

Mendelova univerzita v Brně
Agromická fakulta
Ústav výživy zvířat a pícninářství



Mykotoxiny v silážích a dopad na zdraví a užitkovost zvířat
Bakalářská práce

Vedoucí práce:
doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.

Vypracovala:
Kateřina Dubová

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci *Mykotoxiny v silážích a dopad na zdraví a užitkovost hospodářských zvířat* 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 vědom/a, 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:.....

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří doc. Ing. Jiřímu Skládankovi, Ph.D. za cenné rady a odborný dohled při psaní mé bakalářské práce.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce pojednává o mykotoxinech v silážích a jejich účincích na zdraví a užitkovost zvířat. Popisovány jsou nejčastěji vyskytující se mykotoxiny a jejich účinky na vnitřní orgány, reprodukci, vstřebávání živin, mléčnou a masnou užitkovost.

Dále je popsáno, jak je ovlivněna kvalita siláže povětrnostními podmínkami, napadením škůdci, technikou zpracování píce na siláž i další důležité technologické postupy. Vypsány jsou i další způsoby eliminace mykotoxinů, jako je například použití silážních aditiv a metody přímé dekontaminace mykotoxinů.

Klíčová slova:

Krmivo, píce, kukuřice, fermentace, silážní jáma, silážní aditiva

ABSTRACT

This thesis is about mycotoxins in silages and their effects on health and productivity of animals. There are described the most frequent mycotoxins and their influence to internal organs, reproduction, absorption of nutrients and milk and meat production.

There is described, how the silage quality is affected by weather condition, pest infestation, processing of forage to silage and other important technological processes. Listed are also other ways to eliminate mycotoxins, such as silage additives and methods of direct mycotoxin decontamination.

Key words:

Feed, forage, corn, fermentation, silage pit, silage additives

OBSAH

1	ÚVOD.....	6
2	CÍL PRÁCE.....	7
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	8
3.1	Obecná charakteristika a původ mykotoxinů.....	8
3.2	Významné mykotoxiny v silážích a jejich účinky na hospodářská zvířata.....	10
3.2.1	Aflatoxiny	12
3.2.2	Trichotheceny	14
3.2.3	Ochratoxin A.....	18
3.2.4	Patulin	18
3.3	Vliv různých podmínek na vznik plísní a mykotoxinů v silážích.....	19
4.3.1	Vliv povětrnostních podmínek.....	20
4.3.2	Preventivní metody v předsklizňovém období	21
4.3.3	Vliv technologických postupů	21
4.3.4	Silážní aditiva zabraňující vzniku plísní.....	26
4.4	Dekontaminace mykotoxinů	29
4.4.1	Fyzikální metody dekontaminace	29
4.4.2	Chemické metody dekontaminace	29
4.4.3	Biologické metody dekontaminace.....	29
5	ZÁVĚR.....	31
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	32
7	SEZNAM TABULEK	35
8	SEZNAM OBRÁZKŮ	36
9	PŘÍLOHY	37

1 ÚVOD

Jelikož v dnešní době tvoří siláže valnou část krmné dávky pro přežvýkavce po celý rok, je nezbytné, aby splňovaly požadované nutriční hodnoty, a také, aby toto krmivo nebylo nijak zdravotně závadné. Aby splňovala siláž tyto základní požadavky, musí být důkladně zakonzervována. Je k tomu využíváno principu mléčného kvašení. Avšak aby fermentace proběhla v pořádku, je nutné, aby byla hmota neprodyšně překryta a nebylo umožněno přístupu vzduchu. Pokud se vzdušný kyslík k hmotě dostane, změní se anaerobní proces v aerobní a začnou v daném místě růst kvasinky, plísňe, které za stresových podmínek, jako jsou výkyvy teplot apod. tvořit mykotoxiny. Plísňe, jak je známo, prorůstají substrátem, proto je často nutné odstranit značnou část siláže, aby nedošlo k podání znehodnocené siláže zvířatům.

Pokud by se siláž kontaminovaná mykotoxiny zkrmovala, mělo by to za následek poškozování vnitřních orgánů trávicí, vylučovací, ale i rozmnožovací soustavy. Snižuje se užítkovost, využití živin z krmiv, snížený růst masných jedinců. Dochází tak k ekonomickým ztrátám, které se zprvu nemusí zdát tak významné.

Problémem je i skutečnost, že mykotoxiny mohou prostupovat z trávicího traktu do masa a mléka. To má dále dopad na potravinářský průmysl. Na člověka jako monogastra, kterého jako u přežvýkavců neochraňují bachorové mikroorganismy, mají mykotoxiny dopad v mnohem vyšší míře.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce je vypracování literární rešerše na téma Mykotoxiny v silážích a jejich dopad na zdraví hospodářských zvířat. Zkompletování současných poznatků o ovlivnění zdraví a užitkovosti zvířat nejčastějšími mykotoxiny vyskytujícími se v krmivech. Dále je pojednáváno o růstu plísní v silážích díky nesprávným technickým a technologickým postupům. Zároveň jsou popsány způsoby, jak růstu plísní a tvorbě mykotoxinů zabránit za pomoci správných výrobních postupů a přidáváním silážních aditiv s antifugálními účinky. Vypsány jsou i možnosti dekontaminace již vzniklých mykotoxinů.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Obecná charakteristika a původ mykotoxinů

Mykotoxiny jsou toxické sloučeniny, které jsou produkovány plísněmi. Narušují funkci imunitního systému, ale také vyvolávají patologické změny na orgánech, jako jsou například játra a ledviny, snižují plodnost, způsobují rané zmetání a také snižují užitkovost (nízké přírůstky, nižší počet živě narozených selat, ztráty v předvýkrmu i ve výkrmu prasat), (ŠTOLC, 2009).

Do poloviny 20. století nebyla mykotoxinům věnována zvláštní pozornost, výjimku byly snad jen námelové alkaloidy, které po několik staletí ohrožovali lidskou populaci i hospodářská zvířata. Až mnohem později se objevily i využitelné léčivé účinky. Zájem o mykotoxiny se zvýšil až v 60. letech minulého století, kdy došlo k hromadnému úhynu krůt. Vše se odehrálo v Anglii (VOTAVA, 2003), kde zahynulo přibližně 100 000 kusů krůt po zkonzumování krmiva s obsahem toxické arašídové mouky. U těchto zvířat se projevovala anorexie, letargie a slabost křídel. Na pitvě se ukázalo poškození jater a proliferace epitetu žlučovodu. Protože odborníci nedokázali přesně definovat příčinu, nejednalo se ani o bakteriální ani virové agens, bylo onemocnění charakterizováno jako intoxikace. Hlavní složkou krmení byl přípravek vyrobený z brazilských burských oříšků. Z něho byla chromatograficky izolovaná složka intenzívně modře fluoreskující a po pokusech bylo dokázáno, že vyvolává tzv. „krutí X onemocnění“. Následně bylo zjištěno, že producentem této látky je *Aspergillus flavus*. Toxin byl označen jako aflatoxin (KRMENČÍK, 2007).

Od té doby, jak uvádí ve své práci SCHNEIDEROVÁ (2008), se ve výrobě veškerých krmiv pro hospodářská zvířata mykotoxinům věnuje větší a větší pozornost. Odborníci po celém světě se zabývají výzkumem dalších druhů mykotoxinů a jejich účinků.

Mykotoxiny jsou vysoce stabilní toxické nízkomolekulární látky, které produkují vláknité sporulující houby - plísně. Většina vytvořeného mykotoxinu proniká do substrátu, kde mohou dlouhou dobu přetrvávat, i když jsou plísně již dávno zničené (SUCHÝ a HERZIG, 2005).

Plísně produkující mykotoxiny rostou na zemědělských plodinách. Například na obilovinách, luskovinách, olejninách, zelenině nebo ovoci a dalším (ŠTOLC, 2009). LABUDA a kol. (1982) zmiňují, že plísně se velmi rychle rozvíjejí v kyselém prostředí, ale pouze za přístupu vzduchu. Jen některé plísně z rodu *Mucor* se mohou vyvíjet i za jeho nepřístupu. Toto potvrzuje DOLEŽAL a kol. (2012). V anaerobních podmínkách se mohou vyvíjet některé druhy rodu *Mucor*, avšak zmiňuje i *Aspergillus* a *Penicillium*.

Podle ZEMANA a kol.(2006) plísně produkují toxiny jako svou ochranu, tedy při určitých stresových situacích, např. velké rozdíly teplot za dne a noci, nedostatečná aplikace fungicidů na poli, ale i opakované vysévání stejné plodiny na jednom stanovišti, která je zároveň náchylnější na plesnivění (kukuřice, pšenice), a tím dojde k akumulaci spor v půdě. V našich klimatických podmínkách je produkce mykotoxinů spojena především s výskytem polních plísni - *Fusarium*, *Alternaria*. Výskyt mykotoxinů je ovlivněn především počasím za vegetačního období a sklizně. Ale některé mohou být tvořeny i během skladování krmiv – plísně skladištní.

