

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



In vitro stanovení stravitelnosti hrubého proteinu
u novošlechtěnců pšenice seté

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Tereza Anderlíková

Obor studia: Výživa zvířat a dietetika

Vedoucí práce: Ing. Vladimír Plachý, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "In vitro stanovení stravitelnosti hrubého proteinu u novošlechtěnců pšenice seté" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12.4.2019

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala zejména mému vedoucímu práce panu Ing. Vladimíru Plachému, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, užitečné rady a pomoc při zpracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat rodině a přátelům, kteří mě podporovali po celou dobu mého studia.

In vitro stanovení stravitelnosti hrubého proteinu u novošlechtěnců pšenice seté

Souhrn

Od počátku domestikace je kontrola výživy zvířat klíčová pro úspěch živočišné výroby a to jak z hlediska dobrých životních podmínek zvířat, tak z hlediska jejich produkce významného množství masa a vajec. Během procesu domestikace udělal člověk mnoho genetických změn výběrem zvířat pro různé rysy. Největší vliv mělo zlepšení poměru konverze krmiva. Toto zlepšení mělo dopad na jednotku hmotnosti produktu. To výrazně ovlivnilo výrobní náklady.

Krmivo je nejdůležitějším vstupem pro produkci drůbeže. Složení daného krmiva se může velmi lišit v závislosti na rozdílném klimatu, půdních podmínkách, zralosti, řídících a zpracovatelských faktorech.

Kvalita bílkovin je důležitá, protože zajišťuje správný růst a životaschopnost zvířat. Obsah bílkovin je jedním z hlavních faktorů, při výběru odrůd pšenice.

Cílem této práce bylo určení in vitro stravitelnosti proteinu zrna pšenice seté u vybraných linií pšenice seté.

Bylo zkoumáno deset odrůd pšenice seté: Sailor, KWS Ozon, Vanessa, Turandot, Fabius, Tobal, Annie, Artist, Gordian, Bonanza. Těchto deset odrůd bylo pěstováno ve třech lokalitách s vysokou i s nízkou intenzitou pěstování.

Dusíkaté látky byly stanoveny metodou podle Kjeldahla. Metoda zahrnovala tři procesy: navážení vzorků, mineralizace a analýza. Na základě získaných hodnot byla stanovena stravitelnost hrubého proteinu.

Průměrná stravitelnost u všech odrůd byla $59,48 \pm 1,535$ %. Nejnížší stravitelnost měla odrůda Tobak – $24,00 \pm 1,53$ %, konkrétně vzorek, který byl pěstován v lokalitě Vysoká s vysokou intenzitou pěstování. Nejvyšší hodnotu stravitelnosti měl vzorek Sailor – $92,68 \pm 1,535$ %, pěstovaný v lokalitě Vysoká s nízkou intenzitou pěstování.

Dále byly porovnány skupiny vzorků rozdělené podle lokality pěstování, odrůdy, intenzity pěstování a pekařské jakosti.

Z výsledků práce vyplývá, že je důležité vybírat odrůdy pšenice pro výrobu krmných směsí pro drůbež.

Klíčová slova: hrubý protein, stravitelnost, drůbež, pšenice

Determination of in vitro digestibility of crude protein by new lines of wheat

Summary

Since the beginning of domestication, animal nutrition control has been very important for the access of livestock production in term of animal welfare and in term of their production of significant amounts of meat and eggs. During the domestication process, man made many genetic changes by selecting animals for different features. Improved feed conversion rates have the biggest impact. This improvement had an impact on the unit weight of the product. This has significantly affected production costs.

Feed is the most important input for poultry production. The feed composition can be different depending on climate, soil, conditions, maturity, control and processing factors.

Protein quality is important because it ensures the proper growth and viability of the animals. Protein content is one of the main factors in choosing wheat varieties.

The aim of this work is to determine in vitro digestibility of wheat grain protein in selected lines of common wheat.

Ten varieties of wheat were examined: Sailor, KWS Ozon, Vanessa, Turandot, Fabius, Tobal, Annie, Artist, Gordian, Bonanza. These ten varieties were grown in three cultivation sites with high and low cultivation intensity.

Nitrogenous substances were determined by the Kjeldahl method. The method involved three processes: sample weighing, mineralization and analysis. Crude protein digestibility was determined based on the values obtained.

The average digestibility in all varieties was 59.48 ± 1.535 %. The lowest was in the Tobak variety – 24.00 ± 1.535 , specifically the sample that was grown in the location Vysoká with high cultivation intensity. The highest digestibility value was found in the Sailor variety – 92.69 ± 1.53 , with grown in the location Vysoká with low cultivation intensity.

Furthmore, groups of samples were classified according to the location of cultivation, variety, cultivation intensity and bakery quality.

The results show that it is important to select wheat varieties for the production feed for poultry.

Keywords: crude protein, digestibility, poultry, wheat

Obsah

1	Úvod.....	7
2	Cíl práce.....	8
3	Literární rešerše.....	9
3.1	Trávicí soustava u ptáků.....	9
3.2	Živiny.....	10
3.2.1	Voda.....	11
3.2.2	Dusíkaté látky.....	11
3.2.3	Bílkoviny.....	12
3.2.4	Aminokyseliny.....	12
3.2.5	Dusík.....	15
3.3	Chov drůbeže.....	15
3.4	Výživa drůbeže.....	16
3.4.1	Ekonomika výživy.....	17
3.4.2	Krmiva.....	17
3.4.3	Zpracování krmiv.....	19
3.4.4	Bílkoviny ve výživě drůbeže.....	20
3.4.5	Pšenice.....	21
3.5	Stanovení stravitelnosti proteinu.....	22
3.5.1	In vivo stravitelnost bílkovin.....	23
3.5.2	In vitro stravitelnost bílkovin.....	24
4	Materiál a metody.....	25
4.1	Použitý materiál.....	25
4.2	Metody stanovení dusíkatých látek.....	25
4.2.1	Navážení vzorků.....	25
4.2.2	Mineralizace vzorků.....	25
4.2.3	Analýza.....	26
4.3	Stravitelnost in vitro pepsinem a pankreatinem.....	26
4.3.1	Inkubace vzorků.....	26
4.3.2	Stanovení dusíkatých látek.....	27
4.4	Statistická analýza.....	27
5	Výsledky.....	28
6	Diskuse.....	34
7	Závěr.....	37
8	Seznam použité literatury.....	38

1 Úvod

Chov hospodářských zvířat je založen na pochopení jejich potřeb v přirozeném prostředí. Klíčem k úspěchu je znalost chování zvířat při krmení. Život v zajetí může být velmi odlišný od přirozeného prostředí a genetický výběr způsobil morfologické, fyziologické a behaviorální změny. Od počátku domestikace je kontrola výživy zvířat klíčová pro úspěch živočišné výroby a to jak z hlediska dobrých životních podmínek zvířat, tak jejich rychlosti produkce významného množství masa a vajec a také jejich schopnosti plodit více potomků. Všechny tyto cíle nemohou být úspěšně naplněny bez úplného pochopení živinových potřeb zvířat, které poskytují zdroj pro složité fyziologické požadavky (Bels 2006).

Produkce drůbežího masa a vajec je celosvětovým odvětvím, které poskytuje jednu třetinu potravy živočišného původu pro lidi na Zemi. Drůbež byla domestikována po tisíce let. Během procesu domestikace udělal člověk mnoho genetických změn výběrem zvířat pro různé rysy. Genetický pokrok, který nastal koncem padesátých let, se stal základem moderního drůbežářského průmyslu, který je hlavním zdrojem živočišných bílkovin ve většině zemí světa. Vývoj znalostí a technologií změnil dynamiku chovu drůbeže. Největší vliv mělo zlepšení poměru konverze krmiva. Toto zlepšení mělo dopad v důsledku zmenšení požadavků množství krmiva na jednotku hmotnosti produktu. To výrazně ovlivnilo výrobní náklady (Hocking 2009). Cena krmiv u nás z 58 % ovlivňuje náklady na výrobu vajec a ze 70 % na výrobu drůbežího masa (Zelenka 2014). Vývoj měl pozitivní vliv také na dopady živočišné produkce na životní prostředí. Jelikož vzniká méně odpadu, snižuje se dopad chovu drůbeže na životní prostředí (Hocking 2009).

Více než století křížení přineslo pozoruhodné zlepšení kvality pšenice, a to jak pro agronomické vlastnosti, tak pro kvalitu zrna. Pěstitelé se přesunuli od téměř slepého výběru k současnému použití selekce pomocí znalostí specifických genů nebo alespoň vhodných markerových genů. Rostoucí poptávka po vysoce kvalitních surovinách na bázi pšenice za různých environmentálních podmínek, stejně jako naléhavá potřeba snížit používání chemikálií v zemědělství, vedla ke vzniku řady potenciálních cílů vědci pro analýzu pšenice. Ty zahrnují různé aspekty komplexních mechanismů, jako je vývoj semen, tolerance stresu, živiny a využití (Ustunol 20014).

2 Cíl práce

Cílem této práce je určení in vitro stravitelnosti proteinu zrna pšenice seté u vybraných linií pšenice seté.

Hypotéza: In vitro stravitelnost je metoda, která pomůže při výběru vhodných novošlechtěnců pšenice pro krmivářské využití.

3 Literární rešerše

3.1 Trávicí soustava u ptáků

Jelikož ptáci nemají zuby, zpracovávají potravu zobákem (Reece 2011). Mají velmi málo chuťových pohárků, proto dochází k výběru krmiva zejména podle tvaru, velikosti, tvrdosti a barvy krmiva (Zelenka 2014). Vzhledem k tomu, že většina domácí drůbeže není schopna zmenšit velikost krmiva v první části trávicího traktu kvůli absenci zubů, musí jícnem projít poměrně velké částice. To se odráží v relativně velkém průměru jícnu u ptáků ve srovnání s jinými obratlovci (Bels 2006). Jícen se dělí na části před voletem a za voletem. Vole, které je vychlípeninou jícnu, má především skladovací funkci (Reece 2011). Z jícnu se potrava transportuje do žaludku (Bels 2006).

