



Mendelova univerzita v Brně

Ústav výživy zvířat a pícninářství

Vliv mykotoxinů ve výživě skotu

Doktorská disertační práce

Vedoucí práce:

prof. Ing. Ladislav Zeman, Csc.

Vypracoval:

Ing. Michal Hulík

Brno 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci Vliv mykotoxinů ve výživě skotu vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v přiloženém seznamu literatury.

Disertační práce je školním dílem a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího disertační práce a děkana Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně.

Podpis doktoranda:

V Brně dne

Poděkování

Především mi dovoluňte poděkovat vedoucímu mé práce prof. Ing. Ladislavu Zemanovi, CSc., za odborné konzultace a mnohé jeho odborné rady, které mi poskytoval v průběhu celého mého studia. Další mé poděkování patří panu Martinovi Kulhavému a mnohým dalším kolegům, kteří mi podali cennou pomoc při realizaci pokusů a provádění analýz. v této práci popsané pokusy také proběhly díky podpoře společnosti Alltech, které bych chtěl poděkovat za poskytnutí jejího produktu spolu s odbornou podporou. Na závěr bych rád vyjádřil dík své rodině, jež mi během mého studia poskytovala příznivé podmínky, díky kterým jsem mohl sepsat zde předkládanou práci.

Abstrakt

HULÍK, M. Vliv mykotoxinů ve výživě skotu. Disertační práce, Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014, 88 s.

Cílem této práce je zjistit vliv mykotoxinů na užitkovost ve výživě skotu a především dojnic. Vzhledem k tomu, že je nyní ekonomicky nevyhnutelné maximalizovat produkční potenciál dojnic, který je závislý na kvalitě krmiva, například částečně také na obsahu mykotoxinů, je nutné určit reálné efekty mykotoxinů ve výživě skotu a také najít cesty jak jim zabránit. Této problematice se věnujeme jak teoreticky tak prakticky. Tuto disertační práci můžeme proto rozdělit na dvě části, v první části je čtenáři nabízen detailní přehled významných mykotoxinů a jejich vlastností popsaných v odborné literatuře, těžiště této práce však leží v praktické části. Experiment spočíval v přidávání přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů do směsné krmné dávky (TMR), která byla pravidelně testována na obsah důležitých mykotoxinů, s cílem zjistit, zda má tento přípravek pozitivní vliv na zdraví dojnic a také zda tento přípravek může eliminovat negativní vliv mykotoxinů v krmivu. Během čtyřměsíčního pokusu byla šesti skupinám dojnic v provozní stáji Agrodružstva Sebranice střídavě podávána standardní krmná směs střídavě s a bez výše popsané přídatné látky, přičemž byly sledovány jejich zdravotní stav, procento zabřezávání a dojivost. Co se týče zdravotního stavu, konkrétně výskytu mastitid u dojnic, nebyl zaznamenán žádný významný trend. Průměrná mléčná užitkovost dojnic krmených obohacným krmivem (30,2 kg/den) byla nepatrně nižší v porovnání s kontrolními skupinami (31 kg/den, oba výsledky $P < 0,001$), nicméně obsah tuku v mléce dojnic krmených obohacným krmivem byl výrazně vyšší 4,02 % oproti 3,79 %. U dojnic, jimž byla podávána krmná směs s přídatkem na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů, byl zaznamenán nárůst v průměrné míře zabřezávání (62,25 % se směrodatnou odchylkou 14,4 %) i její stabilitě (u dojnic z kontrolní skupiny byla průměrná míra zabřezávání 42,95 % a její směrodatná odchylka 21,1 %), tento nárůst také přetrvával i po vysazení přípravku z krmiva.

Klíčová slova: Mykotoxiny, výživa skotu, β -glukany, březost skotu, dojivost skotu.

Abstract

HULÍK, M. Effect of mycotoxins in cattle nutrition. Disertation thesis, Brno: Mendel University in Brno, 2014, 88p.

The main subject of this doctoral thesis is an effect of mycotoxins in cattle nutrition. Since it is economically inevitable to maximize the production potential of dairy cows which depends highly on quality of their nutrition, partly given by the contents of mycotoxins, it is necessary to determine the real effects of mycotoxins in cattle nutrition and to find ways how to avoid them. This problematic is being dealt with in two ways: theoretical and practical. Therefore this thesis can be regarded as of two parts: in the theoretical part, a detailed overview of important mycotoxins and their properties described in various sources is presented to the reader, the most significant part is, however, the practical one. An experiment was conducted with adding an agent based on 1,3 and 1,6 β -glucans to standard cattle nutrition (TMR), which was regularly tested for content of some important mycotoxins, in order to gain knowledge about possible positive effect of this agent on the health of dairy cattle and about possible avoidance of negative effects of mycotoxins on dairy cattle due to their structural elimination caused by the agent. Using data from a control sample it is also able to determine some effects of mycotoxins contained in nutrition on dairy cattle in general. Throughout the four months long experiment, which took in place at Farm Sebranice in the Czech Republic, six groups of dairy cattle were fed alternately the standard nutrition and the above-discussed agent-enriched nutrition while data of their health state, milk yield and pregnancy rate were collected. Concerning health of cows, specifically the occurrence of mastitis, there was found no significant trend. The average milk yield of the dairy cows which were fed the agent enriched feed (30.2 kg a day) was slightly lower in comparison to control groups (31 kg a day, both results with $P < 0.001$), however, fat content of milk of test groups' cows (4.02 %) was considerably higher than that of control groups' cows (3.79 %). The average pregnancy rate of cows which were fed the agent enriched feed also manifested considerable increase in percentage and stability (from 42.95 % of control groups' cows to 62.25 % of test groups' cows, the standard deviation decreased from 21.1 % to 14.4 % which means smaller differences among pregnancy rate of test groups' cows, hence higher stability), this increase manifested even long after the cows had been fed regular feed again.

Key words: Mycotoxins, cattle nutrition, β -glucans, dairy cattle pregnancy rate, milk yield.

Obsah

| | |
|--|----|
| Abstrakt | 5 |
| Abstract | 6 |
| 1 Úvod | 8 |
| 2 Přehled literatury | 9 |
| 2.1 Mykotoxiny | 9 |
| 2.1.1 Aflatoxiny | 10 |
| 2.1.2 Citrinin | 11 |
| 2.1.3 Cyklochlorotin (Islanditoxin) | 13 |
| 2.1.4 Fumonisy | 13 |
| 2.1.5 Kyselina cyklopiazonová | 14 |
| 2.1.6 Kyselina penicillová | 14 |
| 2.1.7 Luteoskyrin | 16 |
| 2.1.8 Ochratoxin A | 16 |
| 2.1.9 Patulin | 19 |
| 2.1.10 Rubratoxin | 19 |
| 2.1.11 Sterigmatocystin | 21 |
| 2.1.12 Tremorgeny | 21 |
| 2.1.13 Trichotheceny | 21 |
| 2.1.14 Zearalenon | 27 |
| 2.1.15 Maskované mykotoxiny | 29 |
| 2.2 Vliv mykotoxinů na organismus přežvýkavců | 30 |
| 2.3. Interakce mykotoxinů | 32 |

| | |
|---|----|
| 2.4 Analýza mykotoxinů | 35 |
| 2.4.1 Fyzikálně-chemické metody | 35 |
| 2.4.2 Biologické metody | 35 |
| 2.4.3 Toxikologické metody | 36 |
| 2.4.4 Mikrobiologické metody | 37 |
| 2.5 Mykotoxiny v objemných krmivech a jejich vliv na dojnice | 38 |
| 2.6 Neutralizace vlivu mykotoxinů | 42 |
| 3 Cíle a hypotéza disertační práce | 44 |
| 4 Materiál a metodika | 45 |
| 5 Výsledky a diskuze | 48 |
| 5.1 Vyhodnocení mléčné užitkovosti a vlastností mléka | 48 |
| 5.1.1 Mléčná užitkovost a obsah tuku v mléce | 48 |
| 5.1.2 Obsah laktózy a bílkovin v mléce | 53 |
| 5.2 Vyhodnocení reprodukce | 59 |
| 5.3 Vyhodnocení mastitid | 60 |
| 6 Závěr | 62 |
| 7 Seznam literatury | 64 |
| 8 Přílohy | 70 |

1 Úvod

Současná doba uvolňování regulací trhu přináší zemědělcům mnohé výzvy. Zejména našich prvovýrobců mléka se týká uvolnění kvót pro výrobu mléka v celé Evropské unii, jež je plánováno na rok 2015. Toto opatření postaví české zemědělce do konkurence lépe dotovaným výrobcům ze západoevropských zemí a také farmářům z východoevropských zemí s konkurenceschopnějšími cenami, zintenzivnění výroby je jednou z možností jak v této situaci ekonomicky obstát, tedy zachovat tržby vyšší než náklady.

Klíčem k úspěchu jsou nyní, i v nejisté situaci po roce 2015, budou nesporně kvalitní management chovu a kvalitní úroveň výživy, díky kterým zemědělci mohou a budou schopni dosáhnout plného využití geneticky podmíněného potenciálu skotu současných plemen. Základem optimální výživy dojnic jsou konzervovaná objemná krmiva, především pak kvalitní siláž a senáž. Při výrobě těchto objemných krmiv však ne vždy panuje příznivý klimatický stav, velmi často jsou jejich výrobci nuceni sklízet za nepříhodných podmínek, tímto se však zakládají problémy s kvalitou těchto krmiv. Dochází totiž například k růstu mnohých druhů plísní, jejichž metabolity - mykotoxiny mohou způsobovat produkční i zdravotní problémy u takto krmeného dobytka. Dojnice, které tyto kontaminovaná krmiva přijímají, nejsou schopny dosáhnout stropu svého produkčního potenciálu, v porovnání se stavem, kdy jsou krmeny krmivy s mnohem menším množstvím plísní, a tedy pravděpodobně i mykotoxinů. Nezanedbatelnost těchto efektů podporuje i má osobní zkušenost z Ruska, kde byla na některých farmách objemná krmiva silně zasažena plísněmi *Penicilium roqueferti*, což mělo za následek v horizontu asi jednoho měsíce zjištění přítomnosti antibiotik v mléce odběratelskou mlékárnou, a tedy ekonomickou ztrátu. Takové mléko totiž nelze použít k výrobě jogurtů a ani sýrů.

Tato, jak je z uvedených informací nasnadě, nanejvýš aktuální a komplexní problematika je hlavním tématem této disertační práce, jež by měla být syntézou teoretických poznatků se zjištěními z pokusu, respektive praxe.

2 Přehled literatury

V literárním přehledu popisujeme vlastnosti jednotlivých mykotoxinů, jejich metabolismus, vliv na skot, zejména na dojnice, dále neutralizaci mykotoxinů, uvádíme také některé jejich přípustné a maximální hladiny.

2.1 Mykotoxiny

V průběhu sekundární látkové výměny bývají u různých druhů hub často tvořeny různé chemické látky. Existují pravděpodobně desítky tisíc různých metabolitů plísní. Metabolity plísní, které jsou obsažené v potravinách či v krmivech a ví se o nich nebo jsou podezřelé, že mohou způsobovat onemocnění lidí nebo zvířat, se počítají pouze ve stovkách (RILEY, 1998). Metabolity plísní, které po konzumaci či po vstřebání zvířaty způsobí zdravotní či jiné problémy, pak označujeme jako mykotoxiny. K jejich tvorbě dochází ve chvíli, kdy převažují optimální podmínky (WOLF, 2002, WÖHLER, 2003) jako je příznivá teplota, vlhkost a dobré zásobení uhlohydráty (BAATH *et al.*, 1990). Mykotoxiny ohrožují lidstvo již od doby, kdy se na polích pěstují plodiny pro hospodářské účely. Jejich skutečná chemická struktura, podstata a metabolismus byly objeveny až po roce 1960. První dostupné záznamy o jejich existenci se datují od objevení aflatoxinu na počátku 60. let 20. století. Mykotoxiny byly nejprve pouze považovány za fenomén, který se vyskytoval při skladování obilovin v nesprávných podmínkách. Plísně, které pokryly skladované obiloviny, začaly produkovat sekundární metabolity, jejichž toxické účinky se později objevily po konzumaci takto napadeného obilí. Později bylo také zjištěno, že aflatoxiny a jiné druhy mykotoxinů mohou být dokonce produkovány již v průběhu růstu obilovin na poli (RICHARD, 2007).

Výše ekonomických ztrát v chovech hospodářských zvířat způsobených kontaminací krmiv mykotoxiny jsou ve světě odhadovány na miliony dolarů ročně (NEDĚLNÍK, MORAVCOVÁ, 2005). Nejvyšší možné obsahy důležitých mykotoxinů v krmivech se pro Českou republiku řídí doporučením Komise 2006/576/ES.

V následujícím textu je podán abecední přehled nejdůležitějších mykotoxinů a jejich skupin, jsou uvedeny některé produkující houby a toxikologické indikace různých látek. Na konci této části je věnován prostor také vysoce aktuální problematice maskovaných mykotoxinů, jsou uvedeny obecné informace a odkazy na adekvátní literaturu.

2.1.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny jsou skupina příbuzných látek, které byly mezi mykotoxiny objeveny jako první. Produkovány jsou téměř výlučně kmeny *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* (KALÁČ a MÍKA, 1997). Jde o vřeckaté houby, nevytvářející pohlavní stadium. Mutace způsobené pomocí produkovaného aflatoxinu a následná selekce jsou procesy, které uvedeným druhům spolu s tzv. parasexuálními jevy nahrazují sexuální proces jako takový. Produkce aflatoxinů silně závisí na vnějších podmínkách, např. na teplotě, vlhkosti, přístupu vzduchu, struktuře a chemickém složení substrátu. Důležité jsou i vlivy doprovodné mikroflóry, např. inhibice tvorby aflatoxinů vlivem *Aspergillus niger* (ŠIMŮNEK, 2000).

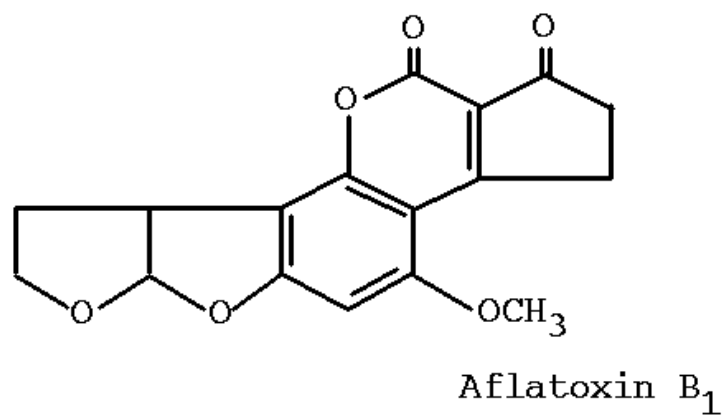
Jak uvádí KALÁČ a MÍKA, (1997), nebo ŠIMŮNEK, (2000), aflatoxin B₁ (obr. 1) je nejsilnější dosud známý přírodní karcinogen. Za základní aflatoxiny dále považujeme B₁, B₂, G₁, a G₂. Aflatoxiny dalších řad (M, P, H, Q aj.) byly nejprve zjištěny jako metabolity v organismech zvířat, popř. ve tkáňových kulturách. Později byli ovšem zjištěni a vyselektováni producenti některých z uvedených mykotoxinů. Za důležitý lze též považovat aflatoxikol, což je derivát aflatoxinů, který v krvi koluje vázán na albuminy. Některé z přírodních aflatoxinů se na něj různými biochemickými pochody přeměňují, aflatoxikol sám je schopen přeměny na aflatoxin B_{12,3}-epoxid, který se váže na DNA a RNA, což je biochemickým podkladem jeho účinků na proteosyntézu a přenos dědičné informace (ŠIMŮNEK, 2000). Existují látky, které jsou schopné biosyntézu aflatoxinů do určité míry blokovat, např. kofein (MORNSTEIN, 1996), jiné látky, jako jsou některé mikroelementy a některá organická rozpouštědla, naopak jejich produkci zvyšují (FAILLA *et al.*, 1986, FANELLI *et al.*, 1986). Aflatoxiny mohou u člověka vyvolat Reyův syndrom (Pivoňková, 2013), zánět jater, primární hepatom a stavy útlumu imunity (ŠIMŮNEK, 2000).

Dle NEDĚLNÍK *et al.* (2006) byly průměrné koncentrace aflatoxinů mezi lety 2002 a 2003 v objemných krmivech v České republice ve vojtěškové siláži 3,5 µg/kg, v kukuřičné siláži 1,4 µg/kg, v jetelotravní siláži 2,8 µg/kg, v travní siláži 2,4 µg/kg, v celorostlinné siláži z ječmenu 2,4 µg/kg. Dle RODRIGUES a NAEHRER (2012) byly průměrné koncentrace aflatoxinů a horní kvartily jejich koncentrace v pozitivních vzorcích mezi lety 2009 a 2011 ve vzorcích ze střední Evropy v kukuřici 1,0 (1,8) µg/kg, v sóji 0,0 (1,3) µg/kg, v pšenici a otrubách 0,0 (2,0) µg/kg, v hotových krmivech 0,0 (0,8) µg/kg. Maximální hodnoty aflatoxinů v krmivu (88 % sušiny) jsou stanoveny směrnici Evropského parlamentu a Rady 2002/32/ES

takto: v krmných surovinách a krmivech 50 µg/kg, v krmivech a doplňkových krmivech pro dojnice 5 µg/kg. Maximální hodnoty aflatoxinů v potravinách jsou nařízením Komise (ES) 1881/2006 stanoveny takto: v nezpracované kukuřici 15 µg/kg.

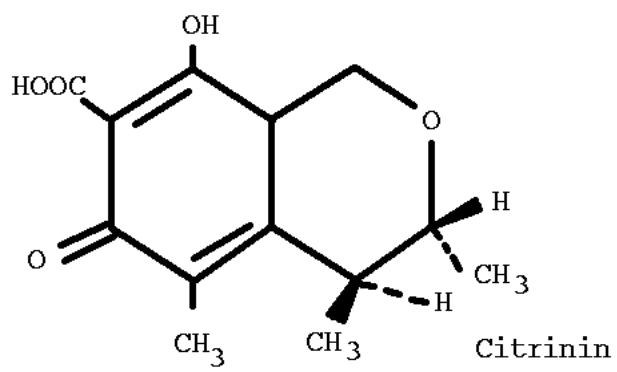
2.1.2 Citrinin

Citrinin (obr. 2) je produkován některými druhy rodu *Penicillium*, konkrétně *Penicillium citrinum* (KALÁČ A MÍKA, 1997) a snad i *Aspergillus*. Původně byl objeven a používán jako antibiotikum, ale kvůli jeho značné toxicitě již dnes není využíván. Může se vyskytovat společně s ochratoxinem a bývá považován za jeho prekursor. Po vyvolání metabolických bloků lze u kmenů produkujících ochratoxin zaznamenat pokles jeho produkce následované objevením produkce citrininu (ŠIMŮNEK, 2000). V našich podmínkách kontaminuje zejména obilí, zjištěn byl také v rýži a otrubách (KALÁČ a MÍKA, 1997). Patří mezi kyselé mykotoxiny, za alkalické reakce přechází do vodného roztoku, ale až silně alkalické prostředí vede k jeho rozkladu (ŠIMŮNEK, 2000).



Obr. 1

oxinu B₁



Obrázek 2: Chemická struktura citrininu

Obr. 2

2.1.3 Cyklochlorotin (Islanditoxin)

Starší název tohoto mykotoxinu byl odvozen od plísně druhu *Penicillium islandicum*, novější pak od struktury jeho molekuly, kterou tvoří aminokyseliny uspořádané do kruhu spolu s atomem chloru. Cyklochlorotin atakuje cytoskelet, podobně jako chemicky podobné toxiny *Amanita phalloides*. Celkově se posuzuje jako hepatotoxin, má snad vztah i ke karcinomu jater v zemích s hojnou konzumací rýže. V našich podmínkách bývá nalézán v rýži a v rýžových otrubách z tohoto substrátu lze vypěstovat i silně produkující kmeny (POLSTER, 1984, ŠIMŮNEK, 2000).

2.1.4 Fumonisin

Jedná se o skupinu látek označovaných jako fumonisin A₁, A₂ a B₁ - B₄. Nejčastěji je nalézán fumonisin B₁ (obr. 3), odvozený od nenasycených mastných kyselin. Fumonisin představují skupinu toxinů strukturálně podobných sfinosinu. Tyto mykotoxiny jsou produkovány některými druhy mikroskopických hub rodů *Fusarium moniliforme* a *Fusarium proliferatum*, patrně však i dalšími mikroskopickými houbami. Na rozdíl od mnoha jiných mykotoxinů jsou lépe rozpustné ve vodě.

Fumonisin jsou potenciální karcinogeny pro člověka i pro zvířata. Nejnebezpečnější jsou pro koně, osly, skot, prasnice a ovce. U prasat a ovcí vyvolávají fumonisin plicní edém. Poškozují nervové buňky a vyvolávají u zvířat nervové příznaky, leukoencefalomalácii, což je smrtelné onemocnění postihující mozek, játra a ledviny, které končí celkovým ochrnutím a úhynem. Byly popsány také plicní edémy, netečnost, oslepnutí. Skot je vůči těmto mykotoxinům poměrně odolný, při dlouhodobém působení dochází k narušení funkce jater. U drůbeže fumonisin vyvolávají tzv. syndrom toxicity krmiva, brojleři a krůty jsou vůči fumonisinům typu B relativně odolní. U člověka existují epidemiologické souvislosti s výskytem karcinomu jícnu. Biochemickou podstatou jejich toxických účinků je interference s metabolismem sfinolipidů, a tím patrně dochází k narušení membránových struktur. Struktura fumonisinů totiž inhibuje syntézu lipidů v buněčných membránách. Pro produkci fumonisinů je příznivější teplejší klima. V našich podmínkách je patrně hlavním zdrojem této skupiny mykotoxinů ve výživě zvířat a člověka (ŠIMŮNEK, 2000).

Dle NEDĚLNÍK *et al.* (2006) byly průměrné koncentrace fumonisinů mezi lety 2002 a 2003 v objemných krmivech v České republice ve vojtěškové siláži 500 µg/kg, v kukuřičné

siláži 1870 µg/kg, v jetelotravní siláži 1470 µg/kg, v travní siláži 1110 µg/kg, v celorostlinné siláži z ječmenu 1130 µg/kg. Dle RODRIGUES a NAEHRER (2012) byly průměrné koncentrace fumonisinů a horní kvartily jejich koncentrace v pozitivních vzorcích mezi lety 2009 a 2011 ve vzorcích ze střední Evropy v kukuřici 1308 (4504) µg/kg, v pšenici a otrubách 89 (348) µg/kg, v hotových krmivech 131 (342) µg/kg. Směrné hodnoty fumonisinů v krmivu (88 % sušiny) jsou stanoveny doporučením Komise 2006/576/ES takto: v krmné kukuřici 60000 µg/kg, v krmivech pro dojnice 50000 µg/kg. Maximální hodnoty fumonisinů v potravinách jsou nařízením Komise (ES) 1881/2006 stanoveny v kukuřici 4000 µg/kg. Pro porovnání s dalšími mykotoxiny viz tabulka č. 10.

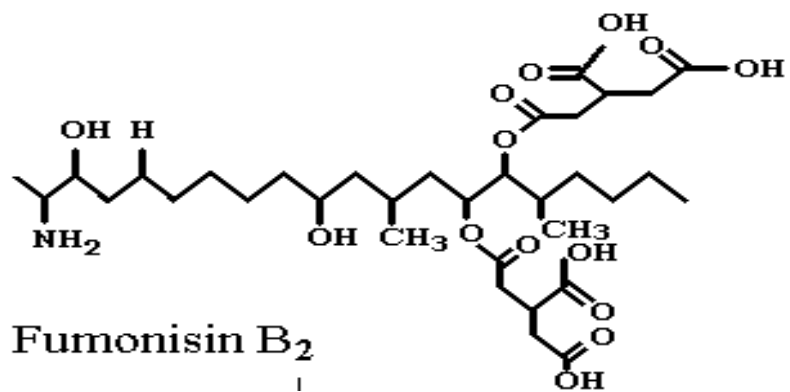
2.1.5 Kyselina cyklopiazonová

Kyselina cyklopiazonová (obr. 4) je produkována větším množstvím druhů rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Byla objevena v roce 1968. Paralelně bývají v substrátu přítomny i další příbuzné sloučeniny, amidy a iminy kyseliny cyklopiazonové a její chelát s Fe^{3+} .