DOLEŽAL a kol. (2012) popisují, že v rostlinných krmivech jsou nejčastěji objevovány plísně rodu *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Ceratocystis*, *Fusicoccum*, *Helminthosporium*, *Rhynchosporium* a *Stachybotrys*. Dále tvrdí, že velké riziko pro rozvoj patogenních hub a produkci mykotoxinů je zvýšený obsah kyslíku při otevření a odběru siláží ke krmným účelům. Plísně v silážích a krmivech obecně představují velmi závažný problém, neboť jsou ve své podstatě všudypřítomné. Proto jsou plísně a jejich produkty nejvýznamnějším problémem při produkci plodin a výrobě krmiv pro zvířata.

Dále DOLEŽAL a kol. (2012) ve své knize píše, že výskyt plísni v krmivech je současně ukazatelem špatného skladování. Takto znehodnocená krmiva jsou jen v lepším případě podmíněně zkrmitelná, ale většinou jsou považována za nepoužitelná, a to především pro mláďata a březí. Jedná se např. o siláže, kde koncentrace přesahuje 10^6 až 10^7 .g⁻¹. DOLEŽAL však upozorňuje, že nebyla zcela prokázána souvislost mezi produkcí spor plísni a potenciální produkcí mykotoxinů. Toto potvrzuje i ZEMAN (2006). Podle něj, vysoký nález spor plísni ještě nemusí nutně znamenat předpoklad současného nálezu mykotoxinů.

Výskyt plísní na plodinách podle ZEMANA ovlivňuje několik faktorů. Jsou to faktory fyzikální, kam můžeme zařadit teplotu, vlhkost vlastního substrátu, ale i prostředí, složení substrátu, mechanické poškození povrchového obalu daného krmiva, dostupnost kyslíku a živin, způsob sklizně a skladování, výskyt polních plísní. Dále jsou to faktory chemické, zahrnující složení sušiny krmiva, přítomnost fungicidních a baktericidních látek, přítomnost mikroprvků, hodnota pH, aplikace konzervačních prostředků, podíl a složení epifytní mikroflóry. Jako poslední zmiňuje ZEMAN biologické faktory, kam zařadil vlastnosti kmene a druhové příslušnosti plísní a toxinogenní vlastnosti.

3.2 Významné mykotoxiny v silážích a jejich účinky na hospodářská zvířata

Silážovány jsou převážně traviny, seno a kukuřice, souhrnně nazývané píce. Nejčastěji používanou surovinou pro výrobu siláže je však kukuřice. Přítomnost mykotoxinů může být připsána infekci kukuřice přímo na poli nebo během uskladnění siláže (RICHARD a kol., 2007 in HAJŠLOVÁ, 2009).

Pokud jsou mykotoxiny obsažené v dostatečné koncentraci, mohou způsobovat velké ztráty na zdraví a užitkovosti zvířat. Většinou se však vyskytují v množství menším a spolupůsobí s ostatními druhy vyprodukovaných mykotoxinů, a tak jsou zapříčiňována onemocnění, snížená užitkovost a reprodukční schopnosti. Ztráty jsou většinou nevýrazné, proto jsou těžko diagnostikovatelné (WHITLOW a HAGLER, 2005). Podle ROMÁNKOVÉ (2005), vystavení zvířat vlivu více než jednoho mykotoxinu může vyvolat účinky odlišné od působení stejných mykotoxinů současně.

Podle DOLEŽALA a kol. (2012) patří mezi nejfrekventovanější mykotoxiny v našich podmínkách deoxynivalenon (DON), T-2 toxin, zearalenon (ZEA), fumonisiny, případně aflatoxiny, vzniklé již před konzervačním procesem. Dále píše DOLEŽAL a kol. (2012) a ZEMAN (2006), že teplejší klima je příznivější pro produkci aflatoxinů a fumonisinů, v chladnějším pásmu jsou to především ochratoxin, vomitoxin a zearalenon. V tabulce 1 jsou zaznamenány nejčastější rody plísní vyskytující se na krmivech a mykotoxiny, které tyto plísně produkují.

STORM a kol. (2014) ve své práci uvádí i další mykotoxiny, které nejsou tolik běžné – Andrastin A (AND A), Fumitremorgin A (FUT A), Gliotoxin (GLI), Sterigmatocystin (STE), Fumigaclavine A a C (FUC), Marcfortine A a B (MAC).

Tabulka 1: Hlavní mykotoxiny v krmivech (OPLETAL, 2006 in SCHNEIDEROVÁ, 2008)

Rod plísňe (houby)	Metabolity
<i>Alternaria</i>	Tenuazonová kyselina, alternariol, alternariolmethylether
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxiny B1, B2, G1, G2, sterigmatocystin, cyklopiazonová kyselina, ochratoxin A
<i>Penicillium</i>	Patulin, ochratoxin A, citrinin, penetrem A, cyklopiazonová kyselina
<i>Claviceps</i>	Klavinové alkaloidy (klaviny)

HUSSEIN a BRASEL (2001) píší, že přežvýkaví, jako je skot, ovce, kozy a jeleni jsou podle současných výzkumů méně citliví na negativní účinky mykotoxinů než nepřežvýkaví. Nicméně produkce mléka, hovězího masa nebo vlny, rozmnožování a růst může být dotčen, pokud přežvýkavci konzumují plísněmi a mykotoxiny kontaminovaná krmiva po delší dobu. Také CHARMLEY (1993) in SKLÁDANKA a kol. (2013) popisuje mykotoxiny a jejich negativní dopady na hospodářská zvířata. Jedná se o změny hormonálních funkcí, špatné využití krmiva, nižší přírůstky a případně smrt. Kromě toho mohou některé mykotoxiny přecházet do mléka a masa, a tak představovat riziko i pro potravinový řetězec. Následky působení mykotoxinů na organismus jsou různorodé v závislosti na typu toxinu, jeho dávce a délce doby působení, druhu a kategorii zvířat a aktuálním zdravotním stavu jedince (NEDĚLNÍK a MORAVCOVÁ, 2006)

Nemoci vyvolávané mykotoxiny jsou známe pod pojmem mykotoxikózy. Tato onemocnění jsou u hospodářských zvířat příčinou značných zdravotních problémů a ekonomických ztrát, což potvrzují analýzy po celém světě (KUMMER a FALDÍKOVÁ, 2002). Podle SCHNEIDEROVÉ (2008) se mohou projevovat sníženou užitkovostí a mimo to i sníženým příjmem krmiva, poruchami osrstění a opeření, poruchami reprodukce a příznaky infekčních onemocnění. Jejich závažnost závisí na druhu mykotoxinu a jeho koncentraci. Diagnostika mykotoxikóz je obtížná. Antibiotika jsou neúčinná, přesto je potřeba vyloučit vliv bakterií, virů a parazitů. Při zjevném plesnivění krmiv a podezření na tvorbu mykotoxinů lze krmivo, vzorky tkání nebo krevní sérum chemicky vyšetřit (BÖHM, 2006).

U potravin můžeme snadno vyhledat maximální přípustné limity jednotlivých mykotoxinů. U krmiv pro jednotlivé kategorie je tomu v evropských zemích naopak. Proto se často používají doporučené limity pocházející z USA. Pro zearalenon a T-2 toxin je limit na všechna krmiva a kategorie zvířat 0,5 mg/kg, pro fumonisin platí hranice 5 mg/kg, u deoxynivalenonu platí několik hranic v závislosti na druhu zvířat (MORA VCOVÁ a NEDĚLNÍK, 2006).

3.2.1 Aflatoxiny

3.2.1.1 Charakteristika aflatoxinů

Všeobecně jsou aflatoxiny považovány za nejvýznamnější skupinu mykotoxinů a je o nich známo nejvíce informací. Bylo objeveno několik druhů. Mezi nejvýznamnější patří aflatoxin B1, B2, G1 a G2 a od nich odvozené M1 a M2. Aflatoxiny produkuje *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus* (DOLEŽAL a kol., 2012).

HAJŠLOVÁ (2009) píše o vzniku názvu aflatoxinů. Vyznačují se silnou schopností fluoreskovat na UV světle při vlnové délce 265 nm. Podle barvy, jakou vysílají, dostaly svá označení – aflatoxiny B1 a B2 fluoreskují modře (z angl. blue), zatímco aflatoxiny G1 a G2 fluoreskují zeleně (z angl. green).

Aflatoxiny nejsou v našich klimatických podmínkách příliš časté, mohou však být do naší země importovány s komponentami určenými pro výrobu krmiv z teplých oblastí, kde vznikají běžně (SUCHÝ a HERZIG, 2005). VOTAVA (2009) píše, že

optimální substráty umožňujícími bohatou produkci těchto exotoxinů jsou plody podzemnice olejné a různé obiloviny. Podle SCHNEIDEROVÉ (2008) tvoří obiloviny, hlavně kukuřice, v mnohých krmných dávkách, např. pro drůbež tvoří 50-60%, proto není výskyt mykotoxinů ojedinělý.