Morfologie žaludku je vysoce přizpůsobená potravní specializaci druhu. Všechny druhy domácí drůbeže patří mezi býložravce nebo granivory proto neexistují přílišné rozdíly v morfologii žaludku těchto druhů. Stěna žaludku se skládá ze čtyř vrstev: sliznice (tunica mucosa proventriculi), submukóza (tela submucosa), svalová vrstva (tunica muscularis) a serosa (tunica serosa). Sliznice produkuje hlen, který chrání epitel žaludku. Hluboké proventrikulární žlázy produkují žaludeční tekutiny (Bels 2006). Proximální část žaludku se nazývá žaludek žlázatý neboli proventriculus gastrin. Tato část je bohatě zásobována žlázami, které vylučují hlen, kyselinu chlorovodíkovou a pepsin. Kyselina chlorovodíková a pepsin hrají hlavní roli v trávení proteinu. Distální část neboli svalnatý žaludek (ventriculus gastrin) je určen zejména k drcení přijaté potravy. Svalnatý žaludek se skládá ze dvou párů protilehlých svalů. Tyto svaly jsou schopné vyvinout dostatečnou sílu k rozdrčení přijatých zrn (Van Der Kemme 2002). Gastrointestinální kontrakce napomáhají průchodu potravy gastrointestinálním traktem. Objem a hustota krmiva ovlivňují rychlost jakou potrava prochází trávicím traktem. Krmiva jako jsou uhlohydráty, které jsou obtížněji stravitelné, procházejí pomaleji než snadno stravitelné krmivo. Regulaci zajišťují hormony vylučované ze střeva a slinivky břišní a také nervy uvnitř střeva a vnější nervy z mozku a páteře (McNab & Boorman 2002). Frekvenci této svalové kontrakce ovlivňuje několik faktorů. Během dne, kdy se ptáci krmí, dochází k žaludečním stahům asi třikrát za minutu. Naopak v noci klesá frekvence až na méně než jednu za minutu a téměř na nulu u ptáků nalačno. Z toho vyplývá, že tma a půst snižují kontraktální aktivitu gastrointestinálního traktu. Tím dochází ke zpomalení průchodu krmiva trávicím traktem a ke zvýšení trávení (Van Der Kemme 2002). Mezi svalnatým a žlázatým žaludkem se nachází zona intermedia gastrin (Bels 2006).

Morfologie stěny střeva je téměř stejná po celé délce. Svalová vrstva se skládá z relativně tenké podélné vrstvy a širší kruhové vrstvy. Tloušťka svalové vrstvy se může měnit podle délky trávicího traktu. Tenké střevo je rozděleno do tří částí, které nejsou vždy jasně rozpoznatelné. Nazývají se duodenum, jejunum a ileum (Bels 2006). Dvanáctník je velice zřetelný, mezi lačníkem a kyčelníkem není patrná hranice. Slepá střeva mají ptáci dvě a jsou významná zejména pro trávení celulózy (Reece 2011). Konečník je poměrně krátký a nachází se na hřbetní stěně tělní dutiny (Bels 2006). Trávicí soustava je zakončena kloakou, což je společný vývod pro trávicí, močovou a pohlavní soustavu. Nejvýznamnější místo pro resorpci konečných produktů trávení je kraniální část lačníku. Při tepelném stresu může docházet ke snižování průtoku krve ve střevech, což může ovlivňovat trávení (Reece 2011).

Slinivka se stejně jako u všech obratlovců nachází v první střevní smyčce dvanáctníku. Trávicí enzymy jsou transportovány do duodena přes pankreatické kanály (Bels 2006).

Játra leží na ventrální části tělní dutiny. Hlavní funkcí jater ve vztahu k trávení je produkce žluči. Žluč je produkována hepatocyty jater a transportována žlučovými kanálky do žlučovodu, odkud je produkována do střev a žlučníku (Bels 2006). Všichni zástupci hrabavé a vodní drůbeže, jako jsou kur, krocan, kachna a husa, mají žlučník (Reece 2011).

Trávicí trakt drůbeže má více orgánů, ale je kratší než u některých domácích zvířat. U rychle rostoucích masných kuřat trvá méně než tři hodiny než se krmivo dostane po nakrmení z ústní dutiny do kloaky. Vysoce výkonní ptáci potřebují snadno stravitelné krmivo bohaté na živiny. Tím se kompenzuje jejich relativně krátký trávicí trakt a rychlý průchod krmiva trávicím traktem (Ravindan 2013).

3.2 Živiny

Živiny jsou chemicky definovatelné látky potřebné k výživě zvířat. Tyto látky nemusí být pro organismus nezbytné. Mohou to být také látky, které organismus nijak nevyužije, ale které mu také neškodí. Stravitelné živiny jsou ty, které neodešly z těla v podobě výkalů. Tyto látky jsou nezbytné pro živočišný organismus a zajišťují všechny životní procesy (Zeman et al. 2006).

3.2.1 Voda

Ptáci konzumují přibližně dvakrát více vody než krmiva na hmotnostní bázi, která zdůrazňuje význam této živiny. Vzhledem k tomu, že voda poskytuje transport rozpuštěných látek přes epiteliální membrány, je rozhodující v procesu absorpce živin a vylučování odpadních látek z těla.

Vodní tok v epitelu je silně ovlivněn obsahem rozpuštěné látky. Normy kvality pitné vody pro drůbež jsou spíše empirické. Byly extrapovány z doporučení pro člověka nebo hospodářská zvířata obecně nebo byly odvozeny z velmi starých publikací. Zvířata jsou mnohem citlivější na škodlivé účinky elektrolytů, pokud jsou přítomny v pitné vodě. Je to částečně proto, že spotřebovávají více vody než krmiva, ale především proto, že voda je prostředkem pro vylučování elektrolytů. Aby se tělo zbavilo nadbytku elektrolytů, zvyšuje objem moči a to je kompenzováno zvýšením spotřeby vody, což následně vrací zpět do normálu koncentraci rozpuštěné látky v extracelulární tekutině. Pokud má pitná voda vysokou hladinu rozpuštěných pevných látek, pak normální fyziologická homeostatická odezva zvyšujícího se příjmu vody je špatná. Zvyšuje se zatížení rozpuštěnou látkou.

Sůl je běžným kontaminátorem vody v mnoha částech světa. Většina druhů drůbeže je však poměrně tolerantní k pitné vodě s vysokým obsahem soli (Collett 2012).

3.2.2 Dusíkaté látky

Dusíkaté sloučeniny přítomné v obilovinách jsou v 85-90% obsaženy ve formě proteinu (Van Der Klis & Kemme 2002).

Zeman et al. (2006) uvádí následující rozdělení dusíkatých látek:

- Bílkoviny
 - Proteiny (složené převážně z aminokyselin)
 - Vlastní bílkoviny (albuminy, globuliny, fosfoproteiny, bílkoviny, prolaminy, gluteliny, proteiny, protaminy)
 - Podpůrné bílkoviny (keratiny, elastiny, kolageny)
 - Proteidy (obsahují kromě aminokyselin i nebílkovinné skupiny)
 - Nukleoproteidy
 - Chromoproteidy
 - Glykoproteidy
 - Lipoproteidy
- Nebílkovinné látky
 - volné aminokyseliny
 - amidy

- alkaloidy
- peptidy
- nukleové kyseliny
- glykosidy obsahující dusík
- purinové a pyrimidinové zásady
- amonné soli
- amoniak
- močovina
- dusičnany aj.

3.2.3 Bílkoviny

Bílkoviny jsou složité molekuly s velkou molekulovou hmotností (Van Der Klis & Kemme 2002). Jsou to polymery aminokyselin, které jsou kovalentně spojeny substituovanou amidovou vazbou neboli peptidickou vazbou (Ustunol 2014).

Hydrolyzou bílkovin vznikají aminokyseliny. Aminokyseliny jsou základními složkami stavebních bílkovin. Při tvorbě bílkovin dochází k vazbě mezi karboxylovou skupinou jedné aminokyseliny a aminoskupinou druhé aminokyseliny, zároveň dochází ke ztrátě jedné molekuly vody. Toto spojení se nazývá peptidická vazba. Každý jednotlivý protein se od ostatních liší aminokyselinovou sekvencí (primární strukturou) a způsobem jakým jsou aminokyseliny navzájem spojeny. V mnoha případech mohou specifické proteiny vykazovat unikátní sekundárně-terciální struktury, které poskytují fyzikálně-chemické vlastnosti. Tyto vlastnosti umožňují proteinům plnit specifické biologické funkce (Van Der Klis & Kemme 2002).

Pokud dojde ke spojení dvou aminokyselin, vznikne dipeptid. Oligopeptidy obsahují více než dvě a méně než deset aminokyselin, polypeptidy více než deset a méně než sto. Polypeptid obsahující více než sto aminokyselin se nazývá bílkovina (Reece 2011).

Nutriční kvalita bílkovin je spojena jak s jejich složením, tak s jejich stravitelností. Rychlost a rozsah stravitelnosti bílkovin a absorpce aminokyselinových složek je hlavním faktorem jejich kvality a využití (Ustunol 2014).

3.2.4 Aminokyseliny

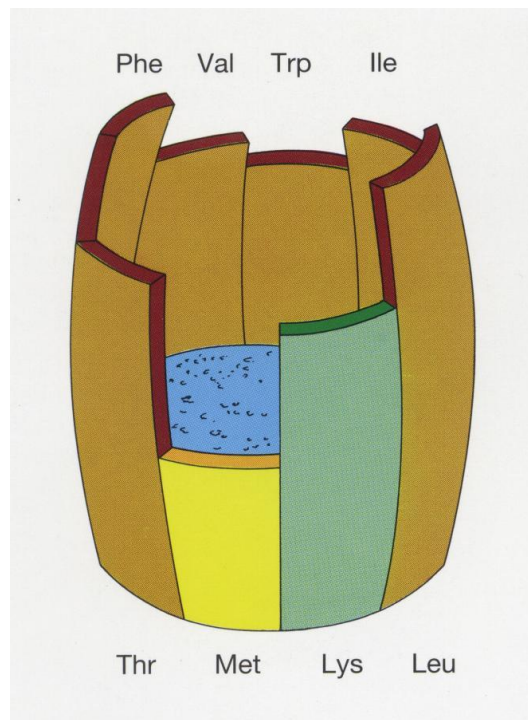
Aminokyselina sestává z vodíku (H), aminové skupiny (NH₂), karboxylové skupiny (COOH) a vedlejší skupiny (R), které jsou kovalentně vázány na centrální uhlík. Struktury aminokyselin se liší pouze strukturou jejich vedlejších skupin. Prolin je jedinou výjimkou

vzhledem ke své cyklické α -amino struktuře. Struktura a vlastnosti vedlejší skupiny určují do značné míry velikost, čistý náboj, rozpustnost, chemickou reaktivitu a schopnost vazby aminokyselin na vodík a výsledný protein. Zda bude aminokyselina nést náboj, určuje pH prostředí. Aminokyseliny jsou asymetrické a mohou existovat jako zrcadlové obrazy. Jedinou výjimkou je glycin, jelikož obsahuje pouze jeden vodík (Ustunol 2014).

