

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**Efektivní bachorová degradovatelnost  
neutrálně detergentní vlákniny u přežvýkavců**

**Ondřej Koukol**

**2009**

Vedoucí bakalářské práce:

Prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.

Děkan Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

Konzultant:

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

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

Oddělení výživy a krmení hospodářských zvířat

Bakalářská práce byla uskutečněna s finanční podporou

MZE0002701403 a MZE0002701404.

## **Poděkování**

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

## **Prohlášení**

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

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG, provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

.....

V Českých Budějovicích dne ..... 2009

# OBSAH

	stránka
1. ÚVOD.....	1
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	
2.1. Charakteristika jetelovin.....	2
2.2. Fyziologie trávení přežvýkavců.....	4
2.3. Význam sacharidů ve výživě přežvýkavců.....	6
2.4. Trávení sacharidů v bachoru přežvýkavců.....	10
3. CÍL PRÁCE.....	12
4. MATERIÁL A METODIKA	
4.1. Pokusný materiál (krmivo).....	13
4.2. Chemické rozborů základních živin, spalné teplo, koeficient stravitelnosti organické hmoty a brutto energie původního krmiva.....	13
4.3. <i>In situ</i> analýzy.....	14
4.4. Statistické vyhodnocení.....	16
5. VÝSLEDKY A DISKUZE	
5.1. Pokusný materiál (krmivo).....	17
5.2. Chemické rozborů základních živin, spalné teplo, koeficient stravitelnosti organické hmoty a brutto energie původního krmiva.....	17
5.3. <i>In situ</i> analýzy.....	20
5.4. Statistické vyhodnocení.....	24
6. ZÁVĚR.....	27
7. SOUHRN.....	28
8. SUMMARY.....	29
9. SEZNAM LITERATURY.....	30
10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA.....	36

## 1. Úvod

Hodnocení krmiv vychází z chemického složení a stravitelnosti krmné dávky. Základním předpokladem správné funkce bachoru je vhodně sestavená krmná dávka zajišťující odpovídající množství živin pro požadovanou užitkovost.

Schopnost krmné dávky zabezpečit požadavek zvířete na energii je důležitým ukazatelem nutriční hodnoty krmiv. Součástí systémů hodnocení krmiv pro přežvýkavce je zohlednění mikrobiální fermentace v bachoru, degradovatelnosti krmiva a využitelnosti živin vstupujících do tenkého střeva. Základní metodou je stanovení degradovatelnosti a stravitelnosti jednotlivých složek krmiva. Tyto metody zaznamenávají velkou variabilitu koeficientů stravitelnosti především u objemné píče, protože stravitelnost objemného krmiva je ovlivněna botanickým druhem pícniny, vegetační fází, termínem sklizně a jinými faktory.

Hlavním zdrojem energie v krmné dávce u přežvýkavců jsou sacharidy, které tvoří 50 až 80 % biomasy pícnin. Sacharidový komplex (vláknina) je obvykle členěn na nestravitelné a stravitelné frakce. Stravitelnost vlákniny je ovlivněna vzájemným zastoupením strukturních (hemicelulóza a celulóza) a nestrukturních (cukry, škroby, pektiny, atd.) sacharidů v krmivu. Optimální zastoupení strukturních sacharidů ve výživě přežvýkavců zajišťuje peristaltiku střev a motoriku bachoru, nasycenost zvířat a samozřejmě limituje příjem a stravitelnost krmné dávky. Stravitelnost frakcí vlákniny je ovlivněna množstvím ligninu. Ten tvoří se sacharidy buněčných stěn pevné vazby (znemožňuje příjem celulózy a hemicelulózy) a vytváří tzv. lignifikaci, ke které dochází vlivem stárnutí rostlin. Proto dělení strukturních sacharidů podle frakcí na neutrálně detergentní vlákninu (NDF), acido detergentní vlákninu (ADF) a acido detergentní lignin (ADL) je důležité pro hodnocení kvality krmiv a jejich využitelnosti přežvýkavci.

Za účelem zpřesňování dosavadních systémů hodnocení krmiv byl v bakalářské práci stanoven obsah jednotlivých živin, energie a *in situ* degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny u vzorků jetele lučního.

## 2. Literární přehled

### 2.1. Charakteristika jetelovin

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

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

Základní jeteloviny:

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

Ostatní jeteloviny:

1. Jetel zvrhlý (*Trifolium hybridum* L.)
2. Štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus* L.)
3. Vičenec libris (*Onbrychis viciaefolia* Scop.)
4. Jetel inkarnát (*Trifolium incarnatum* L.)
5. Komonice bílá (*Melilotus albus* Des.)
6. Čičorka pestrá (*Coronilla varia* L.)
7. Úročník bolhoj (*Athyllis vulneraria* L.)
8. Jetel zvrácený (*Trifolium resupinatum* L.)
9. Jetel egyptský (*Trifolium alexandrianum* L.)
10. Tolice dětelová (*Medicago Lupulina* L.)
11. Jestřabina východní (*Galega orientalis* L.)

Vedle monokultur má jetel luční rozhodující uplatnění v jetelotrávách. Pěstuje se především v bramborářských a podhorských výrobních oblastech, v řepařské se osvědčuje na těžších a vlhčích půdách. Spolu s vojtěškou je naší nejrozšířenější jetelovinou (Kudrna a kol., 1998). Podle dostupných údajů ČSÚ (Českého statistického úřadu) v letech 2005 až 2007 byla v České republice průměrná osevní plocha jetele červeného 56 255 ha a vojtěšky seté 80 571 ha (Statistická ročenka České republiky, 2009).

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

Jetel luční není vhodné hnojit dusíkem s výjimkou porostů silně zeslabených, u nichž připadá v úvahu regenerační dávka do 20 kg N/ha ve formě kombinovaného hnojiva po přezimování. Potřebu dusíku jetel plně pokrývá symbiotickou fixací. Základní hnojení fosforem a draslíkem provádíme na připravený pozemek před výsevem. Doporučené roční dávky P a K na základě obsahu živin v půdě jsou 35 - 45 kg P/ha a 80 - 100 kg K/ha. Hořčíkem hnojíme na slabě zásobených půdách již k předplodině. Jetel snáší kyselou půdní reakci, je však náročný na vápník jako živinu. Optimální je pH 6, při poklesu pH pod 5,6 vápníme k předplodině. Jetel luční využíváme v čisté kultuře zpravidla dvou až třísečně na jeden užitkový rok. Porosty v druhém užitkovém roce (tj. třetí rok vegetace) se již zaplevelují a jejich pěstování je bez přisevu trav neefektivní. Optimální termín sklizně pícního porostu je na začátku kvetení - zejména při využití na seno či senáž by měla sušina píce převyšovat 18 %. Intenzivní jetelotravní směsky na orné půdě zakládáme pro víceleté využití - zpravidla na 2 až 3 užitkové roky (Selgen, 2009).

Sklizeň jetele na píci se provádí vždy před květem, pro přímé zelené krmení již od fáze zakládání květních pupat. Píce je stravitelnější s vyšším obsahem dusíkatých látek a menším obsahem vlákniny. Obsah vodorozpustných cukrů v sušině píce je 2 až 3 krát větší než u vojtěšky. Kvalitativní ztráty způsobené opožděnou první sečí mají za následek



snížení výnosu píce druhé seče. Výnosy současných odrůd jetele mohou v praxi běžně překračovat výnosovou hranici 10 t sena/ha. Mezi odrůdami jetele lučního je již rozdíl v odstupňování pícní zralosti 14 až 18 dní. Na rozdíl od vojtešky se jetel lépe konzervuje senážováním (při 35 až 45 % sušiny), hůře se však suší na strništi (odrol lístků) (Kudrna a kol., 1998).

## **2.2. Fyziologie trávení přežvýkavců**

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

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

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

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

Funkce předžaludku přežvýkavců (Reece, 1998):

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

Chemické i mikrobiální procesy v bachoru (fermentace), která v bachoru a čepci přežvýkavců probíhá je způsobena činností bakteriálních a protozoálních mikroorganismů. Mikroorganismy bachoru se zúčastňují hydrolyzy sacharidů a bílkovin (Reece, 1998). Štěpení peptidů se uskutečňuje se snižující se délkou řetězce až na volné aminokyseliny, které jsou většinou destruovány fermentativní deaminací doprovázenou produkcí oxidu uhličitého, čpavku a těkavých mastných kyselin) a především sacharidů. Trávení sacharidů v bachoru přežvýkavců je podrobně popsáno v kapitole 2.4.

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

(Kudrna a kol., 1998), proto je nutné ve výživě přežvýkavců vycházet ze speciálního způsobu přeměny krmiv v jejich trávicím traktu na konečné živočišné produkty.