Před rokem 1970 se odborníci domnívali, že se většina aflatoxinů v kukuřici tvoří po sklizni. Až později bylo zjištěno, že se tento mykotoxin vytváří v kukuřici i před sklizní. Ke kontaminaci kukuřice *Aspergillum* dochází tehdy, když jsou teploty (včetně nočních) vysoké a dochází ke stresu ze sucha (SCHNEIDEROVÁ, 2008). SUCHÝ a HERZICH (2005) uvádí ve své publikaci podmínky produkce těchto mykotoxinů: teplota 12–37 °C, optimum 28 °C, pH 2,5–6,0, vlhkost nad 14 %, (pod 12 % vlhkosti substrátu se produkce mykotoxinu zastavuje), doba růstu 3–15 dní.

3.2.1.2 Účinek aflatoxinů

Symptomy akutních aflatoxikóz u savců jsou: nechutenství, letargie, ataxie, hrubá srst, bledá, zvětšená a ztučnělá játra (WHITLOW a HAGLER, 2005, SCHNEIDEROVÁ, 2008). Dále SCHNEIDEROVÁ (2008) popisuje chronické účinky aflatoxinů. Je to nižší účinnost krmiva, snížená produkce mléka.

Co se týče vlivu aflatoxinů na přežvýkavé, bylo dokázáno, že mají negativní vliv především na funkci imunitního systému a metabolismus bacheru u skotu. Při zvyšování dávky aflatoxinů z 10 až na 108,5g/kg bylo prokázáno, že se výrazně snižuje příjem krmiva v závislosti na dávku (CHOUDHARY a kol., 1998 in HUSSEIN a BRASEL, 2001). Podle HUSSEINA a BRASELA (2001), negativní vlivy na přežvýkavé zahrnují snížení degradace celulosy, produkce těkavých mastných kyselin, produkce amoniaku a proteolýza.

Pokud zkrmujeme kontaminované krmivo, je prokázán zhruba po 12 hodinách výskyt aflatoxinů M1 a M2 v mléce. Aflatoxiny M1 a M2 vznikají hydroxylací z aflatoxinů B1 a B2. Výskyt je zjistitelný ještě po dvou až třech dnech (HAJŠLOVÁ a VELÍŠEK, 2009).

3.2.2 Trichotheceny

Trichotheceny tvoří skupinu sobě podobných látek, charakterizovaných přítomností tzv. trichothecenového jádra, které obsahuje epoxidovou skupinu, která je použitelná pro jejich stanovení. Podle ŠÍMŮNKA (2003) mohou za některé starověké a středověké morové rány. Tyto mykotoxiny produkují houby rodu *Fusarium*, jsou méně stabilní v silně alkalickém prostředí. Nejznámější z těchto fusariových mykotoxinů jsou deoxynivalenol (vomitoxin, DON), nivalenol, zearalenon (F-2 toxin), fumonisiny, moniliformin, nivalenol, T-2 toxin, HT-2 toxin a diacetoxyscirpenol (DOLEŽAL a kol., 2012).

Z toxikologických účinků trichothecenů lze uvést obecné symptomy, jako jsou pocity nevolnosti (nauzea) a silné podráždění pokožky. Jsou častou příčinou onemocnění jak u zvířat, tak i u lidí, proto jsou považovány za nejvýznamnější mykotoxiny vůbec. Trichotheceny jsou rychle resorbovány z gastrointestinálního traktu a v játrech vznikají epoxidy, které negativně ovlivňují základní buněčné funkce, např. syntéza bílkovin a DNA, a tím negativně ovlivňují replikaci buněk (SUCHÝ a HERZIG, 2005).

3.2.2.1 Deoxynivalenol (DON)

3.2.2.1.1 Charakteristika deoxynivalenolu

Triviálním názvem vomitoxin. Producenty DON jsou toxinogenní kmeny rodu *Fusarium*. V roce 1973 byl v USA izolován DON z kukuřice napadené plísní *Fusarium graminearum* (HAJŠLOVÁ, 2009). SCHNEIDEROVÁ (2008) o infekci plodin *Fusariem* píše, že je podporována deštivým a vlhkým počasím v době květu. Výsledkem působení mykotoxinu je hniloba palic u kukuřice, strupovitost nebo sněť u ječmene, pšenice, ovesa a žita. DON se vyskytuje v zrně obilovin na celém světě; jeho koncentrace se zvyšuje v zrně s vysokým procentem vlhkosti.

Obvykle jsou ještě s T-2 toxinem nejvíce frekventovaným mykotoxinem v krmivech. Velmi často jsou v odebraných vzorcích krmiv determinovány, zejména deoxynivalenol téměř na 100%. Proto je uváděn jako indikátor celkové kontaminace mykotoxiny (SUCHÝ a HERZIG, 2005 in DOLEŽAL a kol., 2012).

3.2.2.1.2 Účinky deoxinivalenolu

Tento mykotoxin nejčastěji způsobuje gastroenteritidy, intestinální hemoragie a následný úhyn. Obzvláště se svým působením zaměřuje na enterocyty, kde inhibuje syntézu proteinů a vyvolává apoptózu (HAJŠLOVÁ, 2009).

Také BHAT, RAI a KARIM (2010) popisují účinky vomitoxinu. Konzumace produktů kontaminovaných vomitoxinem souvisí se sníženou doživostí dojníc, zvracení prasat, inhibicí reprodukce a imunitních funkcí u několika živočišných druhů.

3.2.2.2 T-2 toxin

3.2.2.2.1 Charakteristika T-2 toxinu

T-2 toxin produkuje především *Fusarium sporotrichioides*, *F. poae* a dalšími druhy této plísně. Často se vyskytuje v ječmeni, pšenici, prosu, zrně světlíce a v různých krmných směsích (SCHNEIDEROVÁ, 2008). SUCHÝ a HERZIG (2005) uvádí podmínky produkce mykotoxinu. A to teplotu 3 až 8 °C (při 25 °C se již netvoří vůbec). PESTKA (2007) in HAJŠLOVÁ (2009) zmiňuje studii T-2 toxinu která ukazuje, že nachází-li se T-2 ve vysokých koncentracích v krmivech podávaným skotu, může se spolu se svými metabolity vylučovat v malém množství do mléka.

3.2.2.2.2 Účinky T-2 toxinu

Dále je u dojeného skotu spojován s gastroenteritidami, intestinálními hemoragiemi nebo smrtí (PETRIE a kol., 1977, MIROCHA a kol., 1976 in WHITLOW a HAGLER, 2005). WEAVER a kol. (1980) in WHITLOW a HAGLER (2005) píše o tom, že T-2 toxin je spojován s odmítáním krmiv a gastrointestinálními lézemi u krav, ale hemoragický syndrom nebyl prokázán.

3.2.2.3 Zearalenon (ZEA)

3.2.2.3.1 Charakteristika zearalenonu

Hlavním producentem ZEA je *Fusarium graminearum*. Tento toxin způsobuje hnilobu kukuřičné palice a stonků, ale byl zjištěn nejen v kukuřici, nýbrž i v dalších obilovinách, v senu a v siláži v mnoha oblastech světa. Zearalenon obsahují i staré sójové boby. Jeho

hromadění v kukuřici aktivuje vlhké počasí, a vlhkost po sklizni v rozmezí 22–25% jej udržuje (SCHNEIDEROVÁ, 2008).

Jde o lakton kyseliny resorcyklické a je ligandem pro receptory estrogenů. V organismu je přeměňován na estrogeně mnohem aktivnější β – zearalenon (SUCHÝ a HERZIG, 2005).

3.2.2.3.2 Účinky zearalenonu

Kromě estrogenních aktivit, díky nimž se uplatňuje jako sexuální hormon. Jsou významné i jeho anabolické účinky. Ty byly využívány na podporu růstu skotu s masnou užitkovostí, ovcí, atd., a to zejména v USA (VOTAVA, 2009).

Určitou toleranci vůči mykotoxinu lze podle SUCHÉHO a HERZIGA (2005) in DOLEŽAL a kol. (2012) pozorovat i u drůbeže a přežvýkavců. I přes určitou odolnost přežvýkavců vůči zearalenonu byly pod jeho vlivem pozorovány u dojnic poruchy plodnosti, zvýšení výskytu zánětů mléčné žlázy a tím i zvýšený počet somatických buněk v mléce, onemocnění paznehtů a zhoršení vitality narozených telat. Vznik ovariálních cyst, embryonální mortalita (NÄHRER a RODRIGUES, 2015). Dle JAHODÁŘE (2004) jsou zearalenony přenášeny do mléka dojnic, pokud je delší dobu krmeno kontaminované krmivo.

3.2.2.4 Fumonisin

3.2.2.4.1 Charakteristika fumonisinů

Tyto mykotoxiny byly objeveny až koncem 80. let minulého století a doposud bylo zjištěno celkem 20 plísní rodu *Fusarium*, které jsou schopné tyto mykotoxiny vyprodukovat, za hlavní producenty jsou však považovány *F. moniliformis* a *F. proliferatum*. Fumonisin jsou jedním z nejčastějších kontaminantů kukuřice, proto jsou časté nálezy v krmivech, ale hlavně v silážích (HAJŠLOVÁ a VELÍŠEK, 2009).

