváme již při samotné manipulaci s odebraným vzorkem, kdy posuzujeme barvu, zápach a konzistenci. Barva bývá nejčastěji v odstínech zelené přecházející až k hnědé, kdy tmavá hnědá barva značí hnilobné procesy v bachoru (SLANINA a kol., 1993). Při výskytu acidity bachorového obsahu se může vyskytnout až šedobílé zbarvení (HOFÍREK a kol., 2009). Zápach bývá typicky aromatický s kyselou příměsí, při hyperaciditě je zápach výrazně kyselý až nepříjemně štiplavý a v případě zkrmování výrazně bílkovinných krmiv se zápach bachorové tekutiny jeví jako hnilobný (SLANINA a kol., 1993).

SLANINA a kol. (1993) uvádějí, že fyziologická konzistence je viskózní a právě narušení konzistence v podobě vodnatosti poukazuje na nefunkční aktivitu mikroflóry.

Aktuální osídlení mikrobiální flóry se hodnotí pomocí nátěru na sklíčko a následném pozorování pod mikroskopem, při čemž se posuzuje podíl gram pozitivních a gram negativních mikroorganismů, podíl tyčinkovitých a kokovitých bakterií a další (SLANINA a kol., 1993).

#### *2.5.2.1 Aktivita bachorových mikroorganismů*

Aktivitu bachorových mikroorganismů můžeme posuzovat řadou metod, jednak pomocí sedimentačního času, což je čas, který získáme po provedení sedimentačně flotační zkoušky v průběhu které se měří čas od nalití bachorové tekutiny do laboratorního válce, či zkumavky po flotaci hrubších částic na povrchu a sedimentaci jemnějších částic na dně (HOFÍREK a kol., 2009). SLANINA a kol. (1993) doplňují, že zkouška probíhá za teploty blízké tělesné teplotě živého jedince (37,5 – 39,5 °C) a u zdravého zvířete se sedimentační čas pohybuje v rozmezí od 4 do 8 minut.

Dalším způsobem hodnocení je zkouška stupně natrávení celulózy. V průběhu této zkoušky se stanovuje čas, při kterém dojde k roztrhnutí bavlněného vlákna. Zkouška probíhá v termostatu za teploty 39 °C, kdy se do vzorku bachorové tekutiny přidá 16% roztok glukózy, uhličitan vápenatý a pomocí zátky fixované bavlněné vlákno, které je

na dolní straně zatížené perličkou. Vlákno musíme kontrolovat po 12 – 24 hodinách, kdy se obvykle roztrhne za 48 – 54 hodin (SLANINA a kol., 1993).

Přímou aktivitu bachorových mikroorganismů můžeme stanovit pomocí redukční zkoušky s akceptorovým barvivem v praxi nejčastěji využívanou metylenovou modří. Zkouška vypovídá o intenzitě fermentačních procesů vykonávaných mikrobiální populací (HOFÍREK a kol., 2004). Měříme dobu potřebnou pro odbarvení modrého metylenového barviva z bachorové tekutiny za teploty blížíící se teplotě těla ponořením do teplé vodní lázně (SMITH a BRADFORD, 2014). HOFÍREK a kol. (2009) specifikují teplotu na přibližných 30 °C, naproti tomu SLANINA a kol. (1993) na 20 – 22 °C. U vysoce aktivních vzorků, dochází k odbarvení do 3 minut, tuto dobu ovlivňuje složení krmné dávky, neboť u krmných dávek s převažujícím zastoupením sena, vyžaduje bachorová tekutina dobu 3 – 6 minut pro odbarvení, naopak při převyšující jadrné složce méně jak 1 minutu. Doby odbarvení trávající nad 15 minut bývají spojené s dietetickými vadami jako je například dlouhodobé hladovění, či nevhodné sestavení krmné dávky vedoucí k řadě poruch, nejčastěji acidózám (SMITH a BRADFORD, 2014).

Příkladem dalších redukčních zkoušek může být zkouška s resazurinem, tetrazolium chloridem a další (HOFÍREK a kol., 2009).

Samotné zastoupení bachorové fauny posuzujeme stanovením počtu nálevníků. Počet nálevníků stanovujeme pozorováním vzorku bachorové tekutiny pod mikroskopem. Odebraná bachorová tekutina se nejprve přefiltruje přes gázu a následně se provede usmrcení a barvení nálevníků nejčastěji metodou podle ŠIMŮNKA a kol. (2002). Při použití dané metody se nálevníci nejprve zafixují v roztoku formaldehydu, chloridu sodného a metylenové zelené. Následně se vzorek pomocí mikropipety nanese na Fusch-Rosenthalovu, nebo Bürkerovu komůrku a překryje se krycím sklíčkem. Celá komůrka se umístí na stolek mikroskopu a provede se pozorování při zvětšení objektivu 40x.

Zajímá nás hustota a pohyblivost jednotlivých zástupců nálevníků, které pozorujeme pod mikroskopem (SLANINA a kol., 1993). HOFÍREK a kol. (2009) uvádějí, že množství zastoupených prvoků se hodnotí na křížky, přičemž na tři křížky se hodnotí hojně zastoupení prvoků, na dva střední, na jeden pouze malé zastoupení a na nulu absence prvoků. Dále nás také zajímá poměr živě a mrtvě zastoupených protozoí (HOFÍREK a kol., 2009).



### 2.5.2.2 pH bachorové tekutiny

Jedním z nejdůležitějších parametrů bachorové tekutiny je pH, které ovlivňuje životaschopnost řady mikroorganismů (HOFÍREK a kol., 2009). Hodnoty pH ovlivňuje celá řada faktorů kdy nejvýznamnějším je výživa. Krmiva s vyšším obsahem celulózy mají tendenci pH udržovat v rozmezí 6,0 – 6,8, naopak koncentrované krmné dávky obsahující pouze 35 až 60 % objemných krmiv mají tendence výsledné pH snižovat na 6,0 – 5,4 (SLANINA a kol., 1993). Celkové pH bachoru se nemění v závislosti na druhu krmné dávky ale i v závislosti na její velikostní struktuře, kdy MITRIK (2002) uvádí rozdílné naměřené pH, při velikosti částic zkrmované siláže menší než 0,30 cm bylo pH bachoru 5,3, při velikosti blížíící se 0,45 cm pH 5,9 a pokud struktura krmiva byla větší jak 0,90 cm dosáhlo pH hodnoty 6,0.

HOFÍREK a kol. (2009) uvádí možné výkyvy hodnot pH, kdy jedním z nich je negativní vliv kyselých metabolitů, které snižují pH a naopak ke zvyšování pH dochází při hromadění bakteriální biomasy vzniklé v důsledku nadbytku dusíkatých látek a nedostatku zdroje energie v podobě sacharidů. SLANINA a kol. (1993) uvádějí hodnotu pH bachorové tekutiny okolo 6,0 v čase pět hodin po nakrmení jako známku acidózy bachoru.

Dále mají na pH pozitivní vliv sliny, které se z dutiny ústní dostávají do bachoru společně s potravou a stabilizují hodnoty pH pomocí obsažených pufrů. K dostatečnému zásobení bachoru pufrů je zapotřebí dostatečná produkce slin, kterou stimuluje přežvykování, což ovlivňuje složení a struktura krmné dávky. Příkladem mohou být krmiva která mají sama o sobě vysokou vlhkost jako je kukuřičná siláž, která poměrně málo stimuluje produkci slin. Krmné dávky nedostatečně stimující produkci slin a následnou pufraci bachoru je třeba obohatit o pufrů průmyslové a to nejčastěji využívaný bikarbonát sodný (HOFÍREK a kol. 2009).

#### 2.5.2.2.1 Měření pH

Hodnoty pH získáváme pomocí indikátorového papírku, nebo častěji využívaného pH metru. Dané hodnoty mají vypovídající schopnost o vzájemném vztahu metabolitů a to těkavých mastných kyselin s kyselinou mléčnou a amoniakem s dalšími alkalickými látkami, které jsou buď v rovnováze, či dysbalanci (HOFÍREK a kol., 2009). Výsledné

pH závisí na času prováděného měření, kdy těsně před nakrmením jsou jeho hodnoty nejvyšší a naopak dvě až tři hodiny po nakrmení jsou nejnižší.