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

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

### **2.3. Význam sacharidů ve výživě přežvýkavců**

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

Kvantitativní i kvalitativní změny nutriční hodnoty pasterní píče jsou přímo úměrně závislé na botanickém druhu píče, vegetační fázi, půdním typu, klimatických podmínkách (množství srážek, teplotní režim), způsobu případného hnojení porostu, době sklizně i nadmořské výšce (Beever a Mould, 2000; Dubbs a kol., 2003). Obrázek 1 (Ball a kol., 2001) popisuje vliv vegetační fáze jetelovin na kvalitu objemného krmiva.

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

Soest, 1994). Ve schématu 1 jsou uvedeny faktory ovlivňující užitkovost rostlin a hospodářských zvířat (Marten a kol., 1988).

Obrázek 1. Vliv vegetační fáze jetelovin na příjem a stravitelnost píce (Ball a kol., 2001).

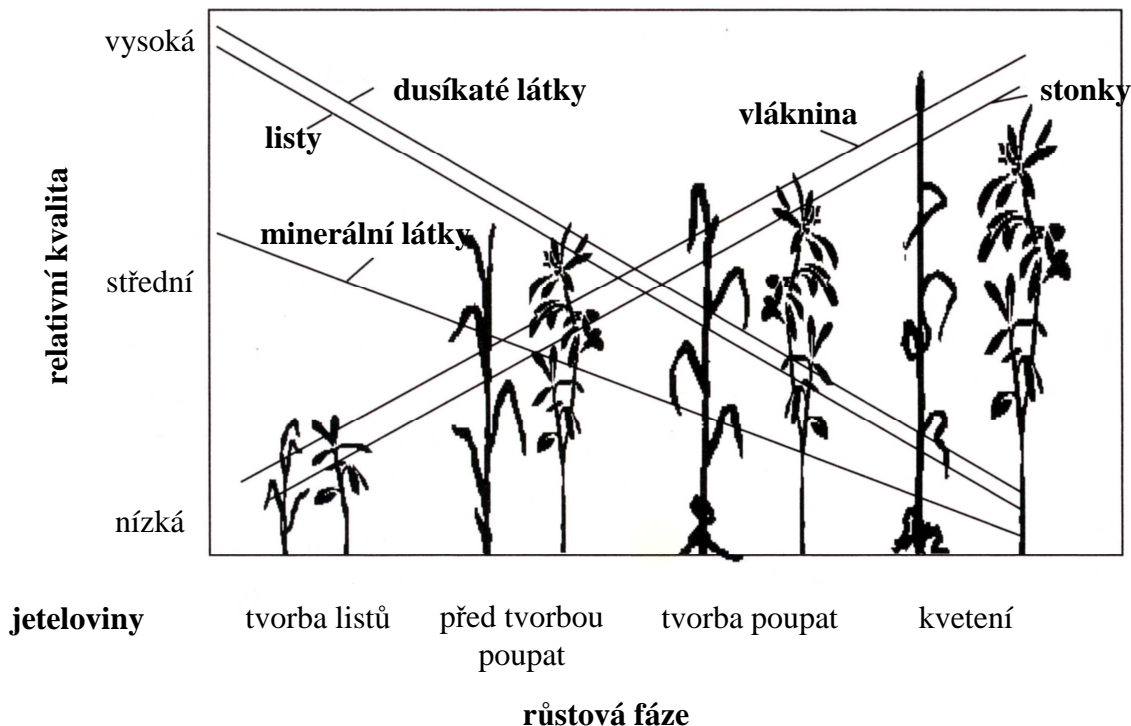


Schéma 1. Faktory ovlivňující nutriční potenciál objemného krmiva a užitkovost zvířat (Marten a kol, 1998).

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

Sacharidový komplex (vláknina) je jedním z nejvýznamnějších složek píce. Sacharidy obsažené v rostlinných krmivech jsou uloženy v buněčných stěnách (celulóza, hemicelulóza a pektin) a v buněčné protoplazmě (zejména škrob a rozpustné sacharidy, převážně cukry) (Urban a kol.,1997). Podle Van Sauna a Koukala (2003) dělíme veškeré sacharidy na strukturní a nestrukturní sacharidy (Schéma 2).

Schéma 2. Dělení sacharidových frakcí (Van Saun a Koukal, 2003).

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

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

Vláknina je směs celulózy, hemicelulózy a nestravitelných inkrustujících látek (lignin, kutin, křemičitany atd.) (Zeman a kol., 2006). Při jejím posuzování ji nelze hodnotit pouze jako živinu, ale také jako faktor, který zásadním způsobem ovlivňuje kvalitu a množství živočišných produktů a zdravotní stav zvířat (Nováková, 2002). Sacharidy tvoří 70 % a více sušiny krmné dávky (Třináctý a kol., 2000). Zeman a kol. (2006) uvádí, že vláknina jako zdroj stravitelných živin se podílí na energetické hodnotě krmiv, ale také tuto hodnotu výrazně ovlivňuje, a to negativně. Zvláště výrazný je vztah obsahu vlákniny v krmivu ke stravitelnosti ostatních živin. Podle vzájemného poměru sacharidů (hemicelulózy, celulózy atd.) k ligninu se mění stravitelnost vlákniny. Čím vyšší je zastoupení vlákniny v krmivech, tím je stravitelnost organické hmoty nižší. Podle metabolické zátěže (zejména užitkovosti) kolísá optimální zastoupení vlákniny v sušině krmné dávky přežvýkavců (18 až 20 % pro ovce a 15 až 26 % pro skot) (Zeman a kol., 2006).

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

Obsah ligninu negativně koreluje se stravitelností organické hmoty. V trávicím traktu je lignin prakticky nestravitelný (Grenet a Jamot, 1990), neboť struktura ligninu je chaotická (Vencel, 1990). Acetylové skupiny jsou vázány hlavně na hemicelulózy a pektin (Grenet a Jamot, 1990). To spolu s těmito velmi stabilními uhlíkovými (C-C) a esterovými vazbami způsobuje jeho obtížnou štěpitelnost (Vencel, 1990), neboť lignin způsobuje především vznik balastu (Kowalczyk a Zebrowska, 2000), který mechanicky brání kontaktu digestivních hydrolytických enzymů s živinami krmiva (Grenet a Jamot, 1990). Jsou známy inhibiční účinky ligninu i jeho degradačních produktů na trávicí enzymy a jejich reakce ve snížení resorpce proteinů z krmiva (Kowalczyk a Zebrowska, 2000).

## 2.4. Trávení sacharidů v bacheru přežvýkavců

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

Trávení vlákniny. Součástí vlákniny je celulóza, hemicelulóza, lignin a jiné látky. Základní význam pro výživu přežvýkavců má celulóza, které rostliny obsahují 20 – 45 % (Sova a kol., 1990). Proto dělíme frakce na NDF, ADF a ADL. Hlavní funkcí NDF frakce v krmné dávce přežvýkavců je poskytovat energii pro mikrobiální syntézu, zajišťovat správnou činnost bacheru a tím i zdravotní stav zvířat (Mertens, 1994; Eastridge, 2006). Avšak příliš vysoké množství NDF v krmné dávce může negativně ovlivnit příjem krmiva zvířaty, neboť tato frakce krmiva pak převažuje v obsahu bacheru. Vláknina ovlivňuje plnivost bacheru – příjem krmiva je ovlivňován koncentrací přijaté vlákniny v krmné dávce spolu s kinetickou činností bacheru (Mertens, 1994; Stensig a kol., 1994). Variabilitu využitelnosti vlákninové frakce v krmné dávce přežvýkavců lze tedy charakterizovat jako parametr závislý na celé řadě asociativních faktorů - botanickém druhu píce, vegetační fázi porostu, způsobu konzervace, apod. (Marten a kol., 1998; schéma 1). Proto je stanovení NDF prioritní chemickou analýzou užívanou k predikci příjmu píce (Van Soest, 1994).

