

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

DISERTAČNÍ PRÁCE

**Ovlivnění parametrů odbourávání živin přidavkem vybrané stimulační
látky**

Ing. Eva Petrášková

2015

Školitel:

**Doc. Ing. František Lád, CSc.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta**

Školitel specialista:

**Prof. Ing. Bohuslav Čermák, CSc.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta**

Poděkování:

Ráda bych poděkovala vedoucímu disertační práce **Doc. Ing. Františku LÁDOVI, CSc.**, za pomoc a rady, které mi poskytoval v průběhu doktorandského studia.

Dále bych ráda poděkovala svému školiteli specialistovi **prof. Ing. Bohuslavu ČERMÁKOVI, CSc.** za pomoc a cenné rady, které mi poskytl při řešení této práce.

Velmi děkuji svým kolegům Ing. Jitce Rutkayové, Ph.D. a Ing. Karlu Benešovi za pomoc při statistickém zpracování dat.

Poděkování patří mým dětem za trpělivost a shovívavost v období zpracovávání výsledků mé práce.

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracovala samostatně na základě vlastních zjištění a za pomoci uvedené literatury.

.....

V Českých Budějovicích dne 27. 4. 2015

OBSAH

| | |
|--|----|
| SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK | 1 |
| 1. ÚVOD | 3 |
| 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED | 5 |
| 2.1. Trávicí trakt přežvýkavců | 5 |
| 2.2. Bachor | 6 |
| 2.2.1. Bachorové prostředí | 6 |
| 2.2.2. Bachorová motorika | 6 |
| 2.3. Bachorový mikrobiální ekosystém | 7 |
| 2.3.1. Bakterie | 8 |
| 2.3.2. Protozoa | 14 |
| 2.3.3. Houby | 17 |
| 2.3.4. Bakteriofágy | 17 |
| 2.4. Výživa přežvýkavců | 17 |
| 2.4.1. Potřeba energie | 18 |
| 2.4.2. Nutriční látky | 18 |
| 2.4.3. Vlákna | 22 |
| 2.5. Stravitelnost krmiva | 23 |
| 2.5.1. Metoda stanovení stravitelnosti <i>in vivo</i> | 24 |
| 2.5.2. Metoda stanovení stravitelnosti <i>in sacco</i> | 24 |
| 2.5.3. Predikce stravitelnosti na základě chemických analýz | 25 |
| 2.5.4. Metody stanovení stravitelnosti <i>in vitro</i> | 25 |
| 2.5.5. Metoda stanovení stravitelnosti prostřednictvím NIRS | 27 |
| 2.6. Krmná aditiva | 27 |
| 2.6.1. Krmná aditiva pro skot | 28 |
| 2.7. Ascophyllum nodosum | 34 |
| 2.7.1. Tasco | 35 |
| 2.7.2. Elo Macro | 36 |
| 2.7.3. Biopolym | 37 |
| 3. CÍL PRÁCE | 40 |
| 4. MATERIÁL A METODIKA | 41 |
| 4.1. Pokusný materiál | 41 |
| 4.2. Pokusná zvířata | 42 |
| 4.3. Odběr vzorků | 42 |
| 4.3.1. Odběr bachorové tekutiny | 42 |
| 4.3.2. Odběr výkalů | 43 |
| 4.4. Laboratorní rozbory | 43 |
| 4.4.1. Laboratorní rozbory vzorků pasterizovaných porostů | 43 |
| 4.4.2. Laboratorní rozbory bachorové tekutiny | 44 |
| 4.4.3. Laboratorní rozbory výkalů | 45 |
| 4.5. Stanovení stravitelnosti metodou <i>in vitro</i> pro ověření optimálního dávkování přípravku Biopolym FZT | 45 |
| 4.6. Ověření přípravku Biopolym FZT na kanylovaných kravách | 48 |
| 4.7. <i>In sacco</i> analýza | 49 |
| 4.8. Statistické vyhodnocení | 51 |
| 5. VÝSLEDKY A DISKUZE | 52 |
| 5.1. Určení optimálního ředění a dávkování přípravku Biopolym FZT metodou <i>in vitro</i> | 52 |
| 5.2. Ověření vlivu přípravku Biopolym FZT na degradaci živin v bachoru a dusíkatých látek ve výkalech – stájové pokusy | 59 |

| | |
|--|-----|
| 5.3. Stanovení degradovatelnosti organické hmoty u vzorků pasterizovaného porostu metodou in sacco..... | 85 |
| 6. ZÁVĚR | 97 |
| 6.1. Doporučení pro další výzkum | 98 |
| 7a. SOUHRN..... | 99 |
| 7b. SUMMARY | 102 |
| 8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY..... | 104 |
| 9. PŘÍLOHY | 132 |
| 9.1. Tabulková, grafická a obrázková část..... | 132 |
| 9.2. Seznam vlastních publikací..... | 168 |

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADF - acidodetergentní vláknina
ADFD – degradovatelnost acidodetergentní vlákniny
ADL - acidodetergentní lignin
BT – bachorová tekutina
C2:C3 – poměr obsahu kyseliny octové a propionové
CELD – degradovatelnost celulosy
CF – hrubá vláknina
CP – dusíkaté látky
CPD degradovatelnost dusíkatých látek
DM – sušina
DMD – degradovatelnost sušiny
HEMD – degradovatelnost hemicelulosy
IVDMD – stravitelnost sušiny zjištěná metodou *in vitro*
IVNDFD – stravitelnost NDF zjištěná metodou *in vitro*
NDF – neutrálně detergentní vláknina
NDFD – degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny
OM – organická hmota
OMD – degradovatelnost organické hmoty
S.D. - směrodatná odchylka
 Σ AK – souhrnný obsah aminokyselin
Ala - alanin
Arg - arginin
Asp – kyselina asparagová
Cys - cystein
Glu – kyselina glutamová
Gly – glycin
His - histidin
Ile - isoleucin
Leu - leucin
Lys - lysin
Met - methionin
Phe - phenylalanin

Pro – prolin

Ser – serin

Thr – threonin

TMK – těkavé mastné kyseliny

Tyr - tyrosin

Val – valin

1. ÚVOD

Každým rokem se zvyšuje počet obyvatel na Zemi. V roce 2000 populace čítala více než 6 miliard lidí (LOEFLER, 2000). Tento fakt klade vysoké nároky na produkci potravin.

Hospodářská zvířata hrají významnou roli ve výživě lidí. Jsou cenným zdrojem bílkovin, řady stopových prvků a vitamínů (RANDOLPH *et al.*, 2007, MCLEOD, 2011).

Základním odvětvím živočišné výroby v ČR je chov skotu. Velmi významně se podílí na celkových tržbách zemědělských podniků, ale je zároveň nejnáročnějším odvětvím živočišné výroby. Ve výživě lidí hraje nezastupitelnou úlohu produkce kvalitních živočišných produktů – mléka a hovězího i telecího masa (FRELICH *et al.*, 2001). Hovězí maso se z hlediska lidské výživy jeví i jako bohatší zdroj energie než maso ostatních žirných druhů. (BALDWIN, 1984).

Přežvýkavci se od ostatních skupin zvířat podstatně odlišují z hlediska vlastních nutričních požadavků. Proti drůbeži a prasatům mají daleko nižší nároky na krmiva, zejména na obilí. Ke své výživě jsou schopni využívat zdroje pro ostatní druhy i samotného člověka nevyužitelné, čímž v získávání potravy ostatním nekonkurují. Během fylogenetického vývoje se trávicí trakt přežvýkavců oproti ostatním druhům zvířat značně diferencioval. Jeho důležitou součástí se stal předžaludek složený z 3 komor: bachoru, čepce a knihy, kde dochází k mělnění, promíchávání a trávení potravy.

Nejvýznamnější částí předžaludku je bachor. Slouží jako vak, ve kterém díky příznivým podmínkám pro anaerobní fermentaci jsou složky krmiva degradovány působením trávicích enzymů bachorové mikroflóry. Symbióza mezi přežvýkavci a bachorovou mikroflórou je velmi vysoká. Hostitelský organismus vytváří vhodné prostředí pro růst a množení bakterií, protozoí a hub. Bachorová mikroflóra rozkládá svými enzymy složky potravy až na těkavé mastné kyseliny, jež jsou hlavním zdrojem energie pro hostitele. Sama je následně trávena a resorbována v duodenu a dalších částech trávicího traktu. Tím je zajištěn dostatečný přísun bílkovin pro samotného přežvýkavce. Z hlediska nutričního je důležitá i mikrobiální produkce řady vitamínů skupiny B, vitamínu K. Z těchto důvodů se na řízení a optimalizaci fermentačních procesů v poslední době klade hlavní důraz (DVOŘÁK, 2005).

Kromě genetických dispozic hraje v chovu skotu důležitou roli výživa samotných zvířat. Její úroveň ovlivňuje produktivitu hospodaření celého chovu. Základním předpokladem kvalitní výživy je energeticky a nutričně vyvážená krmná dávka. Stále větší pozornost se věnuje i krmným doplňkům, krmným aditivům, jež mají pozitivní vliv na zvíře samotné, či působí na stimulaci činnosti bachorové mikroflóry (FRYDRYCH, 2008). Do popředí zájmů

v oblasti jejich používání se dostává i hledisko ekologické. Proto jsou ve výživě upřednostňovány a testovány zejména látky přírodního původu.

Cílem této práce bylo v laboratorních podmínkách, dále pak i na kanylovaných zvířatech, ověřit možnost využití přípravku Biopolym FZT, jako možné aditivní látky ve výživě skotu. Tento výrobek je v podstatě hydrolyzát hnědé mořské řasy *Ascophyllum nodosum* obsahující řadu fyziologicky významných látek a mohl by pozitivně ovlivnit rozkladné procesy trávení probíhající v bachoru. Cílem první části pokusu bylo určení optimálního dávkování přípravku prostřednictvím stanovování stravitelnosti organické hmoty vzorků pastevních porostů metodou *in vitro*. Další část byla zaměřena na sledování biochemických parametrů bachoru a jejich porovnání u skupiny zvířat kontrolní a pokusné, které byl přípravek podáván. Metodou *in sacco* byla dále ověřována změna stravitelnosti živin ve vzorcích pastevního porostu u obou sledovaných skupin.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. Trávicí trakt přežvýkavců

Trávicí trakt přežvýkavců je tvořen dutinou ústní, hltanem, jícnem, předžaludkem, vlastním žaludkem, tenkým a tlustým střevem. Proti ostatním býložravcům se u přežvýkavců během fylogenetického vývoje vytvořil předžaludek. Umožňuje zvířatům v krátké době přijmout velké množství potravy a následně ji v klidové fázi přežvykovat.

Předžaludek se dělí na tři části – bachor, čepec a kniha (JELÍNEK *et al.*, 2003).

Bachor (*rumen*) je největší částí předžaludku. U dospělého skotu tvoří 80% z celkového obsahu předžaludku. Jeho objem činí 80-120 litrů, u ovcí 15-20 litrů (MARVAN *et al.*, 1998). Vyplňuje celou levou polovinu dutiny břišní. Je rozdělen na dorzální a ventrální vak. Stěna bachoru je tlustá asi 5mm a její sliznice je pokryta velkým množstvím papil, které zvětšují povrch sliznice. Tento fakt je významný nejen z hlediska adherence bachorové mikroflóry, ale i pro resorpci živin (těkavých mastných kyselin, dusíkatých látek) a vody z bachoru přímo do krevního oběhu. Význam bachorové stěny spočívá také v syntéze některých aminokyselin např. kyseliny glutamové, alaninu (LENG, 1991). Kromě funkce zásobárny krmiva funguje bachor jako kontinuální fermentor, ve kterém je přijatá potrava enzymaticky trávena činností mikroorganismů.

Čepec (*reticulum*) je s bachorem spojen čepcobachorovým ústím. Jeho objem je u skotu 5-8 litrů (MARVAN *et al.*, 1998). Poněvadž pouze duplikatura stěny odděluje čepec od bachoru, je tato anatomická část označována jako ruminoreticulární vak nebo zkráceně ruminoreticulum. I v této části probíhá fermentace při pH 6-7 (DVOŘÁK, 2005).

Knihy (*omasum*) je u skotu o něco větší než čepec, má objem 10-15 litrů (MARVAN *et al.*, 1998). Sliznice knihy vytváří listy, které mají význam pro zahušťování tráveniny. Kniha je místem významné resorpce vody.

Ve vlastním žaludku slezu a v tenkém střevě dochází k trávení potravy činností enzymů produkovaných zvířetem. Tlusté střevo je poslední částí trávicího traktu, kde opět probíhá rozklad tráveniny činností bakteriálních enzymů. Mikrobiální fermentace zde není pro hostitelské zvíře tak významná, neboť bakteriální protein není využit a odchází z těla s výkaly. Podstatný význam má jen resorpce vody v tlustém střevě.

2.2. Bachor

2.2.1. Bachorové prostředí

Ve své podstatě funguje bachor jako kontinuální fermentor. Pro zajištění optimální symbiózy s bachorovými mikroorganismy je důležitá relativní stálost fyzikálně chemických vlastností bachorového prostředí.

Teplota je dána teplotou zvířete, která ale souvisí i s teplotou prostředí, pohybovou aktivitou jedince. Její hodnoty jsou mezi 38,6 - 40°C. Teplota bachoru se mění po požití napájecí vody o nízké nebo naopak příliš vysoké teplotě (BROD *et al.*, 1982).

Hodnoty pH bachorové tekutiny se pohybuje v intervalu 5,5-7,5. Převážně je ovlivňováno krmivem. Nižší pH naměříme po krmení potravou obsahující jádrná krmiva. U zvířat krmených pouze objemnými krmivy se pH pohybuje v neutrální oblasti. Hodnoty pH jsou dány dobou přežvykování. Po požití potravy s vysokým obsahem vlákniny dochází ke stimulaci sekrece slin. Bikarbonáty a fosfáty ve slinách obsažené díky své pufrční schopnosti neutralizují kyseliny vznikající při fermentaci v bachoru (ALLEN, 1997).

RH bachorového prostředí se pohybuje od -145 do -190mV. Je to dáno anaerobním metabolismem mikroorganismů, které své prostředí silně redukují. Změny redoxního potenciálu úzce souvisí se změnami pH (MAROUNEK *et al.*, 1982).

Osmotický tlak je převážně ovlivněn druhem přijímaného krmiva. Značný vliv má také permeabilita epitelu bachorové stěny pro ionty TMK, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻. Před nakrmením je osmotický tlak bachorového obsahu vůči krevní plazmě hypotonický, hodnoty jsou nižší než 280 mosmol. kg⁻¹, po nakrmení vzroste až k hodnotě 400 mosmol.kg⁻¹ (LODEMANN a MARTENS, 2006).

Činnostmi mikroorganismů jsou jednotlivé složky přijaté potravy hydrolyzovány a fermentovány. Kromě významných TMK, které jsou pro zvíře hlavním zdrojem energie pro glukoneogenezi, vzniká při mikrobiálních rozkladech i značné množství plynů. Typické složení bachorových plynů je 65,5% CO₂, 26,8% CH₄, 7% N₂, 0,5% O₂ a 0,5% H₂ (ISHLER,2010).

2.2.2. Bachorová motorika

Z hlediska vytvoření optimálních podmínek pro fermentaci potravy je důležitá bachorová motorika. Jedná se o pohyby bachoru, které umožňují dostatečně promíchat přijatou potravu, vodu a také sliny. Motorickou činností svaloviny je bachorový obsah posouván k čepcoknihovému otvoru, jímž jemné částice postupují do knihy. Nedostatečně zpracované

částice jsou unášeny k povrchu zažitiny a reflexem rejekce se vrací do dutiny ústní k přežvykování (DVOŘÁK, 2005).

Pohyby bachoru se sestávají z primární kontrakce dorzálního a ventrálního bachorového vaku a ze sekundární kontrakce dorzálního a ventrálního vaku. Tyto dvě kontrakce se střídají, přičemž druhá kontrakce následuje krátce po první. Po druhé kontrakci dorzálního a ventrálního vaku následuje delší pauza. Při střídavých pohybech dorzálního a ventrálního vaku se obsah bachoru promíchá a přemístí z jednoho vaku do druhého (SOVA, 1981).

2.3. Bachorový mikrobiální ekosystém

Schopnost přežvýkavců využívat široké spektrum potravy vyplývá z velké rozmanitosti bachorového ekosystému obsahujícího bakterie, protozoa, anaerobní houby a bakteriofágy. Synergismus a antagonismus mezi různými skupinami mikroorganismů, ale i mezi různými rody stejné skupiny, jsou tak rozmanité a komplikované, že je složité říci, jakou roli v bachorovém trávení hraje každá určitá skupina. Bachorový ekosystém je zároveň stabilní i dynamický. Stabilita systému je dána jeho základní úlohou biokonverze složek potravy na těkavé mastné kyseliny, jež jsou zdrojem energie pro hostitelské zvíře. Dynamika spočívá v kvalitativních a kvantitativních změnách mikrobiální populace v závislosti na změnách skladby krmiva (KAMRA, 2005).

Mikrobiální populace bachoru zahrnuje komplex bakterií, protozoí, kvasinek, hub. Každá z těchto skupin se skládá z kolekce velkého množství druhů odlišného po stránce morfologické a funkční. Právě tato diversita umožňuje zvířatům přijímat rozmanitou stravu a využít prakticky všechny její složky, zahrnující sacharidy, proteiny, lipidy (LEEDLE *et al.*, 1982).

Druhové složení mikroorganismů je ale relativně stálé, odlišnosti jsou dány převážně typem diety. Objemná krmiva podporují rozvoj celulolytických bakterií, přidavek jádra znamená zvýšení počtu amylolytických bakterií. Mikrobiální skladba závisí i na věku zvířete. U mláďat přežvýkavců byly zjištěny kolonie bakterií 38 hodin po narození, zatímco přítomnost hub a protozoí byla prokázána v bachoru až po 10 až 20 dnech po narození (MCALLISTER *et al.*, 1994). Z hlediska zastoupení mikrobiálních druhů a jednotlivých kmenů existují také rozdíly mezi domestikovanými a divoce žijícími zvířaty (NELSON *et al.*, 2003).

2.3.1. Bakterie

Bakterie nacházející se v bachoru přežvýkavců se řadí do skupin fakultativně anaerobních a anaerobních mikroorganismů (BRYANT, 1959). Bachorová tekutina obsahuje 10^{10} - 10^{11} bakterií v 1 ml (HOBSON, 1969). Podle současných poznatků bakteriální populace zahrnuje 60 druhů.

Podle KAMRY (2005) můžeme bachorové bakterie charakterizovat takto:

1. Převažují gram-negativní bakterie, množství gram-pozitivních roste s energeticky bohatší stravou
2. Většina bakterií je striktně anaerobních, pouze část fixovaných na bachorovou stěnu jsou fakultativně anaerobní
3. Optimální pH pro růst a množení je od 6 - 6,9
4. Optimální teplota je 39°C
5. Jsou tolerantnější k vyššímu množství kyselin než ostatní mikroflóra

Rozdělení bachorových bakterií bývá v literatuře nejednotné. Někteří autoři bakterie rozdělují podle morfologie, jiní na základě metabolizovaných substrátů či syntézy určitého produktu. STEWART (1991) podle vzoru Bergeyho rozdělil bakterie na G- a G+ bakterie.

Přehled druhů bakterií nacházejících se v bachoru domestikovaných nebo divokých zvířat podle (KAMRA, 2005) je následující:

Bakterie využívající uhlovodíky

| | |
|--------------|--|
| Celulosa | <i>Fibrobacter succinogenes</i> |
| | <i>(Bacteroides succinogenes)</i> |
| | <i>Ruminococcus flavefaciens</i> |
| | <i>Ruminococcus albus</i> |
| | <i>Clostridium cellobioparum</i> |
| | <i>Clostridium longisporum</i> |
| | <i>Clostridium lochheadii</i> |
| | <i>Eubacterium cellulosolvens</i> |
| | <i>(Cillobacterium cellulosolvens)</i> |
| Hemicelulosa | <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> |
| | <i>Prevotella ruminicola</i> |
| | <i>(Bacteroides ruminicola)</i> |

| | |
|-----------------|---|
| | <i>Eubacterium xylanophilum</i> , <i>E. uniformis</i> |
| Škrob | <i>Streptococcus bovis</i> <i>Ruminobacter amylophilus</i> (<i>Bacteroides amylophilus</i>) <i>Prevotella ruminicola</i> (<i>Bacteroides ruminicola</i>) |
| Cukry, dextriny | <i>Succinivibrio dextrinosolvens</i> <i>Succinivibrio amylolytica</i> <i>Selenomonas ruminantium</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. helveticus</i> <i>Bifidobacterium globosum</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. thermophilum</i> <i>B. ruminale</i> <i>B. ruminantium</i> |
| Pektin | <i>Treponema saccharophilum</i> <i>Lachnospira multiparus</i> |

Bakterie využívající dusík

| | |
|--------------------|--|
| Degradace proteinů | <i>Prevotella ruminicola</i> <i>Ruminobacter amylophilus</i> <i>Clostridium bifermentans</i> |
| Hydrolyza močoviny | <i>Megasphaera elsdenii</i> |

Ostatní bakterie

| | |
|----------------------|---|
| Využívající kyseliny | <i>Megasphaera elsdenii</i> (<i>Peptostreptococcus elsdenii</i>) <i>Wollinella succinogenes</i> (<i>Vibrio succinogenes</i>) <i>Veillonella gazogenes</i> |
|----------------------|---|

| | |
|----------------------|---------------------------------------|
| | <i>(Veillonella alcalescens,</i> |
| | <i>Micrococcus lactolytica)</i> |
| | <i>Oxalobacter formigenes</i> |
| | <i>Desulphovibrio desulphuricans</i> |
| | <i>Desulphatamaculum ruminis</i> |
| | <i>Succiniclasticum ruminis</i> |
| Lipolytické bakterie | <i>Anaerovibrio lipolytica</i> |
| Acetogenní bakterie | <i>Eubacterium limosum</i> |
| | <i>Acetitomaculum ruminis</i> |
| Tanin rozkládající | <i>Streptococcus caprinus</i> |
| | <i>Eubacterium oxidoreducens</i> |
| Mimosin degradující | <i>Synergistes jonesii</i> |
| Metanogenní | <i>Methanobrevibacter ruminantium</i> |
| | <i>Methanobacterium formicicum</i> |
| | <i>Methanosarcina barkeri</i> |
| | <i>Methanomicrobium mobile</i> |
| Mykoplasmatické | <i>Anaeroplasma bactoclasticum</i> |
| | <i>Anaeroplasma abactoclasticum</i> |

Z přehledu je patrné, že některé rody jsou schopny využívat i několik substrátů. Z tohoto důvodu je vhodnější zařadit bakterie do skupin z hlediska metabolizovatelných substrátů či důležitých produktů fermentace.

JELÍNEK *et al.* (2003) shrnul do následujících skupin:

1. celulólytické bakterie
2. hemicelulólytické bakterie
3. pektinolytické a amylolytické bakterie
4. bakterie využívající rozpustné cukry
5. bakterie využívající kyseliny
6. proteolytické bakterie
7. lipolytické bakterie
8. metanogenní bakterie
9. bakterie produkující amoniak
10. bakterie produkující vitamíny

Celulolytické bakterie

Celulolytické bakterie jsou jedny z nejdůležitějších bachorových mikroorganismů. Tyto bakterie jsou schopny hydrolyzovat celulosu, štěpit ji až na glukosu a tu potom dále fermentovat. V bachoru přežvýkavců jsou nejčetnější tyto 3 druhy: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* (LESCINE, 1995). Například u ovcí tyto celulolytické druhy tvoří 4,5 – 9 % celkové bakteriální populace bachoru (MICHALET-DOREAU, 2002).

Celulolytická aktivita bakterií závisí na druhu krmiva (LESCINE, 1995). Tato skutečnost úzce souvisí s hodnotou pH bachorové tekutiny. STEWART (1977) uvádí optimální hodnotu pH pro činnost těchto bakterií rovnu 7. V *in vitro* pokusech došlo při poklesu pH k hodnotě 6 k rychlému a značnému snížení rozkladu celulosy.

Kromě optimálního pH, vyžadují celulolytické bakterie pro vlastní růst a množení čpavek, větvené mastné kyseliny, fenolické kyseliny a síru (DURAND a KOMICARCZUK, 1988, PIVA *et al.*, 1988).

Pro hydrolyzu celulosy je velmi důležitá schopnost bakterií adherovat se na substrát. Při studiu kmenů *Ruminococcus albus* byla zjištěna značná rozdílnost v celulolytické aktivitě. Vyšší produkce karboxymethylcelulasy a xylanasy byla potvrzena u adherované skupiny (MORRIS a COLLE, 1988).

Hemicelulolytické bakterie

Hemicelulóza je dalším významným strukturálním polysacharidem. Kromě glukosových jednotek obsahuje i další monosacharidové jednotky jako je xylosa, arabinosa, galaktosa, manosa, rhamnosa. Ve struktuře jsou zastoupeny i uronové kyseliny (WILKIE, 1979). Ze studie monosacharidového složení hemicelulosy pšeničné slámy bylo zjištěno, že 60% tvoří xylosa, 27% arabinosa, 9% rhamnosa. Manosa a glukosa jsou v hemicelulose zastoupeny každá do 2% (MAROUNEK *et al.*, 1988).

Nejvýznamnější bakterií s hemicelulolytickou aktivitou vyskytující se v bachoru je *Prevotella ruminicola*, schopná současně metabolisovat pentosy i hexosy (STROBEL, 1993).

Hydrolyzovat hemicelulosu má i řada mikroorganismů s celulolytickou aktivitou (STROBEL, 1994, THURSTON *et al.*, 1994).

Pektinolytické bakterie

Ačkoliv není pektin jedním z hlavních sacharidů obsažených v píci, tvoří jeho obsah 10-20% z celkového množství sacharidů obsažených v travách a vojtěšce. V *in vivo* pokusech bylo ověřeno, že pektin je přežvýkavci stráven ze 75-90% (GRADEL a DEHORITY, 1972).

Amylolytické bakterie

Škrob je hlavní polysacharid obsažený v zrninách. V bacheru je fermentován z 90 a více % (ORSKOV, 1986). Optimální růst amylolytických bakterií je dán vyšší kyselostí prostředí, pH = 5 až 6. Při zkrmování potrawy bohaté na škroby, dochází k velkému rozvoji amylolytických bakterií. Například *Streptococcus bovis*, běžně se vyskytující jen v nízkém množství, se při náhlém zařazení vyššího obsahu jádra do krmné dávky může pomnožit do té míry, že zvířeti hrozí acidóza vlivem vysoké produkce kyseliny mléčné (NAGARAJA a TITGEMEYER, 2007).

Konečnými produkty fermentace v bacheru zdravého zvířete jsou kyselina octová, propionová, máselná a oxid uhličitý. V případě acidózy se zvyšuje koncentrace kyseliny mléčné v bacherové tekutině na více než 5 mmol.l⁻¹ (RADA, 2009).

Bakterie využívající mono- a disacharidy

Přítomnost cukry fermentujících bakterií má v bacheru své opodstatnění, neboť řada pícnin obsahuje relativně velké množství rozpustných cukrů. Například jálek obsahuje 1% glukosy, 1% fruktosy, 9% sacharosy a 19% fruktanů (ANNISON *et al.*, 2007).

Bakterie využívající kyseliny

Tyto bakterie se vyskytují převážně v bacheru zvířat krmených dietou s vyšším obsahem jádra, kdy následně dochází k vysoké produkci kyselin. Nejrozšířenější *Megasphaera elsdeni* využívá 60 až 95% laktátu v bacheru (COUNOTTE *et al.*, 1981). Kromě laktátu jsou těmito bakteriemi využívány také meziprodukty fermentací, jako je sukcinát a formát.

Proteolytické bakterie

Činností proteolytických bakterií je v bacheru degradováno 50-70% proteinů přijatého krmiva. Proteolytickou aktivitou se vyznačuje 12 až 38% celkové bakteriální populace (COTTA a HESPELL, 1986).

Proteolytické bakterie využívají proteiny jako zdroj uhlíku a energie. Tyto druhy jsou převážně fakultativně anaerobní (APPLEBY, 1955). K nejvýznamnějším proteolytickým druhům patří: *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides ruminicola* a *Butyrivibrio fibrisolvens*. Optimální pH pro rozvoj těchto druhů a jejich proteolytické aktivity je mezi hodnotami 6 a 7 (BLACKBURN a HOBSON, 1960). Proteolytické enzymy bakterií dělíme na exoproteasy nacházející se v buněčném obalu a endoproteasy, které jsou obsaženy ve vnitřních membránách. Exoproteasy rozkládají polypeptidy na oligopeptidy, které mohou projít póry vnější membrány a uvnitř bakterií jsou pak degradovány vnitřními proteasami (KOPEČNÝ a WALLACE, 1982). Tímto mechanismem degradace proteinů se bakterie liší od protozoí, která proteiny tráví až po jejich pohlcení.

Konečným produktem hydrolýzy bílkovin, peptidů a následné degradace aminokyselin jsou TMK, amoniak, metan a oxid uhličitý (TAMMINGA, 1979).

Lipolytické bakterie

Lipidy přicházející v potravě do bacheru jsou triacylglyceroly, fosfolipidy a galaktolipidy. Hydrolyzovány jsou činností mikrobiálních lipas. Nenasycené mastné kyseliny uvolněné štěpením jsou pro bacherovou mikroflóru značně toxické, proto jsou v bacheru ihned satureovány (HOBSON a MANN, 1961). Pro zdraví lidí důležité kyseliny linolová a linolenová obsahující *cis*- konfigurace nenasycených vazeb, podléhají hydrogenaci přes *trans*- konfigurace až na nasycenou kyselinu stearovou (LOOR *et al.*, 2003).

Mikroorganismy nejsou schopny získávat energii z mastných kyselin β -oxidací, volné mastné kyseliny využívají tedy přímo pro tvorbu vlastních mikrobiálních lipidů (LOURENCO *et al.*, 2010).

I pro lipolytické bakterie platí substrátová specifita. Extracelulární lipasa *Anaerovibrio lipolytica* přednostně hydrolyzuje diglyceridy proti triglyceridům. Tato lipasa však neatakuje fosfolipidy ani galaktolipidy. Fosfolipidy jsou štěpeny bakteriemi druhu *Butyrivibrio fibrisolvens* (KIM *et al.*, 2009).

Metanogenní bakterie

Metanogenní bakterie jsou jediné známé mikroorganismy schopné produkovat metan. Za anaerobních podmínek v batoru je vodík vzniklý činností jiných mikroorganismů využit spolu s oxidem uhličitým za vzniku metanu (MCALISTER a NEWBOLD, 2008).

Pro metanogenezi může být využit i formiát, vznikající jako meziprodukt fermentací (MOSS *et al.*, 2000, HOOK *et al.*, 2010). K nejvýznamnějším zástupcům metanogenních bakterií patří *Methanobacterium ruminantium* a *Methanomicrobium mobile* pozorované v batoru v populaci větší než $1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ (MCALISTER *et al.*, 1996).

Při tvorbě metanu dochází k vysokým energetickým ztrátám, které mohou tvořit až 10% energie potravy (THORTON a OWENS, 1977).

Bakterie produkující amoniak

Tyto bakterie jsou schopny odštěpovat amoniak z peptidů nebo aminokyselin. Mikrobiální fermentace je u mnoha druhů ovlivněna složením krmné dávky. Nejvýznamnější amoniak produkující bakterie *Bacteroides rumenicola* produkuje jen velmi málo tohoto plynu v prostředí bohatém na polysacharidy (CHEN a RUSSELL, 1989).

Amoniak je produkován také bakteriemi s ureolytickou aktivitou, hydrolýzou močoviny, která se do batoru dostává slinami nebo prostupuje přes batorovou stěnu (RÉMOND *et al.*, 1993).

Bakterie produkující vitamíny

Proti monogastrům nejsou přežvýkavci tak závislí na příjmu vitamínů krmivem. Řada vitamínů je produkována batorovými bakteriemi. Jedná se o vitamíny skupiny B, vitamín C, K. Pouze lipofilní vitamíny A, D, E hostitel získává jen z přijatého krmiva. Pro dostatečnou syntézu vitamínů mikroorganismy je důležité zajistit krmnou dávkou i příjem stimulantů. Například z hlediska optimální produkce vitamínu B₁₂ je důležitým mikroelementem kobalt (DVOŘÁK, 2005).

2.3.2. Protozoa

Protozoa se vyskytují v trávicím traktu nejen savců, ale i vývojově nižších živých organismů. Zástupci praprvoků, ale i prvoků byli objeveni v trávicím traktu termitů a dalšího hmyzu živícího se dřevem, kde jsou tyto mikroorganismy zodpovědné za rozklad sacharidů buněčných stěn (YAMIN a TRAGER, 1979, STRÜDER-KYPKE *et al.*, 2007).

Vedle bakterií se v předžaludku přežvýkavců nachází 150 druhů nálevníků (JELÍNEK *et al.*, 2003). Četnost protozoí se pohybuje v koncentraci 10^5 - 10^6 buněk v 1 mililitru bachorové tekutiny, což představuje polovinu mikrobiálního dusíku v bachoru (SYLVESTER a KARNATI, 2004).

Taxonomické řazení protozoí se v průběhu studia těchto mikroorganismů měnilo. Původně byli nálevníci, jako třída *Ciliata*, rozděleni na 2 hlavní podtřídy *Holotricha* a *Entodiniomorpha* (ČERVINKA, 2002).

Původně holotrichní mikroorganismy mají pásy bičíků po celém těle, jsou větší a rychleji se pohybují. Nejčastěji se vyskytující rody jsou *Isotricha* a *Dasytricha*. Oba rody fermentují rozpustné cukry. *Isotricha* fermentují také škrob (BARTOŠ, 1987).

Mikroorganismy podtřídy *Entodiniomorpha* mají bičíky ve svazečcích jen na několika místech těla (CAMERON *et al.*, 2003). Nejrozšířenější jsou rody *Diplodinium*, *Entodinium* a *Epidinium*. Kromě schopnosti fermentace pektinu a škrobu byly u těchto entodiniomorfních mikroorganismů prokázány i celulólytické schopnosti (BOHATIER *et al.*, 1990, WILLIAMS, 1986).

Protozoa se podílí i na trávení proteinů. Při pohlcování a následném rozkladu dávají přednost méně rozpustným bílkovinám. Jako zdroj dusíku využívají hlavně odumřelé bakterie, které po pohlcení tráví jen velmi pomalu, dvě třetiny aminokyselin transportují do cytoplasmy, zbytek podléhá deaminaci (HINO a RUSSEL, 1987, KOENIG *et al.*, 2000).

Lipolytická aktivita protozoí není ještě do detailu prozkoumána. Některé kmeny rodu *Epidinium* mají schopnost odštěpovat galaktosu z galaktolipidů, díky enzymu galaktolipidasa. *Entodinium caudatum* produkuje fosfolipázu. Skutečný podíl protozoí na hydrolýze lipidů objasněn dosud nebyl (LOURENCO *et al.*, 2010).

Významem protozoí v mikrobiálním trávení se v 70. letech zabýval Christians. Ve své práci porovnával skupinu lam, jejichž bachor byl osídlen protozoí se skupinou lam bez této mikroflory. U první skupiny byl v bachoru zjištěn vyšší obsah těkavých mastných kyselin a koncentrace amoniaku (KLOPFENSTEIN *et al.*, 1966). YODER *et al.* (1966) studoval protozoální a bakteriální trávení celulosy. Pouze protozoí byla celulóza strávena ze 7 %, pouze bakteriemi ze 40%. Při použití smíšené kultury bakterií a protozoí došlo k natrávení 60% celulosy, čímž se potvrdil synergický účinek obou kultur.

Protozoa se nevyskytují v trávicím traktu narozených přežvýkavců. Bachor je jimi osídlen až později přímou nákazou nebo kontaktem s dospělými jedinci. Pokud mladá zvířata zůstanou izolována od dospělých, nikdy nebudou infikována protozoí. Pro život přežvýkavců není tato skupina mikroorganismů esenciální (COLEMAN, 1979, WILLIAMS, 1991). Řada

studií ale potvrdila, že u defaunovaných telat a jehňat došlo ke snížení denních přírůstků (MICHALOWSKI, 2005).

Množství nálevníků je ovlivňováno druhem krmiva v krmné dávce, roste s podílem vlákniny (MEYER *et al.*, 1986).

Taxonomické řazení bachorových protozoí podle LYNNA (2008):

CILIATA – Nálevníci

- Třída: *Listomatea*
Podtřída: *Trichostomatia*
Řád: *Vestibuliferida*
Podřád: *Trichostomatia*
Čeleď: *Isotrichidae*
Rody: *Dasytricha*
Isotricha
Oligoisotricha
Řád: *Entodiniomorphida*
Podřád: *Entodiniomorphina*
Čeleď: *Ophryoscolecidae*
Rody: *Caloscolex*
Diplodinium
Diploplastron
Elytroplastron
Enoploplastron
Entodinium
Eodinium
Epidinium
Epiplastron
Eremoplastron
Eudiplodinium
Metadinium
Ophryoscolex
Opisthotrichum
Ostracodinium
Polyplastron

2.3.3. Houby

Dlouhou dobu byly za jediné činitele bachorového trávení považovány bakterie a protozoa. Až roku 1975 byla v bachoru potvrzena přítomnost další skupiny mikroorganismů – hub (HO, 2000). K nejrozšířenějším patří zástupci primitivních nižších hub *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis*, *Sphaeromonas communis* (AKIN a BENNER, 1986).

Spóry hub napadají lignifikovaná pletiva rostlin, po vyklíčení rozvětvený rhizoid prorůstá postupně pletivem. Na kořincích hub jsou vázány celulasy, které rostlinná pletiva narušují zevnitř. Fyzikální i chemickou destrukcí se houby aktivně podílí na bachorovém trávení (DAS *et al.*, 2012). Kromě celulosy byla v čistých kulturách hub potvrzena i schopnost fermentace hemicelulosity (BERNALIER *et al.*, 1992).

V monokultuře jsou hlavními produkty fermentace kyselina mravenčí a octová, ethanol, CO₂ a H₂. Ve společné kultuře s metanogenními bakteriemi je trávení účinnější a mezi konečnými produkty je především kyselina octová, CO₂ a CH₄ (JELÍNEK *et al.*, 2003).

Vývojový cyklus hub od spory až po vyzrálé sporangium trvá přibližně 24 hodin (JOBLIN, 1981). Z tohoto důvodu je nárůst těchto mikroorganismů velmi ovlivněn dobou pasáže krmiva v bachoru. Krmná dávka bohatá na vlákninu prodlužuje dobu zadržení trávených částic přijatého krmiva a umožňuje množení hub (AKIN a BENNER, 1988). Nárůst hub je stimulován i produkty metabolismu ostatní bachorové mikroflory. Jedná se například o kyselinu 2-methyl-máselnou, vitamíny skupiny B. Stimulační účinek má i snížení koncentrace mastných kyselin s dlouhým řetězcem (ORPIN a GREENWOOD, 1986).

2.3.4. Bakteriofágy

Bakteriofágy jsou viry bakterií vyskytující se v množství 10⁸-10⁹ml⁻¹. Jsou specifické pro různé bakterie. Nijak nepomáhají při bachorovém rozkladu přijatého krmiva, ale účastní se lyse bakteriálních buněk, a tím i rozkladu bakteriálního proteinu. Díky tomu se bakteriální protein stává lépe dostupným zdrojem aminokyselin pro hostitele. Množství fágů je variabilní, nejvyšší je 8-10 hodin po nakrmení (KAMRA, 2005).

2.4. Výživa přežvýkavců

Výživa přežvýkavců je mnohem náročnější ve srovnání s výživou monogastričních zvířat. Je to dáno odlišným systémem trávení, který zahrnuje část ruminální a postruminální. Cílem je vytvořit optimální a vybalancovanou skladbu krmné dávky pro správnou funkci bachorového ekosystému (bachorové trávení) a následně zajistit živinové a energetické

potřeby makroorganismu. To je jeden z hlavních předpokladů pro zajištění dobrého zdravotního stavu zvířat a požadované výše a kvality produkce.

2.4.1. Potřeba energie

Základem veškerých biochemických pochodů odehrávajících se v živém organismu je přeměna energie. Energie je využívána na všechny životně důležité procesy. Zajišťuje činnost orgánů, pohyb zvířat, je potřebná pro udržení stálé tělesné teploty a v neposlední řadě pro dosažení optimální produkce.

Převážnou část energie přežvýkavci získávají bachorovým trávením krmiv. Energie je tak uvolňována i z potravy pro monogastry nevyužitelné. Jedná se o polysacharidy (celulosu, hemicelulosu), pro jejíž štěpení chybí zvířatům vlastní enzymy.

Mikrobiální populace přítomná v bachoru vyžaduje pro svůj růst dusíkaté látky. Není tedy možné diskutovat produkci bachorové energie odděleně. Pro praxi je důležité sladit požadavky mikroorganismů na dusíkaté látky spolu se zdrojem sacharidů, substrátů pro fermentaci (SEO *et al.*, 2010).

Pro pokrytí energetických potřeb zvířat je možné do krmné dávky jako doplněk přidávat energeticky bohaté látky. Vhodné jsou tuky ve formě semínek, olejů. Je třeba mít na zřeteli, že vysoký přírůstek lipidů negativně ovlivňuje trávení vlákniny v důsledku redukce množství protozoí a celulólytických bakteriálních kmenů (CHILLIARD, 1993).

Energetické požadavky zvířat ovlivňuje řada faktorů jako je tělesná váha, užitkovost, laktace. Laktace je jedním z důležitých hledisek, které určují energetickou potřebu zvířete. V průměru dojené krávy potřebují o 50% více neto energie, než zasušené. U dojnic na první laktaci je třeba počítat také s potřebou energie na dokončení jejich růstu (JOHNSON *et al.*, 2003). Také tělesný rámec a plemeno zvířete ovlivňuje jeho energetické nároky (LEMENAGER *et al.*, 1980).

2.4.2. Nutriční látky

Dieta pro přežvýkavce musí zaručovat kromě zajištění dostatečného množství vody a energie také příjem optimálního množství bílkovin, vitamínů a minerálů. Požadavky zvířat závisí na druhu, plemeni, věku, užitkovosti, případně laktaci.

Z hlediska výživy ale mají význam pouze ty živiny, které živý organismus využije. Tato část nutričních látek, která neodejde z těla, je definována jako stravitelné živiny (ZEMAN, 2006).

Nejčastěji se živiny dělí podle chemického složení na dusíkaté látky, lipidy, sacharidy a popeloviny.

Dusíkaté látky

Podle původu, můžeme dusíkaté látky rozdělit na exogenní, přijaté potravou a endogenní; endogenní močovina, dusík z deskvamace bachorového epitelu. Exogenní dusíkaté látky lze dále rozdělit na proteiny a nebílkovinné dusíkaté sloučeniny organické (peptidy, volné aminokyseliny, nukleové kyseliny) a anorganické (močovina, dusičnany, amonné soli).

V bachoru degradovatelné dusíkaté látky jsou po rozštěpení zdrojem dusíku pro tvorbu mikrobiálního proteinu, který je zásobárnou aminokyselin pro přežvýkavce. (KARSLI a RUSSELL, 2002).

Ve výživě přežvýkavců má důležité postavení v bachoru nedegradovatelný protein. Mikrobiální protein u vysokoprodukčních dojnic pro zabezpečení potřebné dotace esenciálních aminokyselin jako jediný zdroj nestačí. Proto je třeba chránit proteiny krmiva před bachorovou fermentací, a zvýšit tak množství proteinu vstupujícího do tenkého střeva (CHALUPA, 1975, BOUCHER *et al.*, 2009). V praxi se tato ochrana proteinů provádí nejčastěji termickým ošetřením proteinových krmiv. CANBOLAT *et al.* (2005) ve svých pokusech pro snížení degradovatelnosti proteinu termicky ošetřil soju v autoklávu při 120-150°C po dobu 20 minut.

SANTOS *et al.* (1984) ve své práci porovnával bachorovou degradaci proteinů různých dietetických zdrojů. Pivovarnické mláto, kukuřičný lepek nebo sušené výpalky byly vyšším zdrojem nedegradovatelného proteinu, a tím i aminokyselin vstupujících do tenkého střeva, než sója.

Pro zvýšení množství dusíkatých látek v dietě se v praxi zařazuje do krmných dávek močovina. Z hlediska relativně vysoké toxicity je třeba správně stanovit dávku. Nebezpečí intoxikace amoniakem uvolněným z močoviny při bachorové degradaci hrozí zvířeti při zkrmování dávky 0,2 g močoviny/kg ž.v. Pro snížení ohrožení zvířete je možno použít několik preventivních metod zahrnujících úpravu pH, použití inhibitorů ureas bachorových mikroorganismů, ošetření povrchu krystalů močoviny zmazovatěným škrobem nebo použití hlinitokřemičitanů jako sorbentů v bachoru se uvolňujícího čpavku (KOPEČNÝ, 1978).

Z dietetického hlediska nelze opomenout dusičnany, které se objevují v krmivech v důsledku hnojení. Bachorové bakterie jsou díky svým enzymům schopny dusitany transformovat až na amoniak. Přesáhne-li koncentrace dusičnanů v bachorové tekutině hranici

65 mmol $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$, začnou se v bachoru hromadit dusitany, které přestoupí do krve a reakcí s hemoglobinem vyvolají methemoglobinemii (ATYABI, 2012).

Sacharidy

Sacharidy tvoří více než 65% sušiny krmné dávky skotu. Z hlediska výživářského jsou hlavním zdrojem energie pro přežvýkavce.

Sacharidy krmiva zahrnují velké množství různých skupin sloučenin klasifikovaných jako monosacharidy (jednoduché aldohexosy a aldopentosy), oligosacharidy obsahující 2 až 10 monosacharidových jednotek spojených glykosidickou vazbou a polysacharidy, dlouhé řetězce látek s vysokou molekulovou hmotností.

V rostlinách jsou tyto látky obsaženy v buněčných stěnách (strukturální sacharidy) nebo v buněčné protoplazmě (nestrukturální polysacharidy). Mezi strukturální polysacharidy, jinak označované hrubá vláknina, patří celulosa, hemicelulosa, lignin a kutin. V buněčné protoplazmě se nacházejí rozpustné cukry a škrob (STOKES, 1997).

Hlavní úlohou sacharidů v dietě je zajišťovat energii – primárně pro bachorovou mikrobiální populaci, sekundárně pro hostitelského přežvýkavce. Další neméně významná role, týkající se sacharidů vlákninového spektra, je zajištění správné fyziologické funkce bachoru. Umožňuje přežvykování potravy, což je důležité pro trávicí procesy (SUCHÝ a STRAKOVÁ, 2005).

Lipidy

Lipidy jsou zásobní látkou jak v rostlinách, tak i v živočišném těle. V tom je jejich hlavní a zásadní význam. Tuky mají zhruba dvojnásobnou energetickou hodnotu ve srovnání se sacharidy. Zatímco energetická hodnota sacharidů je asi $17 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$, je energetická hodnota tuků $38 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ (ZEMAN, 2006).

Lipidy přicházející do bachoru v krmivu jsou z největší části neutrální lipidy (estery mastných kyselin a glycerolu). Zelená píce obsahuje zejména galaktoglyceroly. Z mastných kyselin převládá v objemných krmivech kyselina palmitová, v jadrných kyselina olejová (BARTOŠ, 1987).

Kromě energetického významu hrají tuky úlohu jako nosiče a rozpouštědla vitamínů A, D, E a K.

Typická dieta pro skot obsahuje 4-5% tuku. Z hlediska optimálních fermentačních procesů v bachoru je třeba dbát na to, aby krmná dávka fortifikovaná lipidy neobsahovala vyšší než

doporučovaný obsah tuku. Docházelo by pak ke snížení bachorové degradace celulosy, snížení produkce metanu, ke snížení obsahu acetátu a propionátu (CHILLIARD, 1993, BAUMAN *et al.*, 2003).

Popeloviny

Popeloviny vyjadřují celkový obsah minerálních látek v krmivu. Jsou v živočišném organismu zastoupeny v množství 3-5% tělní hmoty. Mají významný vliv na normální průběh metabolických procesů, a tím i na užitkovost a zdraví zvířat, jejich dlouhověkost, reprodukci atd. (ZEMAN, 2006).

Makroelementy, jako je vápník a fosfor, jsou stavebními prvky kostních tkání. Důležitý je poměr mezi oběma elementy v krmné dávce. Řada autorů doporučuje různý poměr Ca a P v dietě. U mléčné produkce jsou nejčastěji doporučovány poměry Ca:P 2:1. U Holštýnských ovcí byly zjištěny nejvyšší přírůstky při poměru Ca:P 4:1. (JACOBSON *et al.*, 1972).

Makroelementy (Na, K, Cl) mají význam především při udržování acidobazické rovnováhy a osmotického tlaku. Poruchy acidobazické rovnováhy mohou negativně ovlivňovat využitelnost ostatních prvků. Při projevech parézy jsou mnohdy významnějším činitelem, než nízká hladina vápníku v dietě (FREDDEN, 1988).

Řada mikroelementů, jako např. Cu, Mn, Zn, Se, jsou složkami řady enzymů a bílkovin, mají tak velký význam při biochemických procesech v organismu (GRESSLEY, 2009). V poslední době narůstá zájem o ověřování role zinku jako antioxidantu centrální nervové soustavy a mozku (HASSAN *et al.*, 2011).

Minerální látky jsou klíčové i pro bachorové mikroorganismy. Pro jejich růst a rozvoj je důležitá hladina fosforu, síry, hořčíku (PATHAK, 2008). Fosfor je významnou složkou nukleotidů, koenzymů, fosfolipidů. Fosfor v nukleových kyselinách reprezentuje 80% celkového obsahu fosforu v buňkách mikroorganismů. Hlavní funkcí síry pro bachorové mikroorganismy je syntéza sirných aminokyselin, metioninu a cysteinu. Síra se uplatňuje i při syntéze thiaminu a biotinu. Hořčík je esenciální pro všechny mikroorganismy. Aktivuje řadu bakteriálních enzymů, fosfohydrolasy, fosfotransferasy. Aktivitu celulasy u *Ruminococcus flavefaciens* spouští Mg^{2+} ionty. Přídavek síry detoxikuje kyanovodík, který vzniká v některých pícninách po rozkladu kyanogenních glykosidů. Síra má i pozitivní vliv na snížení tvorby mléčné kyseliny v bachorové fermentaci u koncentrovaných diet. Vápenaté ionty podporují degradaci vlákniny u krmiv bohatých na tuky. (DURAND a KOMICARCZUK, 1988).

2.4.3. Vlákna

Vlákna není přesně definovaná látka; je to směs sestávající se z celulosy, hemicelulosy a nestravitelných inkrustujících látek, zejména ligninu, kutinu, křemičitanů atd. (ZEMAN, 2006). RICHTER *et al.* (2000) vlákninu rozděluje na frakci nerozpustnou, obsahující celulosu, hemicelulosu a lignin a rozpustnou frakci, zahrnující pektin, nestravitelné oligosacharidy, gumy a vosky.

Poměr a obsah jednotlivých složek vlákniny závisí na druhu a stáří rostlinného krmiva. V průběhu růstu se zvyšuje množství lignifikovaných rostlinných pletiv (HUHTANEN a JAAKKOLA, 1994, JANČÍK *et al.*, 2010). U jetelotravních siláží je vlákninové spektrum dáno také pořadím seče, druhovým složením bylin, stupněm hnojení, klimatickými podmínkami, technologií zpracování (PERČULIJA *et al.*, 2008).

Obsah vlákniny v krmivech rostlinného původu kolísá v sušině od 5-40%. Čím je vyšší obsah vlákniny, tím nižší je stravitelnost organické hmoty (ZEMAN, 2006).

Doporučený obsah vlákniny pro vysokoužitková zvířata v laktaci je mezi 15-18%, u nižších užitkovostí až 22% ze sušiny krmné dávky. Při obsahu hrubé vlákniny pod 13% ze sušiny krmiva může dojít k fyziologickým poruchám trávení (HÁJEK, 2009).

Kromě energetického zdroje je ve výživě polygastrů důležitý vliv vlákniny na fyziologické funkce batoru. Dobrá struktura krmné dávky působí pozitivně nejen na svalový tonus stěny batoru a batorové kontrakce, ale v důsledku dostatečné doby přežvykování je produkováno odpovídající množství slin pro neutralizaci těkavých mastných kyselin, které vznikají při fermentaci sacharidů (KUDRNA a POLÁKOVÁ, 2006).

Stanovení vlákniny a její frakce

Stanovení obsahu vlákniny je součástí chemických rozborů krmiv.

Podle Weende – metody navržené Hennebergem a Stohmanem roku 1859 je množství vlákniny stanovováno jako „hrubá vlákna“ (CF-Ccrude Fibre). Jedná se o gravimetrickou metodu, založenou na dvojitupňové hydrolýze v ředěné kyselině a následně v ředěné zásadě. Hrubá vlákna zahrnuje především celulosu a pouze část hemicelulosy a ligninu, které se částečně rozpustí při hydrolýze. Část pentosanů a ligninu je tak zahrnuta do bezdusíkatých výtažkových látek (JANKNECHT, 2000).

Detailnější způsob stanovení vlákniny provedl Van Soest roku 1963. Vlákna rozdělil na neutrálně-detergentní vlákninu (NDF), acidodetergentní vlákninu (ADF) a ADL, acidodetergentní lignin (JUNG, 1997).

NDF představuje zbytek buněčných stěn (tvořený hemicelulosou, celulosou a ligninem) získaný po mírné hydrolyze za varu v pufovaném neutrálním roztoku detergentu laurylsulfátu sodného. Podskupinou NDF je vláknina rozpustná v kyselém prostředí, ADF. ADF je zbytek buněčných stěn (celulosa a lignin), který zůstane po kyselé hydrolyze v prostředí detergentu (cetyltrimetylamonium bromid v 1 N kyselině sírové). ADL je zbytek buněčných stěn (lignin) získaný oxidací zbytku po stanovení ADF 72% kyselinou sírovou za studena; tímto je ze vzorku odstraněna celulóza (KOUKOLOVÁ *et al.*, 2010).

NDF souvisí s příjmem sušiny (plnivostí krmiva), s přežvykováním a fyziologií bachoru, ADF koreluje se stravitelností krmiv. Není-li NDF v KD zastoupena v potřebném množství a ve správné struktuře, lze předpokládat poruchy příjmu krmiva. Minimální obsah NDF pro dojnice v první fázi laktace se pohybuje v rozpětí 27 až 30 % sušiny KD. Je doporučováno, aby minimálně 75 % z veškeré NDF v KD bylo dodáno pící (KOUKOLOVÁ *et al.*, 2010).

Významnou složkou NDF je tzv. efektivní NDF (eNDF, případně peNDF). MERTENS (1997) definoval eNDF jako celkovou účinnost NDF v souvislosti s testem na obsah mléčného tuku a peNDF jako specifickou účinnost NDF stanovující konkrétní velikosti částic důležitých pro přežvykování.

Obecně je tedy efektivní NDF část buněčných stěn, která stimuluje přežvykování, bachorovou motoriku a utilizaci krmiva. Efektivnost je ovlivňována velikostí, tvarem a křehkostí částic krmiva, stupněm lignifikace, hydratací buněčných stěn. (ZEMAN, 2006, ZHAO *et al.*, 2011).

Je doporučeno, aby obsah efektivní vlákniny tvořil 25% sušiny krmné dávky a byl hrazen pící nejméně z 75% (NRC, 1996).