I když bylo z biologických materiálů izolováno více než 200 aminokyselin, pouze přibližně 22 z nich se běžně vyskytuje v proteinech (Van Der Klis & Kemme 2002). Aminokyseliny mají několik důležitých funkcí v biologii, Jsou důležité pro syntézu peptidů a proteinů. Některé aminokyseliny jsou vyžadovány při syntéze široké škály malých molekul včetně alkaloidů, kreatinu nebo fosfokreatinu. Aminokyseliny také působí jako meziprodukty při likvidaci různých malých molekul. Například Arginin se podílí na různých reakčních sekvencích při odstraňování nežádoucího dusíku, jako je například močovina. Enzymovou dekarboxylací některých aminokyselin nebo hydroxylovaného derivátu vznikají důležité buněčné posly a hormony (Barrett & Elmore 1998). Díky ionizovatelným aminům mohou aminokyseliny působit jako kyseliny a zásady. Několik aminokyselin má také ionizovatelné postranní skupiny, což způsobuje, že vlastnosti proteinů obsahujících ty aminokyseliny jsou závislé na pH (Ustunol 2014).

Aminokyseliny se dělí na esenciální a neesenciální. Esenciální aminokyseliny nemůže organismus syntetizovat vůbec nebo dostatečně rychle, aby to vyhovovalo požadavkům na metabolismus. Esenciální aminokyseliny musí být dodávány v krmivu (National Research Council 1984). Drůbež musí mít k dispozici velké množství specifických esenciálních aminokyselin. Proto je stravitelnost hrubého proteinu a aminokyselin důležitým ukazatelem při hodnocení kvality krmiv (Witten et al. 2018). Mezi esenciální aminokyseliny drůbeže patří: lysin, metionin, fenylalanin, tryptofan, histidin, leucin, izoleucin, treonin, valin a arginin (Zeman et al. 2006). Neesenciální aminokyseliny může organismus syntetizovat z jiných aminokyselin. Přítomnost odpovídajícího množství neesenciálních aminokyselin ve stravě ovšem snižuje nutnost jejich syntetizace z esenciálních aminokyselin. Proto je vhodné, aby byly v krmné směsi poskytnuty všechny fyziologicky potřebné aminokyseliny (National Research Council 1984). Pro organismus drůbeže jsou neesenciální aminokyseliny glycin, prolin, cystein, alanin, serin, tyrozin, kyselina asparagová, kyselina glutamová, hydroxyprolin a citrulin (Zeman et al. 2006).

Obrázek č. 1 Liebigův zákon minima (Zelenka 2014).



Ačkoliv každá aminokyselina může být metabolizovatelná nezávisle na ostatních, existují vztahy mezi určitými aminokyselinami. V některých případech může být vztah přínosný. Například jedna aminokyselina může být konvertována na jinou, aby splnila metabolickou potřebu. V jiných případech může existovat metabolický antagonismus s nežádoucími následky (National Research Council 1984).

Existují také aminokyseliny, které jsou deriváty primárních aminokyselin. Odvozené aminokyseliny mají kovalentně nebo nekovalentně vázané skupiny. Proteiny, které obsahují odvozené aminokyseliny, se nazývají konjugované proteiny. Kovalentně vázané skupiny mohou zahrnovat fosfátové nebo sacharidové skupiny, jako v případě fosfoproteinů a glykoproteinů. Nekovalentní skupiny mohou zahrnovat lipidy nebo nukleové kyseliny jako lipoproteiny a nukleoproteiny. Konjugované proteiny se přirozeně nevyskytují, ale jsou získávány další chemickou nebo enzymatickou modifikací v buňce nebo v důsledku zpracování krmiv (Ustunol 20014).

Většina obilných zrn má nízký až nedostatečný obsah lysinu, tryptofanu, treoninu a methioninu (Van Der Klis & Kemme 2002).

3.2.5 Dusík

Dusík vyžadují zvířata ve významném množství. Většina spotřebovaného dusíku je vylučována stolicí a močí. U drůbeže je to asi 65 – 75%. Ztráta dusíku je způsobena především obratem proteinů související s metabolismem svalů a katabolismem aminokyselin. Existují dva způsoby jak zabránit ztrátám dusíku. Prvním je snaha vyrábět krmivo, které obsahuje aminokyseliny nejvíce odpovídající požadavkům zvířat. Druhým je přidávání doplňkových látek, jako jsou enzymy, probiotika a organické kyseliny, aby se zlepšilo využití dusíku zvířaty (Lin et al. 2017).

3.3 Chov drůbeže

Termín „drůbež“ zahrnuje řadu domácích druhů včetně kuřat, krůt, kachen, hus, křepelek, bažantů a také běžce. Na celém světě narůstala produkce drůbežního masa konzistentně a očekává se, že tento trend bude pokračovat. S tím jak v rozvojových zemích dochází k hospodářskému růstu, urbanizaci a zvyšování příjmu domácností, se zvyšuje i poptávka po živočišných bílkovinách. Mezi faktory, které přispěly k růstu světové produkce drůbeže, patří genetický pokrok, lepší porozumění základům výživy a kontrola onemocnění. Například věk kuřat chovaných na maso, při kterém dosáhnou tržní hmotnosti 2 kg, stále klesá od 63 dnů v roce 1976 do 35 dnů v roce 2009 a efektivnost konverze krmiva se stále zlepšuje (Ravindran 2013).

Historicky se odvětví chovu drůbeže vyvinulo ve třech fázích. První fáze zahrnovala tradiční systémy, mezi které patří i dnešní domácí drůbež chovaná malochovateli. Poté následovaly malé komerční systémy a nakonec rozsáhlé komerční systémy. Každý tento systém je založen na jedinečné technologii. Výrazně se liší v investicích, typu chované drůbeže a úrovni chovu. Ve většině rozvojových zemí světa je tradiční systém nejběžnějším druhem produkce drůbeže. Možnými zdroji krmiva pro drůbež chovanou v tomto systému jsou: domácí odpad, materiály životního prostředí (hmyz, červy, šneci, zeleň, semena), zbytky plodin, krmiv a vodních rostlin a vedlejší produkty z místních malých průmyslových celků. Tento systém funguje dobře, pokud je v dané oblasti dobrá biomasa. V oblastech s omezenými přírodními zdroji a nízkými srážkami, může být extrémní konkurence s jinými zvířaty. Mezi tradičním a komerčním produkčním systémem je poloobchodní systém, který je charakterizován malými až středně velkými hejny (50 až 500 ptáků). Alespoň část krmiva těchto ptáků je zajištěna od komerčních výrobců. V tomto systému mohou být použity tyto

strategie krmení: míchání kompletních dávek za použití zakoupeného a místně dostupného krmiva, ředění zakoupených komerčních krmiv místními přísadami a míchání zakoupené koncentrované směsi s místními ingrediencemi nebo celými zrny. Dominantní je rozsáhlý komerční systém v rozvinutých zemích. Komerční systémy jsou charakterizované velkými vertikálně integrovanými výrobními jednotkami a používáním vysoce produkčních moderních druhů ptáků. V těchto systémech je nejdůležitější složkou krmivo, které tvoří 65 – 70 % výrobních nákladů. Vysoká produktivita a účinnost závisí na krmivech, které jsou živinově vyvážené, aby splňovaly požadavky na výživu drůbeže (Zeman 2006; Ravindran 2013; Zelenka 2014).

3.4 Výživa drůbeže

Ve volné přírodě si ptáci mohou vybírat mezi širokou škálou krmiv, která jsou vhodná k uspokojení jejich živinových potřeb. U drůbeže v zajetí je pouze na člověka, aby jim tyto potřebné živiny poskytl (Rose & Kyriazakis 1991). Všechny druhy komerčně chované drůbeže jsou dnes chovány mnohem efektivněji než před lety (Van Der Klis & Kemme 2002). Kuřata tvoří více než 90 % trhu s drůbeží. Zásady řízení výživy kuřat jsou však obecně použitelné i pro výživu ostatních druhů drůbeže chované na maso a vejce (Ravindran 2013). V Evropě, stejně jako v mnoha dalších místech na Zemi, jsou postupně zaváděny sofistikované výrobní systémy, které jsou schopné přísně kontrolovat životní prostředí a také výskyt infekčních chorob. Díky tomu dochází k menším ztrátám z důvodu nákazy a predace. Drůbež nyní také využívá mnohem méně energie k pohybu a regulaci teploty. Dramatický nárůst objemu a efektivnost produkce drůbeže je však způsoben zejména aplikací věd o genetice a výživě. Zavedení selektivních programů má velký podíl na tomto pokroku. I přesto, že tempo pokroku může být v průběhu dalších let pomalejší, je pravděpodobné, že genetické změny budou i nadále zvyšovat výkonnost a efektivitu produkce. Také výživa hraje důležitou roli v rozvoji chovu drůbeže jako efektivní konvertor rostlinných materiálů do vysoce kvalitní živočišné bílkoviny (Van Der Klis & Kemme 2002).

Míra genetické změny růstu a účinnosti krmiv v průběhu let také změnila fyziologii ptáků. Nutriční požadavky a nutriční management se proto změnil, aby uspokojily genetický potenciál současných kmenů drůbeže řádně formulovanými krmivy, které mají vysoký obsah proteinu a energie. Drůbež, zejména rostoucí ptáci, je jedinečná v tom, že jakákoliv změna ve výživě se téměř okamžitě odráží ve výkonu ptáků (Ravindran 2013).

3.4.1 Ekonomika výživy

Krmivo představuje hlavní náklady na produkci drůbežního masa. Zahrnuje asi 55 až 65 procent hlavních nákladů v závislosti na typu produkce. Tyto náklady se pravidelně zvyšují. Tento trend bude pravděpodobně pokračovat, protože pro uspokojení potřeb stoupající lidské populace bude nutné zvýšit rostlinnou výrobu jak pro živočišnou tak pro lidskou spotřebu (Tran et al. 2014).