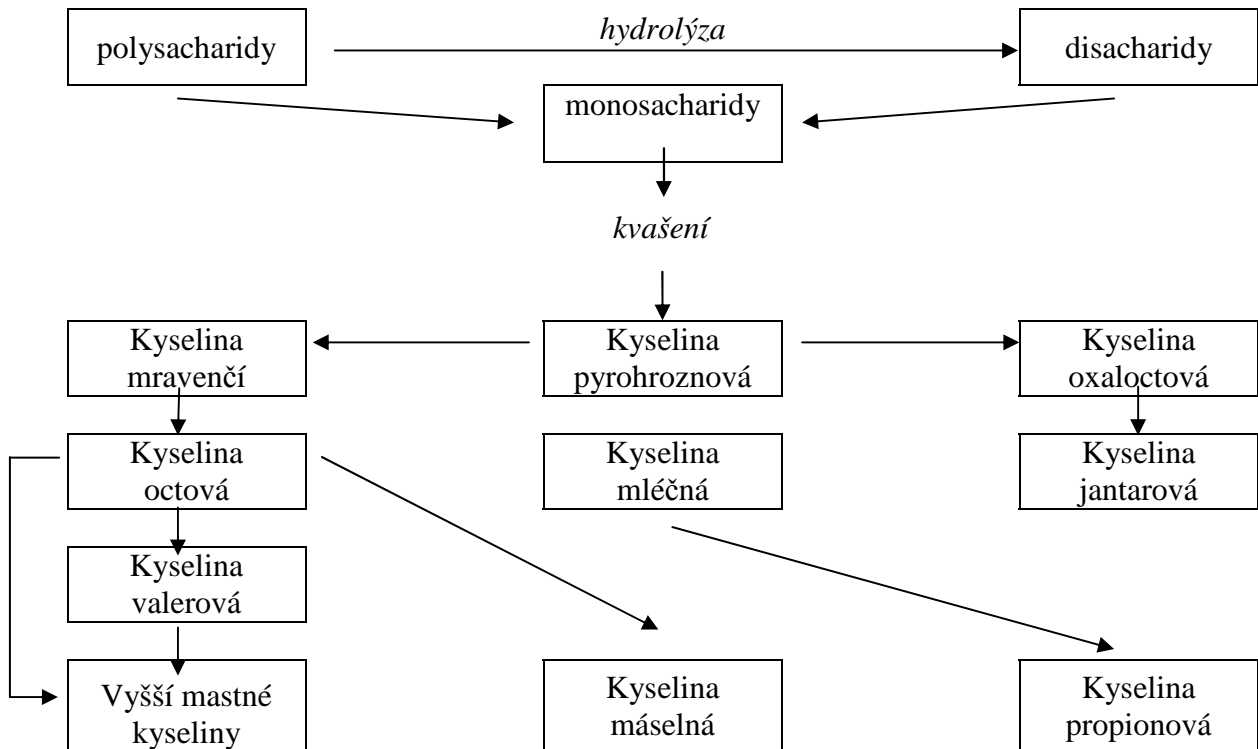
Vzhledem k tomu, že zvířata nemají trávicí žlázu vylučující enzymy pro trávení vlákniny, je její trávení a utilizace nejdůležitější funkcí bacherových mikroorganismů. Na trávení v bacheru se nemůžeme dívat izolovaně od ostatních výživných látek, protože mikroorganismy potřebují pro své životní pochody,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

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

- 1) Působením enzymu depolymerázy se celulóza štěpí na menší, rozpustné a nerozpustné části.

- 2) Enzym podobný amyláze štěpí  $\alpha$ -glykosidové sloučeniny, přičemž vzniká cellobióza a jiné disacharidy.
- 3) Enzym cellobiáza štěpí tyto sloučeniny na glukózu. Glukóza se dále zkvašuje na různé mastné kyseliny.

Schéma 3. Přeměna sacharidů v bacheru přežvýkavců (Sova a kol., 1990).



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



### 3. Cíl práce

U vybraného souboru krmiv (jetele lučního) stanovit stravitelný a nestravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny (NDF) a vyhodnotit efektivní bachorovou degradovatelnost NDF pomocí *in situ* metody. Parametry popisující profil degradovatelnosti NDF vnést do vztahu k základnímu chemickému složení sledovaných krmiv.

## 4. Materiál a metodika

### 4.1 Pokusný materiál (krmivo)

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

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

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

Pro základní chemické rozborů byly usušené vzorky jetele pomlety na 1 mm a byly stanoveny jednotlivé podíly sacharidového spektra, tj. obsah neutrálně detergentní vlákniny (NDF), acido detergentní vlákniny (ADF) a acido detergentního ligninu (ADL) podle Van Soesta a kol. (1991). Dále byl stanoven obsah živin: dusíkaté látky (NL; Kjeldahl method, N × 6,25), tuku přímou extrakcí dle Soxhleta a hrubá vláknina (AOAC, 1990). Popel byl stanoven po 4,5 hodinovém pálení v peci při teplotě 550 °C. Bez dusíkaté látky výtažkové (BNLV) byly vypočteny vzorcem:

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

Obsah spalného tepla (brutto energie, BE) byl stanoven na kalorimetrickém přístroji (IKA C 5000 control, Germany). Stravitelná energie (SE) byla kalkulována podle rovnice Sommer a kol. (1994): SE (MJ/kg) = BE × koeficient *in vivo* stravitelnosti BE.

Koeficienty stravitelnosti organické hmoty (KS OH) a BE (KS BE) byly získány v *in vivo* bilančních pokusech na skopcích Romanovského plemene. Tato *in vivo* metoda je

založena na precizní evidenci individuálního příjmu krmiva, zbytků krmiv a výkalů pokusných zvířat.

### **4.3. *In situ* analýzy**

#### **Degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny (NDF) v bachoru přežvýkavců**

*In situ* metoda je založena na inkubaci vzorků krmiva v nylonových sáčcích v příslušných časových intervalech v bachoru přežvýkavců. *In situ* metoda zajišťuje přes stěnu nylonového sáčku přímý kontakt bachorových mikroorganismů (aktivní enzymatickou činnost) s testovaným krmivem. Takto lze výstižně vyčíslit průběh procesu degradovatelnosti a různý stupeň mikrobiální fermentace krmiva v bachoru kanylovaného zvířete (Jančík a kol., 2008).

Degradovatelnost NDF byla zjišťována zvolenými inkubačními intervaly 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 a 288 hodin (Hvelplund a Weisbjerg, 2000). Vzorky byly inkubovány vždy ve dvou opakováních na jedné kanylované krávi, tj. 6 opakování na 3 suchostojných kanylovaných kravách. Kanylované krávy byly krmeny dvakrát denně. Interval mezi ranním a večerním krmením byl 10 hodin (krmení bylo do žlabu zakládáno v 7 hodin ráno a v 17 hodin odpoledne). Napájení vodou bylo ad libitní.

Tabulka 1  
Složení krmné dávky

Krmivo	kg/ks/den
Seno luční	4
Kukuřičná siláž	10
Ječný šrot	1
Vitaminominerální doplněk	0,1

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

Tabulka 2

Navážky krmiva pro konkrétní inkubační intervaly

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

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

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

<sup>3</sup>g/1 nylonový sáček

Sáčky pro nultý inkubační interval (0 h) se inkubovaly 10 minut ve vodě teplé cca 39 °C. Nosič s inkubovaným krmivem (inkubační intervaly 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 a 288 h) se ihned po vyjmutí z bachoru opláchnul od hrubého bachorového obsahu a sáčky se propíraly studenou vodou 20 minut v tekoucí vodě (orientační ukazatel vyprání sáčků je, že nezabarvují vodu) (Harazim a kol., 1999). Poté podle metodiky Hvelplunda a Weisbjerga (2000) byly neinkubované vzorky důkladně propláchnuty, byla provedena filtrace reziduí krmiva do filtračních sáčků Ankom F57 (Anonymous, 1998) a následovalo laboratorní stanovení NDF ve zbytku krmiva po bachorové degradaci pomocí přístroje Ankom 220 Fiber Analyzer podle metodiky Anonymous (1998). Získané hodnoty degradovatelnosti NDF po *in situ* inkubacích byly korigovány na eventuální nežádoucí ztrátu (vyplavení) částecek krmiva z původní navážky z nylonového sáčku podle autorů Hvelplund a Weisbjerg (2000).

Obsah neutrálně detergentní vlákniny (NDF) po *in situ* byl vypočítán dle vzorce:

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

Kde:

NDF = obsah neutrálně detergentní vlákniny (%)

W<sub>1</sub> = hmotnost sáčku (ANKOM F57) (g)

W<sub>2</sub> = navážka (g)

W<sub>3</sub> = hmotnost sáčku po NDF hydrolýze (g)

W<sub>4</sub> = obsah popelovin (g)

C<sub>1</sub> = korekce zahrnující vliv sáčků (g) = (hmotnost prázdného vysušeného sáčku po NDF hydrolýze / hmotnost prázdného vysušeného sáčku před NDF hydrolýzou)

C<sub>2</sub> = korekce zahrnující vliv popelovin prázdného sáčku (g) = (úbytek hmotnosti prázdného sáčku po NDF hydrolýze po spálení / hmotnost prázdného vysušeného sáčku před NDF hydrolýzou)

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

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

$$ED = b \times (c / (c + k))$$

Kde:

ED = efektivní bachorová degradovatelnost krmiva (živiny) (%)

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

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

exp = exponenciál

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

Nestravitelný podíl NDF (INDF) byl stanoven po dlouhodobém inkubačním intervalu 288 h podle Lunda (2002):

$$INDF = 100 - DNDF$$

Kde:

INDF = nestravitelný podíl NDF (%)

DNDF = stravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny stanovený po 288 h *in situ* metodou (%)

#### **4.4. Statistické vyhodnocení**

Statistická část experimentu byla vyhodnocena v programu SAS 9.1, procedura GLM (PROC GLM), (SAS Institute, 2003). Korelační koeficienty mezi jednotlivými proměnnými byly hodnoceny pomocí procedury PROC CORR. Prostřednictvím metody mnohonásobného srovnávání (Scheffého analýza; PROC GLM) byla testována významnost rozdílů mezi sledovanými skupinami jetele.