2.5. Stravitelnost krmiva

Stravitelnost krmiva je významným ukazatelem výživové hodnoty krmiva. U vysokoprodukčních dojnic se stává limitujícím faktorem pro dostatečnou tvorbu těkavých mastných kyselin a mikrobiálního proteinu v předžaludku. Stravitelnost (procento krmiva strávené při průchodu zažívacím traktem) se značně liší, v závislosti na druhu látky přijaté zvířetem. Listnaté trávy do stádia metání mohou být stravitelné z 80-90%, zatímco u zralé hmoty, bohaté na stonky, stravitelnost klesá pod 50% (ČERMÁK *et al.*, 2004).

K důležitým faktorům, které ovlivňují stravitelnost, patří antinutriční látky obsažené v krmivu. Příkladem mohou být inhibitory proteasy v sojových bobech, taniny ve fazolích a hrachu, jež snižují stravitelnost hrubého proteinu. U přežvýkavců má na stravitelnost podstatný vliv množství přijatého krmiva. Stravitelnost klesá s rostoucím příjmem krmiva.

Stravitelnost živin je dána i procesem zpracování a ošetření krmiva. Například stravitelnost slámy pro přežvýkavce lze zlepšit pokropením NaOH nebo fumigací NH₃. Důvodem je rozrušení komplexu lignin-hemicelulosa-celulosa a zpřístupnění jeho jednotlivých složek pro mikrobiální enzymy (JEROCH *et al.*, 2006).

Běžně se zjišťuje množství bilančně stravitelné živiny, kdy se od obsahu živiny v krmivu odečítá obsah dané živiny ve výkalech. Jedná se o zdánlivou stravitelnost. Pro zjištění skutečné stravitelnosti živin je třeba od celkového obsahu živin ve výkalech ještě odečíst živiny metabolického původu, které nepocházejí přímo ze zkoumaného krmiva, ale z organismu zvířete; z trávicích šťáv, z odloupaných buněk sliznice (ZEMAN, 2006).

2.5.1. Metoda stanovení stravitelnosti *in vivo*

Základní metodou stanovení stravitelnosti je bilanční pokus na zvířatech. Stravitelnost je vyjádřena úbytkem živin, organické hmoty nebo energie, k němuž dojde během průchodu krmiva trávicím ústrojím zvířete (MUDŘÍK *et al.*, 2006).

Vlastnímu bilančnímu pokusu předchází přípravné období, kde si zvířata navykají na testovanou krmnou dávku. V tomto období z těla odchází také zbytky krmiva dříve zvířatům podávaného. Podle ZEMANA (2006) při vlastním bilančním období pokusu, které trvá nejčastěji 5-10 dní, může být použita klasická nebo indikátorová metoda.

U klasické metody v bilančním období denně zaznamenáváme množství přijatého krmiva, vody, množství vyloučených výkalů a moči. Evidují se i zbytky krmiva. Po celou dobu pokusu jsou zvířata držena v klecích.

Podstatou indikátorové metody je použití přídatku indikátoru ke krmné dávce. Jedná se o nestravitelnou látku, která je přirozenou složkou krmiv (lignin, oxid křemíku) nebo jde o záměrně přidanou látku (oxid chromitý, oxid železitý). Zjistíme-li procentuální obsah indikátoru v krmné dávce a ve výkalech, můžeme vypočítat, kolik výkalů se vytvořilo z hmotnostní jednotky krmiva, jaký je poměr mezi množstvím krmiv spotřebovaných zvířetem a množstvím vyloučených výkalů (ZEMAN, 2006). Výhodou indikátorové metody proti metodě klasické je to, že stačí během pokusné fáze odebírat pouze průměrné vzorky krmiva a výkalů. Zvířata není nutné držet v klecích.

2.5.2. Metoda stanovení stravitelnosti *in sacco*

Metoda *in sacco* (známá také jako metoda *in situ* nebo nylon bag technique) byla poprvé představena Quinem roku 1938. Pro stanovení stravitelnosti krmiv pro přežvýkavce byly použity hedvábné sáčky inkubované se vzorky krmiva v bachoru kanylovaných ovcí. Erwin

a Ellison roku 1959 nahradili hedvábné sáčky nylonovými (VAN DYNE, 1962). Podle metodiky jsou pro zjištění kinetiky úbytku organické hmoty sáčky se vzorky inkubovány v bachoru v pevně daných časech 0, 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, případně 72 a 144 hodin (MEHREZ a ØRSKOV, 1977).

Metodu inkubace vzorků krmiva v bachoru kanylovaných zvířat je možno použít i pro stanovení INDF, části buněčných stěn nevyužitelných při mikrobiálním trávení v bachoru. Doba, po kterou jsou sáčky se vzorky umístěny v bachoru, činí 288 hodin (JANČÍK *et al.*, 2008).

Vlastní stanovení stravitelnosti metodou *in sacco* ovlivňuje několik faktorů. V první řadě je to velikost pórů materiálu, ze kterého jsou sáčky vyrobeny. Velikost pórů musí být dostatečná pro průnik bakterií i protozoí, které enzymaticky krmivo rozkládají. MEYER a MACKIE (1985) doporučují velikost pórů 53 μ m.

Důležitá je i velikost částic testovaného krmiva. V literatuře je doporučováno použít síta s otvory 1,5 až 3 mm pro koncentráty a 1,5 až 5 mm pro píce. Pro běžnou analýzu všech druhů krmiv se používají síta s otvory 2 mm (VANZANT, 1998). Tato hodnota koresponduje s pórovitostí materiálu použitého na výrobu sáčků. Velikost nesmí být malá v porovnání s póry, aby nedocházelo ke ztrátám v důsledku vymývání vzorku (MICHALET-DOREAU a OULD-BAH, 1992).

Optimální je třeba zvolit i velikost navážky vzorku vzhledem k velikosti sáčku. Podle MEHREZE a ØRSKOVA (1977) pro inkubaci 5 gramů suchého krmiva je adekvátní velikost sáčku 17 x 9 cm. VANZANT *et al.* (1998) doporučuje velikost navážky mezi 10 a 20 mg/cm² plochy sáčku.

V neposlední řadě má na stanovení stravitelnosti vliv i krmná dávka kanylovaného zvířete (WEAKLEY *et al.*, 1983).

2.5.3. Predikce stravitelnosti na základě chemických analýz

Chemické metody jsou založeny na korelaci stravitelnosti organické hmoty s určitou složkou krmiva (lignin, vláknina, ADF, NDF). Patří sem i sumativní analýzy, kde se stravitelnost vypočítává z více ukazatelů (MUDŘÍK *et al.*, 2006).

2.5.4. Metody stanovení stravitelnosti *in vitro*

Metody využívající živá zvířata pro určení stravitelnosti jsou kritizována jak s ohledu etického, tak i z pozice welfare zvířat. Stanovení s využitím zvířat jsou finančně a časově nákladná a velmi pracná. Velkou roli zde hraje i efekt variability samotných zvířat. U metody

in sacco je problematická také standartizace podmínek zahrnující velikost pórů sáčků, poměr hmotnosti navážky k povrchu sáčku, diety zvířat, frekvence krmení, mikrobiální trávení (STERN *et al.*, 1997).

Nejrozšířenější metodou stanovení stravitelnosti *in vitro* je metoda TILLEY a TERRY (1963). Jedná se o dvoustupňovou inkubaci vzorků v bachorové tekutině po dobu 48 hodin a následně v roztoku pepsinu a 0,1M HCl.

Metody měření produkce plynu jsou založené na stanovení produktů fermentace (TMK a plyny). Jestliže jsou vzorky krmiva vystaveny účinku pufrované bachorové tekutiny, organická hmota je degradována. Vznikající plyny pochází jednak z pufřů (CO₂), jednak z rozloženého krmiva (TMK, CH₄, NH₃, CO₂). Závislost objemu vznikajících plynů v čase je exponenciální. (BLUMMEL a ØRSKOV, 1993). Podle CHENOSTA (2001) je stravitelnost organické hmoty pro luční seno dobře predikovatelná produkcí plynů po 24 hodinové inkubaci násobené obsahem hrubého proteinu vzorku.

Enzymatická metoda stanovení stravitelnosti krmiv napodobuje bachorovou degradaci za použití celulasy produkované houbami jako jsou *Trichoderma viride* a *Aspergillus niger*. Komerčně produkované enzymy jsou dodávány ve vysoké čistotě a jejich výhodou je i nižší časová náročnost degradace než při použití bachorové tekutiny (BARCHIESI-FERRARI *et al.*, 2011). Podstatou této dvoustupňové metody je 24 hodinová inkubace vzorků s roztokem pepsinu v kyselině chlorovodíkové při teplotě 39°C. Pepsin odstraní bílkoviny z buněčného obalu a zpřístupní tak polysacharidy pro následnou enzymatickou destrukci. V druhé fázi jsou vzorky následně inkubovány s enzymem celulasou v acetátovém pufru 24 hodin při 39°C (FOREJTOVÁ *et al.*, 2005).

Pro zjednodušení stanovení stravitelnosti organické hmoty byla vyvinuta nová ANKOM metoda (ANKOM Technology, Macedon, New York, USA). Vlastní stanovení probíhá v Daisy^{II} inkubátoru. Toto zařízení umožňuje stanovovat až 100 vzorků najednou. Místo nylonových sáčků, jak je tomu u metody *in sacco*, jsou vzorky krmiva navažovány do filtračních sáčků. Zatavené sáčky jsou vloženy do uzavíratelných kontejnerů, ve kterých za konstantních podmínek probíhá inkubace (DAMIRAN *et al.*, 2002). Sáčky používané při této metodě jsou menší než sáčky vkládané do kanylovaných zvířat v pokusech *in sacco*. Mají i jinou texturu a pórovitost Podle ADESOGANA (2004), který testoval několik druhů sáčků použitých při této metodě, je nejlepší korelace s metodou *in sacco*, použití polyester/polyetylenových sáčků ANKOM F57 o rozměru 4,5 x 4 mm a velikosti pórů 25µm.

2.5.5. Metoda stanovení stravitelnosti prostřednictvím NIRS

Metoda reflexní spektroskopie v blízké infračervené oblasti se v poslední době stává velmi používanou díky své rychlosti a přesnosti stanovení chemických složek v cereáliích a pícech. Jedná se o alternativní měřicí techniku predikce nutriční hodnoty krmiv.

Podstatou techniky je registrace změn energetického stavu vibračních a rotačních pohybů molekul po absorpci elektromagnetického záření. Podle povahy molekul přítomných v analyzovaném vzorku se řídí odezva detektoru infračerveného spektrometru a z charakteru získaného spektra se zpětně určí složení analyzovaného materiálu (MUDŘÍK *et al.*, 2006).

Pro stanovení složení vzorků ze spektra musí být nejprve vytvořena kalibrace. Pro srovnání je třeba použít klasické chemické analýzy. Při chemických rozborech je u vzorků zohledněno také datum sklizně, místo sklizně, odrůda a fáze růstu. Spektra a získané laboratorní referenční údaje jsou k sobě přiřazeny, matematicky a statisticky zpracovány (STUTH *et al.*, 2003).

MARTEN *et al.* (1983) touto metodou stanovil obsah hrubé vlákniny (CP), neutrálně detergentní vlákninu (NDF), acidodetergentní vlákninu (ADF), acidodetergentní lignin (ADL) a stravitelnost organické hmoty čtyř obilovin v různých fázích růstu.

KAYS *et al.* (2000) použil metodu NIRS pro stanovení obsahu dusíkatých látek v cereáliích.

2.6. Krmná aditiva

Krmná aditiva jsou skupinou krmných přísad, jejichž hlavní význam nespočívá v obsahu živin, ale v jejich účinku na biochemické procesy, růst, produkci, zdraví zvířat. Některá mohou obsahovat živiny, jako je uhličitán a hydrogenuhličitán sodný, aminokyseliny, protein aj. Krmná aditiva nejsou podmínkou ani garancí vysoké produkce.

Krmná aditiva obecně zvyšují produktivitu, výkonnost a zlepšují zdravotní stav hospodářských zvířat. Prvotním efektem je zvýšení využitelnosti krmiva, s čímž souvisí i zvýšení denního přírůstku, případně denní produkce mléka. Některá krmná aditiva snižují výskyt zdravotních potíží jako je nadýmání, acidózy, kokcidiózy. Další potlačují estrus, snižují abscesy na játrech, působí proti parazitům (HUTJENS, 1991).

OPLETAL (2004) funkce krmných aditiv, jako doplňkových látek se specifickými účinky, obecně shrnul do několika bodů:

1. Nutriční – jsou zdrojem živin a energie (aminokyseliny, mastné kyseliny)
2. Katalytické (biokatalyzátory)

3. Regulační (hormonální látky a probiotika)
4. Stimulační a podpůrné (antimikrobiální)
5. Prevenční a léčebné (ochranné látky)
6. Konzervační (zvyšují uchovatelnost krmiv)
7. Technické (ovlivňují vlastnosti krmiva)
8. Doplnkové (ovlivňují kvalitu produkce)

Protože krmná aditiva jsou složkou krmné dávky pro hospodářská zvířata, čímž se dostávají do potravinového řetězce, je ve světě věnována velká pozornost zjišťování a následně i zajišťování jejich toxikologické nezávadnosti. Ve vyspělých zemích jsou speciálními úřady pro výživu vydávána nařízení a opatření o používání krmných aditiv s cílem zamezit ohrožení zdraví lidí, zvířat, ale i ohrožení životního prostředí.

V USA vznikl Federální úřad pro potraviny a léčiva (Food and Drug Administration). Do kompetencí FDA spadá kromě posuzování a schvalování potravin a léčiv i resort krmiv, a tím i oblast aditivních látek. V Evropě byla Radou evropských společenství roku 1970 vydána první směrnice (70/524/EHS) o doplňkových látkách v krmivech. Rada Evropské unie vydala řadu směrnic týkajících se aditivních látek. Součástí je také seznam aditiv povolených v oblasti výživy zvířat- Anex I a Anex II.

Hospodaření doplňkovými látkami v ČR upravuje Zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších změn a doplňků a Vyhláška Ministerstva Zemědělství ČR 356/2008 Sb., kterou se provádí zákon o krmivech. Tento zákon upravuje výrobu, dovoz, používání, balení, označování, dopravu a uvádění do oběhu krmiv, doplňkových látek a premixů.

2.6.1. Krmná aditiva pro skot

HUTJENS (1991) zhodnotil dopad krmných aditiv použitých ve výživě skotu takto:

1. Zvýšení mléčné produkce a obsahu mléčných komponentů (bílkovina, tuk)
2. Zvýšení příjmu sušiny
3. Stabilizace bachorového pH a ekosystému
4. Stimulace bachorové mikrobiální syntézy
5. Zvýšení pasáže nebo množství živin z bachoru
6. Zlepšení trávení vlákniny v bachoru
7. Zvýšení přírůstků a zefektivnění konverze krmiva
8. Redukce tepelných stresových faktorů
9. Zlepšení zdravotního stavu zvířat

FRYDRYCH (2008) krmná aditiva pro přežvýkavce rozděluje na látky působící v intermediárním metabolismu hostitele a látky ovlivňující fermentační procesy v bachoru.

2.6.1.1. Látky působící v intermediárním metabolismu

Vitamíny

Tato skupina obsahuje nejen vitamíny, ale také provitamíny a podobně působící látky. Z biochemického hlediska se jedná o součásti enzymů a koenzymů. Mezi významné patří β -karoten, niacin, biotin, B-komplex, chráněný cholin a karnitin.

Řada z nich působí jako antioxidanty. ATYABY (2012) potvrdil ve své studii pozitivní působení vitamínů E a C při ochraně červených krvinek před methemoglobinémií.

Minerální látky

Jak již bylo napsáno v kapitole o popelovinách, jsou minerální látky ve výživě nezastupitelné. Kromě své stavební funkce se mnoho stopových prvků uplatňuje při biochemických přeměnách. Jsou přirozeně obsaženy v krmivech, ale pro celkovou potřebu zvířat musí být do výživy doplňovány formou aditiv.

Přidávky řady minerálů, Zn, Cu, Mn, Se pomáhají posilovat antioxidační systém redukující volné radikály, čímž se snižuje riziko oxidačního poškození tělních buněk, zvláště pak bílých krvinek (ASHRY *et al.*, 2012).

Minerály se aplikují jak v anorganické formě jako oxidy, soli nebo v organické formě, kdy je daný stopový prvek vázán na bílkovinu, peptid či aminokyselinu. (HASSAN *et al.*, 2011).

Nedostatečný příjem makro i mikroprvků hrozí při extenzivním chovu dojníc v důsledku různorodosti pastevního porostu. Například obsah vápníku v pastevním porostu pokrývá potřeby jalovic o živé hmotnosti 400 kg jen z poloviny. Vhodným doplňkem minerálních látek jsou různé minerální lizy (NEUMANN, 2003).

Aminokyseliny

Ve výživě zvířat jsou důležité esenciální aminokyseliny, tedy ty, které organismus není schopen sám syntetizovat. Pro skot jsou to threonin, methionin, lysin, valin, leucin, isoleucin, histidin, fenylalanin, tryptofan. Jsou získávány z bílkovin potravy v bachoru nedegradovatelných nebo z mikrobiálního proteinu (LAPPIERE *et al.*, 2006).

Pro dojnice jsou nejvíce limitující aminokyseliny lysin a methionin. Potenciální deficit lysinu je pochopitelný vzhledem k jeho velké potřebě pro bílkovinu mléka hlavně u zvířat

krmených dietou na bázi kukuřice, která je na tuto aminokyselinu chudá. Methionin je významným donorem metylové skupiny při biosyntézách lipidů, též při tvorbě mléčného tuku (ROBINSON *et al.*, 1998).

Pro zajištění *by pass* efektu, úniku před bachorovou degradací a zajištění využití aminokyselin v tenkém střevě hostitele, je třeba provést ošetření těchto doplňkových látek chemickou nebo fyzikální cestou. V praxi mohou být použity chemické deriváty aminokyselin (např. hydroxyanalogy methioninu), cheláty aminokyselin a zinku. U metody enkapsulace je aminokyselina chráněna vrstvičkou tuku. Pro enkapsulaci methioninu a lysinu našly uplatnění polymery citlivé na pH. Výsledný polymer je odolný při bachorovém pH. Ve slezu, kde je nižší pH, je komplex již nestabilní (CHOW *et al.*, 1990).

Glukogenní látky

Do této skupiny patří propylenglykol a glycerol a soli kyseliny propionové. Jejich úlohou je zvýšit hladinu glukózy v krvi.

Prospěšné se jeví použití těchto látek zejména v prvních týdnech laktace, kdy dojnice nemá potřebné množství energie z potravy a nachází se z výživářského hlediska ve stádiu negativní energetické bilance. V tomto období může hrozit nebezpečí vzniku ketóz. Glukogenní látky omezují mobilizaci tuku ze zásobní tkáně a tím výskyt ketózy snižují (FRYDRYCH, 2008).

Glukogenní účinek propylenglykolu je dvojitý. Tato látka může být v bachoru metabolizována na kyselinu mléčnou a propionovou, které jsou pak v játrech použity pro tvorbu glukózy nebo glykogenu. Propylenglykol uniklý bachorové fermentaci prostupuje přímo přes bachorovou stěnu a je transportován do jater (TOGHODORY, 2009).

Kromě omezení ketóz tato aditiva mají i pozitivní vliv na reprodukci, upravují hormonální profil dojnic (FRYDRYCH, 2008).

Aniontové doplňky

Cílem užití aniontových doplňků je vhodně vybalancovat krmnou dávku z hlediska koncentrace kationtů a aniontů.

V mnoha studiích byly vyčísleny rovnice rozdílu kationtů a aniontů DCAD (dietary cation-anion difference). Tyto rovnice řeší minerální rovnováhu přijatého krmiva. Díky nim lze snížit riziko chorob, jako je mléčná horečka, vytvořením převahy aniontů nad kationty a vyvoláním tak mírné acidózy, při které dojnice lépe využijí vápník z krmné dávky. (CHARBONNEAU *et al.*, 2006).

Jako zdroj aniontů slouží soli kyseliny chlorovodíkové a kyseliny sírové - chlorid amonný (NH_4Cl), chlorid vápenatý ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$), chlorid hořečnatý ($\text{Mg Cl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$), síran amonný ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), síran vápenatý ($\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$), síran hořečnatý ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) a také samotná kyselina chlorovodíková na vhodném nosiči (FRYDRYCH, 2005).

2.6.1.2. Látky ovlivňující fermentaci v bacheru

Pufry

Účelem použití pufrvacích látek je zvýšit pH v bacheru a předcházet tak vzniku acidóz. Pufrující látky se do bacheru dostávají prostřednictvím slin. U krav a dojníc je to 108-308 litrů slin denně, což odpovídá dennímu množství 390-1115g Na_2HPO_4 a 1134-3234g NaHCO_3 (ERDMAN, 1988).

Není-li přívod pufrujících látek slinami adekvátní, je třeba výživu doplnit o vhodná aditiva. V praxi je to nejčastěji NaHCO_3 , MgO , KHCO_3 nebo K_2CO_3 . Schopnost vázat kyseliny produkované v bacheru mají i další látky jako krmný vápenec nebo bentonit. Optimální denní dávka nejučinnějšího NaHCO_3 se u dojníc pohybuje okolo 200-250g (KUDRNA *et al.*, 1998).

Mikrobiální přípravky (probiotika)

V literatuře se objevují dva možné pojmy zahrnující mikrobiální přípravky. FULLER (1989) definoval pojem probiotika jako živý mikrobiální potravinový doplněk, který příznivě působí na hostitelské zvíře a zlepšuje rovnováhu u jeho trávicí mikroflóry.

Pro tyto přípravky je někdy také používána zkratka FDA - Direct Fed Microbials (přímo zkrmované mikrobiální látky). Zahrnuje různé druhy bakterií a hub (kvasinky a plísně). Pro přežvýkavce se mikrobiální kultury začaly používat z důvodu nahrazení antibiotik s cílem zvýšení dojivosti, denního přírůstku nebo zlepšení využití krmiva (KREHBIEL *et al.*, 2003).

Velmi významně se probiotické kultury uplatňují ve výživě telat. Při narození je gastrointestinální trakt mláďat sterilní. Mikroorganismy osídlující trávicí trakt se do těla dostávají během porodu z okolního prostředí, z výkalů, z vagíny. Přídavek probiotik umožňuje zabránit účinkům nežádoucí mikroflóry a zlepšit mikrobiální intestinální rovnováhu. Významnými probiotiky mohou být laktobacily, které se díky své odolnosti vůči kyselému prostředí, ale i žluči, dostávají až do střev. Zde díky produkci kyseliny mléčné dojde ke snížení pH do oblasti nevhodné pro rozvoj patogenů. Laktobacily se tak podílejí v boji proti vzniku průjemových onemocnění (EWASCHUK *et al.*, 2004).

V praxi byl ověřován účinek i jiných bakterií, např. bakterií rodu *Bacillus*. RIDDEL *et al.* (2010) použil jako probiotikum do mléčného startéru pro telata mikroorganismy druhu *B. subtilis* a *B. lichenformis*. Pozitivní účinek na růst ani zdravotní stav nebyl prokázán.

Naproti tomu je patentováno například podávání bakterií *Bacillus cereus*, který má schopnost upravovat anomálie bachorového kvašení vyvolávajících v bachoru nadýmání a hnilobné procesy (NGUYEN a BRONGNIART, 1995).

V oblasti výživy přežvýkavců byl v praxi ověřován účinek droždí jako možného aditiva. Dietární přídavek kvasinkových kultur zvyšuje přírůstky tělesné hmotnosti a zefektivňuje využití krmiva. Přídavek kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* zvyšuje stravitelnost organické hmoty, zvyšuje množství bachorových bakterií a množství proteinů vstupujících do duodena. Z bachorových bakterií narůstá počet celulólytických a laktát využívajících bakterií, což je velmi významné z hlediska prevence acidóz u zvířat krmených vysokoenergetickou dietou (HADDAD a GOUSSOUS, 2005, DOLEŽAL *et al.*, 2010).

Ionoforová antibiotika

Ionofory jsou organické látky, které usnadňují transport iontů přes buněčné stěny. Výsledkem je snížení gram-pozitivní bakteriální populace a posílení gram-negativních bakterií. V důsledku toho se v bachoru snižuje produkce acetátu, laktátu a metanu (MAYERS, 2010).

Příkladem ionoforového antibiotika, používaného ve výživě skotu, je monensin (Rumensin), antibiotikum s kokcidistatickými účinky. Jedná se o látku produkovanou houbou *Streptomyces cinnamonensis*. Monensin se uplatňuje působením na bachorovou populaci, v důsledku čehož dochází ke změnám koncentrací jednotlivých TMK. Zvyšuje se koncentrace propionátu, což vede k vyšším energetickým ziskům ve formě glukózy. Při zkrmování monensinu tak dochází ke snížení množství ketogenních mastných kyselin, a tím i ke snížení rizik ketóz (MOHAMMADI *et al.*, 2011).

Použití klasických antibiotických stimulátorů růstu je v mnoha zemích zakázáno. Při jejich používání může dojít až ke vzniku rezistence bakterií vůči antibiotikům, která může být předávána i dalším generacím. Odolnost se projevuje nejen k antibiotikům používaných ve veterinární medicíně, ale také i v oblasti humánní. Byla prokázána schopnost živých bakterií přenášet fragmenty DNA ovlivňující rezistenci z jednoho druhu na druhý. Dalším aspektem je možnost výskytu reziduí i v živočišných produktech, čímž mohou být vyvolány alergické reakce (WILLIAMS, 2002).

Enzymy

Enzymy zvyšují stravitelnost krmiv. Jako aditiva jsou používány enzymy štěpící sacharidy, lipidy, proteiny, které se přirozeně vyskytují v trávicím traktu zvířat, nejčastěji izolované z pankreatu. V praxi používané enzymy se získávají i z rostlinných zdrojů, jako je ananas a papaja. Oba tyto doplňky se využívají hlavně na podporu stravitelnosti proteinů. Exogenní enzymy v preparátech mohou být také fungálního (*Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus niger* *Aspergillus oryzae*) nebo bakteriálního původu; druhy rodu *Bacillus* (ROXAS, 2008).

Přídavek preparátů s volnými a nechráněnými enzymy pro zlepšení bachorového trávení nemají přílišný význam. Tyto enzymy, protože se jedná o bílkovinu, jsou v bachoru rychle degradovány mikroorganismy bez jakéhokoliv vlastního trávicího efektu. Pouze u mláďat přežvýkavců, kde ještě není dostatečně vyvinuta bachorová mikroflóra, mohou být tyto nechráněné formy enzymů užitečné (KUNG, 2013).

Fytogenní látky

Fytogenní krmná aditiva se začala používat v období omezování aplikace antibiotických stimulátorů růstu, které vyústilo v úplný zákaz jejich používání od 1. 1. 2006.

Účinek fytogenních látek pozitivně ovlivňuje řadu oblastí výživy; zlepšuje využití krmiv, snižuje emise čpavku, metanu, zvyšuje užitkovost. Řada fytogenních látek působí v oblasti sensoriky jako sladidla nebo zchutňovadla, čímž stimulují příjem krmiva.

Po chemické stránce jsou účinnými látkami těchto aditiv éterické oleje (silice), saponiny, taniny.

PATRA (2011) shrnuje vliv esenciálních olejů na bachorovou fermentaci a produkci přežvýkavců. Esenciální oleje jsou díky svým baktericidním účinkům schopny snížit metanogenezi a dále deaminační procesy v bachoru. Vliv na produkci TMK je velmi malá. Také produkce mléka a jednotlivé komponenty nebyly příliš ovlivněny přídavkem těchto aditiv. Pozitivní vliv esenciálních olejů se týká zvýšení obsahu konjugovaných mastných kyselin v mléce a mase přežvýkavců.

Zdrojem účinných saponinů jsou extrakty z rostliny *Yucca shidigera* a *Quillaja saponaria*. Extrakty z Yuccy inhibují činnost ureázy, čímž je redukována produkce amoniaku ve střevech, a tím se snižuje jeho obsah v exkrementech i stájovém ovzduší. Saponidy z Quillaji, rostliny pěstované v Chile, stimulují imunitní systém a zvyšují rezistenci k řadě chorob, díky vlivu na permeabilitu membrán pro makromolekuly (CHEEKE, 2001). HOLTSHAUSEN *et al.* (2009) potvrzuje snížení produkce stájových plynů při aplikaci saponinů z těchto dvou

rostlin, ale až při vysokých dávkách do krmiva, čímž se daná aditiva stávají neefektivní. Také vliv na zvýšení produkce mléka není rentabilní.

2.7. *Ascophyllum nodosum*

Ascophyllum nodosum je hnědá mořská řasa, která se těží v pobřežních vodách Kanady, dále pak v okolí Islandu a plážích severního Skotska. Ve výživě lidí je její hlavní využití v podobě potravinového doplňku zlepšujícího zdravotní stav lidí. Preparáty na bázi této řasy se používají v řadě odvětví humánní medicíny při léčení karcinomů a pro posílení imunity (AISA *et al.*, 2005, RODINOVÁ *et al.*, 2006).

V potravinářském průmyslu a kulinářství se využívá želírujících schopností alginátů. Jako součást polévek, omáček a desertů plní funkci zahušťovadel a stabilizátorů (HANSILAWAT *et al.*, 2006, PÍSEK *et al.*, 2006).

Extrakty řasy našly uplatnění i v oblasti kosmetiky díky vysokému obsahu vitamínů a antioxidantů. Pro svou abrazivní schopnost jsou součástí krémů s peelingovým efektem (MESNILDREY *et al.*, 2012).

V řase *Ascophyllum nodosum* se nachází řada bioaktivních látek jako je manitol, účinné osmotické diuretikum, zásobní polysacharid laminarin s antimikrobiální a protinádorovým účinkem (PANG *et al.*, 2005). Strukturální polysacharidy fukoidany, obsahující až 52,1% fukosy, mají antikoagulační, antitrombotické, antikarcinogenní účinky. Mohou být také využívány jako antivirotika (KIM *et al.*, 2009). Řada vědců ve svých pracích potvrdila jejich význam při snížení karcinomů, zejména karcinomů tlustého střeva. Fukoidany mají pozitivní vliv i na posílení imunity, chrání bílé krvinky (FITTON, 2011, FOLEY *et al.*, 2011).

Extrakty hnědé mořské řasy jsou významným zdrojem cytokininů. Tyto fytohormony, deriváty adeninu, stimulují růst a dělení buněk a zároveň zpomalují stárnutí rostlinných pletiv. (MAC ARTAIN *et al.*, 2007, DAS *et al.*, 2012). Cytokininy obsažené v alginátech se významně mohou podílet na regulaci gastrointestinální mikroflóry.

Z hlediska imunostimulačního účinku preparátů vyrobených z mořské řasy má prvořadý význam kyselina alginová. Tento řetězově vázaný polyuronid složený z kyseliny D-manuronové a L-glukuronové se řadí mezi látky zvyšující zásobení imunokompetentních buněk kyslíkem (RODINOVÁ *et al.*, 2006). Imunomodulační efekt je specificky vázán zejména na lymfocyty. Vyšší přísun kyslíku k buňkám se uplatňuje na jejich rychlejším buněčném růstu a na reprodukci. Více lymfocytů T a B znamená vyšší tvorbu protilátek a celkové posílení imunitních reakcí (PÍSEK *et al.*, 2006).

Mořské řasy jsou bohatým zdrojem makro i mikroelementů. Vysoký je zejména obsah vápníku a jódu, z vitamínů zejména vitamín A, B, C a E. Z výživového hlediska je nezanedbatelný i obsah polynenasycených mastných kyselin ω -3 a ω -6 (MAC ARTAIN *et al.*, 2007).

Jeden z hlavních znaků hnědých mořských řas je jejich antioxidační účinek. V těle lidí i zvířat existuje rovnováha mezi radikály kyslíku, vznikajícími v důsledku stresu nebo nemocí, a antioxidanty. Pokud je tato rovnováha narušena ve prospěch volných radikálů, vzniká v těle oxidační stres. Kyslíkové radikály mohou v těle napadat buňky a usmrcovat je. Mezi velmi silné antioxidanty vyskytující se v hnědých mořských řasách náleží florotaniny. Podobně jako fukoidany i tyto látky se hojně využívají ve farmaceutickém průmyslu jako antivirotika, složky protizánětlivých mastí, léků proti cukrovce, nádorovým onemocněním, rakovině (WANG *et al.*, 2008, EOM *et al.*, 2012). Z ostatních antioxidantů, které *Ascophyllum nodosum* obsahuje, mají význam kyselina askorbová, tokoferoly, karotenoidy. V řasách je obsažen i antioxidační enzym superoxiddismutasa (ZHANG a SCHMIDT, 1999). Tento enzym se podílí na ochraně organismu před jeho oxidačním poškozením. Zabraňuje akumulaci superoxidových radikálů a katalyzuje jejich přeměnu na peroxid vodíku a kyslík (BŘEZINOVÁ-BELCREDI *et al.*, 2010).

2.7.1. Tasco

V Kanadě je extrakt hnědé mořské řasy rodu *Ascophyllum nodosum* získáván alkalickou hydrolyzou. Jako aditivum určené pro výživu zvířat je distribuován pod označením Tasco (ALLEN *et al.*, 2001). Tento přípravek je dodáván jako sušená mořská řasa (minimální sušina 75%) pod názvem Tasco-Meal, případně se jedná o extrakt z řas označovaný jako Tasco-Ex.

Tasco-Meal obsahuje minimálně 10,5% dusíkatých látek. Je určen pro výživu pasoucích se přežvýkavců. Dávkování je 0,75 oz na jedince, což v přepočtu odpovídá 21g. Odezvou na zařazení tohoto aditiva do krmné dávky je zlepšení užitkovosti a snížení zdravotních rizik zvířat spojených se spásáním porostů krmné kultury napadené endofytními houbami. Použití tohoto preparátu se vyznačuje i následným zvýšením váhových přírůstků, zlepšením bачorového trávení vlákniny, snížení tělesné teploty zvířat po požití toxických trav. Ve výživě vysokobřezích krav, v době 30 dnů před předpokládaným otelením, snižuje riziko zadržení placenty (ALLEN *et al.*, 2001).

Extrakt vyrobený z řasy *Ascophyllum nodosum* je označován jako Tasco Forage, pokud je určený jako postřik na pastevní porost a Tasco-Ex, který slouží přímo jako krmné aditivum pro hospodářská zvířata (TAVASOLI *et al.*, 2009).

Řada prací potvrzuje pozitivní efekty používání přípravku Tasco ve výživě zvířat. Jedná se zejména o konverzi krmiva, zvýšení užítkovosti a posílení imunitního systému.

Preparát z řasy *Ascophyllum nodosum*, označený jako Tasco-14, byl ověřován jako doplněk ve výživě přežvýkavců. BRADEN *et al.* (2004) potvrdil snížení množství patogenních kmenů *Escherichia coli* ve výkalech ovcí a jalovic až o 36% při přidavku tohoto preparátu v množství 2% přijaté sušiny. Kromě těchto patogenů došlo i k potlačení salmonel.

U vykrmovaného skotu a ovcí při použití stejného množství tohoto výživového doplňku došlo ke zlepšení ukazatelů kvality masa poražených zvířat (ANDERSON *et al.*, 2006).

V USA je přípravek Tasco aplikován na porosty kostřavy, kde snižuje napadení mikroskopickými houbami *Neotyphodium coenophialum*, produkující alkaloidy, které u pasených zvířat mohou způsobovat toxikózy. Po postřiku porostu se nejen posiluje imunitní systém pasených ovcí a skotu, ale pozitivní efekt se projevuje i na kvalitě masa poražených kusů. Zlepšuje se mramorování masa, ale i údržnost jatečně opracovaných těl (FIKE *et al.*, 2001).

Přídavek Tasco-14 podávaný v napájecí vodě snížil výskyt respiračních onemocnění a úmrtnost transportovaných jalovic způsobených bakterií *Pasturella haemolytica* (ALLEN *et al.* 2001).

Aditivum Tasco bylo zkoušeno i v oblasti ovlivnění teplotního stresu dojníc. Krátkodobé použití tohoto přípravku redukovalo teplotu povrchu těla zvířat při zvyšující se teplotě okolí (POMPEU *et al.*, 2011). Podle KELLOGGA (2006) preparát Tasco snižuje teplotní stres dojníc v letních měsících, ale pouze u zvířat většího tělesného rámce.

Přípravek Tasco byl testován i jako aditivum ve výživě monogastrů. Jeho aplikace ve výživě prasat znamenala zlepšení reprodukce, snížení respiračních onemocnění. Zvýšily se denní přírůstky a příjem krmiva selat. (ALLEN *et al.* 2001, MICHIELS *et al.*, 2012).

Existují ale práce, které pozitivní účinky preparátů z řasy *Ascophyllum nodosum* nepotvrzují. CARTER *et al.* (2000) testoval přípravek Tasco a jeho vliv na imunitu. U pokusné skupiny, která dostávala přípravek, nebylo prokázáno zlepšení imunitních funkcí. Nezvyšil se ani denní přírůstek pokusných zvířat. TURNER *et al.* (2002) ověřoval účinky extraktu z *Ascophyllum nodosum* na posílení imunitního systému a ochraně proti *Salmonella typhimurium* u mladých prasat. Potvrzen byl pouze stimulační účinek na růst selat.

2.7.2. Elo Macro

Přípravek Elo Macro je preparát vyráběný z hnědé mořské řasy *Ascophyllum nodosum*. Na trh je dodáván německou firmou Sabine Maurer GmbH jako přípravek podporující imunitu (PÍSEK *et al.*, 2006).

Imunostimulační účinek preparátu Elo Macro byl sledován u člověka, ryb, drůbeže, skotu, prasat, psů a koní. U lidí došlo v průběhu aplikace přípravku k posílení blastické transformace lymfocytů. U ryb se snížila jejich mortalita a zvýšila odolnost proti pasterelóze. U drůbeže po podávání přípravku bylo zaznamenáno zvýšení protilátek proti Gumboro chorobě. U dojeného skotu zařazením preparátu Elo Dairy významně poklesl počet somatických buněk v mléce a snížil se počet zvířat postižených zánětem mléčné žlázy o více než 20%. Zařazením přípravku na bázi hnědé mořské řasy do výživy prasat došlo až k šestinásobnému zvýšení titru protilátek proti parvoviróze a aujeszkého chorobě. U psů postižených záněty kloubů znamenala aplikace přípravku Elo Bono významné zlepšení zdravotního stavu postižených zvířat. Obdobné výsledky byly dosaženy i při zánětlivých onemocněních koní přijímajících preparát Elo Hors. (RODINOVÁ, et al., 2006, KONEČNÝ *et al.*, 2011)

2.7.3. Biopolym

Biopolym je hydrolyzát hnědé mořské řasy *Ascophyllum nodosum*. Spolu s přípravkem Bio-Algeen je jedním z nejrozšířenějších bioalginátových stimulačních produktů vyráběných firmou Schulze & Hermsen GmbH. Je vhodný jako aditivum do krmení či napájecí vody zvířat. Působí pozitivně na rozvoj gastrointestinální mikroflóry, zefektivňuje trávení a zrychluje vstřebávání živin do krevního řečiště. Sekundárně zlepšuje i zdravotní stav zvířat. Zatím nejvýznamnější rolí je desodorace a parciální detoxikace prostředí. Uronové kyseliny v tomto alginátu obsažené mají díky své vysoké iontovýměnné kapacitě schopnost absorbovat nejen těžké kovy, ale i toxické plynné katabolity, jmenovitě amoniak a sirovodík (VOSTOUPAL *et al.*, 2006a). Použití Biopolmu v praxi je v souladu s požadavky směrnice Rady EU 96/61/ES o integrované prevenci a omezení znečištění (IPPC) spojené s uplatňováním nejlepší dostupné techniky (GJUROV, 2005).

Biopolym nachází uplatnění zejména tam, kde je třeba podpořit pozitivní činnost mikroorganismů. Například v odpadním hospodářství se uplatňuje při ošetření kejdy. Postřikem přípravku dochází nejen k postupnému rozrušení sedimentů a povrchové krusty kejdy, ale je též podporována mnohočetná mikrobiální fermentace. Kejda je tak samovolně promíchávána, čímž se zlepšuje její čerpatelnost a snižují se náklady na transport. Podporou rozvoje saprofytické mikroflóry je fermentace ukončena již za 53-54 dny (VOSTOUPAL *et al.*, 2007b). Aplikací přípravku se zvyšuje také hnojivová hodnota kejdy. Rozvojem mikroflóry nedochází ke ztrátám dusíkatých látek ve formě amoniaku. S takto ošetřenou kejdou se do půdy dostává i vyšší množství uronových kyselin, díky nimž se zde vytváří větší humusová centra (VOSTOUPAL *et al.*, 2007b). Při výrobě kompostů po aplikaci přípravku

Bio-Algeen G40 do kompostovaného materiálu byly sníženy emise čpavku o 72% proti kontrolní skupině. Také emise ostatních plynů (metan, CO₂, H₂S) se snížily (ALTMANN, 2008).

V pěstitelské oblasti ošetřením rostlin přípravkem Biopolym FZT se zlepšuje jejich růst a posiluje se i jejich kořenový systém (JELÍNEK *et al.*, 2004, VOSTOUPAL *et al.*, 2007a).

V této oblasti výzkumu již byly úspěšně testovány i další produkty alginátové řady vyráběné firmou Schulze & Hermsen GmbH. Přípravek Bio-Algeen G40 se osvědčil jako stimulant růstu sazenic. BULÍŘ (2005) potvrdil pozitivní vliv přípravku na růst a vitalitu sazenic jasanu v zátěžových podmínkách skládek. MIKICIUK a DOBROMILSKA (2014) ošetřili sazenice malých odrůd rajčat postřikem Bio-Algeen S-90 (0,5% roztok). U pokusné skupiny došlo k nárůstu obsahu chlorofylu a karotenoidů v listech. Dospělé rostliny měly delší hrozny s větším počtem plodů.

V bioplynových stanicích podporuje přípravek Bioolym FZT nárůst metanogenních bakterií. Tím dochází k nárůstu produkce bioplynu (GJUROV *et al.*, 2008). Přípravek Bio-Algeen WKL, od stejné firmy, byl použit jako stimulační činidlo procesu anaerobní digesce ve fermentorech bioplynových stanic již dříve. Stimulace růstu a produkce metanogenních bakterií znamenala snížení dávek vstupní suroviny (kukuřičné siláže) za současného zvýšení produkce bioplynu, a tím i výkonu celé elektrárny (VEVERKA *et al.*, 2011).

Zařazení přípravku Biopolym FZT do výživy hospodářských zvířat bylo testováno i z hlediska možného ovlivnění koncentrace skleníkových plynů vznikajících metabolickými procesy zvířat ve stájích či halách. Tento hydrolyzát hnědé řasy byl dávkován do krmiva brojlerů. Emise čpavku v ovzduší se u pokusné skupiny snížila HÖRNIG a BRUNSCH, (2002). Snížení emisí čpavku v halách vykrmovaných brojlerů a stájích vykrmovaných prasat až o 40-60% znamená mimo jiné i podstatné snížení nákladů na větrání, ale i samotnou veterinární péči (GJUROV *et al.*, 2007, JELÍNEK *et al.*, 2007).

Ovlivnění množství a kvality mléka zařazením přípravku Biopolym do výživy přežvýkavců bylo ověřováno v několika farmách v Čechách. K nejvyššímu zvýšení denního nádoje mléka došlo u krav na první laktaci. Došlo také k nárůstu procentuálního obsahu tuku. Naopak množství bílkoviny v mléce se mírně snížilo (ČERMÁK *et al.*, 2011, HNISOVÁ *et al.*, 2011).

Přípravek Biopolym může být aplikován do napájecí vody nebo do krmiva. Do napájecí vody se dávkuje Biopolym FZT membránovým čerpadlem v ředění 1:1500 až 1:2500. Jedná se o tmavě hnědou tekutinu s pachem mořských plodů o pH 12. Do vlhkého krmení prasat se

dávkuje Biopolym FZL v množství 1,5-2 litry/1tunu suchého krmiva. Do suchého krmení je určen Biopolym granulát. Jeho účinky jsou stejné jako u obou předchozích forem. Pouze finalizace produktu je jiná, jedná se o granule o průměru 1-2mm. Jeho dávkování je 0,6-1kg/1 tunu suchého krmiva (GJUROV, 2005, VOSTOUPAL *et al.*, 2006a).

3. CÍL PRÁCE

Cílem disertační práce bylo v laboratorních podmínkách, dále pak za využití kanylovaných zvířat, ověřit možnost zařazení přípravku Biopolym FZT do výživy skotu, jako možné aditivní látky. Po chemické stránce je Biopolym FZT hydrolyzát hnědé mořské řasy *Ascophyllum nodosum*. Ve svém chemickém složení obsahuje řadu fyziologicky významných látek a mohl by pozitivně ovlivnit rozkladné procesy trávení probíhající v bacheru.

V první části byl testován vliv přípravku na stravitelnost sušiny a NDF pro jednotlivá výrobce doporučená ředění a na základě optimálního výsledku byla navržena denní dávka pro pokusná zvířata použitá v následných stájových pokusech. Pro laboratorní stanovení stravitelností byly použity vzorky pastevních porostů z katedrou sledovaných lokalit.

V druhé části práce byly ověřovány změny parametrů bacherové tekutiny kanylovaných zvířat v důsledku zařazení testovaného preparátu. Porovnán byl i obsah dusíkatých látek ve výkalech.

Ve třetí části práce byl ověřován vliv přípravku na bacherovou degradovatelnost vzorků pastevních porostů.

V jednotlivých částech byly stanoveny tyto charakteristiky:

1. Určení optimálního ředění a dávkování přípravku Biopolym FZT metodou *in vitro*
 - IVDMD
 - IVNDFD
2. Ověření vlivu přípravku Biopolym FZT na degradaci živin v bacheru a dusíkatých látek ve výkalech
 - pH
 - množství protozoí v 1ml bacherové tekutiny
 - koncentrace TMK v bacherové tekutině
 - koncentrace amonných iontů v bacherové tekutině
 - obsah dusíkatých látek v bacherové tekutině
 - obsah aminokyselin v bacherové tekutině
 - obsah dusíkatých látek ve výkalech
3. Stanovení degradovatelnosti organické hmoty u vzorků pastevního porostu metodou *in sacco*
 - degradovatelnost sušiny a organické hmoty
 - degradovatelnost dusíkatých látek
 - degradovatelnost vlákninového spektra

4. MATERIÁL A METODIKA

Přípravek Biopolym FZT byl úspěšně testován jako podpůrný přípravek pro činnost mikroorganismů v řadě oblastí zemědělské praxe. Jako aditivní látka snižuje dobu fermentace v procesech kompostování až o polovinu, jeho aplikace do kejdy zvyšuje účinnost rozkladných procesů. V bioplynových stanicích přídavek preparátu stimuluje činnost metanogenních mikroorganismů za zvýšení produkce bioplynu. Jako aditivum byl přípravek testován ve výživě nepřežvýkavých zvířat pro zajištění optimálního rozvoje střevní mikroflóry. Příznivé výsledky testování Biopolymu FZT z hlediska stimulace různých druhů mikroorganismů byly důvodem pro ověření preparátu na činnost bacherové mikroflóry.

V rámci řešení disertační práce bylo posouzení vlivu přípravku Biopolym FZT na bacherovou degradovatelnost živin rozděleno do dvou částí. Užitím Daisy inkubátoru metodou *in vitro* byla stanovena stravitelnost sušiny a NDF. Na laboratorní část navázalo testování přípravku na kanylovaných pokusných zvířatech. Pro určení degradovatelnosti byla použita *in sacco* inkubace vzorků v bacheru.

4.1. Pokusný materiál

Vzorky pastevních porostů

Pokusným materiálem pro stanovení optimálního ředění přípravku Biopolym FZT metodou *in vitro* byly vzorky pastevního porostu sbírané v roce 2009 na pozemcích zemědělské farmy Vlčí Jámy (800 m.n.m.). Jednalo se o vzorky trav a směsné vzorky pastvy (vzorek pastvy obsahující trávy i byliny). Pokusným materiálem pro stanovení stravitelnosti organické hmoty metodou *in sacco* byly vzorky směsného pastevního porostu sbírané v roce 2010 na pozemcích zemědělské farmy Rychnov nad Malší (600 – 650 m.n.m), Těšov (700 – 750 m.n.m) a Vlčí Jámy (800 m.n.m). Dále byly použity vzorky směsných pastevních porostů sbírané v roce 2010 na zemědělské farmě Velký Chlumeč (650 m.n.m). Vzorky z farmy Velký Chlumeč byly do pokusu zařazeny i pro zjištění vlivu preparátu Biopolym FZT na stravitelnost živin z hnojených i nehnojených odběrových míst. Způsob hnojení v této lokalitě byl minerální: 100 kg N/ha/rok – ledek amonný s vápencem 27,5 % N, 50 kg K/ha/rok – draselná sůl 60 % a 30 kg P/ha/rok – superfosfát trojitý 46 %.

Vzorky pastvy v jednotlivých lokalitách byly získány na předem vyčleněných odběrných místech. Na reprezentativním místě o rozloze 10 m² byl porost posekán motorovou kosou. Odebrán byl reprezentativní vzorek o hmotnosti 1 kg, zabalen do polyethylenového sáčku

a převezen do laboratoře k následnému zpracování, sušení a mělnění. Vzorky pastvy pro analýzy sbírané v roce 2009 a 2010 byly po nasbírání sušeny volně v místnosti při pokojové teplotě cca. 24°C a dosoušeny ve skříňové sušárně při 55°C po dobu 48 hodin. Po usušení byl materiál našrotován na velikost částic 2 - 5 mm, doporučených pro krmiva (VANZANT *et al.*, 1998).

Biopolym FZT

Biopolym FZT je přípravek bioalginátové řady určeným pro aplikaci do napájecí vody. V koncentrované podobě (transportní a skladovatelné formě) se jedná o hustou tmavohnědou kapalinu s vůní mořských produktů, mající pH = 12. Preparát je vyráběný z mořské řasy *Ascophyllum nodosum* německou firmou Schulze & Hermsen GmbH. Pro pokusné účely zjišťování vhodného dávkování metodou *in vitro* byl Biopolym FZT ředěn fyziologickým roztokem (1% NaCl) v poměru 1:10. Zajistilo se tak přesnější dávkování přípravku.

4.2. Pokusná zvířata

Pro odběry bachorové tekutiny pro metodu *in vitro*, pro stanovení degradovatelnosti organické hmoty metodou *in sacco* byly použity tři suchostojné krávy, jedna Holštýnské plemene, 2 Aberdeen Angus, opatřeny bachorovou kanylou. Stejná zvířata byla použita i při vlastním pokusu pro zjišťování bachorových fermentačních procesů. Zvířata byla krmena dvakrát denně. Denní krmná dávka činila 12 kg lučního sena a 2 kg šrotu. Zvířata měla neomezený přístup k pitné vodě.

4.3. Odběr vzorků

4.3.1. Odběr bachorové tekutiny

Vzorky bachorové tekutiny pro laboratorní analýzy byly odebírány v období předpokusném a pokusném vždy tři hodiny po ranním krmení. Vlastní odběr bachorové tekutiny byl prováděn přes bachorovou kanylu sondou připojenou na podtlakovou ruční pumpu, podle HOFÍRKA a DVOŘÁKA (2002). Odebraná bachorová tekutina určená pro stanovení stravitelnosti *in vitro* byla ihned přelita do termosek vytemperovaných na 39°C a neprodleně přepravena do laboratoře a dále zpracována. Vzorky bachorové tekutiny odebírané během pokusu byly zchlazeny ledem v termobrašně a dopraveny do laboratoře. Pro následné laboratorní rozbory byly přefiltrovány přes gázu.

4.3.2. Odběr výkalů

Vzorky výkalů od pokusných krav byly získávány manuálním odběrem přímo z rekta a v plastových vzorkovnicích dopraveny neprodleně do laboratoře k rozborům. Výkaly byly odebírány stejně jako vzorky bachorové tekutiny, tedy 3 hodiny po nakrmení.

4.4. Laboratorní rozbory

4.4.1. Laboratorní rozbory vzorků pastevních porostů

Laboratorní sušina

Pro stanovení laboratorní sušiny byly všechny vzorky pastevních porostů sušeny ve vysoušecích miskách ve skříňové sušárně při 103°C po dobu 4 hodin.

Stanovení obsahu popelovin

Popel ve vzorcích pastevních porostů byl stanoven gravimetricky po spálení v Muflové peci při 550°C po dobu 6 hodin.

Stanovení dusíkatých látek

Dusíkaté látky (NL) byly stanoveny po mineralizaci, destilaci na přístroji Kjeltec a titraci metodou podle Kjeldahla (AOAC, 2005).

Stanovení tuku

Obsah tuku ve vzorcích byl stanovován přímou extrakcí na přístroji SOXTEC (SOXTEC SYSTEM HT 1043) dle Soxleta (AOAC, 2005).

Stanovení hrubé vlákniny

Pro stanovení hrubé vlákniny (CF) byla použita metoda dvoustupňové hydrolýzy kyselinou a zásadou. Analýza byla prováděna na přístroji ANKOM TECHNOLOGY.

4.4.2. Laboratorní rozborové tekutiny

Laboratorní sušina

Vzorky bachorové tekutiny byly nejprve zmrazeny a lyofilizovány při teplotě – 55°C do sypké konzistence na přístroji HETO POWERDRY LL3000. Laboratorní sušina byla stanovena sušením ve vysoušecích miskách ve skříňové sušárně při 103°C po dobu 4 hodin.

Stanovení dusíkatých látek

Dusíkaté látky (NL) byly ve vzorcích lyofilizované bachorové tekutiny stanoveny po mineralizaci, destilaci a titraci na přístroji KJELTEC metodou podle Kjeldahla (AOAC, 2005).

Měření koncentrace vodíkových iontů (pH)

Pro měření pH vzorků elektrometrickým stanovením byl použit digitální pH metr INOLAB PH LEVEL 2.

Stanovení těkavých mastných kyselin

Těkavé mastné kyseliny byly stanoveny izotachoforetickou metodou dělení iontů na základě rozdílné pohyblivosti ve stejnosměrném poli na přístroji Ionosep 2001 podle aplikačních listů RECMAN LABORATORNÍ TECHNIKA.

Stanovení amonných iontů

Amonné ionty v bachorové tekutině byly stanoveny po dvouhodinové inkubaci bachorové tekutiny s nasyceným roztokem K_2CO_3 při 37°C ve Widmarkově baňce a následné titraci kyselinou chlorovodíkovou (TRÁVNÍČEK, 1998). Jedná se o modifikaci stanovení amonných iontů v krmivech mikrodifusní metodou (AOAC, 2005).

Pro výpočet obsahu amonných iontů byl použit vzorec:

$$NH_3 \text{ (mmol/l)} = \text{titrační spotřeba } 0,01 \text{ M HCl (ml)} \times 17 \times 0,584 \times \text{faktor HCl}$$

Stanovení obsahu protozoí

Množství protozoí v bachorové tekutiny bylo zjištěno počítáním v Bürkerově komůrce po obarvení a naředění vzorků 0,1 % roztokem metylenové modři v poměru 1:10. Pro stanovení

celkového počtu protozoí v 1ml bachorové tekutiny byl zjištěný počet vynásoben faktorem 10000 zahrnujícím faktor komůrky a index ředění (TRÁVNÍČEK, 1998).

Stanovení obsahu aminokyselin

Aminokyselinové složení ve vzorcích lyofilizované bachorové tekutiny bylo určeno chromatografickou metodou založenou na výměně iontů po kyselé hydrolyze působením 6M HCl na přístroji Aminoanalyzátor AAA 400 podle návodu k obsluze přístroje – chemická část firmy INGOS S.R.O, PRAHA.