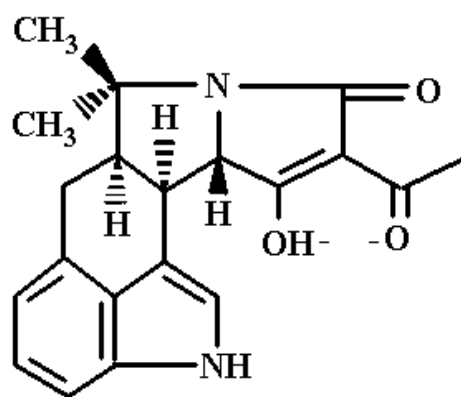
Při zkrmování byly pozorovány u běžných hospodářských a laboratorních zvířat křeče a úhyn spojený s cyanózou. Popsány byly zejména změny v transportu iontů vápníku, jež vedou k osmotické smrti buněk. Při zkrmování dochází především k poškození trávicí trubice a jater. Druhová specifita a místa poškození jsou dána místem jejího největšího vstřebávání. V menším množství se mykotoxin často vyskytuje v plísňových sýrech pod pokryvem plísně *Penicillium camemberti*, v tavených sýrech, do nichž se dostává s plesnivými odkrojky, nebo v plísňových salámech. Nedodržení klasické technologie výroby camembertských sýrů může vést k mohutnému, až třířádovému, vzestupu její koncentrace v plísňovém pokryvu. Dalším uvažovaným zdrojem kyseliny cyklopiazonové je také drůbeží maso (ŠIMŮNEK *et al.*, 1990, ŠIMŮNEK, 2000).

2.1.6 Kyselina penicillová

Jedná se o látku chemicky příbuznou patulinu (o něm více v části 2.1.9). Biologické účinky patulinu a kyseliny penicillové jsou proto velmi podobné. Kyselina penicillová může působit jako karcinogen (podobně jako patulin). Tyto dvě látky se také často vyskytují za podobných podmínek, mnohdy i společně. Význam této látky je však proti patulinu poněkud menší (URAGUCHI a YAMAZAKI, 1978, ŠIMŮNEK, 2000).



Obr. 3
1 B₂



Kyselina cyklopiazonová

Obr. 4
iazonové

2.1.7 Luteoskyrin

Tato složitá organická látka je produkována plísní rodu *Penicillium islandicum*. Luteoskyrin (obr. 5) má obzvláště nebezpečné účinky na játra, mimo jeho hepatotoxicity patří mezi karcinogenní látky. Biochemický podklad jeho negativního působení spočívá v blokování enzymů oxidativní fosforylace v buňkách. Co se účinku a výskytu týče, můžeme jej porovnat s výše uvedeným cyklochlorotinem. U nás se může vyskytovat v rýži a v otrubách z rýže, zejména v takové, jež podlehla plesnivění v průběhu přepravy (ŠIMŮNEK, 2000).

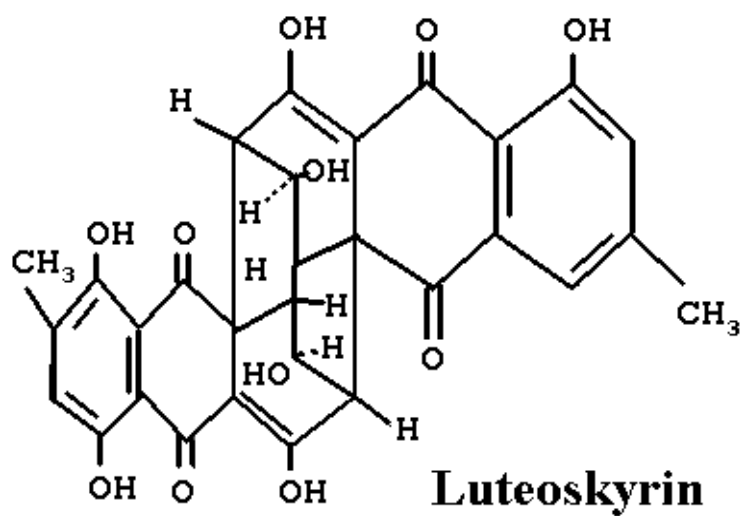
2.1.8 Ochratoxin A

Ze skupiny ochratoxinů zmíníme jen nedůležitějšího a nejtoxičtějšího zástupce, kterým je ochratoxin A (obr. 6). Tento mykotoxin je produkován některými druhy rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Z chemického pohledu je ochratoxin A složitou organickou strukturou, která se skládá ze dvou významných částí fenylalaninové a kumarinové (obě části jsou označeny na obr. 6).

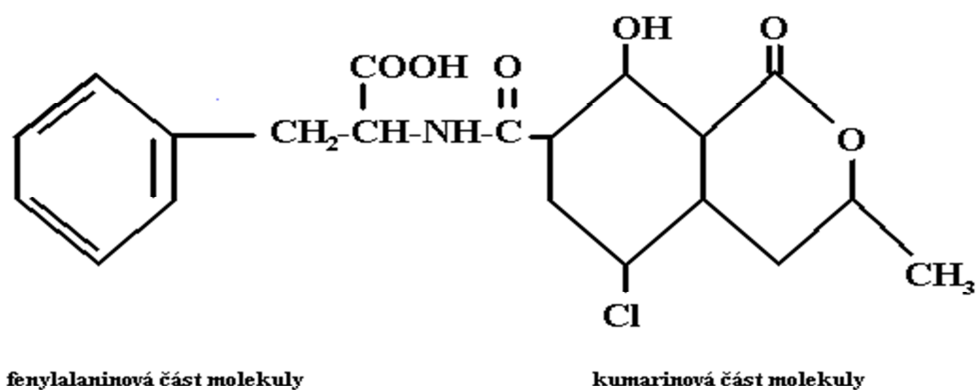
Mechanismus jeho toxicity spočívá v tom, že fenylalaninová část jeho molekuly je pomocí t-RNA zaměněna za fenylalanin. Tato aminokyselina je v ochratoxinu A navázána na kumarinovou část, což brání jejímu navázání do proteinového řetězce. Tím dochází k zastavení proteosyntézy. Ochratoxin A pak na úrovni organismu tlumí imunitu a postihuje ledviny. Hlavním zdrojem ochratoxinu A je obilí. Na území ČR bývá ochratoxin A detekován, ale koncentrace jsou podlimitní. Mezi dalšími zdroji můžeme uvést masné výrobky, koncentrace ochratoxinu A v nich je dána tím, že tento mykotoxin vytváří rezidua ve tkáních. Ochratoxin A může být však přítomen i ve vepřové krvi, v níž je vázán na albumin, což může vést ke zdravotním problémům spojeným s konzumací produktů z domácí zabijačky a krevních specialit (ŠIMŮNEK, 2000). Byla rovněž popsána produkce ochratoxinu A některými kulturními plísněmi, používanými k finalizaci uzenářských výrobků, například uherského salámu. Významným zdrojem ochratoxinu A může být také káva.

Dle RODRIGUES a NAEHRER (2012) byly průměrné koncentrace ochratoxinu A a horní kvartily jejich koncentrace v pozitivních vzorcích mezi lety 2009 a 2011 ve vzorcích ze střední Evropy v kukuřici 0,0 (2,5) µg/kg, v sóji 7 (21,4) µg/kg, v pšenici a otrubách 16 (5,4) µg/kg, v hotových krmivech 20 (6) µg/kg. Směrné hodnoty ochratoxinu A v krmivu (88 %

sušiny) jsou stanoveny doporučením Komise 2006/576/ES takto: v krmných obilovinách 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Maximální hodnoty ochratoxinu A v potravinách jsou nařízením Komise (ES) 1881/2006 stanoveny takto: v nezpracovaných obilovinách 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Pro porovnání s dalšími mykotoxiny viz tabulka č. 10.



Obr. 5



Ochratoxin A

Obr. 6

Obrázek 6. Chemická struktura ochratoxinu A

2.1.9 Patulin

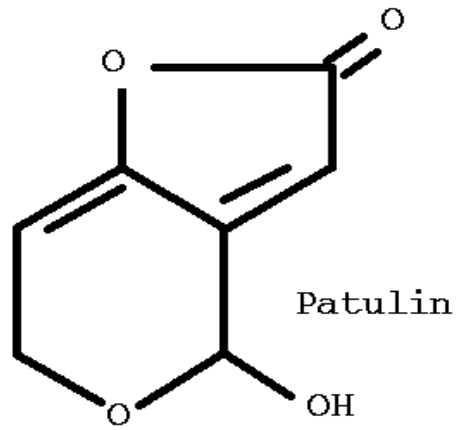
Patulin (obr. 7) byl ve 40. letech popsán původně jako antibiotikum, a byl dokonce po krátký čas takto léčebně využíván. Po objevení jeho karcinogenity vůči zvířatům však následovalo jeho, dnes je považován za významný mykotoxin. Je produkován řadou druhů mikroskopických hub rodů *Aspergillus*, *Byssochlamys* a *Penicillium*. v přírodě je poměrně rozšířen, důležitá je zejména jeho produkce na kazícím se ovoci (zejména jablka). Jsou rovněž popsány otravy dobytka ze zaplesnivělých siláží. V ovoci se vyskytují ochranné látky, mezi něž patří například vitamín C, které zabrání rozkladu patulinu při tepelném opracování kompotů, dření i moštů. Čistý patulin se totiž rozkládá při 80 °C. Závažnou je zejména kontaminace ovocných dření, určených pro dětskou a kojeneckou výživu. Důležitým faktorem ovlivňujícím možnou míru kontaminace patulinem je výrobní praxe, při níž dochází k mechanickému poškozování ovoce a následným prodlevám. Akutní otravy jsou popsány u dobytka, většinou dominuje poškození plic s edémem.

Patulin je jeden z mála dobře detoxikovatelných mykotoxinů. Pro tyto účely lze použít například extrakt z Grahamova chleba nebo thioglykolát, ten je však karcinogenní pro člověka. Chemickou podstatou detoxikace je reakce patulinu s thiolovými skupinami. Rozklad patulinu byl rovněž prokázán během alkoholického kvašení (ŠIMŮNEK, 2000)

2.1.10 Rubratoxin

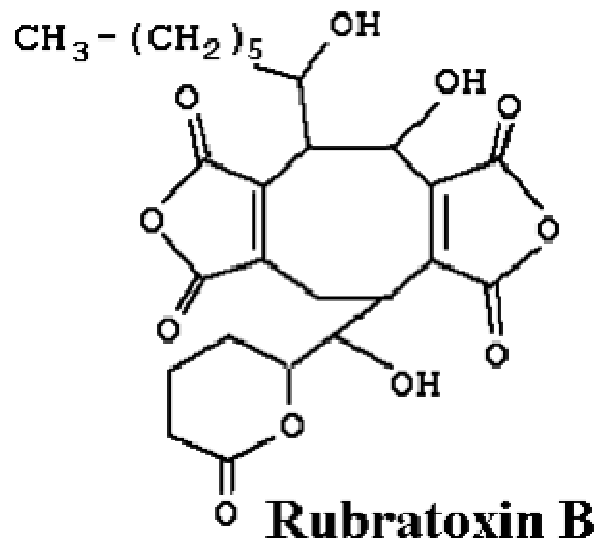
U tohoto mykotoxinu rozlišujeme dvě jeho varianty rubratoxin A a B (varianta B na obr. 8). Obě jsou produkovány plísní *Penicillium rubrum*. Rubratoxin je obecně hepatonefrotoxický, ovšem, co se míry týče, méně toxický než aflatoxiny. V akutní otravě má totiž LD_{50} ¹ poněkud nižší. Je známa přirozená rubratoxikóza prasat (ŠIMŮNEK, 2000).

¹ LD_{50} je v toxikologii označení pro dávku látky podané testovaným jedincům, která způsobí úhyn 50 % testovaných živočichů do 24 hodin od expozice. Udává se v mg na kg živé hmotnosti.



Obrá

Obr. 7



Obráz

Obr. 8

B

2.1.11 Sterigmatocystin

Sterigmatocystin (obr. 9) stojí poněkud v pozadí za chemicky příbuznými aflatoxiny. Je produkován širším spektrem rodů *Aspergillus*, *Chaetomium* a *Emericella*, dále pak druhy *Bipolaris nodulosa*, *Farrovia malayensis* a *Monocillium nordinii*. Jeho negativní účinky zasahují játra. Mimo toho, že se jedná o hepatotoxin, je též pravděpodobně karcinogenní (ŠIMŮNEK, 2000). Nalezen byl v sýrech i dalších substrátech (UENO, 1985). Část biochemických pochodů, vedoucí k tvorbě mykotoxinů, mají sterigmatocystin a aflatoxiny společnou (ŠIMŮNEK, 2000).

2.1.12 Tremorgeny

Tremorgeny jsou chemicky nesourodá skupina mykotoxinů produkovaných různými druhy mikroskopických hub, především rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Význačnou společnou vlastností těchto látek je, že pokusná zvířata po jejich podání hynou za třesů a křečí. Od tohoto je také odvozen název této skupiny mykotoxinu (tremorgenní znamená třesotvorné). Uvedené toxiny tedy atakují nervový systém. Mají poměrně značný letální účinek, podle výše LD₅₀ patří mezi nejtoxičtější mykotoxiny (ŠIMŮNEK, 2000). Mezi nejdůležitější tremorgeny patří roquefortiny, na něž jsou vysoce citlivé myši, citreoviridin, aflatrem, penitremy a další (URAGUCHI a YAMAZAKI, 1978). Do určité míry je možné k nim přiřadit i kyselinu cyklopiazonovou (DORNER *et al.*, 1985) popsanou výše.

2.1.13 Trichotheceny

Trichotheceny jsou skupinou chemicky různorodých látek charakteristických přítomností trichothecenového jádra (obr. 10). Přítomnosti epoxidové skupiny v trichothecenovém jádře je možno využít pro stanovení obsahu trichothecenů. Mezi jejich nejvýznamnější producenty řadíme zejména jednotlivé druhy plísní *Fusarium*, podobně jako u fumonisinů (viz. část 2.1.4). Trichotheceny jsou hlavními kontaminanty obilí, jako jsou například kukuřice, pšenice a oves, v důsledku toho, že druhy hub produkujících tyto mykotoxiny jsou dobře přizpůsobeny podnebí mírného pásma. Ve střední Evropě bývají problémy s trichotheceny v teplotně atypických letech (ŠIMŮNEK, 2000).

Trichotheceny inhibují proteosyntézu a způsobují u zvířat zvracení, průjemy a nechutenství. U skotu jsou trichotheceny částečně rozkládány v prostředí bacheru, rychle se však resorbují z trávicího traktu a jsou metabolizovány v játrech. Negativně ovlivňují činnost

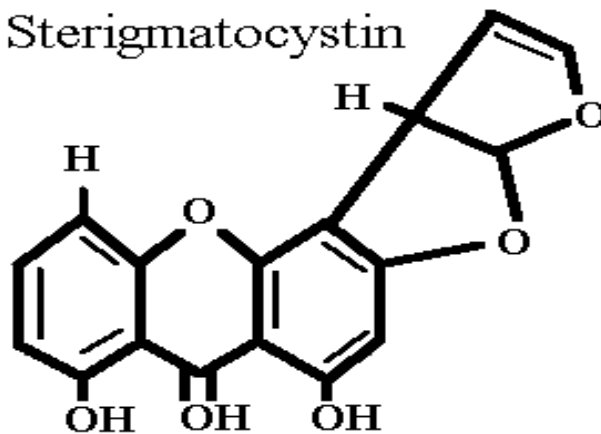
hepatocytů, poškozují buněčné membrány a narušují syntézu bílkovin a DNA. Je možné, že se podílejí na pelagře, což je avitaminóza niacinu. Fusariovým toxinům, jsou to trichotheceny produkované plísněmi rodu *Fusarium*, se připisuje řada doposud neobjasněných, epidemicky se vyskytujících onemocnění (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Zvláštní skupinu tvoří tzv. makrocyclické trichotheceny, které mají část základní molekuly překlenutou můstkem s vazbou na obou koncích. Tím dochází k překrytí některých funkčních skupin a k potenciaci skupin jiných, proto může toxicita vzrůst o více než jeden řád. Typickými zástupci této skupiny jsou satratoxiny, účinné látky *Stachybotrys atra*, a toxiny *Dendrodochium toxicum*. Satratoxiny působí na kůži už ve zlomcích mikrogramu těžké dráždění. Další význačnou skupinou trichothecenů jsou baccharinoidy, které vznikají přeměnou trichothecenových mykotoxinů z půdních mikroskopických hub v organismu cévnatých rostlin z rodu *Baccharis*. Tyto rostliny, jež se přirozeně vyskytují v povodí Orinoka, se stávají potravou pro dobytek, který nerozezná, jejich jedovatost, čímž působí chovatelům velké materiální škody. Podobným způsobem jako u rostlin z rodu *Baccharis* vznikají také toxiny hasivky orličí, největší kapradiny v České republice (SHOENTAL, 1984, MIROCHA *et al.*, 1988, ŠIMŮNEK, 2000). Další mykotoxiny a jejich skupiny řazené mezi trichotheceny budou popsány v následujících oddílech.

2.1.13.1 Diacetoxyscirpenol (DAS)

Je produkován plísněmi *Fusarium tricinctum*, *F. sporotrichioides* a dalšími. Obecně můžeme říct, že se po jeho požití objevují nekrotické léze a hemoragie v kůži dutině ústní, střevech a ledvinách. U skotu způsobuje klinický syndrom hemoragie a eroze sliznic a sníženou užitkovost. Tento mykotoxin vyvolává stomatitidu, snadno zaměnitelnou za léze vyvolané viry. Dlouhodobý příjem tohoto mykotoxinu v krmivu může vyvolat úhyn zvířat. U drůbeže vyvolává DAS léze na zobáku, abnormální opeření, snížení přírůstků, imunity a zvýšenou mortalitu. Nosnice reagují snížením snášky a tenkou vaječnou skořápkou.

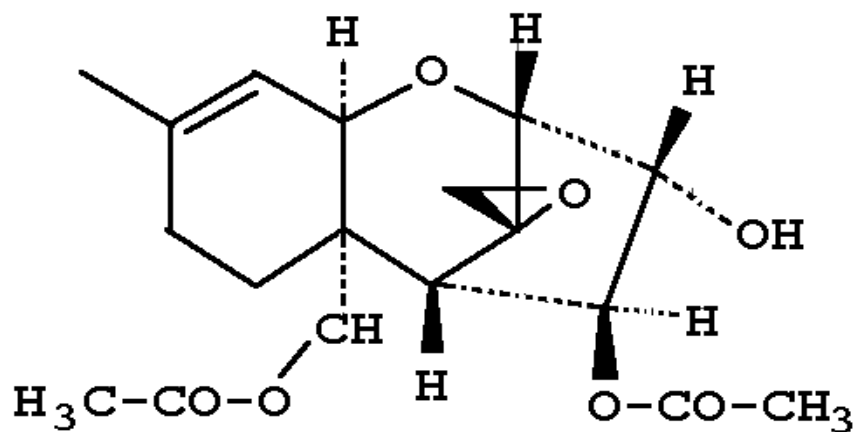
Sterigmatocystin



Obráz

Obr. 9

ystinu



Obrázek 10: Chemická struktura diacetoxycyclohexenu

Obr. 10 Trichothecenové jádro

2.1.13.2 Deoxynivalenol (DON, Vomitoxin)

Jedná se o masově se vyskytující toxin v polní flóře, jelikož je produkován zejména plísní *Fusarium graminearum*, která má optimální podmínky pro růst v mírném klimatickém pásu a daří se jí na obilovinách, kukuřici a prosu. Na její přítomnost v cereáliích upozorňují načervenalá, bělavá, scvrklá a nápadně lehká zrna. DON je nejčastěji se vyskytujícím trichothecenem. Obecné symptomy požití DON jsou nauzea, iritace pokožky, poruchy krvetvorby a snížení užitkovosti. v enterocytech inhibuje DON syntézu proteinů, a tak vyvolává apoptózu. Vyskytují se gastroenteritidy, hemoragie a některá zvířata mohou i uhynout.

Citlivá na DON jsou zejména prasata. Postižená zvířata odmítají krmivo, zvrací, mají průjem. K dalším příznakům patří poruchy koordinace, hemoragie na sliznicích, u březích samic aborty, náhlé úhyny. K dalším příznakům patří slabá nekróza ledvin, zmenšená štítná žláza a zvýšený poměr albuminů a globulinů. U skotu nemá DON tak agresivní účinky, jako T-2 toxin (viz. část 2.1.13.6). Při dobré úrovni fermentačních procesů v bacheru se až 50 % DON rozloží do 24 hodin. Přesto u skotu dochází ke snížení příjmu potravy, zánětlivým reakcím na sliznici trávicího ústrojí, průjmům, omezení resorpce potravy, narušení funkce jater a snížení mléčné produkce. Do mléka však přechází DON jen velmi omezeně. Telata jsou na tento mykotoxin citlivější než dospělí jedinci. Vyskytují se u nich průjmy, omezený příjem krmiva a dochází ke zpomalení růstu. Byly zaznamenány poruchy tvorby protilátek a zvýšená predispozice k onemocnění respiračního ústrojí. U drůbeže se snižuje hmotnost vajec a kvalita skořápky. Rezidua tohoto toxinu byla nalezena ve vejcích.

Známa je interakce DON s kyselinou fusariovou. (produkovanou plísní *Fusarium moniliforme*). Při spolupůsobení těchto dvou látek v krmivu dochází ke zvýšení jejich toxicity. Přítomnost DON v krmivu nepřímo ukazuje na problémy s mykotoxiny a může sloužit jako marker pro přítomnost dalších mykotoxinů (SUCHÝ 1998).

Dle NEDĚLNÍK *et al.* (2006) byly průměrné koncentrace deoxinivalenolu mezi lety 2002 a 2003 v objemných krmivech v České republice ve vojtěškové siláži 500 µg/kg, v kukuřičné siláži 960 µg/kg, v jetelotravní siláži 630 µg/kg, v travní siláži 550 µg/kg, v celorostlinné siláži z ječmenu 1370 µg/kg. Dle RODRIGUES a NAEHRER (2012) byly průměrné koncentrace deoxinivalenolu a horní kvartily jejich koncentrace v pozitivních vzorcích mezi lety 2009 a 2011 ve vzorcích ze střední Evropy v kukuřici 1028 (1576) µg/kg,

v sóji 98 (494) µg/kg, v pšenici a otrubách 848 (960) µg/kg, v hotových krmivech 533 (917) µg/kg. Směrné hodnoty deoxinivalenolu v krmivu (88 % sušiny) jsou stanoveny doporučením Komise 2006/576/ES takto: v krmných obilovinách 8000 µg/kg, v krmné kukuřici 12000 µg/kg, v krmivech a krmivech pro dojnice 5000 µg/kg. Maximální hodnoty deoxinivalenolu v potravinách jsou nařízením Komise (ES) 1881/2006 stanoveny takto: v nezpracovaných obilovinách 1250 µg/kg, v nezpracované kukuřici 1750 µg/kg. Pro porovnání s dalšími mykotoxiny viz tabulka č. 10.

2.1.13.3 Moniliformin

Tento mykotoxin je produkován druhy *Fusarium moniliforme*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum* a *F. proliferatum*. Moniliformin je fytotoxický pro pšenici, kukuřici a rostliny tabáku. Velmi citlivá na incidenci tohoto mykotoxinu je drůbež, zejména kuřata a kachňata. Vyvolává otoky srdečního svalu a poruchy intercelulární osmotické regulace.