## 5. Výsledky a diskuze

### 5.1. Pokusný materiál (krmivo)

V tabulce 3 je uveden seznam vzorků jetele lučního použitých pro hodnocení bacherové degradovatelnosti neutrálně detergentní vlákniny. Jetel luční byl odebíráán ve třech různých sečích (A, B, C) v průběhu jednoho vegetačního období (tabulka 3). První seč (A) a druhá seč (B) jsou reprezentovány třemi termíny odběru průměrného vzorku. Třetí seč (C) je zastoupena jedním odběrem.

Tabulka 3

Seznam použitých vzorků jetele lučního odebíraného ve třech různých sečích.

Jetel luční	1 (1216)	2 (1218)	3 (1220)	4 (1227)	5 (1229)	6 (1231)	7 (1241)
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	3. 8.
Seč	A	A	A	B	B	B	C

A = první seč, B = druhá seč, C = třetí seč.

### 5.2. Chemické rozborý základních živin, spalné teplo, koeficient stravitelnosti organické hmoty a brutto energie původního krmiva

Z každého odběru ve sledovaném vegetačním období byly u původního vzorku jetele lučního provedeny základní chemické rozborý. V tabulce 4 je zaznamenán výčet průměrných hodnot chemických rozborů základních živin pro jednotlivé seče (A, B, C). Původní sušina jetele lučního kolísala od 137,3 g/kg (jetel luční 4) do 241,0 g/kg (jetel luční 7). Obsah jednotlivých složek byl v průměru za celé vegetační období pro popel 119,2 g/kg sušiny, tuk 23,2 g/kg sušiny, NL 197,7 g/kg sušiny, CF 236,5 g/kg sušiny a BNLV 423,4 g/kg sušiny. Pokles obsahu NL v průběhu stárnutí porostu byl potvrzen autory Hoffman a kol. (1993) a Rinne a Nykänen (2000). Obsah jednotlivých frakcí vlákniny byl v průměru pro NDF 400,7 g/kg sušiny, ADF 296,2 g/kg sušiny a ADL 73,8 g/kg sušiny (graf 2). Narůstající obsah NDF, ADF, ADL v rámci jednotlivých sečí je také uváděn ve vědeckých publikacích Hoffman a kol. (1993), Coblentz a kol. (1998) a Elizalde a kol. (1999). Tento narůstající trend jednotlivých frakcí vlákniny je znázorněn v grafu 2.

Tabulka 4

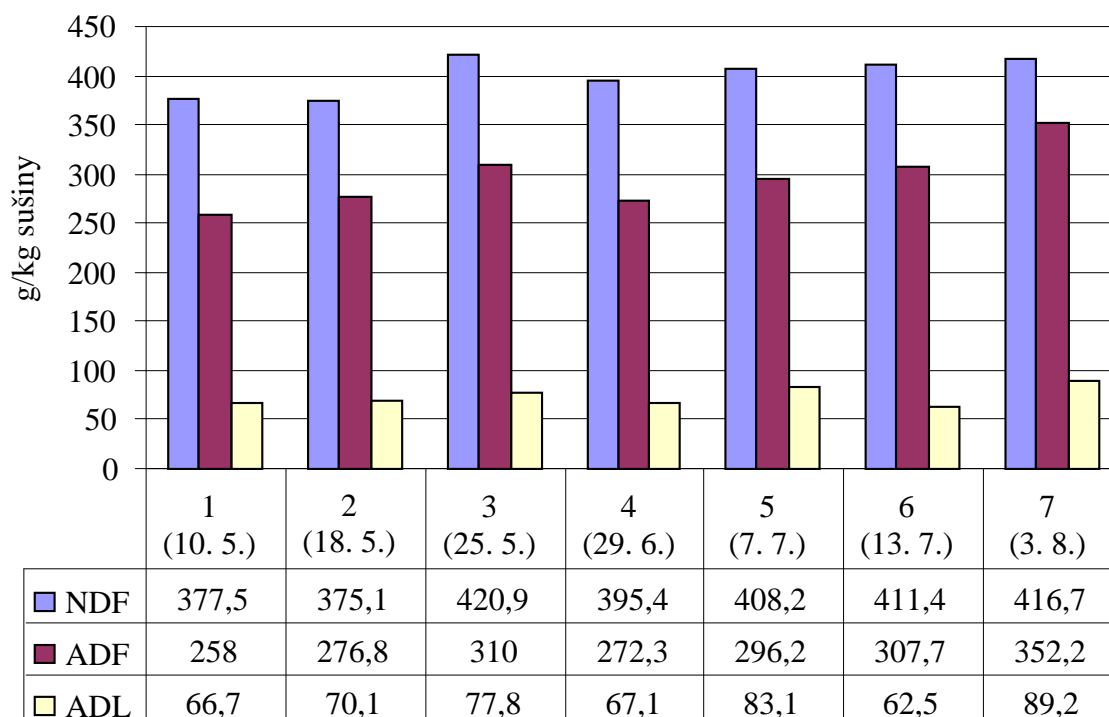
Obsah živin (g/kg sušiny) u vzorků jetele lučního.

Jetel luční	1 (1216)	2 (1218)	3 (1220)	4 (1227)	5 (1229)	6 (1231)	7 (1241)
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	3. 8.
Seč	A	A	A	B	B	B	C
Sušina původní	154,7	190,1	180,3	137,3	159,4	157,0	241,0
Popel	145,3	103,6	91,2	135,2	98,8	139	121,6
Tuk	24,2	24,1	22,3	22,7	23,7	22,2	23,5
NL	218,8	211,1	179,9	213,9	197,6	181,6	180,7
CF	338,2	181,4	218,8	202,9	230	236,4	247,6
BNLV	273,5	479,8	487,8	425,3	449,9	420,8	426,6

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

Graf 2

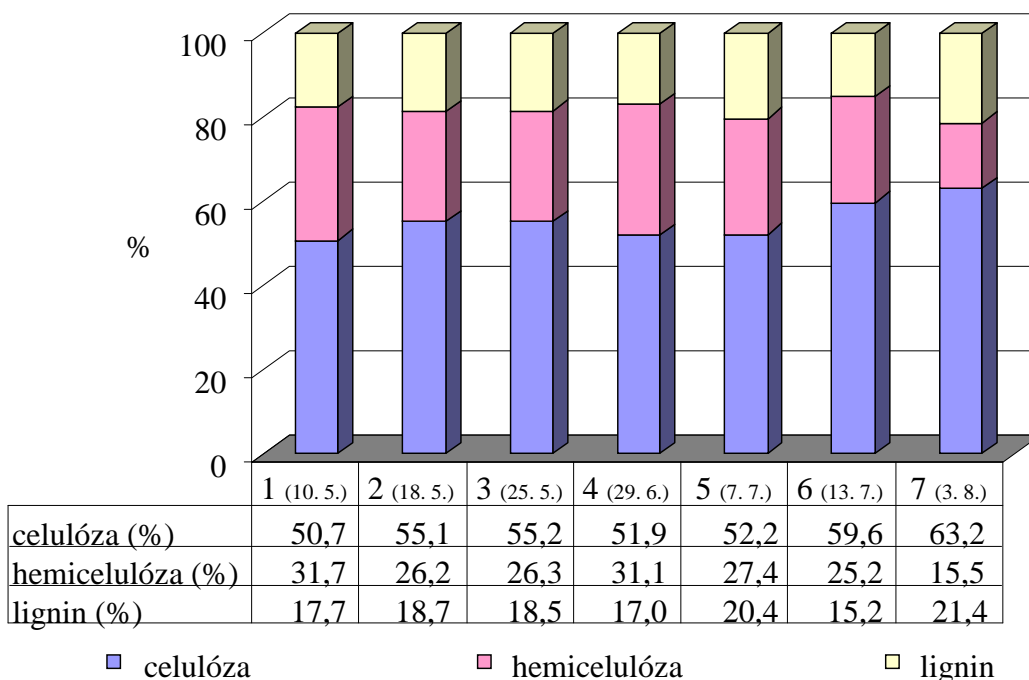
Obsah neutrálně detergentní vlákniny (NDF), acido detergentní vlákniny (ADF) a acido detergentního ligninu (ADL) u vzorků jetele lučního.



Buněčná stěna (NDF) sledovaných vzorků jetele lučního byla vyčíslena jako podíl celulózy, hemicelulózy a ligninu (graf 3), kde: celulóza = ADF – ADL, hemicelulóza = NDF – ADF a lignin = ADL. V průměru NDF obsahovala 55,4 % celulózy, 26,2 % hemicelulózy a 18,4 % ligninu.