4.4.3. Laboratorní rozbor výkalů

Laboratorní sušina

Vzorky výkalů byly nejprve předsušeny na petriho miskách ve skříňové sušárně 48 hodin při 55°C. Pro stanovení laboratorní sušiny byly všechny následně sušeny ve vysoušecích miskách ve skříňové sušárně při 103°C po dobu 4 hodin.

Stanovení dusíkatých látek

Pro stanovení dusíkatých látek byly použity předsušené vzorky výkalů. NL byly stanoveny po mineralizaci, destilaci a titraci na přístroji Kjeltec metodou podle Kjeldahla (AOAC, 2005). Výsledky byly přepočítány na laboratorní sušinu.

Stanovení organické hmoty

Vysušené vzorky výkalů byly spalovány v Muflové peci při 550°C po dobu 6 hodin. Organická hmota byla zjištěna z rozdílu sušené hmoty a množství popela.

4.5. Stanovení stravitelnosti metodou *in vitro* pro ověření optimálního dávkování přípravku Biopolym FZT

Tato laboratorní metoda je založena na stanovení stravitelnosti bez využití pokusných zvířat. Bachor přežvýkavců je simulován laboratorním inkubačním zařízením DAISY inkubátorem. Živiny jsou tráveny enzymy mikroflóry z bachorového obsahu, který je přidáván do fermentačního media.

Metodický postup

Zjištění stravitelnosti na přístroji DAISY inkubátor bylo prováděno podle metody 3 ANKOM TECHNOLOGY. Pro tuto analýzu byly použity filtrační sáčky Ankom Technology (F57), které byly předem vyprány v acetonu, vysušeny a zváženy (W1). Vzorky pomleté na velikost 2 mm byly ve čtyřech opakováních naváženy v množství 0,250 g (W2) do zvážených sáčků a zataveny pulsní svářečkou. Zatavené sáčky byly spolu s jedním prázdným zváženým sáčkem (C1), určeným pro korekční výpočet, vloženy do pětilitrových lahví a zality inkubačním roztokem obsahujícím pufrální roztok a očkovací látku.

Příprava pufrálního roztoku

Pufrální roztok byl vytvořen smícháním pufru A a pufru B v poměru 5:1 (1330 ml pufru A a 266 ml pufru B). U výsledného roztoku bylo upraveno pH na hodnotu 6,8.

| <i>Pufr – roztok A:</i> | <i>g/l</i> | <i>Pufr – roztok B:</i> | <i>g/l</i> |
|--|------------|--|------------|
| KH ₂ PO ₄ | 10,0 | Na ₂ CO ₃ | 15,0 |
| MgSO ₄ x 7 H ₂ O | 0,5 | Na ₂ S x 9 H ₂ O | 1,0 |
| NaCl | 0,5 | | |
| CaCl ₂ x H ₂ O | 0,1 | | |
| Močovina | 0,5 | | |

Příprava očkovací látky

Dvě dvoulitrové termosky předehřáté na 39°C byly podle metodického postupu pro Daisy inkubátor naplněny bachorovou tekutinou a dvěma hrstmi pevného bachorového obsahu. Po přenesení do laboratoře byly obsahy promíchány a rozmixovány. Následovala filtrace přes čtyři vrstvy gázy. Pro všechny operace bylo zajištěno anaerobní prostředí prostřednictvím atmosféry CO₂ z tlakové láhve. Do každé fermentační nádoby bylo odebráno 400 ml takto připraveného inokula.

Příprava a dávkování preparátu Biopolym FZT

Přípravek Biopolym FZT byl nejprve z důvodu snadnějšího dávkování do fermentačních nádob naředěn fyziologickým roztokem (1%ní roztok NaCl) v poměru 1:10. Distributorem přípravku Biopolym FZT pro Českou republiku byla doporučena ředění přípravku k obsahu bachorové tekutiny v poměru 1:500, 1:1000, 1:1500, 1:2000 a 1:2500. Tato ředění byla

ověřena v laboratorních pokusech s bachorovou tekutinou, kdy odebrané vzorky bachorové tekutiny dojnic byly inkubovány různé časové intervaly s přídatkem Biopolymu FZT v různém naředění. Zjištěna byla motilita nálevníků sledováním v komůrce dle Fuchs-Rosenthala (VOSTOUPAL, 2009).

OBRÁZEK 1: Motilita protozoí s přípravkem Biopolym FZT (VOSTOUPAL, 2009)

| Tabulka | | | | | | | | Vyhodnocení – poznámka | |
|--|---|---|--------|--------|--------|--------|-------|--|-----------|
| Výsledky působení stupňovitě naředěného Biopolymu FZT na motilitu bachořců v časové řadě v čerstvém vzorku bachorové tekutiny, získané transoesophageálně od dojnice A | | | | | | | | | |
| Stupeň ředění Biopolymu FZT | Motilita před aplikací Biopolymu Stav 0 | časový interval sledování rozvoje motility od aplikace naředěného Biopolymu FZT | | | | | | | |
| | | 30 min | 60 min | 2 hod. | 5 hod. | 8 hod. | 24 h. | | |
| 1 : 500 | B | ± | + | ++ | ++ | ± | - | možný retardační vliv alkality přípravku | |
| 1 : 1000 | B | + | ++ | ++ | + | + | ± | | |
| 1 : 1500 | B | +++ | ++++ | +++++ | +++++ | +++++ | ++ | | optimum 1 |
| 1 : 2000 | B | ++ | +++ | ++++ | +++ | ++ | + | | optimum 2 |
| 1 : 2500 | B | ++ | ++ | +++ | ++ | + | ± | | |
| Kontrola | B | B | B | ± | - | - | - | | |

Navržené dávkování přípravku Biopolym FZT do fermentačních nádob:

| Koncentrační řada | Biopolym FZT v ředění 1:10 / 100ml bachorového obsahu | Biopolym FZT v ředění 1:10 / 400ml bachorového obsahu |
|-------------------|---|---|
| 1 : 500 | 2,0 ml | 8.0 ml |
| 1 : 1000 | 1,0 ml | 4,0 ml |
| 1 : 1500 | 0,7 ml | 2,8 ml |
| 1 : 2000 | 0,5 ml | 2,0 ml |
| 1 : 2500 | 0,4 ml | 1,6 ml |

Všechny vzorky byly ve čtyřech opakováních inkubovány celkem v šesti fermentačních lahvích (pět obsahovalo přípravek Biopolym FZT, šestá byla kontrolní, bez přídatku biostimulační látky).

Inkubace

Na 39°C vytemperovaná inkubační láhev obsahující maximálně 25 sáčků (včetně korekčního prázdného sáčku) a 1600 ml pufrčního roztoku byla za anaerobních podmínek zaočkována 400 ml bachorového inokula. Po uzavření byly láhve se vzorky umístěny do

DAISY inkubátoru, kde při pomalé rotaci probíhala vlastní inkubace při 39°C 48 hodin. Po uplynutí této doby byly sáčky se vzorky vyjmuty z lahví a proplachovány destilovanou vodou, dokud odtékající voda nebyla čirá. Propláchnuté sáčky byly umístěny do ANKOM^{200/220} Fiber analyzátoru s následnou procedurou NDF analýzy z důvodu odstranění zbytků inkubačních roztoků a mikrobiálních těl. Sáčky byly vysušeny 48 hodin při 55°C a zváženy (W3). Váha korekčních (prázdných) sáčků byla zaznamenána jako C2.

Kalkulace

Výpočet procentuální *in vitro* stravitelnosti sušiny byl proveden podle následujícího vzorce:

$$\% \text{ IVTDMD} = 100 - ((W_3 - (W_1 \times C)) / (W_2 \times \text{DM})) \times 100$$

Výpočet byl doplněn o určení procentuální *in vitro* stravitelnosti NDF podle vzorce:

$$\% \text{ IVNDFD} = 100 - ((W_3 - (W_1 \times C)) / (W_2 \times \text{NDF} / 100)) \times 100$$

Kde:

W₁ = váha prázdného sáčku

W₂ = navážka vzorku

W₃ = váha sáčku se vzorkem po NDF analýze

C = korekce na prázdný sáček (váha sáčku po analýze C2 váha prázdného sáčku C1).

DM = % sušiny vzorku

NDF = % NDF vzorku

Pro statistické a tabulkové hodnocení byly výsledné procentuální hodnoty převedeny na g/kg DM.

4.6. Ověření přípravku Biopolym FZT na kanylovaných kravách

Pro stájové pokusy byly použity tři kanylované krávy viz kapitola 4.2. Pokus probíhal ve třech obdobích: září-listopad 2010, září-listopad 2011 a březen-květen 2012. Každý ze třech pokusů obsahoval období předpokusné, období přivykací a vlastní pokusné období. Doba trvání prvního období byla 2 týdny. Následovalo 8 týdnů, kdy zvířatům v pokusu byla podávána aditivní látka. Období, kdy probíhaly odběry a *in sacco* inkubace, trvalo 4 týdny. V rámci každého ze třech pokusů se zvířata v pokusné a kontrolní skupině střídala. V kontrolní skupině byla kráva jedna, v pokusné dvě. Za celá tři období bylo každé zvíře zařazeno jednou v kontrolní a dvakrát do pokusné skupiny. V přivykacím a pokusném období bylo pokusným zvířatům při ranním krmení do šrotu přimícháno 24 ml přípravku Biopolym

FZT. Přivykací období, kdy zvířatům v pokusné skupině byl také podáván přípravek, ale nebyly odebírány vzorky bachorové analýzy a exkrementů, byl zařazen do pokusu z důvodu přizpůsobování bachorového ekosystému na změnu ve výživě (HOFÍREK a DVOŘÁK, 2009). Vzorky bachorové tekutiny a výkalů byly odebírány v předpokusném a v druhých dvou týdnech pokusného období. V dalších týdnech byla prováděna *in sacco* inkubace vzorků pastevních porostů.

4.7. *In sacco* analýza

Principem této *in vivo* metody je zjištění degradovatelnosti živin na základě inkubace vzorků v bachoru kanylovaného zvířete. Vzorky jsou navažovány do nylonových sáčků prostupných pro bachorovou mikroflóru a ve speciálním nosiči jsou pak umístěny v bachoru.

Metodický postup

Upravené vzorky pastevních porostů byly navažovány v množství 2,5 g (s přesností 10^{-3} g) do sáčků velikosti 5 x 13 cm šitých z materiálu Uhelon 130T (HEDVA, Moravská Třebová) s velikostí pórů 42 μ m. Byl splněn požadavek na poměr mezi navážkou vzorku a velikostí povrchu sáčku. Hodnota nebyla vyšší než doporučené maximum 20 mg/cm² (VANZANT *et al.*, 1998). Byly použity 2 sáčky na vzorek a zvíře v kontrolní a následně i v pokusné skupině. Čas inkubace byl zvolen 48 hodin v souvislosti s metodou *in vitro* a omezeném množstvím vzorků. Pro vzorky sbírané v oblasti Velký Chlumeč byly použity inkubační časy 24 a 48 hodin pro lepší porovnání vzorků z odběrných míst hnojených a nehnojených. Sáčky byly do bachoru vkládány po ranním nakrmení (v 8 hodin). Po inkubaci byly sáčky promývány studenou vodou (do 20°C), dokud promývaná voda neodtékala čistá. Následně byly sáčky se vzorky sušeny ve skříňové sušárně 48 hodin při teplotě 55°C. Po vychladnutí v exikátoru byly vzorky zváženy. Zjištěna byla degradace sušiny. Dále byly vzorky analyzovány na obsah dusíkatých látek, vlákninového spektra pro zjištění degradace těchto živin. Pro stanovení degradace organické hmoty byl stanoven i obsah popela.

Kalkulace

Degradovatelnost sušiny (DMD) byla vypočítána dle vzorce:

$$\text{DMD} = ((W_3 - W_1) \times \text{DM}_2 / (W_2 \times \text{DM}_1)) \times 100$$

Kde:

DMD = degradovatelnost sušiny

W_1 = hmotnost sáčku

W_2 = navážka vzorku

W_3 = hmotnost sáčku po inkubaci a vysušení

DM_1 = obsah sušiny původního vzorku

DM_2 = obsah sušiny vzorku po inkubaci

Degradovatelnost organické hmoty (OMD) byla vypočítána dle vzorce:

$$OMD = ((W_3 - W_1) \times (DM_2 - ASH_2) / (W_2 \times (DM_1 - ASH_1))) \times 100$$

Kde:

OMD = degradovatelnost organické hmoty

W_1 = hmotnost sáčku

W_2 = navážka vzorku

W_3 = hmotnost sáčku po inkubaci a vysušení

DM_1 = obsah sušiny původního vzorku

DM_2 = obsah sušiny vzorku po inkubaci

ASH_1 = obsah popela původního vzorku

ASH_2 = obsah popela vzorku po inkubaci

Degradovatelnost dusíkatých látek (CPD) byla vypočítána dle vzorce:

$$CPD = 100 - (W_2 \times (100 - DMD) / (100 \times W_1)) \times 100$$

Kde:

CPD = bachorová degradovatelnost dusíkatých látek

W_1 = obsah NL v původním vzorku

W_2 = obsah NL po inkubaci

Degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny (NDFD) byla vypočítána dle vzorce:

$$NDFD = 100 - (W_2 \times (100 - DMD) / (100 \times W_1)) \times 100$$

Kde:

NDFD = bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny

W_1 = obsah NDF v původním vzorku

W_2 = obsah NDF po inkubaci

Degradovatelnost acido detergentní vlákniny (ADFD) byla vypočítána dle vzorce:

$$ADFD = 100 - (W_2 \times (100 - DMD) / (100 \times W_1)) \times 100$$

Kde:

ADFD = bachorová degradovatelnost neutrálně detergentní vlákniny

W_1 = obsah ADF v původním vzorku

W_2 = obsah ADF po inkubaci

Degradovatelnost hemicelulosity (HEMD) byla vypočítána dle vzorce:

$$\text{HEMD} = 100 - (W_2 \times (100 - \text{DMD}) / (100 \times W_1)) \times 100$$

Kde:

HEMD = bachorová degradovatelnost hemicelulosity

W_1 = obsah hemicelulosity v původním vzorku

W_2 = obsah hemicelulosity po inkubaci

Obsah hemicelulosity = obsah NDF – obsah ADF

Degradovatelnost celulosity (CELD) byla vypočítána dle vzorce:

$$\text{CELD} = 100 - (W_2 \times (100 - \text{DMD}) / (100 \times W_1)) \times 100$$

Kde:

CELD = bachorová degradovatelnost celulosity

W_1 = obsah celulosity v původním vzorku

W_2 = obsah celulosity po inkubaci

Obsah celulosity = obsah ADF – obsah ADL

4.8. Statistické vyhodnocení

Pro statistická vyhodnocení byl použit program STATISTICA 11. Ve všech případech bylo provedeno statistické posouzení normality dat prostřednictvím Levenova testu. Pro další vyhodnocení byly použity parametrické i neparametrické metody analýzy rozptylu. Hodnota hladiny významnosti byla zvolena 0,05.

Při posuzování bachorové fermentace a obsahů dusíkatých látek ve výkalech byla nejprve analyzována předpokusná období PP. Do analýz byla zahrnuta pro všechna pokusná zvířata všechna předpokusná období, pro každou krávu tři období. Pro porovnání kontroly a pokusu byla ve statistice použita jen ta předpokusná období, jimž odpovídala pokusná období se zvířetem v pokuse. Porovnání pro zvíře byla tedy dvě předpokusná a dvě pokusná období. Pokusná období se zvířetem v kontrole byla statisticky srovnána s příslušným předpokusným obdobím s cílem zjistit, zda se neměnily podmínky během předpokusu a příslušného pokusu.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1. Určení optimálního ředění a dávkování přípravku Biopolym FZT metodou *in vitro*

Pro zjištění optimálního dávkování přípravku Biopolym FZT a posouzení jeho schopnosti ovlivnit stravitelnost živin krmiv byla zvolena metoda stanovení stravitelnosti *in vitro* s využitím inokula – bachorové tekutiny. Vycházelo se z předpokladu, že přípravek získaný hydrolýzou mořské řasy *Ascophyllum nodosum* a obsahující řadu stopových prvků, vitamínů a dalších biostimulačních látek, může pozitivně působit na rozvoj bachorové mikroflóry (FIKE *et al.*, 2001, VOSTOUPAL *et al.*, 2006b, VOSTOUPAL *et al.*, 2007b, KARATZIA *et al.*, 2012). Podle metodiky a publikací byla pro zjištění stravitelnosti pastevních porostů vybrána inkubační doba fermentace 48 hodin (ANKOM TECHNOLOGY METHOD 3, 2015, DAMIRAN *et al.*, 2002, SPANGHERO *et al.*, 2003). Také NRC (2001) doporučuje pro zjištění stravitelnosti *in vitro* 48 hodinovou inkubaci vzorků.

Limitujícím faktorem pro stravitelnost píce je NDF (HOOWER, 1986 MERTENS, 1987, JERANIAMA a GARCIA, 2004 EASTRIDGE, 2006). Z výsledků stravitelnosti sušiny byla proto také určena stravitelnost této vlákninové frakce.

Pro stanovení stravitelnosti sušiny a NDF metodou *in vitro* bylo v pokuse použito 20 vzorků pastevního porostu ze dvou lokalit Rychnov nad Malší a Vlčí Jámy sbírané roku 2009. Jednalo se o vzorky trav a vzorky směsného porostu složeného z trav, jetelovin a bylin. Botanické složení směsných porostů činilo 40-70% trávy, 10-30% jeteloviny a 10-40% byliny. Charakteristiku vzorků popisuje TABULKA 19 v přílohách. Podle MÍKY *et al.* (1997) se v průměru jedná o vzorky vyváženého pastevního porostu.

Chemické složení jednotlivých vzorků směsí a trav (CP, tuk, popel, CF, NDF, ADF, ADL) je uvedeno v TABULCE 20 v přílohách. Obsah CP byl v rozsahu 85,0 - 226,0 g/kg sušiny (DM), v průměru 166,4 g/kg DM. Obsah NDF činil od 383,2 do 592,4 g/kg DM (průměr 511,4 g/kg DM). Rozmezí obsahu ADF se pohybovalo od 223,1 do 328,7 g/kg DM s průměrnou hodnotou 290,3 g/kg DM. Mezní hodnoty ADL byly 4,0 a 79,8 g/kg (průměrná hodnota 30,7 g/kg DM). Zjištěné výsledky odpovídají hodnotám pro pastevní porosty (TALLOWIN a JEFFERSON, 1999, ČERMÁK *et al.*, 2008). Z hlediska dusíkatých látek a obsahu vlákniny byly do sledování zařazeny vzorky z kvalitních i nekvalitních pastevních porostů (MLÁDEK *et al.*, 2006).

In vitro stravitelnost sušiny (IVDMD) a stravitelnost NDF (IVNDFD) byla stanovována pro jednotlivé koncentrace přidávaného přípravku Biopolym FZT podle doporučení, viz

kapitola 4.5. Jednalo se o ředění přípravku vzhledem k obsahu přidávaného inokulačního média (bachorové tekutiny) v poměru 1:500, 1:1000, 1:1500, 1:2000 a 1:2500. Zjišťována byla také kontrolní IVDMD a IVNDFD pro 48 hodinovou inkubaci všech vzorků bez použití přípravku. Průměrné hodnoty vypočtených stravitelností kontrolní (bez přípravku) a pro jednotlivá ředění jsou uvedeny v TABULCE 1 a 2.

TABULKA 1: Porovnání IVDMD pro jednotlivá ředění přípravku Biopolym FZT (g/kg DM)

| Ředění Biopolymu FZT | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
|----------------------|--------|---------|---------|------|
| 0 | 753,6 | 669,3 | 884,7 | 64,7 |
| 1 : 2500 | 718,0 | 611,2 | 859,1 | 71,2 |
| 1 : 2000 | 731,3 | 627,5 | 864,6 | 68,0 |
| 1 : 1500 | 735,8 | 632,7 | 859,3 | 67,7 |
| 1 : 1000 | 772,6 | 679,4 | 881,0 | 59,9 |
| 1 : 500 | 767,8 | 678,4 | 880,8 | 59,8 |

TABULKA 2: Porovnání IVNDFD pro ředění přípravku Biopolym FZT (g/kg DM)

| Ředění Biopolymu FZT | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
|----------------------|--------|---------|---------|-------|
| 0 | 520,1 | 377,9 | 756,2 | 105,9 |
| 1 : 2500 | 451,4 | 276,8 | 685,7 | 111,6 |
| 1 : 2000 | 477,2 | 331,7 | 724,1 | 105,3 |
| 1 : 1500 | 486,6 | 347,3 | 729,8 | 102,5 |
| 1 : 1000 | 558,0 | 445,1 | 778,1 | 93,1 |
| 1 : 500 | 548,4 | 408,9 | 761,4 | 93,1 |

Z TABULKY 1 a 2 vyplývá, že stravitelnost IVDMD a IVNDF pro vysoká ředění (nízké koncentrace přípravku) je nižší než stravitelnost kontrolní, bez použití Biopolymu FZT. Jedná se o ředění 1:2500, 1:2000, 1:1500. Vysvětlením může být zvýšení koncentrace protozoí, která jsou velmi citlivá k vnějšímu prostředí a již nízké dávky mohou stimulovat jejich růst a množení (HRISTOV *et al.*, 2001, JELÍNEK *et al.*, 2003, DOLEŽAL a DOLEŽAL, 2004). Nárůst protozoí vyvolává změny ve složení ostatní bachorové mikroflory. Dochází ke zvýšení populace metanogenních bakterií a snížení celulolytických bakterií a hub, které se hlavní měrou podílí na rozkladných procesech vlákniny (IVAN *et al.*, 1992, HEGARTY, 1999). Při ředění 1:1000 a 1:500 může být už koncentrace přípravku Biopolymu FZT vysoká pro protozoa. V důsledku inhibice těchto mikroorganismů, potlačením jejich množení a tvorby

vodíkových molekul, se výrazně zlepšují podmínky pro celulolitické bakterie a stravitelnost vlákniny se zvyšuje (KURIHARA *et al.*, 1968, OZUTSUMI *et al.*, 2005).

In vitro metodou zjištěné stravitelnosti sušiny a stravitelnosti NDF jednotlivých vzorků jsou shrnuty v TABULKÁCH 21 a 22 v přílohách. Stravitelnosti vzorků odpovídají hodnotám pro pastevní porost, IVDMD~700-800 g/kg DM (DAMIRAN *et al.*, 2002, CATTANI *et al.*, 2009). U vzorků 1 a 2, 12 a 14 byla degradovatelnost DM a NDF vyšší. Jedná se o vzorky mladého pastevního porostu s nízkou výškou, tedy vyšším podílem listů, které jsou celkově stravitelnější (MÍKA *et al.*, 1997, ŠANTRŮČEK *et al.*, 2001). Podle ROSENDA *et al.* (2013) se IVDMD po 48 hodinové inkubaci u vzorků pícnin obvykle pohybuje v rozmezí 51- 81%.

Na stravitelnost sušiny, má vliv řada faktorů. Kromě obsahu hlavních živin, se jedná zejména o vegetační fázi rostlin a druhové složení (ARTHINGTON a BROWN, 2005, NIEKERK *et al.*, 2009, KOUKOLOVÁ *et al.*, 2010). Vegetační fáze, ve které se sklizený porost nachází, ovlivňuje hodnotu dusíkatých látek, ale i obsah a složky vlákniny (LAUNCHBAUGH *et al.*, 1990, GONZÁLES *et al.*, 2001, JANČÍK, *et al.*, 2008). Porost s vysokým obsahem bylin má vyšší obsah dusíkatých látek a nízké NDF proti vyváženému pastevnímu porostu. Jeho stravitelnost je vysoká. Pastevní porost s nízkým zastoupením jetelovin je charakteristický nižším obsahem dusíkatých látek, NDF je ale poměrně vysoké. Kvalitní pastevní porosty obsahují 180-200g/kg N-látek a 180-200 g/kg vlákniny (CF), nekvalitní 100-150 g/kg N-látek a 220-270 g/kg CF (MLÁDEK *et al.*, 2006).

Stravitelnost vlákniny jetelovin je nižší vzhledem k nízkému obsahu hemicelulosy a vyššímu obsahu ligninu (MÍKA *et al.*, 1997). Na kvalitu pastevních porostů mají vliv sezónní vlivy prostředí, jako je množství srážek, teplota (OLSON *et al.*, 1994a). V neposlední řadě hraje důležitou úlohu i faktor samotné půdy. Jílovitá půda negativně působí na výšku, hustotu porostu, jeho kvalitu, dále pak na druhové složení rostlin (LAUNCHBAUGH *et al.*, 1990).

U pastevních porostů aktivně využívaných pro pastvu zvířat záleží také na způsobu pastvy. V důsledku intenzivní pastvy dochází k vyššímu obrůstání. Takové porosty se vyznačují nejen vyšší nutriční hodnotou, ale i vyšší stravitelností (MÍKA, 1998).

Stravitelnost zjištěná metodou *in vitro* může být zatížena určitou chybou. Podle DAMIRANA (2002) se výsledky při použití Daisy inkubátoru mohou lišit zejména v porovnání ke skutečné stravitelnosti zjištěné *in vivo*. Významné rozdíly jsou u vzorků s nízkými hodnotami ADF. TAGLIAPIETRA *et al.* (2012) uvádí, že reprodukovatelnost IVDMD použitím Daisy inkubátoru je 96%.

Během statistického vyhodnocení byla nejprve testována možná odlišnost vzorků trav a vzorků směsného pastevního porostu. Pro všechna ředění, ale i pro kontrolu (bez přípravku) byly splněny podmínky homogenity dat, shodnosti rozptylů, zjištěné pomocí Levenova testu. Další testy za použití analýzy rozptylu prokázaly, že se statisticky významně od sebe neliší IVDMD trav a směsí. Můžeme tedy říci, že rozdíl ve stravitelnostech sušiny mezi vzorky směsí a trav bez přípravku a při použití přípravku Biopolym FZT o různých koncentracích se ani v jednom případě nepodařilo prokázat, čímž všechny vzorky můžeme považovat za shodné. Po statistickém vyhodnocení IVNDFD z hlediska porovnání vzorků trav a směsných vzorků vyplývá, že existuje statisticky průkazný rozdíl mezi stravitelností NDF vzorků obou druhů porostu, a to pro všechna ředění, ale i v případě bez použití přípravku Biopolym FZT. NDF stravitelnost je velmi citlivá na druh rostliny, stupeň zralosti. Z klimatických faktorů je ovlivnitelná převážně teplotou a množstvím vláhy (NORDHEIM-VIKEN a VOLDEN, 2009). Výsledky statistických analýz shrnuje TABULKA 3.

TABULKA 3: Hodnoty charakteristik v analýze rozptylu pro porovnání trav a směsí

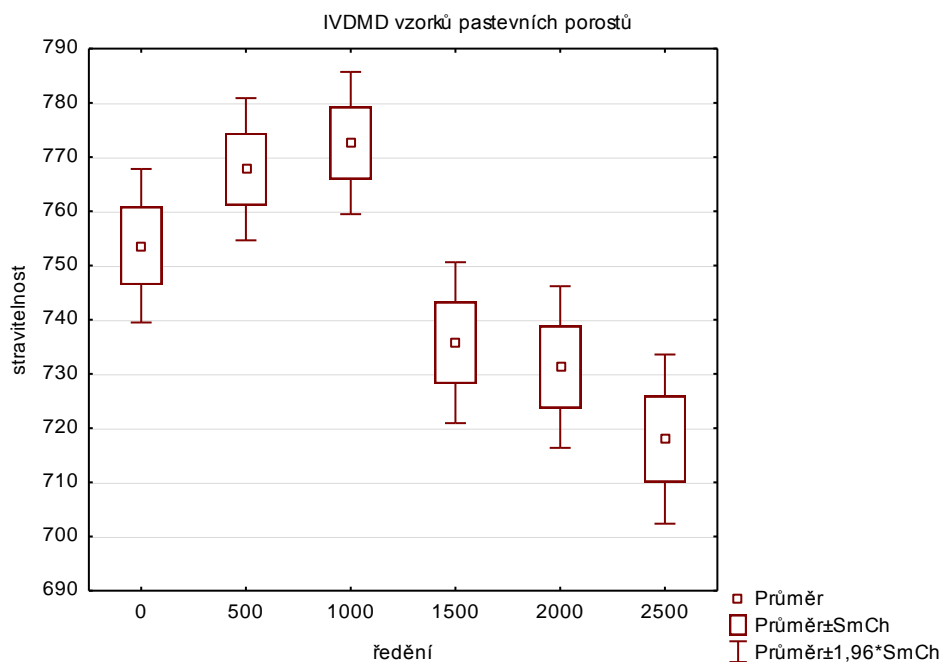
| Ředění Biopolymu FZT | IVDMD | | IVNDFD | |
|-------------------------|-------|------|--------|-------|
| | F | p | F/H | p |
| 0 | 1,95 | 0,17 | 18,30 | <0,01 |
| 1 : 2500 | 0,05 | 0,82 | 67,72* | <0,01 |
| 1 : 2000 | 0,00 | 0,97 | 4,98* | 0,02 |
| 1 : 1500 | 0,01 | 0,91 | 4,08* | 0,04 |
| 1 : 1000 | 1,24 | 0,27 | 13,79* | <0,01 |
| 1 : 500 | 0,83 | 0,36 | 12,81* | <0,01 |

* použit Kruskal-Wallisův test

Pro posouzení, zda přípravek Biopolym FZT má vliv na stravitelnost sušiny byly analyzovány vzorky trav a směsí společně. Na základě splnění předpokladu homogenity dat (Levenův test) byla provedena analýza rozptylu dat. Ze statistických charakteristik ($F=8,77$, $SV=5$, $p < 0,01$) vyplývá, že různá ředění ovlivňují stravitelnost sušiny. Tukeyův HSD test potvrdil statisticky průkaznou odlišnost mezi IVDMD bez použití přípravku a IVDMD v ředění 1:2500. Ředění 1:500 se statisticky průkazně odlišovalo od ředění 1:1500, 1:2000 a 1:2500. Ředění 1:1000 se statisticky významně lišilo od ředění 1:1500, 1:2000 a 1:2500. Ředění 1:1500, 1:2000 a 1:2500, při kterých se stravitelnost sušiny snížila ve srovnání s kontrolou (bez přípravku), se statisticky od sebe průkazně neodlišovala.

Z krabicového GRAFU 1 vyplývá, že z hlediska nejvyšší stravitelnosti se bude nejlepší ředění přípravku nacházet pravděpodobně mezi 1:1000 a 1:1500. S ohledem na doporučená ředění a metodiku je považováno za optimální ředění 1:1000.

GRAF 1: Závislost *in vitro* stravitelnosti sušiny (g/kg DM) vzorků pasterovaných porostů



TABULKA 4: Porovnání změny IVDMD (%) pro ředění přípravku Biopolym FZT

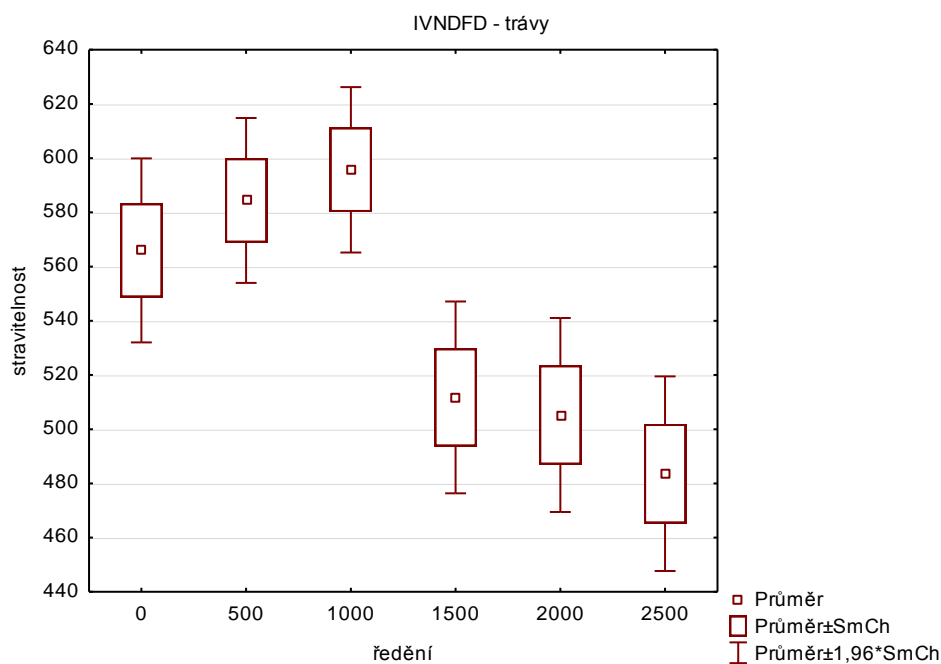
| Ředění Biopolymu FZT | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
|----------------------|--------|---------|---------|------|
| 1 : 2500 | -4,80 | -11,10 | 4,48 | 3,06 |
| 1 : 2000 | -2,99 | -10,03 | 4,36 | 2,95 |
| 1 : 1500 | -2,39 | -7,08 | 6,21 | 2,74 |
| 1 : 1000 | 2,60 | -2,53 | 8,24 | 2,17 |
| 1 : 500 | 1,96 | -3,23 | 6,57 | 2,17 |

TABULKA 4 porovnává, o kolik procent se stravitelnost sušiny stanovená *in vitro* metodou snížila, či zvýšila proti hodnotám kontrolním, tedy nulové koncentraci přípravku. Optimální, ač statisticky neprůkazné je zvýšení IVDMD při ředění 1:1000. Toto průměrné navýšení činí 2,60 % proti průměrné stravitelnosti sušiny bez použití testovaného přípravku.

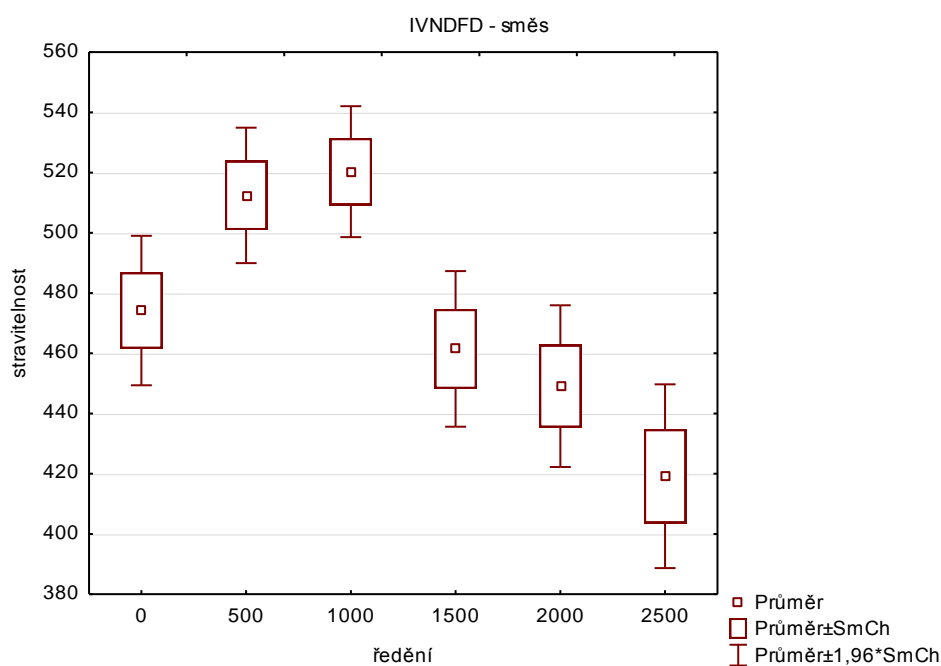
Závislost použití přípravku na stravitelnost NDF byla ověřována odděleně pro vzorky trav a vzorky směsí. V obou případech Levenův test prokázal homogenitu dat a byla provedena analýza rozptylu. Zjištěním statistických charakteristik ($F=7,37$, $p<0,001$) byl pro určení statisticky významných rozdílů mezi ředěními na stravitelnost trav použit Tukeyův HSD test.

Hodnoty IVNDFD kontrolní se statisticky průkazně lišily pouze od IVNDFD pro ředění 1:2500. Hodnoty pro ředění 1:500 a 1:1000 se statisticky průkazně odlišovaly od stravitelností při ředěních 1:1500, 1:2000 a 1:2500. Hodnoty stravitelnosti NDF pro vysoká ředění 1:1500, 1:2000 a 1:2500 se od sebe statisticky průkazně nelišily.

GRAF 2: Závislost *in vitro* stravitelnosti NDF (g/kg DM) vzorků trav



GRAF 3: Závislost *in vitro* stravitelnosti NDF (g/kg DM) vzorků směsí



Porovnání *in vitro* stravitelnosti NDF pro vzorky trav ukazuje GRAF 2. Porovnání IVNDFD pro jednotlivá ředění a kontrolu u vzorků směsných pastevních porostů vyjadřuje GRAF 3.

Po určení statistických charakteristik pro degradovatelnost NDF vzorků směsného pastevního porostu ($F=8,71$, $p < 0,01$) byl aplikován Tukeyův HSD test pro zkoumání rozdílů mezi jednotlivými ředěními a kontrolou. Podobně jako u trav se od kontrolní skupiny průkazně lišila degradovatelnost NDF pro ředění 1:2500. Výsledné IVNDFD pro ředění 1:500 se statisticky významně odlišovaly od ředění 1:2000 a 1:2500. Statistická průkaznost mezi dalšími ředěními byla shodná s výsledky pro analyzované vzorky trav.

Porovnáním GRAFŮ 2 a 3 je zřejmé, že vyšší rozdíly mezi IVNDF v pozitivně stravitelnost ovlivňujících ředěních (1:500 a 1:1000) byly zjištěny pro vzorky trav. U vzorků směsí je rozdíl mezi oběma ředěními nižší. Obdobný je i výsledek porovnání stravitelnosti sušiny trav a směsí, jak je patrné z TABULKY 23 v přílohách. Toto zjištění vyplývá z lineární závislosti stravitelnosti sušiny na obsahu NDF vzorků (MERTENS, 1987, JERANIAMA a GARCIA, 2004).

TABULKA 5: Porovnání změny IVNDFD (%) pro ředění přípravku Biopolym FZT

| Ředění Biopolymu FZT | Směs | | | | Tráva | | | |
|----------------------|--------|---------|---------|-------|--------|---------|---------|------|
| | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
| 1 : 2500 | -12,11 | -32,48 | 20,74 | 11,25 | -15,09 | -28,41 | -0,95 | 7,36 |
| 1 : 2000 | 0,20 | 0,12 | 0,27 | 0,03 | -11,09 | -25,02 | 4,91 | 7,56 |
| 1 : 1500 | -2,56 | -16,20 | 28,78 | 9,17 | -9,95 | -19,36 | 0,46 | 5,94 |
| 1 : 1000 | 10,49 | -8,24 | 38,18 | 8,69 | 5,93 | -4,86 | 19,49 | 6,14 |
| 1 : 500 | 8,62 | -6,39 | 30,44 | 7,20 | 3,91 | -7,76 | 18,17 | 6,30 |

TABULKA 5 demonstruje, o kolik procent se IVNDF zvýšila nebo snížila proti kontrolním hodnotám stravitelnosti bez použití přípravku. I když výsledek není statisticky průkazný, při použití ředění 1:1000 se stravitelnost NDF u vzorků směsného porostu zvýšila průměrně až o 10,49%. Vzhledem k tomuto zjištění v dalších pokusech ověřování degradovatelnosti živin *in sacco* byly vybrány vzorky směsného pastevního porostu.

V TABULCE 6 je provedeno propočítání denní dávky přípravku Biopolym FZT pro pokusné zvíře. Uvažujeme-li, že tabulka dávkování přípravku (viz metodika) udává množství přípravku na 100 nebo 400 ml bachorového obsahu, je třeba mít na zřeteli, že při *in vitro* inkubaci byla bachorová tekutina ještě naředěna pufráčnými roztoky na výsledné 2 litry. Došlo tak ke snížení koncentrace v takto vzniklém inkubačním médiu. Pokud budeme

uvažovat velikost bachoru v průměru 120 l (BARTOŠ, 1987, MARVAN *et al.*, 1998), bude množství přípravku Biopolym FZT 60 x vyšší než je hodnota pro 400 ml bachorového obsahu použitého pro Daisy inkubátor.

TABULKA 6: Stanovení množství přípravku Biopolym FZT pro krávu a den

| doporučené ředění | Množství Biopolymu FZT (ml) | | | |
|-------------------|--|------------------------------|---|--------------------------|
| | naředěného 1:10 pro 100ml bachorového obsahu | pro 100ml bachorového obsahu | pro 400ml bachorového obsahu doplněného na 2l média | pro 120l (obsah bachoru) |
| 1 : 500 | 2,00 | 0,20 | 0,80 | 48,00 |
| 1 : 1000 | 1,00 | 0,10 | 0,40 | 24,00 |
| 1 : 1500 | 0,70 | 0,07 | 0,28 | 16,80 |
| 1 : 2000 | 0,50 | 0,05 | 0,20 | 12,00 |
| 1 : 2500 | 0,40 | 0,04 | 0,16 | 9,60 |

Z analýz stanovení *in vitro* stravitelnosti sušiny a NDF při použití Daisy inkubátoru vyplývá, že při optimálním ředění přípravku bude výsledná denní dávka Biopolymu FZT pro pokusné zvíře 24 ml.

5.2. Ověření vlivu přípravku Biopolym FZT na degradaci živin v bachoru a dusíkatých látek ve výkalech – stájové pokusy

Porovnání významných charakteristik bachorové tekutiny

V těchto pokusech byl sledován vliv přípravku Biopolym FZT na hlavní ukazatele bachorové tekutiny. Tři kanylované suchostojné krávy byly použity pro měření charakteristik bachorové tekutiny. Zvířata byla prostřídána v kontrolní a pokusné skupině. Rozvržení pokusu demonstrují TABULKY 26 a 27 v přílohách. Kravám v pokusné skupině byl podáván sledovaný preparát v dávce 24ml/kus/den. Bachorová tekutina byla analyzována od všech zvířat i v předpokusných obdobích, která předcházela bezprostředně vlastním pokusným obdobím.

Převážnou část krmiva pokusných zvířat tvořilo seno. Do denní krmné dávky byly přidávány 2 kg pšeničného šrotu. Chemický rozbor krmiva je uveden v TABULCE 25 v přílohách. Z průměrných hodnot kvalitativních ukazatelů krmiva vyplývá nedostatečné zásobení zvířat dusíkatými látkami. Pro optimální rozvoj bachorové mikroflory je doporučen obsah dusíkatých látek minimálně 11% (PATHAK, 2008). Podle KUDRNY a HOMOLKY

(2009) je minimální doporučený obsah pro krávy bez produkce mléka 13,5%. Kvalitní seno by mělo obsahovat 90 – 130 g/kg stravitelných dusíkatých látek (VYSKOČIL *et al.*, 2008). Také obsah vlákniny, NDF a ADF zvířatům zkrmovaného sena je vyšší, než jsou hodnoty optimální. Podle VYSKOČILA *et al.* (2008) je obsah vlákniny 318,80 g/kg sušiny. Vyšší jsou i hodnoty NDF a ADF proti deklarovaným (NDF=483,50 a ADF= 249,52 g/kg sušiny). Nízký obsah dusíkatých látek a vysoký obsah vlákniny ukazuje na píci sklizenou z chudé louky s nízkým zastoupením jetelovin. Vysoký obsah vlákniny může ukazovat na seno vyrobené z přestárlého porostu (MÍKA *et al.*, 1997).

K fermentačním procesům v batoru dochází činností mikroorganismů. Přípravek Biopolym FZT, ve funkci prebiotika, by měl stimulovat batorovou mikroflóru (HÖRNIG a BRUNECH, 2002, VOSTOUPAL *et al.*, 2006b).

Jako mikrobiologického makrara pro zjištění vlivu přípravku Biopolym FZT byla použita protozoa. Tyto mikroorganismy tvoří 50% biomasy batorové mikrobiální populace. Vzhledem k jejich podstatně větší velikosti oproti bakteriím (BARTOŠ, 1987), je možno jejich množství zjišťovat v počítačích komůrkách. Tyto mikroorganismy jsou velmi citlivé k dietárním změnám a velmi rychle reagují na změny podmínek, zejména pH (HRISTOV *et al.*, 2001, DOLEŽAL a DOLEŽAL, 2004, DOLEŽAL *et al.*, 2005).

Průměrné obsahy protozoí v předpokusném období se pohybovaly v rozmezí 102±37 a 196±29 tisíc v 1 ml batorové tekutiny, jak lze vyčíst z TABULEK 29-34. Podle literatury batorová tekutina obsahuje řádově 10⁶ těchto mikroorganismů (SALEEM *et al.*, 2012). U zvířat krmených objemnými, nízkenergetickými krmivy je obsah protozoí nižší (CARBERRY *et al.*, 2012). Po aplikaci testovaného přípravku došlo ke zvýšení průměrného počtu sledovaných infusorií v mililitru batorové tekutiny na hodnoty 282±77 a 330±84 tisíc u krávy A, 221±57 a 282±62 tisíc u krávy B. U pokusného zvířete C činily průměrné počty nálevníků 175±54 a 270±94 tisíc v jednom mililitru. U třetího pokusného zvířete byly hodnoty nižší, než u krávy A a B. Množství batorové mikroflory je dáno velikostí batoru, do velké míry je určeno vnitřní plochou předžaludku (BARTOŠ, 1987, ABUBAKR *et al.*, 2013). Porovnáním období, kdy zvířatům nebyl aplikován přípravek Biopolym FZT a odpovídajících pokusných období je patrný nárůst protozoí z průměrné hodnoty 138.10³ na 260.10³/ml batorové tekutiny.

Protozoa jsou nedílnou skupinou ovlivňující trávení celulosy, jejich přítomnost zvyšuje stravitelnost celulosy až o 20% (YODER *et al.*, 1966, MICHALOWSKI, 2005). Z tohoto důvodu je navýšení této mikroflóry žádoucí. S nárůstem protozoí se však mění skladba ostatních mikroorganismů batoru. Protozoa využívají jako zdroj potravy bakterie. Jejich

pohlčováním a následnou lyzí snižují množství řady kmenů (JARVIS, 1968, MEYER a MACKIE, 1986, IVAN *et al.*, 1992). Zvýšená produkce vodíkových molekul znamená i nárůst metanogenních bakterií, které žijí v symbióze s protozoi (LLOID *et al.*, 1996, DAS a ADHYA, 2012). HÖRNIG a BRUNECH (2002) ve své studii potvrzují, že po přidavku Biopolymu FZT došlo u pokusných zvířat ke zvýšení obsahu metanu.

Význam protozoi v bachoru je diskutabilní také z hlediska zásobení hostitelského zvířete dusíkem. Tyto mikroorganismy se podílí na trávení bakterií, čímž zvyšují recyklaci mikrobiálního dusíku v bachoru a snižují zásobování střeva aminokyselinami až o 20-28% (ABUBAKR *et al.*, 2013).

V celkovém hodnocení významu protozoi je třeba také uvést jejich detoxikační roli, zvláště pak odbourávání plísňových toxinů (XIAO *et al.*, 1991, MOBASHAR *et al.*, 2010). Nárůst této mikrobiální populace znamená vyšší hydrolytické štěpení a odbourávání toxinů dostávajících se v krmivu.

Fotografie nejčastěji se vyskytujících nálevníků pořízené při počítání v Bürkerově komůrce jsou na OBRÁZCÍCH 2-7 v přílohách. Pro označení mikroorganismů bylo použito srovnání se snímky pořízenými BARAKOU (2012).

V předpokusných i pokusných obdobích byly hodnoty pH v rozmezí od 6,45 do 7,21. Průměrné hodnoty pH pro jednotlivá období a zvířata jsou uvedeny v TABULKÁCH 29-34 v přílohách. Většina naměřených hodnot pH se pohybovala mezi 5,8 a 7, v oblasti optima pro bachorovou fermentaci (BARTOŠ, 1987, DE VETH a KOLVER, 2001). Obecně se pH v bachoru přežvýkavců může být v rozsahu 6,5-7,5 (STROBEL a RUSSEL, 1986, ALLEN, 1997). Relativně vysoké pH bachorové tekutiny je dáno krmnou dávkou. Pro zvířata krmená objemnými krmivy se pH pohybuje v oblasti 6,2-6,8. Pokud převážný podíl krmné dávky tvoří seno, může se pH zvýšit i nad hodnotu 7 (STRAPÁK *et al.*, 2013). Rozdíly mezi zvířaty jsou dány také jejich individualitou (XIAO *et al.*, 1991, RITZ *et al.*, 2014). Podle STEWARTA (1977) a LESCHINEHO (1995) je neutrální pH optimální pro činnost celulolytických bakterií. Hodnoty vyšší, nad 7, jsou dokonce optimem pro nejrozšířenější druhy protozoi (MICHALOWSKI *et al.*, 2001, WERESZKA *et al.*, 2004).

Při zařazení přípravku Biopolym FZT nedošlo k významným změnám v hodnotách pH, jak dokládají TABULKY 29-34 v přílohách. Z porovnání průměrných hodnot bachorových charakteristik mezi kontrolou a pokusem v TABULCE 7 v přílohách vyplývá, že nárůst průměrné hodnoty pH mezi kontrolní skupinou a pokusem byl z 6,89 na 6,90. Možnost ovlivnění bachorového pH je dána i samotným přípravkem Biopolym FZT, který je značně alkalický, pH=12 (VOSTOUPAL *et al.*, 2006b).

Hodnoty pH souvisí s produkcí těkavých mastných kyselin (TMR), které pokrývají energetické potřeby zvířat z více než 70% a jsou mírou fermentačních procesů (STROBEL a RUSSEL, 1986, MERTENS, 1997, BANNINK, 2007).

Celkový obsah těkavých mastných kyselin v předpokusných obdobích odpovídal fyziologickému rozmezí uváděnému autory, tedy od 80 do 120 mmol/l (HOOVER, 1986, VRZGULA *et al.*, 1990, DOLEŽAL *et al.*, 2005). Obsah TMK se lišil pouze u krávy A v druhém předpokusném období, kdy průměrná koncentrace těkavých mastných kyselin byla $74,81 \pm 9,21$ mmol/l. Průměrná hodnota pH byla $6,85 \pm 0,18$. Tato odchylka v obsahu kyselin je dána vyšším pH. V bacheru se kromě základních třech TMK (kyselina octová, propionová, máselná) tvoří i řada dalších kyselin, jejichž obsah činí 2-5% (VRZGULA *et al.*, 1990, RAHMAN *et al.*, 2013). I když z hlediska fyziologických parametrů vzorky bacherové tekutiny odebrané od kanylovaných zvířat jsou porovnatelné se vzorky získané od zvířat bez kanyly (LODGE-IVEY *et al.*, 2009), mohou se obsahy jednotlivých kyselin zjištěné oproti predikovaným množstvím lišit, mohou být nižší. (BANNINK, 2007).

Přídavek biostimulační látky Biopolym FZT zvýšil průměrný obsah těkavých mastných kyselin z 89,59 na 91,56 mmol/l, jak ukazuje TABULKA 35. Průměrné hodnoty celkového obsahu těkavých mastných kyselin byly všechny ve fyziologickém rozpětí mezi hodnotami 80 a 120 mmol/l. Z TABULEK 29-34 v přílohách lze vyčíst, že průměrné hodnoty TMK byly $108,57 \pm 6,92$ a $85,95 \pm 12,05$ mmol/l pro krávu A, $82,45 \pm 6,62$ a $88,36 \pm 7,45$ mmol/l pro krávu B. Průměrné koncentrace sumy sledovaných kyselin pro zvíře C v pokuse činily $97,15 \pm 13,40$ a $86,88 \pm 7,94$ mmol/l.

Mezi nejvýznamnější těkavé mastné kyseliny, které jsou produktem mikrobiální fermentace v bacheru, patří kyselina octová, propionová a máselná. Obsahy těchto kyselin byly stanoveny izotachoforetickou metodou a následně byl vypočten procentuální podíl každé kyseliny z celkového obsahu TMK.

Kyselina octová a máselná jsou prekursory mastných kyselin tuku mléka, propionová prekursor pro laktosu. Jejich procentuální podílové zastoupení závisí na druhu stravy, zda je zvíře krmeno objemnými krmivými nebo dietou koncentrovanou. U běžné krmné dávky se v bacheru tvoří kyselina octová 60-65%, propionová 18-20% a máselná 10-15% (VRZGULA *et al.*, 1990). Pro zvířata krmená objemnými krmivými je procentuální zastoupení kyselin octové 55-70%, propionové 15-30%, máselné 10-16%. Ostatní kyseliny tvoří 2-6% (BANNINK, 2007). V předpokusných obdobích tomuto fyziologickému rozpětí odpovídaly vzorky bacherové tekutiny analyzované na obsah kyseliny octové a propionové, viz TABULKY 29-34. Procentuální zastoupení kyseliny máselné bylo nižší, pouze ve třetím předpokusném

období u krávy A byl obsah této kyseliny vyšší než 10% ($10,21 \pm 0,90$ mmol/l). Fyzikálně chemické aspekty bachorového trávení, množství jednotlivých kyselin jsou dány velikostí bachoru, mírou rozmělnění potravy, rychlostí pasáže potravy a rychlostí degradace potravy. Důležitý je i celkový denní příjem potravy. (BANNINK, 2007). Podle LODGE-IVEY *et al.* (2009) se mohou poměry kyselin u kanylovaných zvířat od skutečných hodnot lišit.

Porovnáním koncentrací kyselin v předpokusných a pokusných obdobích došlo zařazením přípravku Biopolym FZT, jako aditiva do výživy, ke změnám v zastoupení sledovaných kyselin. TABULKA 7 ukazuje vliv přípravku na snížení podílu kyseliny octové z průměrné hodnoty 67,10 na 64,48 %, zvýšení procentuálního obsahu kyseliny propionové z 15,88 na 17,64 a máselné z 6,97 na 9,44%. Průměrné procentuální obsahy sledovaných kyselin pro jednotlivá zvířata a období zobrazují TABULKY 29-34.

Z hlediska výživy je důležité sledovat poměr koncentrací kyseliny octové a propionové (C₂:C₃). U dojnic tyto dvě mastné kyseliny hrají významnou roli v jakostních ukazatelích mléka (obsah tuku a laktosy). Zhodnotíme-li bachorovou tekutinu v období, kdy zvířatům nebyl podáván přípravek Biopolym FZT, je průměrný poměr acetátu a propionátu 4,26, jak vyplývá z TABULKY 35 v přílohách. Poměr acetátu a propionátu je relativně vysoký. Procentuální zastoupení hlavních těkavých mastných kyselin závisí na druhu stravy. Krmnou dávku do pokusu zařazených zvířat tvořilo převážně seno. Pokud krmnou dávku tvoří pouze seno, pohybuje se poměr C₂: C₃ k hodnotám 4,2 až 4,6 (KUDRNA *et al.*, 1998, CHEN *et al.*, 2011, HERD *et al.*, 2013). Po zařazení biostimulačního přípravku do krmné dávky došlo ke snížení tohoto poměru. Pro zvíře A byl průměrný poměr acetátu a propionátu v pokusných obdobích $3,98 \pm 0,59$ a $4,00 \pm 0,42$, krávu B $4,17 \pm 0,44$ a $3,50 \pm 0,72$. Poměr C₂:C₃ třetí pokusné zvíře (C) dosáhl hodnot $3,38 \pm 0,62$; $3,96 \pm 0,51$, jak ukazují TABULKY 29-34. Průměrný poměr dvou hlavních bachorovou fermentací vzniklých kyselin se v pokusném období snížil na hodnotu 3,74, jak je vidět z TABULKY 35. Zvýšení obsahu kyseliny propionové ukazuje na stimulaci G- propionát produkující mikroorganismy při aplikaci přípravku Biopolym FZT (KHORRAMI, *et al.*, 2015). Pokles poměru C₂:C₃ může podle řady publikací souviset z velké míry s nárůstem protozoí. Pomnožením těchto mikroorganismů se mění procentuální zastoupení hlavních mastných kyselin. Zvyšuje se produkce kyseliny máselné a snižuje se poměr acetátu a propionátu (CHRISTIANSEN *et al.*, 1965, IVAN *et al.*, 1992). TABULKA 35 tyto změny potvrzuje. Průměrná koncentrace kyseliny octové se po aplikaci přípravku Biopolym FZT snížila z 67,10 na 64,48 mmol/l bachorové tekutiny. Naopak průměrný obsah kyseliny máselné, porovnáme-li období kontrolní a pokusné, se zvýšil z 6,97 na 9,44 mmol/l. Kyselina máselná vzniká v bachoru fermentačními rozklady činností protozoí a bakterií

(BARTOŠ, 1987, JELÍNEK *et al.*, 2003). Zvýšení protozoí vede ke zvýšení kyseliny máselné, jakožto konečného produktu fermentace těchto mikroorganismů (WILLIAMS, 1991, ABUBAKR *et al.*, 2013, KHORRAMI *et al.*, 2015).