V souvislosti s náklady je dostupnost nízkorozpočtových, vysoce kvalitních krmiv rozhodující. Nízké náklady zajistí konkurenceschopnost a další růst produkce, která dokáže splnit požadavky poptávky po živočišných bílkovinách (Ravindran 2013). Ekonomická životaschopnost produkce drůbeže závisí na získávání vysoce kvalitních krmných složek, znalosti o složení aminokyselin a výrobě krmiv, která splňují nároky na udržování životaschopnosti a produkčních funkcí ptáků. Mezinárodní standardizace aminokyselin v krmivových složkách vedla k přesnějším dietním stanovením, která uspokojují potřeby ptáků. Výběrové šlechtění primárních mateřských populací má za následek konzistentní roční produktivní vylepšení. A ve spojení se změnami hospodářských cílů chovu drůbeže ročně vyhodnocuje potřebu aminokyselin nezbytnou pro život ptáka. Ale většina společností a univerzit je ve výzkumných zařízeních omezena na brojlerů a krůty a limitována v produkci vajec. Je důležité, aby všechna zařízení pokračovala v posuzování potřeb aminokyselin. Vliv podávání minimálního množství aminokyselin oproti nadměrnému by neměl být podceňován. Jelikož nadměrné podávání aminokyselin vede ke zvýšené exkreci dusíku a environmentální prostředí a optimalizace výrobních funkcí by měly být zahrnuty v ekonomických úvahách (Kidd & Tillman 2016).

3.4.2 Krmiva

Krmivo je nejdůležitějším vstupem pro produkci drůbeže (Ravindran 2013). Více než 2000 různých krmných produktů bylo do určité míry charakterizováno jako krmivo pro zvířata. Složení daného krmiva se může velmi lišit v závislosti na rozdílném klimatu, půdních podmínkách, zralosti, řídicích a zpracovatelských faktorech (Van Der Klis & Kemme 2002).

Je prakticky nemožné kvantifikovat veškeré použití krmiv pro zvířata na celém světě. V první řadě dochází k významnému podílu krmení hospodářských zvířat mimo rámec formální ekonomiky v neobchodovatelném sektoru. Data nejsou do určité míry snadno dostupná ani pro krmiva vyráběná na průmyslovém základě (McNab & Boorman 2002).

V České republice jsou krmné směsi vyráběny podle podmínek stanovených Zákonem

č. 91/1996 Sb., o krmivech a Vyhlášky Ministerstva zemědělství ČR 356/2008 Sb. (Zelenka 2014). Drůbeží krmné směsi jsou složeny převážně ze směsí několika krmiv. Patří mezi ně například zrna obilovin, sójová moučka, vedlejší produkty živočišného původu, tuky a premixy vitamínů a minerálů. Tato krmiva společně s vodou dodávají organismu energii nezbytnou pro růst, reprodukci a zdraví zvířat. Energie potřebná pro správný metabolismus a pro výrobu masa a vajec je poskytována živinovými složkami: sacharidy, tuky a bílkovinami. Výživa drůbeže může zahrnovat i některé složky, které nejsou klasifikovány jako živiny, například xantofyly (National Research Council 1984).

Běžné složky používané v krmných směsích pro drůbež (Ravindran 2013):

Zdroje energie

- obiloviny (zejména kuřice a pšenice), vedlejší produkty obilovin
- živočišné tuky a rostlinné oleje

Zdroje rostlinných bílkovin

- sójové moučky

Zdroje živočišných bílkovin

- rybí moučka
- moučka z masa a kostí

Minerální doplňky

- doplňky vápníku: vápenec, drcené mušle
- doplňky vápníku a fosforu: hydrogenfosofrečnan vápenatý, defluorovaný posfát, kostní moučka
- stopové minerály: stopové minerální premixy
- zdroje sodíku: sůl, hydrogenuhličitan sodný

Ostatní

- vitaminové doplňky: vitaminové premixy
- krystalické aminokyseliny: metionin, lysin, tronin
- nutriční doplňkové látky: enzymy

Důležitou složkou ve výživě drůbeže je také grit. Vápenatý grit se přidává zejména do směsi pro nosnice, jelikož slouží jako dobrý zdroj vápníku. Pro ostatní drůbež není příliš vhodný, jelikož může dojít k příjmu nadměrných dávek vápníku, což může způsobovat různé zdravotní problémy. Grit není důležitý ani tak pro trávení zrnin, ale spíše pro trávení jiných tvrdých částic, které zvíře potře, jako je například peří nebo částice z podestýlky. Brojlerům je proto podáván nerozpustný grit v podobě drobných křeménků nebo drcené žuly (Zelenka 2014).

3.4.3 Zpracování krmiv

Většina krmiv dnes podstupuje nějakou formu zpracování, mezi které patří extruze, expanze, kondicionování a peletování. Většina krmiv používaných pro kuřata je krmena v podobě pelet nebo v rozpadlé formě, což zvyšuje ekonomiku výroby a zlepšuje účinnost krmiv a růst. Tato zlepšení jsou dána snížením plývání krmivem, vyšší hustotou živin, snížením selektivního krmení a zkrácením času a energie strávené stravováním. Dochází také k ničení patogenních organismů a modifikaci škrobu a proteinu (Ravindran 2013).

Příjem krmiva ovlivňují četné faktory. Patří mezi ně strava, management a samotné zvíře. Strava může ovlivňovat příjem krmiva svou formou, živinovou hustotou a antinutričními látkami. Managementem rozumíme hustotu osazení, teplotu, osvětlení, stres a zásobování vodou. Zvíře jako takové má vliv na příjem krmiva díky svému genotypu, pohlaví, věku a kapacitě trávicího traktu. Zpracování krmiv je běžnou praxí ve výrobě krmiv na celém světě. Cílem je zvýšit hodnoty krmiva před jeho požitím. Nicméně je věnována pozornost vlivu zpracování krmiva na příjem krmiva zvířaty. Spíše než široké spektrum faktorů ovlivňujících příjem krmiva se v současnosti zkoumají dopady zpracování krmiva, jako je velikost částic nebo celozrnné krmení. Během výrobního procesu se většina krmných složek, zejména obilných zrn rozele před smícháním a vytvořením směsi. Mletí snižuje velikost částic a upravuje fyzikální charakteristiky ingrediencí, aby se zvýšila jejich schopnost se smíchat a vytvořit homogenní směs krmiv, což usnadňuje problémy se segregací a peletami. V posledních dvou desetiletích je stále více uznávána významnost velikosti částic ve výživě drůbeže (Abdollahi et al. 2018). Většina studií zkoumajících vliv velikostí částic se soustřeďuje na růstový výkon a konverzi krmiv (Moss et al. 2017).

Ptáci dokážou rozlišit rozdíly ve velikosti částic krmiva pomocí mechanoreceptorů umístěných v zobáku. Schopnost mladých kuřat brojlerů rozlišovat i menší rozdíly ve velikosti částic krmiva byla pozorována už ve čtyřech dnech věku. Ptáci vybírají částice krmiva podle velikosti zobáku a ústní dutiny, což znamená, že s věkem se zvyšuje velikost

přijímané potravy. Je proto nutné při krmení zohledňovat druh použitého krmiva a věk ptáků. Je však důležité zdůraznit, že tvar, jednotnost a velikost nejsou jediné charakteristiky, které ovlivňují příjem krmiva ptáky. Například rovnoměrnější částice mohou mít příznivý vliv na růst a výkon díky snížení času a případné energie vynaložené na vyhledávání a výběr částic požadované velikosti (Abdollahi et al. 2018).

Krmení celých zrn se ve výživě drůbeže používá v celosvětovém měřítku. Primární motivace pro krmení celých zrn je snížení nákladů, které jsou spojeny s manipulací a zpracováním krmiv. Navíc má krmení celých zrn příznivý účinek na střevní mikroflóru a prevenci kokcidiózy. Jelikož se výsledky studií v mnoha směrech rozcházejí nelze dělat konečné závěry o dopadu krmení celých zrn na růst drůbeže. Je to způsobeno zejména rozdílnou experimentální metodikou a dalšími faktory. Studie se například rozcházejí ve strategii krmení, délce krmení a věku ptáků (Amerah et al. 2008; Singh et al. 2014; Moss et al. 2017). Věk ptáků je kritický zejména z hlediska reakcí zvířat na tuto krmnou strategii. Velikost a tvrdost pšeničného jádra jsou fyzikálními omezeními pro nově vylíhnutá kuřata. To může vést k potížím s polykáním a významnému snížení hmotnostního přírůstku. Rovněž je nutno věnovat pozornost makrostrukturálním charakteristikám pelet, jako jsou trvanlivost, tvrdost, délka a průměr (Abdollahi et al. 2018).

3.4.4 Bílkoviny ve výživě drůbeže

Požadavky zvířat na bílkoviny se liší s jejich fyziologickým stavem a růstovým potenciálem (Lin et al. 2017). Bels (2006) uvádí, že protein je vyžadován v koncentracích mezi 120 – 130 g/kg suché potravy v závislosti na fyziologickém stavu. Kvalita bílkovin je také důležitá, protože ovlivňuje růst zvířat a může mít vliv na zdraví ptáků (Bryan et al. 2018). Kvalita bílkovin v drůbežím krmivu je definována nejen stravitelností aminokyselin, ale také jejich poměrem (Bryan et al. 2019).

Jejich obsah ovšem neodpovídá dostupnosti aminokyselin. V mnoha rostlinných krmivech existuje nepřeberné množství antinutričních faktorů, které mohou ovlivnit dostupnost aminokyselin nebo štěpení bílkovin (Van Der Klis & Kemme 2002). Parson (1996) uvádí, že je potřeba rozeznávat rozdíl mezi stravitelnými aminokyselinami a dostupnými aminokyselinami. Výsledky jeho studie naznačují nesrovnalosti mezi stravitelnými a dostupnými aminokyselinami, zejména u tepelně zpracovaných látek. Zvláště přehřátí je jednou z hlavních příčin snížení dostupnosti aminokyselin ve složkách krmiva. Nejvíce postiženou aminokyselinou je obvykle lysin. Komerční odborníci na výživu bohužel

nejdou schopni dostatečně rychle detekovat šarže složek, které mají sníženou dostupnost aminokyselin v důsledku přehřátí.