2.1.13.4. Nivalenol

Nivalenol je produkován plísněmi rodu *Fusarium*, jako jsou *F. nivale*, *F. episphaeria*, *F. poae*. Po požití vyvolává dávení, jsou také známy jeho karcinogenní účinky. U prasat se po 3 týdnech zkrmování krmiva kontaminovaného nivalenolem projevilo poškozením slezinových buněk.

2.1.13.5 Stachybotryotoxin

Stachybotryotoxin je typickým toxinem vyskytujícím se v objemných krmivech, v seně a slámě. Produkují jej plísně *Stachybotrys alternans*. Tato plíseň se za vlhkého počasí velmi rychle množí, vytváří na substrátu sazovité povlaky a produkuje velké množství toxinů. Zvláště vhodné podmínky jsou ve stohovaném seně a slámě. Její mykotoxiny jsou odolné a v napadené píce přetrvávají velmi dlouho.

Na rozdíl od mnohých jiných mykotoxinů jsou na stachybotryotoxin citliví i přežvýkavci. Stachybotryotoxin má velmi agresivní účinky, vyvolává rozsáhlé krváceniny až hemoragickou diatézu. Jsou poškozeny cévy, krváceniny jsou viditelné v trávicím traktu, na serózách, v podkoží, na kůži a v plicním parenchymu. Stachybotryotoxin poškozuje kostní dřeň, narušuje tvorbu krvinek, vzniká anemie a leukopenie. Poškozena jsou játra a ledviny, zvyšuje se koncentrace bilirubinu a jaterních enzymů. Dochází k nechutenství, hypersalivaci,

a ke snížené produkci mléka. Je narušena acidobazická rovnováha, může dojít k akutní pneumónii nebo až k úhynu zvířete.

2.1.13.6 T-2 toxin

T-2 toxin je známý svou vysokou toxicitou. Produkují jej plísně rodu *Fusarium tricinatum*, *F. nivale* a *F. sporotrichoides*. Vhodné podmínky pro tvorbu tohoto mykotoxinu jsou při teplotách v rozmezí 3 – 8°C, při teplotě nad 25°C se již netvoří. Vyskytuje se v obilovinách, kukuřičné siláži a působí převážně kožní problémy.

U zvířat se často vyskytují krvácivá ložiska v oblasti hlavy anebo pohlavních orgánů. U prasat způsobují poruchy reprodukce, zhoršené zabřezávání, potraty, málo početné vrhy. Na rypáku vyvolává nekrotické léze. Aplikace T-2 toxinu na kůži prasat způsobí její zduření a změnu barvy, po níž následuje odlupování. U skotu snižuje imunitu telat, způsobuje poruchy srážlivosti krve a hemoragie. Velmi citlivý je parenchym mléčné žlázy, dochází v něm ke krvácení a k hemokalci. Zvyšuje se predispozice pro mastitidy. Mléčná žláza vykazuje sníženou kvalitu kolostra, sníženou produkci mléka, mléko má nižší koncentraci laktózy, kaseinu, bílkovin a tuku. Byly popsány záněty žaludku a tenkého střeva. Produktem metabolismu T-2 toxinu je HT-2 toxin. Oba tyto toxiny mají schopnost přecházet do mléka. T-2 toxin je nejnebezpečnějším fusariovým toxinem pro drůbež. U kuřat se vyskytují léze kolem zobáku, holenní dyschondroplazie, nekoordinovaný pohyb a snížení přírůstku. Brojleři mají defektní peří a krváceniny v podkoží. U nosnic je snížená produkce vajec, tenká skořápka, snížení leukocytů a regrese Fabriciovy burzy. T-2 toxin narušuje tvorbu erytrocytů a leukocytů, toxicky působí na krevní destičky, dochází k poruchám srážlivosti krve. U hospodářských zvířat vzniká leukopenie a anemie. U uhynulých zvířat byly pozorovány krváceniny na sliznicích střev a serózách, zvětšená játra a degradace ledvin. T-2 toxin se dává do souvislosti s výskytem onemocnění ATA (alimentární toxická aleukie).

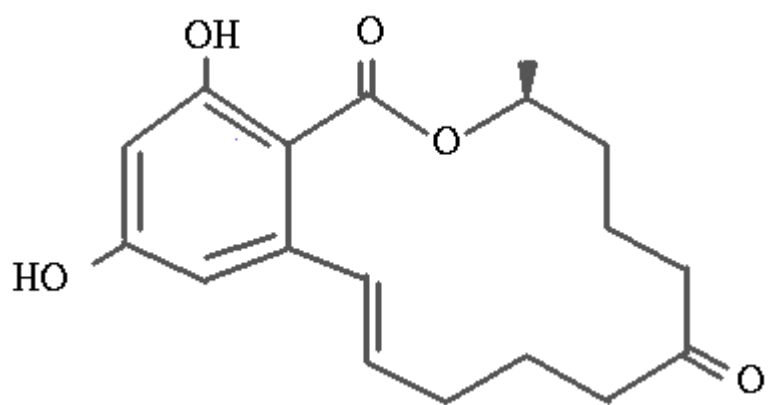
Dle NEDĚLNÍK *et al.* (2006) byly průměrné koncentrace T-2 toxinu mezi lety 2002 a 2003 v objemných krmivech v České republice ve vojtěškové siláži 176 µg/kg, v kukuřičné siláži 260 µg/kg, v jetelotravní siláži 242 µg/kg, v travní siláži 207 µg/kg, v celorostlinné siláži z ječmenu 163 µg/kg. Pro porovnání s dalšími mykotoxiny viz tabulku č. 10.

2.1.14 Zearalenon

Zearalenon (obr. 11) je produkován plísněmi rodu *Fusarium*, v některých případech i stejnými druhy, které jsou schopny produkovat trichotheceny. Přestože nemá steroidní strukturu, jeho účinky se velmi podobají efektům steroidních hormonů, konkrétně estrogenů. Rozeznáváme účinky estrogení, antiestrogení, antiandrogení a anabolický, které jsou u jeho derivátů různým způsobem zastoupeny. V organismu se metabolicky aktivuje, asi 5% se vylučuje močí, zbytek stolicí, během laktace se vyloučí asi 40% mlékem (PALYUSIK, 1980).

Zearalenon může u lidí i hospodářských zvířat způsobovat hyperestrogenismus (UENO, 1985). Největší problémy mohou vzniknout u samozásobitelných zemědělců, kteří v případě napadení obilí konzumují vysoké koncentrace. Problémy mohou nastat u konzumace naklíčeného obilí a dalších semen, kdy během klíčení mohou fusaria vyrůst a produkovat mykotoxiny. U běžné populace se mykotoxiny z obilí smícháním šarží ředí na velmi nízké koncentrace. Některé deriváty zearalenonu mají potlačeny ostatní účinky kromě anabolického a používají se k výkrmu dobytka jako anabolika. Uvedeným látkám se souhrnně říká zearalany (ŠIMŮNEK, 2000).

Dle NEDĚLNÍK *et al.* (2006) byly průměrné koncentrace zearalenonu mezi lety 2002 a 2003 v objemných krmivech v České republice ve vojtěškové siláži 577 $\mu\text{g}/\text{kg}$, v kukuřičné siláži 1377 $\mu\text{g}/\text{kg}$, v jetelotravní siláži 179 $\mu\text{g}/\text{kg}$, v travní siláži 1197 $\mu\text{g}/\text{kg}$, v celorostlinné siláži z ječmenu 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Dle RODRIGUES a NAEHRER (2012) byly průměrné koncentrace zearalenonu a horní kvartily jejich koncentrace v pozitivních vzorcích mezi lety 2009 a 2011 ve vzorcích ze střední Evropy v kukuřici 47 (155) $\mu\text{g}/\text{kg}$, v sóji 20 (46) $\mu\text{g}/\text{kg}$, v pšenici a otrubách 10 (123) $\mu\text{g}/\text{kg}$, v hotových krmivech 56 (117) $\mu\text{g}/\text{kg}$. Směrné hodnoty zearalenonu v krmivu (88 % sušiny) jsou stanoveny doporučením Komise 2006/576/ES takto: v krmných obilovinách 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, v krmné kukuřici 3000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, v krmivech pro dojnice 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Maximální hodnoty zearalenonu v potravinách jsou nařízením Komise (ES) 1881/2006 stanoveny takto: v nezpracovaných obilovinách 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, v nezpracované kukuřici 350 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Pro porovnání s dalšími mykotoxiny viz tabulka č. 10.



Obrázek 11: Chemická struktura zearalenonu

Obr. 11 Zearalenon

2.1.15 Maskované mykotoxiny

V posledních letech v souvislosti s problematikou mykotoxinů vyvstalo po sérii výzkumů další důležité téma, a tím jsou maskované mykotoxiny. Přehledových zpráv a článků je k dispozici několik (například BERTHILLER *et al.*, 2013), maskovanými mykotoxiny se v České republice nejvíce zabývala prof. Hajšlová (HAJŠLOVÁ, 2009), ve světě se touto problematikou zabýval jako první profesor Trevor Smith na univerzitě Guelph v Kanadě (SMITH, 1970).

Existence této skupiny látek byla zjištěna při sledování dynamiky mykotoxinů v pšenici. Ve vzorku cíleně infikovaném fusarií byl nejprve prokázán nárůst, a následně výrazný pokles obsahu DON, který byl pravděpodobně způsobený právě přeměnou původního DON na jeho metabolity. Rostliny napadené houbami produkujícími mykotoxiny jsou totiž schopny za použití svých obranných mechanismů deaktivovat škodlivé mykotoxiny za jejich přeměny na jiné látky, které pak mohou být uloženy do vakuol. Tyto přeměny spočívají v rozmanitých enzymatických reakcích v různých částech i organelách rostliny. Při nich dochází k eliminaci funkčních skupin mykotoxinů navázáním sacharidů, aminokyselin nebo sulfátových skupin a vznikají konjugáty a deriváty mykotoxinů. Právě konjugáty mykotoxinů v naprosté většině s glukózou, kyselinou malonovou a glutathioninem se označují jako maskované mykotoxiny (BERTHILLER *et al.*, 2013). Jejich detekce (o metodách detekce mykotoxinů více v části 2.4) je kvůli jejich odlišným fyzikálně-chemickým vlastnostem, zejména špatné rozpustnosti v běžných rozpouštědlech, a také kvůli tomu, že se při procesu trávení můžou tyto konjugáty rozpadnout, a tím se uvolní mykotoxiny, značně obtížná.

Další podnět k výzkumu maskovaných mykotoxinů vzešel v polovině 80. let z klinických pozorování u zvířat, která byla krmena krmivem s nízkým obsahem mykotoxinů, a přesto vykazovala závažné příznaky typické pro mykotoxiny. Následně došlo k detailnímu výzkumu těchto látek, který se dodnes nezastavil, a bylo popsáno několik skupin maskovaných mykotoxinů (SMITH, 1970).

Podle míry výskytu můžeme jako nejdůležitější skupiny jmenovat maskované trichotheceny, maskovaný zearalenon a maskované fumonisiny. Například některé obiloviny napadené houbami produkujícími DON jsou schopny tento mykotoxin přeměnit na DON-3-Glukosid, podobně se děje i u T-2 toxinu. Co se toxikologických vlastností týče, bylo

zjištěno, že kyselina chlorovodíková nerozkládá DON-3-Glukosid, takže by se tento maskovaný mykotoxin neměl rozkládat v žaludku savců, ovšem je možné, že některé střevní bakterie jej dokážou rozkládat zpět na DON a glukózu. Na rozdíl od podobného konjugátu zearalenonu je DON-3-Glukosid mnohem chemicky stabilnější (BERTHILLER *et al.*, 2013).

2.2 Vliv mykotoxinů na organismus přežvýkavců

Akutní mykotoxikózy vznikají po požití vyšších dávek toxinů, což způsobuje klinicky zjevný akutní syndrom onemocnění nebo smrt. Chronické mykotoxikózy se vyskytují při opakovaném dlouhodobém příjmu nižších dávek mykotoxinů, vyvolávají subklinický průběh onemocnění. Projevem bývá snížená užitkovost, menší přírůstky, snížená laktace, snáška vajec, poruchy imunity a reprodukce. Příčiny těchto problémů jsou pak někdy hledány v řadě jiných oblastí (virové infekce, skladba krmných dávek, atd.). Akutní otravy u hospodářských zvířat bývají spíše výjimečné, chronické otravy jsou častější a vedou k poškození zdraví a někdy až k úhynu. Tím samozřejmě dochází ke značným hospodářským ztrátám. Na snížení užitkovosti se podílí i fakt, že kontaminované krmivo má sníženou výživnou hodnotu a chutnost. To způsobuje snížení příjmu krmiva, jeho nedostatečnému využití a celkové slabosti zvířat. Navíc se mykotoxiny dostávají do masa, mléka a vajec, čímž ohrožují zdraví člověka. Tímto mykotoxiny ohrožují bezpečnost potravin na celém světě a mají značný ekonomický dopad na zemědělství a zpracovatelský průmysl.

Mezi mnoha stovkami mykotoxinů však víme o prokazatelně negativních účincích ve velkém měřítku pouze u několika z nich, ostatní mykotoxiny se vyskytují dostatečně vzácně na to, aby způsobovaly nezanedbatelné škody. Nejvýznamnější dopad na užitkovost a zdraví zvířat mají ty mykotoxiny, které jsou přítomny v krmných plodinách a krmných surovinách a jsou konzumovány zvířaty ve velkém množství jako například siláže a senáže, ale také obiloviny jako jsou kukuřice, pšenice, ječmen a sója. Mezi tyto mykotoxiny patří aflatoxin B₁ a B₂, deoxynivalenol (DON), T-2 toxin, zearalenon, námelové alkaloidy a makrocyclické trichotheceny (DIAZ, SMITH 2005). Tyto mykotoxiny mohou mít na organismy velmi různé účinky.

Imunosupresivní účinky mají některé trichotheceny, ochratoxiny, citrinin, zearalenon, fumonisiny, aflatoxiny, deoxynivalenol, T-2 toxin. Při poruchách imunity dochází k menší odolnosti proti infekcím díky snížení počtu bílých krvinek, snížení hladin imunoglobulinů a obsahu celkových proteinů v krevním séru a u ptáků dochází ke zmenšení Fabriciovy burzy.

Teratogenní účinky v důsledku inhibice biosyntézy proteinů byly potvrzeny při chronických toxikózách aflatoxinem B₁, citrininem a ochratoxiny.

Mutagenní a karcinogenní účinky byly potvrzeny u aflatoxinu B₁, ochratoxinu, a citrininu aj. Toxiny inhibují syntézu RNA, indukují vazbu mezi DNA a proteiny a ovlivňují mitotický crossing-over.

Neurotoxické účinky byly prokázány u námelových toxinů, citreoviridinu a dalších. Tremorgenní mykotoxiny způsobují klinické projevy třesu a chvění.

Dále jsou přiblíženy účinky některých významných mykotoxinů a jejich skupin. Účinky aflatoxinů byly poprvé popsány na počátku 60. let 20. stol. ve Velké Británii, kdy aflatoxiny způsobily záhadné onemocnění krůt, které bylo nazváno "Turkey X Disease" (BLOUNT, 1961). Příznaky otravy aflatoxiny mohou být ztráta chuti, snížený příjem krmiva, ztráta hmotnosti a zhoršená konverze krmiva. Klasickým příznakem jsou bledá, zduřelá a také ztučnělá játra. U drůbeže je syndrom ztučnělých jater důkazem přítomnosti aflatoxinů v krmivech (NORRED, 1986), ovšem velmi podobné problémy může způsobit i ochratoxin A (TRENHOLM *et al.*, 1988). Absorpce, distribuce, metabolismus a vyloučení aflatoxinu B₁ jsou velmi rychlé. Akumuluje se v játrech, kde probíhá jeho metabolismus, ale i v jiných orgánech. Metabolismus aflatoxinu B₁ způsobuje cytotoxicitu a karcinogenitu buněk. Ve stručnosti, aflatoxin B₁ je v játrech a i v jiných tkáních metabolizován na aflatoxiny P₁, M₁ a Q₁ pomocí enzymu cytochrome P450. U přežvýkavců, tedy i u dojnic, je aflatoxin M₁. Hlavní metabolit aflatoxinu B₁, je vyloučen v moči ale také v mléce (IARC 2002).

Mezi asi 180 trichotheceny je nejvíce rozšířený deoxynivalenol (DON). Z fusariotoxinů je DON obvykle ještě s T-2 toxinem nejvíce frekventovaným mykotoxinem v krmivech. Často je v odebraných vzorcích krmiv detekován s téměř 100 % přesností, a je proto považován za marker upozorňující na přítomnost dalších mykotoxinů. Na obsah DON v cereáliích upozorňuje přítomnost načervenalých, bělavých, nápadně lehkých nebo scvrklých zrn. Obecné symptomy požití jsou nauzea, iritace pokožky a poruchy krvetvorby. U přežvýkavců dochází ke snížené užitkovosti a příjmu krmiva. V bachoru nastává jeho degradace asi 50% během 24 hod.

Velmi citlivá jsou na DON prasata, je uváděn snížený příjem až odmítnutí krmiva při vyšší koncentraci než 0,7 mg DON/kg krmiva, snížení přírůstků a zvracení. Toxické efekty se však mohou dostavit již při koncentraci 0,25 mg/kg krmiva. U drůbeže snižuje hmotnost vajec

a je zhoršená kvalita vaječné skořápky, nachází se rezidua ve vejcích. Účinnost DON je spojována s gastroenteritidami, intestinálními hemoragiemi a úhynem. Hlavním mechanismem toxického účinku je inhibice syntézy proteinů v erytrocytech a vyvolání apoptózy. Při intoxikaci DON dochází k snížení tvorby protilátek a poklesu počtu leukocytů. Vede ke zvracení u prasat, u ostatních zvířat k odmítání krmiva, ztrátě koordinace a letargii.

V USA a Kanadě platí limit v krmivu 4 mg/kg. Za kritické koncentrace DON pro dojnice se považuje 5 mg/kg krmiva (88 % sušiny). V Evropské unii je stanoven maximální obsah DON v zrninách 2 mg/kg, v mouce 1 mg/kg dle nařízení Komise (ES) 1881/2006.

2.3 Interakce mykotoxinů

Je-li hospodářské zvíře vystaveno působení mykotoxinů, vliv těchto mykotoxinů na zvíře se nazývá čistá odezva (net response). Tato odezva může být subklinická bez zjevných vnějších příznaků na zvířeti, nebo klinická s typickým průběhem a viditelnými změnami na zvířeti. Tato odezva ať již subklinická, či klinická je vždy provázena zhoršenou užitkovostí nebo zhoršeným zdravím zvířete postihnutého zkrmovaným mykotoxinem (WYATT, 2005). Rozsah projevu této odezvy spojené s mykotoxiny závisí na třech okolnostech.

První a nejdůležitější je dávka čili množství mykotoxinů, kterým je zvíře vystaveno. Tato dávka závisí na obsahu mykotoxinů v krmivu, množství krmiva, které zvíře sežere za den, a na živé hmotnosti zvířete. Jsou-li nám tyto informace známy, dávka mykotoxinů se popisuje jako množství mykotoxinu v jednotkách působících na živou hmotnost nebo v jednotkách za určité časové období, nejčastěji den. Druhým neméně důležitým faktorem je doba, po kterou je zvíře mykotoxinům vystaveno. Jiná odezva se jistě dostaví, pokud zvíře přijme stejné množství mykotoxinů pouze po jeden den, nebo bude-li zvíře vystaveno mykotoxinům 30 dnů. Třetím a posledním faktorem jsou různé interakce mykotoxinů.

Interakce zahrnují velmi obecné děje, které mohou mít vliv na způsob odezvy jak horším směrem, ale také mohou negativní vliv mykotoxinů potlačovat, či vůbec nemít žádný vliv. Příkladem mohou být dvě skupiny zvířat stejného druhu vystaveny po stejné období stejným hladinám mykotoxinů v krmivech a mohou reagovat odlišně, pokud byly vystaveny jiným podmínkám prostředí či jiným podmínkám managementu ve stáji. Jedním z těchto známých vlivů na interakce mohou být věk a pohlaví zvířete, výživa, genetický základ, vliv několika druhů mykotoxinů v krmné dávce, avšak hlavně zdravotní stav zvířete.

Vliv genofondu na rezistenci vůči mykotoxinům byl již mnohokrát citován. Například u komerčních brojlerů byl demonstrován dvojnásobný rozdíl mezi odolným a citlivým typem brojlerů na akutní aflatoxikózu (SMITH a HAMILTON, 1970). Samozřejmě existuje rozdíl mezi druhy zvířat v citlivosti na jednotlivé mykotoxiny.

Vliv teploty prostředí zajímavě zkoumali MANNING a WYATT (1990). Dvě skupiny kuřat vystavili stejným dávkám aflatoxinů, ale poskytli jim rozdílnou teplotu prostředí. Jedna skupina kuřat byla vystavena teplotě 28 - 30°C a druhá skupina měla podstatně chladnější podmínky, pouze 10 - 12°C. Po orální dávce aflatoxinu u skupiny kuřat s vyšší teplotou byl úhyn až 90 % oproti 20 % u skupiny kuřat, které byly vystaveny chladnějším podmínkám. Výsledek tohoto experimentu ukazuje na značnou interakci mezi teplotou prostředí a odezvou na mykotoxiny u kuřat.

Interakce mykotoxinů s živinami krmiva byla již mnohokrát potvrzena a popsána mnoha autory. Přesto tyto interakce nebyly zcela prozkoumány a pochopeny. Jisté je, že vlivem mykotoxinů v krmivu dojde ke zhoršení vstřebávání, distribuce a využívání všech živin krmiva v zažívacím traktu zvířete. Nejvíce se této problematice věnovali SCHAEFFER a HAMILTON (1991), kdy popsali interakce mezi různými druhy mykotoxinů (aflatoxiny, trichotheceny, zearalenon, ochratoxin) a vitamíny rozpustnými ve vodě, vitamíny rozpustnými v tucích, bílkovinami, tuky a vlákninou u různých druhů zvířat, jako jsou kuřata, kachny, krůty, králíci, prasata, myši nebo křečci.

Zajímavým faktem je, že pokud je v krmivu přítomen mykotoxin, tak plíseň, která jej vyprodukovala, rostla na jednotlivých komponentech tohoto krmiva, využívala minimálně jednu, ale nejspíše více živin ke svému růstu. Lze proto předpokládat, že v tomto krmivu je o mnoho méně těchto živin, než je v krmivu bez mykotoxinů. Tato interakce nedostatku živin v krmivu a přítomného mykotoxinu má ještě větší dopad na zhoršení užitkovosti hospodářských či jiných zvířat. Velkým problémem při mykotoxikóze proto může být například nedostatek esenciálních aminokyselin (lyzin a methionin), a tím zapříčiněné snížení schopnosti proteosyntézy.

Interakce mykotoxinů a onemocnění zvířat je jedním z nejdůležitějších témat chovatelů hospodářských zvířat. Mykotoxiny mají bohužel negativní vliv na přirozenou obranyschopnost organismu a na imunitu zvířat. WYATT (2005) popisuje, že v provozních podmínkách je velmi těžké odhadnout vliv mykotoxinů na imunosupresi a onemocnění zvířat.

Mnoho provozních studií nicméně potvrzuje, že vakcinační programy proti různým onemocněním nebyly úspěšné v případě mykotoxikóz, také byly zjištěny případy zhoršené imunity a potvrzen delší průběh onemocnění u zvířat, která měla v krmivech mykotoxiny.