Roli hraje i výše jmenovaná zvolená technika samotného odběru (SLANINA a kol., 1993). HOFÍREK a kol. (2009) uvádějí u zdravého skotu hodnoty pH nejčastěji se pohybující v rozmezí od 6,2 do 6,8, SLANINA a kol. (1993) uvádějí pH od 5,5 do 7,4.

#### *2.5.2.3 Celková acidita bachorové tekutiny*

Pro doplnění celkové analýzy acidity je možné provést zkoušku celkové acidity bachoru a to díky titraci bachorové tekutiny hydroxidem sodným, kdy nás zajímá jeho výsledná spotřeba  $\times 10$ . Výsledné referenční hodnoty se pohybují od 10 do 25 arbitrážních jednotek (HOFÍREK a kol., 2009). SLANINA a kol. (1993) konstatují, že titraci provádíme do výskytu masově červeného zbarvení.

#### *2.5.2.4 Stanovení obsahu amoniaku*

Úroveň metabolismu dusíkatých látek nám zodpoví stanovení koncentrace přítomného amoniaku. Pro získání objektivních výsledků je nutné vzorek vyšetřit co nejdříve po odběru neboť s postupem času se hodnoty koncentrace amoniaku zvyšují (SLANINA a kol., 1993). Koncentrace amoniaku se dle HOFÍRKA a kol. (2009) pohybuje v rozmezí 6 – 12 mmol/l.

#### *2.5.2.5 Stanovení množství kyseliny mléčné*

Při podezření výskytu metabolických poruch se stanovuje množství kyseliny mléčné, která je běžně zastoupena pouze v malém množství 0,0 – 3,3 mmol/l a to ihned po nakrmení. Při výskytu akutních acidóz její zastoupení výrazně stoupá až k hodnotám 80 -100 mmol/l (HOFÍREK a kol., 2009).

### 2.5.2.6 Stanovení těkavých mastných kyselin

Celkovou kontrolu výživy a fermentace můžeme provést stanovením těkavých mastných kyselin pomocí chromatografu. Dle SLANINY a kol. (1993) jsou fyziologické hodnoty celkové koncentrace těkavých mastných kyselin 80 – 130 mmol/l. Hodnoty se zvyšují v závislosti na krmení.

Při analýze bachorové tekutiny musíme brát v potaz, že se jedná o práci s biologickým materiálem, jehož hodnoty jsou závislé na druhu přijatého krmiva, podávání medikamentů, manipulaci, dodržování správné teploty a dalších. Rozhodující je i volba metody odběru, kdy každá má své pozitivní a negativní dopady. Příkladem negativních dopadů může být riziko u kanylovaných zvířat přílišného vystavování bachorové mikroflóry atmosférickému kyslíku, u punkce možný vzniklý zánět v místě v pichu a u odběru jícní sondou poranění nosní sliznice z důvodu nevhodné fixace v oblasti mulce, nebezpečí pro lidi manipulující se zvířaty a jiné. V každém případě musí tato činnost podléhat nařízení zákona č. 246/1992 sb. konkrétně páté části ustanovení o ochraně pokusných zvířat.

Tab. 1 Referenční rozmezí parametrů bachorové tekutiny dospělého skotu (HOFÍREK a kol. 2009)

Hodnocený parametr	Referenční hodnota	Jednotky
pH odběr per os	6,2 – 6,8	
Celková acidita	10 – 30	Tit. J.
Amoniak	5,8 – 17,6	mmol/l
Kyselina mléčná	0 – 3,3	mmol/l
TMK	80 – 120	mmol/l
Kyselina octová	55 – 75	%
Kyselina propionová	15 – 25	%
Kyselina máselná	10 – 17	%
Kyselina valerová	1,2 – 3,2	%
Počet nálevníků	2,0 – 4,1	10 <sup>5</sup> /ml

## 2.6 Poruchy metabolismu

### 2.6.1 Akutní acidóza bachorového obsahu

#### 2.6.1.1 Etiologie a patogeneze

Akutní acidóza bachorového obsahu je patologický stav provázený akumulací kyseliny mléčné a následným poklesem pH (LEAN a kol., 2007). Nejčastěji vzniká následkem zkrmování krmiv s vysokým obsahem snadno fermentovatelných sacharidů.

Dalším důvodem vzniku může být zařazení energeticky bohaté krmné dávky bez dostatečného návyku, či nadměrný nárazový příjem jaderných a dalších glycidových krmiv (HOFÍREK a kol., 2009). Při zkrmování vysoce koncentrovaných krmných dávek dochází ke snižování příjmu celkové sušiny a trávení vlákniny, v důsledku čehož dochází ke změnám poměru jednotlivých těkavých mastných kyselin v bachoru (CALSAMIGLIA a kol., 2008). Nárůst produkce TMK a kyseliny mléčné vede ke snížení bachorového pH na nefyziologickou úroveň, snížení intenzity přežvykování a díky tomu snížení pufrace bachorového obsahu. Dochází ke snížení bachorové fermentace a účinnosti působení mikrobiálních enzymů (LEAN a kol., 2007).

Z bachoru se při poklesu pH pod 5,4 vytrácí prvoci a s poklesem pH na 4,5 dochází k pomnožení *streptokoků* a *laktobacilů*, kteří na konci fermentace produkují kyselinu mléčnou (laktát) (HOFÍREK a kol., 2009). BLANCH a kol. (2009) uvádějí jako jednu z významných bakterií produkující laktát *Streptococcus bovis*. Za fyziologických podmínek hladina kyseliny mléčné nepřesahuje hodnotu 3,0 mmol/l, v případě akutní acidózy se může hladina vyšplhat až k 80 mmol/l. Vlivem zvýšené hladiny kyseliny mléčné se snižuje resorpce tekutiny z bachoru, přebytečná tělesná tekutina se přesouvá do *retikularumenu* a dochází k dehydrataci. V důsledku dehydratace dochází k snížené produkci moči.

Dále zvýšená koncentrace kyseliny mléčné může způsobovat zánět sliznice, přes kterou následně pronikají bakterie a toxiny způsobující zánětlivé změny na parenchymatózních orgánech, srdci, plicích, ledvinách, mozku a způsobují záněty paznehtní škáry (HOFÍREK a kol., 2009, HOFÍREK a kol., 2004). Dále HOFÍREK a kol. (2009) uvádějí, že přebytečná kyselina mléčná se vstřebává v oblasti bachoru

a střeva do krve. V krvi dochází k její disociaci a následnému navázání vodíkového ionu na bikarbonát za vzniku laktátu a kyseliny uhličitě. Kyselina uhličitá se rozkládá na vodu a oxid uhličitý.

Původní acidóza bachorového obsahu se tak komplikuje acidózou metabolickou, při které se snižuje pH krve.

Změny v bachorové tekutině nastávají u akutní formy po 8 – 12 hodinách od nakrmení. V čase 16 – 24 hodin po nakrmení, bývají změny nejvýraznější (LEAN a kol., 2007). HOFÍREK a kol. (2004) zmiňují případ perakutního průběhu akutní acidózy, kdy zvíře ulehá za 3 – 5 hodin po nakrmení.

### *2.6.1.2 Symptomy*

Výraznost symptomů závisí na stupni onemocnění. U lehčích forem je v počátcích onemocnění patrný neklid, svalový třes, někdy doplňován skřípáním zubů a mnohdy kolikové příznaky. V pokročilejší fázi onemocnění se dostavuje apatie a ulehání zvířat (HOFÍREK a kol., 2004). V popisech symptomů je dále uváděn výskyt žlutozelených, někdy zpěněných výkalů, mnohdy až průjmů, dehydratace projevující se sníženou elasticitou kůže a oční bulby jeví známky zapadání. Zrychluje se srdeční činnost. Při palpačním vyšetření bachoru pozorujeme ztekucení bachorového obsahu doplněné šplouchavými pohyby a zvuky detekovatelnými při balotáži (HOFÍREK a kol., 2009).

### *2.6.1.3 Terapie*

Nejlépe se volí vhodná terapie na základě zjištěné příčiny vzniku onemocnění. Snažíme se o snížení produkce a odtranění kyseliny mléčné, doplnění chybějících elektrolytů, tekutin a o postupnou obnovu fermentačních procesů bachoru (HOFÍREK a kol., 2009).