Požadavky na bílkoviny a aminokyseliny se značně liší podle produktivního stavu ptáků. Například kuřata brojlerů mají vysoké nároky na aminokyseliny, protože mají potřebu rychlého růstu. Oproti tomu dospělí kohout má nižší nároky na aminokyseliny ačkoliv má větší tělesnou hmotnost a podobnou potřebu krmiva. Velikost těla, rychlost růstu a produkce vajec u drůbeže je určena jejich genetikou. Požadavky na aminokyseliny se proto také liší podle druhu a plemene. Je to dáno rozdílem v činnosti trávení, absorpci živin a metabolismu absorbovaných živin (National Research Council 1984).

Vznik intenzivních systémů živočišné produkce s sebou nese mnoho problémů týkajících se životního prostředí v důsledku produkce odpadu. Například vysoká koncentrace prvků jako je dusík v hnoji, může vést k jejich hromadění v půdě. Tyto koncentrace pak převyšují požadavky plodin. Nadbytečné prvky se mohou znečištěnou půdou dostat až do podzemních zásob vody. Obsah dusičnanů ve vodě je považován za hlavní problém v oblasti znečištění prostředí farmami hospodářských zvířat. Jak již bylo řečeno, hlavním zdrojem je hnůj. V posledních letech jsou zkoumány způsoby, jak snížit environmentální dopad z produkce drůbeže a jiných hospodářských zvířat. Nutriční přístupy závisí na přesném odhadu nutných požadavků na výživu zvířat. Cílem je vylučování co nejmenšího množství dusíku zvířaty. Vylučování dusíku může být sníženo přesným krmením zvířat podle jejich požadavků na bílkoviny. Obvykle jsou hladiny hrubého proteinu vyšší, než zvířata skutečně vyžadují (Lin et al. 2017).

3.4.5 Pšenice

Obecně je ve výživě hodnota obilovin definována z hlediska stravitelnosti a chemického složení (Nicol et al. 1993). Pšenice je jedním z nejstarších obilných zrn pěstovaných člověkem. Dnes se pěstuje téměř na všech kontinentech (Ustunol 2014). Na rozdíl od kukuřice je celosvětová produkce pšenice rozšířena v řadě zemí světa. Mezi převažující státy však patří státy Evropské unie, Čína, Indie a USA (Gansworthy et al. 2013).

Pšenice je pěstována jak pro výrobu potravin pro lidi, tak pro výrobu krmiv pro zvířata. Několik složek pšenice, jako jsou proteiny, neškrobové polysacharidy a dostupný fosfor, jsou důležitými faktory pro její využití v chovu zvířat (Oury et al. 1998). V mnoha zemích je používána jako hlavní zdroj energie (Van Der Klis & Kemme 2002). Rostou však obavy ze strany zpracovatelů krmiv, jelikož některé odrůdy mají nízkou energetickou hodnotu

(Nicol et al. 1993). Její nutriční hodnota může být velmi variabilní, přičemž uváděné hodnoty se pohybují od 10,4 do 15,9 MJ/kg. Uvedená variace je způsobena mnoha faktory, které souvisejí s genetikou a pěstitelskými podmínkami. Ty ovlivňují chemické složení a fyzikální vlastnosti (Van Der Klis & Kemme 2002).

Obsah bílkovin je již dlouho jedním z atributů, které jsou brány v úvahu při výběrových programech nebo jako exportní kritérium. Ideální kombinací je vysoký obsah bílkovin, dobrá rovnováha aminokyselin a s tím související vysoký podíl esenciálních aminokyselin (Oury et al. 1998). Ze všech obilných zrnin je pšenice nejrozmanitější v obsahu proteinu a aminokyselin, které jsou podobně jako u kukuřice a čiroku ovlivněny genetickými a environmentálními faktory (Van Der Klis & Kemme 2002). Obsah aminokyselin v celém obilném zrně je do značné míry determinován škrobovitými endospermy, které typicky obsahují asi 80 % suché hmotnosti zrna (Ustunol 2014). Většina běžně pěstovaných odrůd byla vyvinuta s ohledem na kvalitu mletí mouky. I když některé programy byly zaměřené na vývoj odrůd s lepší nutriční hodnotou pro hospodářská zvířata.

Pšenici lze klasifikovat na zimní nebo jarní odrůdy, bílé nebo červené a tvrdé nebo měkké. Často dochází k nejasnostem ohledně konkrétního typu pšenice. Většina zimních pšenic je bílá a měkká, zatímco jarní pšenice jsou červené a tvrdé. Pokroky ve šlechtění rostlin umožnily větší variabilitu. Obecně obsahují tvrdé pšenice více proteinu (Van Der Klis & Kemme 2002).

3.5 Stanovení stravitelnosti proteinu

Stravitelnost je termín, který je spojený s biologickou dostupností a někdy se s tímto termínem používá synonymně. Stravitelnost proteinu je klasicky definována jako rozdíl mezi množstvím spotřebovaného proteinu a množstvím proteinu, který je vyloučen stolicí, děleno spotřebovaným množstvím proteinu. Nicméně metody na stanovení stravitelnosti měří pouze trávení a absorpci, ale nezaměřují se na využití aminokyselin. Stravitelnost tedy není vždy synonymem biologické dostupnosti (Van Der Klis & Kemme 2002).

Přesné stanovení stravitelnosti proteinu v krmivových složkách je základním kamenem pro odhad požadavků krmiv pro zvířata. U drůbeže bylo prokázáno, že tenké střevo je hlavní místo pro transport aminokyselin, protože čistá absorpce aminokyselin v tlustém střevě je zanedbatelná a mikrobiální aktivita může modifikovat profil aminokyselin (Adeola et al. 2016). Je dobře známo, že množství stravitelných aminokyselin je podstatně nižší než celkové množství obsažené v krmivech. Zájem o dostupnost nebo stravitelnost aminokyselin

se v minulosti výrazně zvýšil. To bylo způsobeno vývojem rychlejších testů nebo zlepšením stávajících testů, které umožnily další výzkum stravitelnosti aminokyselin (Parson 1996).

Biologickou dostupnost aminokyselin v krmivech může ovlivnit mnoho faktorů. Mezi ty nejběžnější patří podmínky zpracování, přítomnost antinutričních sloučenin, fyzikální vlastnosti a chemické složení proteinu a vlákniny. Z praktického hlediska jsou účinky zpracování pravděpodobně nejdůležitější, protože většina složek používaných ve výživě drůbeže je tepelně zpracovávána. Nedostatečné nebo nadměrné zpracování může snížit biologickou dostupnost aminokyselin (Van Der Klis & Kemme 2002).

3.5.1 In vivo stravitelnost bílkovin

In vivo stanovení kvality proteinu se provádí krmením určité suroviny zvířatům a následným posuzováním toho, do jaké míry jsou živiny absorbovány střevem. (Bryan et al. 2018). In vivo stravitelnost bílkovin není dobře prostudovaná a to z mnoha důvodů. Hodnocení proteinu in vivo u drůbeže má určitá omezení kvůli malé velikosti trávicího traktu ptáků. To ztěžuje opakované odebírání vzorků a sběr dat. Kromě toho jsou techniky in vivo náročné na zdroje. Ptáci jsou usmrcováni kvůli získávání vzorků a potřebují čas na růst a vývoj. Dosažení schválení zvířete do péče může být také obtížné, pokud experimentální protokol obsahuje invazivní metody (Bryan et al. 2019).

Existuje několik metod stanovení proteinu in vivo. Mezi ně patří například růstový test, který měří schopnost proteinu nebo krmiva nahradit specifický protein nebo chybějící aminokyselinu. Specifické postupy používané při růstových testech se značně liší mezi laboratořemi. Někteří vyšetřovatelé používají spíše prázdný přírůstek hmotnosti, poměr dusíku nebo aminokyselin jako parametr odezvy než přírůstek tělesné hmotnosti. Pokud není příjem krmiva řízen, je lepší použít příjem aminokyselin jako nezávisle proměnnou v regresích, protože zvířata reagují na množství spotřebovaných aminokyselin, nikoliv na jejich koncentraci ve stravě. Dvě ze základních nevýhod testů růstu jsou čas a náklady. Kromě toho jsou hodnoty biologické dostupnosti získané v růstových testech často variabilní a nepřesné.

Ileální stravitelnost lze zjistit kanylou vloženou do ilea nebo usmrcením ptáků a odstraněním obsahu ilea. Užitečnost kanylace ilea je omezena požadovanou chirurgickou odborností a rizikem odmítnutí kanyly. Stále se však častěji používá metoda s usmrcováním ptáků. Tento test je upřednostňován před metodou stanovení přesným krmením pro hodnocení enzymů. Hlavní omezení ileálního testu jsou čas a náklady. Tento test navíc není vhodný pro stanovení hodnot stravitelnosti pro jednotlivé krmné složky (Van Der Klis & Kemme 2002).

3.5.2 In vitro stravitelnost bílkovin

Z důvodu času a nákladů spojených s prováděním in vivo testů na odhad stravitelnosti, byly vyvinuty o něco úspěšnější in vitro postupy. Tyto chemické metody jsou méně náročné. In vitro testy stravitelnosti bílkovin, které jsou v současnosti k dispozici, nebyly vyvinuty pro shromažďování údajů o rychlosti trávení. V minulosti byl navržen model in vitro na trávení u drůbeže, který odhaduje stravitelnost a kinetiku štěpení bílkovin. In vitro stanovení proteinu slouží jako nástroj pro rychlé a ekonomické hodnocení stravitelnosti. Získaná data mohou být použita ke stanovení metabolických a fyziologických reakcí drůbeže a při určování parametrů jednotlivých složek krmiva (Bryan et al. 2019). Kinetika degradace a biologická dostupnost bílkovin jsou důležitými faktory, které mohou maximalizovat výnos v produkci drůbeže (Bryan et al. 2018).

4 Materiál a metody

4.1 Použitý materiál

V naší analýze bylo použito těchto deset odrůz pšenice seté: Sailor, KWS Ozon, Vanessa, Turandot, Fabius, Tobal, Annie, Artist, Gordian, Bonanza. Těchto deset odrůd bylo pěstováno ve třech lokalitách: Jaroměřice nad Rokytnou, Čáslav a Vysoká. V těchto lokalitách byly všechny pěstovány s vysokou i s nízkou intenzitou. Celkem bylo tedy zkoumáno šedesát vzorků pšenic. Každý vzorek byl analyzován minimálně dvakrát.

4.2 Metody stanovení dusíkatých látek

Dusíkaté látky byly stanoveny metodou podle Kjeldahla na přístroji Kjeltec 2400. Metoda zahrnovala tři procesy: navážení vzorků, mineralizace, analýza.