Interakce mezi jednotlivými mykotoxiny je termín, který označuje situaci, kdy je v krmivu přítomen více než jeden mykotoxin a odezva u zvířat je spojená s přítomností těchto mykotoxinů společně. Odezva u zvířat může být buď stejná, jako bychom sečetli odhadovaný dopad jednotlivých mykotoxinů dohromady, nebo může být odezva nižší (antagonistická) a v posledním případě několikanásobně vyšší než by byl dopad jednotlivých mykotoxinů (synergistická odezva). V praxi se velmi často setkáváme se situací, kdy v krmivu při analýze nalezneme dva i více mykotoxinů společně. Důvodem může být, že stejná plíseň je schopna produkovat několik druhů mykotoxinů, nebo na substrátu rostlo více druhů plísní. Například KUBENA (1993) popsal synergistickou interakci mezi aflatoxinem a diacetoxyscirpenolem u brojlerů. Výsledkem bylo zhoršení růstu a snížení hmotnosti brojlerů. KUBENA (1997) také později popsal synergistickou interakci u komerčních brojlerů krmených dietou obsahující T-2 toxin a fumonisin B₁ a také dietu obsahující deoxynivalenol s fumonisinem B₁. Je zajímavé, že všechny tyto tři mykotoxiny produkovaly jiné plísně rostoucí na stejném krmivu.

2.4 Analýza mykotoxinů

2.4.1 Fyzikálně-chemické metody

Jednou z dostupných analytických technik je metoda využívající Mass Spectrometry Method – LC-MS2. Tato metoda využívá vysoce citlivou a selektivní kapalinovou (liquid) chromatografii s cílem dramaticky zvýšit rozlišovací a kvantifikačně-detekční schopnosti analyzovat mykotoxiny v takové komplexní matici substrátu jako je i kompletní krmivo pro hospodářská zvířata. Tato metoda kombinuje separační schopnosti (LS) spolu s přesnou detekcí velmi malých molekul (mass particles, MS metoda). MS2 je hmotnostní spektrometr, který je schopen udělat několik souborů testů hmotnostní spektrometrie, a zároveň využívá metodu mass fragmentation. Touto metodou je možné analyzovat vzorek krmiva na více než 37 různých mykotoxinů a dalších 50 jiných molekul během pouhých 15 minut s přesností detekce na ppt (parts per trillion, tedy 1×10^{-12}). Další výhodou této metody je to, že dokáže odhalit také takzvané maskované mykotoxiny, například DON-3-Glukosid.

2.4.2 Biologické metody

Z biologických metod se nejčastěji používají imunologické metody RIA a ELISA. Jsou založeny na imunitní reakci sledované látky s protilátkami. Mykotoxiny zpravidla nevyvolávají imunitní odezvu s tvorbou protilátek, ale působí jako hapteny. Po navázání na vhodný nosič (např. bílkovinu) vyvolávají tvorbu specifických protilátek, které se získávají ze séra imunizovaného zvířete, nebo jde o tzv. monoklonální protilátky. Pro jejich výrobu se užívá lymfocytů B z imunizovaného zvířete, které fúzí s vhodnou nádorovou či leukemickou buňkou. Jejich splynutím vzniká "nesmrtelná" buňka, která se v zásadě neomezeně dělí a produkuje specifické protilátky. Tyto protilátky se nazývají monoklonální z důvodu, že produkující buňky jsou všechny potomky jediné buňky. Proto produkují též zcela shodnou protilátku. V případě séra z imunizovaného zvířete jde o směs sice podobných, ale v detailech odlišných protilátek, jejíž reakce jsou méně jednoznačné a jejíž vlastnosti mohou v různých šaržích mírně kolísat. Monoklonální protilátky zajišťují vyšší úroveň standardizace metody. Lze očekávat, že časem budou klasickým protilátkám konkurovat i cenově. Metoda existuje v četných úpravách využitelných pro stanovování mykotoxinů.

Je možno například do vzorku přidat standardní množství značeného mykotoxinu a oba nechat vyvazovat na protilátky, fixované na stěně zkumavky. Při vazbě dochází ke

kompetici mezi značeným a neznačeným mykotoxinem. Radioaktivita či enzymatická aktivita zkumavky po šetrném odstranění nevyvázaného značeného mykotoxinu je nepřímou úměrná množství mykotoxinu ve vzorku. Existují i postupy, při nichž probíhá imunologická reakce v prostředí gelu, nikoli na stěně zkumavky. U řady látek (nejen mykotoxinů) je možno detekovat až pikogramové koncentrace. ELISA má proti RIA výhodu jednoduššího odečítání výsledku (zpravidla v závěru stačí změření intenzity zabarvení roztoku jednoduchým fotometrem), zavádí však do reakce další citlivou bílkovinnou molekulu (enzym), jejíž vlastnosti mohou být pozměněny balastními látkami ze vzorku a podílejí se na stárnutí analytického kitu (sady). Obě metody, RIA i ELISA, bývají zpravidla vypracovávány pro konkrétní přesně definované látky. Jsou však popsány četné falešně pozitivní výsledky (např. aflatoxin B₁ má zkříženou reakci s vanilinem). Velmi nepřehledné jsou zkřížené reakce mezi mykotoxiny vzájemně genericky odvozenými (skupina aflatoxinů, zearalenon a příbuzné, trichotheceny apod.). Rovněž je zdrojem laboratorních chyb i fakt, že mnohé mykotoxiny jsou v biologickém materiálu konjugovány s glukuronidy, přičemž o reakci výsledných komplexů s protilátkami proti mykotoxinu není mnoho známo. Zpravidla existuje více možností vazby mykotoxinu s kyselinou glukuronovou a výsledné látky mohou mít výrazně odlišnou afinitu k protilátkám proti mykotoxinu. Z tohoto důvodu se používá imunologických metod především v rámci výzkumu, popř. vnitropodnikového sledování, kde vynikne jejich vysoká citlivost (alespoň v případě aflatoxinů, ochratoxinu, zearalenonu apod.) a možnost automatizace celého postupu. V případě právně závazného porovnání s normou jsou naměřené hodnoty kontrolovány fyzikálně-chemickými metodami. Rozvoj výroby protilátek proti mykotoxinům umožnil jejich vyzkoušení v terapii mykotoxikóz. Klinická odezva byla u prasete pozitivní, jejich nasazení v případě např. laboratorní nehody je záležitostí ceny a rychlé dostupnosti (ŠIMŮNEK, 2000).

2.4.3 Toxikologické metody

Toxikologické metody jsou v současné době používány minimálně. V souvislosti s akcemi ochránců zvířat poklesla jejich dostupnost a zvýšily náklady na ně. Velmi účinné byly testy, detekující estrogenní látky (zearalenon) na základě zvětšení dělohy u nedospělých samiček potkanů a myší. Výhodou těchto testů je bezesporu detekce všech látek s daným biologickým účinkem, tedy i metabolitů obtížně stanovitelných klasickými chemickými metodami, jelikož nejsou k dispozici standardy toxinů. Určitý význam zůstává u testů na kuřecím embryu, tyto testy nejsou zásadně omezeny, protože se příslušná legislativa vztahuje

až na vylíhnutá kuřata. Orientační hodnotu mají testy na bezobratlých. V případě mykotoxinů je užívána zejména žábřonožka (*Artemia salina*, popř. *A. minima*). Podobně lze užít i prvoky (například *Paramecium caudatum*). Takovéto testy byly například užity při detekci satratoxinů a dalších makrocyclických trichothecenů.

Velmi výhodná je úprava s použitím mikrotitračních destiček. Materiál s mykotoxinem je nejlépe aplikovat tak, že do jamky s detekčními organismy ve vhodném médiu ponoříme disky z filtračního papíru, nasáknuté studovaným extraktem a dobře usušené. Při použití skleněných destiček je možno aplikovat roztoky na dno jamek a po usušení přidat médium s organismy; použitá rozpouštědla zpravidla rozpouštějí hmotu mikrotitračních destiček, takže s nimi je tento klasický postup nepoužitelný. V některých případech jsou popsány účinky dosti specifické, např. vymizení chloroplastů u rostlinných buněk vyvolané aflatoxiny. Lze detekovat i vznik mutagenních metabolitů v exponovaných organismech či samotnou mutagenní aktivitu některých mykotoxinů (Amesův test, SOS - chromotest). Tyto testy jsou však velice drahé, náročné na přesnost postupu a použité chemikálie a nejsou specifické. Pokud je potřebujeme provést u malého množství vzorků, je vhodné zadat tuto práci specializované laboratoři (ŠIMŮNEK, 2000).

2.4.4 Mikrobiologické metody

Relativně nenáročné jsou zejména z hlediska materiálního vybavení pro analýzy mykotoxinů právě mikrobiologické metody. Lze totiž detekovat blokádu růstu testovacího kmene kolem disků s obsahem mykotoxinu. Podezření na konkrétní mykotoxin je dáno jednak postupem přípravy vzorku, který vyloučí přítomnost některých mykotoxinů na disku, jednak použitím kmene se selektivně vysokou citlivostí k určitému mykotoxinu nebo skupině mykotoxinů. V některých případech lze použít selektivní blokádu účinku mykotoxinů některými látkami.

Účinek aflatoxinů lze blokovat kumarinovými preparáty a patulin a kyselinu penicillovou látkami s -SH skupinami. Ve druhém případě je vyvinuta metoda stanovení patulinu, spočívající v aplikaci dvou disků s hrubým etylacetátovým extraktem vzorku na půdu s citlivým mikrobem, přičemž na jednom je vedle vzorku přidáno i standardní množství thioglykolátu sodného. Pro přítomnost patulinu je charakteristický výrazný rozdíl velikostí zón inhibice růstu použitého mikroba kolem disků. Rozhodujícím momentem všech

uvedených metod je konstantní tloušťka a rovnoběžnost vrstvy vylité půdy, což je technicky dosti náročné.

Zdrojem chyb mohou být antibioticky působící látky, proto je použití metod omezeno především na substráty, kde není výskyt podobných látek obvyklý. Je možná úprava mikrobiologické metody k odečítání chromatogramů. Je nutno zajistit promíchatelnost vrstvy živné půdy (nejčastěji s inkorporovaným mikroblem). Baktericidní substance se na půdě projeví ploškou s inhibovaným růstem. Vedle citlivosti použitého mikroba jsou zde důležitými ukazateli i R_f skvrny, které lze porovnávat s R_f standardu (v takovém případě aplikace mikroba pouze nahrazuje postřík chromatogramu detekčním činidlem). Uvedené metody mají svůj význam hlavně pro mikrobiologické laboratoře, nevybavené k použití složitějších chemických metod. Mohou mít svůj význam u těch toxinů, kde jsou nedostupné specifické chemické reakce, proveditelné přímo na chromatogramu, a látky je příliš málo pro její bližší určení fyzikálně chemickými metodami (ŠIMŮNEK, 2000).

2.5 Mykotoxiny v objemných krmivech a jejich vliv na dojnice

Každý rok jsou celosvětově miliony tun píce, kterou konzumují hospodářská zvířata, nepadnutá plísňemi již před sklizní na poli, ale také při skladování, zejména to jsou siláže, senáže, seno a sláma. Vztahy a interakce mezi rostlinami a houbami se různí, sahají od pravé symbiózy u mnohých endofytů až po agresivní napadání rostlin způsobující viditelné poškození, což je charakteristické například pro mnoho druhů hub *Fusarium*. Houby v zájmu zvýšení své konkurence schopnosti v přírodě produkují široké spektrum sekundárních metabolitů, s protiplísňovými nebo antibakteriálními účinky, těch se využívá například pro syntézu mnohých léčiv, jmenujme například známý penicilin. Tyto vlastnosti jsou však v definicích mykotoxinů většinou zanedbávány. Jelikož většina problémů s mykotoxiny v oblasti chovu hospodářských zvířat souvisí s kontaminací krmiva. Výzkum se soustřeďuje na poznání vlastností nejčastěji se v krmivech vyskytujících mykotoxinů. Díky mikroflóře v bacheru jsou přežvýkavci méně náchylní vůči mykotoxinům, mykotoxiny s antimikrobiálním působením ale mohou tuto mikroflóru narušit a umožnit i absorpci jiných mykotoxinů. Vzhledem k tomu, že objemná krmiva stále představují neekonomičtější krmiva pro přežvýkavce, ztráty způsobené jejich kontaminací mykotoxiny mohou být vysoké (FINK-GREMMELS, 2005).

Kontaminace rostlinného materiálu nastává v případě, že přirozená mikroflóra během růstu rostlin či skladování ustoupí plísním, které pak vytvářejí mykotoxiny škodlivé pro vyšší rostliny i bakteriální flóru, avšak neškodné pro houby. Mykotoxiny jsou mimořádně stabilní organické látky, jejichž jedovatost nebývá běžnou úpravou krmiv podstatně snížena. Proto se už při relativně malém výskytu spór v krmivu ($<10^3$ spór v g) tvoří dostatečné množství mykotoxinů pro vyvolání známých příznaků otrav (KALÁČ a MÍKA, 1997). Závažnou skutečností je fakt, že ke kontaminaci objemných krmiv dochází již na poli (NEDĚLNÍK *et al.*, 2011, SKLÁDANKA *et al.*, 2011).

Trávy mohou být napadeny jak endofytickými tak epifytickými houbami. Nejvýznamnějším rodem endofytických hub napadajících trávy je *Neotyphodium*, mezi jimi produkované mykotoxiny se řadí převážně námelové alkaloidy, důležitý je ergovalin. Symptomy způsobované těmito mykotoxiny jsou především snížený váhový přírůstek, snížené váhové přírůstky, snížená laktace, snížené procento zabřezávání a zvýšená citlivost na vyšší teploty. Epifytické houby napadající trávy jsou pak zejména rodu *Fusarium*. Přestože se takto napadené trávy vyskytují běžně, data o koncentracích fusariových toxinů v nich nejsou dostačující. Případové studie však naznačují výskyt zejména trichothecenů a zearalenonu (FINK-GREMMELS, 2005).

Kukuřice je často napadána druhy rodu *Fusarium*. Tyto patogenní organismy způsobují primární poškození rostlin během vegetace, parazitují na všech částech rostliny, ale hlavní škodlivost je spojena s poškozováním dozrávajících palic kukuřice. Ke konci vegetace a především při nedodržení optimálních podmínek při sklizni a silážování může dojít k sekundární kontaminaci vláknitými mikromycetami (rody *Aspergillus*, *Penicillium*).

V klimatických podmínkách ČR je na poli zelená píce kontaminována zejména deoxynivalenolem a zearalenonem (SKLÁDANKA *et al.*, 2011). Existují rozdíly mezi jednotlivými druhy rostlin v náchylnosti k houbovým chorobám. V případě trav bývá mezi odolné druhy řazena *Festuca arundinacea* Schreb. a její kříženci s *Lolium multiflorum* Lam., konkrétně *Festulolium pabulare* (SKLÁDANKA *et al.*, 2009, SKLÁDANKA *et al.*, 2011). Naopak mezi druhy náchylné k plísním a tím také mezi druhy s vyšším potenciálním výskytem mykotoxinů bývají řazeny *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum* nebo mezirodový hybrid *Festulolium braunii* (OPITZ VON BOBERFELD, 2001, OPITZ VON BOBERFELD a BANZHAF, 2006, SKLÁDANKA *et al.*, 2011).

Co se týče konzervovaných objemných krmiv, tedy sena, slámy a siláže, situace je podobná. v těchto krmivech lze najít všechny mykotoxiny, které se vyskytovaly v původním materiálu, kvůli jejich stabilitě většinou v podobném množství, a navíc i specifickou mikroflóru, zejména různé druhy rodů *Penicillium* a *Aspergillus*. v senu se vyskytují téměř stejné mykotoxiny jako v trávě, ze které bylo vyrobeno, ovšem hladiny některých mykotoxinů, hlavně endofytických hub mohou poklesnout až k netoxickým residuálním hodnotám. Plísň například *Aspergillus fumigatus*, objevující se u skladovaného sena mohou způsobovat u skotu, koní a lidí nemoci dýchacích cest. Ve slámě jsou nalézány zejména fusariové toxiny z před sklizňového období, dermatotoxiny (T-2 toxin) mohou v případě použití napadané slámy jako podestýlky vést u chovaných zvířat k podráždění kůže. U suchých objemných krmiv je nutné dobře je usušit a uskladnit ve vhodných podmínkách (SUCHÝ a HERZICH, 2010). v případě siláží závisí složení obsažených mykotoxinů na silážovaném substrátu a samotné technice silážování. Substrát pro silážování, tedy trávy, obiloviny nebo kukuřice, může být v době sklizně kontaminován především druhy *Fusarium*, ty sice nedokážou přežít v prostředí bez kyslíku a s proměnlivým pH, v naprosté většině případů tedy mizí po několika dnech. Jejich mykotoxiny jsou však stabilní, většinou pocházejí z před sklizňového období, v silážích jsou, zejména kvůli obsahu kukuřice, nacházeny DON a další trichotheceny, zearalenon a některé fumonisiny. Důležitými kontaminanty siláží jsou *Penicillium roqueforti*, zjištěná v naprosté většině siláží produkuje zejména roquefortiny, patulin a kyselinu penicillovou, *Aspergillus fumigatus*, produkující gliotoxin, a *Aspergillus clavatus*, produkující zejména patulin (FINK-GREMMELS, 2005).

Nejčastěji se tedy v krmivech rostlinného původu (jádru, siláži, zelená píče) objevují aflatoxiny, fumonisiny, ochratoxin A, patulin, roquefortin C, zearalenon a ve značné míře také mykotoxiny ze skupiny trichothecenů (NEDĚLNÍK *et al.*, 2011).

Jednou z důležitých skupin, které jsou krmeny těmito objemnými krmivy, je právě skot. Vliv mykotoxinů obsažených v krmivu je různý a závisí na mnoha faktorech. Mimo druhu mykotoxinu, dávce a délce expozice, jsou to zejména individuální charakteristiky každého zvířete jako druhu, stáří, pohlaví a aktuálním zdravotním stavu. Je navíc prokázáno šíření toxinů přes maso a mléko do potravního řetězce lidí (NEDĚLNÍK *et al.*, 2011). Mikroflóra v batoru sice chrání obecně všechny přežvýkavce před mykotoxiny, tato schopnost je však saturovatelná. Po překročení určité hranice již dochází ke vstřebávání mykotoxinů a jejich metabolitů. v některých případech však produkty biodegradace v batoru

toxické, například v případech zearalenon na zearalenol, T-2 toxin na HT-2 toxin. Účinky dojnice popíšeme u aflatoxinů, fumonisinů, ochratoxinu A, patulinu, některých trichothecenů a zearalenonu.

Aflatoxiny jsou produkovány primárně plísněmi *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*. Nejvýznamnější jsou aflatoxiny B₁, B₂, G₁ a G₂, z nichž je nejlépe prozkoumán aflatoxin B₁ známý také jako nejsilnější přírodní karcinogen. Aflatoxiny jsou toxicitější ve svých směsích než jako samotné látky. Ač studie zabývající se rozkladem aflatoxinu B₁ v bacheru dávají různé výsledky, toxicita jeho v bacheru se vytvářejícího metabolitu aflatoxikolu je téměř stejná, tedy toxicita aflatoxinů je v bacheru odbourávána pouze minimálně. Aflatoxiny přecházejí v trávicím traktu pasivní difuzí do krve, jsou rychle metabolizovány v játrech, z krve se vylučují močí nebo mlékem. Většina autorů naznačuje, že do mléka je vylučováno 1 - 3 % přijatých aflatoxinů, průměrně 1,7 %, toto se však může měnit v závislosti na dalších faktorech. Konzumace aflatoxinů v krmivu může způsobovat v závislosti na koncentraci nižší příjem krmiva a sníženou produkci mléka. Vliv na snížení produkce mléka v průběhu laktace nastává se zpožděním (JOUANY a DIAZ, 2005).

Fumonisy jsou produkovány převážně plísněmi *Fusarium verticillioides* a *F. proliferatum*. v přírodě převládá fumonisin B₁. Metabolismus tohoto fumonisinu není stále dostatečně prozkoumán, mikroby bacheru na něj reagují jen omezeně a celý trávicí proces v bacheru není tímto mykotoxinem zvlášť ovlivněn. Fumonisin B₁ se rychle vstřebává do krve a také velmi rychle z ní mizí, jeho obsah v mléce je zanedbatelný. Pravděpodobně tedy neexistuje riziko kontaminace mléčných výrobků těmito mykotoxiny. U dojníc bylo při konzumaci krmiva s fumonisy zjištěno snížení laktace, které souviselo se sníženým příjmem krmiva. Kvůli náročnosti laktace na příjem krmiva jsou dojnice citlivější vůči fumonisinotoxikóze než skot chovaný na maso (JOUANY a DIAZ, 2005).

Ochratoxin A je převážně produkován plísněmi *Penicillium verrucosum* a *Aspergillus ochraceus*. Ochratoxin A sice na hovězí dobytek působí, jeho odbourávání v bacheru je ovšem velmi účinné, a proto jsou jeho účinky velmi malé. Chronické zkrmování nízkých dávek však může vést kvůli ukládání části přijatého ochratoxinu ve tkáních k horším následkům než vysoká jednorázová dávka. Ochratoxin zůstává kvůli svým vazbám na krevní bílkoviny dlouho v krvi a vylučuje se postupně močí (JOUANY a DIAZ, 2005).

Patulin se často vyskytuje v silážích, je produkován plísněmi rodů *Penicillium* a *Aspergillus*. Patulin, který byl dříve používán jako antibiotikum, však má negativní účinky na produkci mastných kyselin s krátkými řetězci. Je pravděpodobné, že také negativně působí na proces trávení celulózy, může být však neutralizován sloučeninami s thiolovými skupinami. Jakožto malá polární molekula se patulin rychle vstřebává do krve a je metabolizován. Jeho fyzikálně-chemické vlastnosti naznačují, že nebude ukládán do hydrofobních tkání a že nebude vylučován v mléce. Vliv patulinu na skot nebyl nikdy spolehlivě prokázán. Jen akutní toxikózy způsobí snížený příjem krmiva, sníženou laktaci a pak smrt z různých důsledků, například akutní krvácení nebo neurotoxikóza (JOUANY a DIAZ, 2005).

Trichotheceny jsou velkou skupinou mykotoxinů produkovaných běžnými plísněmi rodu *Fusarium*. Nejdůležitějšími jsou T-2 toxin a deoxynivalenol (DON). Vzhledem k tomu, že jsou trichotheceny velmi složité organické látky, jejich metabolismus probíhá po několika drahách. Vstřebávání probíhá u DON a jeho metabolitů rychle, DON je v naprosté většině ve formě metabolitu (DOM-1) vyloučen v moči, v mléce jsou jeho koncentrace zanedbatelné, nebo nedetekovatelné. DON, známý také jako vomitoxin, způsobuje u skotu snížený příjem krmiva a sníženou mléčnou užitkovost, jak sníženou laktaci, tak snížený obsah tuku. Skot chovaný na maso je mnohem odolnější vůči DON-toxikóze, má se za to, že je to způsobeno menším stresem oproti dojnicím. T-2 toxin je často spojován s odmítáním krmiva a lézemi v trávicím traktu, je možné, že také způsobuje vnitřní krvácení (JOUANY a DIAZ, 2005).

Zearalenon je produkován zejména plísněmi *F. graminearum* a také dalšími rody plísně *Fusarium*. Obyčejně kontaminuje kukuřici a pšenici, může se ovšem nacházet i v jiných plodinách. Zearalenon má estrogenní účinky, je v naprosté většině metabolizován v batoru a játrech na α -zearalenol, který je asi čtyřikrát silnější v tomto ohledu. Vylučován je močí, míra kontaminace mléka je velmi nízká, pro spotřebitele mléko je neškodné. Negativní účinky zearalenonu se kvůli jeho chemické podobnosti s estrogenem převážně týkají rozmnožovacích orgánů a reprodukce. Snižuje se schopnost zabřezávání, mohou se vyskytnout otoky a zvětšení genitálií mladých krav, mění se hormonální rovnováha a také struktura děložní tkáně.