Činností bakterií rodu *Butyrivibrio fibrisolvens*, jejichž obsah v bacheru činí 10-30% (KOPEČNÝ *et al.*, 2003), vzniká kyselina máselná rozkladem celulosy, ale zejména xylanů a samotné xylosy (HESPELL *et al.*, 1987, KOPEČNÝ *et al.*, 2003, KHORRAMI *et al.*, 2015). Mikroorganismy rodu *Butyrivibrio fibrisolvens* jsou velmi malé s pomalou reprodukcí. Množství kyseliny máselné značně závisí na druhu krmiva. Její obsah v bacherové tekutině je velmi nízký a její koncentrace je dána zejména konzumací slámy či krmiva s vysokým podílem dřevnatělých částí (BRYANT a SMALL, 1956, ČEPELJNIK a MARINŠEK LOGAN, 2002). Přípravek Biopolym FZT mohl přispět ke stimulaci obou skupin mikroorganismů.

Z hlediska posouzení bacherové fermentace a množení samotných mikroorganismů je důležitým kritériem obsah amonných iontů. Hladina amoniaku v bacheru závisí na pH bacherové tekutiny. Při pH nad 7,3 převládá neionizovaná forma NH_3 (JELÍNEK *et al.*, 2003). Naměřené hodnoty pH bacherové tekutiny v předpokusných obdobích byly blízké neutrální hodnotě. To je jeden z důvodů, proč byla naměřená koncentrace amonných iontů nízká. Podle TABULEK 29-34 se průměrné obsahy čpavku pohybovaly v rozmezí $1,90 \pm 0,31$ a $2,70 \pm 0,60$ mmol/l. Optimum pro mikrobiální syntézu je 5-6 mg/dl, což je v přepočtu 2,9-3,5 mmol/l (MCCARTHY *et al.*, 1989, FIRKINS *et al.*, 2007, JALLOW a HSIA, 2011). DVOŘÁK (2005) považuje za optimální hladinu alespoň 3-5 mmol/l.

Nízký podíl amoniaku také souvisí s výživou zvířat. Krmná dávka s vysokým podílem objemných krmiv a nízkým obsahem v bacheru rychle degradovatelných dusíkatých látek způsobuje i nižší hladinu amonných iontů v bacherové tekutině. (OLSON *et al.*, 1994b, DOLEŽAL a DOLEŽAL, 2004, DOLEŽAL *et al.*, 2005, ZEMAN, 2006). Z hlediska výživy a mikrobiální syntézy je doporučována krmná dávka s obsahem dusíkatých látek 13% a energetickou hodnotou 5,9 MJ NEL v 1 kg sušiny (MUDŘÍK *et al.*, 2006). Hodnoty koncentrací čpavku jsou závislé na místě, ze kterého byly vzorky bacherové tekutiny odebírány. Při odběrech z centrální oblasti bacheru může být hodnota až 10krát nižší než z oblasti kraniálních (LI *et al.*, 2009).

Porovnáním koncentrací amonných iontů v předpokusných a pokusných obdobích je možné říci, že došlo k navýšení obsahu této bacherové charakteristiky při aplikaci přípravku Biopolym FZT, z průměrné hodnoty 2,23 na 3,44 mmol/l, jak ukazuje TABULKA 7.

Nárůst koncentrací čpavku na průměrné hodnoty v pokusných obdobích ($3,52 \pm 0,73$ a $3,64 \pm 1,10$ mmol/l pro krávu A; $3,62 \pm 1,25$ a $3,43 \pm 1,07$ mmol/l pro B a $3,10 \pm 0,44$ a $3,34 \pm 1,16$ mmol/l pro C) potvrzující TABULKY 29-34, může být spojen s pomnožením protozoí. (VEIRA, 1986, IVAN *et al.*, 1992, JOUANY, 1996, HRISTOV *et al.*, 2001). Jejich schopnost pohlcovat bakterie (KLOPFENSTEIN *et al.*, 1966, JARVIS, 1988, DAS a ADHYA., 2012), využívat je jako zdroj dusíku souvisí i s vyšším uvolňováním čpavku při deaminačních procesech. Zvýšení protozoí znamená i zvýšení degradace proteinu bakterií (ABUBAKR *et al.*, 2013).

Nárůst koncentrace amonných iontů v bachorové tekutině není v souladu s teorií o funkci přípravku Biopolym FZT jako možné aditivní látky snižující emise čpavku. Preparát obsahuje látky s vysokou absorpční schopností plynů, jako jsou huminové kyseliny (VOSTOUPAL *et al.*, 2006b). Tyto látky by v bachoru měly vázat amonné ionty do komplexu, podobně jako zeolity (POWERS *et al.*, 1999, MC CRORY a HOBBS, 2001), a zpomalovat dostupnost amoniakálního dusíku pro bachorové mikroorganismy. V důsledku této regulace by se koncentrace amonných iontů v bachorové tekutině měla snížit.

Na obsahu dusíkatých látek obsažených v bachorové tekutině se podílí bílkoviny a látky nebílkovinné povahy jako jsou organické peptidy, aminokyseliny, nukleové kyseliny a látky anorganické jako je močovina, dusičnany, čpavek. Jsou důležitým zdrojem dusíku pro mikrobiální syntézu.

V předpokusném období se obsah dusíkatých látek pohyboval od $81,75 \pm 6,87$ do $105,98 \pm 16,14$ g/kg DM. Z TABULKY 35 lze vyčíst, že aplikací přípravku Biopolym FZT do výživy krav došlo ke zvýšení průměrného obsahu dusíkatých látek v bachorové tekutině z 91,4 na 106,1 g/kg DM. Obsah dusíkatých látek v bachorové tekutině dosáhl hodnot $109,69 \pm 13,54$ a $116,58 \pm 7,96$ g/kg DM pro pokusnou krávu A, $109,00 \pm 14,40$ a $99,60 \pm 8,94$ g/kg DM pro zvíře B a $97,35 \pm 8,38$; $104,06 \pm 10,88$ g/kg DM pro krávu C v pokusných obdobích. Nárůst dusíkatých látek může být způsoben pomnožením protozoí spojeného i s vyšší produkcí amonných iontů. Pohlcování bakterií nálevníky je spojeno s nižším množstvím proteinu dále vstupujícího do duodena (VEIRA, 1986, DAS a ADHYA, 2012).

Z hlediska statistického vyhodnocení vlivu přípravku Biopolym FZT na jednotlivé charakteristiky bachorové tekutiny bylo třeba provést nejprve porovnání krav v předpokusných obdobích. Pro pokusné účely byly použity tři kanylované krávy dvou rozdílných plemen a užitkovosti, a proto bylo třeba posoudit, zda jsou si zvířata z hlediska sledovaných chemických veličin rovnocenná.

Pro statistické vyhodnocení byl použit nejprve Levenův test pro posouzení homogenity dat. Podmínka homogenity dat nebyla splněna pouze pro celkový obsah TMK. Pro další statistické posouzení byly pro tuto veličinu použity neparametrické metody a Kruskal-Wallisův test. Ostatní sledovaná kritéria bachorové tekutiny byla testována analýzou rozptylu a Tukeyova testu. V TABULCE 7 jsou shrnuty výsledky statistických analýz pro období předpokusná, kdy zvířatům nebyl aplikován přípravek Biopolym FZT. Odděleně je uveden vliv pokusného zvířete a období.

TABULKA 7: Hodnoty charakteristik analýzy rozptylu předpokusných období

| | Vliv krávy | | Vliv období | |
|--|------------|--------|-------------|--------|
| | F/H | p | F/H | p |
| pH | 0,62 | 0,54 | 0,39 | 0,68 |
| nálevníci 10 ³ /1ml | 0,44 | 0,43 | 20,13 | <<0,01 |
| NH ₄ ⁺ mmol/l | 1,17 | 0,31 | 4,18 | 0,02 |
| TMK celkem mmol/l | 0,88* | 0,64 | 13,27 | <0,01 |
| kys.octová mmol/l | 1,75 | 0,18 | 11,01 | <<0,01 |
| kys.propionová mmol/l | 1,04 | 0,35 | 14,21* | <0,01 |
| C2:C3 | 0,17 | 0,81 | 3,9 | 0,02 |
| kys. máselná mmol/l | 13,97 | <<0,01 | 4,37* | 0,11 |
| N-látky g/kg | 0,21 | 0,21 | 9,38 | <0,01 |

* použit Kruskal-Wallisův test

Ze statistického hodnocení vyplývá, že v předpokusných obdobích se do pokusu zařazená zvířata prokazatelně liší pouze v obsahu kyseliny máselné. Statisticky významná rozdílnost byla mezi krávou A a B a mezi krávou B a C. Zvířata A a C jsou sice jiného plemene, ale porovnáním velikosti si odpovídají, takže i velikost bachoru, prostoru pro mikroorganismy, bude korespondovat. U krávy B, která se statisticky prokazatelně odlišovala od pokusných zvířat A a C byl průměrný obsah kyseliny máselné v bachorové tekutině 5,55 mmol/l. Průměrná koncentrace kyseliny máselné pro zvíře A byla 8,47 mmol/l a pro zvíře C 7,68 mmol/l. Pro porovnání předpokusných období s ohledem na jednotlivé úseky PP1, PP2 a PP3 bylo použito po testu homogenity dat (Levenův test) analýzy rozptylů s následným

Tukeyovým HSD testem pro všechna sledovaná kritéria bacherové tekutiny kromě kyseliny propionové a máselné. Pro jejich vyhodnocení bylo použito neparametrických metod a Kruskal-Wallisův test. Z analýz vyplývá, že období měření, statisticky prokazatelně ovlivňuje bacherovou fermentaci. Statisticky prokazatelné rozdíly mezi obdobími byly v počtu nálevníků, celkovém množství těkavých mastných kyselin, obsahu kyseliny octové a propionové a obsahu dusíkatých látek v bacherové tekutině. Průměrný obsah nálevníků byl prokazatelně nejvyšší v třetím předpokusném období (178 tisíc/1ml bacherové tekutiny). Průměrná hodnota v prvním předpokusném období byla 119 887 a ve druhém 130 333 protozoí v 1 ml bacherové tekutiny. V celkovém obsahu mastných kyselin se statisticky prokazatelně odlišovalo druhé období s nejnižší koncentrací 84,58 mmol/l. Průměrný celkový obsah TMK v prvním předpokusném období byl 96,89, ve třetím 92,53 mmol/l. Z hlediska kyseliny octové byl prokazatelný rozdíl mezi obdobími PP2 a PP1 a dále PP2 a PP3. Nejnižší koncentrace této kyseliny byla v druhém předpokusném období (63,43 mmol/l). V prvním předpokusném období byl obsah této kyseliny 72,68 a ve třetím 69,07 mmol/l. Koncentrace kyseliny propionové byla nejnižší také ve druhém předpokusném období a statisticky se prokazatelně odlišovala od prvního období. Průměrné obsahy kyseliny propionové činily 17,55; 15,09; 15,72 mmol/l pro PP1, PP2 a PP3. Průměrný obsah dusíkatých látek byl statisticky prokazatelně nejvyšší v prvním předpokusném období (102,5 g/kg DM). Průměrné hodnoty této charakteristiky bacherové tekutiny dosáhly hodnot 91,3 pro PP2 a 85,4 g/kg DM pro PP3. Vliv období nebyl statisticky prokazatelný pro pH bacherové tekutiny a obsah kyseliny máselné. Nižší teplota okolního prostředí souvisí s vyšší bacherovou fermentací, tedy s nárůstem koncentrace těkavých mastných kyselin i amonných iontů (TAJIMA *et al.*, 2006, GLANESSELA *et al.*, 2012). Při srovnání PP2 (září 2011) a PP3 (březen 2012) jsou sledované charakteristiky (obsah mastných kyselin, amonné ionty) vyšší ve třetím předpokusném období proti druhému. V prvním předpokusném období jsou obsahy mastných kyselin i amonných iontů vyšší proti následujícím obdobími. Tato skutečnost může být způsobena jinými meteorologickými podmínkami v tomto období. Na bacherové fermentaci se kromě teploty vnějšího prostředí významně podílí i vzdušná vlhkost. Pokud v období, kdy je vyšší teplota, je i vyšší vlhkost ovzduší, mohou být fermentační charakteristiky naopak vyšší v porovnání s obdobími s teplotami nižšími (TAJIMA *et al.*, 2006). Teplota i vzdušná vlhkost mají vliv i na množství a zastoupení bacherové mikroflóry (TAJIMA *et al.*, 2006). S tím také mohou souviset statisticky průkazné rozdíly mezi předpokusnými obdobími v obsahu nálevníků. Dusíkaté látky, na jejichž množství se podílí složení a obsah bacherové mikroflóry, jsou též ovlivněny předpokusnými obdobími.

Vliv přípravku Biopolym FZT na bachorovou fermentaci byl posuzován pro jednotlivá pokusná období. Pro testování jednotlivých charakteristik byly použity parametrické i neparametrické metody. Hodnoty charakteristik analýz rozptylu jsou uvedeny v TABULCE 8. Rozdíly sledovaných veličin pro jednotlivá období jsou zobrazeny v GRAFECH 20-27 v přílohách.

TABULKA 8: Hodnoty charakteristik analýzy rozptylu BT porovnání kontroly a pokusu

| | Období P1 | | Období P2 | | Období P3 | | Období | |
|--|---------------|---------------------|---------------|---------------------|---------------|---------------------|---------------|---------------------|
| | F/H | p | F/H | p | F/H | p | F/H | p |
| pH | 4,44 | 0,04 | 6,05 | 0,02 | 0,19 | 0,66 | 0,08 | 0,77 |
| nálevníci 10 ³ /1ml | 19,40* | <<0,01 | 27,62* | <<0,01 | 11,33* | <0,01 | 54,64* | <<0,01 |
| NH ₄ ⁺ mmol/l | 11,81* | <<0,01 | 18,86* | <<0,01 | 12,37* | <0,01 | 44,82* | <<0,01 |
| TMK celkem mmol/l | 2,38* | 0,12 | 2,61 | 0,11 | 2,41 | 0,13 | 0,81 | 0,37 |
| kys.octová mmol/l | 0,02 | 0,89 | 0,14 | 0,71 | 12,18 | <0,01 | 2,49 | 0,12 |
| kys.propionová mmol/l | 8,12 | <0,01 | 4,53 | 0,04 | 1,44 | 0,24 | 9,90 | <0,01 |
| C2:C3 | 5,53* | 0,02 | 6,74* | <0,01 | 21,41 | <<0,01 | 26,90* | <<0,01 |
| kys. máselná mmol/l | 1,79 | 0,19 | 28,98 | <<0,01 | 15,16 | <0,01 | 26,00 | <<0,01 |
| N-látky g/kg | 0,40* | 0,52 | 21,31 | <0,01 | 50,89 | <<0,01 | 29,28* | <<0,01 |

* použit Kruskal-Wallisův test

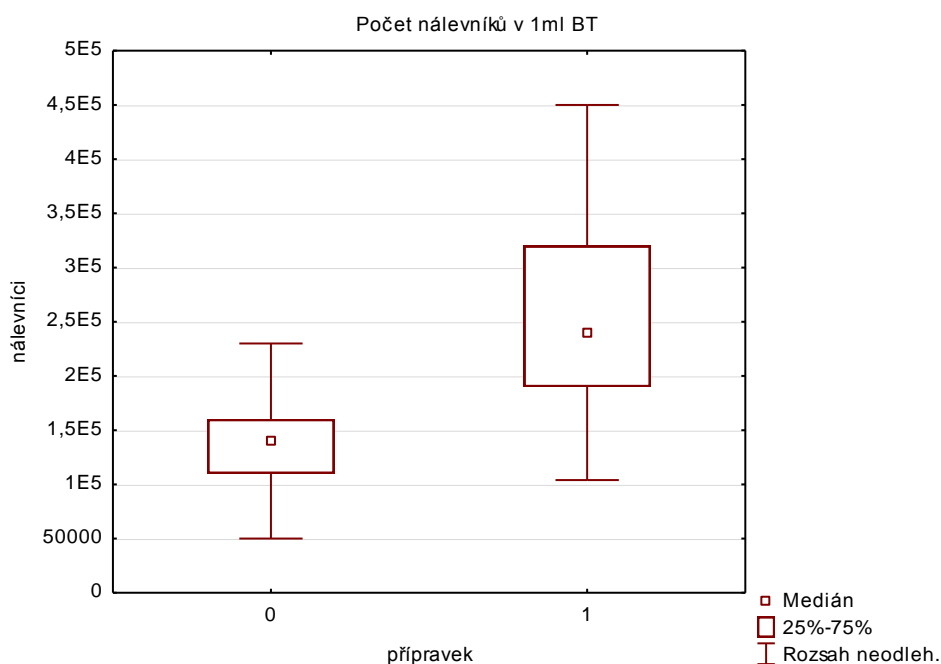
Pro všechna sledovaná kritéria bachorové tekutiny, kromě kyseliny máselné, při hodnocení vlivu přípravku nebyl uvažován faktor zvířete. Kyselinu máselnou, i když při posuzování pouze z hlediska období vyšel prokazatelný vliv přípravku, bylo třeba testovat z hlediska jednotlivých zvířat. V předpokusném období se v této charakteristice prokazatelně odlišovala kráva B, měla významně nejnížší obsah kyseliny máselné v bachoru. Při sledování vlivu přípravku na jednotlivá zvířata se statisticky průkazně odlišovala znovu pouze kráva B ($F=15,26$, $p<0,01$). Vliv přípravku na ostatní dvě zvířata byl statisticky neprůkazný. Pro krávu A kritéria analýzy rozptylu byla $F=1,72$, $p=0,20$ a pro krávu C $F=1,91$, $p=0,17$. Grafické porovnání je uvedeno v GRAFU 19 v přílohách. Koncentraci kyseliny máselné přípravek pozitivně ovlivnil pokusné zvíře s nejmenším tělesným rámcem. Zjištěný výsledek by ukazoval na potřebu zvýšení denní dávky přípravku Biopolym FZT z pohledu stimulace

mikroorganismů produkujících fermentačními procesy tuto kyselinu. Závěr koresponduje s posouzením vlivu přípravku na stravitelnost sušiny a NDF využitím metody *in vitro*. Z těchto analýz by měla být optimální denní dávka pro krávu mezi 24 a 48 ml.

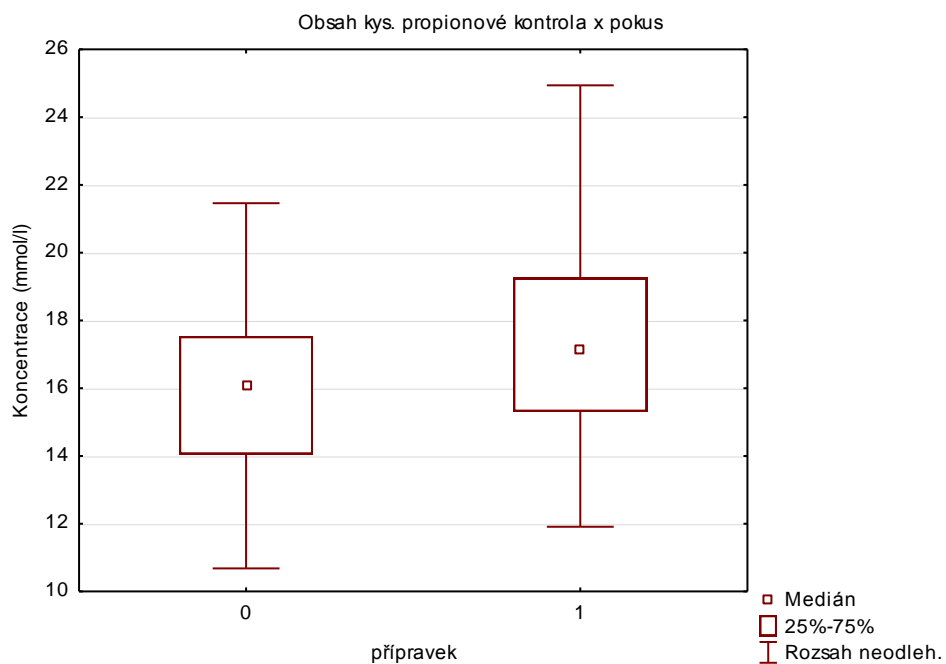
Z důvodu vyloučení změn vnějších vlivů (krmivo, klimatické podmínky aj.) byla v každém pokuse pro porovnání jedna kráva v kontrole (bez přípravku). Statistickým vyhodnocením bylo zjištěno, že průkazně se odlišují předpokusná období a pokusná období, kdy zvíře je bez přípravku, pouze u koncentrace amonných iontů ($F= 9,30$, $p<0,01$).

Ze všech statistických porovnání vyplývá, že zařazení přípravku Biopolym FZT průkazně ovlivnilo obsah nálevníků v bachorové tekutině, koncentraci kyseliny propionové, poměr obsahu kyseliny octové a propionové a celkový obsah dusíkatých látek. Grafické porovnání ukazují GRAFY 4,5,6,7.

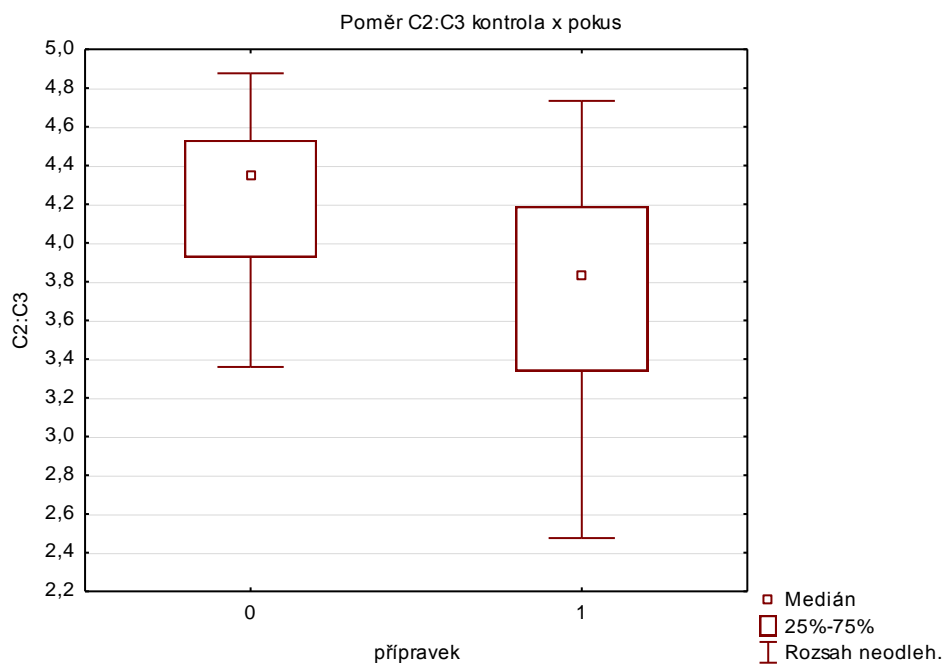
GRAF 4: Porovnání množství nálevníků v kontrolním a pokusném období



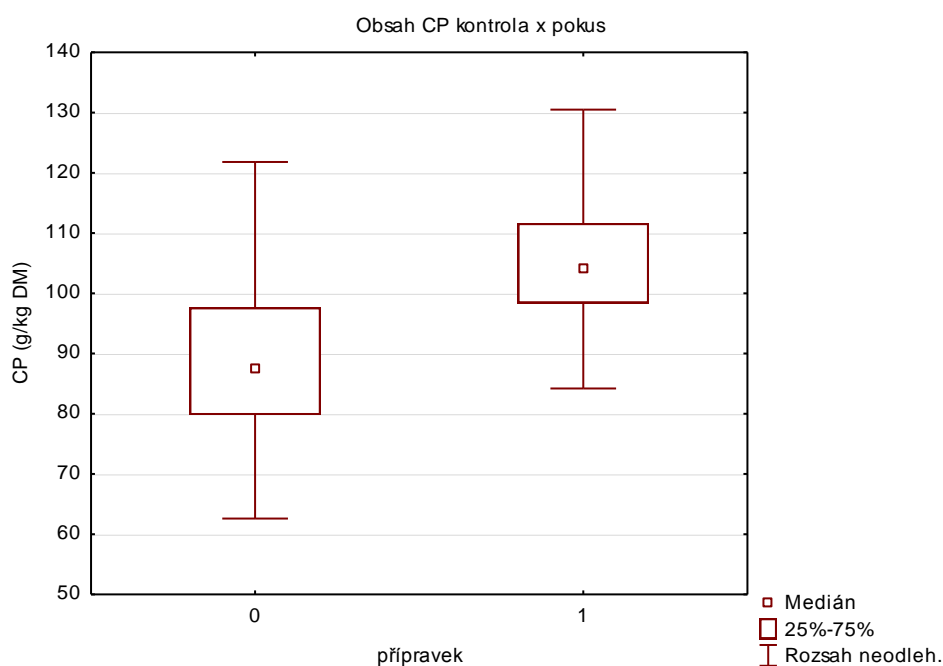
GRAF 5: Porovnání koncentrace k. propionové v kontrolním a pokusném období



GRAF 6: Porovnání poměru C2:C3 v kontrolním a pokusném období



GRAF 7: Porovnání poměru dusíkatých látek v kontrolním a pokusném období



Porovnání obsahu aminokyselin v bachorové tekutině

Hlavním zdrojem aminokyselin pro přežvýkavce je mikrobiální protein bachoru. Bachorová mikroflóra zahrnuje rozmanitou populaci mikroorganismů, která představuje více než 50 rodů bakterií, 25 rodů protozoí, 5 rodů hub (KAMRA, 2005). Jako zdroj dusíkatých látek kryje minimálně dvě třetiny celkové potřeby aminokyselin hostitelského zvířete (PATHAK, 2008), proto je důležité zaměřit se ve sledování možného vlivu přípravku Biopolym FZT na mikrobiální syntézu.

Přípravek Biopolym FZT by ve funkci aditivní látky měl přispívat ke zvýšení počtu bachorové mikroflory, tedy proteinu. Z hlediska množství aminokyselin při dávkování 24 ml přípravku na zvíře a den je význam přípravku jako zdroje bílkovin zanedbatelný. Aminokyselinové složení preparátu Biopolym FZT zjištěné po lyofilizaci a kyselé hydrolyze ukazuje TABULKA 49 v příloze. Na OBRÁZKU 8 v přílohách je v dokladu uvedeno certifikované složení přípravku pořízené výrobcem, které nepotvrzuje vysoký obsah dusíkatých látek v preparátu. Posuzujeme-li zdroje aminokyselin, vyskytují se v bachorové tekutině bakterie, protozoa, houby, bakteriofágy. Je třeba započítat i volné aminokyseliny vzniklé rozkladnou činností mikroorganismů. Jejich obsah v porovnání s mikrobiálními aminokyselinami je nízký (ASPLUND, 1994).

Obsah jednotlivých aminokyselin obsažených v bachorové tekutině byl stanoven po její filtraci přes gázu a lyofilizaci při -55°C . Byla určena i suma všech aminokyselin. Pro zjištění

koncentrací aminokyselin byla použita metoda intoměničové chromatografie po kyselé hydrolyze vzorků působením 6M kyseliny chlorovodíkové.

Během předpokusných a pokusných období byla bachorová tekutina denně odebírána ve stejnou dobu, vždy 3 hodiny od ranního nakrmení zvířat. Všechny parametry bachorové tekutiny, tedy i obsah aminokyselin závisí na době od nakrmení a od hodnot uváděných v publikacích se mohou lišit (MARTIN *et al.*, 1996). Rozdíl v koncentracích jednotlivých aminokyselin hodinu před nakrmením a hodinu po nakrmení může činit desítky μM (VELLE *et al.*, 1997).

Zjištěné průměrné koncentrace aminokyselin pro jednotlivá pokusná zvířata a období jsou uvedeny v TABULKÁCH 36,37,38 v přílohách. V tabulkách je zaznamenána i hodnota sušiny odebraných vzorků bachorové tekutiny. Průměrný obsah sušiny stanovené lyofilizací a následným sušením při 103°C dosahovaly hodnot od 15,5 do 18,6 g/kg. DEHORITY a TIRABASSO (1989) ve své práci stanovili průměrnou hodnotu sušiny bachorové tekutiny 1,56% při průměrné hustotě vzorků 1,005 g/ml.

Hodnoty obsahů aminokyselin lyofilizované bachorové tekutiny se nachází v oblasti hodnot uváděných v literatuře (RICHARDSON a TSIEN, 1963, SALLEM *et al.*, 2012). Porovnáním s daty uvedenými podle SALEEMA *et al.*, (2012) jsou hodnoty vyšší. Tato skutečnost je dána tím, že bachorová tekutina byla upravena odstředováním při 6000 x g po dobu 15 min a následně filtrována. Za těchto podmínek jsou odstraněna protozoa, jejichž obsah může dosahovat až 50% mikrobiální hmoty (BARTOŠ, 1987, BRULC *et al.*, 2009).

Z TABULEK 36, 37, 38 lze vyčíst rozdíl v koncentracích sledovaných aminokyselin pro jednotlivá pokusná zvířata. I zde se odráží skutečnost, že v pokusu byla použita kanylovaná zvířata dvou plemen. Celkový průměrný obsah aminokyselin v předpokusném období u krávy A (Holštýnský typ) byl 69,35; 57,96; 58,07 g/kg DM. U krav plemene Aberdeen Angus byly průměrné celkové obsahy aminokyselin za tři předpokusná období 54,85; 62,24; 57,85 g/kg DM pro krávu B a 70,96; 53,75; 53,81 g/kg DM pro krávu C. Obsah aminokyselin je podstatnou měrou dán bachorovou mikroflórou. Její zastoupení závisí na mnoha faktorech nejen genetických, druh zvířete, plemeno, užitkovost, ale také na vnějších činitelích, roční období, druh krmiva (LI *et al.*, 2009, HERNANDEZ-SANABRIA *et al.*, 2013). Velký vliv má i zvíře samotné, jeho věk, zdravotní stav. Také odlišnost mezi zvířaty stejného plemene je vysoká, až 20% (JAMI a MIZRAHI, 2012).

Z posledně uvedených tabulek vyplývá, že průměrné hodnoty celkového obsahu aminokyselin pro krávu A, která dostávala přípravek Biopolym FZT v prvním a druhém pokusném období je 75,89 a 57,08 g/kg DM. Průměrný celkový obsah aminokyselin pro

krávy Aberdeen Angus v pokusných obdobích byl 78,42; 58,70 g/kg DM u krávy B a 67,29; 62,55g/kg DM.

Celkové porovnání průměrných hodnot aminokyselin pro kontrolní a pokusné období ukazuje TABULKA 9.

TABULKA 9: Celkové porovnání průměrných obsahů aminokyselin (g/kg DM)

| AK | Kontrola | | | | Pokus | | | |
|------|----------|---------|---------|------|--------|---------|---------|-------|
| | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
| Asp | 8,30 | 5,60 | 11,30 | 1,43 | 8,85 | 6,27 | 12,61 | 1,52 |
| Thr | 3,55 | 1,94 | 4,74 | 0,51 | 3,78 | 2,68 | 5,26 | 0,72 |
| Ser | 3,14 | 1,68 | 4,47 | 0,52 | 3,07 | 2,25 | 4,65 | 0,62 |
| Glu | 10,91 | 7,54 | 16,16 | 2,16 | 9,39 | 6,65 | 15,89 | 1,84 |
| Pro | 2,65 | 1,66 | 3,88 | 0,57 | 2,73 | 0,81 | 4,19 | 0,73 |
| Gly | 3,57 | 2,24 | 4,69 | 0,47 | 3,61 | 2,65 | 5,24 | 0,67 |
| Ala | 3,92 | 0,20 | 5,28 | 0,73 | 4,55 | 3,40 | 6,33 | 0,79 |
| Cys | 0,27 | 0,09 | 2,98 | 0,36 | 0,19 | 0,10 | 0,34 | 0,06 |
| Val | 3,23 | 1,19 | 4,65 | 0,57 | 3,84 | 2,68 | 5,59 | 0,76 |
| Met | 1,44 | 0,87 | 2,61 | 0,34 | 1,65 | 0,94 | 2,37 | 0,33 |
| Ile | 3,18 | 2,16 | 4,69 | 0,60 | 3,87 | 2,75 | 5,65 | 0,71 |
| Leu | 5,25 | 3,76 | 7,49 | 0,88 | 5,82 | 1,34 | 8,20 | 1,24 |
| Tyr | 3,32 | 2,34 | 4,68 | 0,52 | 3,24 | 2,20 | 4,56 | 0,56 |
| Phe | 3,50 | 0,27 | 5,34 | 0,80 | 3,52 | 0,82 | 5,01 | 0,72 |
| His | 0,88 | 0,41 | 1,19 | 0,14 | 1,02 | 0,54 | 1,63 | 0,27 |
| Lys | 2,81 | 2,05 | 5,28 | 0,55 | 4,63 | 2,32 | 8,18 | 1,51 |
| Arg | 2,12 | 1,35 | 2,91 | 0,34 | 2,90 | 1,88 | 4,36 | 0,68 |
| Σ AK | 62,03 | 45,34 | 86,60 | 9,47 | 66,65 | 45,77 | 94,37 | 12,47 |

Celkový průměrný obsah aminokyselin se při porovnání pokusu vzhledem ke kontrole zvýšil z 62,03 g/kg DM na 66,65 g/kg DM. Vysvětlením tohoto navýšení může být již zmíněné pomnožení mikroorganismů, zejména protozoí a metanogenních bakterií žijících s nálevníky v symbióze (JARVIS, 1968, MEYER a MACKIE, 1986, IVAN *et al.*, 1992). Zvýšení celkového obsahu aminokyselin však může souviset i s přímou stimulací metanogenní mikroflóry po použití testovaného přípravku. Biopolym FZT byl úspěšně ověřován v bioplynových stanicích na podporu metanogenních bakterií. (GJUROV *et al.*, 2007, GJUROV *et al.*, 2008, VEVERKA *et al.*, 2011). Methanogenní populace využívaná v bioreaktorech a vyskytující se v bachoru je ze stejných řádů *Methanosarcinales* a *Methanobacteriales* (CHEN *et al* 2008, MORGAVI *et al.*, 2010). Tyto mikroorganismy velmi rychle reagují i na změny prostředí; pH, stopové prvky, kovy (CHEN *et al* 2008, LIU a WITHMAN 2008).

Z TABULKY 9 vyplývá, že významnější rozdíl mezi kontrolou a pokusem v jednotlivých sledovaných aminokyselinách je pouze u aminokyseliny lysin. K nárůstu došlo z průměrné hodnoty 2,81 g/kg DM, pro kontrolu, na 4,63 g/kg DM v pokuse. Důvodem může být právě nárůst protozoí, v jejichž aminokyselinovém profilu je vyšší koncentrace této aminokyseliny proti bakteriím (BARTOŠ, 1987, MARTIN *et al.*, 1996).

Hodnoty aminokyselin pro jednotlivá zvířata a období byla statisticky vyhodnocena. S ohledem na posouzení skutečného vlivu přípravku Biopolym FZT na aminokyselinové složení bachorové tekutiny byla nejprve testována předpokusná období. Do pokusného sledování byla zahrnuta kanylovaná zvířata dvou plemen; 2 krávy Aberdeen Angus a jedna Holštýn. Tato plemena se liší nejen z hlediska kraniologického (HAJIČ *et al.*, 1995), důležitá je ale i rozdílnost v užítkovosti spojená s odlišnostmi v období výživy telat (MUDŘÍK *et al.*, 2006, TANČIN *et al.*, 2013, LOURENCO, *et al.*, 2014).

Pro statistické vyhodnocení byl použit nejprve Levenův test pro posouzení homogenity dat. Podmínka homogenity nebyla splněna pro aminokyseliny threonin, glycin, alanin a leucin ($p < 0,05$). Hodnoty pro ostatní aminokyseliny a sumu aminokyselin byly dále testovány analýzou rozptylu. Pro zbývající byla použita metoda neparametrických testů.

Z analýzy rozptylu bylo zjištěno, že faktor zvířete ovlivňuje aminokyseliny serin, histidin, lysin a arginin. Pro hodnoty těchto aminokyselin byly provedeny post-hoc testy, Tukeyův HSD test. U aminokyseliny serin, histidin se statisticky prokazatelně od sebe odlišovala kráva A a kráva B. U aminokyseliny lysin se statisticky průkazně odlišovaly hodnoty pro zvíře A a B, dále pak hodnoty pro krávu A a C. U Argininu se statisticky průkazný vliv krávy nepodařilo prokázat. Z analýzy rozptylu při použití neparametrických metod a Kruskal-Wallisova testu se nepodařilo prokázat vliv zvířete na hodnoty aminokyseliny threonin, glycin, alanin, leucin.

V další části byly obsahy aminokyselin testovány z hlediska možnosti rozdílů mezi předpokusnými obdobími.

Levenův test prokázal nesplnění homogenity dat pro hodnoty aminokyselin serin, kyselinu asparagovou, glutamovou, prolin, leucin, tyrosin a rovněž pro celkové hodnoty aminokyselin (Σ AK). Pro testování analýzy rozptylu hodnot těchto aminokyselin byly použity neparametrické metody. U zbývajících aminokyselin byly provedeny post-hoc testy (Tukeyův HSD test); pro aminokyseliny threonin, alanin, valin, methionin, izoleucin a phenylalanin. U threoninu se nepodařilo prokázat statisticky významný vliv období na jeho obsahy v bachorové tekutině. U alaninu se statisticky průkazně odlišovaly hodnoty této aminokyseliny v období 1. a 3. U ostatních čtyř byla statisticky průkazná odlišnost mezi

obdobím 1. a 2. a 1. a 3. Jedná se o rozdíly mezi zářím 2010 a zářím 2011 a zářím 2010 a březnem 2012.

Z analýzy rozptylu použitím neparametrických metod a Kruskal-Wallisova testu se neprokázal statisticky významný vliv období pouze u obsahu aminokyseliny histidin. U kyseliny glutamové je statisticky průkazný rozdíl mezi zjištěnými množstvími této aminokyseliny v prvním a třetím období. U kyseliny asparagové, serinu prolinu, leucinu, tyrosinu a sumy všech aminokyselin se zjištěná data statisticky liší mezi 1. a 2. a 1. a 3. sledovaným předpokusným obdobím. Výsledky statistických analýz shrnuje TABULKA 10.

TABULKA 10: Charakteristiky analýzy rozptylu pro obsah AK v předpokusných obdobích

| AK | vliv krávy | | vliv období | |
|-------------|------------|------|-------------|--------|
| | F/H | p | F/H | p |
| Asp | 0,88 | 0,42 | 17,25* | <0,01 |
| Thr | 4,72* | 0,09 | 3,11 | 0,04 |
| Ser | 3,27 | 0,04 | 10,14* | <0,01 |
| Glu | 0,34 | 0,71 | 11,31* | <0,01 |
| Pro | 1,06 | 0,35 | 14,58* | <0,01 |
| Gly | 2,97* | 0,23 | 2,98 | 0,06 |
| Ala | 1,84* | 0,40 | 4,26 | 0,02 |
| Cys | 0,61 | 0,55 | 2,52 | 0,09 |
| Val | 0,32 | 0,72 | 5,80 | <0,01 |
| Met | 0,02 | 0,98 | 8,07 | <0,01 |
| Ile | 0,10 | 0,91 | 8,06 | <0,01 |
| Leu | 3,12* | 0,21 | 19,06* | <0,01 |
| Tyr | 2,57 | 0,08 | 16,27* | <0,01 |
| Phe | 1,90 | 0,16 | 13,81 | <<0,01 |
| His | 4,03 | 0,02 | 1,27 | 0,53 |
| Lys | 5,59 | 0,01 | 0,03 | 0,97 |
| Arg | 3,21 | 0,04 | 1,66 | 0,20 |
| Σ AK | 1,18 | 0,31 | 14,39 | <0,01 |

* použit Kruskal-Wallisův test

Parametry bachorové tekutiny, tedy i obsahy aminokyselin, jsou závislé na řadě vnějších vlivů, také na ročním období (LODGE-IVEY *et al.*, 2009). Teplota prostředí souvisí s příjmem krmiva, což může ovlivnit i činnost bachorové mikroflóry (ZEMAN, 2006). Podle KLABZUBY a KOŽNAROVÉ (2002) je optimální teplota pro krávy vazně ustájené 10-12°C. Kromě teploty variabilita bachorové mikroflóry souvisí i s obsahem vzdušné vlhkosti (TAJIMA *et al.*, 2006).

S ohledem na dostupná data a z provedených analýz předpokusných období nebylo možno použít více faktorovou analýzu rozptylu, aby se dalo jednoznačně určit vliv použití přípravku Biopolym FZT na aminokyselinové složení bachorové tekutiny. Z tohoto důvodu byla v dalším statistickém vyhodnocení detailně posuzována jednotlivá období a pokusná zvířata samostatně.

Při posuzování vlivu přípravku na obsah aminokyselin v jednotlivých obdobích po provedení testu na homogenitu dat byla použita metoda analýzy rozptylu vícenásobného porovnání. Výsledky statistických analýz shrnuje TABULKA 11.

TABULKA 11: Charakteristiky analýzy rozptylu pro testovaná pokusná období pro obsah AK

| AK | P1 období | | P2 období | | P3 období | |
|------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
| | F/H | p | F/H | p | F/H | p |
| Asp | 10,94 | <0,01 | 0,03 | 0,86 | 9,65* | <0,01 |
| Thr | 0,00* | 0,97 | 9,36 | 0,00 | 0,00* | 0,96 |
| Ser | 0,87* | 0,35 | 5,65* | 0,02 | 0,87* | 0,35 |
| Glu | 0,03 | 0,86 | 1,52* | 0,22 | 0,78* | 0,38 |
| Pro | 0,40* | 0,53 | 0,15 | 0,70 | 0,40* | 0,53 |
| Gly | 0,96 | 0,34 | 6,98* | <0,01 | 1,48* | 0,22 |
| Ala | 8,28 | 0,01 | 1,75* | 0,19 | 1,40* | 0,20 |
| Cys | 33,48 | <<0,01 | 19,40* | <<0,01 | 18,11 | <0,01 |
| Val | 13,43 | <0,01 | 3,04 | 0,09 | 3,36* | 0,07 |
| Met | 1,41 | 0,24 | 0,63* | 0,43 | 11,09 | <0,01 |
| Ile | 16,38* | <0,01 | 1,31* | 0,25 | 24,48* | <<0,01 |
| Leu | 13,01* | <0,01 | 0,46 | 0,50 | 8,57* | <0,01 |
| Tyr | 0,69* | 0,41 | 4,63 | 0,04 | 0,69* | 0,41 |
| Phe | 0,35 | 0,56 | 1,99* | 0,16 | 0,41* | 0,52 |
| His | 0,04* | 0,95 | 12,16 | 0,00 | 0,00* | 0,95 |
| Lys | 10,59* | <0,01 | 0,95 | 0,34 | 19,96* | <<0,01 |
| Arg | 14,52 | <<0,01 | 0,62* | 0,43 | 7,64* | <0,01 |
| ∑ AK | 4,83* | 0,03 | 1,31* | 0,25 | 2,48* | 0,12 |

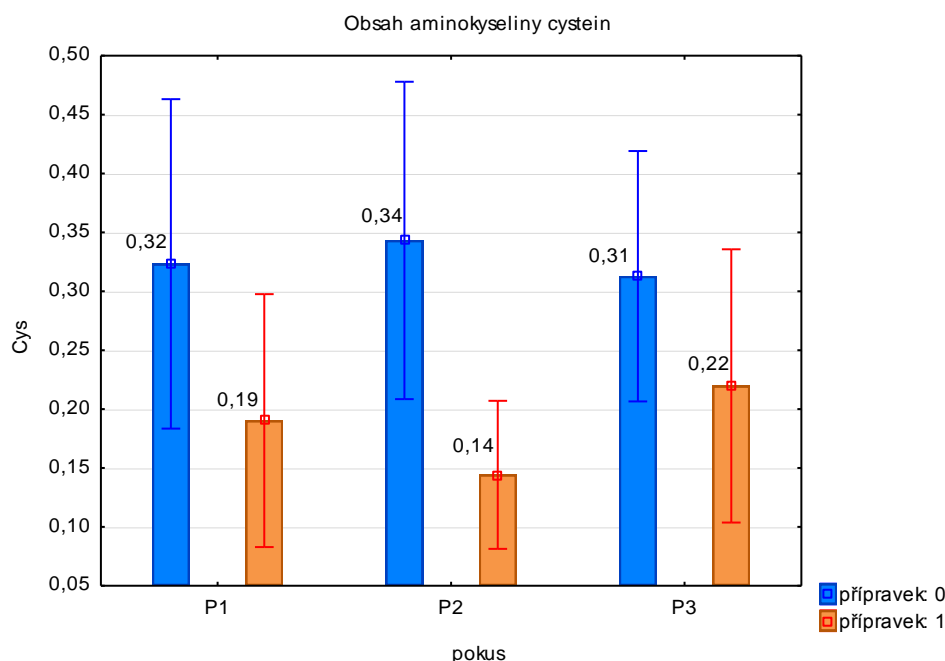
* použit Kruskal-Wallisův test

Z tabulky vyplývá, že pro první testované období, říjen 2010, se podařilo statisticky prokázat, že přípravek ovlivnil množství aminokyseliny alanin, arginin, kyselinu asparagovou, cystein, isoleucin, leucin, lysin, valin a celkový obsah aminokyselin. V pokusném období P2 (říjen 2011) statisticky prokazatelně přípravek ovlivnil hodnoty aminokyselin cystein, glycin, histidin, serin, threonin a tyrosin. V posledním období (duben 2012) měl přípravek statisticky prokazatelný vliv na aminokyselinu asparagovou, arginin, cystein, isoleucin, leucin, lysin a

methionin. Ve všech třech sledovaných obdobích měl přípravek statisticky významný vliv na obsah aminokyseliny cystein.

Porovnání kontroly (bez přípravku Biopolym FZT) a pokusu demonstruje GRAF 8. Zařazením přípravku Biopolym FZT došlo ke snížení aminokyseliny cystein z hodnoty 0,32 na 0,19 g/kg DM v prvním pokusném období. V druhém pokusném období se obsah této aminokyseliny snížil z 0,34 na 0,14 g/kg DM. Ve třetím pokusném období poklesl obsah cysteinu z 0,31 na 0,22 g/kg DM. Zastoupení této aminokyseliny v bílkovině protozoí a bakterií je srovnatelné (MARTIN *et al.*, 1996, YANG *et al.*, 2001, JENSEN *et al.*, 2006). Z hlediska aminokyselinového složení existují rozdíly mezi volnými a adherovanými bakteriemi, které jsou hlavními zdroji proteinu vstupujícího dále do duodena. U volných bakterií je obsah této aminokyseliny nižší (ZEBELI *et al.*, 2008).

GRAF 8: Vliv přípravku Biopolym FZT na obsah cysteinu (g/kg DM) v pokusných obdobích



Pro vliv přípravku na obsah aminokyselin pro každé pokusné zvíře byla použita analýza rozptylu vícestupňového porovnání v návaznosti na test homogenity dat. Výsledky statistických analýz shrnuje TABULKA 12.

TABULKA 12: Charakteristiky analýzy rozptylu pro krávy v pokuse

| AK | Kráva A | | Kráva B | | Kráva C | |
|------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|
| | F/H | p | F/H | p | F/H | p |
| Asp | 9,65* | <0,01 | 4,47 | 0,04 | 12,38 | <0,01 |
| Thr | 0,09 | 0,77 | 0,03* | 0,86 | 0,46 | 0,50 |
| Ser | 0,87* | 0,35 | 0,38* | 0,54 | 0,04 | 0,83 |
| Glu | 0,02 | 0,90 | 0,27 | 0,61 | 0,03 | 0,86 |
| Pro | 0,40* | 0,53 | 0,12* | 0,72 | 0,22 | 0,64 |
| Gly | 1,48* | 0,22 | 0,28* | 0,60 | 0,10 | 0,75 |
| Ala | 1,40* | 0,24 | 0,09* | 0,76 | 3,36 | 0,07 |
| Cys | 48,63 | <<0,01 | 22,63 | <<0,01 | 113,91 | <<0,01 |
| Val | 3,36* | 0,06 | 1,02* | 0,31 | 5,58 | 0,02 |
| Met | 3,26* | 0,08 | 0,38* | 0,54 | 3,79 | 0,05 |
| Ile | 24,48* | <<0,01 | 7,68* | <0,01 | 27,38 | <<0,01 |
| Leu | 8,56* | <0,01 | 2,24* | 0,13 | 7,93 | 0,01 |
| Tyr | 0,69* | 0,41 | 0,44* | 0,51 | 0,33 | 0,57 |
| Phe | 0,41* | 0,52 | 0,09* | 0,76 | 0,79 | 0,38 |
| His | 0,00* | 0,95 | 0,19* | 0,66 | 0,60 | 0,44 |
| Lys | 19,96 | <<0,01 | 6,22 | 0,02 | 23,97 | <<0,01 |
| Arg | 7,64* | <0,01 | 1,52* | 0,22 | 11,48 | <0,01 |
| ∑ AK | 2,48* | 0,11 | 0,38* | 0,54 | 4,39 | 0,04 |

* použit Kruskal-Wallisův test

U testovaného zvířete A byl statisticky průkazný vliv přípravku na aminokyselinu asparagovou, cystein, lysin, isoleucin a leucin. Pro pokusné zvíře B přípravek statisticky průkazně ovlivnil aminokyselinu asparagovou, cystein, isoleucin a lysin. U pokusného zvířete C bylo statisticky významné působení přípravku na aminokyselinu cystein, isoleucin a lysin.

U všech pokusných zvířat byl statisticky průkazný vliv přípravku Biopolym FZT na obsah aminokyselin cystein, isoleucin a lysin. Pokud budeme brát v úvahu, že zvířata B a C jsou stejného plemene, průkazný je i vliv přípravku na kyselinu asparagovou.

Aminokyseliny isoleucin a lysin patří mezi esenciální aminokyseliny (BOISEN *et al.*, 2000, KUDRNA a HOMOLKA, 2009). Lysin spolu s methioninem jsou nejdůležitějšími aminokyselinami pro růst a produkci mléka (BOGUHN *et al.*, 2006, SÝKORA *et al.*, 2007). Snížení obsahu cysteinu může souviset s metabolismem methioninu, z něhož se tvoří (KLEMESRUD *et al.*, 2000). Methionin je první limitující aminokyselina pro syntézu bílkovin vykrmovaného i dojeného skotu a pro produkci vlny ovcí (SÝKORA *et al.*, 2007). Při posuzování vlivu přípravku se podařilo prokázat, že přípravek měl prokazatelný vliv na obsah této aminokyseliny pouze ve třetím období.

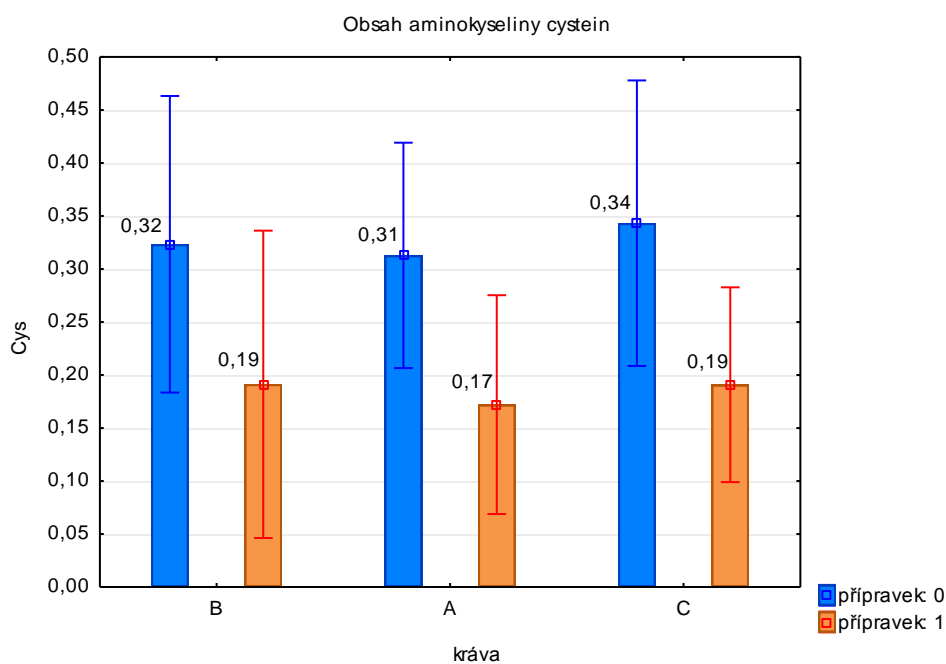
Zvýšení aminokyseliny Asp, Ile, Lys koresponduje s navýšením protozoí. Tyto mikroorganismy mají procentuálně vyšší obsah právě těchto aminokyselin proti bakteriím (MARTIN *et al.*, 1996).

Při posuzování bakterií je obsah těchto aminokyselin nižší u volných mikroorganismů proti adherovaným (ZEBELI *et al.*, 2008). Podle WANGA *et al.* (2011) se aminokyselinový profil bachorových bakterií zdá být konstantní, složením krmné směsi nebo zařazením aditiv jen málo ovlivnitelný.

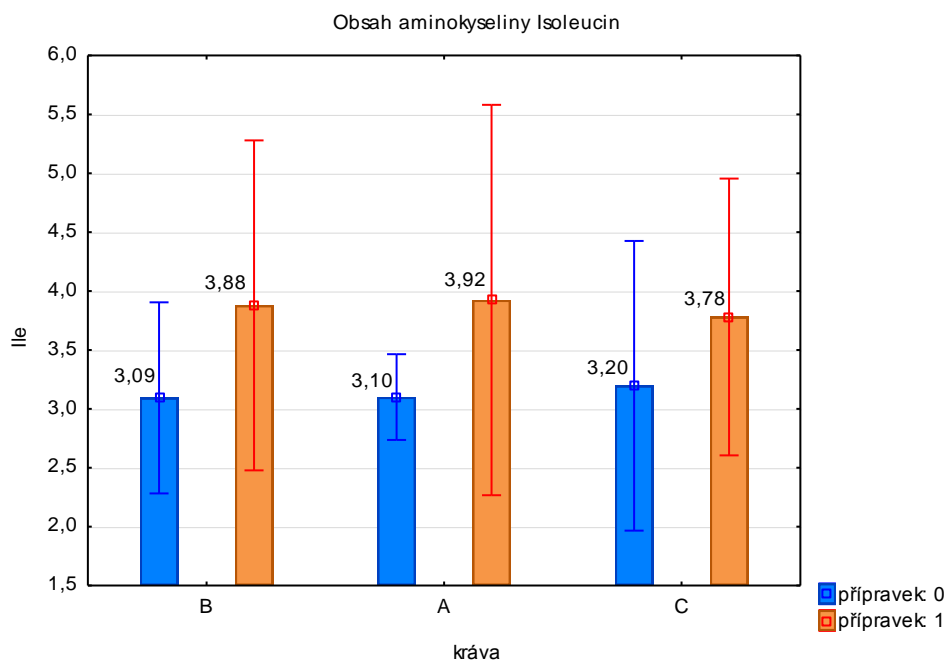
JALLOW a CHSIJA (2011) přidávali 6 různých krmivových doplňků. Celkový obsah aminokyselin v bachorové tekutině se statisticky průkazně nezměnil ani v jednom případě. Při porovnání aminokyselinového spektra se statisticky průkazně změnil obsah aminokyseliny Asp, Cys, Lys, Ile.