4.2.1 Navážení vzorků

Vzorky byly váženy s použitím následujících pomůcek: analytická váha s přesností na 0,0001g, navažovací lodička, navažovací lžička, štětec, mineralizační tuba s obsahem 250 ml.

4.2.1.1 Postup vážení

Po vložení navažovací lodičky, byla váha vynulována a bylo naváženo cca 0,5 g vzorku. Hodnota hmotnosti vzorku se zapsala a vzorek byl vložen do mineralizační tuby. Štětečkem byl z lodičky vymeten všechen materiál a byla opět vložena na váhu.

$$\text{Hmotnost vzorku} = \text{prázdná lodička} + \text{navážka} - \text{lodička po vložení vzorku do tuby}$$

4.2.2 Mineralizace vzorků

Vzorky byly mineralizovány s použitím mineralizační tablety Kjeltabs, 96% kyseliny sírové, peroxidu vodíku (33%), mineralizačního bloku, exhaustoru a odtahované digestoře.

K naváženému vzorku v tubě byla pinzetou přidána jedna mineralizační tableta a 10 ml kyseliny sírové z dávkovače. Byl zapnut odtah a odsávání par. Do každé tuby bylo přidáno

dvakrát 5 ml peroxidu vodíku. Na stojan bylo vloženo odsávání par, obsah byl zamíchán a po skončení pění obsahu byl stojan vložen do mineralizačního bloku.

Doba mineralizace byla při 420° C 45 minut. Pokud by byla teplota 400° C byla by doba mineralizace 60 minut. Po uplynutí stanovené doby se stojan vyndal a nechal vychladnout.

Po vychladnutí mineralizačních tub bylo přidáno dvakrát 5 ml destilované vody a obsah byl promíchán.

4.2.3 Analýza

4.2.3.1 Vlastní analýza

Do přístroje byly zadány hodnoty hmotnosti vzorku. Byla zvolena hodnota, ve které se mají zobrazovat výsledky (% NL). Do přístroje byla vložena tuba a spuštěním dvířek, byla zahájen analýza. Výměna tuby za novou se prováděla až poté, co se na displeji objevilo „READY“.

Po skončení práce na přístroji se do tuby napustila destilovaná voda na cca 1/3 objemu, pustila se pára a minimálně dvakrát se propláchl.

4.3 Stravitelnost in vitro pepsinem a pankreatinem

4.3.1 Inkubace vzorků

4.3.1.1 Chemikálie

0,075 M HCl na 1 litr destilované vody 6,7 ml 35% HCl

Pepsin 228 g

0,1 M NaOH na 1 litr destilované vody 4,03 g NaO

0,2 N = 0,67 M TRIS (trisdyroxymetylaminoetan) na 1 l roztoku 81,16 g TRIS

Pankreatin do 0,1 M NaOH přidáno 2,67 mg na ml roztoku

4.3.1.2 Inkubace

Bylo naváženo 0,5 g vzorku. Ke každému vzorku byl přidán 1 ml roztoku. Vzorky byly inkubovány 4 hodiny při teplotě 37° C. Poté bylo přidáváno 0,1 N NaOH, dokud nebylo

dosaženo pH 6,9. Jako pufr byly přidány 2 ml TRIS. Vzorky byly inkubovány další 3 – 4 hodiny při teplotě 37°C.

4.3.1.3 Centrifugace

Vzorky byly centrifugovány 13 minut při 4500 otáčkách. Pro stanovení dusíkatých látek byl použit supernatant.

4.3.2 Stanovení dusíkatých látek

Obsah dusíkatých látek byl opět stanoven metodou Kjedahla na přístroji Kjeltec 2400.

4.3.2.1 Příprava vzorků

Po odlití supernatantu byl obsah doplněn destilovanou vodou do objemu 15 ml a promíchán. Poté byl 1 ml odpipetován do mineralizační baňky. Vzorky byly mineralizovány stejným způsobem jako při předchozí analýze.

4.3.2.2 Analýza vzorků

Do přístroje byla zadána hodnota objemu vzorku, ze kterého se obsah dusíku stanovuje (15 ml). Výsledné hodnoty byly stanoveny v mg NL/ml.

4.4 Statistická analýza

Statistická analýza byla provedena pomocí analýzy rozptylu, Tuckeyho HSD testem v programu Statistica (Statsoft).

5 Výsledky

Veškeré hodnoty stravitelnosti škrobu jsou uváděny v procentech.

Tabulka č. 1: Přehled zkratk názvů použitých odrůd pšenice

Odrůda	Zkratka
Sailor	S
KWS Ozon	O
Vanessa	V
Turandot	T
Fabius	F
Tobak	TO
Annie	AN
Artist	AR
Gordian	G
Bonanza	B

Tabulka č. 2: Přehled stravitelnosti dusíkatých látek u vzorků pěstovaných v lokalitě Jaroměřice nad Rokytou

Odrůda	Pekařská jakost	Intenzita pěstování	
		Nízká	Vysoká
Odrůda	Pekařská jakost	KS NL in vitro	KS NL in vitro
S	A	53,4914	74,6390
O	C	72,9829	51,6581
V	C	59,8040	70,2521
T	A	59,2930	44,1409
F	E	55,3082	66,7754
TO	B	71,2368	61,7196
AN	E	64,1603	51,2477
AR	B	64,2068	53,2917
G	B	62,5245	63,5671
B	C	62,6429	61,0267

KS NL = koeficient stravitelnosti dusíkatých látek

Tabulka č. 3: Přehled stravitelnosti dusíkatých látek u vzorků pěstovaných v lokalitě
Čáslav

Odrůda	Pekařská jakost	Intenzita pěstování	
		Nízká KS NL in vitro	Vysoká KS NL in vitro
S	A	70,38	56,03
O	C	66,26	53,39
V	C	71,40	57,68
T	A	66,23	58,82
F	E	57,70	24,00
TO	B	69,60	61,90
AN	E	54,60	49,11
AR	B	61,01	57,83
G	B	54,70	58,45
B	C	62,40	67,71

Tabulka č. 4: Přehled stravitelnosti dusíkatých látek u vzorků pěstovaných v lokalitě
Vysoká

Odrůda	Pekařská jakost	Intenzita pěstování	
		Nízká KS NL in vitro	Vysoká KS NL in vitro
S	A	38,05	92,68
O	C	63,16	71,50
V	C	62,09	50,10
T	A	52,80	71,54
F	E	49,04	68,98
TO	B	24,00	58,80
AN	E	55,79	40,15
AR	B	32,05	66,51
G	B	62,50	69,52
B	C	80,57	55,97

U stanovených vzorků nabývá stravitelnost dusíkatých látek hodnot od 24,00 % do 92,68 %. Průměrně dosahovali hodnoty $59,48 \pm 1,535$ %. Nejnížší hodnoty dosahuje odrůda Tobak pěstovaná v lokalitě Vysoká s vysokou intenzitou pěstování. Nevyšší hodnotu má Odrůda Sailor pěstovaná v lokalitě Vysoká s nízkou intenzitou pěstování.

Tabulka č. 6: Základní statistické ukazatele jednotlivých skupin rozdělených podle intenzity pěstování.

Intenzita pěstování	Nízká	Vysoká
S	9,26	12,83
\bar{x}	63,52	55,45
S_x	1,195	1,656
Min	40,14	24,00
Max	92,68	80,57

S = směrodatná odchylka

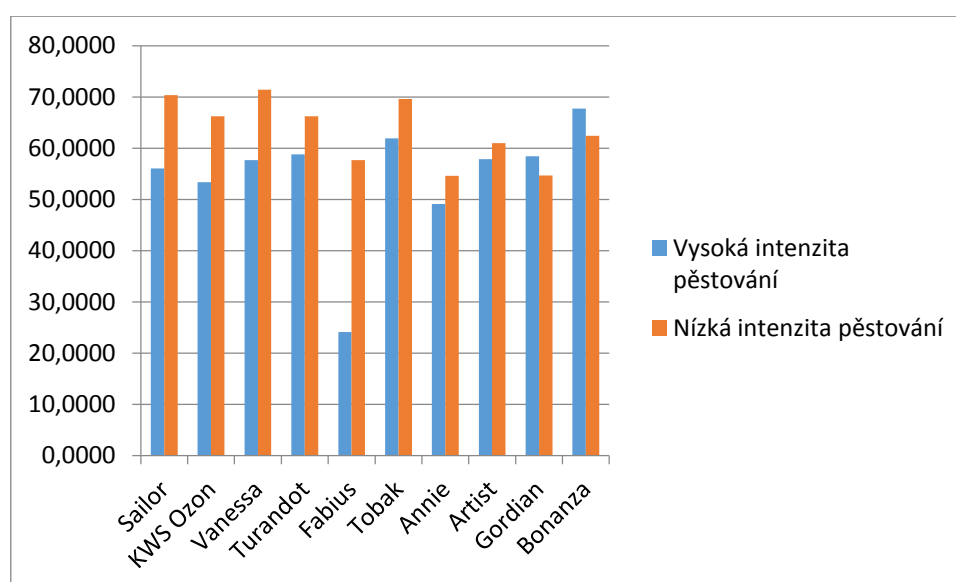
\bar{x} = průměr

S_x = střední chyba aritmetického průměru

Min = minimum

Max = maximum

Graf č. 1: Porovnání stravitelnosti dusíkatých látek s ohledem na intenzitu pěstování



Průměrná hodnota vzorků s nižší intenzitou pěstování je větší než průměrná hodnota vzorků s vyšší intenzitou pěstování.

Jak můžeme vidět v grafu č. 1, tak většina odrůd vykazuje vyšší stravitelnost dusíkatých látek, pokud je pěstována s nízkou intenzitou.