Jak píše DOLEŽAL a kol. (2012) o fumonisinech, jde o mykotoxiny dobře rozpustné ve vodě a málo v polárních rozpouštědlech. Po chemické stránce je možno zařadit k aminopolyalkoholům.

3.2.2.4.2 Účinky fumonisinů

Za nejtoxičtější a nejčastěji nalézáný je považován fumonisin B1, systematického vzorce inhibující enzym aramid-synthetázu, N-acetyl transferázu katalizující syntézu sfingolipidů. Jsou velmi toxické především pro koně, osly, prasnice a ovce, naopak méně citliví jsou přežvýkavci, u kterých dochází v průběhu bachorové fermentace k degradaci tohoto mykotoxinu (DOLEŽAL a kol., 2012). Naopak DIAZ a kol. in WHITLOW a HAGLER (2005) míní, že pokud je mléčnému skotu (Holštýn, Jersey) podáváno krmení obsahující 100ppm fumonisinu asi sedm dní před otelením, sedmdesát dní po podávání se ukazuje nižší produkce mléka.

WHITLOW a HAGLER (2005) in SCHNEIDEROVÁ (2008) ve své publikaci uvádí tabulku o maximálním obsahu fumonisinů dle Federálního registru (viz. Tabulka 2).

Tabulka 2: Směrnice FDA pro hladiny fumonisinu v krmivech pro zvířata (WHITLOW a HAGLER (2005) in SCHNEIDEROVÁ (2008))

Krmiva pro zvířata	Koncentrace fumonisinů celkem (FB1+FB2+FB3), ppm
Kukuřice a vedlejší kukuřičné produkty určené pro	
- Koně a králíky (ne více než 20% z diety)	5
- Prasata a sumce (ne více než 50% z diety)	20
Plemenné přežvýkavce, plemennou drůbež, plemenného norka, dojnice v laktaci a nosnice produkující vejce pro lidskou spotřebu (ne více než 50% z diety)	30
Přežvýkavci starší než tři měsíce určené na porážku a norci chovaní na kožešinu (ne více než 50% z diety)	60
Jatečná drůbež (ne více než 50% z diety)	100
Ostatní druhy nebo kategorie hospodářských zvířat	10

3.2.3 Ochratoxin A

3.2.3.1 Charakteristika ochratoxinu A

Rozlišujeme tři typy ochratoxinů: ochratoxin A, B a C. Ochratoxin A patří k nejvýznamnějším z této skupiny. Systematický název tohoto mykotoxinu je (R)-N-((5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-benzo(c)pyran-7-yl)carbonyl)-3-phenylalanin. Vůči vysokým teplotám jsou méně stabilní než aflatoxiny. Producenty jsou *Aspergillus ochraceus*, *A. verrucosum*, *A. sulphureum*, *A. mellus*, *Penicillium viridicatum*, *P. palitans*, *P. commune*, *P. aurantiogriseum*, *P. freii*, *P. trikolor*, *P. verrucosum*, *P. polonium*.

3.2.3.2 Účinky ochratoxinu A

Ochratoxin A má teratogenní, imunotoxické a karcinogenní účinky. Vyvolává poruchy gastrointestinálního traktu. Zejména poškozuje játra a ledviny, kde zapříčiňuje tubulární poškození a fibrózu a následnou nefrotoxikózu, dále negativně působí na centrální nervovou soustavu. Vnímavé jsou všechny druhy hospodářských zvířat (DOLEŽAL a kol., 2012). Také HAJŠLOVÁ (2009) potvrzuje, že nejzávažnějším biologickým účinkem zaznamenaným u zvířat je nefrotoxicita, genotoxicita a karcinogenita. Při ochratoxikózách dochází k výraznému podráždění sliznice trávicího ústrojí a k následnému rozvoji akutní gastroenteritidy. Vstřebané mykotoxiny vyvolávají nefropatii, která je provázena nechutenstvím, horečkou, průjmem, žíznivostí a častým močením. Organismus je postupně dehydratován, proto jsou postižená zvířata oslabená a apatická. K úhynu zvířete dochází během několika dní (KUMMER a FALDÍKOVÁ, 2002). Podle SUCHÉHO a HERZIGA (2005) je nejcitlivější vůči ochratoxinům drůbež, naopak odolnější jsou přežvýkavci, u kterých bacherová mikroflóra přeměňuje OTA na méně toxický ochratoxin alfa (DOLEŽAL a kol., 2012).

3.2.4 Patulin

3.2.3.3 Charakteristika patulinu

Patulin (PAT), systematickým názvem 4-hydroxy-4H-furo[3,2-c]pyran-2(6H)-on, je produkován mikromycety rodu *Penicillium*, a to *P. patulinum* a *P. expansum*. Jeho přítomnost byla prokázána i v mase, kde se koncentruje po zkrmování

kontaminovaných krmiv *Aspergillum clavatus* (HAJŠLOVÁ, 2009). SUCHÝ a HERZIG (2005) popisují podmínky pro produkci mykotoxinu: teplota od 2 do 35 °C, optimální teplota 25 °C, pH 3,0 až 6,5 a doba růstu 6 až 8 dní.

Byl popsán již ve 40. letech minulého století. Dokonce byl krátkou dobu využíván jako léčebné antibiotikum, nakonec ale byla dokázána karcinogenita, a tak byl z léčby vyřazen (DOLEŽAL a kol., 2012).

3.2.3.4 Účinky patulinu

V gastrointestinálním traktu zapříčiňuje degeneraci epitelů, záněty, vznik vředů a hemorhagie. Dále je to neurotoxický mykotoxin, tudíž poškozuje CNS, ale také slezinu, játra, žaludek, ledviny a respirační aparát. Při dlouhodobém podávání je karcinogenní. U přežvýkavců jsou popisovány akutní otravy projevující se jako plicní edém. Při zkrmování kontaminované siláže může vyvolat i vnitřní krvácení. Za charakteristické klinické projevy intoxikace lze pokládat ztrátu koordinace, paralýzu a degeneraci neuronů mozkové kůry (SUCHÝ a HERZIG, 2005). Symptomy neurotoxické povahy se v praxi běžně nevyskytují (BÖHM, 2006).

3.3 Vliv různých podmínek na vznik plísní a mykotoxinů v silážích

Konzervace krmiv patří k nezbytným krokům, protože nezakonzervovaná krmiva rychle pozbývají svou nutriční i dietetickou hodnotu, podléhají nežádoucím mikrobiálním změnám a mohou dokonce obsahovat i vysoké koncentrace mykotoxinů. Siláž je krmivo vyznačující se nízkou hodnotou pH 3,7 – 5,0 za vzniku organických kyselin (kyselina mléčná), vzniklých fermentací nízkomolekulárních sacharidů. Jsou to nakyslá šťavnatá krmiva s charakteristickou aromatickou vůní po původní hmotě, ze které byla vyrobena (DOLEŽAL, 2006). V dnešní době tvoří silážovaná píce velkou část krmných dávek pro přežvýkavce, proto je nezbytné, aby měla odpovídající kvalitu, která nenaruší zdraví a užitkovost zvířat. Výhodou je, že toto krmivo si díky konzervaci silážováním zachovává příznivý poměr živin. Podle HAJŠLOVÉ (2009) je kvalita siláže přímo úměrná kvalitě substrátu – závisí na druhu píce a jejím obsahu sušiny, silážní zralosti, stupni zpracování. SUCHÝ a HERZIG (2004) píší, že nejlepší cestou, jak vyrobit bezpečná krmiva, by bylo úplné zabránění vzniku plísní a mykotoxinů, což je

v reálných podmínkách prakticky nepředstavitelné, protože je nemožné odstranit plísně a především jejich spóry. Problém je i skutečnost, že ke kontaminaci krmiva může dojít v celém procesu výroby. Je nemožné zajistit takové podmínky, aby se zabránilo kontaminaci spórami, růstu plísní a následné produkci mykotoxinů.

Dle ROMÁNKOVÉ (2005) je celá problematika mykotoxinů obtížná a dodnes, i přes velký počet dlouhé roky probíhajících výzkumů, relativně málo prozkoumaná. Je potřeba klást důraz na prevenci vzniku plísní a mykotoxinů od úplného začátku. Tím je myšlena např. správná agrotechnika zabezpečující zdravý vývin rostliny, výběr správného hybridu kukuřice, či jiné pícniny dle podmínek počasí typických pro určité stanoviště, včasná sklizeň rostlin a vysoká technologická kázeň při zakládání hmoty do silážních žlabů. Nejlepší prevencí je tedy dle SUCHÉHO a HERZIGA (2004) dodržování střídání plodin v osevních postupech a správně vybírat odrůdy a hybridy dle tamějšího klimatu, šlechtit geneticky modifikované odrůdy odolné proti houbovým chorobám i škůdcům, zajišťovat vyrovnanou výživu porostů. Je nezbytné dodržovat všechny agrotechnické zásady pěstování a následného zpracování píce na krmiva.