Graf 3

Zastoupení komponentů buněčné stěny (NDF), tzn. obsah celulózy, hemicelulózy a ligninu u vzorků jetele lučního (%).



Koeficienty stravitelnosti organické hmoty (KS OH) a brutto energie (KS BE) stanovené metodou *in vivo* jsou uvedeny v tabulce 5. KS OH byl 68,7 (jetel luční 1), 76,2 (jetel luční 2), 74,5 % (jetel luční 3), 74,9 (jetel luční 4), 71,1 % (jetel luční 5), 72,5 % (jetel luční 6) a 68,9 % (jetel luční 7). KS BE dosahoval hodnot 65,3 % (jetel luční 1), 73,8 % (jetel luční 2), 71,6 % (jetel luční 3), 72,1 % (jetel luční 4), 69,8 % (jetel luční 5), 70,7 % (jetel luční 6) a 68,2 % (jetel luční 7). Tabulka 6 a graf 4 ukazují hodnoty BE a SE jetele lučního v průběhu vegetačního období. Obsah BE kolísal od 17,6 do 18,9 MJ/kg sušiny SE od 11,8 do 13,6 MJ/kg sušiny. Podobné hodnoty pro jeteloviny uvádí ve své práci Arieli a kol. (1999).

Tabulka 5

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

Jetel luční	1 (1216)	2 (1218)	3 (1220)	4 (1227)	5 (1229)	6 (1231)	7 (1241)
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	3. 8.
Seč	A	A	A	B	B	B	C
KS OH (%)	68,7	76,2	74,5	74,9	71,1	72,5	68,9
KS BE (%)	65,3	73,8	71,6	72,1	69,8	70,7	68,2

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



Tabulka 6

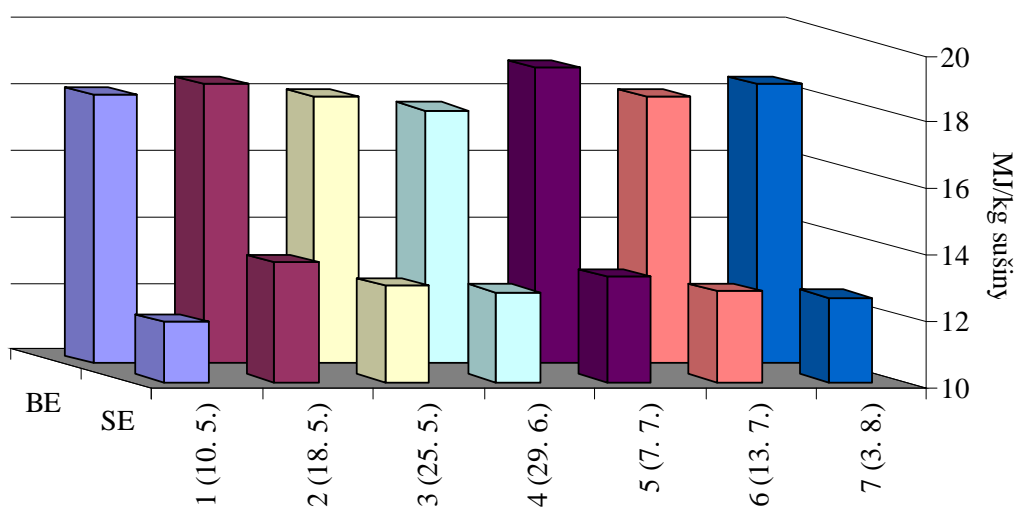
Obsah energie (MJ/kg sušiny) u vzorků jetele lučního.

Jetel luční	1 (1216)	2 (1218)	3 (1220)	4 (1227)	5 (1229)	6 (1231)	7 (1241)
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	3. 8.
Seč	A	A	A	B	B	B	C
BE	18,1	18,4	18,0	17,6	18,9	18,0	18,4
SE	11,8	13,6	12,9	12,7	13,2	12,8	12,6

BE = brutto energie, SE = stravitelná energie.

Graf 4

Obsah brutto energie (BE) a stravitelné energie (SE) u vzorků jetele lučního.



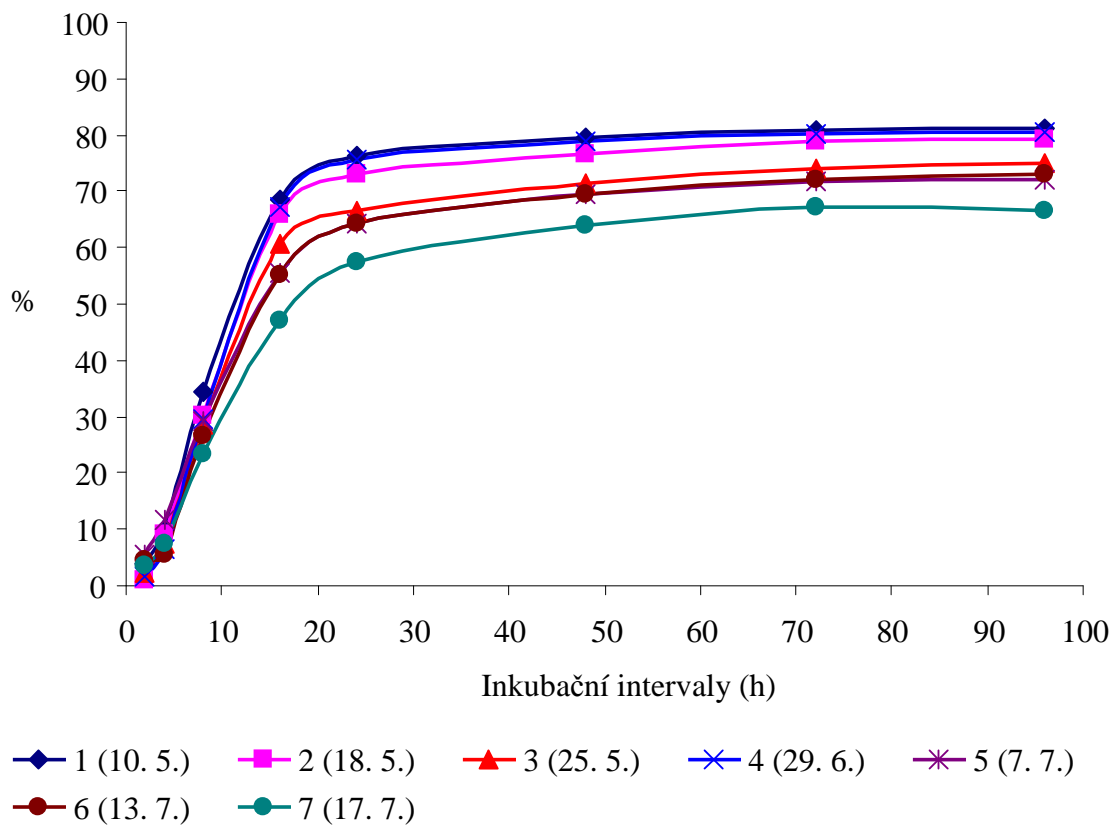
### 5.3. In situ analýzy

Pro stanovení bacherové degradovatelnosti NDF byly použity inkubační intervaly 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96 a 288 hodin (graf 5, tabulka 7). V tabulce 7 jsou zaznamenány průměrné, minimální a maximální hodnoty dosažené bacherové degradovatelnosti NDF v jednotlivých inkubačních intervalech. V rámci jednotlivých sečí (seče A, B, C) s postupující vegetační fází (termínem sklizně) byl zaznamenán pokles bacherové degradovatelnosti NDF. U bacherové degradovatelnosti NDF stanovené po 24 hodinovém inkubačním intervalu byly zjištěny průměrné hodnoty 76,3 % (jetel luční 1, termín odběru 10. 5.), 73,0 % (jetel luční 2, termín odběru 18. 5.), 66,5 % (jetel luční 3, termín odběru 25. 5.), 75,5 % (jetel luční 4, termín odběru 29. 6.), 64,2 % (jetel luční 5, termín odběru 7.

7.), 64,1 % (jetel luční 6, termín odběru 13. 7.) a 57,4 % (jetel luční 6, termín odběru 17. 8.). Nestravitelný podíl NDF (INDF) jetele lučního (tabulka 8) kolísal od 15,2 % do 31,4 %. Vliv doby sklizně na stupeň bachorové degradovatelnosti NDF uvádí Dehority (1993), Rinne a kol. (2002) a Jančík a kol. (2008). Rinne a kol. (2002) uvádí navýšení obsahu INDF v průběhu čtyř týdnů z 4,8 na 12,4 %.

Graf 5

*In situ* bachorová degradovatelnost (%) neutrálně detergentní vlákniny u vzorků jetele lučního.



Tabulka 7

Bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny (NDF) v jednotlivých inkubačních intervalech.