Tabulka č. 7: Statistické srovnání intenzity pěstování analýzou rozptylu

Intenzita pěstování		
	n	v
n		0,008078
v	0,008078	

Mezi hodnotami je statisticky významný rozdíl. Hodnoty udávají hladinu α .

n = nízká intenzita pěstování

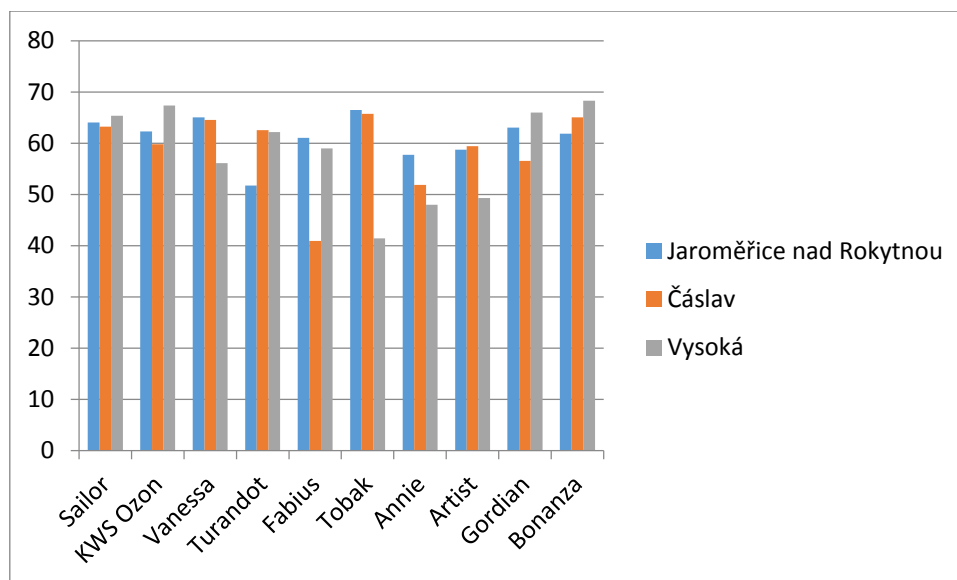
v = vysoká intenzita pěstování

α = rozptyl

Tabulka č. 8: Základní statistické ukazatele jednotlivých skupin rozdělených podle lokality.

Lokalita	Jaroměřice nad Rokytnou	Čáslav	Vysoká
S	7,76	9,99	16,11
\bar{x}	61,20	58,97	58,29
S_x	1,735	2,234	3,602
Min	44,14	24,14	24,00
Max	74,64	71,40	92,68

Graf č. 2: Porovnání stravitelnosti dusíkatých látek s ohledem na lokalitu pěstování



Nejvyšší průměrné hodnoty dosahují odrůdy pěstované v lokalitě Jaroměřice nad Rokytnou a to $61,20 \pm 1,745$ %. Odrůdy pěstované v lokalitě Čáslav vykazují nejmenší minimální hodnotu v porovnání s druhými dvěma oblastmi a také nejnižší hodnotu maxima.

V grafu č. 2 je vidět, že nejvyrovnanějších hodnot dosahují odrůdy Bonanza a Sailor. Tyto odrůdy dosahují přibližně stejných hodnot ve všech pěstovaných lokalitách. Odrůda Tobak má v lokalitách Jaroměřice a Čáslav vysoké hodnoty, ale oproti tomu v lokalitě Vysoká vykazuje téměř nejnižší hodnotu ze všech.

Tabulka č. 9: Statistické srovnání stravitelnosti NL v rámci lokalit

Lokalita			
	JAR	CAS	VYS
JAR		0,830437	0,729938
CAS	0,830437		0,983070
VYS	0,729938	0,983070	

JAR = Jaroměřice nad Rokytnou

CAS = Čáslav

VYS = Vysoká

Tabulka č. 10: Základní statistické ukazatele jednotlivých odrůd pšenice

Odrůda	S	AN	AR	B	F	G	O	T	TO	V
S	17,43	7,27	11,45	7,74	14,82	4,57	8,20	8,84	15,79	7,32
\bar{x}	64,21	52,51	55,82	65,05	53,66	61,88	63,16	58,80	57,88	61,89
S_x	7,117	2,967	4,676	3,160	6,051	1,865	3,348	3,609	6,444	2,989
Min	38,05	40,14	32,04	55,97	24,14	54,70	51,66	44,14	24,00	50,10
Max	92,68	64,16	66,51	80,57	68,98	69,51	72,98	71,54	71,24	71,40

Nejvyšší hodnoty dosahuje odrůda Sailor a nejmenší hodnoty dosahuje odrůda Tobak. Největší průměrné hodnoty dosahuje také odrůda Bonanza s $65,05 \pm 3,160$ %.

Tabulka č. 11: Statistické srovnání meziodrůvých rozdílů stravitelnosti NL analýzou rozptylu

Odrůda										
	S	O	V	T	F	TO	AN	AR	G	B
S		1,0000	1,0000	0,9988	0,8855	0,9958	0,8096	0,9701	1,0000	1,0000
O	1,0000		1,0000	0,9998	0,9361	0,9990	0,8802	0,9878	1,0000	1,0000
V	1,0000	1,0000		1,0000	0,9736	0,9999	0,9407	0,9970	1,0000	1,0000
T	0,9988	0,9998	1,0000		0,9992	1,0000	0,9960	1,0000	1,0000	0,9962
F	0,8855	0,9361	0,9736	0,9992		0,9998	1,0000	1,0000	0,9739	0,8319
TO	0,9958	0,9990	0,9999	1,0000	0,9998		0,9988	1,0000	0,9999	0,9896
AN	0,8096	0,8802	0,9407	0,9960	1,0000	0,9988		1,0000	0,9412	0,7419
AR	0,9701	0,9878	0,9970	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000		0,9970	0,9459
G	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,9739	0,9999	0,9412	0,9970		1,0000
B	1,0000	1,0000	1,0000	0,9962	0,8319	0,9896	0,7419	0,9459	1,0000	

Tabulka č. 12: Základní statistické ukazatele jednotlivých skupiny rozdělených podle pekařské jakosti

Pekařská jakost	A	B	C	E
S	14,08	11,84	7,87	11,69
\bar{x}	61,51	58,52	63,37	53,08
S_x	4,066	2,790	1,855	3,374
Min	38,05	24,00	50,10	24,14
Max	92,68	71,24	80,57	68,98

Nejvyšší průměrné hodnoty $92,68 \pm 4,066$ % dosahují odrůdy s pekařskou jakostí A. Nejnižší průměrné hodnoty $53,08 \pm 1,855$ % dosahují odrůdy s pekařskou jakostí E.

Tabulka č. 13: Statistické srovnání rozdílů ve stravitelnosti dusíkatých látek v rámci pekařské jakosti

Pekařská jakost				
	A	C	E	B
A		0,973755	0,300915	0,902451
C	0,973755		0,096995	0,602758
E	0,300915	0,096995		0,599207
B	0,902451	0,602758	0,599207	

6 Diskuse

Studie Carré et al. (2001) zkoumala vztahy mezi chemickými a fyzikálními charakteristikami pšenice a stravitelností složek potravin u brojlerových kuřat. Celkem 22 vzorků pšenice, které se lišily svým kultivačním původem, bylo zahrnuto do krmné dávky brojlerů Ross. Dalšími složkami byly sójová moučka a řepkový olej. Krmivo bylo podáváno ve formě pelet. Byly provedeny dva testy za stejných podmínek, mezi nimiž byl interval 10 týdnů. Pro každý test bylo použito 200 samců brojlera Ross. Ptáci byli rozděleni do 11 skupin do klecí se samostatným podavačem krmiva a sběračem exkrementů. Každá skupina byla krmena jednou z 22 krmných diet. V prvním pokusu byla průměrná stravitelnost proteinu 79,15 % a ve druhém pokusu 78,84 %. Parametry viskozity negativně korelovaly se stravitelností proteinu.

Stanovením stravitelnosti hrubého proteinu se zabývala studie Shi et al. (2019). Ze západní Kanady bylo odebráno celkem 48 vzorků pšenice v letech 2016 – 2017. Hrubý protein byl analyzován s použitím pepsinu a pankreatinu. Stravitelnosti těchto vzorků se pohybovaly v rozmezí od 67,23 % do 83,22 %. Průměrná hodnota byla 74,47 % a směrodatná odchylka 2,98. Výsledky této studie ukazují, že spektroskopie má potenciál pro stanovení in vitro stravitelnosti živin.

Stravitelnost hrubého proteinu hrachu u drůbeže zkoumala studie (Gabriel et al. 2008). Cílem této studie bylo najít nástroj, který by umožnil výběr genotypů s vysokým potenciálem stravitelnosti. Stravitelnost byla hodnocena pomocí in vitro metody hydrolýzou. Bylo vybráno osm genotypů hrachu setého s rozdílným obsahem a složením semenného proteinu. In vitro hydrolýza proteinu byla provedena za použití proteáz (pepsin, trypsin a chymotrypsin). Stravitelnost se pohybovala mezi 79,5 a 86,3 %.

V porovnání s výsledky studií byly vlastní vyhodnocené hodnoty stravitelnosti nižší. Minimální hodnota byla 24,00 % a maximální 92,68 %. Směrodatná odchylka byla 1,53. Rozdíly mezi výsledky z vědecké literatury a výsledky získanými analýzami mohou být ovlivněny jak metodikou analýzy samotné, tak i použitými enzymy. Protože tato metoda bylo zkoušena poprvé na pracovišti KMVD ČZU, byly do celkového vyhodnocení zařazeny všechny získané hodnoty. Při samotných analýzách byly u každého vzorku provedena dvě stanovení, což je v souladu s postupem nařízeným normou 152/2009, která stanovuje metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení pro úřední kontrolu krmiv. Ze získaných dat lze usuzovat, že by bylo vhodnější provést alespoň 4 stanovení od jednoho vzorku a hodnoty, které se výrazně odchylojí potom vyloučit.

V této práci bylo vyhodnocováno celkem 60 vzorků z deseti odrůd pšenice s rozdílnou lokalitou pěstování, intenzitou pěstování a rozdílnou pekařskou jakostí. Všechny získané hodnoty byly statisticky porovnány jako celek a také rozdělené do skupin podle lokality pěstování, intenzity pěstování, odrůdy a pekařské jakosti.

Průměrná hodnota vzorků pěstovaných s nízkou intenzitou byla vyšší. U vzorků pěstovaných s nízkou intenzitou pěstování byla průměrná hodnota $63,52 \pm 1,195$ %. Vzorky pěstované s vysokou intenzitou pěstování měly průměrnou hodnotu $55,45 \pm 1,656$. Porovnání průměrné hodnoty obou skupin ukazuje, že nízká intenzita pěstování má vliv na lepší stravitelnost hrubého proteinu u pšenice. Mezi skupinou pěstovanou s nízkou a vysokou intenzitou pěstování byl statisticky významný rozdíl.