4.3.1 Vliv povětrnostních podmínek

Převážné množství mykotoxinů nalezených v krmivech je vyprodukována již před sklizní a uskladněním. Plísně, především z rodu *Fusarium*, byly izolovány ze všech částí rostlin. To znamená, že pronikají do rostlinných pletiv všemi částmi rostliny. Mykotoxiny se tedy tvoří již v tomto období a jejich množství se většinou postupně zvyšuje. Napadení mykotoxiny lze nejčastěji pozorovat u odumřelých rostlinných pletiv (MORAVIDOVÁ a NEDĚLNÍK, 2006). Růst plísní a produkce mykotoxinů souvisí s extrémními výkyvy počasí – vlhkost vzduchu, srážky, teplota a také poškození hmyzem. Americké počítačové modely pro výpočet koncentrace mykotoxinů v kukuřici jsou založeny na teplotě, srážkách a tlaku škůdců (WHITLOW a HAGLER, 2005).

Plísně rodu *Aspergillus* rostou, jak píše SCHNEIDEROVÁ (2008), hlavně při nízké vlhkosti a vyšší teplotě než např. plísně rodu *Fusarium*. Proto se zvyšuje kontaminace kukuřice aflatoxinem při stresu sucha a tepla. Zároveň je to podpořeno i poškozením hmyzem. Rod *Fusarium* způsobuje především fusariosu klasu u obilovin a fusariovou hnilobu palic a stonku, při níž se produkují fumonisiny. Fumonisin jsou produkovány

zejména v době, kdy je sucho ve středu vegetačního období, a následně se změni počasí ve velmi vlhké.

4.3.2 Preventivní metody v předsklizňovém období

Prevence vzniku mykotoxinů v již předsklizňovém období je nezbytným krokem při snižování rizika nežádoucích účinků krmiv na zdraví a užitkovost zvířat. RILEY a NORRED (1999) ve svém článku uvádí metody, které jsou známy pro svou efektivní ochranu proti vzniku mykotoxinů. Je to redukce stresu rostlin pomocí zavlažování, minerální výživy a ochrana před poškozováním hmyzem. Dále zamezení vzniku takovým povětrnostním podmínkám, které přispívají infekci na poli, a nakonec minimalizace rostlinných zbytků a dalších zdrojů inokulace.

Nezbytné je ošetření silážní kukuřice proti zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*). Rostliny jsou poškozovány jeho housenkami a narušené části rostlin jsou pak citlivé na napadení plísněmi především rodu *Fusarium* (ROTREKL, 2007).

4.3.3 Vliv technologických postupů

Jakost siláže je ovlivňována již způsobem zakládání do silážního žlabu a kvalitou následného zakrytí či technikou konzervace v polyethylenových vacích nebo obalovaných balících. Dle DOLEŽALA (2006) jsou při konzervaci píce z hlediska technologie nezbytná například tato opatření: co nejrychleji naplnit silážní jámu, ale zároveň úkon provádět co nejprecizněji a poté silážovanou hmotu co nejrychleji a nejdůkladněji překrýt folií, aby se vytvořilo anaerobní prostředí.

4.3.3.1 Termín sklizně a zpracování řezanky

Termín sklizně je významným faktorem ovlivňující kvalitu výsledné siláže, neboť se postupem času mění kvalita píce a její sušina. Např. u kukuřice lze za vhodnou sušinu považováno 33%. To bývá při mléčné zralosti z dvou třetin zrna. Řezanku s vyšší sušinou je nutné v silážním žlabu mnohem důkladněji udusat, aby se to neprojevalo na kvalitě fermentace, ale i stravitelnosti vlákniny (LOUČKA a TYROLOVÁ, 2013). Jak píše DOLEŽAL a kol. (2012), platí pravidlo: čím vyšší obsah sušiny, tím kratší délka řezanky. Délka řezanky také ovlivňuje vytěsňování vzduchu ze silážované hmoty.

Avšak jde i o určitý kompromis mezi kvalitou fermentace a dietetickými požadavky zvířat. Optimální hodnoty sušiny a řezanky lze vidět v následující tabulce (viz. Tabulka 3).

Dle POZDÍŠKA (2008) se 95% trav určených k silážování nechává zavadat. Výsledná píče by měla dosáhnout sušiny optimálně 35–45%. Při sušině nad 50% už je v hmotě obsaženo velké množství plísní a toxinů. Siláž o takového vyšší sušiny je v praxi označována jako „senáž“.

Tabulka 3: Technologické požadavky na píči sacharidovou, bílkovinnou a polobílkovinnou (DOLEŽAL, 2012)

DRUH PÍČE	DOBA SKLIZNĚ	SUŠINA (%)	ŘEZANKA (mm)
Kukuřice – celé rostliny	Mléčně vosková zralost	25–30	15–20
	Vosková zralost	30–35	10–20
Kukuřice LKS, CCM	Vosková zralost	> 45	< 10
Obilí GPS	Mléčně vosková zralost	> 35	< 10
Trávy	Začátek metání – nechat zavadnout	20–30	30–40
		30–35	20–30
		35–45	10–20
Vojtěška, jetele	Butonizace	25–30	30–40
		35–40	20–30
		40–50	10–20

4.3.3.2 Naskladňování a překryvání siláže

Hmota navezená do silážovací jámy by měla být rozvrstvena do výšky 15-30cm. Dusání je nutné provádět již od prvních vrstev a provádí se několika přejezdy těžkou technikou. Pokud by se takto dusalo několik vrstev na sobě, zvyšovalo by se riziko aerobní nestability v průběhu fermentace a po otevření siláže. Důležitá je doba dusání, kdy by se mělo na jednu tunu siláže dusací mechanikou přejíždět alespoň 3-6 minut. Za jeden den je dobré zvládnout alespoň 50 cm vysokou vrstvu. Z tohoto hlediska je výrazně lepší použití silážních vaků, jehož plnění trvá do šesti hodin, na rozdíl od silážních jam, jejichž naplnění trvá déle než 3 dny (DOLEŽAL a ZEMAN, 2011). Kvalitu dusání hmoty lze poznat nejen podle výsledné siláže ale i podle objemové hmotnosti

vyjadřované v kilogramech na metr krychlový. Například kukuřičná siláž by měla vážit 600–750kg/m³ a zabírat prostor 1,67–1,33m³/t (LOUČKA a TYROLOVÁ, 2013).

Ihned po ukončení naskladňování, bychom měli silážovanou hmotu překrýt izolační vrstvou. Podle POZDÍŠKA (2008) je k tomuto účelu nejlepší používat dvě vrstvy folie. Vnitřní mikrotenová, která k siláži těsně přilne a vnější ze silnějšího materiálu, který poskytne ochranu před kyslíkem i UV zářením. Pokud by vznikl během překrývání silážované hmoty nebo i po něm v ochranné folii otvor, je nutné ji přelepit, aby se zabránilo průniku kyslíku. Dále je nutno silážní plachtu zatížit a to nejlépe po celém povrchu. V našich podmínkách jsou k tomu nejčastěji používány automobilové pneumatiky, které se pokládají těsně vedle sebe. Přestože je to způsob jednoduchý, není ideální, protože tak vzniká spousta mezer, kudy může procházet vzduch. V jiných zemích jsou používány těžké pytle, které se pokládají jeden vedle druhého na okraje a spoje plachet, často ve dvou řadách.

Kontaminace mykotoxiny se však rapidně zvyšuje, jak píše SKLÁDANKA (2013), za vysoké teploty siláže po překrytí. Vysoké teploty znamenají stresový faktor. Po překrytí silážních žlabů, kdy ještě probíhá aerobní fáze, a aerobní mikroorganismy spotřebovávají zbytky kyslíku, se vytváří teplo. Růst plísní ustává až v anaerobní fázi fermentace, ale vytvořené mykotoxiny jsou již zachovány.

4.3.3.3 Průběh fermentace

Hned po zakrytí hmoty nastává první fáze vzniku siláže. Je to fáze aerobní. Trvá několik hodin a dochází ke snižování množství kyslíku díky dýchání aerobních mikroorganismů. Hmota se okyseluje na pH 6,5–6,0.

Poté začne probíhat fermentační fáze, kdy se začínají tvořit anaerobní bakterie (RAJČÍKOVÁ a MLYNÁR, 2009). Bakterie mléčného kvašení začnou rozkládat rostlinné sacharidy a tak vytvářet kyselinu mléčnou a v menším množství i kyselinu octovou. Jejich poměr by měl být 3 : 1. Kyselina octová je sice produktem heterofermentativního kvašení, ale je velmi antifungálně aktivní (ZEMAN a kol., 2006). Toto období trvá 7–14 dní. Bakterie mléčného kvašení vyčerpají zásoby cukrů a kyselost se sníží na pH 3,8–4,2. Což má za následek zastavení biologických procesů.

Nastává fáze stability siláže. Většina mikroorganismů zaniká, či jsou přítomny v neaktivním stavu. Je důležité, aby se do siláže nedostal kyslík, což by mělo za následek vývinu plísní, které produkují mykotoxiny, kvasinek a jiných aerobních bakterií produkujících patogenní látky (RAJČÍKOVÁ a MLYNÁR, 2009). Poslední fází je doba po otevření, fáze vybírání, která je rozepsána v samostatné kapitole.