Bachorová degradovatelnost NDF v jednotlivých inkubačních intervalech (%)									
	2 h	4 h	8 h	16 h	24 h	48 h	72 h	96 h	288 h
Jetel luční 1 (1216), termín odběru 10. 5.									
průměr	3,8	10,0	34,4	68,5	76,3	79,5	80,9	81,1	82,7
minima	2,0	6,4	27,6	63,8	73,5	77,7	80,0	79,6	81,6
maxima	8,8	13,1	37,8	72,0	79,7	80,8	82,2	83,7	84,9
s.odch.	2,4	2,5	3,5	3,3	2,4	1,1	0,7	1,3	1,1
Jetel luční 2 (1218), termín odběru 18. 5.									
průměr	1,0	9,1	30,1	66,0	73,0	76,8	78,9	79,2	81,1
minima	0,3	6,1	13,1	62,1	67,9	75,4	77,2	76,6	79,3
maxima	2,3	14,6	40,3	69,3	75,3	77,7	80,3	81,4	83,1
s.odch.	0,7	3,1	9,2	2,3	2,4	0,9	1,0	1,5	1,3
Jetel luční 3 (1220), termín odběru 25. 5.									
průměr	2,4	7,5	28,6	60,6	66,5	71,4	74,0	75,1	77,9
minima	0,3	1,5	12,8	56,5	63,9	69,8	72,3	73,6	77,3
maxima	3,6	12,6	36,7	64,1	68,5	74,3	75,1	77,1	78,8
s.odch.	1,5	3,8	8,1	2,6	1,8	1,5	0,9	1,2	0,5
Jetel luční 4 (1227), termín odběru 29. 6.									
průměr	1,5	6,6	29,6	67,3	75,5	78,9	80,1	80,4	83,0
minima	0,1	0,4	18,6	57,5	72,3	78,4	78,7	78,8	81,4
maxima	3,4	11,3	36,9	73,1	78,7	79,6	81,6	81,3	84,2
s.odch.	1,3	3,9	7,2	5,0	1,9	0,4	0,9	0,9	1,1
Jetel luční 5 (1229), termín odběru 7. 7.									
průměr	5,5	11,7	29,2	55,6	64,2	69,6	71,7	72,2	74,9
minima	3,8	3,7	21,6	50,5	59,0	67,4	70,9	71,0	73,6
maxima	8,8	17,0	39,1	60,0	66,6	72,4	72,6	75,0	76,5
s.odch.	1,8	4,3	7,2	3,3	2,6	1,5	0,6	1,4	1,1
Jetel luční 6 (1231), termín odběru 13. 7.									
průměr	4,5	5,5	26,6	55,2	64,1	69,6	72,0	73,1	75,1
minima	3,0	0,3	11,9	52,5	60,8	67,6	71,3	71,0	73,8
maxima	7,3	12,8	33,9	61,0	67,9	71,7	72,7	75,6	75,7
s.odch.	1,4	4,7	7,5	3,3	2,2	1,5	0,4	1,6	0,6
Jetel luční 7 (1241), termín odběru 17. 8.									
průměr	3,6	7,5	23,2	47,1	57,4	63,9	67,1	66,6	69,6
minima	1,9	3,4	12,1	41,8	53,4	61,9	66,0	63,1	68,6
maxima	6,5	11,7	29,8	52,5	59,9	65,1	69,2	68,9	71,2
s.odch.	1,9	3,2	6,4	4,1	2,2	1,0	1,1	2,0	0,8

s.odch. = směrodatná odchylka.

Hodnoty parametrů bachorové degradovatelnosti NDF u vzorků jetele lučního jsou uvedeny v tabulce 8. K výpočtu ED NDF byla použita rovnice Ørskov a McDonald (1979)

s koeficientem pro výtokovou rychlost částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ . Rozpětí ED v rámci celého souboru bylo od 50,2 % do 67,1 %. ED NDF jednotlivých vzorků jetele lučního byla v průměru 66,1 % (10. 5.), 63,6 % (18. 5.), 59,2 % (25. 5.), 64,8 % (29. 6.), 57,4 % (7. 7.), 56,9 % (13. 7.) a 51,6 % (3. 8.). V tabulce 8 je uveden parametr DNDF (stravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny stanovený po 288 h *in situ* metodou) z důvodu porovnání této skutečně měřitelné *in situ* hodnoty s teoretickou (vypočtenou) hodnotou (parametrem b, tj. nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF). Průměrné hodnoty parametrů *in situ* bachorové degradovatelnosti (b, c a DNDF) byly 77,1 % (parametr b),  $0,0703 \text{ h}^{-1}$  (parametr c, tj. rychlost degradace frakce b) a 77,8 % (parametr DNDF) (tabulka 8). Tyto hodnoty parametrů bachorové degradovatelnosti jsou srovnatelné s výsledky, které publikovala Koukolová a kol. (2004).

Tabulka 8

Hodnoty parametrů efektivní bachorové degradovatelnosti neutrálně detergentní vlákniny (NDF) u vzorků jetele lučního.

Jetel luční		1 (1216)	2 (1218)	3 (1220)	4 (1227)	5 (1229)	6 (1231)	7 (1241)
Termín odběru		10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	3. 8.
Seč		A	A	A	B	B	B	C
b (%)	průměr	83,3	81,3	76,2	83,1	73,2	74,3	68,4
	minima	82,4	80,3	74,1	81,9	72,0	73,5	67,5
	maxima	84,9	82,3	78,0	84,0	74,4	75,6	69,6
	s.odch.	0,9	0,9	1,4	0,7	0,7	0,7	0,7
c ( $\text{h}^{-1}$ )	průměr	0,0769	0,0725	0,0704	0,0710	0,0731	0,0666	0,0621
	minima	0,0699	0,0611	0,0582	0,0632	0,0640	0,0540	0,0516
	maxima	0,0833	0,0821	0,0803	0,0772	0,0811	0,0736	0,0706
	s.odch.	0,0047	0,0069	0,0079	0,0057	0,0065	0,0069	0,0066
ED (%)	průměr	66,1	63,6	59,2	64,8	57,4	56,9	51,6
	minima	64,9	62,0	58,0	63,8	56,5	55,2	50,2
	maxima	67,1	64,7	60,3	66,0	58,3	58,3	53,2
	s.odch.	0,8	0,9	1,0	1,0	0,7	1,2	1,1
DNDF (%)	průměr	82,7	81,1	77,9	83,0	74,9	75,1	69,6
(288 h)	minima	81,6	79,3	77,3	81,4	73,6	73,8	68,6
	maxima	84,9	83,1	78,8	84,2	76,5	75,7	71,2
	s.odch.	1,1	1,3	0,5	1,1	1,1	0,6	0,8

b = nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF; c = rychlost degradace frakce b, ED = efektivní bachorová degradovatelnost NDF počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ , DNDF = stravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny stanovený po 288 h *in situ* metodou, s.odch. = směrodatná odchylka.

## 5.4. Statistické vyhodnocení

Tabulka 9 zobrazuje korelační koeficienty zjištěné mezi jednotlivými sledovanými nutričními hodnotami jetele lučního. ED NDF zřetelně korelovala ( $P < 0,05$ ) s obsahem NL ( $r = 0,902$ ), NDF ( $r = -0,873$ ), ADF ( $r = -0,961$ ), b ( $r = 0,953$ ) a c ( $r = 0,599$ ). KS OH negativně koreloval ( $r = -0,831$ ,  $P < 0,05$ ) s hrubou vlákninou (CF). INDF signifikantně ( $P < 0,05$ ) korelovala s obsahem původní sušiny jetele lučního ( $r = 0,683$ ), NL ( $r = -0,757$ ) a ADF ( $r = 0,878$ ). Parametry bachorové degradovatelnosti (b, c a ED) vykazovaly s proměnnou INDF statisticky průkazné ( $P < 0,05$ ) korelační koeficienty  $-0,953$  (b),  $-0,479$  (c) a  $-0,961$  (ED).

Metodou mnohonásobného srovnávání Scheffého testem (tabulka 10) byl prokázán statisticky významný rozdíl v ED NDF a parametru b (nerozpustné, ale potenciálně degradovatelné frakci NDF) mezi jednotlivými termíny sklizně jetele lučního. S narůstající vegetační zralostí jetele lučního docházelo k poklesu ( $P < 0,05$ ) efektivní degradovatelnosti NDF (tabulka 10). Průběh změn parametrů degradovatelnosti a stravitelnosti NDF v závislosti na růstové fázi hodnotil ve své práci Jančík a kol. (2008). Výrazně lepší stravitelnost NDF u mladších porostů oproti porostům sklizeným později popisují také u trav Harrison a kol. (2003) a u kukuřice Di Marco a kol. (2002). Snižování parametrů b a c pro degradovatelnost sušiny u ovsa v průběhu stárnutí uvádí ve své práci Micek a kol. (2001). Jančík a kol. (2008) potvrdil patrný pokles parametrů b, ED a naopak nárůst INDF v době po začátku metání všech sledovaných druhů trav.