U skupin rozdělených podle lokality pěstování byla průměrná hodnota koeficientu stravitelnosti NL nejvyšší u lokality Jaroměřice nad Rokytnou – $61,20 \pm 1,375$ %. Nejvyšší naměřená hodnota byla u skupiny pěstované v lokalitě Vysoká – $92,68 \pm 3,602$ %. Nejnížší naměřená hodnota byla u skupiny pěstované v lokalitě Vysoká – $24,00 \pm 2,234$ %. Z porovnání statistických ukazatelů jednotlivých lokalit lze předpokládat, že nejlepší stravitelnost budou mít vzorky pěstované v lokalitě Jaroměřice nad Rokytnou. Ve srovnání stravitelnosti hrubého proteinu v rámci lokalit nebyl statisticky významný rozdíl.

Ze skupiny rozdělené podle odrůdy dosáhla největší průměrné hodnoty odrůda Bonanza – $64,21 \pm 7,117$ %. Nejvyšší naměřená hodnota byla u odrůdy Sailor – $64,24 \pm 7,117$ %. Nejnížší naměřená hodnota byla u odrůdy Tobak – $24,00 \pm 6,444$ %. Je zajímavé, že odrůda Tobak dosáhla nejnížší naměřené hodnoty při pěstování v lokalitě Vysoká, zatímco při pěstování v ostatních lokalitách dosahovala nadprůměrných výsledků. Oproti tomu odrůda Sailor dosahovala přibližně stejných hodnot bez ohledu na lokalitu pěstování. Při statistickém srovnání nebyl mezi stravitelností hrubého proteinu mezi jednotlivými odrůdami statisticky významný rozdíl.

Při porovnávání skupin rozdělených podle pekařské jakosti dosáhla nejlepších průměrných hodnot skupina s pekařskou jakostí C $63,37 \pm 1,855$ %. Nejvyšší naměřená hodnota byla u skupiny s pekařskou jakostí A $92,68 \pm 4,066$ %. Nejnížší hodnota byla u skupiny s pekařskou jakostí B $24,00 \pm 3,374$ %. Skupina E dosáhla nejnížší průměrné hodnoty $53,08 \pm 3,374$ % a jeví se tak jako skupina s nejhorší stravitelností proteinu. Tato skutečnost naznačuje, že kvalita hrubého proteinu v pšenici souvisí s pekařskou jakostí pšenice. Ve srovnání rozdílů stravitelnosti hrubého proteinu v rámci pekařské jakosti nebyl statisticky významný rozdíl.

Lze konstatovat, že stravitelnost hrubého proteinu u pšenice je ovlivněna vnějšími faktory. Z tohoto důvodu je při výběru vhodné odrůdy potřeba brát v úvahu i způsob pěstování a lokalitu, na které byla pšenice pěstována.

Hypotéza byla potvrzena, in vitro stravitelnost proteinu je metoda, která pomůže při výběru vhodných novošlechtěnců pšenice pro krmivářské využití.

7 Závěr

Cílem této práce bylo využití stravitelnosti in vitro proteinu zrna pšenice seté u vybraných linií pšenice seté jako rychlé metody stanovení kvality proteinu v závislosti na intenzitě pěstování. Kvalita bílkovin je jeden z hlavních ukazatelů používaných při šlechtění nových odrůd obilovin.

Celkem bylo zkoumáno 10 odrůd pšenice pěstovaných ve třech různých lokalitách. Všechny odrůdy byly pěstovány s nízkou i s vysokou intenzitou pěstování. U všech vzorků byl stanoven hrubý protein a na základě získaných hodnot byla stanovena stravitelnost hrubého proteinu.

Průměrná stravitelnost proteinů u všech odrůd byla $59,48 \pm 1,535$ %. Nejnížší stravitelnost měla odrůda Tobak ($24,00 \pm 1,535$ %), přesněji řečeno vzorek, který byl pěstován v lokalitě Vysoká s vysokou intenzitou pěstování. Nejvyšší hodnotu stravitelnosti měl vzorek odrůdy Sailor ($92,68 \pm 1,535$ %), pěstovaný v lokalitě Vysoká s nízkou intenzitou pěstování. Větší průměrnou hodnotu měla skupina pěstovaná s nízkou intenzitou – $63,52 \pm 1,195$ % než skupina pěstovaná s vysokou intenzitou – $55,45 \pm 1,656$ %. Nejvyšší průměrná hodnota $61,20 \pm 1,735$ % byla naměřena u skupiny pěstované v lokalitě Jaroměřice nad Rokytnou. Pekařská jakost C měla nejvyšší naměřenou průměrnou hodnotu a to $63,37 \pm 1,855$ %. Průměrně nejlepší byla odrůda Sailor s průměrnou hodnotou $64,21 \pm 7,117$ % a nejhorší odrůda Annie s průměrnou hodnotou $52,51 \pm 2,967$ %.

Z výsledků práce vyplývá, že je důležité vybírat odrůdy pšenice pro výrobu krmných směsí pro drůbež. In vitro analýza stravitelnosti hrubého proteinu může být použita pro rychlé a ekonomicky výhodné hodnocení kvality odrůd pšenice seté. Získaná data mohou být použita při sestavování krmných směsí pro drůbež, což může maximalizovat efektivitu chovu drůbeže.

Hypotéza byla potvrzena, protože in vitro stravitelnost proteinu je metodou, která může pomoci při výběru vhodných novošlechtěnců pšenice pro krmivářské využití.

8 Seznam použité literatury

Abdollahi MR, Zeafarian F, Ravindran V. 2018. Feed intake response of broilers: Impact of feed processing. *Animal Feed Science and Technology* **237**: 154 – 165.

Adeola O, Xue PC, Cowieson AJ, Ajuwon KM. 2016. Basal endogenous losses of amino acids in protein nutrition research for swine and poultry. *Animal Feed Science and Technology* **221**: 274 – 283.

Amerah AM, Ravindran V. 2008. Influence of method of whole-wheat feeding on the performance, digestive tract development and carcass traits of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* **147**: 326-339.

Barrett GC, Elmore DT. 1998. Amino acids and peptides. Cambridge University Press. Cambridge.

Bels VL. 2006. Feeding in domestic vertebrates: from structure to behaviour. CAB International. Wallingford.

Bryan DD, Abbott DA, Classen HL. 2018. Development of an in vitro protein digestibility assay mimicking the chicken digestive tract. *Animal Nutrition* **4**: 401-409.

Bryan DD, Abbott DA, Classen HL. 2019. Digestion kinetics of protein sources determined using an in vitro chicken model. *Animal Feed Science and Technology* **248**: 106-113.

Carré B, Idi A, Maisonnier S, Melcion JP, Oury FX, Gomez J, Pluchard P. 2002. Relationships between digestibilities of food components and characteristics of wheats (*Triticum aestivum*) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet. *British poultry science*, **43**: 404-415.

Collett SR. 2012. Nutrition and wet litter problems in poultry. *Animal feed science and technology* **173**: 65-75.

Gabriel I et al. (2008). Variation in seed protein digestion of different pea (*Pisum sativum* L.) genotypes by cecectomized broiler chickens: 1. Endogenous amino acid losses, true digestibility and in vitro hydrolysis of proteins. *Livestock Science* **113**: 251-261.

Garnsworthy PC, Haresign W, Cole, DJA. (2013). Recent advances in animal nutrition. Butterworth – Heinemann Ltd. Oxford.

Hocking PM. 2009. Biology of breeding poultry. CAB International. Wallingford.

Lin L, Liao XD, Luo XG. 2017. Nutritional strategies for reducing nitrogen, phosphorus and trace mineral excretions of livestock and poultry. *Journal of integrative agriculture* **16**: 2815-2833.

McNab, J. M., & Boorman, K. N. (2002). Poultry feedstuffs: supply, composition and nutritive value. CABI publishing. Wallingford.

Moss AF, Sydenham CJ, Truong HH, Liu SY, Selle PH. 2017. The interactions of exogenous phytase with whole grain feeding and effects of barley as the whole grain component in broiler diets based on wheat, sorghum and wheat-sorghum blends. *Animal Feed Science and Technology* **227**: 1-12.

National Research Council (US). Subcommittee on Poultry Nutrition. (1984). Nutrient requirements of poultry. National Academies of Sciences. Washington.

Nicol NT, Wiseman J, Norton G. 1993. Factors determining the nutritional value of wheat varieties for poultry. *Carbohydrate Polymers* **21**: 211-215.

Oury FX, Carré B, Pluchard P, Bérard P, Nys Y, Leclercq B. 1998. Genetic variability and stability of poultry feeding related characters in wheat, in relation to environmental variation. *Agronomie* **18**: 139-150.

Parsons CM. 1996. Digestible amino acids for poultry and swine. *Animal Feed Science and Technology* **59**: 147-153.

Ravindran V. 2013. Poultry feed availability and nutrition in developing countries. Poultry development review: 60 – 63.

Reece WO. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada Publishing. Praha.

Rose SP, Kyriazakis I. 1991. Diet selection of pigs and poultry. Proceedings of the Nutrition Society **50**: 87-98.

Shi H, Lei Y, Prates LL, Yu P. 2019. Evaluation of near-infrared (NIR) and Fourier transform mid-infrared (ATR-FT/MIR) spectroscopy techniques combined with chemometrics for the determination of crude protein and intestinal protein digestibility of wheat. Food chemistry **272**: 507-513.

Singh Y, Amerah AM, Ravindran V. 2014. Whole grain feeding: Methodologies and effects on performance, digestive tract development and nutrient utilisation of poultry. Animal Feed Science and Technology **190**: 1-18.

Tran TS et al. 2014. Detection of QTL controlling digestive efficiency and anatomy of the digestive tract in chicken fed a wheat-based diet. Genetics Selection Evolution **46**: 25.

Ustunol, ZEd. (2014). Applied food protein chemistry. John Wiley & Sons. Chichester.

Van Der Klis, JD, Kemme AD. 2002. Poultry feedstuffs: Supply, composition and nutritive value. An appraisal of trace elements: inorganic organic. CAB International. Wallington.

Witten S, Grashorn MA, Aulrich K. 2018. Precaecal digestibility of crude protein and amino acids of a field bean (*Vicia faba* L.) and a field pea (*Pisum sativum* L.) variety for broilers. Animal Feed Science and Technology **243**: 35-40.

Zelenka J. 2014. Výživa a krmení drůbeže. Vydavatelství Agriprint. Olomouc.