U léčby hromadných akutních acidóz je nutné odstranit veškeré krmivo ze žlabů a zavést podávání dietních krmných dávek nejlépe na bázi lučního sena pro stimulaci tvorby slin a díky nim následné pufraci bachorového obsahu (LEAN a kol., 2007). HOFÍREK a kol. (2009) doplňují, že po příjmu velkého množství sacharidového

krmiva, kdy je bachor ještě naplněn nezfermentovaným krmivem je možné provést *rumenotomii* za účelem vyprázdnění bachoru a čepce.

Laktát z bachoru se pokoušíme odstranit také odsátím bachorového obsahu sondou. Další možnou léčbou je podání nálevu vlažné vody s chloretatrycylinem, nebo streptomycinem perorální sondou. Důvodem podání antibiotik do bachoru je likvidace laktát produkujících bakterií, čímž se zamezí další produkci této kyseliny. Nálev lze doplnit o neutralizační prostředky, nejvíce využívaný hydrogen uhličitán sodný, nebo oxid hořečnatý, hydroxid hořečnatý, uhličitán hořečnatý (LEAN a kol., 2007). Účinnost léčby závisí na stupni onemocnění, u těžkých případů, může být léčba ekonomicky nevýhodná a přistupuje se k radikálnímu řešení v podobě nucené porážky jedince (HOFÍREK a kol., 2004).

#### **2.6.1.5 Prevence**

Prevenčí proti akutní acidóze bachorového obsahu je postupné navykání na nové krmné dávky, omezení nadměrného příjmu sacharidových krmiv, zařazování jadrných krmiv v kombinaci s objemnými krmivy (HOFÍREK a kol., 2009). Doplnující preventivní metodou může být zařazení probiotik do krmné dávky proti *Streptococcus bovis* v podobě *Megasphaera elsdenii* a *Selenomonas ruminantium* (BLANCH a kol., 2009). Další možnost prevence uvádějí DOLEŽAL a kol. (2010) využití v krmných dávkách kvasinkových kultur.

### **2.6.2 Chronická acidóza bachorového obsahu**

#### **2.6.2.1 Etiologie a patogeneze**

Chronická acidóza bachorového obsahu bývá též nazvána acidózou subklinickou. Je charakteristická poklesem hodnot pH na 5,8 až 5,2 trvajícím minimálně po dobu 3 hodin v průběhu dne a zbývající čas se hodnoty blíží ke spodní hranici referenčních hodnot (Illek, 2010). Bývá způsobena nevyváženou krmnou dávkou, která obsahuje velké množství energie a nedostatek efektivní vlákniny, v důsledku čehož se snižuje intenzita přežvykování a tím produkce slin a pufrace (HOFÍREK a kol., 2009).

Dále dochází k poklesu zástupců celulólytických bakterií a díky tomu klesá i hladina kyseliny octové. Snížení koncentrace kyseliny octové vede ke snížení množství mléčného tuku (HOFÍREK a kol., 2009). Změny v poměrech mastných kyselin vedou ke tvorbě lokálních změn na bachorové sliznici (ILLEK, 2010). HOFÍREK a kol.(2009) doplňují, že porušenou sliznicí mohou pronikat patogenní mikroorganismy, v důsledku jejichž působení mohou vznikat abscesy. Patogenní mikroorganismy se mohou šířit až do jater, kde mohou vyvolávat vznik jaterních abscesů. Metastáze mohou postihnout i plíce (LEAN a kol., 2007).

ENEMARK a kol. (2004) uvádějí, že při subakutní acidóze, na rozdíl od akutní acidózy, nedochází ke kumulaci kyseliny mléčné v bachorové tekutině. Většinou zjistíme vysokou koncentraci celkových těkavých mastných kyselin a z nich zejména kyseliny propionové, příp. máselné.

#### *2.6.2.2 Symptomy*

Chronická acidóza bachorového obsahu se projevuje sníženou užítkovostí a na rozdíl od akutní acidózy se většinou neprojevuje klinickými příznaky (RADA, 2009). Snižuje se žravost, zrychluje se pasážování zažitiny (ILLEK, 2010).

Rozpoznání chronické acidózy je velmi obtížné, neboť její symptomy jsou málo specifické. Počátkem onemocnění se objevují u zvířat tendence k vzájemnému olizování a okusování dřevěných předmětů. Dochází ke snížené motorice bachoru, který postrádá své charakteristické vrstvení a vnitřní obsah se stává těstovitým. Výkaly jsou řídké až průjmovité se žlutošedým zabarvením (HOFÍREK a kol., 2009). KLEEN a kol. (2003) uvádějí, že ve výkalech mohou být patrná nestrávená vlákna, či zrna objemného krmiva. U zvířat se mohou vyskytnout tendence kulhání. V mléce bývá výrazně snížena koncentrace mléčného tuku (HOFÍREK a kol., 2009).

#### *2.6.2.3 Terapie a prevence*

Nedílnou součástí terapie i prevence je úprava složení krmné dávky a technologie krmení. Cílem je sestavení krmné dávky, která umožní dostatečně dlouhý čas pro příjem a přežvykování krmiva, spojený se stimulací produkce slin a jejich pufrací funkce.

Toho může docílit podáváním vyrovnané krmné dávky, jejíž částice objemného krmiva by neměly mít menší velikost než 8 mm (HOFÍREK a kol., 2009).

Do krmných dávek je vhodné zařadit krmiva s nižším obsahem škrobu, nebo krmiva s pomalu odbouratelným škrobem. Můžeme toho docílit ošetřením zrnin hydroxidem sodným, nebo mačkáním (LEAN a kol., 2007). V případě přetrvávání příznaků chronické acidózy je vhodné zařadit do krmné dávky podání hydrogenuhličitanu sodného, či jiného neutralizačního prostředku. Pro pozitivní ovlivnění pH bachoru a mikroorganismů je vhodné aplikovat ionofory nebo probiotika (HOFÍREK a kol., 2009).



## 2.6.3 Alkalóza bachorového obsahu

### 2.6.3.1 Etiologie a patogeneze

Alkalóza bachorového obsahu je dysfunkce předžaludku způsobená následkem příjmu krmiv bohatých na dusíkaté látky za současného nedostatku přijatých sacharidových krmiv. Onemocnění je charakterizováno zvýšením pH a amoniaku v bachorové tekutině (HOFÍREK a kol., 2009).

Podle ZEMANA a kol. (2005) se zvýšeným příjmem dusíkatých látek zvyšuje i činnost proteolytických bakterií, v důsledku čehož se v průběhu bachorové fermentace zvyšuje množství amoniaku, který není dostatečně zpracován, čímž dochází k alkalizaci bachorového prostředí. Snižuje se ionizace Ca a Mg, které nemohou být resorbovány do krve a vzniká hypokalcemie a hypomagnesemie. Při zvýšených hodnotách bachorového pH odumírají celulolytické bakterie, pomnožují se *Escherichia coli*. V bachoru převládají hnilobné procesy. Volný amoniak se resorbuje do krevního oběhu (NAVRÁTILOVÁ a kol. 2012).

### 2.6.3.2 Symptomy

Výraznost symptomů závisí na závažnosti onemocnění. U lehkých případů jsou symptomy nevýrazné. Vyskytuje se snížení příjmu krmiva, bachorové činnosti a přežvykování. Srst se může jevit jako zježená, ztrácí lesk, snižuje se kožní elasticita (MIKYSKA, 2001). HOFÍREK a kol. (2009) dále uvádějí poruchy reprodukce a známky snížené tělesné kondice. U zvířat se snižuje užitkovost, u některých jedinců dochází k poklesu mléčného tuku a zvýšení obsahu močoviny a somatických buněk (NAVRÁTILOVÁ a kol., 2012). Při těžkých formách onemocnění se může vyskytovat zvýšená neuromuskulární dráždivost doprovázená třesem svalstva. Onemocnění je doprovázeno výtokem slin z dutiny ústní (HOFÍREK a kol., 2009).