Jak píše SCHNEIDEROVÁ (2008) limitující faktor růstu plísní a produkce mykotoxinů je hlavně hodnota pH a přítomnost kyslíku. Pokud jsou siláže příliš suché, nedostatečně udusané, zakryté a je tak umožněn přístup vzduchu, zvýší se mikrobiální aktivita, odčerpávají se silážní kyseliny a mění se pH. To jsou ideální podmínky pro vznik plísní v kazící se siláži. Optimální doba zrání siláže je u většiny siláží 60 dní. Je to doba, po které je píče dostatečně zakonzervována, pH klesne na hodnotu okolo 4 a účinkem kyseliny mléčné je zamezeno rozmnožování nežádoucích aerobních mikroorganismů a vzniku hnilobných procesů.

Tabulka 4: Doba zrání konzervovaných krmiv (JAKOBE, 1987)

Druh konzervovaných krmiv	Doba fermentace (den)
Siláže o vyšší sušiny z jednoletých a víceletých píce	60
Silážované drtě jednoletých píce	60
Siláže z cukrovských skrojků a řízků	90
Siláž kukuřice do 30% sušiny	60
Siláž kukuřice nad 30% sušiny	120
Silážovaná drť kukuřičných palic s listy a bez listů	120
Siláže z jednoletých píce	60

4.3.3.4 Vybírání siláží

Po uplynulé době zrání (viz. Tabulka 4) nastává doba vybírání siláží a zakládání do krmných žlabů. Plísně rostou i při odebrání siláží, kdy je okysličována. Kyslík působí příznivě pro růst plísní, pokud působí kladně i další faktory – teplota, obsah organických kyselin, celkové složení substrátu, aj. (NEDĚLNÍK, 2006). Rozvoj plísní lze poznat podle tmavších oblastí připomínajících tabák (viz. Obrázek 1). Povrchová vrstva může být až černá (WILKINSON, 2005 in RADA, 2009).

Z hlediska techniky je lepší k vybírání siláží volit takové stroje, které dělají rovný a plochý řez. Zmenšuje se tak plocha siláže, která je ve styku se vzduchem a snižuje se aerobní degradace (LOUČKA a TYROLOVÁ, 2013). Proto jsou nevhodné nakladače, které narušují hmotu, a provzdušňuje se siláž. Za celý týden by tak měla být odebraná vrstva alespoň 2,5 m po celé šířce žlabu. Ideální by však bylo, kdyby bylo odebíráno 0,5 m denně. Siláž znehodnocenou sekundární fermentací, s masivním výskytem kvasinek, plísní a mykotoxinů by se neměla zkrmovat žádné kategorii zvířat (RAJČÁKOVÁ, 2008).



Obrázek 1: Tmavá oblast, kde se vyvíjí plísně

4.3.3.5 Silážování v PE vácích a obalových foliích

Kromě silážovacích jámy jsou dnes hojně využívány polyethylenové vaky a obalování balíků fóliemi. Těmito způsoby lze také získat vysoce kvalitní siláže, za předpokladu správné technologie. Mnohdy dokonce kvalitnější, než ze silážních jam. Velkou výhodou jsou nižší nároky na prostory, které můžeme po odstranění vaků využívat i pro jiné účely.

Průměr vaků se volí podle sušiny a délky řezanky materiálu. Čím nižší sušina, tím menší průměr vaku. U materiálu s vysokou sušinou je však nebezpečí vzniku nerovností a hrbů lisovaného materiálu a tím pádem i vznik vzduchových kapes zapříčiňujících

aerobní nestabilitu. Tam, kde jsou takovéto hrboly s velkým obsahem vzduchu, můžeme pozorovat ložiska plísní. Optimální sušina píce lisované do polyethylenových vaků je 34–42% u vojtěšky, 32–42% u jetele, 30–42% jetelotrávy a 28–42% trávy.

S rozsáhlým zaplesnivěním se můžeme u obalovaných balíků do fólie setkat u těch, které mají velký měrný povrch a nízkou měrnou hmotnost. Takto špatně slisované balíky obsahují velké množství kyslíku, díky němuž se plísně tvoří. Lisovaná píce by měla být o minimální sušině 35%. Skladování fóliových balíků je náročnější z pohledu ochrany proti poškozením. K přepravě je nutné použití speciálních zařízení a každé případné poškození je nutné ihned opravit. Balíky uchováváme na rovném a upraveném podloží (DOLEŽAL a kol., 2012).

4.3.4 Silážní aditiva zabraňující vzniku plísní

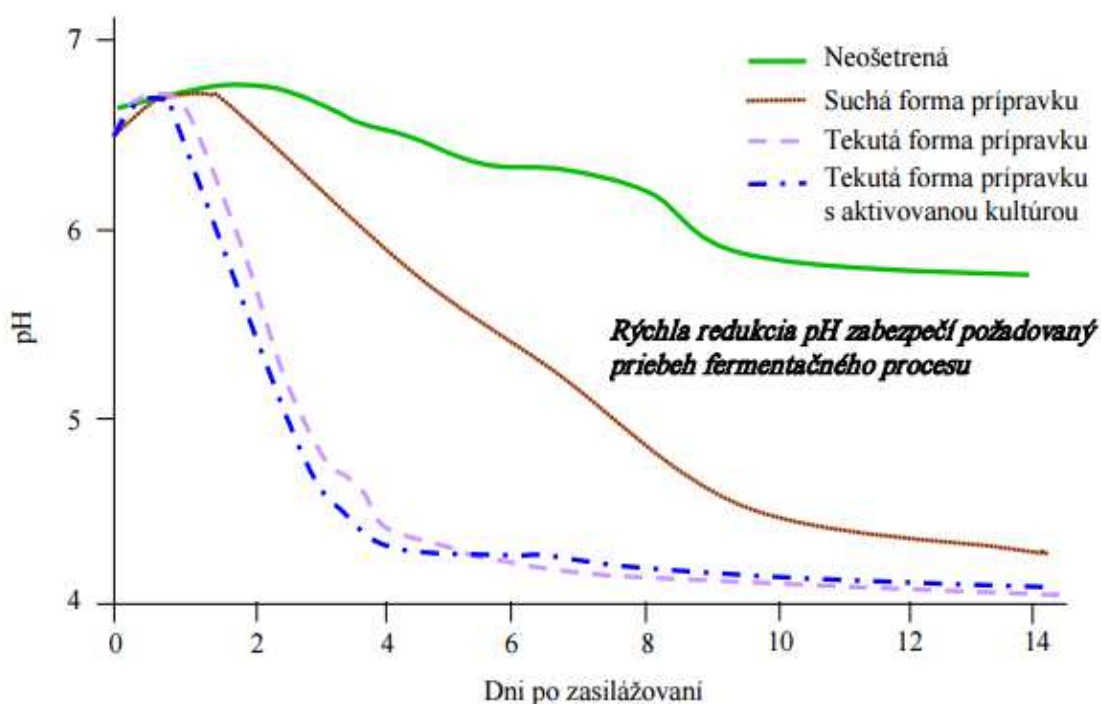
Často po otevření silážní jámy či při porušení krycí fólie dochází k narušení siláží aerobní (sekundární) fermentací, kterou způsobují plísně, bakterie a především kvasinky. Mikroorganismy intenzivně využívají kyselinu mléčnou a zbytkové cukry za vzniku tepla, oxidu uhličitého a vody. Siláž v tuto chvíli ztrácí svou energetickou hodnotu i sušinu. Rozkladem kyseliny mléčné se mění i pH prostředí, a tak vznikají ideální podmínky pro množení plísní a ty vytváří mykotoxiny (ILLEK, 2006). Proto je doporučeno, jak píše DOLEŽAL (2005, 2006), používat pro omezení vzniku nežádoucích procesů konzervační látky. Převážně za podmínek zhoršujících fermentaci, jako je například nízké procento sušiny, sklizení píce ve vyšším vegetačním stádiu, píce má hrubší strukturu ztěžující udusání. Avšak musíme myslet na to, že konzervační prostředky jsou pouze součástí technologického postupu a nemohou nahradit nedostatky v prováděné praxi. Pokud jsou aditiva vhodně používána, může vylepšit kvalitu fermentačního procesu, posílit aerobní stabilitu, omezit účinky nežádoucí mikroflóry a kumulovat jejich produkty, zlepšit stravitelnost, atd.

4.3.4.1 Biologická aditiva

Biologická - bakteriální aditiva (inokulanty) jsou složeny z homofermentativních kmenů produkujících kyselinu mléčnou za počáteční fáze fermentace. Je to např. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*. Také dle studie DOGI (2013) mají schopnost regulace *Fusaria graminearum* a *Aspergilla parasiticus*, avšak *L. rhamnosus* je schopen

inhibovat růst *F. graminearum* za všech podmínek na rozdíl od *L. plantarum*, který je účinný pouze při pH 4. Dále omezují sekundární fermentaci přidávkem bakterií *Lactobacillus buchneri*, *L. brevis*, *Pediococcus acidilactici* (ZEMAN a kol., 2006). *L. buchneri* a *L. brevis* mají zvýšenou produkci kyseliny octové (RAJČÁKOVÁ a MLYNÁR, 2009), která má silné protiplísňové účinky.