2.6 Neutralizace vlivu mykotoxinů

Současně s objevem prvních mykotoxinů a popsáním jejich vlastností se výzkum v této oblasti začal zaměřovat na metody pro zmírnění, nebo úplné odstranění jejich

negativních účinků. Takové přípravky můžeme podle funkce rozdělit na dekontaminační a detoxikační, dekontaminační pracují na fyzikálním principu adsorpce, mykotoxiny tedy na sebe navážou, zatímco mykotoxiny jsou pomocí detoxikačního přípravku chemicky změněny na netoxické látky. Nyní je známo již mnoho látek, které dokážou dekontaminovat, nebo detoxikovat vzorek napadený mykotoxiny, většinou jsou ale jejich účinky velmi specifické pouze na jeden mykotoxin nebo na jejich úzkou skupinu.

Eliminace mykotoxinů, především v našich podmínkách rozšířených fusariotoxinů, je komplikovaná nízkou polaritou jejich molekul a tím i omezenou možností adsorpce, která je navíc málo stabilní. Na vyvazování mykotoxinů se donedávna používaly přípravky na bázi jílu, které selektivně adsorbují polární mykotoxiny, aflatoxiny a částečně ochratoxin A. Adsorpční složkou jsou speciálně upravené aktivované hlinitokřemičitany (zeolity) s krystalickou strukturou. Velikost pórů v krystalické struktuře zajišťuje selektivitu účinku pouze na žádanou velikost molekul a rozmístění polárních skupin. Adsorpce je však možná pouze u molekul, které mají funkční polární skupiny. Adsorbované mykotoxiny nemohou být vstřebány přes střevní stěnu do krve, procházejí trávicím traktem zvířete a exkrementy ven z těla (DIAZ a SMITH, 2005).

Vzhledem k chemické struktuře nejčastěji se u nás vyskytujících mykotoxinů se v současnosti využívá do přípravků inaktivovaná biomasa *Sacharomyces cerevisiae* se zachovalou enzymatickou aktivitou esteráz a epoxidáz. Tyto enzymy účinně degradují molekuly trichothecenů a zearalenonu na netoxické metabolity, které jsou opět vyloučeny přirozenou cestou ze zvířete. Tyto přípravky se míchají do krmiva jako prevence (NEDĚLNÍK *et al.*, 2011).

Závěrem můžeme konstatovat, že vliv mykotoxinů na výsledky reprodukce u skotu je jen velmi málo probádán. Proto bychom se chtěli touto problematikou zabývat a pokusit se v praktických podmínkách zjistit zda zaplesnivělá nebo kontaminovaná krmiva mají vliv na užitkovost krav ve velkokapacitních provozních podmínkách.

3 Cíle a hypotéza disertační práce

Existuje hypotéza, že při zkrmování zaplesnivělých krmiv hospodářským zvířatům dochází k zhoršování ukazatelů produkce i reprodukce.

Cílem práce bylo zjistit vliv krmných dávek, které obsahovaly přirozeně se vyskytující mykotoxiny, na užitkovost dojnic, parametry mléka a na reprodukční ukazatele chovu dojnic. Bylo třeba pomocí analytických metod zjistit množství mykotoxinů v krmných dávkách na vybraném chovu a zjistit, zda použití krmného doplňku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů v krmných dávkách má pozitivní vliv na užitkovost dojnic.

4 Materiál a metodika

V provozní stáji Agrodružstva Sebranice byl uspořádán pokus s cílem zjistit vliv negativního působení mykotoxinů ve směsné krmné dávce (TMR) podávané dojnicím holštýnského plemene s cílem zjistit, zda přídavek přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů má pozitivní vliv na zdravotní stav dojníc a zda má také vliv na snížení negativního vlivu mykotoxinů na parametry užitkovosti dojníc.

Stáj je moderní stanové konstrukce zabezpečující dostatečnou kapacitu vzduchu. Stáje jsou volného boxového ustájení, lože je s matracemi stlané slámou, odklíz hnoje zabezpečuje oběžný shrnovač. Dojení je individuální pomocí dojících robotů. (K práci jsou připojeny ilustrační obrázky č. 1 až 4 vytvořené autorem práce.)

Pokusná stáj byla rozdělena na 6 skupin po 50 dojnících, přičemž 3 skupiny byly pokusné a 3 skupiny kontrolní. v průběhu pokusu se toto proměnilo. Pokus byl prováděn v pěti fázích:

Přípravná fáze: dojnice byly krmeny standardními (neobohacenými) krmnými dávkami a byly sledovány zkoumané parametry u všech dojníc.

První pokusná fáze: polovině skupin dojníc byl do standardní krmné dávky přidán přípravek na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů, druhá polovina skupin dojníc byla kontrolním vzorkem, byly sledovány zkoumané parametry u všech dojníc.

*Fáze wash-out:*² všechny skupiny dojníc byly krmeny standardní krmnou dávkou, aby se v největší možné míře omezil vliv skupin, byly sledovány zkoumané parametry u všech dojníc.

Druhá pokusná fáze: druhé polovině (podle rozdělení z 2. fáze) skupin dojníc byl do standardní krmné dávky přidán přípravek na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů, první polovina skupin dojníc byla kontrolním vzorkem, byly sledovány zkoumané parametry u všech dojníc.

² Tzv. vypouštěcí či vymývací fáze.

Konečná fáze: všechny dojnice byly krmeny standardními krmnými dávkami a byly sledovány zkoumané parametry u všech dojnic.

Podrobné schéma uspořádání pokusu je uvedeno v tabulce č. 1.

Dojnice byly krmeny jednotnou směsnou krmnou dávkou (TMR) dvakrát denně, do směsné krmné dávky byla přidávána doplňková krmná směs pro TMR. Složení denní krmné dávky, obsah živin v krmné dávce i složení premixu bylo sestaveno odbornou poradenskou firmou Mikrop Čebín s.r.o. Složení krmné dávky (TMR) je uvedeno v tabulce č. 2 a jednotlivé parametry živin krmné dávky jsou uvedeny v tabulce č. 3. Složení doplňkové krmné směsi pro TMR je potom uvedeno v tabulce č. 4. Složení premixu do krmné směsi pro dojnice je uveden v tabulce č. 5

Dojnice byly dojeny pomocí dojících robotů Lely Astronaut od firmy Lely. V průběhu dojení jim byla automaticky podávána doplňková krmná směs ROBOT pomocí šnekových dopravníků přímo z jednoho ze dvou zásobníků na 3,6 tuny krmiva. Z jednoho zásobníku byla v průběhu pokusu krmena pokusná skupina a z druhého kontrolní skupina. Složení směsi v obou zásobnících byla identická, pouze v zásobníku pro pokusnou skupinu byl namíchán přípravek na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů v dávce takové, aby dojnice dostala tohoto přípravku 20 g na den. Složení doplňkové krmné směsi ROBOT je uvedeno v tabulce č. 4. Složení přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů je uvedeno v tabulce č. 6.

V každém z pěti sledovaných období jsme odebrali TMR pro podrobnou analýzu na obsah mykotoxinů. Průměrný vzorek TMR jsme nechali odborně stanovit na 3 druhy mykotoxinů: DON, Zearalenon a T2 toxin. Pro zjištění množství těchto mykotoxinů v TMR byla použita metoda ELISA TEST (tato metoda je popsána v části 2.4.2) v akreditované laboratoři č. 1144 detašovaného pracoviště v Brně Státního veterinárního ústavu Olomouc (SVU). Veškeré analýzy zpracoval MVDr. Karel Lichtenberg dle jednotné metodiky CIA podle ČSN EN ISO/IEC 17025. Hladiny zjištěných mykotoxinů ve společně krmené směsné krmné dávce (TMR) v jednotlivých fázích pokusu jsou uvedeny v tabulce č. 7.

Užitkovost byla sledována individuálně u vybraných dojnic, které byly zapojeny do všech sledovaných období. Podklady pro vyhodnocení individuální mléčné užitkovosti a počtu somatických buněk zpracovala Národní plemenářská organizace při pravidelné kontrole užitkovosti v každém sledovaném období. U všech skupin byl sledován zdravotní stav a vyhodnocen výskyt mastitid v jednotlivých sledovaných obdobích. Výsledky hodnocení

výskytu mastitid jsou uvedeny v tabulce č. 8. Jedním ze sledovaných ukazatelů užitkovosti bylo také procento zabřezávání (procento březosti). Toto procento zabřezávání jsme zjistili vydělením počtu krav zjištěných jako březí, a to pomocí sonografu v době 2 měsíce od inseminace, počtem všech krav inseminovaných v daném sledovaném období. Výsledky vyhodnocení procent zabřezávání jsou uvedeny v tabulce č. 9.

Stájové prostředí a podmínky managementu byly po celou dobu pokusu vyrovnané. Teplota prostředí odpovídala roční době a zeměpisné šířce. Průměrné měsíční teploty za sledované období se pohybovaly v září mezi 14 a 17°C, v říjnu mezi 11 a 13°C, v listopadu mezi 8 a 10°C, v prosinci mezi 5 a 6°C a na konci pokusného období v lednu mezi -3 až 3°C.

Získaná data byla podrobena biometrické analýze podle postupů popsaných SNEDECOR a COCHRAN (1989).

5 Výsledky a diskuze

V každé fázi pokusu jsme odebrali průměrný vzorek směsné krmné dávky (TMR) a nechali zpracovat analýzu pomocí ELISA testu na SVU Brno. Vzorky byly analyzovány na tyto mykotoxiny DON, zearalenon a T-2 toxin. Množství DON v $\mu\text{g/kg}$ se pohybovalo od 178 $\mu\text{g/kg}$ až do 538 $\mu\text{g/kg}$ v TMR. Množství Zearalenonu bylo od 77 $\mu\text{g/kg}$ až do hodnoty 135 $\mu\text{g/kg}$ v TMR. Hodnoty T-2 toxinu se pohybovaly od 25 $\mu\text{g/kg}$ do hodnoty 354 $\mu\text{g/kg}$ TMR, přičemž většina hodnot se pohybovala kolem hodnoty 30 $\mu\text{g/kg}$ TMR a pouze v jedné fázi pokusu byla hladina T-2 toxinu velmi vysoká a to 354 $\mu\text{g/kg}$. Lichtenberg, (SVU 2009) analyzoval více než 120 krmiv ve stejném časovém období na tyto 3 stejné mykotoxiny a zjistil velmi podobné hladiny mykotoxinů, jaké jsme zjistili v našem pokusu. Souhrn jeho analýz na DON, ZEA a T-2 toxinu v porovnání s obsahy v TMR je uveden v grafech č. 1 až č. 3. Vzorky, jež analyzoval MVDr. Lichtenberg (SVU 2009), pocházejí z farem v České republice. Srovnání námi a jím zjištěných hodnot je proto na místě. Hladiny mykotoxinů v TMR se prakticky stále pohybovaly pod průměrnými hodnotami naměřenými MVDr. Lichtenbergem (mimo T-2 toxinu v průběhu října 2009). Průměrné hodnoty, horní kvartily, směrné a maximální hodnoty hladin různých mykotoxinů v různých vzorcích z ČR, střední Evropy a EU jsou uvedeny v tabulce č. 10.

5.1 Vyhodnocení mléčné užitkovosti a vlastností mléka

Během pokusu byl zaznamenán výrazný vliv podání přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů na parametry mléka, zejména na tučnost mléka. Vyhodnocení mléčné užitkovosti, tučnosti a dalších parametrů mléka uvádíme v následujících oddílech.

5.1.1 Mléčná užitkovost a obsah tuku v mléce

V tabulce č. 11 jsou uvedeny výsledky pokusu hodnocení mléčné užitkovosti. V našem pokusu byl pozorován statisticky významný vliv na mléčnou užitkovost u skupin dojnic s přídatkem nebo bez přídatku 1,3 a 1,6 β -glukanů. Průměrná mléčná užitkovost ve srovnání skupin s přídatkem přípravku (M+) na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů vykázala pokles z 31 kg/den na 30,2 kg/den (na hladině statistické významnosti $P < 0,01$). Rozdíl těchto průměrů je 0,8 kg/den, což značí zhruba 3% pokles mléčné užitkovosti.

V grafu č. 4 je na ose x fáze pokusu a na ose y mléčná užitkovost v litrech za den, do grafu jsou vyneseny závislosti těchto veličin na podskupině (označené jako robot). Zkoumanou hypotézou je závislost mléčné užitkovosti na fázi pokusu, podskupině a dvojici podskupina-fáze pokusu. Ukazuje se, že všechny tyto závislosti jsou statisticky významné ($P < 0,05$). Mléčná užitkovost tedy závisí na podskupině (zde jsou významnými homogenními skupinami roboty 2, 5, 7 a roboty 6 a 2; skupinám robot 2, 3, 4 byl ve druhé fázi podán do krmiva přípravek, přičemž u robotů 3 a 4 byl následně zaznamenán nárůst mléčné užitkovosti), závisí na fázi pokusu (homogenními skupinami jsou periody 4, 3 a periody 3, 2) a závisí také na dvojici fáze pokusu-podskupina (mění se tedy v průběhu času).

V grafu č. 5 je na ose x indikátor podání obohaceného krmiva (1 odpovídá nepodání, na jiných místech této práci označované jako M-, zatímco 2 odpovídá podání obohaceného krmiva, místech této práci označované jako M+ a na ose y mléčná užitkovost, do grafu jsou vyneseny závislosti těchto veličin na podskupině (označené jako robot). Zkoumanou hypotézou je závislost mléčné užitkovosti na podání obohaceného krmiva. Ukazuje se, že tato závislost je statisticky významná ($P < 0,05$). Mléčná užitkovost tedy závisí na podání obohaceného krmiva (význačnými homogenními skupinami jsou roboty 2, 4, 6 a roboty 3, 5, 7). Statisticky je významná také změna mléčné užitkovosti po podání obohaceného krmiva u jednotlivé podskupiny (tedy dvojice podání obohaceného krmiva-robot).

Obecně byl pokles mléčné užitkovosti v průběhu pokusu vzhledem k vlastnostem dojnic předpokládán a očekáván. Je ale pravděpodobné, že podávání přípravku jej zpomalilo.

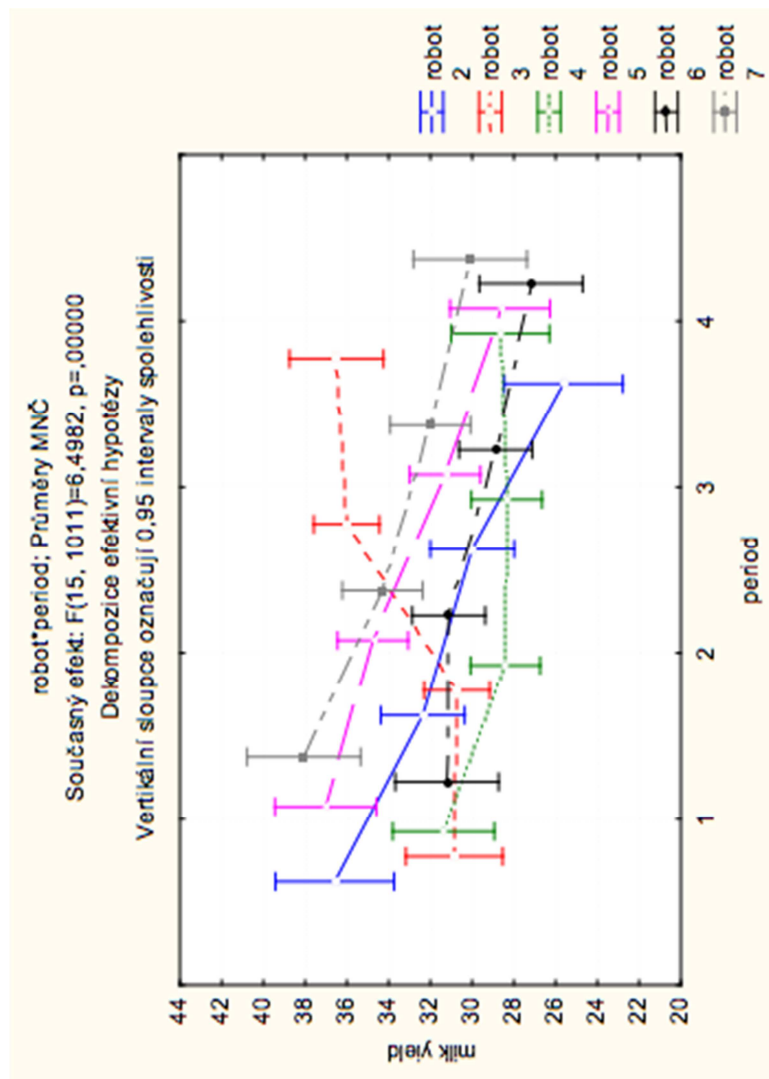
Je známo, že mykotoxiny mají negativní vliv na počet celulolytických bakterií v batoru. Vzhledem k tomu, že 1,3 a 1,6 β -glukany vyvazují mykotoxiny z krmiva, zvýšení obsahu tuku v době podávání přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů může svědčit o nárůstu populace bakterií produkujících kyselinu octovou v batoru jako prekursor mléčného tuku.

Na v mléce dojnic na jednotlivých robotech byla zjištěna tučnost od 3,79 % do 4,02. Jak je uvedeno v tabulce č. 11, u skupin dojnic bez přídatku (M-) 1,3 a 1,6 β -glukanů byla tučnost v mléce 3,79 % a u skupiny dojnic pokusné (M+) s přídatkem 1,3 a 1,6 β -glukanů byla tučnost v mléce 4,02 % při hladině statistické významnosti $P < 0,01$. Zjistili jsme statisticky průkazné nižší procento tuku v mléce u dojnic bez přídatku (M-) 1,3 a 1,6 β -glukanů a u skupin dojnic s přídatkem (M+) 1,3 a 1,6 β -glukanů byla tučnost mléka vyšší. Takový rozdíl průměrné tučnosti má přímý pozitivní vliv na ekonomiku chovu dojného skotu.

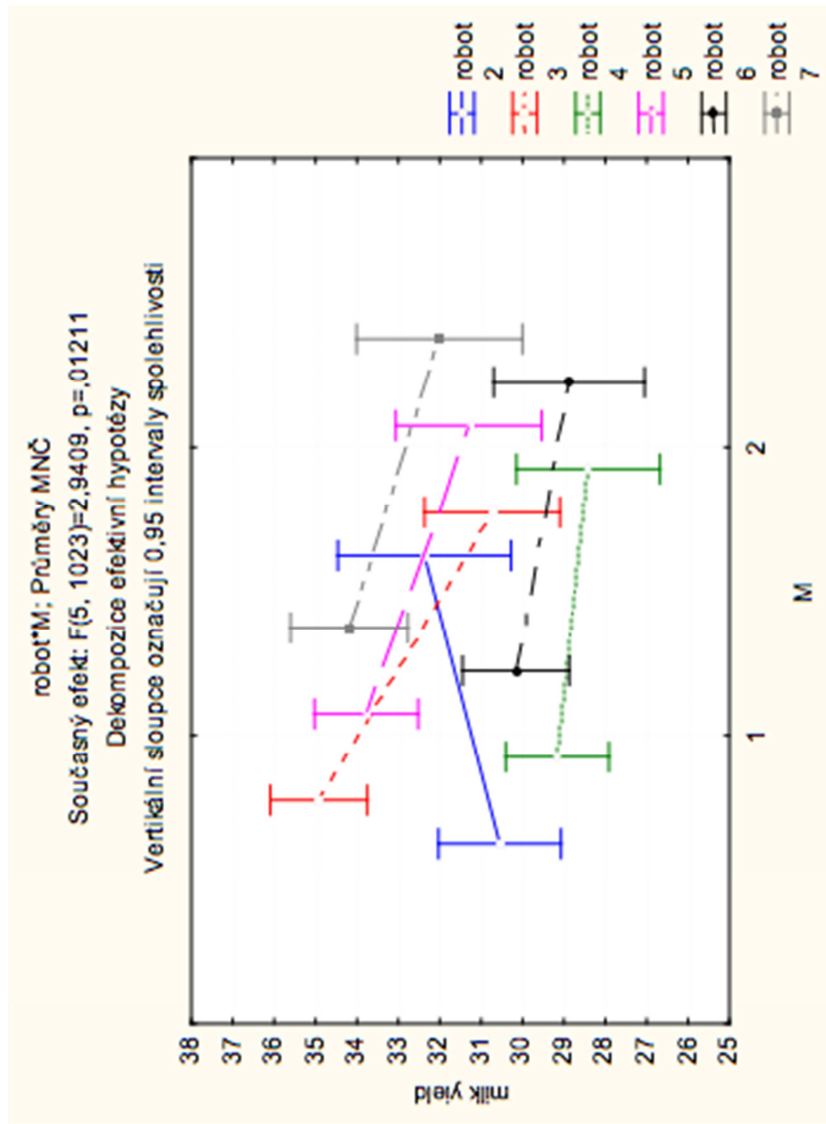
Ukazuje se, že obsah tuku v mléce je také statisticky významně závislý na fázi pokusu, podskupině a dvojici podskupina-fáze pokusu. Homogenní skupinu fází pokusu tvoří fáze 2, 3 a 4, tedy fáze, kdy bylo některým dojnícím podáváno obohacené krmivo (2, 4), nebo na takovou fázi navazovala (3). Ukazuje se také, že obsah tuku v mléce je také statisticky významně závislý na indikátoru podání obohaceného krmiva.

Při podávání 1,3 a 1,6 β -glukanů v krmné dávce byl zjištěn vliv ($P < 0,01$) na tučnost mléka. v období bez podání 1,3 a 1,6 β -glukanů M- byl obsah tuku v mléce nižší ($P < 0,05$) než v období kdy byl přípravek podáván v krmné dávce.

CHARMLEY *et al.* (1993) při svém pokusu zjistil snížení mléčné užitkovosti o 13% (2,83 kg) při přepočtu na 4% tučnost mléka. v pokusu bylo zařazeno 18 dojnic na střední laktace a byly krmeny krmnou dávkou obsahující DON o koncentraci 0, 2700 nebo 6400 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Snížení mléčné užitkovosti v tomto případě nebylo statisticky průkazné, ovšem velmi zajímavý je fakt, že zjistil statisticky neprůkazné ($P=0,24$) snížení obsahu tuku v mléce (3,92% vs. 3,04%). Zde tedy můžeme usuzovat, že v našem pokusu jsme zjistili podobnou skutečnost, že hladiny mykotoxinů (DON aj.) mohou mít negativní vliv na obsah tuku v mléce.



Graf č. 4: Mléčná užitkovost v závislosti na podskupině a fázi pokusu



Graf č. 5: Mléčná užitkovost v závislosti na podskupině a přidání vyvazovače

5.1.2 Obsah laktózy a bílkovin v mléce

Co se týče procentuálního obsahu laktózy v mléce viz tab 11, došlo ve srovnání skupin bez přídatku (M-) přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů a skupin s ním (M+) v krmivu ke snížení ze 4,89 na 4,88 % ($P < 0,01$), ovšem naproti tomu bylo zaznamenáno zvýšení procentuálních obsahů bílkovin z 3,55 na 3,57 %, ($P < 0,001$) ve srovnání skupin bez přídatku přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů a skupin s ním v krmivu.

V grafu č. 6 níže je na ose x fáze pokusu a na ose y obsah bílkovin v gramech na litr mléka, do grafu jsou vyneseny závislosti těchto veličin na podskupině (označené jako robot). Zkoumanou hypotézou je závislost obsahu bílkovin na fázi pokusu, podskupině a dvojici podskupina-fáze pokusu. Ukazuje se, že všechny tyto závislosti jsou statisticky významné ($P < 0,05$). Obsah bílkovin v mléce tedy závisí na podskupině (nejsou zde žádné významné homogenní skupiny; u podskupiny označené robot 3 je viditelný pokles obsahu bílkovin mléce, který souvisí s nárůstem produkce mléčné užitkovosti viditelné v předchozím grafu), závisí na fázi pokusu (homogenními skupinami jsou periody 2, 3, 4) a závisí také na dvojici fáze pokusu-podskupina (mění se tedy v průběhu času u jednotlivé podskupiny).