### *2.6.3.3 Terapie*

Terapie se odvíjí od stupně onemocnění, nejčastěji zahrnuje podání prostředků neutralizujících bachorové prostředí v podobě nálevu jícní sondou. K tomuto účelu lze využít roztok konzumního octu s vlažnou vodou, nebo kyselinou mléčnou. Dále je možné využít kyselinu chlorovodíkovou naředěnou vlažnou vodou. Dále je možné použít podání bachorové tekutiny odebrané od zdravého zvířete a podat přípravky obsahující Ca a Mg. V krmné dávce je vhodné rozšířit poměr živin zařazením pohotově fermentovatelných sacharidů, čímž docílíme zvýšené produkce těkavých mastných kyselin a úpravy pH bachoru (HOFÍREK a kol., 2009).

### *2.6.3.4 Prevence*

V rámci prevence je nutné zabezpečit předkládání vyrovnané krmné dávky s optimálním poměrem NL a sacharidů. Při zařazení močoviny do krmné dávky je nutné dbát na dostatečné zastoupení lehce stravitelných sacharidů a strukturální vlákniny (HOFÍREK a kol., 2009).

### **3 CÍL VLASTNÍ PRÁCE**

Cílem experimentální části bakalářské práce bylo stanovení vlivu přídavku sorbentu do krmné dávky dojnic na pH bachorové tekutiny a další parametry charakterizující bachorovou fermentaci (obsah TMK, počet nálevníků, koncentrace amoniaku).

## 4 MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl prováděn v zemědělském podniku v rámci aktuálně probíhajícího projektu QI111B044, vedený výzkumným ústavem pro chov skotu Rapotín. Pokus byl proveden ve formě „*cross-over*“ design, kdy byl rozdělen do dvou period, každá v délce 14 dní (11 dní přípravné období a 3 dny odběrové období) s rotací.

Před zahájením pokusu byl proveden návyk na krmné dávky v délce 14 dní.

Z celkového stáda bylo k pozorování vybráno 10 kusů dojnic. Průměrně se dojnice pohybovaly na  $2,8 \pm 1,24$  laktace a průměrně  $124 \pm 32$  dní po otelení. Dojnice byly vybírány na základě dojivosti, kdy byly rozděleny do dvou skupin po 5 kusech tak, aby jejich užitkovost byla v průměrných nádojích obdobná. První skupina měla průměrný nádoj 21,6 l a druhá skupina 21,8 l.

Krmnou dávku dojnic tvořila směsná krmná dávka složená z kukuřičné siláže (22 kg), travní senáže (5 kg), lučního sena (3 kg) a doplňkové krmné směsi (8 kg). Složení krmné dávky dojnic a obsah živin v jednotlivých komponentech krmné dávky je uvedeno v tabulce č. 3.

Krmná směs byla složena z daných komponentů: 25 % pšenice, 20 % ječmen setý, 12,5 % sojový extrahovaný šrot, 12,5 % slunečnicový extrahovaný šrot loupaný, 10 % kukuřice, 5 % slunečnicové expelery neloupané, 5 % sladový květ, 3 % vápenatá sůl mastných kyselin, 2 % lněné semeno, 2 % dikalcium fosfát, 2 % uhličitan vápenatý, 0,5 % chlorid sodný, 0,5 % fosforečnan hořečnatý, 2 % dikalcium fosfát, 2 % uhličitan vápenatý, 2 % chlorid sodný, 0,5% fosforečnan hořečnatý. Z deklarovaných jakostních znaků směs obsahovala 19 % dusíkatých látek a měla 10% vlhkost. Doplnkové látky směsi byly tvořeny vitamínem A v množství 12000 m.j./kg, vitamínem D<sub>3</sub> 2000 m.j./kg, vitamínem E 50 mg/kg, mědí 27 mg/kg. Byl použit sorbent (fa DELACON) na bázi bentonitu-montmorilonitu s deriváty buněčných stěn kvasinek rodu *Saccharomyces cerevisiae* v dávce 30 g/ks a den.

Tabulka 3 – Složení krmné dávky dojnic

Komponenty	sušina	popel	vláknina	N D F	A D F	N L	tuk	BNLV
v krmné dávce	%	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg
KUKSI	36,01	37,02	213,03	459,78	233,05	84,03	27,49	638
TS	67,11	213,76	282,88	530,92	321,19	65,65	17,38	420
LS	90,19	110,88	329,99	553,02	398,97	160,00	9,55	390
KS	90,68	77,65	51,69	179,90	69,85	252,21	77,94	541
Ks + S	90,89	84,13	49,07	179,65	67,21	247,87	74,32	545

Před samotným zahájením pokusu byl proveden dvoutýdenní návyk dojnic na krmné dávky, aby měla bachorová mikroflóra dostatek času na adaptaci a nedocházelo ke zkresleným výkyvům hodnot pH, které by mohly ovlivnit výsledné hodnoty pokusu.

Krmení bylo předkládáno dojnícím individuálně dvakrát denně a to ráno v 5 hodin a odpoledne v 15 hodin.

Odběry bachorové tekutiny se prováděly pouze v odběrovém období a to ve třech intervalech s časovým odstupem tří hodin. První odběr byl proveden tři hodiny po nakrmení, druhý šest hodin a třetí devět hodin po nakrmení.

Samotné odběry bachorové tekutiny byly prováděny za přítomnosti veterinárního lékaře per orální cestou pomocí jícní sondy. Používaná jícní sonda měla jeden konec upevněný k nádobce, do které vytékala nasávaná bachorová tekutina a druhý konec byl opatřen kovovou na vrcholu hladkou, po stranách perforovanou hlavicí. Samotná bachorová tekutina byla z bachoru získávána díky vyvinutému podtlaku pumpou (HOFÍREK a DVOŘÁK, 2009b).

Odebrané vzorky se umísťovaly do předem připravených očíslovaných vzorkovnic a byly uloženy do termotašky vyhřáté na 39 °C, aby nedošlo k narušení fyziologického stavu vzorků a byl zajištěn bezpečný transport do laboratoře na kmenovém pracovišti.

V laboratoři byly vzorky bachorové tekutiny dále zpracovány: U jednotlivých vzorků byly změřeny hodnoty pH pomocí pH metru a získané hodnoty byly zaznamenány do tabulek. Následně byly vzorky promíchány, přefiltrovány přes gázu a postupně se u nich stanovoval obsah TMK, amoniaku a měřilo se pH. Jelikož byl pokus prováděn periodicky, jedním odběrem bylo získáno 10 vzorků, tedy 30 vzorků za periodu a 60 vzorků za dobu trvání celého pokusu.

## **Analýza bachorové tekutiny**

Stanovení obsahu amoniaku: Do středu Conwayovy misky byla napipetována kyselina boritá v množství 1 ml, okolo ní po obvodu misky 10 ml přefiltrovaného vzorku bachorové tekutiny. Conwayova miska byla částečně uzavřena víkem potřeným tukem a před úplným vzduchotěsným uzavřením, byl vpraven do obvodu misky 1 ml nasyceného roztoku uhličitanu draselného. Pro zajištění spolehlivého promíchání reagenčních činidel, bylo provedeno opatrné otáčení s miskou ve vodorovné poloze. Následoval odpočinek vzorku do druhého dne, kdy byla provedena titrace kyselinou sírovou, z jejíž spotřeby byl stanoven obsah čpavku v bachorové tekutině.

Stanovení těkavých mastných kyselin: bachorová tekutina byla odstředěna pro získání čirého roztoku bez nečistot a v připraveném vzorku byly měřeny těkavé mastné kyseliny pomocí plynového chromatografu.

## **Pozorování nálevníků**

V rámci každé probíhající periody byly vybrány dvě dojnice z každé skupiny, u jejichž odebrané bachorové tekutiny bylo provedeno pozorování počtu nálevníků. Nejprve byla mikroskopii zhodnocena celková aktivita živých nálevníků. Usmrcení a barvení bylo provedeno dle ŠIMŮNKA a kol. (2002).

Nálevníci byli fixováni v roztoku tvořeném 8 % formaldehydu, 0,8 % chloridem sodným a 0,3 % metylenové zeleně. Mikropipetou byly vpraveny 2  $\mu$ l naředěné bachorové tekutiny na Fusch-Rosenthalovu komůrku, vzorek byl přikryt krycím sklíčkem a bylo provedeno pozorování a následné počítání. Počítání jednotlivých nálevníků bylo provedeno dle pravidel počítání pro Fusch-Rosenthalovu komůrku, tudíž bylo do počítání zahrnuto 80 hodnotících čtverců.