Jak píše RAJČÁKOVÁ a MLYNÁR (2009), efektivnost využití těchto aditiv ovlivňuje forma aplikace. Lze aplikovat ve formě granulované, práškové či kapalné (viz. Obrázek 2). Kapalná forma se považuje za nejúčinnější. Přípravek se aktivuje ve vodním prostředí již před vlastním silážováním, díky tomu jsou bakterie mléčného kvašení živé a vysoce aktivní a jejich účinek se mnohonásobně urychlí.



Obrázek 2: Pokles pH v závislosti na formě biologického přípravku (PAHLOW, 2003 in RAJČÁKOVÁ a MLYNÁR, 2009)

4.3.4.2 Chemická aditiva

Dle RADY (2009) se proti kažení siláže z hlediska plísní používají tyto aditiva: kyselina propionová, octová, mravenčí, sorbová. Také dle LOUČKY a TYROLOVÉ (2013) je vhodné omezovat degradaci hotové siláže za použití kyseliny sorbové o koncentraci 0,05%, kyseliny benzoové 0,1%, kyseliny propionové 0,4% a kyseliny octové 1,5%. Tyto organické kyseliny patří k inhibitorům fermentace. Také hlavně redukují

nežádoucí máselné kvašení, tvorbu alkoholu, amoniaku, aj. (DOLEŽAL, 2006). Kyselina benzoová a sorbová jsou však málo rozpustné ve vodě, a proto se používají jejich soli – draselné, sodné, aj. (LOUČKA a TYROLOVÁ, 2013).

Chemická aditiva však mají i své nevýhody. Je to např. vysoká agresivita, korozivnost, omezování příjmu krmiva zvířaty při vyšší dávce a vyšší cena. Také proto se využívají přípravky založené na bázi jejich solí. Nejsou tolik agresivní, jsou účinné a cena je nižší (RAJČÁKOVÁ a MLYNÁR, 2009).

Z kyselin s krátkým řetězcem je právě kyselina propionová ta, která má nejsilnější antimykotické účinky. Je účinná při snižování rozvoje kvasinek a plísní, které jsou zodpovědné za aerobní kažení siláží. Antimykotický účinek této kyseliny se zvyšuje s klesajícím pH siláže, proto je ideálním kandidátem pro zlepšování aerobní stability siláží (KUNG, 1998). Používá se ve směsi s kyselinou mravenčí, a to v různém procentickém zastoupení. Tím se zvyšuje antimikrobiální spektrum (DOLEŽAL, 2006).

Kyselina benzoová je další organická kyselina s antifungálním účinkem. Tento účinek je nejsilnější v nižších hodnotách pH, a to při pH 3,5 – 4. Kyselina je špatně rozpustná ve vodě, proto se používá vodorozpustný benzoan sodný v 10 – 12% roztoku. Používá se v biochemických kombinovaných aditivech (DOLEŽAL a kol., 2012).

Kyselina sorbová se do siláží se přidává v podobě solí, konkrétně sorban draselný. Používá se opět v kombinaci s dalšími aditivy. Jsou to aditiva biologická, či kyselina octová (DOLEŽAL a kol., 2012).

4.3.4.3 Nutriční aditiva

Močovina se přidává nejen za účelem zvýšení nutriční hodnoty sacharidových siláží (silážní kukuřice), ale zároveň má dobré konzervační a protiplísňové účinky. Sama o sobě sice reaguje chemicky neutrálně, ale její produkty vzniklé enzymatickou hydrolyzou, oxid uhličitý a amoniak, konzervační účinky mají. Pokud je pH vyšší než 4,5, močovina se hydrolyzuje, což má za následek zvýšení pH přes 7,5. Ale od třetího dne již dochází k výraznému okyselení (LI a kol., 1992 in DOLEŽAL 2012). Je uvolňován amoniak. Váže se s kvasnými kyselinami za vzniku amonných solí kyselin. Slouží jako zdroj pro bakterie a zároveň má antifungální účinky (DOLEŽAL, 2012).

4.4 Dekontaminace mykotoxinů

Vzhledem k tomu, že nemůžeme ani do budoucna počítat s možností stoprocentní prevence vzniku mykotoxinů, jeví se jako možnost alespoň částečná dekontaminace již vzniklých mykotoxinů v krmivech. Je známá široká škála druhů mykotoxinů, proto neexistuje žádná universální možnost, jak mykotoxiny dekontaminovat (DOLEŽAL, 2012). Jsou známy různé metody dekontaminace. Jde o způsoby fyzikální, chemické a biologické.

4.4.1 Fyzikální metody dekontaminace

Na ochranu zvířat proti účinkům mykotoxinů - mykotoxikózám se často používají adsorbenty neboli vyvazovače. Jejich základem jsou jílové minerály. Jejich úkolem je navázat na sebe mykotoxiny v gastrointestinálním traktu, z něhož poté odvádí tyto škodlivé látky pryč (PAVELKOVÁ, 2013). V DOLEŽALOVĚ (2012) publikaci je konkrétně psán zeolit, jehož povrch je nasycen molekulami vody, které přitahují polární funkční skupiny aflatoxinů a ochratoxinu.

4.4.2 Chemické metody dekontaminace

Z chemických metod byl například prokázán účinek ozonu. Ozonizací lze za 92 hodin snížit obsah aflatoxinu B1 až o 95% (SUCHÝ a HERZIG, 2004, DOLEŽAL, 2012). Účinnou metodou je také ošetření peroxidem vodíku, hydroxidem sodným, monomethylaminem nebo amoniak s hydroxidem vápenatým. Avšak těmito sloučeninami jsou způsobeny nežádoucí nutriční a senzorické změny kvality krmiva, proto nejsou možné zkoušky *in vivo* (SCOTT PM., 1996 in VARGA a kol., 2010).

4.4.3 Biologické metody dekontaminace

Biologická dekontaminace pracuje dvěma procesy – sorpcí a enzymatickou degradací. Oba způsoby jsou vykonávány organismy. Mykotoxiny jsou napojeny na buněčnou stěnu mikroorganismů (MAGAN a OLSEN, 2004). Pozitivní vliv má kvasinková kultura *Saccharomyces cerevisiae*. Dále jsou to kultury *Lactobacillus rhamnosus*, na které jsou navazovány aflatoxiny a trichotheceny. Kladně může být krmivo

ovlivňováno i obsahem vlákniny, která může částečně navazovat T-2 toxin a zearalenon (SUCHÝ a HERZIG, 2004, DOLEŽAL, 2012).

Dále SUCHÝ a HERZIG (2004), DOLEŽAL (2012) popisují využívané účinky enzymů, které štěpí řetězce mykotoxinů na neškodné metabolity. Jsou prodávána aditiva, která spojují absorpční efekt s enzymatickou činností. Zde přítomné enzymy štěpí funkční skupiny trichothecenů a laktonový kruh zearalenonu. Enzymy jsou aplikovány v podobě již zmiňované kvasinkové kultury *Saccharomyces cerevisiae*.

5 ZÁVĚR

Mykotoxiny jsou považovány za celosvětový problém. Plísně, které je produkují, jsou přítomny prakticky všude. Zkrmování siláže kontaminované mykotoxiny se chovateli z počátku nemusí zdát nebezpečné pro chov. Různá onemocnění, která mají za následek snižování užitkovosti a reprodukční poruchy se mohou v dnešní době intenzivních chovů vyskytovat hojně i při dodržování správných podmínek chovu. Avšak mykotoxiny se v těle hospodářských zvířat kumulují. Výskyty onemocnění a poruchy se mohou zvyšovat pouze nepatrně. V konečném důsledku je však narušena ekonomická bilance podniku nejen ztrátami na užitkovosti, ale i výdaji na léčbu, která je často mířena na jinou příčinu, než jsou mykotoxiny. Problémem je i skutečnost, že některé mykotoxiny přechází do mléka a masa, což má následky pro člověka jako konzumenta.

Cílem chovatelů je zabránit růstu plísní v silážích, které jsou dnes nejčastějším krmivem pro skot s tržní produkcí mléka. Dobrých výsledků lze dosáhnout dodržováním požadovaných kroků silážování a to již od zasetí rostliny, přes ošetření fungicidy, ostatními látkami na poli a její zpracování na siláž, až po vybírání ze silážních žlabů. Vznik mykotoxinů ovlivňuje pH silážované hmoty a přístup kyslíku. Proto je důležité správné používání techniky, prováděná správná technologie zpracování hmoty a zakládání do silážních žlabů či vaků.