Tabulka 9

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

	Sušina původní	Popel	Tuk	NL	CF	BNLV	NDF	ADF	ADL	BE	b	c	ED	INDF
Popel	-0,317													
Tuk	0,219	-0,001												
NL	-0,503	0,336	0,607											
CF	-0,087	0,562	0,339	0,194										
BNLV	0,274	<b>-0,776</b>	-0,395	-0,484	<b>-0,921</b>									
NDF	0,300	-0,318	-0,688	<b>-0,908</b>	-0,180	0,448								
ADF	<b>0,771</b>	-0,273	-0,324	<b>-0,885</b>	-0,175	0,420	<b>0,808</b>							
ADL	-0,458	-0,572	0,201	-0,458	-0,086	0,340	0,525	0,702						
BE	0,387	-0,535	0,546	-0,155	-0,033	0,215	0,066	0,272	0,612					
b	-0,587	0,389	0,293	<b>0,889</b>	0,140	-0,432	<b>-0,852</b>	<b>-0,919</b>	-0,718	-0,506				
c	-0,474	-0,323	0,495	0,657	-0,047	-0,033	-0,659	<b>-0,782</b>	-0,287	0,267	<b>0,330</b>			
ED	-0,607	0,228	0,373	<b>0,902</b>	0,101	-0,361	<b>-0,873</b>	<b>-0,961</b>	-0,662	0,341	<b>0,953</b>	<b>0,599</b>		
INDF	<b>0,683</b>	-0,205	-0,056	<b>-0,757</b>	-0,049	0,278	0,623	<b>0,878</b>	0,640	0,595	<b>-0,953</b>	<b>-0,479</b>	<b>-0,961</b>	
KS OH	-0,268	-0,405	-0,356	0,107	<b>-0,831</b>	0,683	-0,137	-0,280	-0,361	-0,298	0,329	0,354	0,365	-0,442

NL = dusíkaté látky; CF = hrubá vláknina; BNLV = bezdusíkaté látky výtahové; NDF = neutrálně detergentní vláknina; ADF = acido detergentní vláknina; ADL = acido detergentní lignin; BE = brutto energie; b = nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF; c = rychlost degradace frakce b; ED = efektivní bachorová degradovatelnost NDF počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ ; INDF = nestavitelný podíl NDF; KS OH = koeficient stravitelnosti organické hmoty stanovený *in vivo* metodou.

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

Tabulka 10

Test statisticky významných rozdílů ( $P < 0,05$ ) mezi jednotlivými vzorky jetele lučního ve vztahu k parametrům bachorové degradovatelnosti neutrálně detergentní vlákniny.

Jetel luční	1 (1216)	2 (1218)	3 (1220)	4 (1227)	5 (1229)	6 (1231)	7 (1241)
Termín odběru	10. 5.	18. 5.	25. 5.	29. 6.	7. 7.	13. 7.	3. 8.
Seč	A	A	A	B	B	B	C
b (%)	83,3 <sup>a</sup>	81,3 <sup>a</sup>	76,2 <sup>b</sup>	83,1 <sup>a</sup>	73,2 <sup>c</sup>	74,3 <sup>b,c</sup>	68,4 <sup>d</sup>
c (h <sup>-1</sup> )	0,0769	0,0725	0,0704	0,0710	0,0731	0,0666	0,0621
ED (%)	66,1 <sup>a</sup>	63,6 <sup>b</sup>	59,2 <sup>c</sup>	64,8 <sup>a,b</sup>	57,4 <sup>c,d</sup>	56,9 <sup>d</sup>	51,6 <sup>e</sup>

b = nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF; c = rychlost degradace frakce b, ED = efektivní bachorová degradovatelnost NDF počítána s výtokovou rychlostí částic krmiva z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$ .

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

## 6. Závěr

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



## 7. Souhrn

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

Termín odběru statisticky významně ovlivnil ( $P < 0,05$ ) obsah jednotlivých složek jetele lučního (popel, NL, CF, NDF, ADF a ADL a BE). V průměru popel vykazoval 119,2 g/kg sušiny, NL 197,7 g/kg sušiny, CF 236,5 g/kg sušiny, NDF 400,7 g/kg sušiny, ADF 296,2 g/kg sušiny, ADL 73,8 g/kg sušiny a BE 18,2 MJ/kg sušiny. S postupující vegetační fází klesala *in vivo* stravitelnost OH a BE. Koeficienty *in vivo* stravitelnosti OH a BE byly v průměru 72,4 % (KS OH) a 70,2 % (KS BE). Efektivní bachorová degradovatelnost NDF rovněž klesala ( $P < 0,05$ ) s postupující vegetační fází; průměrné hodnoty ED pro jednotlivé termíny odběrů byly 66,1 % (10. 5.), 63,6 % (18. 5.), 59,2 % (25. 5.), 64,8 % (29. 6.), 57,4 % (7. 7.), 56,9 % (13. 7.) a 51,6 % (3. 8.). Průměrné hodnoty parametrů *in situ* bachorové degradovatelnosti byly 77,1 % pro parametr b (potenciální stravitelnost NDF),  $0,0703 \text{ h}^{-1}$  pro parametr c (rychlost degradace frakce b) a 77,8 % pro parametr DNDF (stravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny stanovený po 288 h *in situ* metodou).

## 8. Summary

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

The contents of ash, crude protein (NL), crude fibre (CF), NDF, acid detergent fibre (ADF), acid detergent lignin (ADL) and BE were significantly ( $P < 0,05$ ) affected by the date of cutting time. The averaged values were for ash 119,2 g/kg of dry matter, NL 197,7 g/kg of dry matter, CF 236,5 g/kg of dry matter, NDF 400,7 g/kg of dry matter, ADF 296,2 g/kg of dry matter, ADL 73,8 g/kg of dry matter and BE 18,2 MJ/kg of dry matter. KS OH and KS BE generally decreased with higher dates of cutting time. On average KS OH and KS BE amounted 72,4 % and 70,2 %, respectively. The effective ruminal degradability (ED) of NDF generally decreased ( $P < 0,05$ ) with increasing date of cutting time with values of 66,1 % (May 10), 63,6 % (May 18), 59,2 % (May 25), 64,8 % (June 29), 57,4 % (July 7), 56,9 % (July 13) a 51,6 % ( August 3). *In situ* characteristics were in average 77,1 % for the potential degradable NDF fraction (parameter b), 0,0703 h<sup>-1</sup> for the fractional rate of degradation (parameter c) and 77,8 % for the digestible NDF (parameter DNDF).

## 9. Seznam literatury

1. Anonymous, 1998. Method for Determining Neutral Detergent Fiber (aNDF). Ankom Technology, USA. pp. 2.
2. AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> Edition. Washington, DC.
3. Arieli A., Shahar K., Mabjeesh S. J., Zamwel S., Sklan D., 1999. Estimation of the digestible energy of ruminant feedstuffs by the combined bag technique. J. Dairy Sci. 82, 566-573.
4. Ball D. M., Collins M., Lacefield G. D., Martin N. P., Mertens D. A., Olson K. E., Putnam D. H., Undersander D. J., Wolf M. W., 2001. Understanding forage quality. American Farm Bureau Federation Publication 1-01, Park Ridge, IL.
5. Bartoš S., 1987. Mikrobiologie a biochemie trávení v bacheru přežvýkavců. Academia Praha. 10, 184 p.
6. Beever, D.E., Mould, F.L., 2000. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. In: Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.), Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CAB International, pp. 15-42.
7. Coblenz W. K., Fritz J. O., Fick W. H., Cochran R. C., Shirley J. E., 1998. *In situ* dry matter, nitrogen, and fiber degradation of alfalfa, red clover, and eastern gamagrass at four maturities. J. Dairy Sci. 81, 150-161.
8. Dehority B. A., 1993. Microbial ecology of cell wall fermentation. In: H. G. Jung *et al.* (Editors), Forage cell wall structure and digestibility, Amer. Soc. Agron., Madison, Wisconsin. 425-453.
9. Di Marco O. N., Aello M. S., Nomdedeu M., Van Houtte S., 2002. Effect of maize crop maturity on silage chemical composition and digestibility (*in vivo*, *in situ* and *in vitro*). Anim. Feed Sci. Technol. 99, 37-43.