Pozorování bylo provedeno mikroskopicky při zvětšení objektivu 40 x.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky vyšetření bachorové tekutiny v průběhu experimentu se zkrmováním krmné dávky obohacené sorbentem v porovnání s krmnou dávkou bez sorbentu jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2 – Výsledky vyšetření bachorové tekutiny

Parametr	Jednotky	Kontrola (n = 9)		Sorbent (n = 10)		P
		průměr	SEM	průměr	SEM	
pH	-	6,290	± 0,040	6,180	± 0,040	0,0895
NH <sub>3</sub>	g/l	0,090	± 0,010	0,100	± 0,010	0,7292
octová	g/l	2,050	± 0,050	2,070	± 0,040	0,7082
propionová	g/l	1,090	± 0,030	1,100	± 0,030	0,7940
i-máselná	g/l	0,040	± 0,001	0,040	± 0,001	0,5940
máselná	g/l	0,890	± 0,020	0,950	± 0,020	0,1404
i-valerová	g/l	0,030	± 0,001	0,030	± 0,001	0,7311
valerová	g/l	0,160	± 0,01	0,170	± 0,010	0,3148
TMK celkem	g/l	4,260	± 0,110	4,370	± 0,100	0,4992
Nálevníci	tis./ml	211,87	± 20,09	234,25	± 31,06	0,5670

Z tabulky celkových získaných průměrů jednotlivých parametrů vyšetřovaných v bachorové tekutině je patrné, že v provedeném pokusu nebyly průkazné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Při vyhodnocení jednotlivých parametrů můžeme konstatovat, že průměrné pH bachorové tekutiny se pohybuje u obou skupin na spodní hranici fyziologického rozmezí. Vzhledem k tomu, že produkce kyseliny propionové a máselné je na horní hranici fyziologického rozmezí, resp. zvýšená, lze uvažovat o tom, že přijatá krmná dávka dojnic má acidogenní charakter. Navíc je i nižší procentické zastoupení kyseliny octové (při přepočtu na procenta je její podíl z celkových TMK kolem 48, resp. 47 %), což bývá spojeno s nedostatečným příjmem hrubé strukturální vlákniny, která je prekurzorem kyseliny octové. Vzhledem k tomu, že vypočtená krmná dávka obsahuje 3 kg sena a senáž o vyšší sušině, není možné vyloučit, že při příjmu krmiva dojnicemi nedochází k určitému stupni separace jednotlivých komponent a dojnice ve skutečnosti nepřijímají dostatek vlákniny a příjem jaderné krmné směsi tak může být vyšší, než lze doporučit. Tímto způsobem by bylo možno vysvětlit obraz chronické acidózy bachorového obsahu, na který zjištěné výsledky vyšetření bachorové tekutiny

pokusných dojnic ukazují. Počet nálevníků je také na spodní hranici doporučeného rozmezí. DOLEŽAL a kol. (2005) udává množství nálevníků ve zdravém bachoru 300 – 500 tisíc v 1 ml bachorové tekutiny. HOFÍREK a DVORŽÁK (2002) udávají rozsah 200 až 400 tisíc nálevníků v 1 ml. Naše výsledky tak dokladují, že bachorové trávení není optimální, nicméně nedokladuje stav těžké acidózy, protože při něm by došlo k podstatnějšimu poklesu počtu nálevníků, nebo dokonce k úplné defaunaci bachorových mikroorganismů. Na základě podrobnější analýzy výsledků jednotlivých vyšetření v průběhu pokusu můžeme konstatovat, že hodnoty počtu nálevníků v průběhu pokusu měly trend ke zvyšování. Toto zvyšování počtu nálevníků může být způsobeno vlivem pozitivního účinku komponentu krmné dávky obsahující deriváty buněčných stěn rodu *Saccharomyces cerevisiae* v dávce 30 g/ks a den čímž by bylo možno vysvětlit vyšší průměrné počty nálevníků ve skupině krmené krmnou dávkou se sorbentem. Vzhledem k tomu, že určitý nárůst počtu nálevníků byl zjišťován i u skupiny kontrolní, nelze pominout ani vliv postupné adaptace zvířat na krmnou dávku s poměrně vysokým množstvím jadrné krmné směsi.



## 6 ZÁVĚR

V bakalářské práci jsem se zabývala problematikou trávicích procesů v bachoru ve vztahu ke zdraví přežvýkavců a potenciálním metabolickým poruchám bachoru a možnostem jejich nápravy a prevence. V praktické části byl sledován vliv krmné dávky s přídatkem sorbentu s deriváty buněčných stěn rodu *Saccharomyces cerevisiae* na celkové pH bachorové tekutiny a další parametry charakterizující bachorovou fermentaci (obsah TMK, počet nálevníků, koncentrace amoniaku).

V průměrných hodnotách jednotlivých parametrů vyšetřovaných v bachorové tekutině nebyly průkazné rozdíly mezi jednotlivými skupinami. Při vyhodnocení jednotlivých parametrů lze konstatovat, že průměrné pH bachorové tekutiny se pohybovalo u obou skupin na spodní hranici fyziologického rozmezí. Produkce kyseliny propionové a máselné byla na horní hranici fyziologického rozmezí, resp. zvýšená, z čehož jsme usoudili, že lze uvažovat o tom, že přijímaná krmná dávka dojníc měla acidogenní charakter. Procentické zastoupení kyseliny octové (při přepočtu na procenta je její podíl z celkových TMK kolem 48, resp. 47 %) bylo nižší, což bývá spojeno s nedostatečným příjmem hrubé strukturální vlákniny, která je prekurzorem kyseliny octové. Zjištěné výsledky vyšetření bachorové tekutiny pokusných dojníc poukazovaly na obraz chronické acidózy bachorového obsahu. Počet nálevníků byl také na spodní hranici doporučeného rozmezí. Naše získané výsledky dokladují, že bachorové trávení nebylo optimální, nicméně nedokladují stav těžké acidózy, protože při něm by došlo k podstatnějším poklesu počtu nálevníků, nebo dokonce k úplné defaunaci bachorových mikroorganismů.

## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ADL S.M., LEANDER B.S., SIMPSON A.G.B., ARCHIBALD J.M., ANDERSON O.R., BASS D., BOWSER S.S., BRUGEROLLE G., FARMER M.A., KARPOV S., KOLISKO M., LANE C.E., LODGE D.J., MANN D.G., MEISTERFIELD R., MENDOZA L., MOESTRUP, MOEZLEY-STRANDRIDGE S.E., SMIRNOV A.V., SPIEGEL F., 2007: Diversity, nomenclature and taxonomy of protists. *Syst. Biol.*, 56: 684-689, ISSN 1063-5157.

AKIND. E. a RIGSBY L. L., 1987: Mixed fungal populations and ligno cellulosic tissues degradation in the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53: 1987-1995, ISSN 1098-5336.

ALLISTER TA., a NEWBOLD CJ., 2008: Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Aust. J. Exp. Agr.*, 48: 7-13, ISSN 1836-0939.

BACH A., CALSAMIGLIA S., STERN M. D., 2005: Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 88: 9-21, ISSN 0022-0302.

BARTOŠ S., 1987: Mikrobiologie a biochemie trávení v bacheru přežvýkavců, Praha, Academia, 184 s.

BILAI V. J. a PIDOPLICHKO N. M., 1962: On the mikroflóra of the rumen of cows suffering from chronic hematuria. *Microbiol. Zh.*, 24: 7-8.

BLAKE J. S. 1993: Význam stabilního bacherového prostředí pro užitkovost přežvýkavců a způsoby jeho dosažení. In: *Biotechnologie ve výživě zvířat*, DT Brno, s. 25-32

BLANCH M., CALSAMIGLIA S., DiLORENZO N., DiCOSTANZO A., MUETZEL S., WALLACE R. J., 2009: Physiological changes in rumen fermentation during acidosis induction and its control using a multivalent polyclonal antibody preparation in Heifers. *J. Anim. Sci.*, 87: 1722-1730, ISSN 0021-8812.