Obsah bílkovin v mléce rostl, mimo podskupiny označené jako robot 3, u všech podskupin s tím, jak se snižovala jejich mléčná užitkovost.

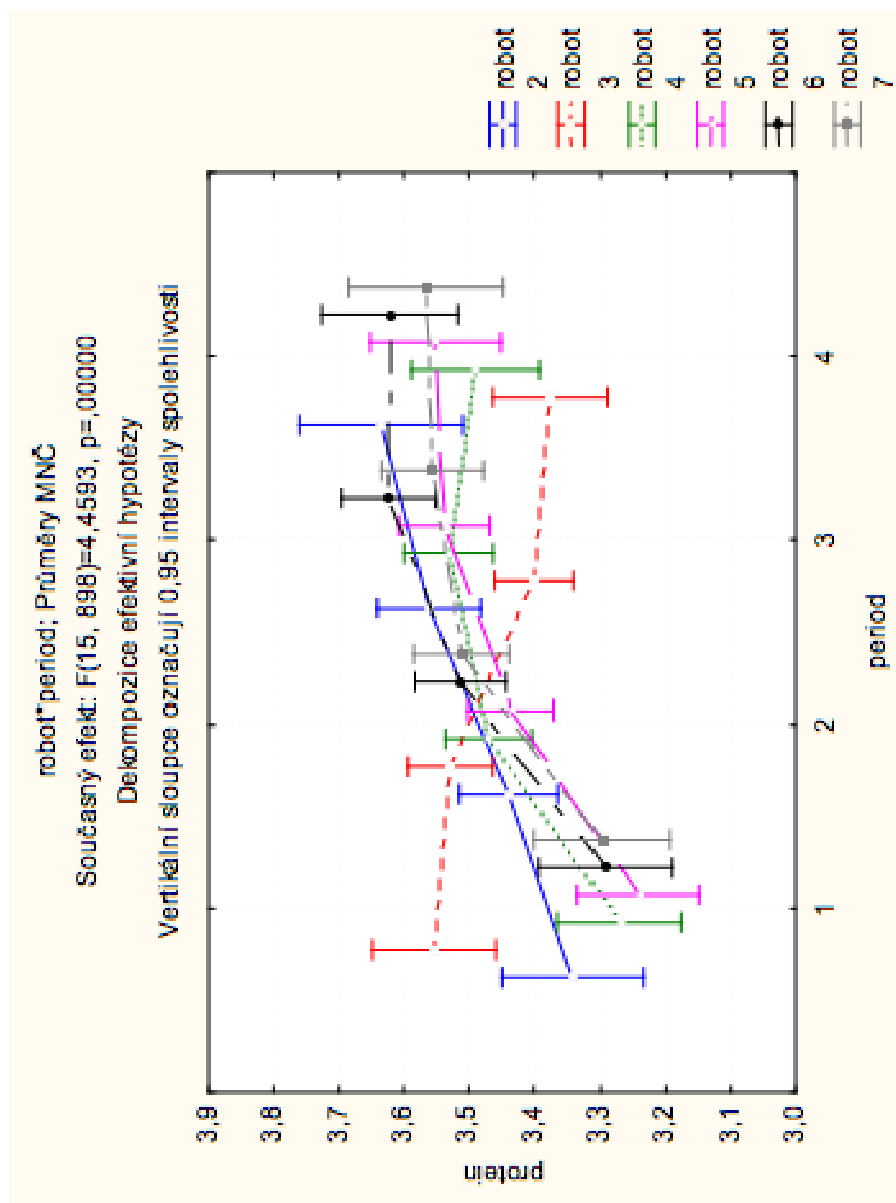
V grafu č. 7 níže je na ose x fáze pokusu a na ose y obsah laktózy v gramech na litr mléka, do grafu jsou vyneseny závislosti těchto veličin na podskupině (označené jako robot). Zkoumanou hypotézou je závislost obsahu laktózy v mléce na fázi pokusu, podskupině a dvojici podskupina-fáze pokusu. Ukazuje se, že všechny tyto závislosti jsou statisticky významné ($P < 0,05$). Obsah laktózy v mléce tedy závisí na podskupině (významné homogenní skupiny zde tvoří podskupiny robot 4, 5, 6, 7 a robot 2, 3; skupinám označeným jako robot 2, 3, 4 byl ve fázi 2 pokus podáno obohacené krmivo, u skupin robot 3 a 4 se následně projevil výrazný nárůst obsahu laktózy), závisí na fázi pokusu (homogenními skupinami jsou periody 2, 3, 4 a periody 4 a 1) a závisí také na dvojici fáze pokusu-podskupina (mění se tedy v průběhu času u jednotlivé podskupiny).

V grafu č. 8 níže je na ose x indikátor podání obohaceného krmiva (1 odpovídá nepodání, na jiných místech této práci označované jako M-, zatímco 2 odpovídá podání obohaceného krmiva, místech této práci označované jako M+) a na ose y obsah bílkovin

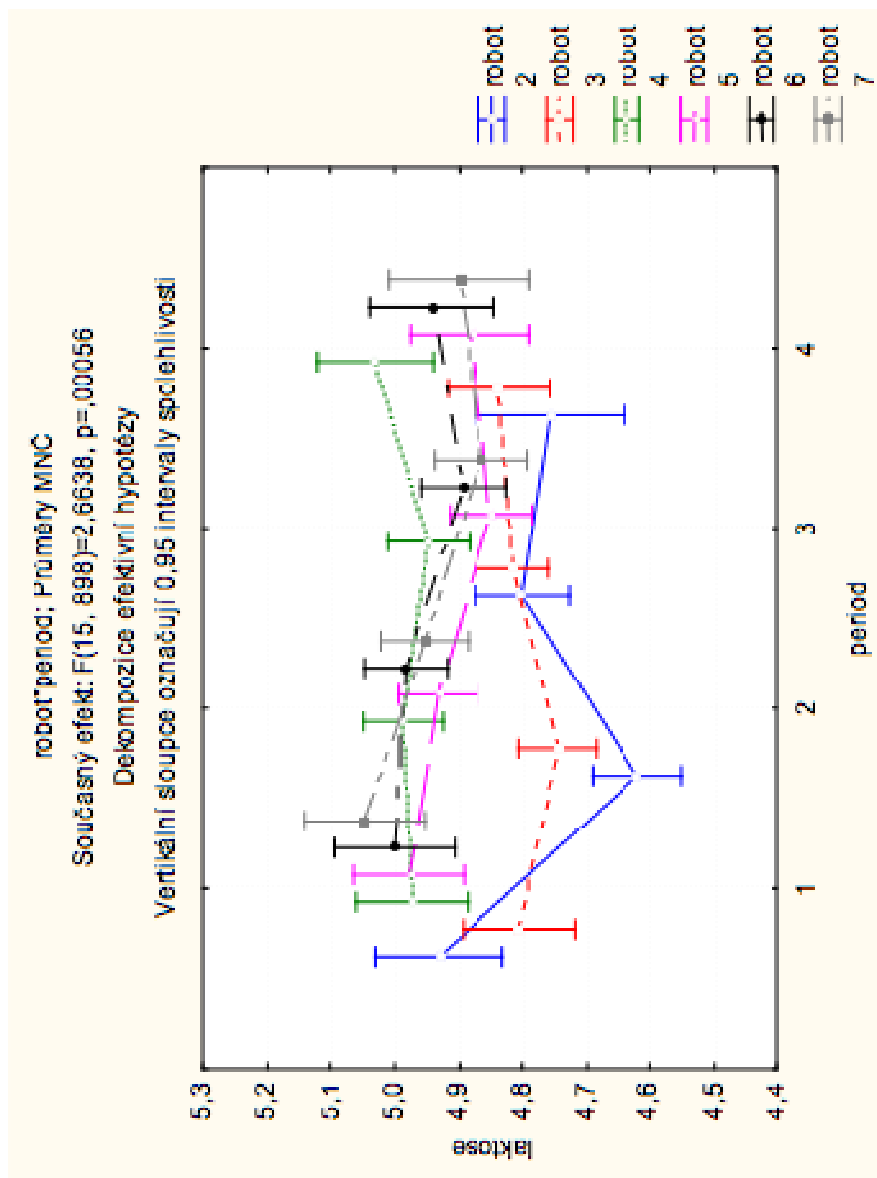
v mléce, do grafu jsou vyneseny závislosti těchto veličin na podskupině (označené jako robot). Zkoumanou hypotézou je závislost obsahu bílkovin v mléce na podání obohaceného krmiva. Ukazuje se, že tato závislost je statisticky významná ($P < 0,05$). Obsah bílkovin v mléce tedy závisí na podání obohaceného krmiva (nejsou významné homogenní skupiny). Statisticky je významná také změna obsahu bílkovin v mléce po podání obohaceného krmiva u jednotlivé podskupiny (tedy dvojice podání obohaceného krmiva-robot). Viditelný je až na podskupinu označenou jako robot 2 výrazný nárůst u všech podskupin.

V grafu č. 9 níže je na ose x indikátor podání obohaceného krmiva (1 odpovídá nepodání, na jiných místech této práci označované jako M-, zatímco 2 odpovídá podání obohaceného krmiva, místech této práci označované jako M+) a na ose y obsah laktózy v mléce, do grafu jsou vyneseny závislosti těchto veličin na podskupině (označené jako robot). Zkoumanou hypotézou je závislost obsahu laktózy v mléce na podání obohaceného krmiva. Ukazuje se, že tato závislost je statisticky významná ($P < 0,05$). Obsah laktózy v mléce tedy závisí na podání obohaceného krmiva (významné homogenní skupiny jsou robot 2, 3 a robot 4, 5, 6, 7). Statisticky je významná také změna obsahu laktózy v mléce po podání obohaceného krmiva u jednotlivé podskupiny (tedy dvojice podání obohaceného krmiva-robot).

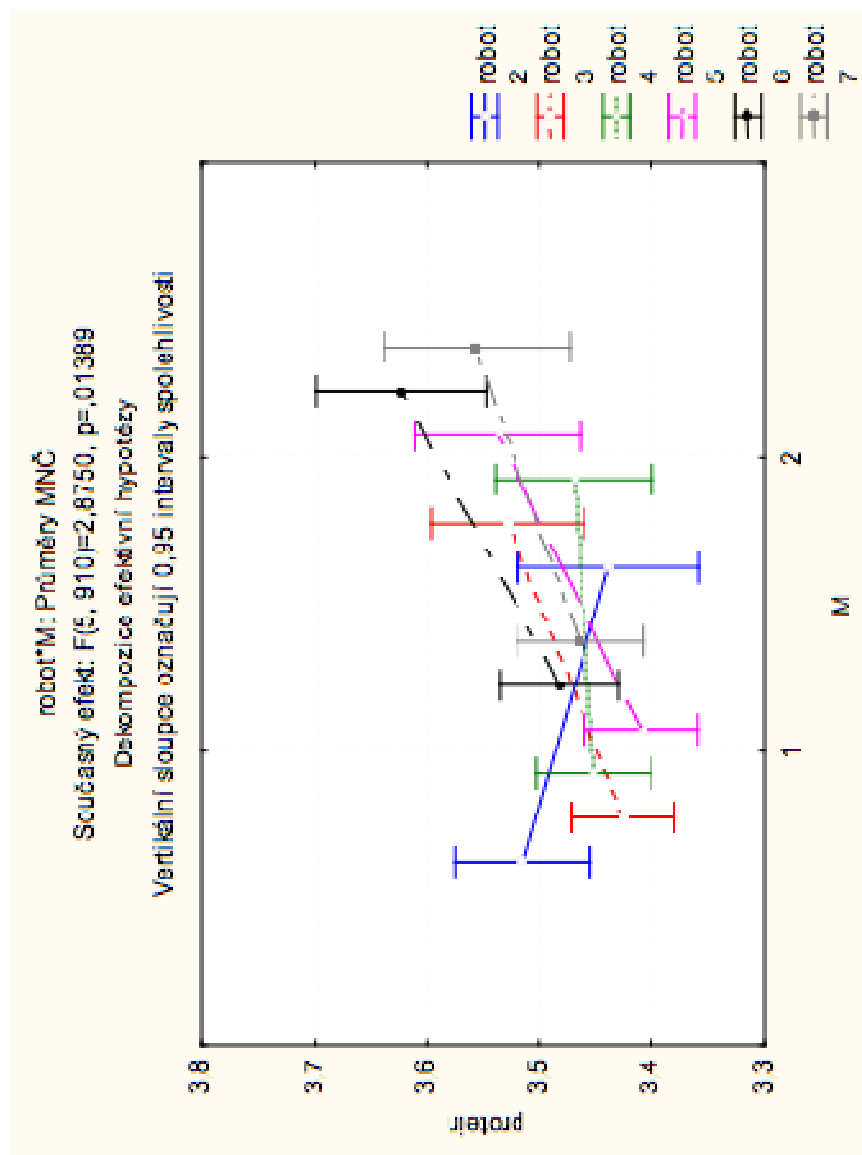
Vzhledem k menšímu (3%) poklesu mléčné užitkovosti oproti růstu obsahu proteinů v mléce (u některých podskupin až 10%) muselo tedy dojít k částečnému zvýšení produkce bílkovin. Toto pozorování je konzistentní s výsledky, jež uvádí PESTKA (2007), s tím, že jedním z toxických efektů trichothecenů (tedy i s deoxivalenolem) je potlačení produkce bílkovin. Podáním obohaceného krmiva (M+) dojnícím nedošlo k vstřebání DON z něj, což mohlo podpořit proteosyntézu, jež se projevila na růstu obsahu proteinů v mléce.



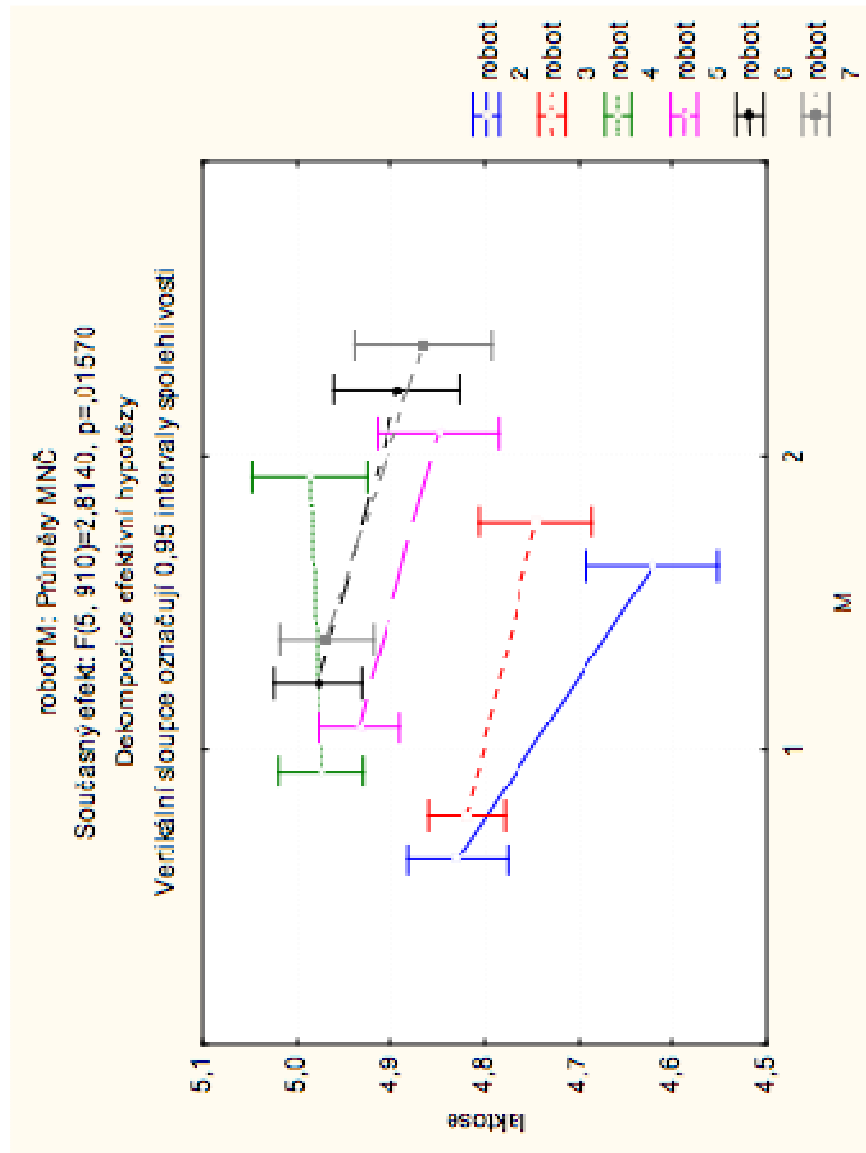
Graf č. 6: Obsah bílkovin v mléce v závislosti na podskupině a fázi pokusu



Graf č. 7: Obsah laktózy v mléce v závislosti na podskupině a fázi pokusu



Graf č. 8: Obsah bílkovin v mléce v závislosti na podskupině a podání vyvazovače



Graf č. 9: Obsah laktózy v mléce v závislosti na podskupině a podání vyvazovače

5.2 Vyhodnocení reprodukce

Vyhodnocení reprodukčních ukazatelů u dojnic bylo prováděno průběžně tak, že jsme počet dojnic ve skupině zjištěných jako březí vydělili počtem dojnic zapuštěných, čímž jsme získali procento zabřezávání. Tato charakteristika byla ve sledovaném období vysoce variabilní, nabývala hodnot od 11 až do 85 %. Tyto hodnoty jsou vyneseny v grafu č. 11. Z tohoto grafu je viditelný významný pokles variability u dojnic, jež byly krmeny dávkami s přídatky vyvazovače (M+) a také významný růst procenta zabřezávání. Celkově byla míra zabřezávání u dojnic krmených dávkami s přídatkem 1,3 a 1,6 β -glukanů mnohem vyšší, 62,25 oproti 42,95 %. Zjištěný rozdíl je vyšší o 53 % v procentu zabřezávání u dojnic krmených s přídatkem 1,3 a 1,6 β -glukanů oproti dojnicím kterým 1,3 a 1,6 β -glukan podáván nebyl. Takový rozdíl procentuální březosti má přímý pozitivní vliv na ekonomiku chovu dojného skotu. ROSSI *et al.*, 2009 také popisuje, že mykotoxiny zearalenon, ergotamin a aflatoxiny mají přímý negativní vliv na reprodukční ukazatele dojnic kvůli způsobené dysfunkci vaječníků.

Tento efekt byl pravděpodobně způsoben vyvázáním zearalenonu, ale také dalších mykotoxinů, což uchránilo reprodukční orgány dojnic před jejich negativními účinky. Pro toto vysvětlení hovoří výsledky několika autorů: ROSSI *et al.*, 2009 popisuje, že zearalenon a aflatoxiny mají přímý negativní vliv na reprodukční ukazatele dojnic kvůli způsobené dysfunkci vaječníků. HUSZENICZA *et al.*, 1995 při svých pokusech v provozních stájích v Maďarsku u holštýnského skotu dospěli také k zajímavému zjištění, že pokud byl v krmných dávkách přítomen zearalenon a T-2 toxin, došlo ke snížení funkcí vaječníků, což vedlo ke zhoršenému zabřezávání. Také OZSOY *et al.* 2005 v Turecku zjistili u stáda 300 kusů Holštýnského plemene přímý vliv mykotoxinu Aflatoxin B1 v přítomném krmivu na zhoršení projevů laminitid a projevů neplodnosti dojnic, konkrétně zjistili zvýšený výskyt cyst na vaječnicích u dojnic, u kterých byl zjištěn v krmivech Aflatoxin B1. Tito autoři také sledovali množství Aflatoxinu M1 v mléce a zjistili, že dojnice, které měly problémy s reprodukcí a kulháním, měly hladiny Aflatoxinu M1 v mléce vyšší než dojnice, které tyto problémy neměly.

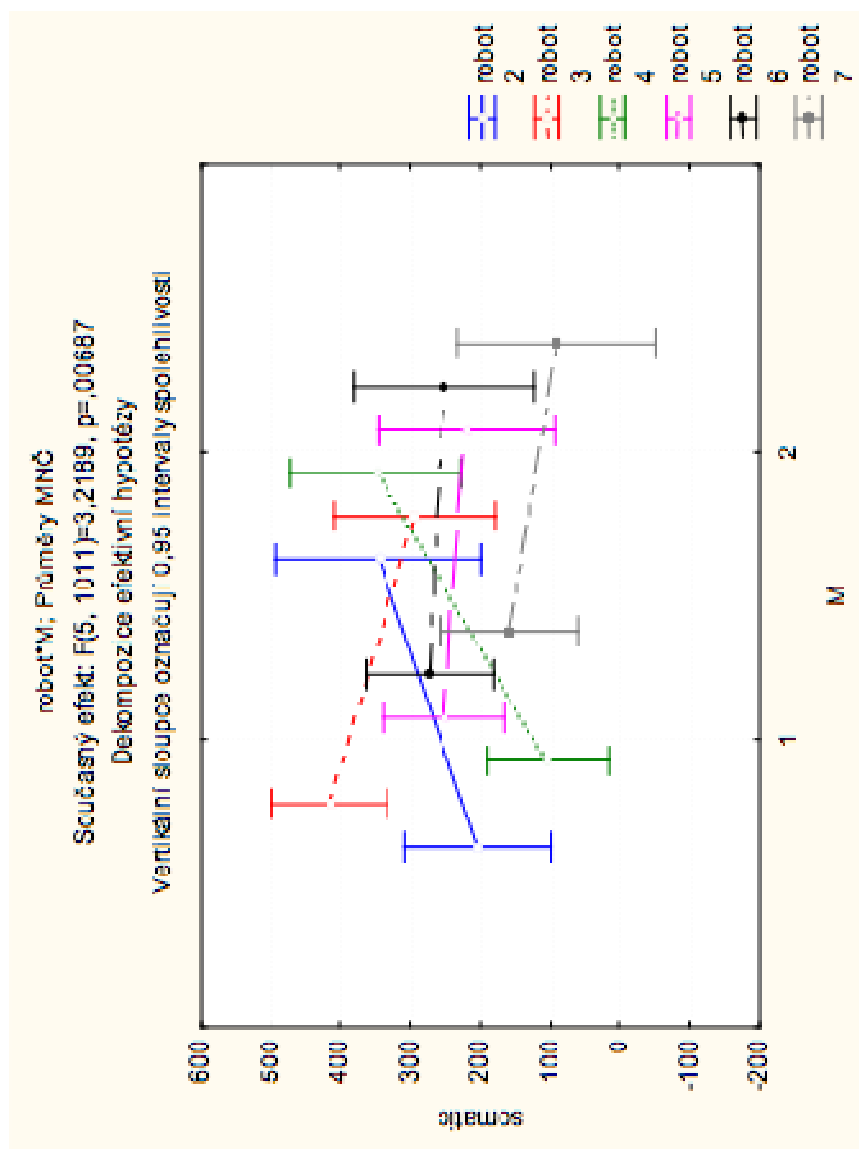
5.3 Vyhodnocení mastitid

Výsledky vyhodnocení výskytu mastitid jsou uvedeny v tabulce č. 8. U skupin dojnic bez přídávku 1,3 a 1,6 β -glukanů bylo provedeno celkem 365 léčení mastitid, toto číslo jsme vydělili počtem dní 186, tedy 1,96 dojnic bylo léčeno denně. U skupin dojnic s přídávkem 1,3 a 1,6 β -glukanů v krmných dávkách bylo provedeno celkem 237 léčení mastitid a toto číslo jsme podělili počtem dní 139, tedy 1,7 dojnic bylo léčeno denně. Tento rozdíl je nižší o 0,26 ks léčené dojnice na mastitidu denně. Tento rozdíl může být způsoben tím, že přítomnost DON v krmivu zvyšuje obecně zánětlivost v organismu dojnic. Jak totiž uvádí KŘÍŽOVÁ a PAVLOK (2011), jiné studie naznačují, že DON může mít vlivem snížené produkce imunoglobulinů ve slezině a brzlíku imunosupresivní účiny. Navíc dle PESTKA *et al.* (1994) existují důkazy, že jedním z hlavních efektů DON je již při malých koncentracích zvýšená produkce zánětlivých cytokininů.