Pro zlepšení kvality siláží se mohou používat aditiva omezující růst plísní. Také lze použít podpůrné dekontaminační látky, které pracují na chemickém, biologickém nebo fyzikálním principu. Mykotoxiny se pak mění na neškodné metabolity nebo jsou navázány na dekontaminační látku a jsou bezpečně odvedeny z těla ven. Realitou však je, že žádnými aditivními látkami nemůžeme vynahradit nedostatky nesprávných postupů výroby v daném chovu. Z řady výzkumů vyplývá skutečnost, že správně používaná technika a technologie jsou již po dlouhá léta jedinou věcí, která nám zaručí siláž o vysoké sensorické i nutriční kvalitě, a přídatné látky k tomu mohou jen dopomoci.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

BHAT R., RAI V.R., KARIM A.A., *Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 9/2010, s.57-81, ISSN 1541-4337

BÖHM J., *Mykotoxiny v krmivech a jejich vliv na zdraví zvířat*. Výživa skotu z hlediska produkční a preventivní medicíny. 1. vyd. Brno: Klinika chorob přežvýkavců FVL VFU Brno 2006, s.32-35, ISBN 80-86542-08-4

DOGI C.A., FOCESATO A., ARMANDO R., PRIBULL B, DE SOUZA M.M.S., COELHO I.D., DE MELO D.A., DALCERO A., CAVAGLIERI L. *Selection of lactic acid bacteria to promote an efficient silage fermentation capable of inhibiting the activity of Aspergillus parasiticus and Fusarium graminearum and mycotoxin production*. JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY 114, 2013, s.1650-1660, ISSN: 1364-5072

DOLEŽAL P. *Konzervace krmiv a jejich využití ve výživě zvířat*. 1.vyd, Baštan, 2012, 307 s., ISBN 978-80-97091-33-3

DOLEŽAL P. *Konzervace, skladování a úpravy objemných krmiv : (přednášky)*. Mendelova universita v Brně, 2006, ISBN 80-7157-993-9

DOLEŽAL, P., ZEMAN L. *Objemná krmiva a hlavní zásady pro zlepšení jejich kvality*. Krmivářství. 02/2011, Str. 25-27, ISSN 1212-9992

HAIŠLOVÁ J. *Mykotoxiny*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2009

HAIŠLOVÁ J., VELÍŠEK J. *Chemie potravin II*. 3. Vyd., OSSIS 2009, ISBN: 978-80-86659-16-9

HRDINA V., HRDINA R., JAHODÁŘ L., MARTINEC Z., MĚRKA V. *Přírodní toxiny a jedy*. 1. vyd., 2004. 310 str., ISBN: 80-7262-256-0

HUSSEIN H.S., BRASEL J.M. *Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals*. Toxikology 167., s.101-134, 2001

ILLEK, J. *Zdravotní rizika zkrmování nekvalitních siláží*. Výživa skotu z hlediska produkční a preventivní medicíny. 1. vyd., Brno: Klinika chorob přežvýkavců FVL VFU Brno 2006, s. 101-103, ISBN 80-86542-08-4

JAKOBE P., BARANČIC F., DOLEŽAL P., HARTMAN M., KALACH P., PŘIKRYL J. *Konzervace krmiv*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 262 s., 1987

KRMENČÍK P. *Biotox. Toxikon*. [online]. 2001-2007.

Dostupné z: <http://www.biotox.cz>

KUNG L., *A Review of silage additives and enzymes*. 1998, [online] Dostupné z: <http://blogs.cornell.edu/organicdairyinitiative/files/2014/04/A-Review-of-Silage-Additives-1dj7idb.pdf>

KUMMER V., FALDÍKOVÁ L. *Účinky mykotoxinů na zdraví a reprodukci hospodářských zvířat*. *Náš chov* 01/2002, ISSN 0027-8068

LABUDA J., a kol. *Výživa a krmenie hospodárskych zvierat*. Bratislava: Příroda, 487 s., 1982

LOUČKA R., TYROLOVÁ Y. *Správná praxe při silážování kukuřice*. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha Uhřetěves 2013, 40 s., ISBN 978-80-7403-119-9

MAGAN N., OLSEN M. *Mycotoxin in food: Detection and control*. 1.vyd, CRC Press, 2004, 488s., ISBN 1-85573-733-7

MORAVCOVÁ H., NEDĚLNÍK J., *Mykotoxiny v krmivech*. *Krmivářství*, 03/2006, s. 18–23. ISSN 1212–9992.

NÄHRER K., RODRIGUES I. *Mycotoxins in dairy: Facts, figures and solutions*. BIOMIN, 7 s., 2015

PAVELKOVÁ D. *Eliminace výskytu mykotoxinů a jejich vliv na výskyt metabolických poruch u zvířat*. *Krmivářství*, 03/2013, s 16-18, ISSN 1212-9992

POZDÍŠEK J., MIKYSKA F., LOČKA R., BJELKA M. *Metodická příručka pro chovatele k výrobě konzervovaných krmiv (siláží) z víceletých pícnin a trvalých travních porostů: metodika*. Rapotín: Výzkumný ústav pro chov skotu, 2008, 1.vyd., 38 s., ISBN: 978-80-87144-06-0

RADA V. *Siláž a zdraví zvířat*. 2009, [online] Dostupné z:

<http://www.vuzv.cz/sites/SilazRada.pdf>

RAJČÁKOVÁ, L. *Zásady silážovania kukurice*. *Naše pole* 9/XII., 2008, s. 50-51, ISSN 1335-2466

RAJČÁKOVÁ, L., MLYNÁR R. *Zásady využívania potenciálu silážnych a konzervačných prípravkov pri výrobe kvalitných a hygienicky nezávadných konzervovaných krmív. (Metodická príručka)*. Centrum výskumu živočíšnej výroby Nitra. 2009

RILEY R.T., NORRED W.P. *Mycotoxin prevention and decontamination – a case study on maize*. Food, Nutrition and Agriculture 23, s. 25-30, 1999

ROMÁNKOVÁ, L.: *Kukuřice a kontaminace siláží mykotoxiny*. Náš chov, 09/2005, s. 28 – 31, ISSN 0027-8068

ROTREKL J. *Jak omezit vzrůstající škodlivost zavíječe kukuřičného*, 2007.

Dostupné z: http://www.vupt.cz/content/files/pub_07/rot_07_01.pdf

SCHNEIDEROVÁ P. *Bezpečnost krmiv a zdraví zvířat – mykotoxiny*. 45s., ÚZPI, 2008

SKLÁDANKA J., ADAM V., DDOLEŽAL P., NEDĚLNÍK J., KIZEK R, LINDUŠKOVÁ H, MEJIA JEA., Nawrath A. *How Do Grass Species, Season and Ensiling Influence Mycotoxin Content in Forage?*, Environmental Research and Public Health 10, ISSN 1660-4601, 2013

SUCHÝ P., HERZIG I. *Plísně a mykotoxiny, Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech*. Brno: Vědecký výbor výživy zvířat, 24 s., 2004

ŠIMŮNEK J. *Mykotoxiny 2003*. [online] Dostupné z:

www.med.muni.cz/prelek/MYKOTW/mtobec.htm

ŠTOLC R. *Mykotoxiny: stále podceňované téma*. Zemědělec 48/2009, ISSN 1211-3816

VARGA J., KOCSUBÉ S., PÉTERI Z., VÁGVOLGYI C., TÓTH B. *Chemical, Physical and Biological Approaches to Prevent Ochratoxin Induced Toxicoses in Humans and Animals*. Toxins (Basel)., s.1718–1750, 2010

VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 495 s., 2003, ISBN 80-902896-6-5

WHITLOW L.M., HAGLER W.M.. *Mycotoxins in dairy cattle: occurrence, toxicity, preventiv and treatment*. North Carolina State University, 2005

ZEMAN L., a kol. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. Praha: Profi Press, 2006, 360 s. ISBN 80-86726-17-7

7 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: *Hlavní mykotoxiny v krmivech (OPLETAL, 2006 in SCHNEIDEROVÁ, 2008)*

Tabulka 2: *Směrnice FDA pro hladiny fumonisinu v krmivech pro zvířata*

Tabulka 3: *Technologické požadavky na píce sacharidovou, bílkovinnou a polobílkovinnou (DOLEŽAL, 2012)*

Tabulka 4: *Doba zrání konzervovaných krmiv (JAKOBE, 1987)*

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: *Tmavá oblast, kde se vyvíjí plísně.*

Obrázek 2: *Pokles pH v závislosti na formě biologického přípravku (PAHLOW, 2003 in RAJČÁKOVÁ a MLYNÁR, 2009).*

9 PŘÍLOHY



Obrázek 3: Dusání a přehrnování siláže (Zdroj: www.agroprogres-servis.cz)



Obrázek 4: Siláž v PE vaku



Obrázek 5: Odebíraná siláž ze silážního žlabu



Obrázek 6: Viditelné zaplesnivění odebírané siláže



Obrázek 7: Siláž odebíraná z PE vaku



Obrázek 8: Mléčné skvrny způsobené aflatoxiny (Zdroj: repository.up.ac.za/)



Obrázek 9: Ovariální cysty vznikají působením zearalenonu (Zdroj: www.parners-in-reproduction.com)