BOUŠKA J., DOLEŽAL O., JÍLEK F., KUDRNA V., KVAPILÍK J., PŘIBYL J., RAJMON R., SEDMÍKOVÁ M., SKŘIVANOVÁ V., ŠLOSÁRKOVÁ S., TYROLOVÁ Y., VACEK M., ŽIŽLAVSKÝ J., 2006: Chov dojeného skotu. Praha: Profi Press, 186 s. ISBN: 80-86726-16-9.

BOYNE A. W., EADIE J. M. a RAITT K., 1957: The development and testing of a method of counting rumen ciliate protozoa. J. Gen. Microbiol. 17: 414-423, ISSN 0022-1287.

BROBERG G., 1957: Measurement of the redox potential in rumen contents. I. In vitro measurements on healthy animals. Nordisk Veterinær Medicin. 9: 918-931, ISSN 0029-1579.

BRYAN M. P., SMALL N., BOUMA C. a CHU H., 1958: *Bacterioides ruminicola* n.sp. and *Succinomonas amylolytica* the new genus and species. Species of succinic acid-producing anaerobic bacteria of the bovine rumen. J. Bacteriol. 76:15-23, ISSN 0021-9193.

BRYDL E., ISTVÁN S., 2009: Fyziologie trávení přežvýkavců a acidóza bacheru. In: ILLEK J., ŠTERC J., (ed). Poruchy metabolismu u skotu a jejich řešení, Brno: česká buiatrická společnost, ISBN: 978-80-86542-21-8.

CALSAMIGLIA S., CARDOZON P. W., FERRET A., BACH A., 2008: Changes in Rumen microbial fermentation are due to a combined effect type of diet and pH. J. Anim. Sci., 86: 702-711, ISSN 0021-8812.

CARROLL E. J. a HUNGATE R. E., 1955: Formate dissimilation and methane production in bovine rumen contents. Arch. Biochem. Biophys., 56: 525-536, ISSN 0003-9861.

CLARKE R. T. J. a MENNA M. E., 1961: Yeasts from the bovine rumen. J. General Microbiol., 25: 113-117, ISSN 0022-1287.

ČERMÁKOVÁ J., DOLEŽAL P., KUDRNA V., 2009: yeasts in dairynutrition. [http://web2.mendelu.cz/af.291\\_mendelnet/mendelnet09agro/files/zoo.cermakova.pdf](http://web2.mendelu.cz/af.291_mendelnet/mendelnet09agro/files/zoo.cermakova.pdf)

DEHORITY B. A., 1986: Protozoa of the digestive tract of herbivorous mammals. *Insect Sci. Appl.*, 7: 279–296.

DENEV, S. A., PEEVA, Tz., RADULOVA, P., STANCHEVA, N., STAYKOVA, G., BEEV, G., TODOROVA, P., TCHOBANOVA, S. (2007): Yeast cultures in ruminantnutrition. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13: 357-374.

DOLEŽAL P., DVOŘÁČEK J., DVOŘÁČKOVÁ J., POŠTULKA R., DOLEŽAL J., SZWEDZIAK K., 2010: Využití kvasinkové kultury ve výživě laktujících dojnic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. Brno: Mendelova univerzita.

DOLEŽAL, J. 2004: Vliv termostabilního koncentrátu na bázi *Sacharomyces cerevisiae* (SC-47) na užitkovost a vybrané ukazatele bachorové fermentace krav. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně.

DOREAU M., JOUANY J.P., 1998: Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 81:3214-3221.

DVOŘÁK R., 2005: Fyziologie a patologie trávení přežvýkavců. In: DVOŘÁK R., *Výživa skotu z hledisek produkční a preventivní medicíny: sborník referátů odborného semináře*. Brno: Česká buiatrická společnost, ISBN: 80-86542-08-4.

EMBLEY TM, van der GIEZEN M, Horner DS, DYAL PL, BELL S, FOSTER PG., 2003: Hydrogenosomes, mitochondria and early eukaryotic evolution. *IUBMB Life* 55: 387–395.

ENEMARK J. M., JORGENSEN R. J., KRISTENSEN N. B., 2004: An Evaluation of Parameters for the detection of Subclinical Rumen Acidosis in Dairy herds. *Veterinary Research Communications*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 28: 8, 687-709.

FELLNER, V Rumen Microbes and Nutrient Management [online]. North Carolina State University Animal Science Departmental Report 2004 – 2005 Dostupné na: <<http://ncsu.edu/project/swineextension/swinereports/2004/2005/dairycattle/nutrition/Fellner1.htm>.

FRANDSON R. D., WILKE W. L., FAIL A. D., 2009: *Anatomy and Physiology of farm Animals*. 7. vyd. Ames, Iowa (USA): Wiley-Blackwell, 2009. 636 s. ISBN: 978-0-8138-1394-3.

FRIZZO L. S., SOTTO L. S., ZBRUN M. V., BERTOZZI E., SEQUEIRA G., ARMESTO R. R., ROSMINI M. R., 2010: Lactic acid bacteria to improve growth performance in young calves fed milk replacer growth performance in young calves fed milk replacer and spray-dried whey powder. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 157:159-167, ISSN 0377-8401.

FRYDRYCH Z. 2008: krmná aditiva ve výživě skotu, konference výživa dojníc, 5.6.2008, výzkumný ústav chovu skotu Pohořelice. Dostupné z <http://www.vuchs.cz/akce/2008-06-05-Pohorelice/2008-06-05-Pohorelice-Frydrych.pdf>.

GALVAO, K. N., SANTOS J. E. P., COSCIONI A., VILLASENOR M., SISCHO W. M., and BERGE A. C. B., 2005: Effect of feeding live yeast products to calves with silage on performance and patterns of antibiotic resistance in fial *Escherichia coli*. *Reprod. Nutr. Dev.* 45: 427-400, ISSN 0926-528.

GARRITY G. M., Lilburn T. G., COLE J.R., HARRISON S. H., EUZÉBY J., a TINDALL B.J., 2007: Taxonomic outline of the Bacteria and Archaea. Part 1. The Archaea, phyla Crenarchaeota and Euryarchaeota. Release 7.7. Michigan State University, Lansing, MI. Dostupné z <http://www.taxonomicoutline.org>. Accessed 6 March 2007.

GÖRTZ H-D. 2001: Intracellular bacteria in ciliates. *Int. Microbiol.* 4: 143-150, ISSN 1139-6709.

HA, GUILLEN, JACOB T. G. NAGARAJA, Ellen DAVIS, BLAKE K. WILSON, CLION R. KREHBIEL, BRITTANY M., BOLER V., GEORGE C. FAHEY, KOGUT M., CHRISTINA L. SWAGGERTY, DHARANI K. AJITHDOSS, SCOT E. DOWD, JAN S. SUCHODOLSKI, 2010 Direct-fed Microbials for Ruminant Animals: Beef Cattle. Asian-Australasian J. Animal Sci. 2010, vol. 23, issue 12, s. 13-26. DOI: 10.1007/978-1-4614-1311-0\_2.

HOFÍREK B., DVOŘÁK R., NĚMEČEK L., DOLEŽEL R., POSPÍŠIL Z., 2009: Nemoci skotu. Brno: Noviko, 1149 s. ISBN 978-80-86542-19-5.

HOFÍREK B., PECHOVÁ A., DOLEŽAL R., PAVLATA L., DVOŘÁK R., FLEISCHNER P., 2004: Produkční a preventivní medicína v chovech skotu. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, fakulta veterinárního lékařství, klinika chorob přežvýkavců, (2004), 184 s. ISBN: 80-7305-501-5.

HONG, H. A., DUC L- H. a CUTTING S. M., 2005: The use of bacterial spore formel as probiotics. FEMS Microbiol. Rev. 29: 813-835, ISSN 2327-5073.

Hulsen j., Dries Arden, Signály krmení, rok vydání 2014, ISBN: 978 – 90 – 8740 – 177- 1.

HUNGATE R. E., 1966: The rumen as a continuous fermentation system. In The Rumen and Its Microbes. New York : Academic Press. 544 s.

HUNGATE R.E., DOUGHERTY R.W., BRYBANT M.P., a CELLO R. M., 1952: Microbiological and physiological changes associated with acute indigestion in sheep. Cornell Vet. 42: 423-449.