10. Dubbs T. M., Vanzant E. S., Kitts S. E., Bapst R. F., Fieser B. G., Hewlett C. M., 2003. Characterization of season and sampling method effects on measurement of forage duality in fescue-based pastures. *J. Anim. Sci.* 81, 1308-1315.
11. Eastridge M. L., 2006. Major advances in applied dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* 89, 1311-1323.
12. Elizalde J. C., Merchen N. R., Faulkner D. B., 1999. *In situ* dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. *J. Dairy Sci.* 82, 1978-1990.
13. Grenet E., 1970. Taille et structure des particules végétales au niveau et des reces chez les bovins. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 4, 643-657.
14. Grenet E., Jamot I., 1990. XVI. International Congree, Nice. 919-920.
15. Harazim J., Pavelek L., Čerešňáková Z., Homolka P., Třináctý J., Jambor V., Pozdíšek J., Zeman L., 1999. Metodika pro stanovení degradovatelnosti dusíkatých látek a aminokyselin krmiv v bachoru přežvýkavců (Metoda „*in situ*, *nylon bag*“). Sborník mezinárodní vědecké konference „Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců“, Opava. 115-118.
16. Harrison J., Huhtanen P., Collins M., 2003. Perennial grasses. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 677 S. segoe Rd., Madison, WI 53711, USA. Silage Science and Technology, Agronomy Monograph no. 42.
17. Hoffman P. C., Sievert S. J., Shaver R. D., Welch D. A., Combs D. K., 1993. *In situ* dry matter, protein, and fiber degradation of perennial forages. *J. Dairy Sci.* 76, 2632-2643.
18. Horák V., Stazzková L., 1998. Rostlinné polysacharidy. Biochemie, Skripta České Zemědělské Univerzity v Praze, 200 p.
19. Hvelplund T., Weisbjerg M. R., 2000. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability. In: D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford,

- H. M. Omed (Editors), Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CABI Publishing, 233-258.
20. Illek J., Matějček M., 2002. Použití propylenglykolu ve výživě dojnic. *Náš chov*. 1, 54-55.
21. Jančík F., Homolka P., Koukolová V., 2008. Optimální termín sklizně trav z pohledu trávení buněčné stěny. *Metodika*. 33 p. ISBN 978-80-7403-011-6.
22. Janknecht G., 2000. Americké hodnocení krmiv s NDF a ADF. *Úspěch ve stáji*. 3, 3-4
23. Koukolová V., Homolka P., 2008. Význam hodnocení vlákniny ve výživě dojnic. *Výživa dojnic, Pohořelice* 5. 6. 2008. 25-30.
24. Koukolová V., Weisbjerg M. R., Hvelplund T., Lund P., Čermák B., 2004. Prediction of NDF degradation characteristics of grass/clover forages based on laboratory methods. *J. Anim. Feed Sci.* 13, 691-708
25. Kowalczyk J., Zebrowska T., 2000. Włókno pokarmowe sklad chemiczny i biologiczne dzialanie. *Institut Fizjologii i Zwierzat im. Jana Kielanowskiego w Jablonnie*, 05-110 Jablonna, 119-127.
26. Kudrna V., Čermák B., Doležal O., Frydrych Z., Hermann H., Homolka P., Illek J., Loučka R., Macháčová E., Martínek V., Mikyska F., Mrkvička J., Mudřík Z., Pindík J., Poděbradský Z., Pulkrábek J., Skřivanová V., Šantrůček J., Šimek M., Veselá M., Vrzal J., Zelenka J., Zemanová D., 1998. *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj Praha. 362 p.
27. Lund P., 2002. The effect of forage type on passage kinetice and digestibility of fibre in dairy cows. Ph.D.- Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University (Denmark). 171 p.
28. Marten G. C., Buton D. R., Barnes R. F., 1988. Feeding value (forage quality). In *Alfalfa and Alfalfa Improvement*, Monograph no. 29. Madison, Wis.: ASSA/CSSA/SSSA.
29. Mertens D. R., 1994. Regulation of feed intake. In: G. C. Fahey, J. M. Collins, D. R. Mertens, L. E. Moser (Editors), *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. American

- Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI. 450 – 493.
30. Micek P., Kowalski Z. M., Borowiec F., Shelford J. A., 2001. Digestibility of whole grain crop silages determined by different methods. *J. Anim. Feed Sci.* 10, 696-706.
31. Míka V., 1988. Hodnocení kvality píce ve šlechtění trav. Doktorská disertační práce. 1. díl, 316 p.
32. Míka V., Harazim J., Kalač P., Kohoutek A., Komárek P., Pavlů V., Pozdíšek J., 1997. Kvalita píce. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha. ISBN 80-96153-59-2, 227 p.
33. Nováková Š., 2002. Rozbor sacharidového spektra – Lignin jako faktor limitující stravitelnost a využití živin. Diplomová práce. Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. 85 p.
34. Ørskov E. R., McDonald I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agr. Sci.* 92, 499-503.
35. Reece W. O., 1998. Fyziologie hospodářských zvířat. Praha, Grada Publishing, 1. vydání. 456 p.
36. Rinne M., Huhtanen P., Jaakkola S., 2002. Digestive processes of dairy cows fed silages harvested at four stages of grass maturity. *J. Anim. Sci.* 80, 1986-1998.
37. Rinne M., Nykänen A., 2000. Timing of primary growth harvest affects the yield and nutritive value of timothy-red clover mixtures. *Agric. Food Sci. Finl.* 9, 121-134.
38. SAS Institute, 2003. SAS; Statistic's Version 9.1 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
39. Selgen, 2009. Agrotechnika jetele lučního-diploidního [online].[cit 2009-03-06]. <http://www.selgen.cz>
40. Sommer A., Čerešňáková Z., Frydrych Z., Králík O., Králíková Z., Krása A., Pajtáš M., Petrikovič P., Pozdíšek J., Šimek M., Třináctý J., Vencl B., Zeman L., 1994.

- Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce. Česká akademie zemědělských věd, 198 p. ISBN 80-901598-1-8.
41. Sova Z., Bukvaj J., Koudela K., Kroupová V., Pješčak M., Podaný J., 1990. Fyziologie hospodářských zvířat. SPN Praha, 469 p.
42. Statistická ročenka České republiky, 2009. Bilance půdy [online].[cit 2009-03-06]. <[http://www.czso.cz/csu/2008edicniplan.nsf/t/6E004991F3/\\$File/0001081405.xls](http://www.czso.cz/csu/2008edicniplan.nsf/t/6E004991F3/$File/0001081405.xls)>
43. Stensig T., Weisbjerg M. R., Madsen J., Hvelplund T., 1994. Estimation of voluntary feed intake from *in sacco* degradation and rate of passage of DM and NDF. Livest. Prod. Sci. 39, 49-52.
44. Třináctý J., Šustala M., Richter M., Doležal P., 2000. Hodnocení obsahu NDF v krmných dávkách skotu. Krmivářství. 5, 41-42.
45. Urban F., Bouška J., Čermák V., Doležal O., Fulka J. (jr.), Fulka J., Futerová J., Homolka P., Jílek F., Kudrna V., Loučka R., Macháčová E., Marounek M., Miklík J., Mudřík Z., Jaroslav P., Poděbradský Z., Šereda L., Skřivanová V., Váchal J., Vetyška J., Žižlavský J., 1997. Chov dojeného skotu. Nakladatelství APROS, ISBN 80-901100-7-X. 288 p.
46. Vajda V., Mitrík T., Maskal'ová I., Bachratý M., 2003. Nutričná regulácia bachorových funkcií. Slovenský chov. 4, 32-33.
47. Van Saun J. R., Koukal P., 2003. Výživa přežvýkavců – trávení sacharidů. Farmář. 1, 40-42.
48. Van Soest P. J., 1994. Nutritional Ecology of The Ruminant. Cornell University Press. pp. 476.
49. Van Soest P. J., Robertson J. B., Lewis B. A., 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.
50. Van Straalen W. M., Dooper F. M. H., Antoniewicz A. M., Kosmala I., Van Vuuren A. M., 1993. Intestinal digestibility in dairy cows of protein from grass and clover measured with mobile nylon bag and other methods. J. Dairy Sci. 76, 2670-2981.

51. Vencl B., 1990. Possibility of digestible organic matter prediction by chemical and *in vitro* methods. In: New Systems of Energy and Protein Evaluation for Ruminants, Praha, 1990.
52. Wikipedie, 2009. Bobovité [online].[cit 2009-03-06]. <<http://cs.wikipedia.org/wiki/>
53. Zeman L., Doležal P., Kopřiva A., Mrkvicová E., Procházková J., Ryant P., Skládanka J., Straková E., Suchý P., Veselý P., Zelenka J., 2006. Výživa a krmení hospodářských zvířat, 360 p., ISBN 80-86726-17-7.



## 10. Obrazová příloha

Obr. č. 1. Nosič nylonových sáčků.



(autor: Ondřej Koukol)

Obr. 2. Filtrace nezdegradovaných reziduí vzorků z nylonových sáčků do filtračních sáčků Ankom F57.



(autor: ing. Petr Homolka, CSc., Ph.D.)

Obr. č. 3. Filtrační sáčky (Ankom F57) určené do přístroje Ankom 220 Fiber Analyzer.



(autor: Ondřej Koukol)

Obr. č. 4. Ankom 220 Fiber Analyzer, přístroj pro stanovení frakcí vlákniny.



(autor: Ondřej Koukol)