Statistické vyhodnocení počtu somatických buněk v mléce je uvedeno v tabulce č. 11. Ve skupině dojnic s přídávkem 1,3 a 1,6 β -glukanů bylo 113 000 somatických buněk v 1 ml mléka a ve skupině kontrolní 100 000 somatických buněk v 1 ml mléka. Zde nebyla prokázána statistická průkaznost mezi pokusnými skupinami. Tyto hladiny počtu somatických buněk v mléce můžeme dle mého názoru hodnotit jako velmi dobré. BOUŠKA *et al.*, 2006 uvádí, že hladina počtu somatických buněk v mléce dojnic se zdravým vemenem je kolem 50 000. Při počtu somatických buněk v mléce kolem 100 000 v 1 ml mléka se odhadují ztráty na 3 %, při 200 až 300 tisících 6-7 % a při 500 až 600 tisících na 9 až 10 %.

V grafu č. 10 níže je na ose x indikátor podání obohaceného krmiva (1 odpovídá nepodání, na jiných místech této práci označované jako M-, zatímco 2 odpovídá podání obohaceného krmiva, místech této práci označované jako M+) a na ose y počet somatických buněk (ve stech tisících na litr), do grafu jsou vyneseny závislosti těchto veličin na podskupině (označené jako robot). Zkoumanou hypotézou je závislost obsahu laktózy v mléce na podání obohaceného krmiva. Ukazuje se, že tato závislost je na hranici statistické významnosti ($P \approx 0,05$). Nejsou žádné významné homogenní skupiny.

Náklady na jeden krmný den dojnice v laktaci se pohybují do 85 korun, náklady na vyléčení mastitidy jedné krávy za celé období léčení činí 1420,- (léčivo + úkon), cena jedné inseminované krávy 460,- (dávka + úkon).



Graf č. 10: Výskyt mastitid v závislosti na podskupině a podání vyvazovače

Graf 1

vače

6 Závěr

Obecně lze konstatovat, že problematika vlivu mykotoxinů na hospodářská zvířata je velmi komplikovaná, jelikož mykotoxiny ovlivňují všechny stránky jejich chovu. Vliv mykotoxinů na hospodářská zvířata je různý a závisí na mnoha parametrech, odvíjí se například od druhu zvířete, jeho zdravotního stavu, chemické struktury mykotoxinu, jeho množství či také od množství a druhů všech jiných mykotoxinů, jejichž působení je zvíře vystaveno. Jak základní i aplikovaný výzkum v oblasti mykotoxinů a jejich vlivu na hospodářská zvířata sice výrazně od svých začátků v 60. letech minulého století výrazně pokročil, ovšem vzhledem k naznačené šíři spektra parametrů, od nichž je působení mykotoxinů na zvířata odvislé, není vědecké bádání v této oblasti zcela u konce. Informovanost o mykotoxinech (a také o vlivech plísní, jichž jsou mykotoxiny sekundárními metabolity) však mezi farmáři roste, důvodem je jistě jejich nezanedbatelný vliv na management chovu hospodářských zvířat.

V této práci jsme se zabývali vlivem mykotoxinů na dojnice a management jejich chovu v podmínkách České republiky. Dojnice jsou vystaveny zejména vlivu mykotoxinů v krmivu, a to zejména v objemných krmivech jako jsou siláže kukuřičné siláže a vojtěškové, jetelové či travní senáže. V klimatických podmínkách České republiky se nejčastěji v krmivech rostlinného původu (jádro, siláže, zelená píče) objevují aflatoxiny, fumonisin, ochratoxin A, patulin, zearalenon a ve značné míře také mykotoxiny ze skupiny trichothecenů, mezi nimi zejména deoxynivalenol a T-2 toxin. Důvodem je, že v období sklizně těchto krmiv nepanují vždy optimální klimatické podmínky a pouze dobrým managementem sklizně lze minimalizovat rozvoji skladištních plísní a jejich mykotoxinů. Plísně mohou totiž růst na plodinách již v době vegetace a mohou produkovat mykotoxiny nebo se setkáváme s plísněmi a mykotoxiny rostoucími v průběhu skladování krmiv až do doby jejich zkrmování.

Vlivy aflatoxinů, fumonisinů, ochratoxinu A a patulinu na dojnice a skot obecně nejsou v běžných koncentracích příliš významné díky jejich účinnému odbourávání mikroflórou v bacheru nebo jejich rychlému vylučování. Svými účinky a množstvím výskytu v krmivech pro dojnice jsou proto nejvýznamnější deoxynivalenol, T-2 toxin a zearalenon. Hlavní vlivy těchto mykotoxinů jsou tyto: deoxynivalenol způsobuje u skotu snížený příjem krmiva a sníženou mléčnou užitkovost, jak sníženou laktaci, tak snížený obsah tuku; T-2

toxin je často spojován s odmítáním krmiva a lézemi v trávicím traktu, je možné, že také způsobuje vnitřní krvácení; zearalenon vlivem strukturní podobnosti svých metabolitů estrogenu negativně působí na rozmnožovací orgány a reprodukci, snižuje schopnost zabřezávání a narušuje hormonální rovnováhu., i když jsou závislé na mnoha dalších parametrech.

Na základě těchto zjištění jsme připravili pokus, který provozní stáji Agrodružstva Sebranice moderní stanové konstrukce, přičemž po celou dobu pokusu byly klimatické podmínky srovnatelné s ostatními farmami v České republice. Pokusný zásah spočíval v podání přípravku s přídavkem 1,3 a 1,6 β -glukanů do krmiva, tento přípravek totiž pomáhá degradovat molekuly trichothecenů a zearalenonu na netoxické metabolity, které jsou přirozenou cestou ze zvířete přirozenou cestou vyloučeny. Kvalita siláží a senáží byla průměrná a zjištěné hladiny mykotoxinů v krmivu byly na podobných hladinách, jak bylo zjištěno u mnoha dalších farem v České Republice.

U skupin dojnic, jimž střídavě bylo a nebylo podáváno obohacené krmivo, byly sledovány parametry užitkovosti a reprodukce. Závěrem je možné konstatovat, že jsme neprokázali negativní vliv přídavku do krmné dávky na užitkovost dojnic. Velmi zajímavé výsledky jsme zjistili po aplikaci krmného zásahu (M+) 1,3 a 1,6 β -glukanů na vyhodnocení procenta zabřezávání dojnic. U skupin dojnic bez krmného zásahu (M-) přídavkem 1,3 a 1,6 β -glukanů jsme zjistili průměrné procento zabřezávání 42,95% vs. 62,25% u skupiny dojnic, kterým byly do krmné dávky 1,3 a 1,6 β -glukany přidávány (M+). Z našich výsledků lze potvrdit jednoznačný pozitivní vliv na reprodukční ukazatele u dojnic. Právě toto zlepšení procenta zabřezávání mělo přímý pozitivní dopad na ekonomiku chovu dojného skotu. Proto na základě našeho sledování je možné doporučit pro chovatele dojného skotu, kteří mají ve svých krmivech podobné hladiny mykotoxinů, přidávat do krmných dávek produkt na bázi 1,3 a 1,6 β -glukanů. Dojnice přechodně krmené obohaceným krmivem také vykazovaly významně nižší výskyt mastitid.

7 Seznam literatury

AUERBACH, H., FINK-GREMMELS, J. Biodegradation of aflatoxin B1 by bovine rumen microorganisms in vitro and its effects on rumen fermentation. *Revue de Médecine Vétérinaire*, p. 149: 573. ISSN 00351555.

BERTHILLER, F. *et al.* Masked mycotoxins: A review. *Molecular nutrition & food research* 57.1 (2013): 165-186.

BLOUNT, W. P. Turkey "X" disease. *Turkeys*, 1961, 9,2: p. 52-55.

BOUŠKA, J. *et al.* Chov dojeného skotu. 1. vyd. Praha: Profi Press, 2006. ISBN 8086726169.

DIAZ, D. E., SMITH, T. K. Mycotoxin sequestering agents: practical tool for the neutralisation of mycotoxins. DIAZ, D. E. ed. *The Mycotoxin Blue Book*. Reprinted. Nottingham: Nottingham Univ. Press, 2005, p. 249-268. ISBN 1904761194.

DORNER, J., COLE, R. J., LOMAX, W. Toxicity of cyclopiazonic acid. LACEY, J. ed. *Trichothecenes and other mycotoxins: proceedings of the International Mycotoxin Symposium held in Sydney, Australia, August, 1984*. New York: Wiley, 1985. ISBN 0471907510.

FAILLA, L. J.; LYNN, D.; NIEHAUS, W. G. Correlation of Zn²⁺ content with aflatoxin content of corn. *Applied and environmental microbiology*, 1986, 52, 1: p. 73-74. ISSN 00992240.

FANELLI, G., FABBRO, A. A., BONIFORTI, L., PASSI, S.: Inhibition of CCl₄-stimulated aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* by mercaptodimethylamine. *Periodicum Biologorum*, 1986, 88, 3: p. 277-285. ISSN 00315362.

FINK-GREMMELS, J. Mycotoxins in forages. DIAZ, D. E. ed. *The Mycotoxin Blue Book*. Reprinted. Nottingham: Nottingham Univ. Press, 2005, p. 249-268. ISBN 1904761194.

HAJŠLOVÁ, J. *et al.* *Mykotoxiny*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2009 [online]. [cit. 13-4-2013]. Dostupné z: <http://www.phytopsanitary.org/projekty/2009/Projekt1.pdf>

HUSZENICZA, G., SZIGETI, G., FEKETE, S., KULCSAR M., CSEH, S., MIHALY, K. A., NAGY, P. Ovarian malfunctions resulting infertility and experimental studies on some of

their possible reasons inseminated dairy cattle A survey of recent Hungarian investigations. *Magyar allatorvosok lapja*, 1995, 11, 819-828. ISSN 0025004X.

CHARMLEY, E., TRENHOLM, H., THOMPSON, B., DUDATHALA, D., NICHOLSON, J., PRELUSKY, D., & CHARMLEY, L. Influence of level of deoxynivalenol in the diet of dairy cows on feed intake, milk production, and its composition. *Journal of Dairy Science*, 1993, 76, 11: p. 3580-3587. ISSN 15253198.

IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Geneva: Distributed by IARC Press and the World Health Organization Distribution and Sales, 2002, vi, 590 p. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, v. 82. ISBN 9283212827.

JOUANY, J. P., DIAZ, D. E. Effects of mycotoxins in ruminants. DIAZ, D. E. ed. The Mycotoxin Blue Book. Reprinted. Nottingham: Nottingham Univ. Press, 2005, p. 295-323. ISBN 1904761194.

KALÁČ, P., MÍKA, V. Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech. Vyd. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1997. ISBN 8085120968.

KŘÍŽOVÁ, L., PAVLOK, S. The fate of feedborne mycotoxin deoxynivalenol (DON) in dairy cows – a review. *Cattle Research*, 2011, 3, p. 75-85. ISSN 0139-7265.

KUBENA, L. F., EDRINGTON, T. S., HARVEY, R. B., PHILLIPS, T. D., SARR, A. B., ROTTINGHAUS, G. E. Individual and combined effects of fumonisin B1 present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. *Poultry science*, 1997, 76, 9: p. 1239-1247. ISSN 15253171.

KUBENA, L. F., HARVEY, R. B., HUFF, W. E., ELISSALDE, M. H., YERSIN, A. G., PHILLIPS, T. D., ROTTINGHAUS, G. E. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol. *Poultry Science*, 1993, 72, 1: p. 51-59. ISSN 15253171.

LEPOM, P., BAATH, H., KNABE, O. Vorkommen von fusarium-arten und ihren mykotoxinen auf silomais. *Archives of Animal Nutrition*, 1988, 38, 9: p. 807-815. ISSN 14772817.

MANNING, R. O., WYATT, R. D. Effect of Cold Acclimation on the Broiler Chicks' Resistance to Acute Aflatoxicosis. *Poultry Science*, 1990, 69, 3: p. 388-396. ISSN 15253171.

MIROCHA, C. J., ABBAS, H. K., TREEFUL, L., BEAN, G. T-2 toxin and diacetoxyscirpenol metabolism by *Baccharis* spp. *Applied and environmental microbiology*, 1988, 54, 9: p. 2277-2280. ISSN 00992240.

MORNSTEIN, V.: Proč vlastně pokusy na zvířatech? *Universitas*, 3, 1996, s. 57-61.

NEDĚLNÍK, J., MORAVCOVÁ, H.: Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro dojnice. *Veterinářství* 2005, 55: s. 214-219. ISSN 0506-8231.

NEDĚLNÍK, J., SKLÁDANKA, J., ZEMAN, L., VYSKOČIL, I., POŠTULKA, R., ROTREKL, J., MORAVCOVÁ, H., KOLAŘÍK, P.: Výroba kukuřičné siláže z různých fyziologických typů hybridů kukuřice: uplatněná certifikovaná metodika. Troubsko: Zemědělský výzkum 2011, s. 36. ISBN 9788086908250.

NEDĚLNÍK, J., MORAVCOVÁ, H., HONZLOVÁ, A.: Mykotoxiny v krmivech. *Krmivářství*, 2006, No. 3, p. 18–23. ISSN 1212–9992 MK ČR E 7525

NORRED, W. P., THURSTORN, R. J. Diagnosis of mycotoxicoses: A publication based on the symposium on the diagnosis of mycotoxicoses of importance in the United States and Japan, sponsored by US-Japan cooperative program on development and utilization of natural resources, joint panel on toxic microorganisms, and the National Animal Disease Center, USDA, ARS, Ames, Iowa, October 11-13, 1984. Dordrecht: M. Nijhoff, 1986, s. 11-29. ISBN 0898387515.

OPITZ VON BOBERFELD, W.: Grassland management aspects for year-round outdoor stock keeping of suckler cows. *Grassland Science in Poland*, 2001. 4: p. 137-147.

OPITZ V. BOBERFELD, W., BANZHAF, K. Yield and Forage Quality of Different *Festulolium* Cultivars in Winter. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2006, 192, 4: p. 239-247. ISSN 09312250.

ÖZSOY, S., ALTUNATMAZ, K., HOROZ, H., KAŞIKCI, G., ALKAN, S., BİLAL, T. The Relationship between Lameness, Fertility and Aflatoxin in a Dairy Cattle Herd. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 2005, 29: p. 981-986. ISSN 13000128.

PALYUSIK, M., HARRACH, B., MIROCHA, C. J., PATHRE, S. V. Transmission of zearalenone and alpha-zearalanol into porcine milk. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae* 1980, 28, 2: p. 217-222. ISSN 00017205.

PESTKA, J. J. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, p. 283-298. ISSN 0377-8401.

PESTKA, J. J.; YAN, D.; KING, L. E. Flow cytometric analysis of the effects of in vitro exposure to vomitoxin (deoxynivalenol) on apoptosis in murine T, B and IgA cells. *Food and chemical toxicology*, 1994, 32.12: 1125-1136.

PIVOŇKOVÁ, E. Otrava aflatoxinem, mykotoxinem – příznaky, projevy, symptomy. [online]. [cit. 30-10-2013]. Dostupné z: <http://www.priznaky-projevy.cz/otravy/otrava-aflatoxinem-mykotoxinem-priznaky-projevy-symptomy>

POLSTER, M. Nižší houby. HRUBÝ, S. *et al.* Mikrobiologie v hygieně výživy. 1. vyd. Praha, 1984, s. 21-42.

RILEY, R. T. Mechanistic interaction of mycotoxins: Theoretical considerations. SINHA, K. K., BHATNAGAR, D. eds. *Mycotoxins in agriculture and food safety*. New York: M. Dekker, 1998, p. 227-223. ISBN 0824701925.

RODRIGUES I, NAEHRER K. A Three-Year Survey on the Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Feedstuffs and Feed. *Toxins*. 2012; 4(9):663-675.

ROSSI, F., RIGHI, F., FUOCHI, S., QUARANTELLI, A. Effect of mycotoxins on fertility of dairy cows. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria Parma*, 2009, 29: p. 153-166. ISSN 0393-4802.

SCHAEFFER, J. L., P. B. HAMILTON Interactions of mycotoxins with feed ingredients: Do safe levels exist?. SMITH, J. E., and S. HENDERSON *Mycotoxins and animal foods*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1991, p. 827-843. ISBN 0849349044.

SCHOENTAL, R. Bracken toxicity and soil mycotoxins. *Veterinary Record*, 1984, 115, 19: 500. ISSN 00424900.

SKLÁDANKA, J., DOHNAL, V., DOLEŽAL, P., JEŽKOVÁ, A., ZEMAN, L. Factors Affecting the Content of Ergosterol and Zearalenone in Selected Grass Species at the End of the Growing Season. *Acta veterinaria*. Brno. 2009, 78, 2: p. 353-360. ISSN 00017213.

SKLÁDANKA, J., NEDĚLNÍK, J., ADAM, V., DOLEŽAL, P., MORAVCOVÁ, H., DOHNAL, V. Forage as a Primary Source of Mycotoxins in Animal Diets. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2011; 8, 1: p. 37-50. ISSN 16604601.

SMITH, J. W., HAMILTON, P. B. Aflatoxicosis in the broiler chicken. *Poultry Science*, 1970, 49, 1: p. 207-215.

SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. G. Statistical Methods. Seventh Edition. 1989, Iowa State University Press, Ames, Iowa 50014, 593 p, ISBN 0-8138-1561-4.

SUCHÝ, P., HERZIG, J. Plísňe a mykotoxiny prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech [online]. [cit. 12-12-2011]. Dostupné z: www.bezpecna-krmiva.cz/soubory/2-studie_prof_sucheho.rtf

ŠIMŮNEK, J. Mykotoxiny. Lékařská fakulta MU [online]. [cit. 2011-12-12]. Dostupné z: <http://www.med.muni.cz/prelek/MYKOTW/mtidx.htm>

ŠIMŮNEK, J., BŘEZINA, P., JEŽOVÁ, J. Riziko mykotoxinu kyseliny cyklopiazonové ze sýrů fermentovaných kulturní plísní *Penicillium camemberti*. *Veterinární péče v potravinářském průmyslu*, 1990, 2, s. 126-128.

TRENHOLM, H. L., PRELUSKY, D. B., YOUNG, J. C., MILLER, J. D. Reducing mycotoxins in animal feeds. Agriculture Canada Publication 1827E, 1988, p. 1.

UENO, Y.; HSIEH, D. PH. The toxicology of mycotoxins. *CRC critical reviews in toxicology*, 1985, 14, 2: p. 99-132. ISSN 10408444.

WÖHLER, Katrin. Zur Qualität und Masse von Winterweidefutter in Abhängigkeit von Standort, Pflanzengesellschaft und Bewirtschaftung. 2003. PhD Thesis. Universitätsbibliothek Giessen. p. 63.

WOLF, D. On the effect of stand, pre-utilization and date of winter harvest on quality and yield of winter pasture. 2003. PhD Thesis. Universitätsbibliothek Giessen. p. 72.

WYATT, D. R. Mycotoxins interactions. DIAZ, D. E. ed. The Mycotoxin Blue Book. Reprinted. Nottingham: Nottingham Univ. Press, 2005, p. 269-273. ISBN 1904761194.

YAMAZAKI, M., URAGUCHI, K. eds. Toxicology, biochemistry, and pathology of mycotoxins. Tokyo: Kodansha, 1978, p. 82. ISBN 0470264233.

8 Přílohy

| Podrobné schéma pokusu | | Skupina 1 | | | Skupina 2 | | |
|------------------------|-----------------------------|-----------|----|----|-----------|----|----|
| Přípravná fáze | 10. září - 30. září | M- | M- | M- | M- | M- | M- |
| 1. pokusná fáze | 1. října - 13. listopadu | M+ | M+ | M+ | M- | M- | M- |
| Wash-out fáze | 14. listopadu - 3. prosince | M- | M- | M- | M- | M- | M- |
| 2. pokusná fáze | 4. prosince - 13. ledna | M- | M- | M- | M+ | M+ | M+ |
| Konečná fáze | 14. ledna - 22. února | M- | M- | M- | M- | M- | M- |

Zelená barva a symbol M+ značí přítomnost vyvazovače v krmivu u skupiny dojníc, oranžová barva a symbol M- značí absenci vyvazovače v krmivu u skupiny dojníc.