Porovnání obsahů statisticky průkazně přípravkem ovlivněných aminokyselin dokládají GRAFY 9,10,11,12.

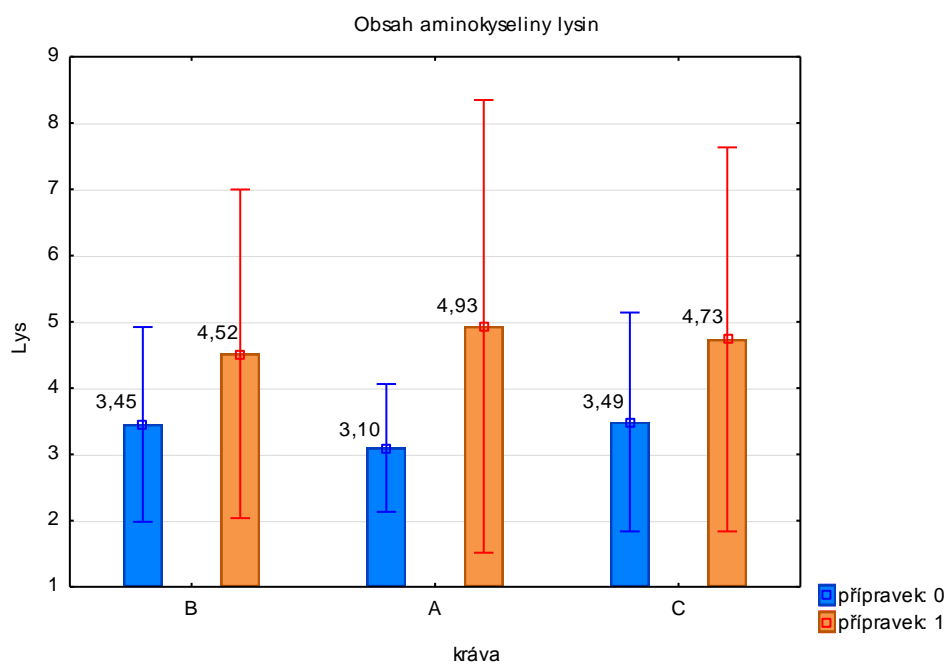
GRAF 9: Vliv přípravku Biopolym FZT na obsah cysteinu (g/kg DM) pro pokusné krávy



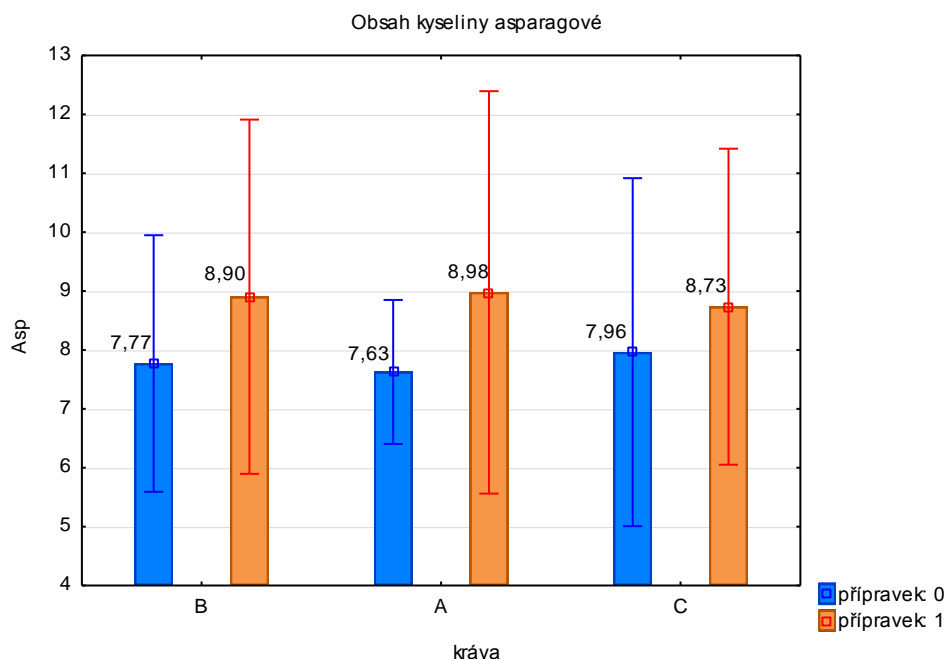
GRAF 10: Vliv přípravku Biopolym FZT na obsah aminokyseliny isoleucin (g/kg DM) pro pokusné krávy



GRAF 11: Vliv přípravku Biopolym FZT na obsah aminokyseliny lysin (g/kg DM) pro pokusné krávy



GRAF 12: Vliv přípravku Biopolym FZT na obsah kyseliny asparagové (g/kg DM) pro pokusné krávy



Průměrný obsah aminokyseliny cysteinu se u krávy A snížil z hodnoty 0,31 pro kontrolu na 0,17 g/kg DM pro pokus. U krávy B došlo ke snížení obsahu této aminokyseliny z 0,39 na 0,19 g/kg DM. U krávy C došlo k poklesu obsahu cysteinu v bacherové tekutině z 0,34 na 0,19g/kg. Naopak u isoleucinu došlo ke zvýšení její koncentrace v bacherové tekutině pro všechna pokusná zvířata. Pro krávu A z průměrné hodnoty 3,10 na 3,92 g/kg DM, pro krávu B z 3,09 na 3,88 g/kg DM a pro krávu C z 3,20 na 3,88 g/kg DM, viz GRAF 10. GRAF 11 zobrazuje zvýšení obsahu aminokyseliny lysin pro sledované krávy v předpokusných a pokusných obdobích. U krávy A došlo ke zvýšení množství této aminokyseliny z 3,10 na 4,93 g/kg DM, u krávy B z 3,45 na 4,52 g/kg DM, u krávy C z 3,49 na 4,73 g/kg DM. GRAF 12 porovnává obsah kyseliny asparagové v bacherové tekutině pro pokusná zvířata v kontrole a pokusu. K průměrnému zvýšení obsahu této aminokyseliny došlo u krávy A ze 7,63 na hodnotu 8,98 g/kg DM, u krávy B ze 7,77 na 8,90 g/kg DM. Obsah kyseliny asparagové se zvýšil z průměrné kontrolní hodnoty 7,96 na 8,73 g/kg DM.

Rozdíl v celkovém obsahu aminokyselin, který koresponduje s celkovým množstvím mikroorganismů v bacherové tekutině, byl statisticky průkazný pouze v porovnání prvního předpokusného a pokusného období. Z hlediska pokusných zvířat byl statisticky průkazný rozdíl mezi kontrolou a pokusem pouze u krávy C. Je třeba si uvědomit, že stanovení celkového obsahu aminokyselin postihuje jen část bacherových mikroorganismů. Z bakterií,

kteří tvoří 90-95% mikrobiální populace (BRULC *et al.*, 2009), je podle YANGA *et al.* (2001) 50-70 % adherovaných na částice krmiva.

Z porovnání pokusných období a krav v pokuse je patrné, že větší variabilita přípravkem ovlivněných aminokyselin se vyskytla u faktoru období. Z hlediska plemenného byla ve zvířatech odlišnost, faktor vnějšího prostředí byl stejný (krmivo, stájové podmínky). Posuzujeme-li rozdílnost období mezi sebou, velký vliv zde může mít faktor krmiva. Zvířata byla krmena převážně senem. Během skladování dochází ke změnám nutričním, ale je zde i možnost snížení kvality z hlediska toxikologického, napadení plísněmi. Méně kvalitní, až nevyhovující krmivo, působí negativně na bachorovou mikrofloru (XIAO *et al.*, 1991, ZEMAN, 2006, MOBASHAR *et al.*, 2010).

Z celkového srovnání aminokyselinového složení vzorků bachorové tekutiny vyplývá, že přípravek Biopolym FZT významně neovlivňuje množství bachorové mikroflóry. Závěr odpovídá tvrzení WANGA *et al.* (2011), že aminokyselinový profil bachorových mikroorganismů se zdá být konstantní, složením krmné směsi nebo zařazením aditiv jen málo ovlivnitelný.

Porovnání dusíkatých látek ve výkalech

K porovnání změn stravitelnosti krmiv lze využít také obsah dusíkatých látek ve výkalech. Podle LUKASE *et al.* (2005) jde o nepřímou exponenciální závislost.

V TABULCE 13 je porovnání průměrných obsahů dusíkatých látek ve výkalech pro zvířata v kontrole a pokuse, kdy byl kravám podáván přípravek Biopolym FZT. Z této tabulky lze zjistit, že se průměrný obsah dusíkatých látek vztažených na sušinu nebo organickou hmotu výkalů po aplikaci přípravku zvýšil.

TABULKA 13: Porovnání dusíkatých látek ve výkalech

| | Kontrola | | Pokus | |
|---------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | N-látky (g/kg DM) | N-látky (g/kg OM) | N-látky (g/kg DM) | N-látky (g/kg OM) |
| Průměr | 81,5 | 90,0 | 94,0 | 106,5 |
| Minimum | 55,1 | 61,3 | 74,0 | 80,9 |
| Maximum | 106,6 | 118,5 | 119,2 | 134,1 |
| S. D. | 9,4 | 11,1 | 10,7 | 13,0 |

Stejný závěr potvrzuje i TABULKA 28 v přílohách, kde jsou uvedeny průměrné hodnoty obsahů pro jednotlivá pokusná zvířata. Obsahy dusíkatých látek jsou nižší proti běžným hodnotám (VAN VLLET *et al.*, 2007). Vysvětlením je nízký obsah dusíkatých látek v krmivu, což potvrzuje TABULKA 25 v přílohách.

Dusíkaté látky ve výkalech jsou z 50% tvořeny bílkovinným dusíkem a z 50% amoniakálním dusíkem (MC CRORY a HOBBS, 2001, TANČIN *et al.*, 2013). Zvýšení dusíkatých látek po zařazení sledovaného přípravku do výživy krav může souviset se snížením stravitelnosti živin (LUKAS *et al.*, 2005, VAN VLLET *et al.*, 2007). Ve studii SANTRY a KARIMA (2000) nárůst protozoí v bachorové tekutině snižuje konverzi krmiva a tím také stravitelnost živin.

Podle VOSTOUPALA *et al.* (2006) a VOSTOUPALA *et al.* (2007b) přípravek Biopolym FZT obsahuje vysoké zastoupení uronových kyselin, které jsou schopny vyvázat plynné zplodiny trávení do komplexu, a zvýšit tak obsah dusíkatých látek ve výkalech. Došlo by tak ke snížení koncentrace jednoho z plynů, který se významně podílí na skleníkovém efektu (AMON *et al.*, 2006, STACKHOUSE-LAWSON *et al.*, 2013).

Statistickým vyhodnocením dusíkatých látek v sušině a organické hmotě bylo zjištěno, že naměřená data jsou homogenní. Pro statistické posouzení vlivu krav bylo analýzou rozptylu potvrzeno, že není statisticky průkazný rozdíl mezi pokusnými zvířaty. Pro obsah dusíkatých látek v sušině byly charakteristiky ($F=0,57$, $p=0,57$), pro obsah CP v organické hmotě ($F=0,19$, $p=0,83$). Statistickou analýzou (analýza rozptylu) vlivu období na obsah dusíkatých látek ve výkalech před pokusem nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. Statistické charakteristiky byly $F=0,05$, $p=0,94$ pro obsah dusíkatých látek v sušině a $F=0,01$, $p=0,98$ pro obsah dusíkatých látek v organické hmotě.

Ve statistickém vyhodnocení vlivu přípravku Biopolym FZT na obsah dusíkatých látek ve výkalech byly po provedení testu na homogenitu dat (Levenův test) použita analýza rozptylu. Výsledky statistických charakteristik jsou uvedeny v TABULCE 14.

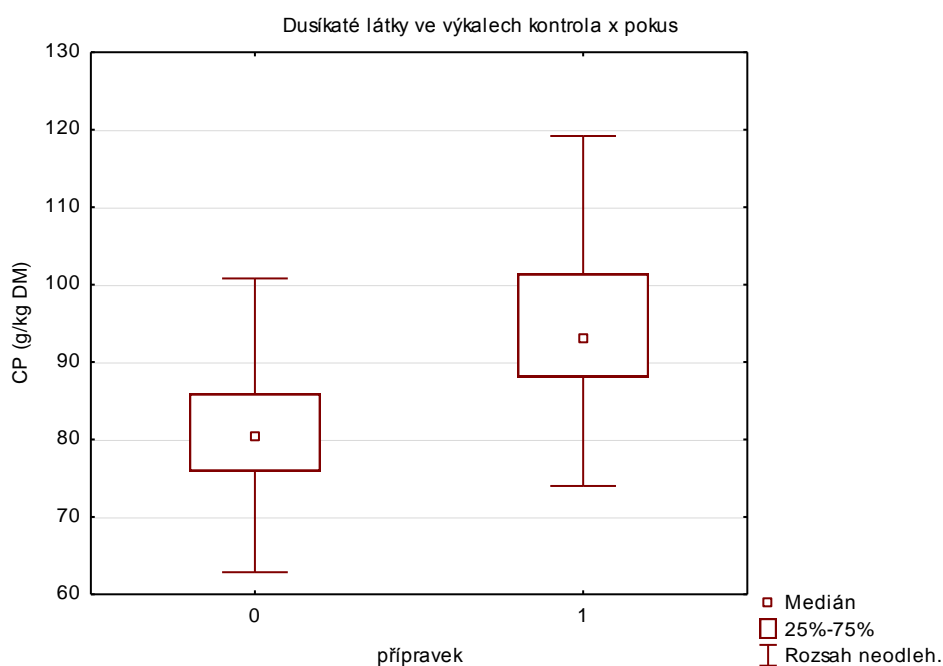
TABULKA 14: Charakteristiky analýzy rozptylu pro dusíkaté látky ve výkalech

| | CP (g/kg DM) | | CP (g/kg OM) | |
|-----------|--------------|---------------------|--------------|---------------------|
| | F | p | F | p |
| přípravek | 46,46 | <<0,01 | 58,01 | <<0,01 |
| období | 0,06 | 0,94 | 0,33 | 0,42 |
| kráva | 1,47 | 0,23 | 2,66 | 0,07 |

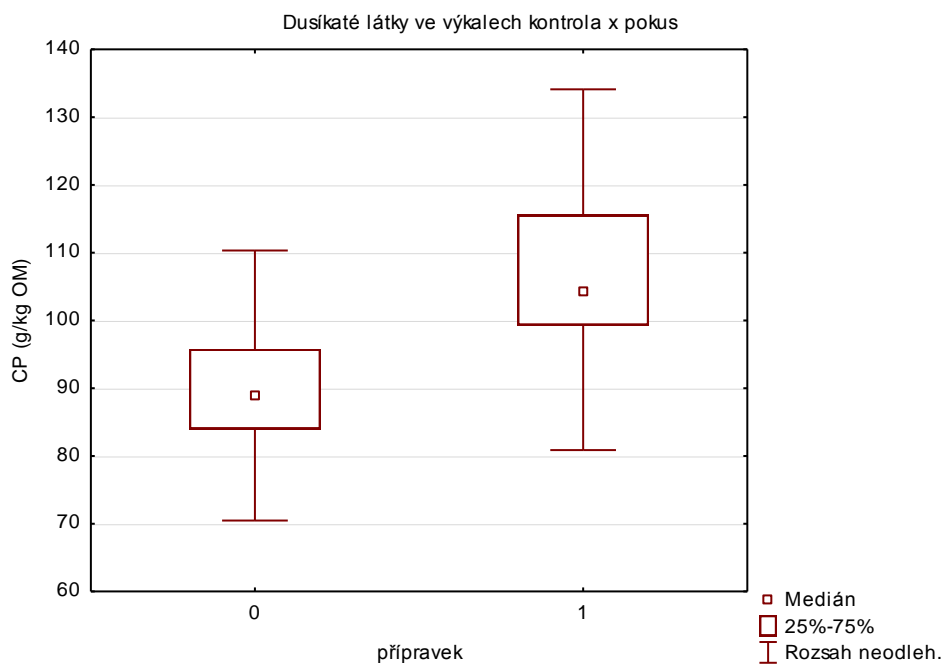
Z analýzy rozptylu vyplývá, že na obsah dusíkatých látek ve výkalech má prokazatelný vliv přípravek. Vliv období ani pokusného zvířete nebyl statisticky významný.

V GRAFECH 13 a 14 je uvedeno grafické porovnání obsahů dusíkatých látek ve výkalech pro obsahy této charakteristiky vztažené na sušinu a organickou hmotu.

GRAF 13: Vliv přípravku na obsah dusíkatých látek ve výkalech (g/kg DM)



GRAF 14: Vliv přípravku na obsah dusíkatých látek ve výkalech (g/kg OM)



Obsah dusíkatých látek ve výkalech se zvýšil pro krávu A z 80,9 na 97,9 g/kg DM, což odpovídá zvýšení z 89,9 na 112,3 g/kg OM. U krávy B došlo ke zvýšení koncentrace dusíkatých látek ve výkalech z 81,5 na 91,2 g/kg DM a z 90,5 na 102,5g/kg OM. Nárůst obsahu této veličiny byl zaznamenán i pro pokusné zvíře C (z 82,0 na 93,0 g/kg DM, resp. 89,6 na 104,6 g/kg OM. Podrobnější analýzu z hlediska pokusných zvířat ukazují GRAFY 28, 29 v přílohách.

Zvýšení obsahu dusíkatých látek ve výkalech potvrzují i některé studie testující vliv aditivních látek zařazených do výživy přežvýkavců s cílem stimulace bachorové mikroflory. LIN *et al.* (2015) zaznamenal nárůst množství dusíkatých látek ve výkalech dojníc po aplikaci 2-hydroxy-4-methylthio máselné kyseliny. Použití rozmarýnových listů, nebo extraktu z nich, s cílem zlepšení bachorové stravitelnosti vedlo ke zvýšení obsahu dusíkatých látek ve výkalech koz (SMETI *et al.*, 2015).

Z hlediska vyloučení možných vnějších vlivů bylo provedeno statistické porovnání obsahu dusíkatých látek ve výkalech u zvířat před pokusem a v době pokusu, kdy pokusná kráva byla kontrolní, nedostávala testovaný přípravek. Pro vyhodnocení rozdílů obsahů dusíkatých látek ve výkalech vztažených na organickou hmotu mezi předpokusným a pokusným obdobím pro zvíře v kontrole byla použita analýza rozptylu. Hodnoty dusíkatých látek ve výkalech byly testovány neparametrickou metodou. Z výsledných charakteristik $F=0,08$, $p=0,77$ a $H=0,11$, $p=0,74$ můžeme vyloučit vliv vnějšího faktoru, který by znamenal změnu podmínek mezi předpokusným a pokusným obdobím.

5.3. Stanovení degradovatelnosti organické hmoty u vzorků pastevního porostu metodou *in sacco*

Vliv přípravku Biopolym FZT na degradovatelnost sušiny organické hmoty, dusíkatých látek a frakcí vlákniny byl ověřován metodou *in sacco*. Doba inkubace sáčků v bachoru byla obvyklých 48 hodin (BARBER *et al.*, 1990, ANDRIGHETTO *et al.*, 1992). Čas inkubace byl vybrán vzhledem k metodice použité při zjišťování degradovatelnosti *in vitro*, v první části práce. Výsledky obou metod jsou pak srovnatelné (TAGLIAPIETRA *et al.*, 2012). Doba, po kterou jsou vzorky podrobeny bachorové degradaci, je důležitá z hlediska počtu mikroorganismů, které prostoupí přes tkaninu sáčku k degradované hmotě. Maxima počtu protozoí uvnitř sáčku je dosaženo už po 12 hodinové inkubaci, u bakterií je to až po 16 hodinách (MEYER a MACKIE, 1986).

Na výsledky *in sacco* degradovatelnosti živin má vliv řada faktorů. Pro pokus byly zvoleny inkubační sáčky velikosti 5 x 13 cm. Při navážce vzorku 2,5 g byl splněn požadavek na poměr

mezi navážkou a plochou povrchu sáčku (VANZANT *et al.*, 1998). Také použitá tkanina měla dostačující pórovitost, i když některé druhy větších protozoí, jako jsou *Polyplastron* a *Ophryoscolex*, vyžadují porovitost 53 μ m (MEYER a MACKIE, 1986).

Degradovatelnost je ovlivněna i dietou kanylovaných zvířat. Mikrobiální populace bacheru je přizpůsobena na určitý druh krmiva (MEYER a MACKIE, 1986, VANZANT *et al.*, 1998, CARBERRY *et al.*, 2012). Krmná dávka kanylovaných zvířat byla složena převážně ze sena. Proto byly pro pokus zvoleny vzorky pastevních porostů. Z *in vitro* metody ověřování vlivu přípravku Biopolym FZT bylo zjištěno, že lepší degradovatelnost NDF po aplikaci preparátu do inkubačního media byla u vzorků směsných pastevních porostů v porovnání se vzorky trav. Pro analýzy byly použity směsné vzorky sušených pastevních porostů z lokalit Rychnov nad Malší, Těšov, Vlčí Jámy a Velký Chlumeč sklizené 2010. Seznam vzorků udávají TABULKY 39 a 40 v přílohách. Botanické složení porostů bylo v rozmezích pro trávy 20-70 %, jeteloviny 5-40 %, byliny 10-40%. Z hlediska procentuálního zastoupení se ve většině případů jedná o vyvážené pastevní porosty. Pouze vzorky 15 a 19 z lokality Těšov a 14C a 20C z lokality Velký Chlumeč pochází z chudé louky (MÍKA *et al.*, 1997). Chemické složení jednotlivých vzorků směsí a trav (CP, tuk, popel, CF, NDF, ADF, ADL) je uvedeno v TABULCE 41, 42 v přílohách. Obsah dusíkatých látek byl v rozmezí 92,9 až 216,4 g/kg DM. Toto rozpětí je vysoké vzhledem k zařazení vzorků z hnojených i nehnojených stanovišť z lokality Velký Chlumeč. Přídavek hnojiva zvyšuje obsah dusíkatých látek v rostlině (MÍKA *et al.*, 1997, ČERMÁK *et al.*, 2008, NORDHEIM-VIKEN a VOLDEN, 2009). Obsah NDF pro analýzy použitých vzorků byl mezi 347,9 a 558,4 g/kg DM. ADF hodnoty pastevních porostů se pohybovaly v rozsahu od 230,0 do 370,5 g/kg DM. Obsah ligninu souvisí s vegetační fází, ve které je rostlina sklizena, tedy s výškou porostu a dobou sklizně (LAUNCHBAUGH *et al.*, 1990, ŠANTRŮČEK, *et al.*, 2001). Obsah této vlákninové frakce byl od 8,6 do 104,6 g/kg DM. Vzorky použité pro *in sacco* inkubace byly z kvalitních i méně kvalitních pastevních porostů (MLÁDEK *et al.*, 2006).

Přípravek Biopolym FZT ve funkci biostimulačního prostředku by měl ovlivnit nejen fermentační parametry bacherové tekutiny, ale jeho účinek by se měl projevit i na stravitelnostech živin krmiva (VOSTOUPAL *et al.* 2006b, GJUROV *et al.*, 2007).

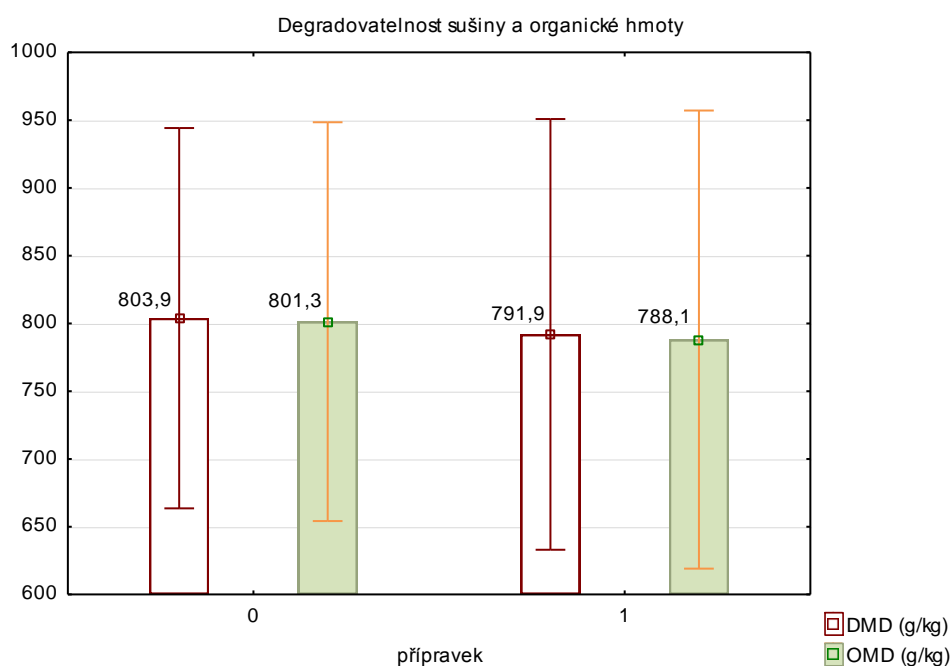
V TABULKÁCH 43 a 44 v přílohách jsou uvedeny degradovatelnosti sušiny a organické hmoty vzorků po 48 hodinové inkubaci v bacheru krav kontrolních a zvířat pokusných, kterým byl sledovaný preparát aplikován denně do krmné dávky. Zvýšení degradovatelnosti sušiny bylo zjištěno pouze u vzorků 8, C6, C7, C8, C10 a C18 v rozpětí od 0,2 do 1,49 %. Průměrná degradovatelnost organické hmoty narostla u vzorků 22, 25, C6, C7, C8, C10, C18

a C20 od 0,2 do 1,6%. Porovnáním chemického složení těchto vzorků od ostatních, kde se stravitelnosti sledovaných charakteristik nezvýšily, nelze říci, jaký rozhodující faktor ovlivnil jejich vyšší degradovatelnost. Na stravitelnosti pastevních porostů se podílí mnoho činitelů. Kromě samotných "rostlinných" faktorů, zahrnujících hlavně růstovou fázi, jsou zde také "vlivy prostředí", zejména teplota, sluneční záření, zásobení vodou aj. (MÍKA *et al.*, 1997).

Průměrná degradovatelnost sušiny vzorků inkubovaných bez přípravku se pohybovala v rozmezí $689,6 \pm 4,2$ a $992,0 \pm 3,9$ g/kg. Aplikací testovaného přípravku do krmiva pokusných krav se degradovatelnost sušiny snížila na hodnoty $662,0 \pm 7,5$ a $920,5 \pm 4,4$ g/kg. Toto zjištění odpovídá snížení hodnot průměrných degradovatelností organické hmoty po zařazení přípravku jako aditivní látky, a to z rozpětí $676,8 \pm 4,4$ a $923,9 \pm 3,8$ g/kg na interval od $650,1 \pm 7,8$ do $922,9 \pm 4,2$ g/kg.

Statistickým porovnáním vlivu přípravku Biopolym FZT na degradovatelnost sušiny a organické hmoty byl na hladině významnosti 0,05 zjištěn statisticky průkazný vliv přípravku na tyto veličiny. Pro degradovatelnost sušiny vzorků po 48 hodinové inkubaci byly statistické charakteristiky $H=4,25$, $p=0,04$, pro degradovatelnost organické hmoty $H=4,74$, $p=0,03$. Výsledky zobrazuje GRAF 15. Průměrná hodnota degradovatelnosti sušiny se snížila z 803,9 na 791,9 g/kg DM. Průměrná degradovatelnost organické hmoty klesla z 801,3 g/kg DM na 788,1.

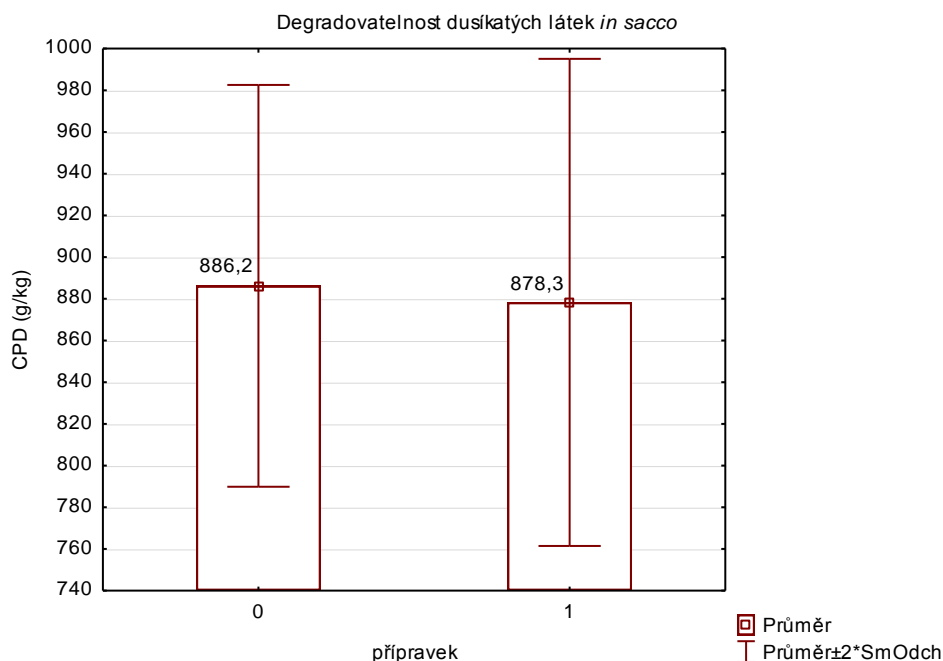
GRAF 15: Vliv přípravku na degradovatelnost sušiny a organické hmoty *in sacco*



V TABULKÁCH 46 a 47 v přílohách jsou uvedena porovnání degradovatelností dalších sledovaných charakteristik vzorků pasterovaných porostů. Degradovatelnost dusíkatých látek vzorků z oblastí Rychnov nad Malší, Těšov a Vlčí Jámy po zařazení přípravku Biopolym FZT klesla z průměrné hodnoty 875,3 na 867,0 g/kg DM. U vzorků z lokality Velký Chlumec došlo k poklesu degradovatelnosti dusíkatých látek z průměrného množství 883,4 g/kg DM na 873,0 g/kg DM. Degradovatelnost dusíkatých látek se po inkubaci v bachoru zvířat, jimž byl podáván preparát, zvýšil u 15 sledovaných vzorků proti kontrole. Nárůst u těchto vzorků byl mezi 0,08 do 3,1 %. Nemůžeme říci, že změna degradovatelnosti v důsledku použití přípravku závisí na obsahu dusíkatých látek. Zvýšení degradovatelnosti nežádoucím jevem, protože cílem výživy přežvýkavců je uchovat cenné bílkoviny z krmiva bez bachorové degradace jako zdroj dusíku a cenných aminokyselin pro hostitelské zvíře (DVOŘÁK, 2005, ZEMAN, 2006).

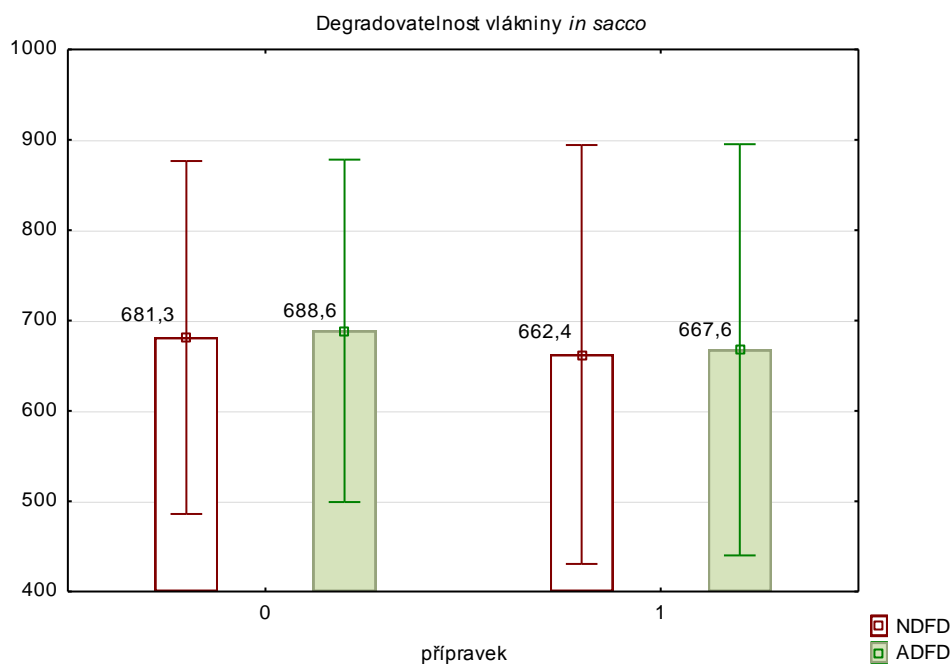
Při statistickém vyhodnocení vlivu přípravku na degradovatelnost dusíkatých látek krmiva po 48 hodinové inkubaci v bachoru však nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi stravitelností s a bez zařazení přípravku Biopolym FZT jako aditivní látky do krmiva ($H=1,35$, $p=0,24$). Porovnání ukazuje GRAF 16.

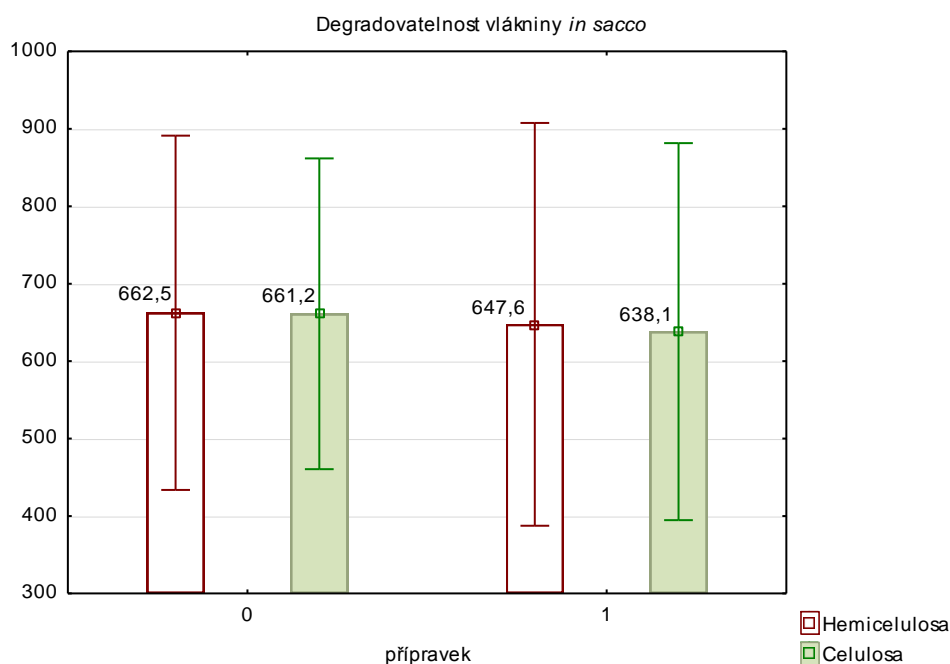
GRAF 16: Vliv přípravku na degradovatelnost dusíkatých látek vzorků krmiv v bachoru



Pro zásobování přežvýkavců energií je nejdůležitější složkou krmiva vláknina. V pokusech *in sacco* degradovatelnosti vybraných vzorků pastevních porostů byl sledován vliv přípravku Biopolym FZT na stravitelnost NDF, ADF. Následně byl posouzen vliv testovaného přípravku na degradovatelnost hemicelulosity a celulosity. Průměrné hodnoty degradovatelnosti pro jednotlivé vzorky shrnuje TABULKA 46 a 47 v přílohách. Ze sledovaných 46 vzorků došlo po zařazení testovaného přípravku k navýšení degradovatelnosti NDF u 11 vzorků, a to od 0,34 po 4,95%. Nárůst degradovatelnosti ADF byl zaznamenán u 9 vzorků, od 0,13 do 2,72%. Tyto závěry odpovídají analýzám degradovatelnosti hemicelulosity a celulosity. Zvýšení stravitelnosti hemicelulosity bylo zaznamenáno u 16 vzorků, od 0,53 do 26,54%. Nárůst degradovatelnosti celulosity se projevil po aplikaci Biopolymu FZT do bacheru zvířat u 11 vzorků ze 46 analyzovaných. Rozpětí nárůstu bylo od 0,06 do 4,07%. Porovnáním průměrných hodnot všech vzorků po 48 hodinové inkubaci v bacheru platí i pro další sledované charakteristiky jejich snížení v důsledku aplikace přípravku do krmiva pokusných krav.

GRAF 17: Vliv přípravku na degradovatelnost NDF, ADF (g/kg DM) *in sacco*



GRAF 18: Vliv přípravku na degradovatelnost hemicelulosity a celulosity (g/kg DM) *in sacco*

Statistickým vyhodnocením degradovatelností vlákninového spektra bylo zjištěno, že prokazatelný vliv přípravku byl prokázán u degradovatelnosti NDF, ADF, celulosity. Statistické charakteristiky jsou pro NDFD $H=6,58$, $p=0,01$, pro ADFD $H=7,16$, $p<0,01$, pro celulosu $H=7,20$, $p=0,01$. Na degradovatelnost hemicelulosity přípravek statisticky prokazatelný vliv neměl ($H=3,73$, $p=0,06$). Porovnání degradovatelností bez přípravku a se zařazením přípravku do krmné dávky jsou uvedeny v GRAFECH 17 a 18. Použití přípravku způsobilo snížení degradovatelnosti NDF z průměrné hodnoty 681,3 na 662,4 g/kg DM. Degradovatelnost ADF vzorků po inkubaci v batoru klesla z 688,6 na 667,6 g/kg DM po zařazení Biopolymu FZT jako aditivní látky

Z hlediska degradovatelnosti hemicelulosity přípravek prokazatelný vliv neměl, přesto je z GRAFU 18 zřejmé, že došlo k poklesu průměrné degradovatelnosti z 662,5 na 647,6 g/kg DM. Průměrná degradovatelnost celulosity u vzorků pastvy po inkubaci 48 hodin v batoru se snížila z 661,2 na 638,1 g/kg DM.

Použitím neparametrických metod analýzy rozptylu byly testovány lokality, odkud pocházely vzorky zahrnuté do analýz degradovatelnosti sušiny, organické hmoty, dusíkatých látek a vlákninového spektra. Pro všechny sledované parametry degradovatelnosti lze konstatovat, že v důsledku zvolených vzorků pro analýzy se jednotlivé lokality od sebe

statisticky průkazně liší. Hodnoty statistických charakteristik porovnání lokalit pro jednotlivé veličiny jsou shrnuty v TABULCE 15.

TABULKA 15: Hodnoty charakteristik pro porovnání lokalit

| Degradovatelnost | H | p |
|------------------|--------|--------|
| Sušina | 194,58 | <<0,01 |
| Organická hmota | 197,07 | <<0,01 |
| Dusíkaté látky | 99,62 | <<0,01 |
| NDF | 171,90 | <<0,01 |
| ADF | 156,55 | <<0,01 |
| Hemicelulosa | 174,90 | <<0,01 |
| Celulosa | 152,75 | <<0,01 |

TABULKA 15 potvrzuje velká rozpětí všech sledovaných charakteristik, jež jsou dána různorodostí do pokusu zařazených vzorků. Vzorky se liší nejen botanickým zastoupením, ale i výškou porostu a pořadím seče. Tato kritéria spolu s chemickým složením se podílí na odlišné celkové stravitelnosti živin. (ARTHINGTON a BROWN, 2005, NIEKERK *et al.*, 2009, KOUKOLOVÁ *et al.*, 2010).

Ze zjištěných výsledků lze říci, že použití přípravku Biopolym FZT jako aditivní látky nemělo na sledované charakteristiky pozitivní vliv. Ve stájových pokusech se podařilo prokázat statisticky významný vliv přípravku na zvýšení obsahu protozoí. Tyto mikroorganismy se podílí určitou měrou na degradačních procesech v batoru. V řadě publikací je doloženo, že v případě defaunace zvířat se stravitelnost krmiva snižuje (YODER *et al.*, 1966, MICHALOWSKI, 2005). Proti tomu nárůstem obsahu protozoí ale dochází k vyššímu pohlcování bakterií těmito mikroorganismy. Snižuje se tak celulolytická mikrobiální aktivita. SANTRA a KARIM (2000) potvrzují pozitivní vliv snížení koncentrace protozoí v batoru až jejich defaunace na zvýšení konverze a stravitelnost krmiva. Na snížení stravitelnosti vlákninového spektra se může podílet i vyšší koncentrace vodíkových molekul uvolňujících se při fermentačních procesech protozoí. Tento plyn je inhibitorem pro rozvoj celulolytických bakterií, čímž dochází ke snížení trávení celulosy (WALLACE, 2004).

Snížení degradovatelnosti sušiny, dusíkatých látek a organické hmoty může být způsobeno přítomností některých složek preparátu negativně ovlivňujících činnost batorové mikroflóry. Extrakty vyrobené z řasy *Ascophyllum nodosum* obsahují florotaniny, které negativně působí na některé mikroorganismy. Tím může dojít ke snížení stravitelnost složek krmiva, zejména

vlákniny (CONNAN *et al.*, 2006, WANG *et al.*, 2008). Podle JONKERA *et al.* (2012) je snížení stravitelnosti organické hmoty a dusíkatých látek způsobeno interakcemi florotaninů s bílkovinami nebo přímo s mikroorganismy samotnými. Taniny inhibují růst zejména celulolytických bakterií, například metanogenní mikroorganismy jsou k nim rezistentní (PILUZZA *et al.*, 2013). Mírné snížení stravitelnosti, ne statisticky významné, zaznamenal EL-WAZIRY *et al.* (2015) při přidávání sušené hnědé mořské řasy *Ulva lactuca* do krmné dávky ovcí. Snížení stravitelnosti NDF v důsledku florotaninů při zařazení řasy *Ascophyllum nodosum* do výživy přežvýkavců potvrzuje WANG *et al.* (2008).

Výsledkem řady pokusů se zařazením aditivních látek pro stimulaci bачorové fermentace bylo snížení stravitelnosti krmiva. Použití tymiánového a skořicového esenciálního oleje snížilo stravitelnost organické hmoty a vlákniny (KHORRAMI *et al.*, 2015). Zařazením droždí a guajakolu do výživy laktujících krav snížilo stravitelnost sušiny i vlákninového spektra (PIRONDINY *et al.*, 2015). Použití propolisu jako aditivní látky mírně, statisticky nevýznamně, snížilo stravitelnost organické hmoty a NDF (AGUIAR *et al.*, 2014). Obohacení krmiv o minerální látky na bázi síranů negativně ovlivnilo bачorovou stravitelnost živin (GENTHER a HANSEN, 2014). Přídavek stimulačních látek v podobě aminokyselin stimuluje růst celulolytických mikroorganismů, nemusí ale zvyšovat jejich celulolytickou aktivitu a zvyšovat tak stravitelnost vlákniny (MARTIN *et al.*, 2013).

Stravitelnost krmiva je dána faktorem zvířete. Například druh, věk, individualita, zdravotní stav mohou mít vliv na veškeré biochemické procesy probíhající v bачoru (TANČIN *et al.*, 2013). Pro pokus zjištění vlivu přípravku byla vybrána kanylovaná zvířata rozdílné plemenné příslušnosti. Krávy Holštýnského skotu jsou zvířata většího tělesného rámce, s velkým a dobře vyvinutým bачorem. Do výživy telat je zařazován startér obsahující obilné šroty. Jejich fermentací v bачoru vznikají těkavé mastné kyseliny, které pozitivně působí na rozvoj papil a sliznice předžaludků. V takto vyvinutých předžaludcích dochází k lepšímu trávení a dokonalejšímu využití objemných krmiv (MUDŘÍK *et al.*, 2006, LOURENCO, *et al.*, 2014). Také hledisko genetiky zvířat se podílí na rozdílech v mikrobiální populaci, která řídí rozkladné a fermentační procesy v bачoru zvířat (GUAN *et al.*, 2008).

Na stravitelnosti živin má vliv druh krmiva, obsah živin, složení krmné dávky, technika krmení (ČERMÁK *et al.*, 2008, TANČIN *et al.*, 2013). Důvodem snížení degradovatelnosti sledovaných vzorků může být i krmná dávka zvířat. Zhoršená kvalita zvířatům předkládaného sena, zjištěná v několika případech, ohrožuje stálost bачorového prostředí. Po zařazení nevyhovujícího krmiva do diety může docházet ke snížení bачorové motility (KOOK *et al.*, 1986), snižuje se celkový příjem krmiva (CHOUDHARY *et al.*, 1998).

Vzorky z lokality Velký Chlumeč byly analyzovány z hlediska vlivu přípravku Biopolym FZT na degradovatelnost živin pastevních porostů z hnojeného a nehnojeného stanoviště. Způsob hnojení v této lokalitě byl minerální: 100 kg N/ha/rok – ledek amonný s vápencem 27,5 % N, 50 kg K/ha/rok – draselná sůl 60 % a 30 kg P/ha/rok – superfosfát trojitý 46 %.

Pro ověření vlivu hnojení byly všechny vzorky inkubovány v bachoru ve dvou časech, 24 hodin a 48 hodin. Degradovatelnosti sušiny a organické hmoty jsou uvedeny v TABULKÁCH 44 a 45 v přílohách. Zvýšení degradovatelností je vyznačeno tučně. Z hlediska degradovatelnosti sušiny při 24 hodinové inkubaci v bachoru zařazení přípravku Biopolym FZT jako aditivní látky do krmiva neznamenal změnu u vzorků z hnojených i nehnojených míst lokality Velký Chlumeč. Pro vzorky z nehnojené oblasti byla degradovatelnost sušiny bez přípravku 764,2 a 764,6 g/kg s přípravkem. Vzorky z hnojené lokality měly průměrnou stravitelnost sušiny 756,4 g/kg bez aplikace přípravku a 755,0 g/kg s aditivním přípravkem podávaným kravám. U degradovatelnosti organické hmoty po 24 hodinové inkubaci při použití stimulačního přípravku došlo ke zvýšení degradovatelnosti u vzorků z nehnojené oblasti ze 757,6 na 759,1 g/kg. Pro vzorky sklizené z hnojené půdy znamenal přídavek Biopolymu FZT snížení degradovatelnosti ze 749,1 na 747,9 g/kg. Zvýšení obou degradovatelností po aplikaci přípravku Biopolym FZT se u 24 hodinové inkubaci v bachoru projevilo u vzorků 1C až 10C. U degradovatelnosti sušiny se jednalo o navýšení od 0,35 do 6,78%, u degradovatelnosti organické hmoty od 0,7 do 11,6%. Podle TABULKY 40 v přílohách se jedná o vzorky z hnojených i nehnojených porostů.

Po inkubaci vzorků metodou *in sacco* po dobu 48 hodin byly rozdíly mezi degradovatelnostmi sušiny a organické hmoty aplikací přípravku Biopolym FZT významnější. Degradovatelnost sušiny pro vzorky pastvy z nehnojené půdy klesly po přídavku Biopolymu FZT z průměrné hodnoty 845,9 na 834,5 g/kg, z hnojené oblasti z 836,7 na 828,8 g/kg. Tomu odpovídá i pokles průměrné degradovatelnosti organické hmoty (z 845,2 na 833,5 g/kg pro nehnojené a z 835,2 na 827,6 g/kg pro hnojené vzorky). Při porovnání degradovatelností po 48 hodinové inkubaci došlo ke zvýšení degradovatelnosti sušiny u vzorků 6C, 7C, 8C, 10C a 18C, o 0,36 až 1,49%. Degradovatelnost organické hmoty se zvýšila po pokusném použití přípravku Biopolym FZT u vzorků 6C, 7C, 8C, 10C, 18C a 20C o 0,2-1,5%. I v tomto případě se jedná o vzorky z hnojených i nehnojených oblastí.

Z porovnání dvou časových inkubací je zřejmé, že vyšší degradovatelnosti sušiny a organické hmoty po zařazení přípravku Biopolym FZT bylo dosaženo u 24 hodinové inkubace. Maxima mikroorganismů pro fermentační procesy je v sáčcích dosaženo až po 18 hodinách od vložení do bachoru (MEYER a MACKIE, 1986). Z tohoto důvodu je možné

usuzovat, že testovaný preparát stimuluje činnost mikroorganismů zvýšením jejich motility (VOSTOUPAL, 2009).

Pro statistické vyhodnocení vlivu přípravku a faktoru hnojení byla použita metoda analýzy rozptylu více efektů. Statistické charakteristiky uvádí TABULKA 16. Testy se nepodařilo prokázat statisticky významný vliv použití přípravku Biopolym FZT ani hnojení na všechny čtyři hodnocené degradovatelnosti. Grafická porovnání jsou uvedena v GRAFECH 30-33 v přílohách.

TABULKA 16: Charakteristiky pro degradovatelnost sušiny a organické hmoty *in sacco*

| | 24 hodin | | | | 48 hodin | | | |
|-----------|----------|------|------|------|----------|------|------|------|
| | DMD | | OMD | | DMD | | OMD | |
| | F | p | F | p | H | p | H | p |
| přípravek | 0,00 | 0,97 | 0,00 | 0,98 | 0,94 | 0,33 | 0,80 | 0,37 |
| hnojení | 0,67 | 0,41 | 0,77 | 0,38 | 0,08 | 0,77 | 0,02 | 0,89 |

U vzorků z lokality Velký Chlumeč byly stanoveny průměrné degradovatelnosti dusíkatých látek, vlákninového spektra pro inkubace *in sacco* 24 a 48 hodin. Výsledky uvedené v TABULCE 47 a 48 v přílohách byly porovnány vzhledem k nárůstu či poklesu proti degradovatelnosti bez přípravku. Případy, kdy došlo k nárůstu hodnot, jsou vyznačeny tučně. Po 24 hodinové inkubaci se zvýšila degradovatelnost dusíkatých látek u 9 vzorků, degradovatelnost NDF, ADF, celulosy u 10 vzorků a degradovatelnost hemicelulosy u 11 vzorků v případech zakládání vzorků do bachoru krav, jimž byl podáván přípravek Biopolym FZT. Pro 48 hodinovou inkubaci je podobně jako u degradovatelnosti sušiny a organické hmoty menší množství vzorků pozitivně ovlivněných testovaným preparátem. Degradovatelnost dusíkatých látek vzrostla u 8 vzorků. Degradovatelnost NDF a celulosy se zvýšila u 10 případů, degradovatelnost ADF u 8 a hemicelulosy u 9 vzorků. Zařazení stimulační látky se pozitivně projevilo u vzorků z hnojených i nehnojených odběrových míst. Průměrné hodnoty degradovatelností dusíkatých látek, frakcí vlákniny pro obě časové inkubace vzorků pasterních porostů sbíraných v lokalitě Velký Chlumeč, jsou uvedeny v TABULCE 17.

TABULKA 17: Průměrné hodnoty degradovatelnosti dusíkatých látek a vlákniny *in sacco*

| Degradovatelnost (g/kg DM) | 24 hodin | | | | 48 hodin | | | |
|-------------------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------------------|-------|-------|-------|
| | Přípravek/Hnojení | | | | Přípravek/Hnojení | | | |
| | 0/0 | 1/0 | 0/1 | 1/1 | 0/0 | 1/0 | 0/1 | 1/1 |
| CP | 835,7 | 867,2 | 825,4 | 857,7 | 861,9 | 924,1 | 862,6 | 917,8 |
| NDF | 580,1 | 595,7 | 583,4 | 563,7 | 669,1 | 787,7 | 675,6 | 762,3 |
| ADF | 599,7 | 613,5 | 589,1 | 583,8 | 643,8 | 792,8 | 670,0 | 771,8 |
| Hemicelulosa | 527,7 | 559,0 | 565,5 | 516,1 | 648,2 | 772,9 | 677,0 | 739,9 |
| Celulosa | 563,2 | 571,7 | 552,5 | 544,1 | 643,8 | 767,0 | 639,1 | 750,4 |

0-přípravek, hnojení ne, 1-přípravek, hnojení ano

V TABULCE 18 jsou statistické charakteristiky pro zjištění vlivu přípravku Biopolym FZT podávaného pokusným zvířatům pro ovlivnění degradovatelnosti inkubovaných vzorků, ale i použití hnojiva porostů na stravitelnost živin. Posuzována byla degradovatelnost dusíkatých látek a frakcí vlákniny. Po 24 hodinové inkubaci byl statisticky prokazatelný vliv přípravku na degradovatelnost dusíkatých látek. Po inkubaci v bachoru v délce 48 hodin měl přípravek významný vliv na všechny sledované charakteristiky. Faktor hnojení půdy byl statisticky nevýznamný.

TABULKA 18: Hodnoty charakteristik analýzy rozptylu pro degradovatelnost živin *in sacco*

| Degradovatelnost | 24 hodin | | | | 48 hodin | | | |
|------------------|--------------|--------------------|---------|------|----------------|---------------------|---------|------|
| | Přípravek | | Hnojení | | Přípravek | | Hnojení | |
| | F/H | p | F/H | p | F/H | p | F/H | p |
| CP | 11,54 | <<0,1 | 0,98* | 0,32 | 64,83* | <<0,01 | 1,88* | 0,17 |
| NDF | 0,40 | 0,53 | 0,03 | 0,86 | 88,77* | <<0,01 | 0,80* | 0,37 |
| ADF | 0,16 | 0,69 | 0,19 | 0,67 | 108,09* | <<0,01 | 1,43* | 0,23 |
| Hemicelulosa | 0,39 | 0,55 | 0,10 | 0,75 | 45,39* | <<0,01 | 0,03* | 0,87 |
| Celulosa | 1,19 | 0,28 | 0,07 | 0,80 | 115,46* | <<0,01 | 1,25* | 0,26 |

* použit Kruskal-Wallisův test

Z analýz *in sacco* degradovatelnosti vzorků pastevních porostů se nepodařilo prokázat pozitivní vliv přípravku Biopolym FZT na bachorovou degradovatelnost živin. Porovnáním vzorků pastevních porostů získaných z lokality Velký Chlumeč faktor hnojení jen velmi málo, statisticky neprůkazně, ovlivnil všechny sledované charakteristiky. Skutečnost, že přidavek hnojiva do půdy zvyšuje obsah dusíkatých látek v rostlinách, ale na stravitelnost nemá

podstatný vliv, potvrzuje NORDHEIM-VIKEN a VOLDEN (2009). Podle VAN SOESTA (1994) může hnojení dokonce mírně snížit stravitelnost. Faktor hnojení souvisí i s dobou seče. Při včasné seči je stravitelnost sušiny a organické hmoty vysoká, pozdní seč znamená snížení stravitelností u hnojených porostů proti nehnojeným (SARWAR a MAHR-UN-NISA 1999).