HUNGATE R.E., SMITH W., BAUCHOP T., YU I., RABINOWITZ JC., 1970: Formate as an intermediate in the Bovine rumen fermentation. J. Bacteriol. 102: 389-397, ISSN 0021-9193.

CHAUCHEYRAS F., FONTY G., BERTIN G., SALMON J. M. and GOUET P., 1995: Effects of a strain of *Sacharomyces cerevisce* (Levucell SC), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro. *Can. J. Microbil.* 42: 927 – 933, ISSN 1225-8873.

CHAUCHEYRAS F., WALKER N., BACH A., 2008: Effects of active dry yeast on the rumen microbial ecosystem: past, present and future. *Animal Feed Sci. Technology*, 145: 5–26, ISSN 0377-8401.

CHAUCHEYRAS F., FONTY G., 2002: Influence of a probiotic yeast (*Saccharomyces cerevisce* CNCM I-1077) on microbial colonization and fermentations in the rumen of new born lambs. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 14: 30–36.

CHIQUETTE J., ALLISON M. J. a RASMUSSEN M.A., 2008: *Prevotellabryantii* 25a used as a probiotic in early-lactation dairy cows: Effect on ruminal fermentation characteristics, milk production, and milk composition. *J. Dairy Sci.* 91:3536-3543, ISSN 1525-3198.

ILLEK J., 2010: Aktuální zdravotní problematika v chovech skotu. In: Illek, J., Šterc, J. (ed.). *Management zdraví v chovech skotu: sborník referátů odborného semináře*. Hradec Králové: Česká buiatrická společnost, 2010, s. 16-19. ISBN: 978-80-86542-23-2.

JANKNECHT G. 2000: Americké hodnocení krmiv s NDFa a ADF. *Úspěch ve stáji*. 3: 3-4.

JELÍNEK P., KOUDELA K., DOSKOČIL J., ILLEK J., KOTRBÁČEK V., KOVÁŘŮ F., KROUPOVÁ V., KUČERA M., KUDLÁČ E., TRÁVNÍČEK J., VALENT M., 2003: *Fyziologie hospodářských zvířat*. Brno: MZLU, 2003. 409 s. ISBN: 80-7157-644-1.

JENSEN G.S., PATTERSON K.M., YOON I. (2008): Nutritional yeast culture has specific anti-microbial properties with out affecting healthy flora. Preliminary results. *J. Anim. Feed Sci.* 17: 247 – 252, ISSN 0377-8401.

JOUANY J. P., 2001: A new look to at yeast culture as probiotics for ruminants. *Feed Mix*, 9: 17–19.

JOUANY J. P., 2006: Optimizing rumen functions in the close-up transition period and early lactation to drive dry matter intake and energy balance in cows. *Animal Reproduction Sci.*, 96: 250–264, ISSN 0378-4320.

KAMRA D. N., CHAUDHARY L. C., AGARWAL N., SINGH R., PATHAK N. N., 2002: Growth performance, nutriet utilization, rumen fermnetation and enzyme fermentation and enzyme activites in calves fed on *Sacharomyces cerevisce* supplemented diet. *Indian J.. Animal Sci.*, 72: 472-475, ISSN 1740-0929.

KAMRA D.N., 2005: Rumen Microbial ecosystem. *Curr. Sci.* 89: 124-135, ISSN 0011-3891.

KLEEN J. L., HOOIJER G. A., REHAGE J., NOORDHUZIEN J. P., 2003: Subacute Ruminant Acidosis (SARA). *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 2003, 50, 8, 406-414.

KOUKAL P., 2015: *Krmivářství: Zásady výživy a krmení - dojnice v produkci: doplňky krmných dávek vysokoprodukčních dojnic.* Praha 2: Profipress s. r. o., 2015, 42 s.

KOWALCZYK J., ZEBROSKA T., 2000: Włókno pokarmowe sklad chemiczny i biologiczne dzialanie. *Institut Fizjologii i Zwierzatim. Jana Kielanowskiego w Jablonnie*, 05-110 Jablonna. 119-127.

KREUZER M., 1986: Methodology and application of defaunation in the growing ruminant. *zblvet med a* 33: 721–745.



KUDRNA a kol. 1998: Produkce krmiv a výživa skotu. Agrospoj Praha. 362 p. ISBN 80-239-4241-7

KUNG Jr, L., 2001: Direct-fed microbials for dairy cows and enzymes for lactating dairy cows: New theories and applications. In: 2001 Pennsylvania State Dairy Cattle Nutrition Workshop, Grantville, PA. pp. 86-102.

LEAN I. J., ANNISON F., BRAMLEY E., BROWNING G., CUSACK P., FARQUHARSON B., LITTLE S., NANDAPI D., 2007: Ruminant acidosis – understandings, prevention and treatment: a review for veterinarians and nutritional professionals. Australia: Australian Veterinary Association, 2007. 49 s.

LIEBERTANZ E., 1910: Die parasitischen Protozoen der Wiederkauermagens. Arch. Prot., 1910, 19: 19–90.

LYNN DH, SMALL EB., 2002: Phylum Ciliophora. In: Lee JJ, Leedale GF, Bradbury P (eds.). An illustrated Guide to the Protozoa. 2<sup>nd</sup> ed. *Society of Protozoologists, Lawrence, KS. p. 371–656.*

MARDEN J.P., BAYOURTHE C., ENJALBERT F., MONCOULON R., 2005: A new device for measuring kinetics of ruminal pH and redox potential in dairy cow. J. Dairy Sci., 88: 277–281, ISSN0022-0302.

MARDEN J.P., JULIEN C., MONTEILS V., AUCLAIR E., MONCOULON R., BAYOURTHE C., 2008: How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high yielding dairy cows *Journal of Dairy Science*, 91, 3528–3535.

MIKYSKA F.: 2001 Konzervace píce v návaznosti na výživu zvířat, 2001, Dostupné z [http://www.naschov.cz/@AGRO/informacni-servis/Konzervace-picin-v-navaznosti-na-vyzivu-zvirat.\\_\\_s485x9843.html](http://www.naschov.cz/@AGRO/informacni-servis/Konzervace-picin-v-navaznosti-na-vyzivu-zvirat.__s485x9843.html), cit. 6. 3. 2013

MOULD D. L. and THOMAS G. J., 1958: The enzymic degradation of starch by holotrich protozoa from sheep rumen. *Biochem. J.*, 1958, 69, 327–337.

MUNCH-PETERSEN E., 1963: Yeasts in the rumen of ruminants. *Zentral blatt für Bacteriologie, Parasiten-kunde, Infektions krankheiten und Hygiene ( Abteilung I )* 189, 234-240

NAVRÁTILOVÁ P., KRÁLOVÁ M., JANŠTOVÁ B., PŘIDALOVÁ H., CUPÁKOVÁ Š., VORLOVÁ L., 2012: *Hygiena produkce mléka*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, fakulta veterinární hygieny a ekologie, ústav hygieny a technologie mléka, 2012. 129 s. ISBN: 978-80-7305-625-4.

NEWBOLD C.J., WALLACE R.J., CHEN X.B., MCINTOSCH F.M., 1995: Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J. Animal Sci.*, 73:1811–1818, ISSN 1740-0929.

NOCEK J. E., KAUTZ W. P., LEEDLE J. A. Z., BLOCK E., 2003: Direct-fed microbial supplementation on the performance of dairy cattle during the transition period. *J. Dairy Sci.*, 86: 331-335, ISSN 1525-3198.

NOLLET L, DEMEYER D a VERSTRAETE W (1997) Effect of 2-bromoethanesulfonic acid and *Peptostreptococcus productus* ATCC 35244 addition on stimulation of reductive acetogenesis in the ruminal ecosystem by selective inhibition of methanogenesis. *Appl. Environ. Microb.* 63: 194–200, ISSN 1098-5336.

OETHEL G. R., EMERY K. M., KAUTZ W. P a NOCEK J. E., 2007: Direct-fed microbial supplementation and health and performance of pre- and postpartum dairy cattle: A field trial. *J. Dairy Sci.* 90: 2058-2068, ISSN 1525-3198.

ORPIN C. G., 1977: The occurrence of chitin in the cell walls of the rumen organisms *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* and *Sphaeromonas communis*. *J. Gen. Microbiol.*, 1977a, 99, 215–218.