Tab. č. 1: Schéma pokusu

| Složení směšné krmné dávky (TMR) | | | |
|---|---|-----------------|--------------|
| Druh krmiva | Jednotky | V původní hmotě | V sušině |
| Pšeničná sláma | kg/den | 0,60 | 0,53 |
| Travní seno | kg/den | 1,00 | 0,89 |
| Ječmen GPS | kg/den | 5,00 | 1,85 |
| Kukuřičná siláž | kg/den | 17,50 | 5,67 |
| Jetelová senáž | kg/den | 9,00 | 2,43 |
| CCM | kg/den | 3,00 | 2,01 |
| Kukuřičné výpalky | kg/den | 3,30 | 0,83 |
| Glycerol | kg/den | 0,10 | 0,04 |
| Citrusové plody | kg/den | 1,20 | 1,09 |
| KS pro dojnice TMR | kg/den | 4,80 | 4,36 |
| KS pro dojnice ROBOT | kg/den | 5,50 | 4,95 |
| CELKEM | kg/den | 51,00 | 24,65 |
| GPS - celorostlinná siláž | CCM - silážovaná drť směsi palic kukuřice | | |

Tab. č. 2: Složení směšné krmné dávky (TMR)

| Parametry živin směsné krmné dávky (TMR) | | | |
|---|--------------|----------------|---------|
| Živina | | Jednotky | Hodnota |
| Netto energie laktace | NEL | MJ/kg | 28 |
| Dusíkaté látky | NL | g/kg sušiny | 175 |
| Kyselá detergentní vláknina | ADF | g/kg sušiny | 194 |
| Neutrální detergentní vláknina | NDF | g/kg sušiny | 333 |
| Nevláknité sacharidy | NFC | g/kg sušiny | 378 |
| Bílkoviny v bacheru nerozložitelné | RUP | g/kg sušiny | 56 |
| Bílkoviny v bacheru rozložitelné | RDP | g/kg sušiny | 118 |
| Tuk | | g/kg sušiny | 34 |
| Methionin | | % met proteinu | 2 |
| Lyzin | | % met proteinu | 7 |
| Popeloviny | | g/kg | 84 |
| Vápník | Ca | g/kg | 8 |
| Fosfor | P | g/kg | 5 |
| Hořčík | Mg | g/kg | 3 |
| Draslík | K | g/kg | 13 |
| Sodík | Na | g/kg | 3 |
| Chlór | Cl | g/kg | 4 |
| Síra | S | g/kg | 3 |
| Kobalt | Co | mg/kg | 0 |
| Měď | Cu | mg/kg | 26 |
| Železo | Fe | mg/kg | 189 |
| Jód | I | mg/kg | 1 |
| Mangan | Mn | mg/kg | 155 |
| Zinek | Zn | mg/kg | 113 |
| Selen | Se | mg/kg | 0 |
| Vitamin A | Vit A | tis. m.j. /kg | 12 |
| Vitamin D | Vit D | tis. m.j. /kg | 1 |
| Vitamin E | Vit E | m.j. / kg | 35 |

Tab. č. 3: Parametry živin směsné krmné dávky (TMR)

| Doplňková KS pro TMR | |
|-----------------------------|------------|
| Živina | Obsah v % |
| Acidbuf | 1,0 |
| Ječmen | 8,0 |
| Kukuřice | 24,0 |
| Řepkový šrot | 7,0 |
| Minerální doplněk | 1,7 |
| Řepka | 18,2 |
| Soja (48 % bílkovin) | 27,0 |
| Sůl | 1,0 |
| Soda | 2,0 |
| Hořčíkový pufr | 1,0 |
| Vápenec | 2,2 |
| Čebin M5K Se premix | 6,0 |
| Olej rostlinný | 0,9 |
| Celkem | 100 |

| KS pro dojnice ROBOT | |
|-----------------------------|------------|
| Živina | Obsah v % |
| Kukuřice | 12,0 |
| Soja (48 % bílkovin) | 18,5 |
| Ječmen | 18,0 |
| Pšenice | 17,0 |
| Olej | 0,5 |
| Cukr | 6,0 |
| Řepkový šrot | 28,0 |
| Celkem | 100 |

Tab. č. 4: Složení doplňkových krmných směsí pro TMR a ROBOT

| Složení premixu pro dojnice M5K Se | |
|---|------------------|
| Název komponenty | Obsah v % |
| Vápenec | 34,02 |
| Ca(H ₂ PO ₄) ₂ hydrát | 13,60 |
| Sůl | 19,20 |
| NaHCO ₃ (27,3 %) | 16,70 |
| MgO (85 %) | 12,00 |
| CuSO ₄ (25 %) | 0,30 |
| ZnO (79 %) | 0,44 |
| MnO (60 %) | 0,49 |
| CoSO ₄ (22 %) | 0,01 |
| Ca(IO ₃) ₂ (65 %) | 0,01 |
| Premix seleničitanu | 0,05 |
| Vitamín A 1000 | 0,05 |
| Vitamín D3 (50 %) | 0,02 |
| Vitamín E (45 %) | 0,33 |
| Biotin (2 %) | 0,22 |
| TCH6330 Antiox 0,1% | 0,50 |
| Antioxidant | 0,02 |
| Řepkový olej | 2,00 |
| Cuxarom Coconut/Lac 114 | 0,05 |
| Celkem | 100 |

Tab. č. 5: Složení premixu M5K

| |
|--|
| <p>1,3 a 1,6 B-glukan - MYCOSORB®</p> <p>KRMNÁ SUROVINA (NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) Č. 575/2011)</p> <p>Použijte výhradně pro výrobu krmiv</p> <p>25 kg</p> <p>01/01/2006</p> <p>GB55555-10</p> <p>JAKOSTNÍ ZNAKY:</p> <p>Dusíkaté látky 8 %</p> <p>Vlhkost 18 %</p> <p>SLOŽENÍ:</p> <p>POKYNY k POUŽITÍ:</p> <p>Přidávejte MYCOSORB v dávce 0,5 - 2 kg na tunu kompletní krmné směsi. Skladujte za normálních podmínek na suchém a chladném místě. Otevřené kontejnery je třeba znovu pevně uzavřít. Doba použitelnosti je za těchto podmínek 36 měsíců.</p> <p>SKLADOVÁNÍ A DOBA POUŽITELNOSTI:</p> <p>12.1.5 Kvasničný výrobek</p> <p>Registrační číslo: α IEMH000234</p> <p>REV 12/11 GK ALL-TECHNOLOGY (IRELAND) Ltd • Sarney, Summerhill Road • Dunboyne, Co. Meath • Ireland • Tel: (353) 1 825-2244 • Fax: (353) 1 825-2245</p> <p>ALLTECH UK Ltd. • Alltech House, Ryhall Road, Stamford • Lincolnshire, PE9 1TZ • UK • Tel: (44) 1780 764512 • Fax: (44) 1780 764506</p> <p>GaB 218 E 5003</p> |
|--|

Tab. č. 6: Informace o přípravku na bázi 1,3 a 1,6 β-glukanů

| Pokusné období | Deoxyvalenol | | T-2 toxin | | Zearalenon | |
|---------------------------------|-----------------|-----------|----------------|-----------|----------------|-----------|
| | TMR | průměr ČR | TMR | průměr ČR | TMR | průměr ČR |
| 10. září - 30. září | 328 | 626,20 | 36 | 78,56 | 92 | 189,67 |
| 1. října - 13. listopadu | 178 | 448,91 | 354 | 52,72 | 92 | 108,00 |
| 14. listopadu - 3. prosince | 538 | 294,25 | 25 | 73,13 | 86 | 113,67 |
| 4. prosince - 13. ledna | 358 | 565,13 | 25 | 116,30 | 77 | 52,00 |
| 14. ledna - 22. února | 304 | 432,64 | 29 | 52,52 | 135 | 101,33 |
| Všechny hodnoty v ug/kg. | --- | 465,33 | --- | 30,12 | --- | 136,25 |
| EU doporučení 2006/576/EC | dop. max.: 5000 | | dop. max.: --- | | dop. max.: 500 | |

Hodnoty ve sloupci "Průměr ČR" jsou průměrné výsledky analýz krmiv TMR od MVDr. Lichtenberga na SVU v Brně ve stejném období. Hodnoty ve sloupci "TMR" jsou výsledky výsledky analýz krmiv TMR na pokusném stádě Agrodrůžstva Sebranice.

Tab. č. 7: Hladiny mykotoxinů ve směsné krmné dávce
v porovnání s hodnotami MVDr. Lichtenberga

| Případy mastitid | | Skupina 1 | | | Skupina 2 | | |
|--|-----------------------------|-----------|----|----|-----------|----|----|
| Přípravná fáze | 10. září - 30. září | 39 | 27 | 23 | 12 | 21 | 6 |
| 1. pokusná fáze | 1. října - 13. listopadu | 23 | 42 | 28 | 32 | 17 | 8 |
| Wash-out fáze | 14. listopadu - 3. prosince | 24 | 16 | 6 | 11 | 12 | 10 |
| 2. pokusná fáze | 4. prosince - 13. ledna | 16 | 24 | 12 | 42 | 15 | 4 |
| Konečná fáze | 14. ledna - 22. února | 19 | 22 | 2 | 16 | 7 | 14 |
| <i>Zelená barva značí přítomnost vyvazovače v krmivu u skupiny dojníc, oranžová barva a značí absenci vyvazovače v krmivu u skupiny dojníc. Číslo pak vyjadřuje počet výskytu mastitid u skupiny dojníc.</i> | | | | | | | |

Tab. č. 8: Případy mastitid

| Procenta zabřezávání | | Skupina 1 | | Skupina 2 | | | |
|---|-----------------------------|-----------|-------|-----------|-------|-------|-------|
| Přípravná fáze | 10. září - 30. září | 23,0% | 28,5% | 11,1% | 85,0% | 20,0% | 50,0% |
| 1. pokusná fáze | 1. října - 13. listopadu | 60,0% | 56,0% | 70,5% | 26,6% | 38,8% | 60,0% |
| Wash-out fáze | 14. listopadu - 3. prosince | 46,0% | 62,5% | 80,0% | 25,0% | 50,0% | 25,0% |
| 2. pokusná fáze | 4. prosince - 13. ledna | 28,5% | 23,0% | 66,0% | 50,0% | 46,1% | 87,5% |
| Konečná fáze | 14. ledna - 22. února | 52,0% | 37,5% | 83,0% | 57,8% | 84,0% | 46,6% |
| Zelená barva značí přítomnost vyvazovače v krmivu u skupiny dojnic, oranžová barva a značí absenci vyvazovače v krmivu u skupiny dojnic. Číslo pak vyjadřuje procento zabřezávání u skupiny dojnic. | | | | | | | |

Tab. č. 9: Procenta zabřezávání

| | AFL | FUM | OTA | DON | T-2 | ZEА |
|---|------------------------|-------|---------|-------|---------|--------|
| Průměrné koncentrace mykotoxinů v sušinně různých typů krmiv v ČR (2002 - 2003) dle NEDELNÍK <i>et al.</i> (2006) | vojtěšková sláň | 500,0 | | 500,0 | 176,0 | 577,0 |
| | kukuřičná sláň | 1,4 | 1870,0 | | 960,0 | 1377,0 |
| | jetelotravní sláň | 2,8 | 1470,0 | | 630,0 | 179,0 |
| | travní sláň | 2,4 | 1110,0 | | 550,0 | 1197,0 |
| | ječmen GPS | 2,4 | 1130,0 | | 1370,0 | 500,0 |
| | kukuřice | 1,0 | 1308,0 | 0,0 | 1028,0 | 47,0 |
| | sója | 0,0 | | 7,0 | 98,0 | 20,0 |
| | pšenice/otruby | 0,0 | 89,0 | 16,0 | 848,0 | 10,0 |
| | hotové krmivo | 0,0 | 131,0 | 20,0 | 533,0 | 56,0 |
| | kukuřice | 1,8 | 4504,0 | 2,5 | 1576,0 | 155,0 |
| Horní kvartily koncentrace mykotoxinů v pozitivních vzorcích ze střední Evropy (2009 - 2011) dle RODRIGUES a NAEHRER (2012) | sója | 1,3 | | 21,4 | 494,0 | 46,0 |
| | pšenice/otruby | 2,0 | 348,0 | 5,4 | 960,0 | 123,0 |
| | hotové krmivo | 0,8 | 342,0 | 6,0 | 917,0 | 117,0 |
| | obiloviny (krmné) | | | 250,0 | 8000,0 | 2000,0 |
| | kukuřice (krmná) | | 60000,0 | | 12000,0 | 3000,0 |
| | krmiva | | | | 5000,0 | |
| | krmiva pro dojnice | | 50000,0 | | 5000,0 | 500,0 |
| | krmné suroviny | 50,0 | | | | |
| | krmiva | 50,0 | | | | |
| | krmiva pro dojnice | 5,0 | | | | |
| Maximální hodnoty v krmivu s obsahem vlhkosti 12 % dle směrnice Parlamentu a Rady 2002/32/ES | doplň. krmiva pro doj. | 5,0 | | | | |
| | nezpracované obiloviny | | | 5,0 | 1250,0 | 100,0 |
| | nezpracovaná kukuřice | 15,0 | 4000,0 | | 1750,0 | 350,0 |

Všechny hodnoty jsou uvedeny v ug/kg (ppb).

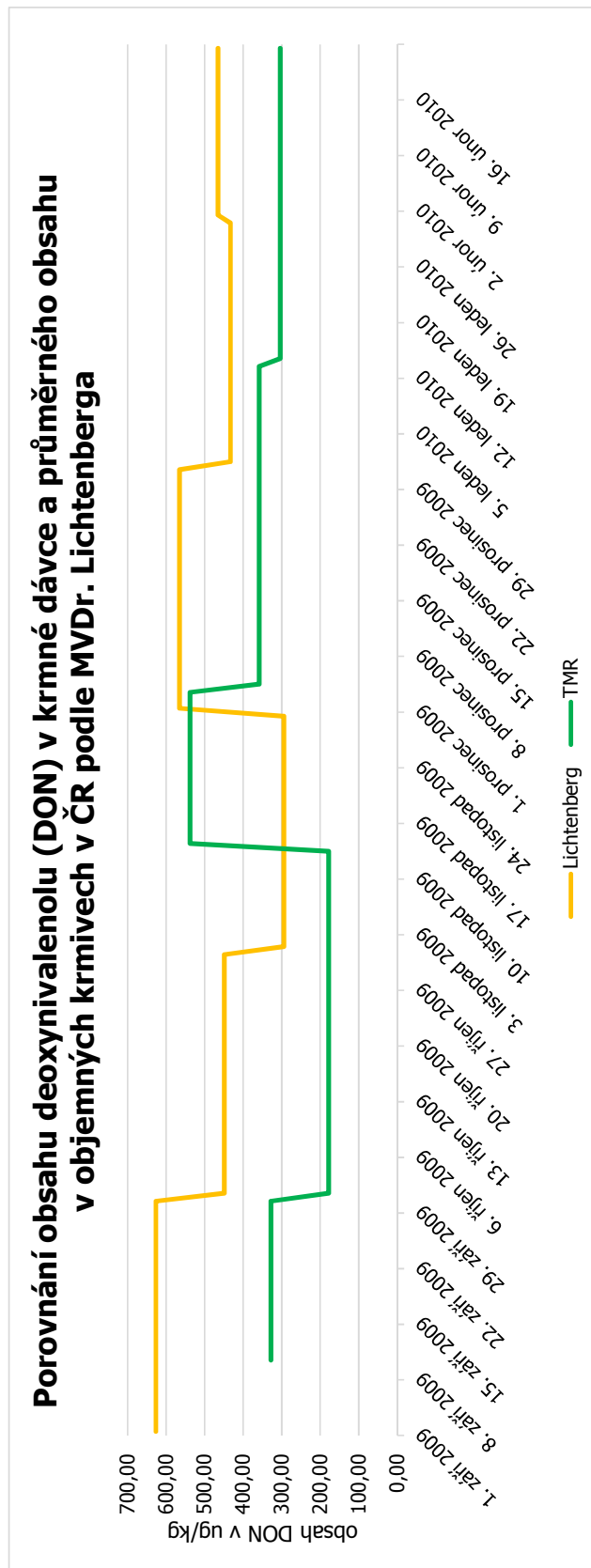
Zdroje dat: NEDELNÍK, J., MORAVCOVÁ, H., HONZLOVÁ, A.: Mykotoxiny v krmivech. *Krmivářství*, 2006, No. 3, p. 18-23. ISSN 1212-9992 MK ČR E 7525;
RODRIGUES I, NAEHRER K. A Three-Year Survey on the Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Feedstuffs and Feed. *Toxins*. 2012; 4(9):663-675.

AFL - aflatoxiny **FUM** - fumonisy **OTA** - ochratoxin A **DON** - deoxinivalenol **ZEА** - zearalenon

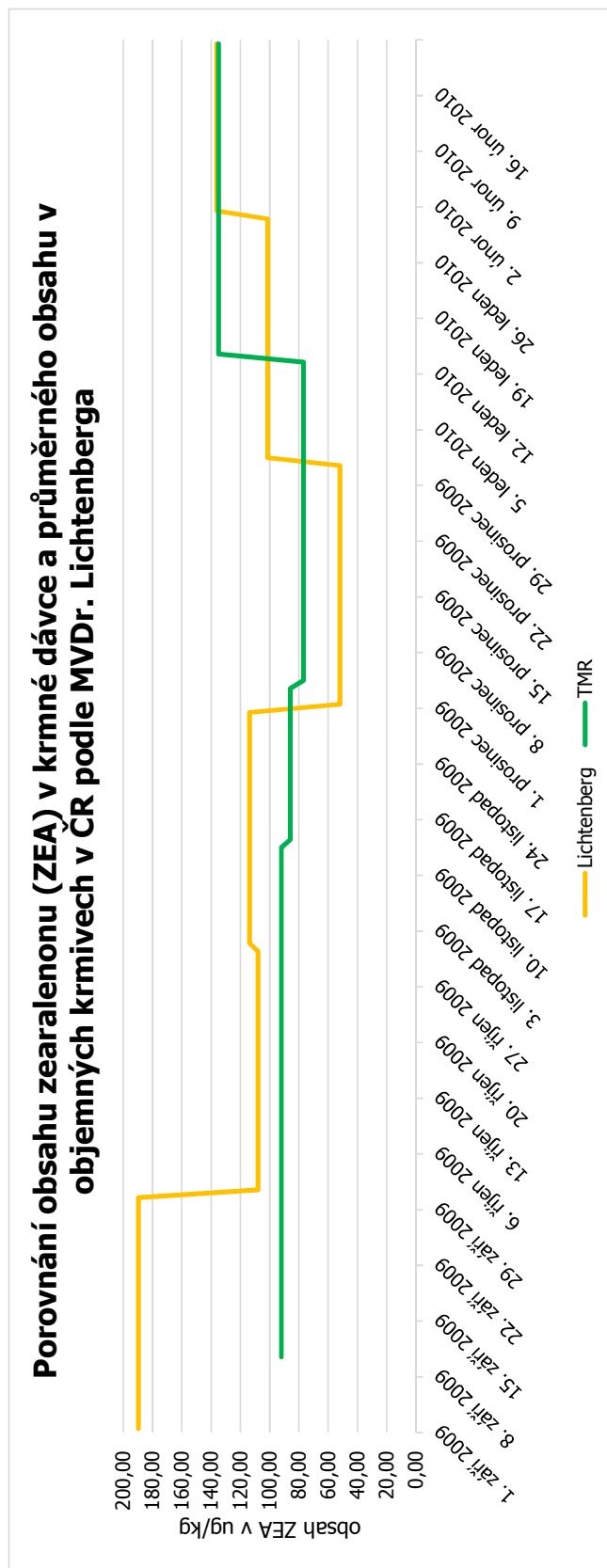
Tab. č. 10: Průměrné hodnoty, horní kvartily, směrné a maximální hodnoty hladin různých mykotoxinů v různých vzorcích z ČR, střední Evropy a EU

| Srovnání parametrů mléka | | | | | |
|--|---------------|-----------------|----------------------|-------------------|--|
| Parametr | Kontrola (M-) | Betaglukan (M+) | Rozdíl (M+ minus M-) | SE of effect (df) | |
| Počet krav | 173 | 173 | | | |
| Mléčná užitkovost (kg/d) | 31 | 30,2 | - 0,8 ** | 0.27 (169) | |
| ECFM energie mléka (kg/d) | 33,1 | 33,3 | 0,2 | 0.39 (141) | |
| Tuk v mléce % | 3,79 | 4,02 | 0,23 ** | 0.069 (141) | |
| Obsah bílkovin v mléce % | 3,55 | 3,57 | 0,02 | 0.015 (141) | |
| Obsah laktózy v mléce % | 4,89 | 4,88 | -0,01 | 0.019 (141) | |
| Tuk (g/d) | 1176 | 1220 | 44 | 23.5 (141) | |
| Bílkoviny (g/d) | 1109 | 1086 | - 23 * | 10.8 (141) | |
| Laktóza (g/d) | 1545 | 1502 | - 43 ** | 16.0 (141) | |
| SCC počet somatických buněk (log units) | 5,01 | 5,06 | 0,05 | 0.043 (165) | |
| Počet somatických buněk (x1000/ml) | 101 | 113 | | | |
| <i>Hladina statistické významnosti: **, P<0,01; ***, P<0,001</i> | | | | | |

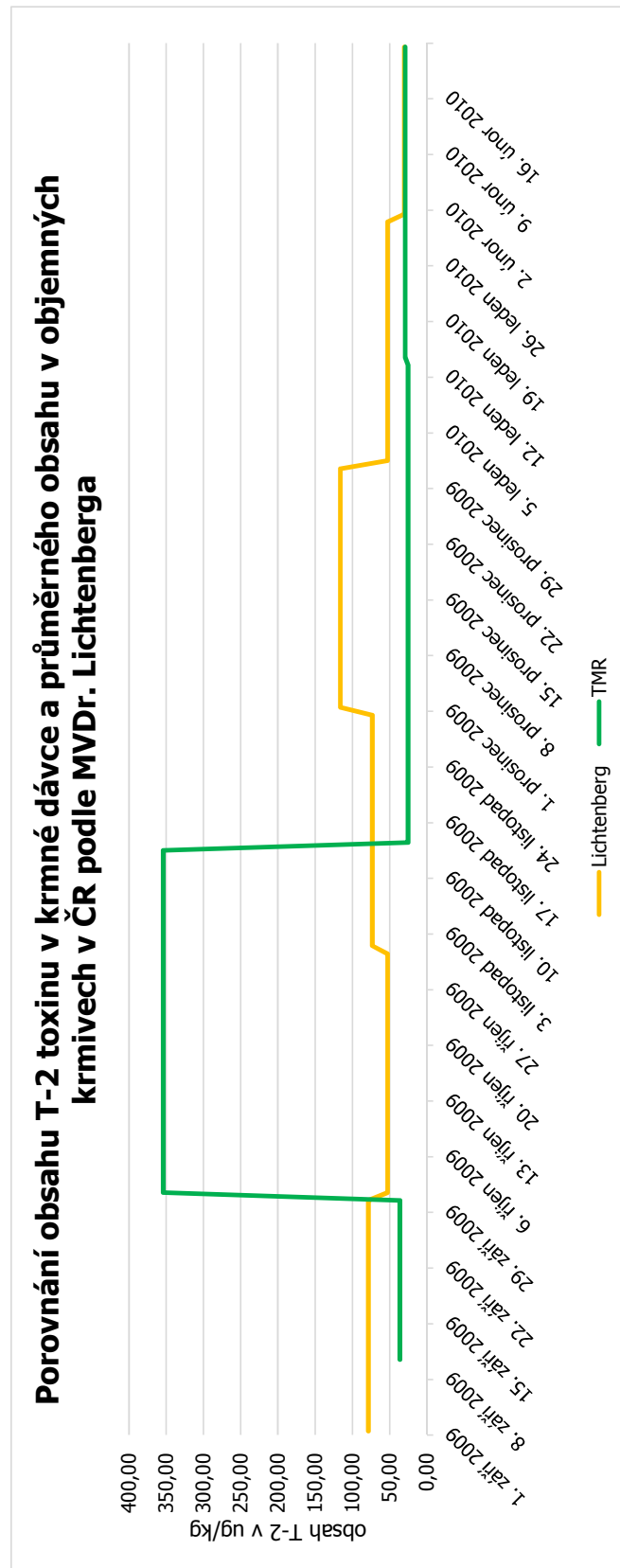
Tab. č. 11: Parametry mléka



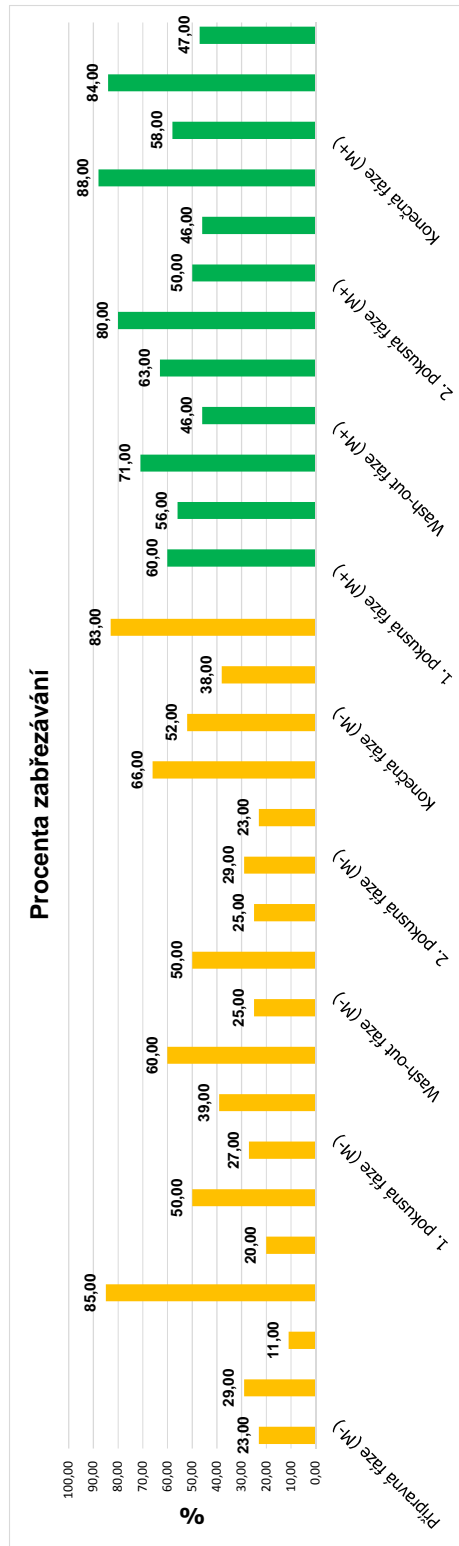
Graf č. 1: Porovnání obsahů DON



Graf č. 2: Porovnání obsahů ZEA



Graf č. 3: Porovnání obsahů T-2



Graf č. 11: Procenta zabřezávání



Obrázek č. 1: Produkční stáj Agrodružstva Sebranice



Obrázek č. 2: Stáj a krmný stůl



Obrázek č. 3: Dojící robot a zásobník na krmnou směs při dojení ROBOT



Obrázek č. 4: Dojení robotem Lelly Astronaut