6. ZÁVĚR

V práci byl posuzován vliv přípravku Biopolym FZT na ovlivnění degradovatelnost živin krmiva. Vycházelo se z předpokladu, že přípravek obsahující řadu významných chemických látek by mohl stimulačně působit na rozvoj bachorové mikroflóry a zefektivnit tak procesy bachorové fermentace.

V laboratorních pokusech na základě stravitelnosti vzorků pastevních porostů a použitím metody *in vitro* byla stanovena optimální dávka testovaného přípravku jako aditivní látky, která činila 24 ml/kus/den.

Stájovými pokusy byl ověřován vliv přípravku Biopolym FZT na bachorovou mikroflóru a fermentační procesy. U pokusných zvířat, jimž byl aplikován testovaný preparát, došlo ke statisticky průkaznému nárůstu množství protozoí. Celkový obsah těkavých mastných kyselin ani pH se významně nezměnilo. Zařazení přípravku jako aditivní látky zvýšilo významně obsah kyseliny propionové a snížilo poměr C2:C3. Průkazně se zvýšil obsah dusíkatých látek v bachorové tekutině. Koncentrace amonných iontů se významně nezměnila. Výsledky ukazují na možnou stimulaci protozoí přípravkem Biopolym FZT. S tímto závěrem korespondují i analýzy aminokyselinového složení bachorové tekutiny, které potvrzují statisticky prokazatelné zvýšení obsahu lysinu, isoleucinu a kyseliny asparagové. Vyšší obsah těchto aminokyselin se vyskytuje v bílkovině protozoí ve srovnání s proteinem bakteriálním. Nárůst protozoí souvisí se změnou ostatní mikrobiální populace, zejména s množstvím celulolytických bakterií, významně se podílejících na fermentačních procesech v bachoru. Zvýšení obsahu dusíkatých látek ve výkalech může souviset s poklesem počtu bakterií a indikovat snížení stravitelnosti krmiva přijímaného pokusnými zvířaty.

Z pokusů 48 hodinové bachorové inkubace *in sacco* vyplývá, že po zařazení preparátu Biopolym FZT jako aditiva došlo k poklesu degradovatelnosti vzorků pastevního porostu. Snížily se všechny sledované charakteristiky; degradovatelnost sušiny a organické hmoty, degradovatelnost dusíkatých látek i vlákninového spektra.

Ze všech zjištěných výsledků nelze potvrdit skutečnost, že použití přípravku Biopolym FZT by mělo biostimulační účinek na všechny druhy bachorové mikroflóry, tedy i na bakterie a houby. Zařazením testovaného preparátu do výživy suchostojných kanylovaných krav se s využitím metody *in sacco* nepodařilo prokázat jeho pozitivní vliv na degradovatelnost krmiv složených z pastevních porostů.

6.1. Doporučení pro další výzkum

V této práci byl posuzován vliv přípravku Biopolym FZT na degradovatelnost krmiv. Vzhledem k výživě samotných zvířat byly pro pokusy *in sacco* použity vzorky pastevních porostů. V dalších pokusech by mohl být ověřován vliv přípravku na stravitelnost jiných druhů krmiv, na bázi energeticky bohaté krmné dávky. U takto krmených zvířat jsou odlišné charakteristiky bachorové tekutiny. Hodnoty pH jsou nižší než u zvířat krmených senem, někdy mohou nastat i případy acidóz. Nárůst počtu protozoí by za těchto podmínek byl žádoucí a působil by jako stabilizátor optimálního bachorového prostředí.

Přípravek Biopolym FZT ve funkci krmivového aditiva působí na snížení emisí skleníkových plynů u nepřezvýkavců, prasat a drůbeže. Snížení amoniaku ve výkrmných halách je až o 60%. Tento pokles znamená vysokou úsporu finančních prostředků za větrání a ventilaci v stájích a halách. Spolu s tím se snižují náklady na veterinární péči. V neposlední řadě je toto snížení koncentrace čpavku přínosem z hlediska ekologického.

Námětem dalšího výzkumu může být sledování vlivu přípravku Biopolym FZT na emise skleníkových plynů v chovech přežvýkavců, zejména krav. Kromě měření koncentrace plynů v ovzduší stájí by bylo účelné podrobit testům výkaly zvířat z hlediska pH, obsahu amonných iontů.

7a. SOUHRN

Cílem práce bylo ověřit vliv přípravku Biopolym FZT na degradovatelnost živin v bachoru. Testovaný preparát je hydrolyzát hnědé mořské řasy *Ascophyllum nodosum*. Ve svém chemickém složení obsahuje řadu významných biostimulačních látek, které by mohly pozitivně ovlivnit činnost bachorové mikroflóry. Přípravek byl úspěšně testován jako aditivum ve výživě nepřežvýkavých zvířat pro optimální rozvoj střevní mikroflóry. Jeho aplikace do kejdy urychluje její fermentaci. V bioplynových stanicích přídavek preparátu stimuluje činnost metanogenních mikroorganismů.

Určení optimálního ředění a dávkování přípravku Biopolym FZT metodou *in vitro*

V první části práce bylo metodou *in vitro* stanoveno optimální ředění přípravku Biopolym FZT vzhledem k bachorové tekutině. Vzorky směsných pastevních porostů a trav byly inkubovány v inokulu bachorové tekutiny v Daisy inkubátoru. K inkubačnímu médiu byl přidán testovaný preparát v ředěních 0, 1:500, 1:1000, 1:1500, 1:2000 a 1:2500. Po 48 hodinové fermentaci byla stanovena stravitelnost sušiny a NDF pro jednotlivá ředění. Zvýšení IVDMD a IVNDFD proti kontrole (bez přípravku) bylo potvrzeno pro ředění 1:500 a 1:1000. Zvýšení stravitelnosti však nebylo statisticky průkazné. Pro ostatní ředění došlo ke snížení degradovatelnosti sušiny a NDF. Pro ředění 1:1000 byla průměrná stravitelnost sušiny všech vzorků vyšší o 2,60% proti kontrole. Z hlediska druhu porostu byla vyšší stravitelnost NDF u směsných vzorků. IVNDFD u vzorků směsného porostu se zvýšila průměrně až o 10,49%. Přepočítáním množství přípravku přidávaného do inokula pro optimální ředění 1:1000 byla stanovena denní dávka preparátu Biopolym FZT pro pokusnou krávu na 24 ml.

Ověření vlivu přípravku Biopolym FZT na degradaci živin v bachoru a dusíkatých látek ve výkalech – stájové pokusy

V těchto pokusech byl sledován vliv přípravku Biopolym FZT na hlavní ukazatele bachorové tekutiny. Pro posouzení vlivu na stravitelnost krmiva byly stanoveny dusíkaté látky ve výkalech. Pro měření sledovaných charakteristik byly použity tři suchostojné kanylované krávy. Během pokusů byla zvířata vystřídána v kontrolní a pokusné skupině. Zvířatům v pokusné skupině byl aplikován testovaný preparát v dávce 24 ml na kus a den. Vlastním pokusným obdobím předcházela předpokusná období, kdy všechna tři zvířata přípravek nedostávala. V těchto obdobích byly také měřeny sledované charakteristiky.

V bacherové tekutině bylo sledováno množství protozoí. Z chemických parametrů bylo stanoveno pH, obsah těkavých mastných kyselin, koncentrace amonných iontů a obsah dusíkatých látek.

Po zařazení preparátu Biopolym FZT se statisticky průkazně zvýšilo množství protozoí, z průměrné hodnoty $138 \cdot 10^3$ na $260 \cdot 10^3$ /ml bacherové tekutiny. Hodnoty pH se nezměnily, průměrná hodnota dosáhla 6,9. Přídavek biostimulační látky zvýšil průměrný celkový obsah těkavých mastných kyselin z 89,59 na 91,56 mmol/l. Zvýšení nebylo statisticky významné. Z hlediska koncentrací jednotlivých kyselin bylo statisticky průkazné zvýšení procentuálního obsahu kyseliny propionové z 15,88 na 17,64% celkového obsahu sledovaných kyselin. Statisticky průkazně se snížil poměr C2:C3 z hodnoty 4,26 na 3,74. Obsah amonných iontů se zvýšil u pokusu proti kontrole z 2,23 na 3,44 mmol/l, ne však statisticky průkazně. Statisticky významně se zvýšil obsah dusíkatých látek v bacherové tekutině z průměrné hodnoty v kontrole 91,4 na 106,1 g/kg DM.

Z analýzy aminokyselinového složení bacherové tekutiny se potvrdil statisticky průkazný vliv přípravku Biopolym FZT na zvýšení aminokyseliny lysin, isoleucin a kyseliny asparagové. Celkový obsah aminokyselin se zvýšil z 62,03 na 66,65 g/kg DM, ne však statisticky průkazně.

Obsah dusíkatých látek ve výkalech se po zařazení testovaného přípravku zvýšil z 81,5 na 94,0 g/kg DM a z 90,0 na 106,5 g/kg OM. Zvýšení obou koncentrací byla statisticky průkazná. Hodnoty ukazují na snížení stravitelnosti krmiva po aplikaci přípravku.

Stanovení degradovatelnosti organické hmoty u vzorků pastevního porostu metodou *in sacco*

Vliv přípravku Biopolym FZT na degradovatelnost sušiny organické hmoty, dusíkatých látek a frakcí vlákniny byla ověřována metodou *in situ*. Doba inkubace sáčků v bacheru byla obvyklých 48 hodin. Pro tento pokus byly vybrány sušené vzorky směsných pastevních porostů.

Průměrná hodnota degradovatelnosti sušiny vzorků inkubovaných v bacheru krav, jimž byl přidáván do krmné dávky testovaný preparát, se snížila z 803,9 na 791,9 g/kg. Průměrná degradovatelnost organické hmoty klesla z 801,3 g/kg na 788,1. Vzhledem k použitým vzorkům byl tento pokles statisticky významný. Statisticky průkazný byl i pokles degradovatelnosti NDF, ADF a celulosy. Zařazením testovaného přípravku se snížila i degradovatelnost hemicelulosy, ne však průkazně. NDFD klesla z průměrné hodnoty 681,3 na 662,4 g/kg DM. ADFD vzorků po inkubaci v bacheru se snížila v pokuse proti kontrole

z 688,6 na 667,6 g/kg DM. Degradovatelnost hemicelulosity klesla z 662,5 na 647,6 g/kg DM. Pokles stravitelnosti celulosity po inkubaci vzorků v bachoru pokusné skupiny byl proti kontrole z 661,2 na 638,1 g/kg DM.

U vzorků z lokality Velký Chlumeč byl sledován vliv přípravku Biopolym FZT na degradovatelnost vzorků z hnojených a nehnojených odběrových míst. Pro porovnání byly vybrány 2 inkubační časy, 24 a 48 hodin. Z výsledků degradovatelnosti sušiny, organické hmoty dusíkatých látek a vlákninového spektra se nepodařilo prokázat rozdíl v účinku testovaného preparátu na vzorky porostu hnojeného a nehnojeného.

Z výsledků pokusů nelze potvrdit pozitivní vliv použití přípravku Biopolym FZT jako aditivní látky pro zvýšení stravitelnosti krmiv.

7b. SUMMARY

The aim of this doctoral thesis was to investigate the effect of preparation Biopolym FZT on rumen nutrients degradability. The tested preparation is a hydrolyzate of brown macroalga *Ascophyllum nodosum*. Biopolym FZT contains many biostimulant components which should have positive influence on rumen microbial fermentation. The product has been successfully tested as a feed additive for monogastric livestock for growth of intestinal microbiota. The applications of Biopolym FZT to the slurry improves its fermentation. The preparation is used for stimulation of methanogenesis process in the biogas stations.

Finding the optimal dilution rate and the dose of Biopolym FZT preparation with *in vitro* methods

It had been found the optimal dilution rate of the additive agents according to rumen liquid in the first part of the work. The dried samples of mixed pasture and grass were incubated with rumen fluid using the Daisy incubator. Biopolym FZT were added into an rumen fluid at several dilution rates 0, 1:500, 1:1000, 1:1500, 1:2000 a 1:2500. Dry matter digestibility and NDF digestibility were investigated after incubation for 48 h. Increasing IVDMD and IVNDFD compared control was found at 1:500 and 1:1000 dilution rates. The digestibility improving was not statistically significant. The digestibility decreasing was determined at the other rates. The IVDMD of all samples was higher by 2.60% compared control at 1:1000 dilution rate. In term of the type of vegetation higher NDF digestibility of mixed pasture samples was investigated by 10.49% compared control. The daily dose of Biopolym FZT preparation was determined as a dose of 24ml for one cow a day.

Verifying of Biopolym FZT influence on nutrient rumen degradation and fecal crude protein content – cow trials

The effect of Biopolym FZT on rumen fluid characteristics was set down. The fecal crude protein content was determined to find the effect on feed digestibility. Three rumen cannulated dry cows were used in the trials. The animals were exchanged in experimental and control group during the trials. Experimental cow was daily added 24 ml Biopolym FZT to the diet. There were the periods before every own experiment, when no preparation was added to each animal. The rumen liquid characteristics were investigated in this period too.

The protozoa number was counted in the rumen fluid. The pH value, short fatty acids content, ammonia concentration, crude protein content were determined too.

The Biopolym FZT preparation influenced significantly on protozoa number. The increasing was from 138.10^3 to 260.10^3 per milliliter of rumen fluid. The pH value has not been changed, average value was 6.9. The short fatty acids was increased from 89.59 to 91.56 mmol/l. The result was not significant. Statistical significant was the increase of propionic acid content, it changed from 15.88 to 17.64%. C2:C3 ratio was significantly reduced with preparation from 4.26 to 3.74. The ammonia content was affected with Biopolym FZT. The change from 2.23 to 3.44 mmol/l was not statistically significant. The rumen crude protein statistic significantly increased from 91.4 to 106,1g/kg DM.

From amino acid content analysis was significantly confirmed effect of tested preparation on lysine, isoleucine, aspartate concentration. Total amino acid content improved from 15.88 to 17.64% which was not statistically significant.

The fecal crude protein content was increased from 81.5 to 94.0 g/kg DM and from 90.0 to 106.5 g/kg OM. The growth of both concentrations was significant. The value showed decreasing of the feed digestibility after application of the Biopolym FZT.

Mixed pasture samples degradability determination with *in sacco* method

The effect of Biopolym FZT preparation on dry and organic matter degradability, crude protein and fiber degradability was verified with *in sacco* method. The *in sacco* bags with mixed pasture samples were incubated in the rumen for 48h.

The average dry matter rumen degradability decreased from 803.9 to 791.9 g/kg after Biopolym FZT application. The organic matter degradability decreased too, from 801.3 to 788.1 g/kg. This decline was significant. The reduction of the NDF, ADF, cellulose degradability was significant respectively. The hemicellulose degradability was depressed with addition of tested preparation but not significantly. NDFD drop from average value 681.3 to 662.4 g/kg DM, ADFD from 688.6 to 667.6 g/kg. The hemicellulose and cellulose rumen degradability decrease after the application of Biopolym FZT from 662.5 to 647.6 g/kg DM and from 661.2 to 638.1 g/kg DM respectively.

The effect of Biopolym FZT on fertilized and unfertilized pasture samples was investigated separately. The samples were incubated in rumen for 24 and 48h. All followed degradabilities were not affected with fertilization.

From all trial results could not confirm positive effect of tested Biopolym FZT preparation on feed digestibility.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ABUBAKR, A. R., ALIMON, A. R., YAAKUB, H., ABDULLAH, N., IVAN, M. (2013): Digestibility, rumen protozoa, and ruminal fermentation in goats receiving dietary palm oil by-products. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 12, 147–154.
2. ADESOGAN, A. T. (2005): Effect of bag type on the apparent digestibility of feeds in ANKOM Daisy^{II} incubators. *Anim. Feed Sci. Technol.* 119, 333-344.
3. AGUIAR, S. C., PAULA, E. M., YOSHIMURA, E. H., SATOS, W. B. R., MACHADO, E., VALERO, M. V., SANTOS, G. T., ZEOULA, L. M. (2014): Effects of phenolic compounds in propolis on digestive and ruminal parameters in dairy cows. *R. Bras. Zootec.* 43 (3), 197-206.
4. AISA, Y., MIAKAWA, Y., NAKAZATO, T., SHIBATA, H., SAITO, K., IKEDA, Y., KIZAKI, M. (2005): Fucoidan Induces Apoptosis of Human HS-Sultan Cells Accompanied by Activation of Caspase-3 and Down-Regulation of ERK Pathways. *Am. J. Hematol.* 78, 7-14.
5. AKIN, D. E., BENNER, R. (1988): Degradation of Polysaccharides and Lignin by Ruminant Bacteria and Fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(5), 1117- 1125.
6. ALLEN, M. S. (1997): Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.* 80(7), 1447-1462.
7. ALLEN, V. G., POND, K. R., SAKER, K. E., FONTENOT J. P., BAGLEY, C. P., IVY, R. L., EVANS R. R., SCHMIDT, R. E., FIKE, J. H., ZHANG, X., AYAD, J. Y., BROWN, C. P., MILLER, M. F., MONTGOMERY, J. L., MAHAN, J., WESTER, D. B., MELTON, C. (2001): Tasco: Influence of a brown seaweed on antioxidants in forages and livestock-A review. *J. Anim. Sci.* 79, E21-E31.
8. ALTMANN, V., MIMRA, V., KOLLÁROVÁ, M., MALAŤÁK, J., ROY, A. (2008): Utilisation of bio-technological agents in the process of composting. *Agricultura tropica et subtropica* 41(1), 1- 6.
9. AMON, B., KRYVORUCHKO, V., MOITZI, G., AMON, T., 2006. Greenhouse gas and ammonia emission abatement by slurry treatment. *International Congress Series* 1293. 295-298.
10. ANDERSON, M. J., BLANTON JR., J. R., GLEGHORN, J., KIM, S. W., JOHNSON, J. W. (2006): Ascophyllum Nodosum Supplementation Strategies That Improve Overall Carcass Merit of Implanted English Crossbred Cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19(10), 1514-1518.

11. ANDRIGHETTO, I., GRUBER, L., COZZI, G., URAY, G., GUIDETTI, G., BUCHGRABER, K. (1992): Prediction of digestible organic matter in dry matter in vivo from the chemical composition, in vitro and in situ measurements on native mountain forages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 39, 323-333.
12. ANKOM TECHNOLOGY METHOD 3. In: In vitro true digestibility.[online]. Ankom technology. [vid. 25.1.2015]. Dostupné z: https://ankom.com/media/documents/IVDMD_0805_D200.pdf
13. ANNISON, F., BRAMLEY, E., BROWNING, G., CUSACK, P., FAROUHARSON, B., LITTLE, S., NANDAPI, D. (2007): Ruminal Acidosis – understandings, prevention and treatment. Australian Veterinary Association. 52. Dostupné z: http://www.ava.com.au/sites/default/files/documents/Other/RAGFAR_doc.pdf
14. AOAC (2005): Official Methods of Analysis, AOAC International, 18th Edition. Gaithersburg, USA, ISBN 0-935584-375-37.
15. APPLEBY, J. CH. (1955): The Isolation and Classification of Proteolytic Bacteria from the Rumen of the Sheep. *J. Gen. Microbiol.* 12, 526-533
16. ARTHINGTON, J. D., BROWN, W. F. (2005): Estimation of feeding value of four tropical forage species at two stages of maturity. *J. Anim. Sci.* 83, 1726-1731.
17. ASHRY, G. M. EL., HASSAN, A. A. M., SOLIMAN, S. M. (2012): Effect of Feeding a Combination of Zinc, Manganese and Copper Methionine Chelates of Early Lactation High Producing Dairy Cow. *Food Nutr. Sci.* 3, 1084-1091.
18. ASPLUND, J. M. (1994): Principles of Protein Nutrition of Ruminants. CRC Press. 224s. ISBN 0-8493-4910-9.
19. ATYABI, N., YASINI, S. P., JALALI, S. M., CHAYGAN, H. (2012): Antioxidant effect of different vitamins on methemoglobin production: An in vitro study. *Veterinary Research Forum* 3, 97-101.
20. BALDWIN, R. L. (1984): Digestion and Metabolism of Ruminants. *Bioscience* 34, 244-249.
21. BANNINK, A. (2007): Modelling Volatile Fatty Acid, Dynamics and Rumen function in lactating cows. Wageningen University (Netherland): Ponsen & Looijen, 251s. ISBN: 978-90-8504-785-8.
22. BARAKA, T. A. (2012): Comparative Studies of Rumen pH, Total Protozoa Count, Generic and Species Composition of Ciliates in Camel, Buffalo, Cattle, Sheep and Goat in Egypt. *J. Am. Sci.* 8, 448-462.

23. BARBER, G. D., GIVENS, D. I., KRIDIS, M. S., OFFER, N. W., MURRAY, I. (1990): Prediction of the organic matter digestibility of grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 108, 115-128.
24. BARCHIESI-FERRARI, C., ALOMAR, D., MIRANDA, H. (2011): Pepsin-cellulase digestibility of pasture silages: effects of pasture type, maturity stage, and variations in the enzymatic method. *Chil. J. Agric. Res.* 71(2), 249-257.
25. BARTOŠ, S. (1987): Mikrobiologie a biochemie trávení v bacheru přežvýkavců. Studie ČSAV, Academia, 183.
26. BAUMAN, D. E., PERFIELD II, J. W., DE VETH, M. J., LOCK, A. L. (2003): New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proc. Cornell Nutr. Conf.* 175-189.
27. BERNALIER, A., FONTY, G., BONNEMOY, F., GOUET P. (1992): Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Current Microbiology* 25(3), 143-148.
28. BLACKBURN, T. H., HOBSON, P. N. (1960): Proteolysis in the Sheep Rumen by Whole and Fractionated Rumen Contents. *J. gen. Microbiol.* 22, 272-281.
29. BLUMMEL, M., ØRSKOV, E. R. (1993): Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40, 109-119.
30. BOGUHN, J., KLUTH, H., RODEHUTSCORD, M. (2006): Effect of Total Mixed Ration Composition on Amino Acid Profiles of Different Fractions of Ruminal Microbes In Vitro. *J. Dairy Sci.* 89, 1592-1603.
31. BOHATIER, J., SÉNAUD, J., BENYAHYA, M. (1990): In situ degradation of cellulose fibres by the entodiniomorph rumen ciliate *Polyplastron multivesiculatum*. *Protoplasma*, 124, 122-131.
32. BOISEN, S., HVELPLUND, T., WEISBJERG, M. R. (2000): Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. *Liv. Prod. Sci.* 64, 239-251.
33. BOUCHER, S. E., CALSAMIGLIA, S., PARSONS, C. M., STEIN, M. D., STERN, M. D., ERICKSON, P. S., UTTERBACK, P. L., SCHWAB, C. G. (2009): Intestinal digestibility of amino acids in rumen undegradable protein estimated using a precision-fed cecectomized rooster bioassay: I. Soybean meal and SoyPlus. *J. Dairy Sci.* 92, 4489-4498.
34. BRADEN, K. W., BLANTON, J. R., ALLEN, V. G., POND, K. R., MILLER, M. F. (2004): *Ascophyllum nodosum* Supplementation: A Preharvest Intervention for

- Reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in Feedlot Steers. *J. Food Prot.* 67(9), 1824-1828.
35. BROD, D. L., BOLSEN, K. K., BRENT, B. E. (1982): Effect of water temperature on rumen temperature, digestion and rumen fermentation in sheep. *J. Anim. Sci.* 54,179-182.
 36. BRULC, J. M., ANTONOPOULOS, D. A., BERG MILLER, M. E., WILSON, M. K., YANNAREL, A. C., DINSDALE, E. A., EDWARDS, R. E., FRANK, E. D., EMERSON, J. B., WACKLIN, P., COUTINHO, P. M., HENRISSAD, B., NELSON, K. E., WHITE, B. A. (2009): Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106, 1948–1953.
 37. BRYANT, M. P. (1959): Bacterial species of the rumen. *Bacteriol. Rev.* 23, 125-148.
 38. BRYANT, M. P., SMALL, N. (1956): The anaerobic monotrichous butyric acid-producing curved rod-shaped bacteria of the rumen. *J. Bacteriol.* 72(1), 16-21.
 39. BŘEZINOVA-BELCREDI, N., EHRENBERGEROVÁ, N., VACULOVÁ, K. (2010): Antioxidační aktivita enzymu superoxidodismutasy v zrna ječmene jarního. *Kvasny prum.* 56(3), 127-130.
 40. BULÍŘ, P. (2005): Impact of soil conditioners on the growth of European ash (*Fraxinus excelsior* L.) on dumps. *J. For. Sci.* 51, 392-402.
 41. CAMERON, S. L., WRIGHT, A-D.G., O'DONOGHUE, P. J. (2003): An Expanded Phylogeny of the Entodiniomorphida (Ciliophora: Litostomatea). *Acta Protozool.* 42, 1-6.
 42. CANBOLAT, O., KAMALAK, A., EFE, E., SAHIN, M., OZKAN, C. O. (2005): Effect of heat treatment on in situ rumen degradability and in vitro gas production of full-fat soyabeans and soyabean meal. *South Afric. J. Anim. Sci.* 35, 186-194.
 43. CARBERRY, C. A., KENNY, D. A., HAN, S., MCCABE, M. S., WATERS, S. M. (2012): Effect of Phenotypic Residual Feed Intake and Dietary Forage Content on the Rumen Microbial Community of Beef Cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(14), 4949-4958.
 44. CARTER, J. N., STOVALL, T. C., GILL, D. R., CONFER, A. W., SMITH, R. A., BALL, R. L. (2000): Nutritional Benefits of Feeding and Pelleted Supplement Manufactured from North Atlantic Seaweed to Transit-Stressed Feedlot Cattle: Animal Performance And Medical Costs. *Animal Science Research Report.* 65-69.

45. CATTANI, M., TAGLIAPIETRA, F., BAILONI, L., SCHIAVON, S. (2009): In vitro rumen feed degradability assessed with DaisyII and batch culture: effect of sample size. *Ital. J. Anim. Sci.* 8, 169-171.
46. COLEMAN, G. S. (1979): The role of rumen protozoa in the metabolism of ruminants given tropical feeds. *Trop. Anim. Prod.* 4(3), 199-213.
47. CONNAN, S., DELISLE, F., DESLANDES, E., AR GALL, E. (2006): Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in Phaeophyceae of temperate waters. *Bot. Mar.* 49, 39-46.
48. COOK, W. O., RICHARD, J. L. OSWEILLER G. D, TRAMPEL D. W. (1986): Clinical and pathologic changes in acute bovine aflatoxicosis: rumen motility and tissue and fluid concentrations of aflatoxins B1 and M1. *Am. J. Vet. Res.* 47, 1817-1825.
49. COTTA, M. A., HESPELL, R. B. (1986): Proteolytic Activity of the Ruminal Bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 52(1), 51-58.
50. COUNOTTE G. H. M., PRINS, R. A., JANSSEN, R. H. A. M., DEBIE, M. J. A. (1981): Role of *Megasphaera elsdenii* in the Fermentation of DL-[2-¹³C]lactate in the Rumen of Dairy Cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 42(4), 649-655.
51. ČEPELJNIK, T., MARINŠEK LOGAR, R. (2002): *Butyrivibrio* strains – important butyrate producing bacteria from animal gastro-intestinal tract and current taxonomic status of strains in this genus. *Zb. Bioteh. Fak. Univ. Ljubl., Kmet. Zooteh.* 80, 19-28.
52. ČERMÁK, B. a kol. (2004): *Vliv kvality krmiv na produkci a zdravotní nezávadnost mléka a masa*. České Budějovice, ISBN: 978-80-7090-744-1, 167s.
53. ČERMÁK, B. a kol. (2008): *Krmiva konvenční a ekologická*. České Budějovice, ISBN:978-80-7394-141-3, 326s.
54. ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2011): Influence of Chosen Stimulants on Selected Quality Ingredients of Cow's Milk and Rumen Parametres. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies: Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnoologii* 44 (1), 19-23.
55. ČERVINKA, J. (2002): *Biochemismus a mikrofauna bachorové tekutiny skotu*. České Budějovice Diplomová práce. Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, Katedra anatomie a fyziologie hospodářských zvířat.
56. DAMIRAN, D., DELCURTO, D., BOHNERT, D. W., PULSIPHER, D. G., FINDHOLT, S. L., 2002. Comparison of techniques and grinding size to estimate

- digestibility of forage base ruminant diets. American Society of Animal Science. 53, 341-344.
57. DAMIRAN, D., DELCURTO, T., BOHNERT, D. W., PULSIPHER, G. D., FINDHOLT, S. L. (2002): Comparison of techniques and grinding size to estimate digestibility of forage base ruminant diets. Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science 53, 341-344.
 58. DAS, S., ADHYA, T. K. (2012): Dynamics of methanogenesis and methanotrophy in tropical paddy soils as influenced by elevated CO₂ and temperature interaction. Soil Biol. Biochem. 47, 36-45.
 59. DAS, T. K., BANERJEE, D., CHAKRABORTY, D., PAKHIRA, M. C., SHRIVASTAVA, B., KUHAD, R. C. (2012): Saponin: Role in Animal system. Vet. World 5(4), 248-254.
 60. DE VETH, M. J., KOLVER, E. S. (2001): Diurnal variation in pH reduces digestion and synthesis of microbial protein when pasture is fermented in continuous culture. J. Dairy Sci. 84 (9), 2066–2072.
 61. DEHORITY, B. A., TIRABASSO, P. A. (1989): Lyophilization of Rumen Fluid for Use in Culture Media. Appl. Environ. Microbiol. 55(12), 3237-3239.
 62. DOLEŽAL, P., DOLEŽAL, J. (2004): Kvasinková kultura *Sacharomyces cerevisiae* (kmen 47) jako manipulátor bachorové fermentace laktujících dojníc v postpartálním období. Acta Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis Sborník Mendelovy Zemědělské A Lesnické Univerzity V Brně Ročník LIII, 1, 27-33.
 63. DOLEŽAL, P., DOLEŽAL, J., TŘINÁCTÝ, J. (2005): The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on luminal fermentation in dairy cows. Czech J. Anim. Sci., 50, 503-510.
 64. DOLEŽAL, P., DVOŘÁČEK, J., DVOŘÁČKOVÁ, J., POŠTULKA, R., DOLEŽAL, J., SZWEDZIAK, K. (2010): Využití kvasinkové kultury ve výživě laktujících dojníc. Acta univ. Agric. et silvic. Mendel. Brun. LVIII (5), 75-82.
 65. DURAND, M., KOMICARCZUK, S. (1988): Influence of Major Minerals of Rumen Microbiota. J. Nutr. 118, 249-260.
 66. DVOŘÁK, R. (2005): Fyziologie a patologie trávení u přežvýkavců In: Výživa skotu z hledisek produkční a preventivní medicíny. Brno: Klinika chorob přežvýkavců FVL VFU: Česká buiatrická společnost, ISBN 80-7305-550-3, 117s.
 67. EASTRIDGE, M. L. (2006): Major Advances in Applied Dairy Cattle Nutrition. J. Dairy Sci. 89, 1311-1323.

68. EL-WAZIRY, A., AL-HAIDARY, A., OKAB, A., SAMARA, E., ABDOUN, K. (2015): Effect of dietary seaweed (*Ulva lactuca*) supplementation on growth performance of sheep and on in vitro gas production kinetics. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 39, 81-86.
69. EOM, S. H., KIM, Y. M., KIM, S. K. (2012): Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. *Food Chem. Toxicol.* 50, 3251-3255.
70. ERDMAN, R. A. (1988): Dietary Buffering Requirements of the Lactating Dairy Cow: A Review. *J. Dairy Sci.* 71, 3243-3266.
71. EWASCHUK, J. B., NAYLOR, J. M., CHIRINO-TREJO, M., ZELLO, G. A. (2004): *Lactobacillus rhamnosus* strain GG is a potential probiotic for calves. *Can. J. Vet. Res.* 68(4), 249-253.
72. FIKE, J. H., ALLEN, V. G., SCHMIDT, R. E., ZHANG, X., FONTENOT, J. P., BAGLEY, C. P., IVY, R. L., EVANS, R. R., COELHO, R. W., WESTER, D. B. (2001): Tasco-Forage: I. Influence of a seaweed extract on antioxidant activity in tall fescue and in ruminants. *J. Anim. Sci.* 79, 1011-1021.
73. FIRKINS, J. L., YU, Z., MORRISON, M. (2007): Ruminal Nitrogen Metabolism: Perspectives for Integration of Microbiology and Nutrition for Dairy. *J. Dairy Sci.* 90, E1-E16.
74. FITTON, J. H. (2011): Root growth of containerized lodgepole pine seedlings in response. *Mar. Drugs* 9, 1731-1760.
75. FOLEY, S. A., SZEGEZDI, A., MULLOY, B., SAMALI, A., TUOHY, M. G. (2011): An Unfractionated Fucoidan from *Ascophyllum nodosum*: Extraction, Characterization, and Apoptotic Effects in Vitro. *J. Nat. Prod.* 74, 1851-1861.
76. FOREJTOVÁ, J., LÁD, F., TŘINÁCTÝ, J., RICHTER, M., GRUBER, L., DOLEŽAL, P., HOMOLKA, P., PAVELEK, L. (2005): Comparison of organic matter digestibility determined by in vivo and in vitro methods. *J. Anim. Sci.* 50(2), 47-53.
77. FREDDEN, A. H., DEPETERS, E. J., BALDWIN, R. L. (1988): Effects of acid-base disturbances caused by differences in dietary fixed ion balance on kinetics of calcium metabolism in ruminants with high calcium demand. *J. Anim. Sci.* 66, 174-184.
78. FRELICH, J. a kol. (2001): Chov skotu, České Budějovice, ISBN 80-7040-512-0, 211s.

79. FRYDRYCH, Z. (2005): Krmná aditiva ve výživě skotu In: Výživa skotu z hledisek produkční a preventivní medicíny. Brno: Klinika chorob přežvýkavců FVL VFU: Česká buiatrická společnost, ISBN 80-7305-550-3, 117s.
80. FRYDRYCH, Z. (2008): Krmná aditiva ve výživě dojníc. Sborník příspěvků z mezinárodní vědecké konference, Karto TISK, s. r. o., Šumperk, ISBN: 978-80-87144-02-2, 10-15.
81. FULLER, R. (1989): Probiotics in man and animals. A rewiev. *J. Appl. Bacteriol.* 66, 365-378.
82. GENTHERN, O. N., HANSEN, S. L. (2014): The effect of trace mineral source and concentration on ruminal digestion and mineral solubility. *J. Dairy Sci.* 98(1), 566-573.
83. GJUROV, V. (2005): Firemní informace o přípravcích bio–algeenové řady. Klokočná 89 – Mnichovice.
84. GJUROV, V., ŠOCH, M., NOVÁK, P., VOSTOUPAL, B., VRÁBLÍKOVÁ, J. (2008): Role of bioalginates in stimulated metanogenesis proces. In: Sborník příspěvků mezinárodního symposia „Biotechnology 2008“. Scientific pedagogical Publishing, České Budějovice, 2008, University of South Bohemia České Budějovice, Fakulty of Agriculture, part 4, 43 – 45.
85. GJUROV, V., ŠOCH, M., NOVÁK, P., VOSTOUPAL, B., VRÁBLÍKOVÁ, J., ZAJÍČEK, P. (2007): Biotechnologické přípravky kategorie BIO-ALGEEN v chovech hospodářských zvířat, pro bioplynové stanice a pro čistírny odpadních vod. In: Sborník příspěvků z vědecké konference s mezinárodní účastí “Aktuální otázky bioklimatologie zvířat“, 11. 12. 2007 Brno. VÚŽV Praha, 33 – 40.
86. GLANESELLA, M., PICCIONE, G., CANNIZZO, C., CASELLA, S., MORGANTE, M. (2012): Influence of temperature and humidity on rumen pH and fatty acids in dairy cows. *J. Environ. Biol.* 33(6), 1093-1096.
87. GONZÁLEZ J., FARÍA-MÁRMOL J., RODRÍGUEZ C. A., ALVIR, M. R. (2001): Effect of stage of harvest on the protein value of fresh Lucerne for ruminants. *Reproduction Nutrition Development.* 41, 381-392.
88. GRADEL, C. M., DEHORITY, B. A. (1972): Fermentation of Isolated Pectin and Pectin from Intact Forages by Pure Cultures of Rumen Bacteria. *Appl. Microbiol.* 23(2), 332-340.
89. GRESSLEY, T. F. (2009): Zinc, copper, manganese, and selenium in dairy cattle rations. Proceedings of the 7th Annual Mid-Atlantic Nutrition Conference, University of Mary-land, College Park. 65-71.

90. GUAN, L. L., NKRUMAH, J. D., BASARAB, J. A., MOORE, S. S. 2008. Linkage of microbial ecology to phenotype: correlation of rumen microbial ecology to cattle's feed efficiency. *FEMS Microbiol. Lett.* 288:85–91.
91. HADDAD, S. G., GOUSSOUS, S. N (2005):. Effect of yeast culture supplementation on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 118, 343-348.
92. HÁJEK, J. (2009): Vliv složení TMR na ukazatele bachorové fermentace laktujících dojnic. Diplomová práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav výživy zvířat a pícninářství.
93. HAJIČ, F., KOŠVANEC, K., ČÍTEK, J. (1995): *Obecná zootechnika*. České Budějovice. Jihočeská univerzita České Budějovice, 165s., ISBN 80-7040-148-6.
94. HANSILAWAT, T., PONGSAWATMANIT, R., MCCLEMENTS, D. J. (2006): Characterization of b-lactoglobulin–sodium alginate interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study. *Food Hydrocolloids* 20, 577-585.
95. HASSAN, A. A., EL ASHRY, G. M., SOLIMAN, S. M. (2011): Effect of Supplementation of Chelated Zinc on Milk Production in Ewes. *Food Nutr. Sci.* 2, 706-713.
96. HEGARTY, R. S. (1999): Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Aust. J. Agric. Res.* 50, 1321-1327.
97. HERD, R. M., BIRD, S. H., DONOGHUE, K. A., ARTHUR, P. F. AND HEGARTY, R. F. (2013): Phenotypic associations between methane production traits, volatile fatty acids and animal breeding traits. in: *Proc. of the 20th Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics Conference*. 286-289.
98. HERNANDEZ-SANABRIA, E., GOONEWARDENE, L. A., WANG, Z., ZHOU, M., MOORE, S. S., GUAN, L. L. (2013): Influence of Sire Breed on the Interplay among Rumen Microbial Populations Inhabiting the Rumen Liquid of the Progeny in Beef Cattle. *Plos* 8(3), e58461,1-15.
99. HESPELL, R. B., WOLF, R., BOTHAST, J. (1987): Fermentation of Xylans by *Butyrivibrio fibrisolvens* and Other Ruminant Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 53(12), 2849-2853.
100. HINO, T., RUSSEL, J. B. (1987): Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. *J. Anim. Sci.* 64, 261-270.
101. HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ČERMÁK, B., ŠOCH, M., FRELICH, J. (2011): The Effect of Biostimulative Substance on Daily Milk Yield and Quality

- Components in Cow's Milk. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies: Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii 44 (1), 55-57.
102. HO, Y. W., ABDULLAH, N., JALALUDIN, S. (2000) : The diversity and taxonomy of anaerobic gut fungi. *Fungal Diversity* 4, 37-51.
103. HOBSON, P. N (1969).: Rumen Bacteria. *Methods Microbiol.* 3, 133-149.
104. HOBSON, P. N., MANN, S. O. (1961): The Isolation of Glycerol-Fermenting and Lipolytic Bacteria from the Rumen of the Sheep. *J. Gen. Microbiol.* 25, 227-240.
105. HOFÍREK, B., DVOŘÁK, R. (2002): Metody odběru bachorové tekutiny a její praktický význam. *Farmář* 7, 46–47.
106. HOLTSHAUSEN, L., CHAVES, A. V., BEAUCHEMIN, K. A., MCGINN, S. M., MCALLISTER, T. A., ODONGO, N. E., CHEEKE, P. R., BENCHAAAR, C. (2009): Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92(6), 2809-2821.
107. HOOK, S. E., WRIGHT, A. D. G., MCBRIDE, B. W. (2010): Methanogens: Methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea* 2010, Article ID 945785, 11s.
108. HOOVER, W. (1986): Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.*, 69, 2755-2766.
109. HÖRNIG, G., BRUNECH, R. (2002): Bestimmung der Stoff- und Wärmeproduktion in Geflügelställen – Ammoniakemissionen aus Broilermastställen beim Einsatz von Braunalgen., ATB Bornim, Potsdam, 6-15.
110. HRISTOV, A. N., IVAN, M., RODE, L. M., MCALLISTER, T. A. (2001): Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium- or high-concentrate barley-based diets. *J. Anim. Sci.* 79, 515-524.
111. HUHTANEN, P., JAAKKOLA, S. (1994): Influence of grass maturity and diet on ruminal dry matter and neutral detergent fibre digestion kinetics. *Arch. Tierernähr.* 47, 153-167.
112. HUTJENS, M. F. (1991): Feed Additives: Which, When, and Why. *Vet Clin. North Am.* 7, 525-538.
113. CHALUPA, W. (1975): Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. *J. Dairy Sci.* 58, 1198-1218.
114. CHARBONNEAU, E., PELLERIN, D., OETZEL, G. R. (2006): Impact of Lowering Dietary Cation-Anion Difference in Nonlactating Dairy Cows: A Meta-Analysis. *J. Dairy Sci.* 89, 537-548.

115. CHEEKE, P. R. (2001): Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia* 13, 115-126.
116. CHEN, G., RUSSELL, J. B. (1989): More Monensin-Sensitive, Ammonia-Producing Bacteria from the Rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 55(5), 1052-1057.
117. CHEN, Y., CHENG, J. J., CREAMER, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology.* 99: 4044-4064.
118. CHEN, Y., PENNER, G. B., LI, M., OBA, M., GUA, L. L. (2011): Changes in Bacterial Diversity Associated with Epithelial Tissue in the Beef Cow Rumen during the Transition to a High-Grain Diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 5770-5781.
119. CHENOST, M., AUFRÉRE, J., MACHEBOEUF, D. (2001): The gas-test technique as a tool for predicting the energetic value of forage plants. *Anim. Res.* 50(5), 349-364.
120. CHILLIARD, Y (1993): Dietary Fat and Adipose Tissue Metabolism in Ruminants, Pigs, and Rodents: A Review. *J. Dairy Sci.* 76, 3897-3931.
121. CHOUDHARY, P. L., SHARMA, R. S., BORKHATARIA V. N., DESAI, M. C. (1998): Effect of feeding aflatoxin B1 on feed consumptions through naturally contaminated feeds. *Ind. J. Anim. Sci.* 68, 400-401.
122. CHOW, J. M., DEPETERS, E. J., BALDWIN, J. R. (1990): Two rumen-protected amino acids in dairy cows' feed change the protein content of milk. *Calif. Agric.* 44(6), 12-14.
123. CHRISTIANSEN, WM. C., KAWASHIMA, R., BURROUGHS, W. (1965): Influence of protozoa upon rumen acid production and liveweight gains in lambs. *J. Anim. Sci.* 24, 730-734.
124. ISHLER, V. (2010): Carbon, methane emissions and the dairy cow. *DAS* 08-127, 1-4.
125. IVAN, M., DAYNELLDE, M. S., MAHADEVAN, S., HIDIROGLOU, M. (1992): Effect of bentonite on wool growth and nitrogen metabolism in fauna free and faunated sheep. *J. Anim. Sci.* 70, 3194-3202.
126. JAKOBSON, D. R., HEMKEN, R. W., BUTTON, F. S., HATTON, R. H. (1972): Mineral Nutrition, Calcium, Phosphorus, Magnesium, and Potassium Interrelationships. *J. Dairy Sci.* 55, 935-944.
127. JALLOW, D. B., HSIA, L. CH. (2011): Effect of Six Feed Supplements on Ruminal Degradation Characteristics and Amino Acid Profile of Sheep. *Inter. J. Anim. Vet. Adv.* 3(5), 367-373.

128. JAMI, E., MIZRAHI, I. (2012): Composition and Similarity of Bovine Rumen Microbiota across Individual Animals. *Plos* 7(3), e33306, 1-8.
129. JANČÍK F., HOMOLKA P., KOUKOLOVÁ V. (2008): Optimální termín sklizně trav z pohledu trávení buněčné stěny. *Metodika*. 33 p. ISBN 978-80-7403-011-6.
130. JANČÍK, F., HOMOLKA, P., ČERMÁK, B., LÁD, F. (2008): Determination of indigestible neutral detergent fibre contents of grasses and its prediction from chemical composition. *Czech J. Anim. Sci.* 53(3), 128-135.
131. JANČÍK, F., KOUKOLOVÁ, V., HOMOLKA, P. (2010): Ruminant degradability of dry matter and neutral detergent fibre of grasses. *Czech J. Anim. Sci.* 55, 359-371.
132. JANKNECHT, G. (2000): Americké hodnocení krmiv s NDF a ADF. *Úspěch ve stáji* 3, 3-4.
133. JARVIS, B. D. W. (1988): Lysis of viable rumen bacteria in bovine rumen fluid. *Appl. Microbiol.* 16, 714-723.
134. JELÍNEK, A., DĚDINA, M., PLÍVA, P., SOUČEK, J. (2004): Research of biological agents effects on reduction of ammonia concentration in stables of intensive farm animals breeding. *Res. Agr. Eng.* 50 (2), 43–53.
135. JELÍNEK, P., KOUDELA, K. a kolektiv (2003): *Fyziologie hospodářských zvířat*. MZLU Brno, ISBN 80-7157-644-1, 92-133.
136. JENSEN, C., WEISBJERG, M. R., HVELPLUND, T. (2006): Evaluation of methods for estimating the amino acid supply to the duodenum of microbial, endogenous and undegraded feed protein on maize silage diets fed to dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131, 1-24.
137. JERANIAMA, P., GARCIA, A. D. (2004): Understanding Relative Feed Value (RFV) and Relative Forage Quality (RFQ). *ExEx* 8149, 1-3. Dostupné z: http://pubstorage.sdstate.edu/AgBio_Publications/articles/ExEx8149.pdf
138. JEROCH, H., ČERMÁK, B., KROUPOVÁ, V. (2006): *Základy výživy a krmení hospodářských zvířat*. Vědecká monografie. České Budějovice, ISBN 80-7040-873-1, 290 s.
139. JOBLIN, K. N. (1981): Isolation, Enumeration, and Maintenance of Rumen Anaerobic Fungi in Roll Tubes. *Appl. Environ. Microbiol.* 12, 1119-1122.
140. JOHNSON, D. E., FERREL, C. L., JENKINS, T. G (2003): The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are we going? *J. Anim. Sci.* 81, E27- E38.

141. JONKER, A., GRUBER, M., NARVAEZ, N., COULMAN, B., MCKINNON, J., CHRISTENSEN, D., AZARFAR, A., YU, P. (2012): Fermentation, degradation and microbial nitrogen partitioning for three forage colour phenotypes within anthocyanidin-accumulating Lc-alfalfa progeny. *J. Sci. Food Agric.* 92, 2265-2273.
142. JOUANY, J. P. (1996): Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants. *J. Nutr.* 126, 1335S–1346S.
143. JUNG, H-J. G. (1997): Analysis of Forage Fiber and Cell Walls in Ruminant Nutrition. *J. Nutr.* 27(5), 8105-8135.
144. KAMRA, D. N. (2005) Rumen microbial ecosystem. *Curr. Sci.* 89, 124–135.
145. KARATZIA, M., CHRISTAKI, E., BONOS, E., KARATZIAS, CH., FLOROU-PANERI, P. (2012): The influence of dietary *Ascophyllum nodosum* on haematologic parameters of dairy cows. *Ital. J. Anim. Sci.* 11, 169-173.
146. KARSLI, M. A., RUSSELL, J. R. (2002): Effects of Source and Concentrations of Nitrogen and Carbohydrate on Ruminal Microbial Protein Synthesis. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 26, 201-207.
147. KAYS, S. E., BARTON, F. E., WINDMAN, W. R. (2000): Predicting protein content by near infrared reflectance spectroscopy in diverse cereal food products. *J. Near Infrared Spectrosc.* 8, 35–43.
148. KELLOGG, D. W., ANSCHUTZ, K., PENNINGTON, J. (2006): Report of Research Trial with Tasco at Rose Ark Dairy in Arkansas During Summer 2005, Arkansas Animal Science Department Report, 100-104.
149. KHORRAMI, B., VAKILLI, A. R., DANESH MESGARAN, M., KLEVENHAUSEN, F. (2015): Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 200, 8-16.
150. KIM, E. J., HUVS, S. H., LEE, M. R. F., SCOLLAN, N. D. (2009): Dietary Transformation of Lipid in the Rumen Microbial Ecosystem, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 22(9), 1341-1350.
151. KLABZUBA, J., KOŽNAROVÁ, V. (2002): Aplikovaná meteorologie a klimatologie. XI. díl, Mikroklima stájí. ČZU Praha, 30 s., ISBN 80-213-0870-2.
152. KLEMESRUD, M. J., KLOPFENSTEIN, T. J., LEWIS, A. J. (2000): Evaluation of feather meal as a source of sulfur amino acids for growing steers. *J. Anim. Sci.* 78, 207-215.

153. KLOPFENSTEIN, T. J., PURSER, D. B., TYZNIK, W. J. (1966): Effects of Defaunation on Feed Digestibility, Rumen Metabolism and Blood Metabolites. *J. Anim. Sci.* 25, 765-773.
154. KOENIG, K. M., NEWBOLD, C. J., MCINTOSH, F. M., RODE, L. M. (2000): Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. *J. Anim. Sci.* 78, 2431-2445.
155. KONEČNÝ, R., TRÁVNÍČEK, J., HASONOVÁ, L., PLICKA, J., KROUPOVÁ, V., STAŇKOVÁ, M., PEKSA, Z. (2012): Antibody production in sheep a diet containing brown seaweed. *J. Agrobiol.* 28, 61-65.
156. KOPEČNÝ, J. (1978): Studium dusíkatého metabolismu bachorových mikroorganismů. Práce kandidátského minima. Uhřetěves. Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV.
157. KOPEČNÝ, J., WALLACE, R. J. (1982): Cellular Location and Some Properties of Proteolytic Enzymes of Rumen Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 3, 1026-1033.
158. KOPEČNÝ, J., ZOREC, M., MRÁZEK, J., KOBAYASHI, Y., MARINSEK-LOGAR, R. (2003): *Butyrivibrio hungatei* sp. nov. and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* sp. nov., butyrate-producing bacteria from the rumen. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 201-210.
159. KOUKOLOVÁ, V., HOMOLKA, P., KUDRNA, V. (2010): Vliv strukturálních sacharidů na bachorovou fermentaci, zdraví zvířat a kvalitu mléka. VÚŽV Praha-Uhřetěves, ISBN 978-80-7403-066-6, 41.
160. KREHBIEL, C. R., RUST, S. R., ZHANG, G., GILLIAND, S. E. (2003): Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J. Anim. Sci.* 81, E120-132.
161. KUDRNA a kol. (1998). *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj Praha. 362 s. ISBN 80-239-4241-7.
162. KUDRNA, V. (1998): *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj Praha, 362.
163. KUDRNA, V., HOMOLKA, P. (2009). Vliv diety, zejména obsahu dusíkatých látek, na množství a kvalitu mléčné bílkoviny a zdraví dojnic. VÚŽV- Praha Uhřetěves. 44s.
164. KUDRNA, V., POLÁKOVÁ, K. (2002): Stability bachorového prostředí. *Zemědělec* 14 (19), 34-35.
165. KUNG, L, JR. (2013): Direct-fed microbials and enzymes for dairy cows [online]. Department of Animal & Food Sciences University of Delaware. [vid. 18.2.2014] Dostupné z: <http://txanc.org/wp-content/uploads/2011/08/directfed2.pdf>

166. KURIHARA, Y., EADIE, J. M., HOBSON, P. N., MANN, S. O., 1968. Relationship between Bacteria and Ciliate Protozoa in the Sheep Rumen. *J. gen. Microbiol.* 51, 267-288.
167. LAPIERRE, H., RAGGIO, G., OUELLET, D. R., BERTHIAUME, R., DOEPEL, L., PACHECO, D. (2006): Beyond the rumen: Understanding the biology behind amino acid balanced dairy diets. 21st Annual Southwest Nutrition & Management Conference, 23-24.
168. LAUNCHBAUGH, K. L., SRUTH, J. W., HOLLOWAY, J. W. (1990): Influence of range site on diet selection and nutrient intake of cattle. *J. Range Manag.* 43(2), 109-116.
169. LEEDLE, J. A., BRYANT, M. P., HESPELL, R. B. (1982): Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animals fed low- or high-forage diets. *Appl. Environ. Microbiol.* 44(2), 402-412.
170. LEMENAGER, R. P., NELSON, L. A., HENDRIX, K. S. (1980): Influence of cow size and breed type of energy Requirements. *J. Anim. Sci.* 51, 566-576.
171. LENG, L. (1991): Úloha obličiek a bachorovej steny v metabolizme dusíka prežúvavcov. *Pol'nohospodárska veda*. Bratislava, ISBN 80-224-0298-2, 104.
172. LESCHINE, S. B. (1995): Cellulose degradation in anaerobic environments. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 399-426.
173. LI, M., PENNER, G. B., HERMANDEZ-SANABRIA, E., OBA, M., GUAN, L. E. (2009): Effects of sampling location and time, and host animal on assessment of bacterial diversity and fermentation parameters in the bovine rumen. *J. Appl. Microbiol.* 107, 1924-1934.
174. LIN, SH., WEI, CH., ZHAO, G., ZHANG, T., YANG, K. (2015): Comparison of the effects of lanthanum, cerium and praseodymium on rumen fermentation, nutrient digestion and plasma biochemical parameters in beef cattle. *Arch. Anim. Nutr.* 69, 46-56.
175. LIU, Y., WHITMAN, W. B. (2008). Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. *Annual New York Academy of Sciences.* 1125: 171-189.
176. LLOYD, D.; WILLIAMS, A. G., AMANN, R., HAYES, A. J., DURRANT, L., RALPHS, J. R. (1996): Intracellular prokaryotes in rumen ciliate protozoa: detection by confocal laser scanning microscopy after in situ hybridization with fluorescent 16S rRNA probes. *Europ. J. Protist.*, 32, 523-531.

177. LODEMANN, U., MARTENS, H. (2006): Effects of diet and osmotic pressure on Na^+ transport and tissue conductance of sheep isolated rumen epithelium. *Exp. Physiol.* 91, 539-550.
178. LODGE-IVEY, S. L., BRWNE-SILVA, J., HORVATH, M. B. (2009): Technical note: Bacterial diversity and fermentation end products in rumen fluid samples collected via oral lavage or rumen cannula. *J. Anim. Sci.* 87, 2333-2337.
179. LOEFLER, I. J. P. (2000): Human population growth. Population issue is not entirely satisfactory. *BMJ* 12, 320(7232), 443.
180. LOOR, J. J., HOOVER, W. H., MILLER-WEBSTER, T. K., HERBEIN, J. H., POLAN, C. E. (2003): Biohydrogenation of unsaturated fatty acids in continuous culture fermenters during digestion of orchardgrass or red clover with three levels of ground corn supplementation. *J. Anim. Sci.* 81 (6), 1611-1627.
181. LOURENCO, A. L., DIAS-DA-SILVA, A., SANTOS, A. S., RODRIGUES, M. A., CONE, J. W., FERREIRA, L. M., 2014. Comparative digestibility of low-quality grass hay by two breeds of cattle differing in mature live weight. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 98(3), 453-457.
182. LOURENCO, M., RAMOS-MORALES, E., WALLACE, R. J. (2010): The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal*, 4:7, 1008-1023.
183. LUKAS, M., SÜDEKUM, K-H., RAVE, G., FRIEDEL, K., SUSENBETH, A. (2005): Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. *J. Anim. Sci.* 83, 1332-1344.
184. LYNN, D. H. (2008): *The Ciliated Protozoa*. Thrd Edition Springer, University of guelph, Canada, p. 605.
185. MACARTAIN, P., GILL, CH. I. R., BROOKS, I., CHAMPBELL, R., ROWLAND, I. R. (2007): Nutritional Value of Edible Seaweeds. *Nutr, Rew.* 65(12), 535-543.
186. MAROUNEK, M., BARTOS, S., KALACHNYUK, G (1982).: Dynamics of the redox potential and rh of the rumen fluid of goats. *J. Dairy Sci.* 31(4), 369-374.
187. MAROUNEK, M., KOPEČNÝ, J., BARTOŠ, S., BŘEZINA, P. (1988): Isolation of Wheat Cellulose and Hemicelluloses for in vitro Studies On Ruminant Digestion. *Scientia Agriculturae Bohemoslovaca Tomus 20 (XXXVII), No. 3*, 189-192.
188. MARTEN, G. C., HALGERSON, J. L., CHERNEY, J. H. (1983): Quality prediction of small grain forages by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 23, 94-96.