PAUL K., NONOH JO., MIKULSKI L., BRUNE A., 2012: "Methanoplasmatales", thermoplasmatales-related Archaea in termite guts and other environments, are the seventh order of methanogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 8245–8253, ISSN 1098-5336.

PEYRAUD J.L., APPER-BOSSARD E., 2006: L'acidose latente chez la vache laitière. *INRA Prod. Anim.* 19, s. 79 - 92.

PURSER, D. B. a MOIR R. J., 1959: Ruminant flora studies in the sheep. IX. The effect of pH on the ciliate population of the rumen in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 10: 555-564, ISSN 0004-9409.

RADAV., 2009: *Siláž a zdravý zvířat: Vědecký výbor výživy zvířat*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha Uhřetěves, 2009. 40 s. ISBN: 978-80-7403-064-5.

REECE, William O., 1998: *Fyziologie domácích zvířat*. Praha: Grada, 449 s. ISBN 80-7169-547-5.

REECE, William O a WILLIAM O REECE. 2010: *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. 2. rozšířené vydání. Praha: Grada, 473 s. ISBN 978-80-247-3282-4.

ROBINSON P. H., ERASMUS L. J., 2009: Effects of analyzable diet components on response of lactating dairy cows to *Sacharomyces cerevisiae* based yeast products: A systematic review of the literature. *Anim. Feed Sci. Technol.* 149: 185– 198, ISSN 0377-8401.

RODE M. L., 2000: Maintaining a Healthy Rumen. In: Western Canadian Dairy seminar about of Advances in Dairy Technology: Preparing for the Challenges and Opportunities. Canada, 2000, 12, 101-108.

ROGER V., FOUNTY G., KOMISARCZUK S. a GOUET Ph., 1990: Effects of physicochemical factors on the adhesion to cellulose Avicel of the ruminal bacteria *Ruminococcus flave faciens* and *Fibrobacter succinogenes* sub sp. *Succinogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3081–3087, ISSN 1098-5336.

ROLLE, M. a KOLB, E., 1955: Über das Vorkommen von Hefen und hefeähnlichen Mikroorganismen im Pansen von Wiederkäuern. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abteilung I) 162, 304-309.

RYTINA L., 2004: Role mikroorganismů v bachoru. Zemědělec, str. 12, 33

SEYMOUR, W. M., NOCEK J. W., and SICILIANO-JONES J., 1995: Effects of a colostrum substitute and of dietary brewer's yeast on the health and performance of dairy calves. J. Dairy Sci. 78: 412-420, ISSN 1525-3198.

SHARP R., ZIEMER C.J., STERN M.D., STAHL D.A., 1998: Taxon-specific associations between protozoal and methanogen populations in the rumen and a model rumen system. FEMS Microbiol Ecol 26: 71-78, ISSN 1574-6941.

SCHEEHLE E., GODWIN D., a OTTINGER D., 2006: Global anthropogenic non-CO<sub>2</sub> greenhouse gas emissions: 1990-2020. Version: revised June 2006. U.S. Environmental Protection Agency, Climate Change Division, Office of Atmospheric Programs.

SCHINGOETHE D.J., LINKE K.N., KALSCHUR K.F., HIPPEL A.R., RENNICH D.R., YOON I., 2004: Feed efficiency of mid-lactation dairy cow fed yeast culture during summer. J. Dairy Sci. 87:4178 – 4181, ISSN 1525-3198.

SLANINA, LUDOVÍT., DVOŘÁK R., BARTKO P., HANÁK J., HOFÍREK B., ZENDULKA I., 1993: *Veterinární klinická diagnostika vnitřních chorob*. první. Bratislava: Príroda, 1993., str. 389. ISBN : 80-070-0536-6.

SMITH P., MARTINO D., CAI Z. a kol. 2007: Agriculture. In Climate change: Mitigation. Contribution of Working Group III to the fourth assessment report of the IPCC, Cambridge University press, Cambridge.

SMITH P., LOUIS ST., 2015: Large animal internal medicine. 5th ed. Editor Bradford Missouri: Elsevier Mosby, c2015, xlv, 1661 s., [14] s. barev. obr. příl. ISBN 978-0-323-08839-8.

SMITH, BRADFORD P. *Large animal internal medicine*. 5th. ed. St. Louis Missouri: Hardcover, 2015, 1872 s. ISBN 978-0-323-08839-8.

SMRŽ J., HORÁČEK I. a ŠVÁTORA M., 2004: *Biologie živočichů: pro gymnázia*. 1. vyd. Praha: Fortuna, 2004, 207 s., xvi s. obr. příl. ISBN 80-716-8909-2.

ST-PIERRE B, WRIGHT ADG., 2013: Diversity of gut methanogens in herbivorous animals. *J. Animal Sci.* 7: 49–56, ISSN 1740-0929.

TAJIMA K., AMINOV RI., NAGAMINE T., MATSUI H., NAKAMURA M. a BENNO Y., 2001: Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. *Appl. Environ. Microb* 67: 2766–2774, ISSN 1098-5336.

THAUER RK., 1998: *Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Majory Stephenson*. *Microbiology* 144: 2377-2406.

ULANOWICZ R. E., 1997: *Ecology, the Ascendent Perspective*. Columbia University Press, New York.

URBAN F., BOUŠKA J., ČERMÁK V., DOLEŽAL O., FULKA J., FULKA J JR., FUTEROVÁ J., HOMOLKA P., JÍLEK F., KUDRNA V., MAROUNEK M., VÁCHAL J., LOUČKA R., MACHAČOVÁ E., MIKŠÍK J., MUDŘÍK Z., PETR J., PODĚBRADSKÝ Z., ŠERED L., SKŘIVANOVÁ V., VETÝŠKA J., ŽIŽLAVSKÝ J., 1997: *Chov dojeného skotu*. Praha: Apros, 1997. 288 s. ISBN: 80 – 901100 – 7-X.

VAJDA V., MITRÍK T., MASKALOVÁ I., BACHRATÝ M., 2003: Nutričná regulácia bavorových funkcií. *Slovenský chov*. 4: 32-33.

VANHOEK AHAM, AKHMANOVA AS., HUZNEN MA., HACKSTEIN JHP., 2000: A mitochondrial ancestry of the hydrogenosomes of *Nyctotherus ovalis*. *Molecular Biol. Evol.* 17: 202-206, ISSN 1537-1719.

VANUDEN N., CARMO SOUSA L. DO. A FARINHA M., 1958: On the intestinal yeast flora of horses, sheep goats and swine. *Jo. General Microbiol.* 19: 435-445, ISSN 1350-0872.

VOGELS GD, HOPPE WF. a STUMM CK., 1980: Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. *Appl. Environ. Microb.* 40: 608 – 612, ISSN 1098-5336.

WILLIAMSP. E. V., TAIT C. A. G., INNES G. M., NEWBOLD, C.J., 1991: Effects of the inclusion of yeast culture ( *Sacharomyces cerevisicae* plus growth medium ) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J. Anim. Sci.*, 69: 3016-3026, ISSN 1740-0929.

WOHLTJ E., CORCIONE T.T., ZAJAK P.K., 1998: Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. *J.Dairy Sci.*, 81:1345–1352, ISSN 1740-0929.

WRIGHT A-DG., AUCKLAND CH., LYNN DH., 2007: Molecular diversity of methanogens in feed lot cattle from Ontario and Prince Edward Island, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 4206–4210, ISSN 1098-5336.

YOON I. K., STERN M. D., 1996: Effects of *Sacharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on luminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79: 411 – 417, ISSN 1525-3198.

ZEMAN L., DOLEŽAL P., VESELÝ P., 2005: Systém hodnocení krmiv a potřeby živin u skotu. In: Dvořák, R. *Výživa skotu z hledisek produkční a preventivní medicíny: sborník referátů odborného semináře.* Brno: Česká buiatrická společnost, klinika chorob přežvýkavců FVL VFU Brno, s. 26-37. ISBN: 80-86542-08-4.

ŽITŇAN R., SOMMER A., 2000: Morphological and functional changes in the rumen of grazing heifers. In: *Dni výživy a veterinarnej dietetiky*, Košice, 313 – 316