189. MARTIN, C., BERNARD, L., MICHALET-DOREAU, B. (1996): Influence of Sampling Time and Diet on Amino Acid Composition of Protozoal and Bacterial Fractions from Bovine Ruminal Contents. *J. Anim. Sci.* 74,1157-1163.
190. MARTIN, C., MIRANDE, C., MORGAVI, D. P., FORANO, E., DEVILLARD, E., MOSONI, P. (2013): Methionine analogues HMB and HMBi increase the abundance of cellulolytic bacterial representatives in the rumen of cattle with no direct effects on fibre degradation. *Anim. Feed Sci. Tech.* 182, 16-24.
191. MARVAN, F. a kol. (1998): Morfologie hospodářských zvířat, Nakadatelství Brázda, s.r.o., Praha, ISBN 80-209-0273-2, 304+24s.
192. MAYERS, E. (2010): Improve Efficiency on Your Farm with Ionophores. *Regional Dairy Newsletter* 1(8), 1-3.
193. MC CRORY, D. F., HOBBS, P. J. (2001): Additives to Reduce Ammonia and Odor Emissions from Livestock Wastes: A Review. *J. Environ. Qual.* 30, 345-355.
194. MCALLISTER, T. A., BAE, H. D., JONES, G. A., CHENG, K. J. (1994): Microbial Attachment and Feed Digestion in the Rumen. *J. Anim. Sci.* 72(11), 3004-3018.
195. MCALLISTER, T. A., NEWBOLD, C. J. (2008): Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 48, 7-13.
196. MCALLISTER, T. A., OKINE, E. K., MATHISON, G. W., CHENG, K. J. (1996): Dietary environmental and microbiological aspect of methane production in ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 76,231-243.
197. MCCARTHY, R. D., KLUSMEYER, T. H., VICINI, J. L., CLARK, J. H., NELSON, D. R.. (1989). Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 72, 2002-2016.
198. MCLEOD, A. (2011): World livestock 2011. Livestock in food security. Rome 2011, p 115.
199. MEHREZ, A. Z., ØRSKOV, E. R. (1977): A study of artificial fibre bag technique for determining the dig estibility of feeds in the rumen. *J. Agricultural Sci.* 88(3), 645-650.
200. MERTENS, D. R. (1987): Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Anim. Sci.* 64:1548-1558.
201. MERTENS, D. R. (1997): Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci* 80, 1463-1481.

202. MESNILDREY, L., JACOB, C., FRANGOUEDES, K., REUNAVOT, M., LESUEUR M. (2012): Seaweed industry in France. Report. Interreg program NETALGAE. Les publications du Pôle halieutique AGROCAMPUS OUEST n°9, 34.
203. MEYER, J. H. F., MACKIE, R. I. (1986): Microbiological Evaluation of the Intraruminal In Sacculus Digestion Technique. *Appl. Environ. Microbiol.* 51(3), 622-629.
204. MEYER, J. H. F., WALT, S. I., SCHWARTZ, H. M. (1986): The Influence of Diet and Protozoal Numbers on the Breakdown and Synthesis of Protein in the Rumen of Sheep. *J. Anim. Sci.*, 62, 509-520.
205. MICHALET-DOREAU, B., OULD-BAH, M. Y. (1992): In vitro and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40, 57-86.
206. MICHALOWSKI, T. (2005): Rumen protozoa in the domestic ruminant in Holzapfel, W. H., Naughton, P. J.: *Microbial Ecology of Growing Animals: Biology of Growing Animals*, Elsevier Health Sciences, 504.
207. MICHALOWSKI, T., RYBICKA, K., WERESZKA, K., KASPEROWICZ, K. (2001): Ability of the Rumen Ciliate *Epidinium ecaudatum* to Digest and Use Crystalline Cellulose and Xylan for in vitro Growth. *Acta Protozool.* 40, 203-210.
208. MICHIELS, J., SKRIVANOVA, E., MISSOTEN, J., OVYN, A., MRAZEK, J., DE SMET, S., DIERICK, N. (2012): Intact brown seaweed (*Ascophyllum nodosum*) in diets of weaned piglets: effects on performance, gut bacteria and morphology and plasma oxidative status. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 96(6), 1001-1010.
209. MÍKA, V. (1998): Šlechtění píce na kvalitu (Studijní zpráva). 33 s. ISBN 80-86153-63-0.
210. MÍKA, V. a kol. (1997): Kvalita píce. Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha. ISBN 80-96153-59-2, 227s.
211. MIKICIUK, M., DOBROMILSKA, R. (2014): assessment of yield and physiological indices of small-sized tomato cv. 'bianka fl' under the influence of biostimulators of marine algae origin. *Acta Sci. Pol.* 13(1), 31-41.
212. MLÁDEK, J., PAVLŮ, V., HEJCMAN, M., GAISLER, J., (2006): Pastva jako prostředek údržby trvalých pastevních porostů v chráněných územích. VÚRV, Praha 104s.
213. MOBASHAR, M., HUMMEL, J., BLANK, R., SÜDEKUM, K-H. (2010): Ochratoxin A in Ruminants. A Review on Its Degradation by Gut Microbes and Effects on Animals. *Toxins* 2, 809-839.

214. MOHAMMADI, M. CH., GHASRODASHTI, A. R., TAMADON, A., BEHZADI, M. A. (2011): Effects of prepartum Monensin Feeding on Energy Metabolism and Reproductive Performance of Postpartum High-Producing Dairy Holstein Cows. *Pak Vet J.* 31, 1-5.
215. MORGAVI, D. P., FORANO, E., ARTIN, C., NEWBOLD, C. J. (2010): Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal* 4(7), 1024-1036.
216. MORRIS, E. J., COLE, O. J. (1988): Relationship Between Cellulolytic Activity and Adhesion to Cellulose in *Ruminococcus albus*. *J. Gen. Microbiol.* 133, 2023-2032.
217. MOSS, A. R., JOUANY, J. P., NEWBOLD J. (2000): Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49, 231-253.
218. MUDŘÍK, Z., DOLEŽAL, P., KOUKAL, P. (2006): *Základy moderní výživy skotu*, ISBN 80-213-1559-8, 270 s.
219. NAGARAJA, T. G., TITGEMEYER, E. C. (2007): Ruminal Acidosis in Beef Cattle: The Current Microbiological and Nutritional Outlook, *J. Dairy Sci.* 90, E Suppl., E17-E38.
220. NELSON, K. E., ZINDER, S. H., HANCE, I., BURR, P., ODONGO, D., WASAWO, D., ODENYO, A., BISHOP, R. (2003): Phylogenetic analysis of the microbial populations in the wild herbivore gastrointestinal tract: insights into an unexplored niche. *Environ. Microbiol.* 5(11), 1212-1220.
221. NEUMANN, S. (2003): Schaumann-lizy: vhodný doplněk minerálních látek na pastvě. *Úspěch ve stáji* 3, 19.
222. NGUYEN, T. H., BRONGNIART, I. A. (1995): Způsob zvyšování zootechnické užitkovosti přežvýkavých zvířat a krmivové aditivum k jeho provádění. IPC: A 23 K 1/18, A 23 K 1/00. Česká republika. Užitný vzor, CZ 280 257 B6.1995-10-09.
223. NIEKERK, W. A., HASSEN, A., BECHAZ, F. M. (2009): Influence of grass species and stage of maturity at ensiling on intake and partial digestibility by sheep. *South African Journal of Animal Science* 39, 234-237.
224. NORDHEIM-VIKEN, H., VOLDEN, H. (2009): Effect of maturity stage, nitrogen fertilization and seasonal variation on ruminal degradation characteristics of neutral detergent fibre in timothy (*Phleum pratense* L.). *Anim. Feed Sci. Technol.* 149, 30-59.
225. NRC (1996): *Nutrient Requirements of Beef Cattle* (7th ed.). [online]. National Academy Press, Washington, DC. [vid.27.4.2013]. Dostupné z: <http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=0309069343>

226. NRC (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
227. OLSON, K., C., KANTON, J. S., KIRBY, D. R., NORTON, P. L. (1994a): Influence of yeast culture supplementation and advancing season on steers grazing mixed-grass prairie in the northern great plains: I. Dietary composition intake and in situ nutrient disappearance. *J. Anim. Sci.* 72, 2149-2157.
228. OLSON, K., C., KANTON, J. S., KIRBY, D. R., NORTON, P. L. (1994b): Influence of yeast culture supplementation and advancing season on steers grazing mixed-grass prairie in the northern great plains: II. Ruminal fermentation, site of digestion, and microbial efficiency. *J. Anim. Sci.* 72, 2158- 2170.
229. OPLETAL, L. (2004): Využití krmných aditiv s ohledem na bezpečnost krmivového a potravinového řetězce. Ministerstvo zemědělství ČR - Vědecký výbor pro výživu zvířat. Výzkumný ústav pro výživu zvířat Praha-Uhřetěves. 47.
230. ORPIN, C. G., GREENWOOD, Y. (1986): Nutritional and germination requirements of the rumen chytridiomycete *Neocallimastix patriciarum*. *Transaction of the British Mycological Society* 86(1), 103-109.
231. ØRSKOV, E. R. (1986): Starch Digestion and Utilization in Ruminants. *J. Anim. Sci.* 63, 1624-1633.
232. OZUTSUMI, Y., TAJIMA, K., TAKENAKA, A., ITABASHI, A. (2005): Relationship between Bacteria and Ciliate Protozoa in the Sheep Rumen. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69(3), 499-506.
233. PANG, Z., OTAKA, K., MAOKA, T., HIDAKA, K., ISHIJIMA, S., ODA, M. (2005): Structure of beta-glucan oligomer from laminarin and its effect on human monocytes to inhibit the proliferation of U937 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69(3), 553-558.
234. PATHAK, A. K. (2008): Various factors affecting microbial protein synthesis in the rumen. *Vet. World* 1(6), 186-189.
235. PATRA, A. K. (2011): Effects of Essential Oils on Rumen Fermentation, Microbial Ecology and Ruminant Production. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 6(5), 416-428.
236. PERČULIJA, G., KNEŽEVIČ, M., BOŠNJAK, K., LETO, J. (2008): Influence of grass-clover maturity stage on ruminal degradability of silage. *Cereal Res. Commun.* 36, 2063-2066.
237. PILUZZA, SULAS, L., BULLITTA, S. (2013): Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: a review. *Frass Forage Sci.* 69, 32-48.

238. PIRONDINY, M., COLOMBINY, S., MALAGUTI, L., RAPETTI, L., GALASSI, G., ZANCHI, R., CROVETTO, G. M. (2015): Effects of a selection of additives on in vitro ruminal methanogenesis and in situ and in vivo NDF digestibility. *Anim. Sci. J.* 86, 59-68.
239. PÍSEK, L., KROUPOVÁ, V., TRÁVNÍČEK, J., MAURER, S. (2006): Vliv imunomodulátoru ELO MACRO na počet leukocytů a fagocytární aktivitu neutrofilních granulocytů u ovcí. *Collection of Scientific Papers, Faculty of Agriculture in České Budějovice Series for Animal Sciences* 23(1), 43-48.
240. PIVA, G., MASOERO, F., CURTO, O. (1988): The effect of isoacids on ruminal fermentation : in vitro trials, *Reprod. Nutr. Dévelop.* 28(1), 163-164.
241. POMPEU, L. B., WILLIEMS, J. E., PAS, SPIERS, D. E., WEABER, R. L., ELLERSIECK, M. R., SARGENT, K. M., FEYERABEND, N. P., VELLIOS, H. L., EVANS, F. (2011): Effect of *Ascophyllum nodosum* on alleviation of heat stress in dairy cows. *The Professional Animal Scientist* 27, 181–189.
242. POWERS, W. J., VAN HORN, H. H., WILKIE, A. C., WILCOX, C. J., NORDSTEDT, R. A. (1999): Effects of Anaerobic Digestion and Additives to Effluent or Cattle Feed on Odor and Odorant Concentrations. *J. Anim. Sci.* 77, 1412-1421.
243. RADA, V. (2009): *Siláž a zdraví zvířat*, VUZV Praha- Uhřetěves, Praha, 40.
244. RAHMAN, M. M., SALLEH, M. A. M., SULTANA, N., KIM, J. M., RA, C. S. (2013): Estimation of total volatile fatty acid (VFA) from total organic carbons (TOCs) assessment through in vitro fermentation of livestock Leeds. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7(15), 1378-1384.
245. RANDOLPH, T. F., SCHELLING, E., GRACE, D., NICHOLSON, C. F., LEROY, J. L., COLE, D. C., DEMMENT, M. W., OMORE, A., ZINSSTAG, J., RUEL, M. (2007): Invited Review: Role of livestock in human nutrition and health for poverty reduction in developing countries. *J. Anim. Sci.* 85, 2788-2800.
246. RÉMOND, D., CHAISE, J. P., DELVAL, E., PONCET, C. (1993): Net Transfer of Urea and Ammonia Across the Ruminal Wall of Sheep. *J. Anim. Sci.* 71, 2785-2792.
247. RIDDEL, J. B., GALLEGOS, A. J., HARMON, D. L., MCLEOD, K. R. (2010): Addition of a *Bacillus* based probiotic to the diet of preruminant calves: Influence on growth, health, and blood parameters. *Intern J Appl Res Vet Med.* 8(1), 78-85.
248. RICHARDSON, D., TSIEN, W. S. (1963): Quantitative determination of the amino acid content of rumen fluid from twin steers fed soybean oil meal or urea. *J. Anim. Sci.* 22, 230-231.

249. RICHTER, M., TŘINÁCTÝ, J., HARAZIM, J. (2000): Vývoj hodnocení obsahu vlákniny. *Krmivářství* 3, 28-30.
250. RITZ, J., CODRON, D., WENGER, S., RENSCH, E. E., HATT, J-M., BRAUN, U., CLAUSS, M. (2014): Ruminant pH in cattle (*Bos primigenius f. taurus*) and moose (*Alces alces*) under different feeding conditions: a pilot investigation. *JZAR* 2(2), 44-51.
251. ROBINSON, P. H., CHALUPA, W., SNIFFEN, C. J., JULIEN, W. E., SATO, H., WATANABE, K., FUJIEDA, T., SUZUKI, H. (1998): Ruminally Protected Lysine or Lysine and Methionine for Lactating Dairy Cows Fed a Ration Designed to Meet Requirements for Microbial and Postruminal Protein. *J. Dairy Sci.* 81, 1364-1373.
252. RODINOVÁ, H., KROUPOVÁ, V., TRÁVNÍČEK, J., GRADL, T. (2006): Vliv imunostimulačního preparátu ELO MACRO na bílkoviny krevní plazmy u ovcí. *Collection of Scientific Papers, Faculty of Agriculture in České Budějovice Series for Animal Sciences* 23(1), 49-54.
253. ROSENDO, O., FREITEZ, L., LÓPEZ, R. (2013): Ruminant Degradability and Summative Models Evaluation for Total Digestible Nutrients Prediction of Some Forages and Byproducts in Goats. *Vet. Sci. Article ID 532528*, 8 pages, doi:10.1155/2013/532528. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/532528/cta/>
254. ROXAS, M. (2008): The Role of Enzyme Supplementation in Digestive Disorders. *Alternative Medicine Rew.* 13(4), 307-314.
255. SALEEM, F., BOUATRA, S., GUO, A. C., PSYCHOGIOS, N., MANDAL, R., DUNN, S. M., AMETAJ, B. N., WISHARD, D. S. (2012): The Bovine Ruminant Fluid Metabolome. *Metabolomics* 9, 360-378.
256. SANTOS, K. A., STERN, M. D., SATTER, L. D. (1984): Protein degradation in the rumen and amino acid absorption in the small intestine of lactating dairy cattle fed various protein sources. *J. Anim. Sci.* 58, 244-255.
257. SANTRA, A., KARIM, S. A. (2000): Growth performance of faunated and defaunated Malpura weaner lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 86, 251–260.
258. SARWAR, M., MAHR-UN-NISA (1999): Effect of nitrogen fertilization and stage of maturity of mottgrass (*Penisetum purpureum*) on its chemical composition, dry matter intake, ruminal characteristics and digestibility in buffalo bulls. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 12, 1035-1039.
259. SEO, J. K., YANG, J., KIM, H. J., UPADHAYA, S. D., CHO, W. M., HA, J. K. (2010): Effects of Synchronization of Carbohydrate and Protein Supply on Ruminant

- Fermentation, Nitrogen Metabolism and Microbial Protein Synthesis in Holstein Steers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23, 1455- 1461.
260. SMETI, S., JOY, M., HAJI, H., ALABART, J. L., MUNOZ, F., MAHOUACHI, M., ATTI, N. (2015): Effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils supplementation on digestion, colostrum production of dairy ewes and lamb mortality and growth. *Trop. Anim. Health Prod.* 47(2), 451-457.
261. SOVA, S. (1981): *Fyziologie hospodářských zvířat*. Státní zemědělské nakladatelství Praha, 218-235.
262. SPANGHERO, M., BOCCALON, S., GRACCO, L., GRUBER, L. (2003). NDF degradability of hays measured in situ and in vitro. *Anim. Feed Sci. Tech.* 104, 201-208.
263. STACKHOUSE-LAWSON, K. R., CALVO, M. S., PLACE, S. E., ARMITAGE, R. L., PAN, Y., ZHAO, Y., MITLOEHNER, F. M. (2013): Growth promoting technologies reduce greenhouse gas, alcohol, and ammonia emissions from feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 91, 5438-5447.
264. STERN, M. D., BACH, A., CALSAMIGLIA, S. (1997): Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 75, 2256-2276.
265. STEWART, C. S. (1977): Factors Affecting the Cellulolytic Activity of Rumen Contents. *Appl. Environ. Microbiol.* Mar. 33, 497-502.
266. STEWART, C. S. (1991): The rumen bacteria in *The Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. INRA 1991, ISBN 2-7380-0345-1, 374.
267. STOKES, S (1997): Balancing carbohydrates for optimal rumen function and animal health. In: Kennelly J: *Proceedings of the Western Canadian Dairy Seminar*, 73-86.
268. STRAPÁK, P. a kol. (2013): *Chov hovädzieho dobytku*. SPU Nitra. ISBN 978-80-552-0994-4, 624s.
269. STROBEL, H. J. (1993): Pentose utilization and transport by the ruminal bacterium *Prevotella ruminicola*. *Arch. Microbiol.* 159(5), 465-471.
270. STROBEL, H. J. (1994): Pentose transport by the ruminal bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. *FEMS Microbiol.Lett.*122(3), 217-222.
271. STROBEL, H. J., RUSSELL, J. B. (1986): Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *Journal of Dairy Science* 69, 2941-2947.

272. STRÜDER-KYPKE, M. C., KORNILOVA O. A., LYNN, D. H. (2007): Phylogeny of trichostome ciliates (Ciliophora, Litostomatea) endosymbiotic in the Yakut horse (*Equus caballus*). *Eur. J. Protist.* 43, 319–328.
273. STUTH, J., JAMA, A., TOLLESON, D. (2003): Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research* 84, 45–56.
274. SUCHÝ, P., STRAKOVÁ, E. (2005): Dietetické zásady ve výživě skotu. Výživa skotu z hledisek produkční a preventivní medicíny. Brno: Klinika chorob přežvýkavců FVL VFU: Česká buiatrická společnost, ISBN 80-7305-550-3, 89-93.
275. SÝKORA, T., RABIŠKOVÁ, M., TŘINÁCTÝ, J., VETCHÝ, D., HÄRING, A., DVOŘÁK, P. (2007): Postprandial Delivery System for Amino Acids and Proteins in Cattle. *Acta Vet. Brno* 76, 547-552.
276. SYLVESTER, J. T., KARNATI, S. K. R., YU, Z., MORRISON, M., FIRKINS, J. L. (2004): Development of an Assay to Quantify Rumen Ciliate Protozoal Biomass in Cows Using Real-Time PCR. *J. Nutr.* 134, 3378-3384.
277. ŠANTRŮČEK, J. a kol. (2001): Základy pícninářství ČZU Praha. ISBN 80-213-0764-1, 146 s.
278. TAGLIAPIETRA, F., CATTANI, M., HINDRICHSEN, I. K., HANSEN, H. H., COLOMBINI, S., BAILONI, L., SCHIAVON, S. (2012): True dry matter digestibility of feeds evaluated in situ with different bags and in vitro using rumen fluid collected from intact donor cows. *Anim. Prod. Sci.* 52(5) 338-346.
279. TAJIMA, K., NONAKA, I., HIGUCHI, K., TUKUSARI, N., KURIHARA, M., TAKENAKA, A., MITSUMORI, M., TAKENAKA, A., MITSUMORI, M., KAJIKAWA, H., AMINOV, R. (2006): Influence of high temperature and humidity on rumen bacterial diversity in Holstein heifers. *Anaerobe.* doi:10.1016/j.anaerobe.2006.12.001 Dostupné z: http://orbit.dtu.dk/ws/files/97085602/Tajima_heat.pdf.
280. TALLOWIN J. R. B., JEFFERSON R. G. (1999): Hay production from lowland semi-natural grasslands: a review of implications for ruminant livestock systems. *Grass Forage Sci.* 54, 99–115.
281. TAMMINGA, S. (1979): Protein Degradation in the Forestomachs of Ruminants. *J. Anim. Sci.* 49, 1615-1630.
282. TANČIN, v. a kol. (2013): Chov hospodárskych zvierat v marginálnych oblastiach. CVŽV Nitra. 170s. ISBN 978-80-89418-26-8.

283. TAVASOLI, H. A., ESLAMI, M., MAMOUEI, M., CHAJI, M., BOJARPOUR, M. (2009): The Effect of Tasco (*Ascophyllum nodosum*) on Carcas Characteristics of Finishing Male Arabic Lambs. *Res. J. Biol. Sci.* 4, 1148-1151.
284. THORTON, J. H. A OWENS, F. N. (1977): Rumensin Effects on Energy Loss at Three Fiber Levels. *Animal Science Research Report*, 53-56.
285. THURSTON, B., DAWSON K. A., STROBEL, H. J. (1994): Pentose utilization by the ruminal bacterium *Ruminococcus albus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(4), 1087-1092.
286. TILLEY, J. M. A., TERRY, R. A. (1963): A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Brit. Grass. Soc.* 18, 104-111.
287. TOGH DORY, A, TORBATINEJAD, N., KAMALI, R., MOHAJER, M., CHAMANI, M. (2009): Effects of Propylene Glycol Powder on Productive Performance of Lactating Cows. *Pak. J. Biol. Sci.* 12, 924-928.
288. TRÁVNÍČEK J., KROUPOVÁ V., KRATOCHVÍL P.: *Fyziologie hospodářských zvířat (Cvičení)*, České Budějovice 1998.
289. TURNER, J. L., DRITZ, S. S., HIGGINS, J. J., MINTON, J. E. (2002): Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on growth performance and immune function of young pigs challenged with *Salmonella typhimurium*. *J. Anim. Sci.* 80, 1947-1953.
290. VAN DYNE, G. M. (1962): Micro-Methods for Nutritive Evaluation of Range Forages. *J. Range Manage* 15(6), 303-314.
291. VAN SOEST, P. J. (1994): *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press, ISBN 978-0801427725, 83.
292. VAN VLLET, P. C. J., RELJS, J. V., BLOEM, J., DLJKSTRA, J., DE GOEDE, R. G. M. (2007): Effects of Cow Diet on the Microbial Community and Organic Matter and Nitrogen Content of Feces. *J. Dairy sci.* 90, 5146-5168.
293. VANZANT, E. S., COCHRAN, R. C., TITGEMEYER, E. C. (1998): Standardization of in situ techniques for ruminant feedstuff evaluation. *J. Anim. Sci.* 76, 2717-2729.
294. VEIRA, D. M. (1986): The Role of Ciliate Protozoa in Nutrition of the Ruminant. *J. Anim. Sci.* 63, 1547-1560.
295. VELLE, W., SJAASTAD, Ø. V., AULIE, A., GRØNSET, K., FEIGENWINTER, K., FRAMSTAD, T. (1997): Rumen Escape and Apparent Degradation of Amino Acids administered intraruminally in mixtures to cows. *J. Anim. Sci.* 81, 3231-3238.

296. VEVERKA, F., MARADA, P., GJUROV, V. (2011): Ověření možnosti ekonomických úsporv v provozech BPS ve vztahu ke spotřebě vstupních surovin. Brno 2011. Smlouva o dílo č. 00/IPPC/2011.Č. j.: 0000/2011-00000. Mendelova univerzita Brno. 50 s.
297. VOSTOUPAL, B. (2009): Biologická titrace účinných koncentrací přípravku Biopolym FZT pro studium stimulace vitálních projevů bachorové mikroflóry, prováděná in vitro. České Budějovice. Nepublikovaný článek.
298. VOSTOUPAL, B., JELÍNEK, A., PLÍVA, P., DĚDINA, M., GJUROV, V. (2006a): Bioalgináty v roli významného detoxikačního média. In: Využití doplňkové a nekonvenční péče o zdraví zvířat – 2006, České Budějovice 16. 6. 2006, 131-138.
299. VOSTOUPAL, B., PÍSEK, L., VRÁBLÍKOVÁ, J., ŠEFL, J., HANUŠ, M., GJUROV, V. (2007a): Význam bio-algeenových přípravků pro podporu zakořeňování dřevin při revitalizaci opuštěných důlních děl. JU České Budějovice. In: Sborník příspěvků z vědecké konference „Revitalizace antropogenně postiženého území Severních Čech. FŽP UJEP Ústí n. L., 9. 10. 2007, 10.
300. VOSTOUPAL, B., ŠOCH, M., JELÍNEK, A., DĚDINA, M., PLÍVA, P., GJUROV, V. (2006b): Dílčí výsledky s aplikací bioalginátů u zvířat chovaných v zoologických zahradách. In: Využití doplňkové a nekonvenční péče o zdraví zvířat – 2006, České Budějovice 16. 6. 2006, 146-149.
301. VOSTOUPAL, B., ŠOCH, M., VRÁBLÍKOVÁ, J., HANUŠ, M., ZAJÍČEK, P., HRUBÝ, J., NOVÁK, P., GJUROV, V. (2007b): Řízené rychlokompostování za účasti bioalginátů při efektivním zhodnocování nutriční hodnoty biodegradabilních odpadů. In: Sborník z mezinárodní konference „Území ovlivněné těžbou uhlí – cesty k udržitelnému rozvoji“, pořádané institucí RE REGIONS za podpory Evropské Unie ve dnech 17. – 20. 4. 2007, 7.
302. VRZGULA, L., ALIJEV, A. A., BAREJ, W.(1990): Poruchy látkového metabolismu hospodářských zvířat a ich prevencia. Příroda Bratislava, 494 s.
303. VYSKOČIL, I. A kol. (2008): Kapesní katalog krmiv. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, nestránkováno, ISBN 978-80-7375-218-7.
304. WANG, M., ZHAO, X. G., LIAO, H. Y., TAN, Z. L., TANG, S. X., SUN, Z. H., ZHOU, C. S., HAN, X. F. (2011): Effects of rice straw particle size on digesta particle size distribution, nitrogen metabolism, blood biochemical parameters, microbial amino acid composition and intestinal amino acid digestibility in goats. Anim. Sci. J. 82, 78-85.
305. WANG, Y., XU, Z., BACH, S. J., MCALLISTER, T. A. (2008): Effects of phlorotannins from *Ascophyllum nodosum* (brown seaweed) on in vitro ruminal digestion of mixed forage or barley grain. Anim. Feed Sci. Technol. 146, 375-395.

306. WALLACE, R. J., 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proc. Nutr. Soc.* 63, 621–629.
307. WERESZKA, K., MCINTOSH, F. M., MICHALOWSKI, T., JOUANY, J-P., NSABIMANA, E., MACHEBOEUF, D., MCEWAN, N. R., NEWBOLD., C. J. (2004): A cellulase produced by the rumen protozoan *Epidinium ecaudatum* is of bacterial origin and has an unusual pH optimum. *Endocytobiosis Cell Res.* 15(2), 561-569.
308. WILKIE, K. C. B.(1979): The hemicelluloses of grasses and cereals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 36, 215-264.
309. WILLIAMS, A. G. (1986): Rumen Holotrich Ciliate Protozoa. *Microbiol. Rev.*50(1), 25-49.
310. WILLIAMS, A. G. (1991): The biochemical activities and importance of the ciliate protozoa in the rumen ecosystem. In *Biochemical Protozoology As A Basic For Drug Design* (Coombs,G.H.) Taylor and Francis, 61-79.
311. WILLIAMS, S. (2002): Antibiotic Resistance: Not Just for People Anymore. [online]. *Journal of Young Investigators.* [vid. 6.10.2013]. Dostupné z: <http://legacy.jyi.org/volumes/volume6/issue3/features/williams.html>
312. XIAO, H., MARQUARDT, R. R., FROHLICH, A. A., PHILLIPS, G. H., VITTI, T. G. (1991): Effect of a hay and a grain diet on the rate of hydrolysis of ochratoxin A in the rumen of sheep. *J. Anim. Sci.* 69, 3706-3714.
313. YAMIN, M. A., TRAGER, W. (1979): Cellulolytic Activity of an Axenically-cultivated Termite Flagellate, *Trichomitopsis termopsidis*. *J. Gener. Microbiol.*, 113, 417-420.
314. YANG, W. Z., BEAUCHEMIN, K. A., RODE, L. M. (2001): Effect of dietary factors on distribution and chemical composition of liquid- or solid-associated bacterial populations in the rumen of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 79, 2736-2746.
315. YODER, R. D., TRENKLE A., BURROUGS, W. (1966): Influence of Rumen Protozoa and Bacteria upon Cellulose Digestion In Vitro. *J. Anim. Sci.* 25, 609-612.
316. ZEBELI, Q., TAJAJ, M., WEBER, I., STEINGASS, H., DROCHNER, W.(2008): Effects of dietary forage particle size and concentrate level on fermentation profile, in vitro degradation characteristics and concentration of liquid- or solid-associated bacterial mass in the rumen of dairy cows. *Anim, Feed Sci. Technol.* 140, 307-325.
317. ZEMAN, L. (2006): *Výživa a krmění hospodářských zvířat*. Praha: Profi Press, ISBN 80-86726-17-7, 360 s.

318. ZHANG, X., SCHMIDT, R. E. (1999): Antioxidant Response to Hormone-Containing Product in Kentucky Bluegrass Subjected to Drought. *Crop Sci.* 39, 545-551.
319. ZHAO, X. H., ZHANG, T., XU, M., YAO, J. H. (2011): Effects of physically effective fiber on chewing activity, ruminal fermentation, and digestibility in goats. *J Anim. Sci.* 89, 501-509.

9. PŘÍLOHY

9.1. Tabulková, grafická a obrázková část

TABULKA 19: Seznam použitých vzorků pro *in vitro* stravitelnost

| číslo vzorku | Lokalita | Datum odběru | Botanické složení | | | Výška porostu (cm) |
|--------------|-------------------|--------------|-------------------|------------|--------|--------------------|
| | | | Trávy | Jeteloviny | Byliny | |
| 1 | Rychnov nad Malší | 21.5.2009 | 50 | 10 | 40 | 20 |
| 2 | Rychnov nad Malší | 21.5.2009 | 100 | 0 | 0 | 20 |
| 3 | Rychnov nad Malší | 16.6.2009 | 60 | 10 | 30 | 40 |
| 4 | Rychnov nad Malší | 16.6.2009 | 100 | 0 | 0 | 20 |
| 5 | Rychnov nad Malší | 16.7.2009 | 50 | 10 | 40 | 25-30 |
| 6 | Rychnov nad Malší | 16.7.2009 | 100 | 0 | 0 | 25-30 |
| 7 | Rychnov nad Malší | 18.8.2009 | 60 | 10 | 30 | 15 |
| 8 | Rychnov nad Malší | 18.8.2009 | 100 | 0 | 0 | 15 |
| 9 | Rychnov nad Malší | 11.9.2009 | 80 | 10 | 10 | 50 |
| 10 | Rychnov nad Malší | 11.9.2009 | 100 | 0 | 0 | 50 |
| 11 | Vlčí Jámy | 13.5.2009 | 40 | 30 | 30 | 20-25 |
| 12 | Vlčí Jámy | 13.5.2009 | 100 | 0 | 0 | 20-25 |
| 13 | Vlčí Jámy | 13.5.2009 | 60 | 20 | 20 | 20-25 |
| 14 | Vlčí Jámy | 13.5.2009 | 100 | 0 | 0 | 20-25 |
| 15 | Vlčí Jámy | 30.6.2009 | 70 | 10 | 20 | 25-30 |
| 16 | Vlčí Jámy | 30.6.2009 | 100 | 0 | 0 | 25-30 |
| 17 | Vlčí Jámy | 13.8.2009 | 60 | 10 | 30 | 25-30 |
| 18 | Vlčí Jámy | 13.8.2009 | 100 | 0 | 0 | 25-30 |
| 19 | Vlčí Jámy | 23.9.2009 | 60 | 10 | 30 | 15 |
| 20 | Vlčí Jámy | 23.9.2009 | 100 | 0 | 0 | 15 |

TABULKA 20: Chemické složení vzorků pastevních porostů použitých pro *in vitro* stravitelnost (g/kg DM)

| Vzorek | CP | Tuk | Popel | CF | NDF | ADF | ADL |
|---------|-------|------|-------|-------|-------|-------|------|
| 1 | 198,0 | 25,0 | 116,6 | 272,7 | 400,8 | 272,9 | 9,8 |
| 2 | 154,0 | 15,4 | 74,3 | 258,8 | 536,4 | 299,6 | 15,8 |
| 3 | 96,0 | 12,9 | 79,7 | 294,4 | 589,6 | 328,7 | 25,7 |
| 4 | 85,0 | 4,7 | 73,4 | 307,8 | 592,4 | 316,1 | 15,8 |
| 5 | 157,0 | 16,5 | 133,2 | 195,0 | 457,3 | 266,9 | 69,6 |
| 6 | 148,0 | 20,1 | 98,1 | 270,9 | 533,5 | 275,4 | 21,9 |
| 7 | 141,0 | 15,4 | 106,4 | 235,5 | 471,6 | 282,3 | 13,9 |
| 8 | 151,0 | 16,8 | 91,1 | 283,2 | 557,1 | 310,8 | 13,9 |
| 9 | 139,0 | 24,5 | 99,2 | 282,9 | 540,4 | 311,5 | 12,0 |
| 10 | 126,0 | 33,6 | 121,8 | 378,8 | 557,5 | 324,8 | 9,9 |
| 11 | 223,0 | 22,2 | 124,4 | 91,7 | 385,0 | 225,9 | 31,7 |
| 12 | 220,0 | 20,2 | 101,7 | 112,5 | 473,0 | 258,4 | 16,0 |
| 13 | 206,0 | 24,0 | 89,7 | 89,5 | 383,2 | 223,1 | 29,8 |
| 14 | 215,0 | 19,2 | 90,9 | 112,6 | 454,1 | 254,5 | 4,0 |
| 15 | 149,0 | 10,4 | 129,4 | 119,3 | 555,9 | 320,7 | 45,5 |
| 16 | 130,0 | 12,3 | 87,2 | 129,8 | 531,8 | 301,6 | 25,9 |
| 17 | 161,5 | 15,3 | 81,6 | 131,5 | 523,5 | 327,3 | 45,6 |
| 18 | 226,0 | 19,0 | 99,3 | 128,5 | 576,6 | 298,2 | 53,7 |
| 19 | 196,0 | 15,2 | 102,7 | 117,8 | 544,1 | 300,2 | 79,8 |
| 20 | 206,0 | 19,6 | 95,6 | 130,3 | 565,2 | 306,0 | 73,9 |
| Průměr | 166,4 | 18,1 | 99,8 | 197,2 | 511,4 | 290,3 | 30,7 |
| Minimum | 85,0 | 4,7 | 73,4 | 89,5 | 383,2 | 223,1 | 4,0 |
| Maximum | 226,0 | 33,6 | 133,2 | 378,8 | 592,4 | 328,7 | 79,8 |
| S.D. | 42,4 | 6,2 | 17,7 | 89,8 | 66,3 | 31,8 | 23,0 |

TABULKA 21: *In vitro* stravitelnost sušiny (g/kg DM) pro ředění přípravku Biopolym FZT

| Vzorek | 0 | 1 : 2500 | 1 : 2000 | 1 : 1500 | 1 : 1000 | 1 : 500 |
|--------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 1 | 865,2±6,1 | 840,1±17,7 | 844,1±19,4 | 844,3±18,3 | 861,9±13,1 | 864,2±10,6 |
| 2 | 857,5±4,7 | 824,2±5,5 | 842,4±9,5 | 841,5±10,3 | 873,3±6,2 | 866,2±3,6 |
| 3 | 678,7±5,9 | 646,6±24,0 | 843,3±24,6 | 661,1±23,1 | 689,0±6,4 | 687,6±7,5 |
| 4 | 732,0±6,4 | 725,4±3,6 | 732,5±20,7 | 731,0±5,5 | 743,9±10,3 | 742,2±10,8 |
| 5 | 724,3±6,6 | 673,4±3,4 | 695,5±1,4 | 711,3±6,9 | 751,1±3,3 | 731,0±1,3 |
| 6 | 717,9±7,0 | 652,6±3,5 | 692,4±18,0 | 678,8±3,2 | 742,3±23,2 | 740,9±10,5 |
| 7 | 764,3±6,3 | 735,1±15,7 | 755,4±18,4 | 755,6±18,5 | 780,3±7,0 | 776,4±5,2 |
| 8 | 751,8±10,8 | 678,1±14,6 | 682,9±17,0 | 705,3±16,9 | 749,9±19,4 | 730,6±8,3 |
| 9 | 680,2±1,6 | 657,9±4,4 | 672,2±16,1 | 678,7±15,6 | 710,4±2,6 | 710,0±7,2 |
| 10 | 704,0±3,4 | 673,1±8,9 | 663,8±14,8 | 684,5±11,8 | 731,1±7,3 | 724,4±15,8 |
| 11 | 793,0±6,8 | 813,8±4,2 | 816,1±2,4 | 827,1±3,9 | 846,3±4,5 | 832,1±3,7 |
| 12 | 878,6±4,9 | 822,3±1,7 | 822,6±3,7 | 829,5±2,6 | 873,3±2,0 | 870,8±3,9 |
| 13 | 784,0±4,9 | 758,0±2,6 | 767,9±4,2 | 775,7±2,3 | 801,1±5,3 | 803,4±4,9 |
| 14 | 855,3±4,4 | 827,5±1,7 | 835,9±9,0 | 843,0±2,3 | 870,3±1,3 | 865,5±1,8 |
| 15 | 757,4±2,1 | 737,0±2,6 | 744,0±2,7 | 751,4±1,9 | 773,6±2,4 | 773,0±0,9 |
| 16 | 738,5±3,1 | 688,2±1,8 | 702,1±4,0 | 700,2±2,2 | 744,0±7,8 | 745,0±10,9 |
| 17 | 705,1±5,8 | 648,8±3,3 | 685,8±7,8 | 694,4±5,0 | 727,1±14,4 | 732,8±13,7 |
| 18 | 724,4±5,9 | 677,3±3,5 | 706,1±3,5 | 695,8±7,8 | 754,1±3,1 | 739,8±4,7 |
| 19 | 683,9±6,1 | 651,1±2,9 | 665,9±3,9 | 667,0±2,8 | 710,8±2,2 | 706,3±2,7 |
| 20 | 677,0±2,7 | 629,4±1,7 | 634,3±7,2 | 639,3±4,7 | 718,1±6,4 | 713,3±8,8 |

TABULKA 22: *In vitro* stravitelnost NDF (g/kg DM) pro ředění přípravku Biopolym FZT

| Vzorek | 0 | 1 : 2500 | 1 : 2000 | 1 : 1500 | 1 : 1000 | 1 : 500 |
|--------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 1 | 663,7±17,5 | 601,0±51,1 | 611,1±55,9 | 611,4±52,8 | 655,4±37,7 | 661,2±30,6 |
| 2 | 734,2±10,0 | 672,3±11,9 | 706,1±20,5 | 704,5±22,2 | 763,7±13,4 | 750,5±7,7 |
| 3 | 455,0±11,5 | 400,6±47 | 429,3±48,1 | 425,1±45,2 | 472,5±12,5 | 470,1±14,8 |
| 4 | 547,6±12,5 | 536,5±7,0 | 548,5±40,3 | 545,9±10,7 | 567,7±20,2 | 564,8±21,1 |
| 5 | 397,2±14,4 | 285,8±7,5 | 334,1±3,0 | 368,7±15,2 | 455,7±7,1 | 411,7±2,9 |
| 6 | 471,3±13,1 | 348,8±6,5 | 423,4±33,7 | 398,0±6,1 | 517,0±43,5 | 514,3±19,7 |
| 7 | 500,3±13,3 | 438,2±33,2 | 481,4±39,2 | 481,7±39,3 | 534,1±14,9 | 525,8±11,0 |
| 8 | 554,4±19,4 | 422,1±26,2 | 430,8±30,5 | 471,0±30,4 | 551,1±34,8 | 516,4±14,9 |
| 9 | 408,2±3,0 | 367,0±8,2 | 393,3±29,8 | 405,3±28,9 | 464,0±4,8 | 463,3±13,3 |
| 10 | 469,0±6,0 | 413,6±16,0 | 397,0±26,6 | 434,0±21,2 | 517,7±13,2 | 505,6±28,3 |
| 11 | 462,2±17,5 | 516,2±11,0 | 522,3±6,1 | 551,0±10,1 | 600,8±11,7 | 563,8±9,7 |
| 12 | 743,4±10,3 | 624,2±3,6 | 624,9±7,8 | 639,4±5,6 | 732,2±4,3 | 726,8±8,3 |
| 13 | 436,3±12,7 | 368,5±6,7 | 394,2±11,0 | 414,5±6,1 | 480,8±13,8 | 486,8±12,7 |
| 14 | 681,4±9,6 | 620,1±3,8 | 638,6±19,8 | 654,3±5,0 | 714,4±2,9 | 703,8±4,0 |
| 15 | 563,6±3,9 | 526,8±4,7 | 539,4±4,9 | 552,7±3,3 | 592,7±4,3 | 591,7±1,6 |
| 16 | 508,2±5,9 | 413,7±3,4 | 439,8±7,5 | 436,2±4,1 | 518,7±14,7 | 520,4±20,5 |
| 17 | 436,7±11,1 | 329,1±6,3 | 399,9±14,9 | 416,1±9,5 | 478,6±27,5 | 489,5±26,1 |
| 18 | 521,9±10,2 | 440,3±6,1 | 490,3±6,1 | 472,4±13,6 | 573,5±5,3 | 548,7±8,1 |
| 19 | 418,9±11,2 | 358,7±5,3 | 385,9±7,3 | 387,9±5,1 | 468,4±4,1 | 460,2±5,0 |
| 20 | 428,4±4,7 | 344,3±2,9 | 353,0±12,8 | 361,8±8,3 | 501,2±11,2 | 492,7±15,6 |

TABULKA 23: Porovnání IVDMD vzorků pro ředění přípravku Biopolym FZT (g/kg DM)

| Ředění Biopolymu FZT | Směs | | | | Tráva | | | |
|----------------------|--------|---------|---------|------|--------|---------|---------|------|
| | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
| 0 | 743,6 | 669,3 | 873,0 | 58,5 | 763,7 | 674,5 | 884,7 | 69,6 |
| 1 : 2500 | 716,2 | 611,2 | 859,1 | 69,7 | 719,8 | 627,7 | 831,4 | 73,5 |
| 1 : 2000 | 731,0 | 632,4 | 864,6 | 63,4 | 731,5 | 627,5 | 852,0 | 73,2 |
| 1 : 1500 | 736,6 | 637,5 | 859,3 | 63,7 | 734,9 | 632,7 | 855,1 | 72,3 |
| 1 : 1000 | 765,1 | 679,4 | 879,8 | 56,8 | 780,0 | 709,9 | 881,0 | 62,7 |
| 1 : 500 | 761,7 | 678,4 | 880,8 | 56,4 | 773,9 | 703,6 | 875,3 | 63,3 |

TABULKA 24: Porovnání IVNDFD vzorků pro ředění přípravku Biopolym FZT (g/kg DM)

| Ředění Biopolymu FZT | Směs | | | | Tráva | | | |
|----------------------|--------|---------|---------|------|--------|---------|---------|-------|
| | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
| 0 | 474,2 | 377,9 | 683,1 | 79,0 | 566,0 | 424,1 | 756,2 | 108,2 |
| 1 : 2500 | 419,2 | 276,8 | 648,5 | 97,2 | 483,6 | 339,4 | 685,7 | 114,4 |
| 1 : 2000 | 449,1 | 331,7 | 662,2 | 85,6 | 505,2 | 340,9 | 724,1 | 114,1 |
| 1 : 1500 | 461,5 | 347,3 | 649,0 | 82,3 | 511,7 | 350,1 | 729,8 | 112,7 |
| 1 : 1000 | 520,3 | 445,1 | 700,1 | 69,3 | 595,7 | 461,3 | 778,1 | 97,2 |
| 1 : 500 | 512,4 | 408,9 | 702,6 | 71,6 | 584,4 | 472,1 | 761,4 | 97,0 |

TABULKA 25: Chemické složení krmiva (g/kg DM)

| Krmivo | CP | CF | Tuk | Popel | NDF | ADF | ADL |
|---------------------|------|-------|------|-------|-------|-------|------|
| Seno (920,8g/kg DM) | 65,3 | 321,4 | 8,6 | 55,9 | 620,6 | 358,6 | 64,8 |
| Šrot (865,2g/kg DM) | 73,9 | 41,8 | 17,2 | 25,9 | 120,7 | 38,2 | 15,1 |

TABULKA 26: Časové rozvržení pokusu

| Pokusné období | PP1 | P1 | PP2 | P2 | PP3 | P3 |
|----------------|-----------|---------------------|-----------|---------------------|-------------|-------------------|
| Období | Září 2010 | Říjen Listopad 2010 | Září 2011 | Říjen Listopad 2011 | Březen 2012 | Duben Květen 2012 |
| Doba trvání | 2 týdny | 8 týdnů | 2 týdny | 8 týdnů | 2 týdny | 8 týdnů |

TABULKA 27: Rozvržení pokusu z hlediska pokusných zvířat

| Kráva | Plemeno | PP1 | P1 | PP2 | P2 | PP3 | P3 |
|-------|----------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| A | Holštýn | Kontrola | Pokus | Kontrola | Pokus | Kontrola | Kontrola |
| B | Aberdeen Angus | Kontrola | Kontrola | Kontrola | Pokus | Kontrola | Pokus |
| C | Aberdeen Angus | Kontrola | Pokus | Kontrola | Kontrola | Kontrola | Pokus |

TABULKA 28: Obsah dusíkatých látek ve výkalech krav

| Období | A | | B | | C | |
|--------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | CP (g/kg) DM | CP (g/kg) OM | CP (g/kg) DM | CP (g/kg) OM | CP (g/kg) DM | CP (g/kg) OM |
| PP1 | 83,8±12,2 | 94,5±14,1 | 80,0±7,4 | 88,2±8,0 | 81,2±8,0 | 89,1±10,4 |
| P1 | 101,8±12,3 | 117,8±12,6 | 79,9±13,2 | 88,4±14,4 | 93,7±9,7 | 105,9±12,1 |
| PP2 | 78,0±7,8 | 85,2±9,3 | 83,1±11,1 | 92,8±12,4 | 86,3±9,8 | 94,9±11,9 |
| P2 | 93,9±5,9 | 106,8±7,4 | 96,5±8,1 | 109,4±9,7 | 85,9±10,5 | 92,6±11,9 |
| PP3 | 75,9±5,7 | 93,5±6,7 | 80,0±7,4 | 88,2±8,0 | 82,9±10,2 | 90,0±11,5 |
| P3 | 82,4±9,7 | 93,1±11,7 | 85,9±11,8 | 95,6±14,3 | 92,3±10,6 | 103,3±12,7 |

TABULKA 29: Parametry bachorové tekutiny v prvním předpokusném období

| Kráva | pH | Σ TMK (mmol/l) | Kys. octová (%) | Kys. propionová (%) | Kys. máselná (%) | C2:C3 | Σ nálevníků (.10 ³ /ml) | NH ₄ ⁺ (mmol/l) | CP (g/kg) |
|-------|-----------|----------------|-----------------|---------------------|------------------|-----------|------------------------------------|---------------------------------------|--------------|
| A | 6,87±0,12 | 99,56±5,26 | 73,29±2,99 | 18,30±1,32 | 8,41±3,10 | 4,02±0,35 | 123±34 | 2,55±0,69 | 105,98±16,14 |
| B | 6,84±0,17 | 94,85±8,80 | 76,55±5,41 | 18,41±2,13 | 6,73±3,23 | 4,21±0,39 | 134±55 | 2,70±0,60 | 103,4±12,52 |
| C | 6,93±0,12 | 96,27±8,55 | 75,27±2,43 | 17,64±1,61 | 7,82±2,94 | 4,29±0,31 | 102±37 | 2,26±0,78 | 98,01±15,49 |

TABULKA 30: Parametry bachorové tekutiny v prvním pokusném období

| Kráva | pH | Σ TMK (mmol/l) | Kys. octová (%) | Kys. propionová (%) | Kys. máselná (%) | C2:C3 | Σ nálevníků (.10 ³ /ml) | NH ₄ ⁺ (mmol/l) | CP (g/kg) |
|-------|-----------|----------------|-----------------|---------------------|------------------|-----------|------------------------------------|---------------------------------------|--------------|
| A-P | 6,77±0,13 | 108,57±6,92 | 70,96±2,92 | 18,33±3,02 | 10,71±2,23 | 3,98±0,59 | 282±77 | 3,52±0,73 | 109,69±13,54 |
| B-K | 6,82±0,15 | 89,45±6,60 | 75,06±2,76 | 18,36±1,54 | 6,59±2,28 | 4,14±0,42 | 190±63 | 2,82±0,77 | 94,96±10,16 |
| C-P | 6,86±0,11 | 97,15±13,40 | 71,02±3,89 | 21,47±3,19 | 7,51±3,60 | 3,38±0,62 | 175±54 | 3,10±0,44 | 97,35±8,38 |

P - pokus, K - kontrola

TABULKA 31: Parametry bachorové tekutiny v druhém předpokusném období

| Kráva | pH | Σ TMK (mmol/l) | Kys. octová (%) | Kys. propionová (%) | Kys. máselná (%) | C2:C3 | Σ nálevníků (.10 ³ /ml) | NH ₄ ⁺ (mmol/l) | CP (g/kg) |
|-------|-----------|----------------|-----------------|---------------------|------------------|-----------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| A | 6,85±0,18 | 74,81±9,21 | 74,58±1,85 | 17,43±1,14 | 9,86±1,39 | 4,29±0,28 | 123±25 | 1,90±0,31 | 83,84±15,74 |
| B | 6,88±0,19 | 83,92±7,2 | 75,70±2,06 | 18,41±1,91 | 5,89±2,71 | 4,17±0,44 | 119±34 | 2,13±0,87 | 95,65±20,61 |
| C | 6,81±0,15 | 95,02±7,53 | 74,70±1,91 | 17,67±1,08 | 7,63±2,60 | 4,25±0,23 | 149±33 | 2,06±0,45 | 94,55±16,4 |

P - pokus, K - kontrola

TABULKA 32: Parametry bachorové tekutiny v druhém pokusném období

| Kráva | pH | Σ TMK (mmol/l) | Kys. octová (%) | Kys. propionová (%) | Kys. máselná (%) | C2:C3 | Σ nálevníků (.10 ³ /ml) | NH ₄ ⁺ (mmol/l) | CP (g/kg) |
|-------|-----------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|-----------|---------------------------------------|--|--------------|
| A-P | 6,98±0,13 | 85,95±12,05 | 70,39±1,91 | 17,74±1,75 | 11,86±1,44 | 4,00±0,42 | 330±84 | 3,64±1,10 | 116,58±7,96 |
| B-P | 7,00±0,15 | 82,45±6,62 | 69,21±3,76 | 20,32±3,18 | 10,47±2,08 | 3,50±0,72 | 221±57 | 3,62±1,25 | 109,00±14,40 |
| C-K | 6,94±0,12 | 92,26±12,59 | 73,03±2,76 | 20,82±2,71 | 6,15±2,05 | 3,57±0,61 | 152±41 | 3,03±0,84 | 99,31±7,60 |

P - pokus, K - kontrola

TABULKA 33: Parametry bachorové tekutiny v třetím předpokusném období

| Kráva | pH | Σ TMK (mmol/l) | Kys. octová (%) | Kys. propionová (%) | Kys. máselná (%) | C2:C3 | Σ nálevníků (.10 ³ /ml) | NH ₄ ⁺ (mmol/l) | CP (g/kg) |
|-------|-----------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|-----------|---------------------------------------|--|--------------|
| A | 6,80±0,18 | 94,61±9,34 | 73,31±1,25 | 16,47±0,67 | 10,21±0,90 | 4,46±0,23 | 171±45 | 2,25±0,74 | 91,47±20,44 |
| B | 6,94±0,17 | 94,36±8,50 | 76,81±2,24 | 17,56±1,52 | 5,63±1,59 | 4,39±0,43 | 167±28 | 2,39±0,66 | 83,06±7,45 |
| C | 6,88±0,11 | 88,64±7,32 | 73,75±1,70 | 16,94±0,88 | 9,31±1,31 | 4,37±0,29 | 196±29 | 2,15±0,51 | 81,75±6,87 |

TABULKA 34: Parametry bachorové tekutiny v třetím pokusném období

| Kráva | pH | Σ TMK (mmol/l) | Kys. octová (%) | Kys. propionová (%) | Kys. máselná (%) | C2:C3 | Σ nálevníků (.10 ³ /ml) | NH ₄ ⁺ (mmol/l) | CP (g/kg) |
|-------|-----------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------------------|-----------|---------------------------------------|--|--------------|
| A-K | 6,75±0,15 | 96,89±9,03 | 71,81±1,48 | 16,77±1,17 | 11,42±1,13 | 4,32±0,34 | 194±78 | 2,85±0,80 | 96,31±9,36 |
| B-P | 6,87±0,14 | 88,36±7,45 | 69,40±2,40 | 19,52±1,73 | 11,08±2,99 | 3,58±0,35 | 282±62 | 3,43±1,07 | 99,60±8,94 |
| C-P | 6,91±0,10 | 86,88±7,94 | 71,34±2,40 | 18,19±1,96 | 10,47±1,79 | 3,96±0,51 | 270±94 | 3,34±1,16 | 104,06±10,88 |

P - pokus, K - kontrola

TABULKA35: Porovnání průměrných hodnot bachorových charakteristik kontroly a pokusu

| | Kontrola | | | | Pokus | | | |
|--|--------------|---------|---------|-------|--------------|---------|---------|-------|
| | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. | Průměr | Minimum | Maximum | S.D. |
| pH | 6,89 | 6,47 | 7,21 | 0,15 | 6,90 | 6,60 | 7,20 | 0,15 |
| Nálevníci (10 ³ /1ml) | 138 | 50 | 230 | 44 | 260 | 104 | 450 | 92 |
| NH ₄ ⁺ (mmol/l) | 2,23 | 1,09 | 3,67 | 0,67 | 3,44 | 1,34 | 5,86 | 0,97 |
| TMK celkem (mmol/l) | 89,59 | 56,71 | 110,06 | 11,24 | 91,56 | 70,56 | 120,20 | 12,68 |
| K.octová (mmol/l) | 67,10 | 44,09 | 86,86 | 8,87 | 64,48 | 45,04 | 85,94 | 9,27 |
| K.propionová (mmol/l) | 15,88 | 10,68 | 21,46 | 2,48 | 17,64 | 11,91 | 31,65 | 3,55 |
| kys. máselná (mmol/l) | 6,97 | 1,97 | 13,00 | 2,43 | 9,44 | 2,58 | 17,14 | 2,88 |
| C2:C3 | 4,26 | 3,36 | 4,88 | 0,36 | 3,74 | 2,48 | 4,73 | 0,58 |
| N-látky (g/kg) | 91,4 | 62,60 | 132,20 | 16,68 | 106,1 | 84,20 | 141,90 | 12,38 |

TABULKA 36: Obsah aminokyselin (g/kg) DM v bachorové tekutině krav v 1. období

| | PP1 | | | P1 | | |
|-----------|------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|
| | A | B | C | A-P | B-K | C-P |
| Asp | 9,65±1,06 | 7,23±0,82 | 9,46±1,17 | 10,07±1,62 | 7,77±1,09 | 9,17±1,48 |
| Thr | 3,76±0,36 | 3,29±0,36 | 3,86±0,47 | 4,19±0,74 | 3,68±0,38 | 3,87±0,63 |
| Ser | 3,53±0,37 | 2,77±0,33 | 3,58±0,51 | 3,47±0,63 | 3,06±0,29 | 3,06±0,49 |
| Glu | 12,43±2,04 | 8,80±0,87 | 12,96±1,82 | 10,7±2,27 | 9,82±1,34 | 9,19±1,59 |
| Pro | 3,16±0,44 | 2,28±0,87 | 3,19±0,61 | 2,97±0,61 | 2,62±0,27 | 2,50±0,78 |
| Gly | 3,68±0,32 | 3,27±0,36 | 3,96±0,40 | 3,99±0,62 | 3,63±0,31 | 3,66±0,53 |
| Ala | 4,13±0,32 | 3,85±0,46 | 4,47±0,53 | 5,00±0,62 | 4,24±0,34 | 4,67±0,57 |
| Cys | 0,20±0,07 | 0,25±0,05 | 0,17±0,07 | 0,20±0,05 | 0,32±0,07 | 0,18±0,05 |
| Val | 3,33±0,34 | 3,03±0,40 | 3,83±0,52 | 4,39±0,61 | 3,41±0,40 | 3,95±0,50 |
| Met | 1,62±0,18 | 1,24±0,23 | 1,76±0,28 | 1,74±0,38 | 1,51±0,16 | 1,57±0,36 |
| Ile | 3,50±0,40 | 2,80±0,32 | 3,78±0,57 | 4,49±0,79 | 3,09±0,41 | 4,02±0,64 |
| Leu | 6,01±0,55 | 4,63±0,51 | 6,17±0,74 | 6,76±0,94 | 5,13±0,49 | 6,10±0,78 |
| Tyr | 3,82±0,33 | 2,94±0,36 | 3,81±0,47 | 3,50±0,47 | 3,36±0,29 | 3,13±0,51 |
| Phe | 4,13±0,36 | 3,03±0,35 | 4,34±0,59 | 3,93±0,64 | 3,40±0,30 | 3,22±1,01 |
| His | 0,92±0,14 | 0,84±0,09 | 0,88±0,14 | 1,15±0,30 | 0,96±0,10 | 1,03±0,25 |
| Lys | 3,19±1,00 | 2,56±0,29 | 2,60±0,40 | 6,04±1,60 | 3,45±0,74 | 4,97±1,57 |
| Arg | 2,29±0,38 | 2,06±0,25 | 2,15±0,36 | 3,27±0,58 | 2,42±0,32 | 3,01±0,51 |
| Σ AK | 69,35±7,44 | 54,85±5,54 | 70,96±9,11 | 75,89±12,36 | 61,88±6,40 | 67,29±10,73 |
| DM (g/kg) | 16,8±2,4 | 16,1±3,1 | 17,3±3,5 | 15,7±2,6 | 15,8±2,3 | 16,2±1,4 |

A,B,C- kráva

PP1 – 1. předpokusné období

P1 – 1. pokusné období

P – pokus

K - kontrola

TABULKA 37: Obsah aminokyselin (g/kg) DM v bachorové tekutině krav v 2. období

| | PP2 | | | P2 | | |
|-----------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| | A | B | C | A-P | B-P | C-K |
| Asp | 7,49±0,64 | 8,52±1,64 | 6,94±0,98 | 7,88±0,93 | 9,92±1,26 | 7,96±1,48 |
| Thr | 3,54±0,25 | 3,45±0,83 | 3,08±0,51 | 3,11±0,35 | 4,46±0,72 | 3,63±0,60 |
| Ser | 3,01±0,28 | 2,89±0,66 | 2,84±0,45 | 2,56±0,22 | 3,79±0,62 | 3,01±0,54 |
| Glu | 9,66±0,84 | 11,89±2,08 | 8,91±1,30 | 8,03±0,70 | 10,88±1,83 | 9,02±1,68 |
| Pro | 2,31±0,22 | 2,70±0,47 | 2,31±0,26 | 2,56±0,88 | 3,25±0,98 | 2,68±0,51 |
| Gly | 3,50±0,25 | 3,45±0,73 | 3,17±0,45 | 3,04±0,28 | 4,40±0,71 | 3,62±0,58 |
| Ala | 3,92±0,25 | 3,83±0,82 | 3,58±0,50 | 3,81±0,32 | 5,52±0,77 | 4,18±0,71 |
| Cys | 0,29±0,04 | 0,16±0,06 | 0,26±0,03 | 0,14±0,03 | 0,24±0,07 | 0,34±0,07 |
| Val | 3,12±0,28 | 3,21±0,71 | 2,80±0,26 | 3,18±0,35 | 4,76±0,68 | 3,47±0,59 |
| Met | 1,24±0,13 | 1,4±0,35 | 1,17±0,17 | 1,41±0,15 | 1,89±0,39 | 1,52±0,30 |
| Ile | 2,84±0,30 | 3,20±0,63 | 2,69±0,27 | 3,36±0,35 | 4,40±0,56 | 3,20±0,61 |
| Leu | 4,76±0,28 | 5,34±0,97 | 4,48±0,65 | 5,02±0,54 | 7,03±1,05 | 5,20±0,91 |
| Tyr | 3,11±0,19 | 3,23±0,65 | 2,94±0,45 | 2,96±0,44 | 3,63±0,73 | 3,36±0,59 |
| Phe | 3,14±0,20 | 3,56±0,74 | 2,98±0,45 | 3,15±0,32 | 4,11±0,71 | 3,42±0,63 |
| His | 0,94±0,07 | 0,75±0,20 | 0,85±0,11 | 0,78±0,13 | 1,22±0,31 | 0,98±0,19 |
| Lys | 2,90±0,30 | 2,73±0,46 | 2,80±0,32 | 3,82±0,92 | 5,22±1,15 | 3,49±0,83 |
| Arg | 2,18±0,15 | 1,93±0,50 | 1,95±0,23 | 2,30±0,27 | 3,71±0,68 | 2,46±0,44 |
| Σ AK | 57,96±3,63 | 62,24±11,1 | 53,75±6,96 | 57,08±5,15 | 78,42±12,03 | 61,54±10,18 |
| DM (g/kg) | 15,5±4,3 | 18,6±1,9 | 18,3±1,6 | 17,3±1,8 | 16,4±4,1 | 18,1±3,8 |

A,B,C- kráva

PP2 – 2. předpokusné období

P2 – 2. pokusné období

P – pokus

K - kontrola

TABULKA 38: Obsah aminokyselin (g/kg) DM v bachorové tekutině krav ve 3. období

| | PP3 | | | P3 | | |
|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | A | B | C | A-K | B-P | C-P |
| Asp | 7,47±0,75 | 7,62±0,78 | 7,03±0,74 | 7,63±0,61 | 7,77±1,00 | 8,30±1,09 |
| Thr | 3,44±0,29 | 3,53±0,41 | 3,17±0,33 | 3,57±0,39 | 3,41±0,39 | 3,63±0,51 |
| Ser | 2,98±0,23 | 2,95±0,36 | 2,87±0,36 | 3,01±0,25 | 2,68±0,30 | 2,87±0,36 |
| Glu | 9,50±0,75 | 9,58±1,02 | 8,94±0,83 | 9,27±0,68 | 8,51±1,30 | 9,01±1,26 |
| Pro | 2,40±0,24 | 2,32±0,36 | 2,19±0,26 | 2,67±0,17 | 2,62±0,32 | 2,52±0,39 |
| Gly | 3,43±0,25 | 3,59±0,37 | 3,23±0,35 | 3,59±0,25 | 3,28±0,37 | 3,29±0,37 |
| Ala | 3,98±0,25 | 3,67±1,27 | 3,49±0,31 | 4,17±0,35 | 4,12±0,41 | 4,16±0,51 |
| Cys | 0,28±0,04 | 0,54±0,06 | 0,28±0,04 | 0,31±0,05 | 0,15±0,02 | 0,20±0,03 |
| Val | 3,12±0,21 | 3,02±0,72 | 2,86±0,27 | 3,45±0,21 | 3,40±0,41 | 3,37±0,43 |
| Met | 1,24±0,13 | 1,43±0,46 | 1,19±0,17 | 1,45±0,16 | 1,54±0,21 | 1,74±0,24 |
| Ile | 2,93±0,27 | 3,08±0,63 | 2,69±0,28 | 3,10±0,18 | 3,39±0,48 | 3,55±0,44 |
| Leu | 4,86±0,37 | 4,84±0,37 | 4,39±0,43 | 5,07±0,38 | 5,09±0,67 | 4,93±0,36 |
| Tyr | 3,17±0,28 | 3,07±0,23 | 2,89±0,32 | 3,22±0,27 | 2,93±0,44 | 3,31±0,47 |
| Phe | 3,20±0,27 | 2,87±0,94 | 2,94±0,32 | 3,33±0,25 | 3,24±0,53 | 3,48±0,44 |
| His | 0,92±0,07 | 0,91±0,12 | 0,87±0,10 | 0,93±0,1 | 0,88±0,19 | 1,04±0,21 |
| Lys | 2,99±0,32 | 2,64±0,32 | 2,79±0,40 | 3,10±0,48 | 3,23±0,60 | 4,50±1,35 |
| Arg | 2,16±0,15 | 2,17±0,30 | 1,98±0,22 | 2,37±0,26 | 2,45±0,38 | 2,65±0,45 |
| Σ AK | 58,07±4,01 | 57,85±5,13 | 53,81±5,05 | 60,24±4,19 | 58,70±7,35 | 62,55±9,33 |
| DM (g/kg) | 17,6±2,7 | 16,3±2,3 | 16,8±3,0 | 18,2±2,0 | 16,1±3,5 | 16,9±4,8 |

A,B,C- kráva

PP3 – 3. předpokusné období

P3 – 3. pokusné období

P – pokus

K - kontrola

TABULKA 39: Seznam vzorků pro *in sacco* degradovatelnost

| Číslo vzorku | Lokalita | Datum odběru | Botanické složení | | | Výška porostu (cm) |
|--------------|-------------------|--------------|-------------------|------------|--------|--------------------|
| | | | Trávy | Jeteloviny | Byliny | |
| 1 | Rychnov nad Malší | 19.5.2010 | 50 | 20 | 30 | 10-15 |
| 2 | Rychnov nad Malší | 19.5.2010 | 50 | 20 | 30 | 25-30 |
| 3 | Rychnov nad Malší | 1.7.2010 | 40 | 20 | 40 | 15 |
| 4 | Rychnov nad Malší | 1.7.2010 | 30 | 40 | 30 | 15 |
| 5 | Rychnov nad Malší | 5.8.2010 | 20 | 40 | 40 | 10 |
| 6 | Rychnov nad Malší | 5.8.2010 | 30 | 30 | 40 | 20-25 |
| 7 | Rychnov nad Malší | 14.9.2010 | 50 | 20 | 30 | 20-25 |
| 8 | Rychnov nad Malší | 22.9.2010 | 45 | 25 | 30 | 25 |
| 9 | Těšov | 19.5.2010 | 40 | 20 | 40 | 15 |
| 10 | Těšov | 19.5.2010 | 50 | 10 | 40 | 20-25 |
| 11 | Těšov | 1.7.2010 | 50 | 40 | 10 | 12-20 |
| 12 | Těšov | 1.7.2010 | 50 | 10 | 40 | 25-30 |
| 13 | Těšov | 1.7.2010 | 45 | 10 | 45 | 25 |
| 14 | Těšov | 1.8.2010 | 40 | 20 | 40 | 25-30 |
| 15 | Těšov | 1.8.2010 | 60 | 5 | 35 | 15-20 |
| 16 | Těšov | 1.8.2010 | 70 | 10 | 20 | 20-25 |
| 17 | Těšov | 1.8.2010 | 60 | 10 | 30 | 25 |
| 18 | Těšov | 14.9.2010 | 55 | 15 | 30 | 25-30 |
| 19 | Těšov | 14.9.2010 | 55 | 5 | 40 | 20-25 |
| 20 | Vlčí Jámy | 30.6.2010 | 80 | 10 | 10 | 40-50 |
| 21 | Vlčí Jámy | 30.6.2010 | 70 | 10 | 20 | 20-30 |
| 22 | Vlčí Jámy | 30.6.2010 | 70 | 20 | 10 | 20-30 |
| 23 | Vlčí Jámy | 10.8.2010 | 60 | 10 | 30 | 15-20 |
| 24 | Vlčí Jámy | 10.8.2010 | 50 | 20 | 30 | 10-15 |
| 25 | Vlčí Jámy | 22.9.2010 | 60 | 10 | 30 | 7-10 |
| 26 | Vlčí Jámy | 22.9.2010 | 70 | 10 | 20 | 10-15 |

TABULKA 40: Seznam vzorků pro *in sacco* degradovatelnost z lokality Velký Chlumeč

| Číslo vzorku | Lokalita | Datum odběru | Botanické složení | | | Výška porostu (cm) | Hnojení |
|--------------|---------------|--------------|-------------------|------------|--------|--------------------|---------|
| | | | Trávy | Jeteloviny | Byliny | | |
| 1C | Velký Chlumeč | 28.5.2010 | 47 | 22 | 31 | 15-20 | + |
| 2C | Velký Chlumeč | 28.5.2010 | 46 | 27 | 30 | 15-20 | 0 |
| 3C | Velký Chlumeč | 28.5.2010 | 43 | 18 | 39 | 15-20 | 0 |
| 4C | Velký Chlumeč | 5.6.2010 | 58 | 13 | 29 | 25 | + |
| 5C | Velký Chlumeč | 5.6.2010 | 55 | 13 | 32 | 25 | + |
| 6C | Velký Chlumeč | 5.6.2010 | 47 | 22 | 31 | 25 | 0 |
| 7C | Velký Chlumeč | 5.6.2010 | 51 | 19 | 30 | 25-30 | 0 |
| 8C | Velký Chlumeč | 5.6.2010 | 50 | 20 | 30 | 30 | + |
| 9C | Velký Chlumeč | 13.6.2010 | 56 | 15 | 29 | 30-35 | + |
| 10C | Velký Chlumeč | 13.6.2010 | 46 | 27 | 30 | 30-35 | 0 |
| 11C | Velký Chlumeč | 14.7.2010 | 54 | 21 | 25 | 30 | 0 |
| 12C | Velký Chlumeč | 14.7.2010 | 61 | 10 | 29 | 30 | + |
| 13C | Velký Chlumeč | 14.7.2010 | 53 | 10 | 33 | 25-30 | 0 |
| 14C | Velký Chlumeč | 14.7.2010 | 64 | 6 | 30 | 25-30 | + |
| 15C | Velký Chlumeč | 14.7.2010 | 55 | 20 | 25 | 30 | 0 |
| 16C | Velký Chlumeč | 30.7.2010 | 57 | 15 | 28 | 25 | + |
| 17C | Velký Chlumeč | 30.7.2010 | 37 | 30 | 33 | 15-20 | 0 |
| 18C | Velký Chlumeč | 30.7.2010 | 39 | 22 | 39 | 15-20 | + |
| 19C | Velký Chlumeč | 20.9.2010 | 54 | 10 | 36 | 15-20 | 0 |
| 20C | Velký Chlumeč | 20.9.2010 | 65 | 6 | 29 | 15-20 | + |

TABULKA 41: Chemické složení vzorků pastevních porostů pro *in sacco* (g/kg DM)

| Vzorek | CP | Tuk | Popel | CF | NDF | ADF | ADL |
|---------|-------|------|-------|-------|-------|-------|------|
| 1 | 286,0 | 20,1 | 112,8 | 203,5 | 347,9 | 276,3 | 79,2 |
| 2 | 212,0 | 13,3 | 184,1 | 204,3 | 382,5 | 264,4 | 55,7 |
| 3 | 152,5 | 13,0 | 98,8 | 278,5 | 520,0 | 306,2 | 43,6 |
| 4 | 160,0 | 15,2 | 130,3 | 212,4 | 457,1 | 287,1 | 35,6 |
| 5 | 196,0 | 16,0 | 124,0 | 223,3 | 443,1 | 304,8 | 49,7 |
| 6 | 159,0 | 12,0 | 123,2 | 268,9 | 501,0 | 328,0 | 61,4 |
| 7 | 192,0 | 14,3 | 122,7 | 253,6 | 474,0 | 300,1 | 63,3 |
| 8 | 116,0 | 19,0 | 93,4 | 254,8 | 469,3 | 304,8 | 47,9 |
| 9 | 159,6 | 14,7 | 100,7 | 178,1 | 429,4 | 257,9 | 49,5 |
| 10 | 168,7 | 14,5 | 110,6 | 180,7 | 425,4 | 251,5 | 37,7 |
| 11 | 136,0 | 16,1 | 112,4 | 265,5 | 498,0 | 315,4 | 67,5 |
| 12 | 119,6 | 15,2 | 85,3 | 278,9 | 531,7 | 355,3 | 41,6 |
| 13 | 137,0 | 15,0 | 104,0 | 249,6 | 481,2 | 338,0 | 55,8 |
| 14 | 122,9 | 13,6 | 91,9 | 268,9 | 521,0 | 370,5 | 67,6 |
| 15 | 114,3 | 16,2 | 83,6 | 286,6 | 558,4 | 358,6 | 45,6 |
| 16 | 126,0 | 14,9 | 89,0 | 270,7 | 518,8 | 360,6 | 71,3 |
| 17 | 129,4 | 17,2 | 93,0 | 281,7 | 526,7 | 328,0 | 39,8 |
| 18 | 128,7 | 14,2 | 99,8 | 262,9 | 529,8 | 331,3 | 75,3 |
| 19 | 126,0 | 14,0 | 99,0 | 274,7 | 538,4 | 339,3 | 59,6 |
| 20 | 152,0 | 11,0 | 91,4 | 279,0 | 532,9 | 330,7 | 63,4 |
| 21 | 147,0 | 12,6 | 78,0 | 286,2 | 544,7 | 326,0 | 57,8 |
| 22 | 127,0 | 14,0 | 89,8 | 290,8 | 556,0 | 339,3 | 49,9 |
| 23 | 170,0 | 14,9 | 92,4 | 229,8 | 489,0 | 294,2 | 59,4 |
| 24 | 170,0 | 12,4 | 83,5 | 272,4 | 542,0 | 310,1 | 51,9 |
| 25 | 159,0 | 10,1 | 111,6 | 215,7 | 406,4 | 262,9 | 69,9 |
| 26 | 192,0 | 15,2 | 105,8 | 209,6 | 405,9 | 269,8 | 63,6 |
| Průměr | 156,1 | 14,6 | 104,3 | 249,3 | 485,8 | 312,0 | 56,3 |
| Minimum | 114,3 | 10,1 | 78,0 | 178,1 | 347,9 | 251,5 | 35,6 |
| Maximum | 286,0 | 20,1 | 184,1 | 290,8 | 558,4 | 370,5 | 79,2 |
| S.D. | 37,0 | 2,1 | 21,0 | 34,0 | 56,7 | 33,4 | 11,6 |

TABULKA 42: Chemické složení vzorků lokality Velký Chlumeč pro *in sacco* (g/kg DM)

| Vzorek | CP | Tuk | Popel | CF | NDF | ADF | ADL |
|---------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1C | 210,5 | 26,8 | 98,3 | 151,3 | 373,9 | 244,8 | 8,6 |
| 2C | 216,4 | 23,4 | 107,4 | 136,5 | 354,0 | 231,2 | 81,2 |
| 3C | 199,3 | 20,4 | 111,4 | 144,9 | 343,0 | 230,0 | 104,6 |
| 4C | 144,7 | 18,0 | 98,3 | 221,8 | 499,1 | 292,4 | 33,5 |
| 5C | 129,4 | 19,4 | 76,0 | 202,8 | 452,9 | 261,0 | 29,8 |
| 6C | 113,7 | 16,8 | 92,0 | 183,6 | 427,2 | 271,2 | 33,6 |
| 7C | 134,5 | 15,0 | 74,1 | 226,2 | 502,7 | 296,8 | 40,4 |
| 8C | 160,6 | 18,2 | 103,7 | 195,7 | 385,1 | 284,3 | 68,7 |
| 9C | 138,6 | 18,8 | 96,6 | 205,0 | 464,0 | 295,5 | 57,5 |
| 10C | 127,9 | 21,8 | 87,8 | 204,9 | 476,3 | 285,9 | 55,9 |
| 11C | 107,4 | 10,0 | 81,3 | 272,3 | 520,3 | 304,1 | 45,6 |
| 12C | 98,3 | 9,9 | 96,6 | 301,7 | 466,5 | 331,5 | 47,3 |
| 13C | 100,7 | 8,8 | 95,8 | 224,8 | 499,9 | 357,0 | 83,0 |
| 14C | 92,9 | 9,3 | 83,5 | 338,0 | 531,4 | 351,4 | 76,5 |
| 15C | 94,6 | 9,6 | 91,1 | 317,7 | 482,2 | 327,6 | 58,3 |
| 16C | 107,0 | 9,3 | 86,4 | 307,5 | 479,7 | 315,2 | 62,5 |
| 17C | 145,0 | 10,1 | 99,1 | 298,3 | 356,9 | 265,0 | 51,2 |
| 18C | 131,7 | 10,5 | 104,5 | 316,6 | 405,9 | 252,7 | 48,3 |
| 19C | 139,8 | 10,4 | 91,0 | 305,4 | 372,2 | 240,9 | 35,1 |
| 20C | 139,5 | 10,6 | 94,1 | 289,1 | 458,9 | 258,5 | 42,5 |
| Průměr | 136,6 | 14,9 | 93,5 | 242,2 | 442,6 | 284,8 | 53,2 |
| Minimum | 92,9 | 8,8 | 74,1 | 136,5 | 343,0 | 230,0 | 8,6 |
| Maximum | 216,4 | 26,8 | 111,4 | 338,0 | 531,4 | 357,0 | 104,6 |
| S.D. | 36,5 | 5,7 | 9,9 | 64,2 | 60,3 | 38,1 | 22,1 |

TABULKA 43: Degradovatelnost (g/kg) *in sacco* 48 hodin

| Vzorek | Kontrola | | Pokus | |
|--------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | DMD | OMD | DMD | OMD |
| 1 | 867,4±4,0 | 864,7±4,1 | 864,0±3,2 | 861,7±3,2 |
| 2 | 792,6±5,0 | 783,5±5,2 | 791,2±4,6 | 761,9±5,2 |
| 3 | 741,3±3,1 | 763,5±3,1 | 726,2±5,2 | 722,0±5,3 |
| 4 | 780,6±5,0 | 789,8±5,3 | 767,4±3,8 | 774,8±3,6 |
| 5 | 771,4±2,4 | 774,2±2,3 | 771,6±1,8 | 773,6±1,8 |
| 6 | 726,4±2,4 | 735,6±2,4 | 709,8±3,5 | 715,1±3,4 |
| 7 | 749,4±3,2 | 760,6±3,0 | 739,7±6,3 | 718,9±6,9 |
| 8 | 759,4±2,9 | 771,3±2,7 | 761,3±3,8 | 750,9±4,0 |
| 9 | 873,0±2,3 | 868,1±2,4 | 867,4±3,2 | 866,3±3,2 |
| 10 | 873,4±23,4 | 879,7±22,2 | 872,1±4,2 | 789,4±3,9 |
| 11 | 774,2±1,6 | 772,4±1,6 | 736,7±5,0 | 733,8±5,1 |
| 12 | 751,0±5,0 | 740,2±5,8 | 712,1±6,2 | 698,5±6,5 |
| 13 | 770,9±2,1 | 765,4±2,1 | 752,4±4,9 | 745,0±5,1 |
| 14 | 703,9±5,9 | 693,2±5,4 | 693,6±2,7 | 680,4±2,8 |
| 15 | 713,0±3,9 | 698,6±4,1 | 674,1±2,7 | 657,5±2,9 |
| 16 | 713,0±8,8 | 701,5±9,3 | 686,4±4,1 | 673,3±4,3 |
| 17 | 720,2±11,1 | 710,7±11,5 | 707,9±3,0 | 698,7±3,2 |
| 18 | 710,2±7,0 | 697,1±7,3 | 677,2±4,6 | 663,0±4,8 |
| 19 | 689,6±4,2 | 676,8±4,4 | 662,0±7,5 | 650,1±7,8 |
| 20 | 772,0±6,3 | 764,8±6,5 | 754,6±11,7 | 748,1±12,1 |
| 21 | 730,6±9,3 | 723,7±9,6 | 717,2±5,9 | 712,3±6,0 |
| 22 | 714,8±7,5 | 708,9±7,7 | 714,1±14,4 | 713,6±14,4 |
| 23 | 773,7±3,0 | 763,9±3,3 | 766,4±3,0 | 757,0±3,1 |
| 24 | 751,7±4,7 | 743,6±5,3 | 737,3±3,8 | 727,4±3,9 |
| 25 | 763,0±2,5 | 754,8±2,5 | 761,1±2,0 | 757,5±2,0 |
| 26 | 804,6±2,3 | 805,9±2,3 | 785,1±2,3 | 784,2±2,4 |

TABULKA 44: Degradovatelnost (g/kg) *in sacco* 48 hodin Velký Chlumeč

| Vzorek | Kontrola | | Pokus | |
|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | DMD | OMD | DMD | OMD |
| 1C | 922,0±3,9 | 923,9±3,8 | 920,5±4,4 | 922,9±4,2 |
| 2C | 912,1±3,0 | 918,3±2,8 | 909,4±3,9 | 915,3±3,7 |
| 3C | 916,0±3,8 | 918,1±3,7 | 904,5±5,5 | 908,1±5,3 |
| 4C | 851,9±8,4 | 855,7±8,2 | 841,9±8,1 | 851,6±7,6 |
| 5C | 866,9±3,7 | 867,8±3,7 | 861,3±5,1 | 864,7±5,0 |
| 6C | 852,2±5,5 | 855,7±5,3 | 862,6±5,5 | 868,2±5,3 |
| 7C | 828,4±7,8 | 826,9±7,9 | 834,5±6,9 | 833,4±6,9 |
| 8C | 805,3±8,9 | 802,1±9,0 | 808,2±23,5 | 805,6±23,8 |
| 9C | 781,8±6,6 | 778,8±6,7 | 779,0±4,1 | 775,1±4,2 |
| 10C | 758,3±7,6 | 752,4±7,8 | 769,3±4,5 | 763,6±4,6 |
| 11C | 810,6±9,2 | 806,8±9,3 | 768,4±17,0 | 761,1±18,2 |
| 12C | 810,6±12,8 | 804,4±13,3 | 776,1±13,4 | 767,2±14,0 |
| 13C | 703,9±42,5 | 696,0±43,7 | 653,2±16,4 | 643,4±16,8 |
| 14C | 693,1±16,6 | 687,2±17,0 | 644,9±28,9 | 632,8±29,9 |
| 15C | 748,0±12,1 | 741,8±25,1 | 726,3±20,7 | 718,4±21,3 |
| 16C | 771,4±12,1 | 766,4±12,3 | 719,2±24,4 | 712,0±25,1 |
| 17C | 859,4±6,7 | 857,7±6,8 | 858,0±7,1 | 856,4±7,2 |
| 18C | 853,4±11,2 | 852,8±11,3 | 866,2±10,1 | 866,1±10,1 |
| 19C | 888,4±8,0 | 887,4±8,1 | 881,6±13,0 | 880,4±13,1 |
| 20C | 887,8±11,4 | 884,8±11,7 | 889,7±10,2 | 886,3±10,5 |

TABULKA 45: Degradovatelnost (g/kg) *in sacco* 24 hodin Velký Chlumeč

| Vzorek | Kontrola | | Pokus | |
|--------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | DMD | OMD | DMD | OMD |
| 1C | 872,6±8,9 | 870,7±9,0 | 884,2±12,5 | 884,2±12,5 |
| 2C | 857,8±14,5 | 859,2±14,3 | 875,6±9,8 | 880,4±9,3 |
| 3C | 858,6±17,1 | 855,5±17,5 | 861,6±9,1 | 861,8±9,1 |
| 4C | 733,5±10,7 | 727,0±11,0 | 778,5±9,9 | 780,5±9,8 |
| 5C | 776,1±43,1 | 771,2±44,0 | 802,7±16,7 | 799,6±16,9 |
| 6C | 757,5±60,5 | 719,3±71,1 | 801,2±8,7 | 802,8±8,5 |
| 7C | 697,8±43,9 | 687,6±45,4 | 764,9±10,5 | 760,0±10,7 |
| 8C | 716,9±33,9 | 707,5±35,0 | 748,7±9,7 | 743,3±9,9 |
| 9C | 695,1±27,2 | 684,9±28,1 | 742,2±10,1 | 736,5±10,3 |
| 10C | 690,1±28,4 | 677,4±29,5 | 713,3±12,5 | 705,3±12,9 |
| 11C | 733,8±6,2 | 725,1±6,4 | 685,2±16,9 | 672,9±17,6 |
| 12C | 742,0±14,4 | 730,0±15,1 | 690,2±17,1 | 673,1±18,0 |
| 13C | 584,8±16,3 | 569,4±16,9 | 553,5±16,8 | 535,2±17,4 |
| 14C | 593,2±17,5 | 582,2±17,9 | 552,8±10,4 | 536,0±10,8 |
| 15C | 693,7±13,6 | 682,6±14,1 | 636,0±25,2 | 621,5±26,2 |
| 16C | 669,2±19,7 | 660,0±20,3 | 634,9±30,5 | 622,3±31,5 |
| 17C | 795,6±12,4 | 790,5±12,7 | 776,1±24,2 | 769,2±24,9 |
| 18C | 793,2±12,8 | 799,2±32,8 | 769,8±13,0 | 761,2±13,5 |
| 19C | 813,5±39,2 | 807,6±40,5 | 789,4±18,7 | 780,9±19,5 |
| 20C | 825,4±18,3 | 817,1±19,2 | 801,2±18,4 | 791,8±19,3 |

TABULKA 46: Degradovatelnost dusíkatých látek a vlákniny *in sacco* (g/kg DM) 48 hodin

| Vzorek | Kontrola | | | | | Pokus | | | | |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | CP | NDF | ADF | Hemicelulosa | Celulosa | CP | NDF | ADF | Hemicelulosa | Celulosa |
| 1 | 960,8 | 730,0 | 755,6 | 631,2 | 710,7 | 957,1 | 729,7 | 742,9 | 678,7 | 694,3 |
| 2 | 930,0 | 692,4 | 689,7 | 698,5 | 662,2 | 934,4 | 656,1 | 684,4 | 592,7 | 655,9 |
| 3 | 892,2 | 610,9 | 605,3 | 618,8 | 582,7 | 885,8 | 578,0 | 576,1 | 580,7 | 551,2 |
| 4 | 902,2 | 664,6 | 681,3 | 636,4 | 667,2 | 902,9 | 635,0 | 647,6 | 613,9 | 630,6 |
| 5 | 913,2 | 626,1 | 638,5 | 598,7 | 612,6 | 914,3 | 620,6 | 643,3 | 570,5 | 618,3 |
| 6 | 887,4 | 598,9 | 609,3 | 579,2 | 582,3 | 869,9 | 581,8 | 564,4 | 614,9 | 530,9 |
| 7 | 901,2 | 622,5 | 611,2 | 642,0 | 574,2 | 888,3 | 590,8 | 560,6 | 643,0 | 512,7 |
| 8 | 844,3 | 597,5 | 618,4 | 559,0 | 592,1 | 870,4 | 595,4 | 610,5 | 567,5 | 582,4 |
| 9 | 916,7 | 784,8 | 784,0 | 785,9 | 762,9 | 916,6 | 775,8 | 759,2 | 800,6 | 733,6 |
| 10 | 924,1 | 806,6 | 786,5 | 835,7 | 771,1 | 916,5 | 791,9 | 771,2 | 821,8 | 753,4 |
| 11 | 864,6 | 656,3 | 673,0 | 627,5 | 645,4 | 860,1 | 585,1 | 586,0 | 583,5 | 545,0 |
| 12 | 833,6 | 624,3 | 659,4 | 553,5 | 647,3 | 853,7 | 544,6 | 590,8 | 451,6 | 574,7 |
| 13 | 876,6 | 631,8 | 647,4 | 594,9 | 623,0 | 862,0 | 589,7 | 642,0 | 466,2 | 620,2 |
| 14 | 810,9 | 552,4 | 550,4 | 557,3 | 516,2 | 824,7 | 507,3 | 525,5 | 462,4 | 488,0 |
| 15 | 845,9 | 582,2 | 559,8 | 622,3 | 537,4 | 810,6 | 506,2 | 473,2 | 565,5 | 444,0 |
| 16 | 817,8 | 574,1 | 614,2 | 482,6 | 589,9 | 800,2 | 516,1 | 528,2 | 488,5 | 489,2 |
| 17 | 832,5 | 544,1 | 597,1 | 456,6 | 580,1 | 824,0 | 545,9 | 562,5 | 518,6 | 542,4 |
| 18 | 826,5 | 567,7 | 576,4 | 553,2 | 537,0 | 776,8 | 510,5 | 496,2 | 534,3 | 442,9 |
| 19 | 811,3 | 549,0 | 544,4 | 556,7 | 513,5 | 776,1 | 482,7 | 509,2 | 437,7 | 476,6 |
| 20 | 881,2 | 670,8 | 695,4 | 630,6 | 677,2 | 852,3 | 626,9 | 662,0 | 569,4 | 640,1 |
| 21 | 840,8 | 609,8 | 626,7 | 584,6 | 604,3 | 829,9 | 589,5 | 618,7 | 546,0 | 597,5 |
| 22 | 844,3 | 596,1 | 598,8 | 591,7 | 578,8 | 848,6 | 575,4 | 596,4 | 542,6 | 576,1 |
| 23 | 899,4 | 630,1 | 619,9 | 645,6 | 581,0 | 895,1 | 601,7 | 599,5 | 605,1 | 557,3 |
| 24 | 898,6 | 627,0 | 624,5 | 630,5 | 598,9 | 890,2 | 596,7 | 584,8 | 612,5 | 554,2 |
| 25 | 881,1 | 561,3 | 581,9 | 523,6 | 516,4 | 874,0 | 547,0 | 567,2 | 509,9 | 496,9 |
| 26 | 919,9 | 643,6 | 658,7 | 613,6 | 613,8 | 908,8 | 593,0 | 610,9 | 557,4 | 557,1 |
| Průměr | 875,3 | 629,0 | 638,8 | 608,1 | 610,7 | 867,0 | 595,1 | 604,4 | 574,4 | 571,7 |
| Minimum | 810,9 | 544,1 | 544,4 | 456,6 | 513,5 | 776,1 | 482,7 | 473,2 | 437,7 | 442,9 |
| Maximum | 960,8 | 806,6 | 786,5 | 835,7 | 771,1 | 957,1 | 791,9 | 771,2 | 821,8 | 753,4 |
| S.D. | 41,2 | 66,6 | 64,5 | 79,7 | 68,3 | 46,9 | 76,5 | 76,0 | 91,8 | 81,0 |

TABULKA 47: Degradovatelnost dusíkatých látek a vlákniny *in sacco* (g/kg DM) 48 hodin Velký Chlumeč

| Vzorek | Kontrola | | | | | Pokus | | | | |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | CP | NDF | ADF | Hemicelulosa | Celulosa | CP | NDF | ADF | Hemicelulosa | Celulosa |
| 1C | 960,9 | 857,6 | 868,0 | 837,8 | 866,0 | 961,6 | 860,8 | 877,6 | 828,7 | 876,1 |
| 2C | 959,8 | 839,8 | 853,4 | 814,0 | 821,7 | 960,3 | 839,4 | 854,6 | 810,8 | 824,9 |
| 3C | 957,8 | 834,5 | 846,5 | 810,1 | 788,4 | 949,5 | 825,1 | 848,3 | 777,9 | 801,4 |
| 4C | 919,7 | 782,6 | 782,5 | 782,7 | 773,5 | 915,3 | 784,2 | 786,5 | 781,0 | 779,3 |
| 5C | 909,9 | 771,4 | 773,9 | 767,8 | 762,0 | 901,8 | 784,4 | 773,7 | 799,0 | 762,4 |
| 6C | 890,3 | 742,6 | 763,2 | 706,6 | 750,6 | 900,7 | 779,0 | 784,0 | 770,2 | 772,9 |
| 7C | 886,3 | 729,0 | 731,4 | 725,5 | 716,1 | 888,8 | 758,1 | 747,5 | 773,5 | 733,8 |
| 8C | 884,9 | 616,5 | 664,1 | 482,2 | 619,1 | 893,1 | 647,0 | 660,0 | 610,2 | 612,8 |
| 9C | 873,7 | 623,6 | 637,5 | 599,1 | 602,7 | 867,4 | 637,8 | 627,2 | 656,5 | 590,6 |
| 10C | 853,3 | 593,1 | 562,1 | 639,6 | 514,5 | 863,5 | 619,8 | 579,1 | 680,9 | 532,9 |
| 11C | 863,8 | 711,0 | 691,5 | 738,4 | 670,5 | 834,3 | 639,9 | 622,9 | 663,8 | 597,3 |
| 12C | 851,1 | 673,4 | 728,1 | 539,1 | 714,4 | 837,2 | 616,6 | 672,9 | 478,6 | 655,7 |
| 13C | 788,5 | 519,6 | 552,5 | 437,2 | 506,7 | 759,1 | 457,3 | 480,4 | 399,4 | 428,1 |
| 14C | 754,3 | 533,0 | 548,4 | 502,8 | 508,2 | 687,0 | 474,9 | 474,7 | 475,5 | 427,3 |
| 15C | 811,3 | 587,3 | 589,6 | 582,5 | 555,3 | 786,0 | 560,3 | 573,2 | 533,0 | 540,1 |
| 16C | 837,2 | 623,9 | 609,9 | 650,8 | 570,0 | 777,8 | 555,8 | 547,2 | 572,3 | 504,7 |
| 17C | 918,1 | 706,5 | 730,0 | 638,8 | 699,0 | 914,8 | 712,3 | 735,2 | 646,2 | 705,8 |
| 18C | 894,1 | 739,4 | 714,7 | 780,3 | 681,8 | 909,9 | 753,6 | 739,5 | 776,7 | 709,6 |
| 19C | 925,5 | 777,8 | 771,2 | 790,1 | 751,2 | 918,8 | 769,3 | 755,7 | 794,3 | 734,1 |
| 20C | 927,7 | 815,1 | 781,2 | 858,8 | 760,2 | 933,0 | 826,4 | 786,8 | 877,6 | 766,6 |
| Průměr | 883,4 | 703,9 | 710,0 | 684,2 | 681,6 | 873,0 | 695,1 | 696,4 | 685,3 | 667,8 |
| Minimum | 754,3 | 519,6 | 548,4 | 437,2 | 506,7 | 687,0 | 457,3 | 474,7 | 399,4 | 427,3 |
| Maximum | 960,9 | 857,6 | 868,0 | 858,8 | 866,0 | 961,6 | 860,8 | 877,6 | 877,6 | 876,1 |
| S.D. | 56,2 | 103,0 | 100,4 | 127,2 | 109,0 | 73,0 | 121,7 | 121,3 | 136,1 | 131,9 |

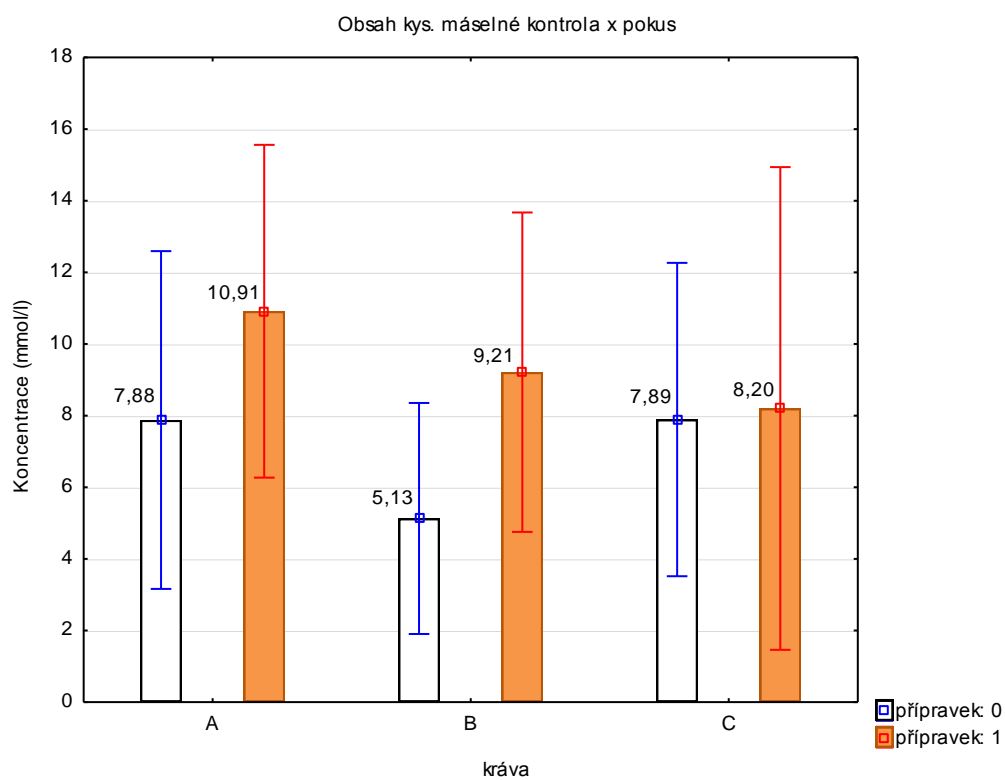
TABULKA 48: Degradovatelnost dusíkatých látek a vlákniny *in sacco* (g/kg DM) 24 hodin Velký Chlumeč

| Vzorek | Kontrola | | | | | Pokus | | | | |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | CP | NDF | ADF | Hemicelulosa | Celulosa | CP | NDF | ADF | Hemicelulosa | Celulosa |
| 1C | 940,7 | 749,9 | 779,1 | 694,7 | 775,7 | 942,6 | 766,6 | 810,2 | 745,4 | 807,5 |
| 2C | 933,5 | 706,7 | 756,5 | 612,9 | 701,7 | 942,0 | 741,0 | 800,1 | 723,1 | 759,3 |
| 3C | 932,0 | 700,9 | 707,5 | 687,6 | 581,3 | 928,9 | 725,6 | 749,6 | 694,2 | 656,1 |
| 4C | 873,3 | 561,4 | 564,0 | 557,8 | 542,1 | 893,4 | 600,3 | 665,4 | 671,1 | 650,7 |
| 5C | 859,6 | 606,4 | 610,5 | 600,9 | 589,1 | 873,7 | 613,0 | 652,7 | 667,4 | 633,3 |
| 6C | 812,1 | 568,0 | 571,3 | 562,4 | 545,0 | 860,7 | 594,9 | 696,2 | 618,9 | 681,3 |
| 7C | 824,7 | 499,6 | 503,3 | 494,3 | 472,7 | 855,6 | 529,9 | 619,9 | 654,9 | 597,1 |
| 8C | 811,4 | 453,7 | 507,7 | 301,3 | 441,1 | 853,1 | 467,7 | 571,1 | 404,9 | 514,5 |
| 9C | 803,2 | 468,9 | 490,7 | 430,5 | 441,3 | 857,9 | 491,8 | 568,2 | 574,0 | 526,2 |
| 10C | 795,5 | 467,7 | 430,9 | 522,9 | 368,0 | 827,3 | 490,6 | 504,1 | 565,5 | 453,2 |
| 11C | 820,9 | 565,3 | 543,7 | 595,8 | 510,2 | 778,9 | 516,6 | 481,3 | 566,4 | 445,3 |
| 12C | 805,4 | 539,8 | 604,9 | 380,0 | 582,1 | 781,1 | 457,7 | 530,2 | 279,5 | 503,6 |
| 13C | 716,7 | 320,7 | 373,2 | 189,5 | 309,0 | 651,2 | 309,9 | 346,4 | 218,6 | 283,7 |
| 14C | 688,5 | 363,7 | 381,4 | 329,1 | 322,4 | 635,3 | 321,6 | 355,2 | 255,9 | 300,2 |
| 15C | 770,8 | 487,4 | 511,5 | 436,2 | 472,1 | 698,3 | 418,9 | 449,2 | 354,7 | 408,8 |
| 16C | 751,2 | 452,9 | 468,9 | 422,2 | 419,3 | 679,0 | 416,3 | 419,9 | 409,5 | 366,8 |
| 17C | 880,8 | 574,0 | 604,8 | 485,1 | 559,2 | 860,1 | 534,8 | 598,9 | 349,6 | 556,5 |
| 18C | 883,1 | 614,4 | 616,1 | 611,4 | 574,3 | 846,4 | 579,5 | 586,4 | 568,0 | 543,0 |
| 19C | 862,7 | 597,0 | 612,9 | 567,8 | 578,7 | 842,1 | 577,3 | 572,6 | 585,8 | 535,6 |
| 20C | 907,5 | 694,6 | 654,4 | 746,4 | 620,8 | 888,5 | 660,9 | 634,5 | 694,9 | 601,7 |
| Průměr | 833,7 | 549,7 | 564,7 | 511,4 | 520,3 | 824,8 | 540,7 | 580,6 | 530,1 | 541,2 |
| Minimum | 688,5 | 320,7 | 373,2 | 189,5 | 309,0 | 635,3 | 309,9 | 346,4 | 218,6 | 283,7 |
| Maximum | 940,7 | 749,9 | 779,1 | 746,4 | 775,7 | 942,6 | 766,6 | 810,2 | 745,4 | 807,5 |
| S.D. | 70,4 | 113,5 | 111,1 | 141,9 | 117,8 | 92,6 | 126,4 | 131,2 | 168,2 | 139,6 |

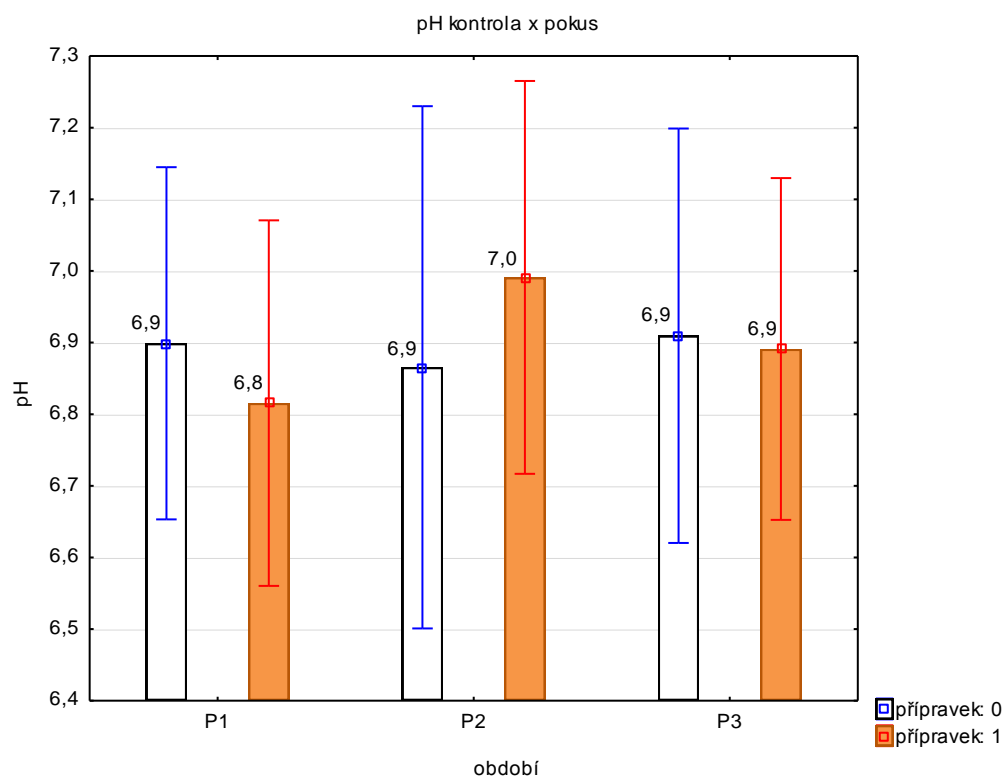
TABULKA 49: Aminokyselinové složení přípravku Biopolym FZT (g/kg DM)

| Aminokyselina | Obsah |
|---------------|-------|
| Asp | 3,42 |
| Thr | 1,27 |
| Ser | 1,09 |
| Glu | 12,39 |
| Pro | 1,14 |
| Gly | 1,52 |
| Ala | 1,94 |
| Cys | 0,12 |
| Val | 1,53 |
| Met | 0,64 |
| Ile | 1,16 |
| Leu | 2,18 |
| Tyr | 0,63 |
| Phe | 1,29 |
| His | 0,34 |
| Lys | 0,92 |
| Arg | 0,91 |
| Σ AK | 1,91 |

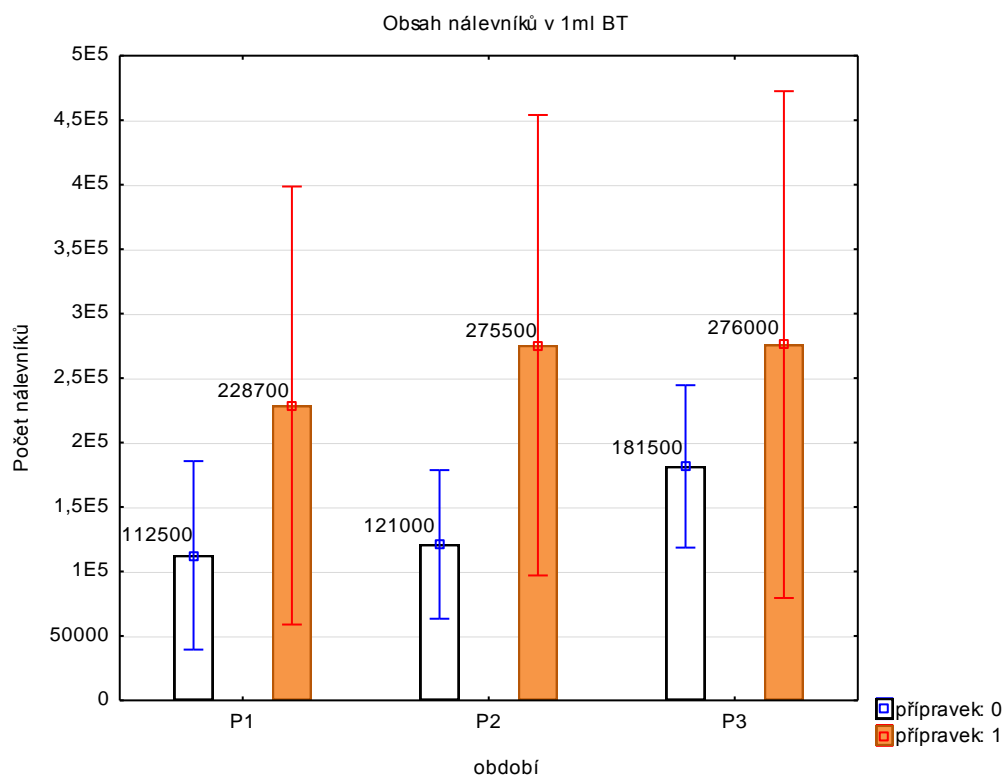
GRAF 19: Obsah kyseliny máselné pro krávy A, B, C



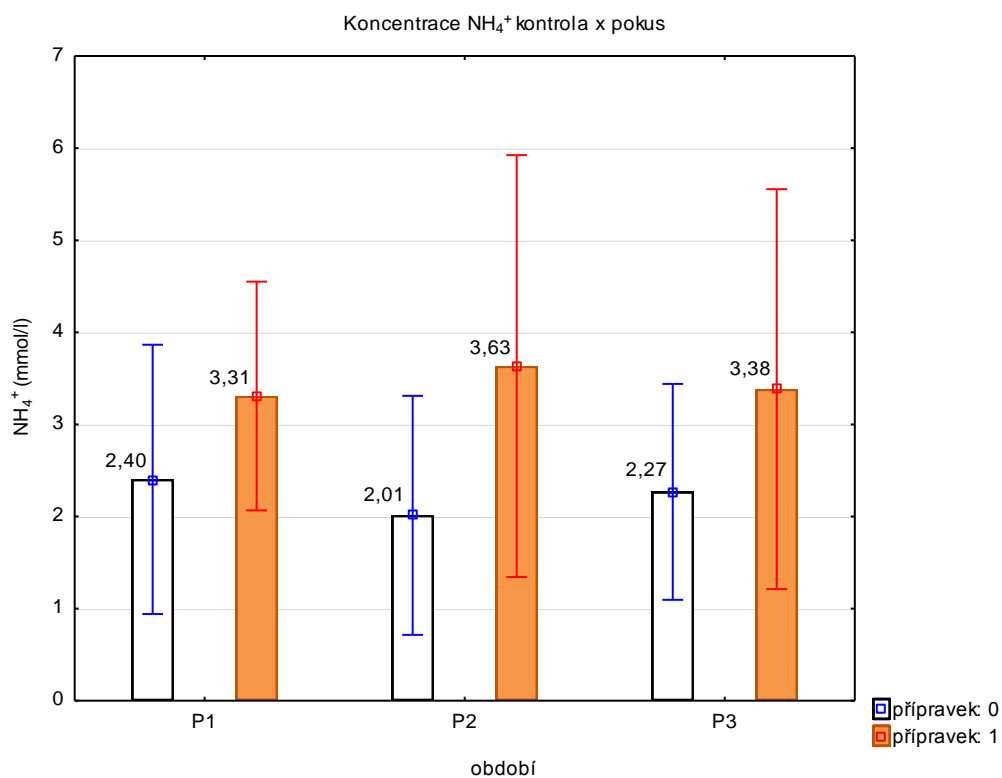
GRAF 20: Hodnoty pH pro P1, P2, P3



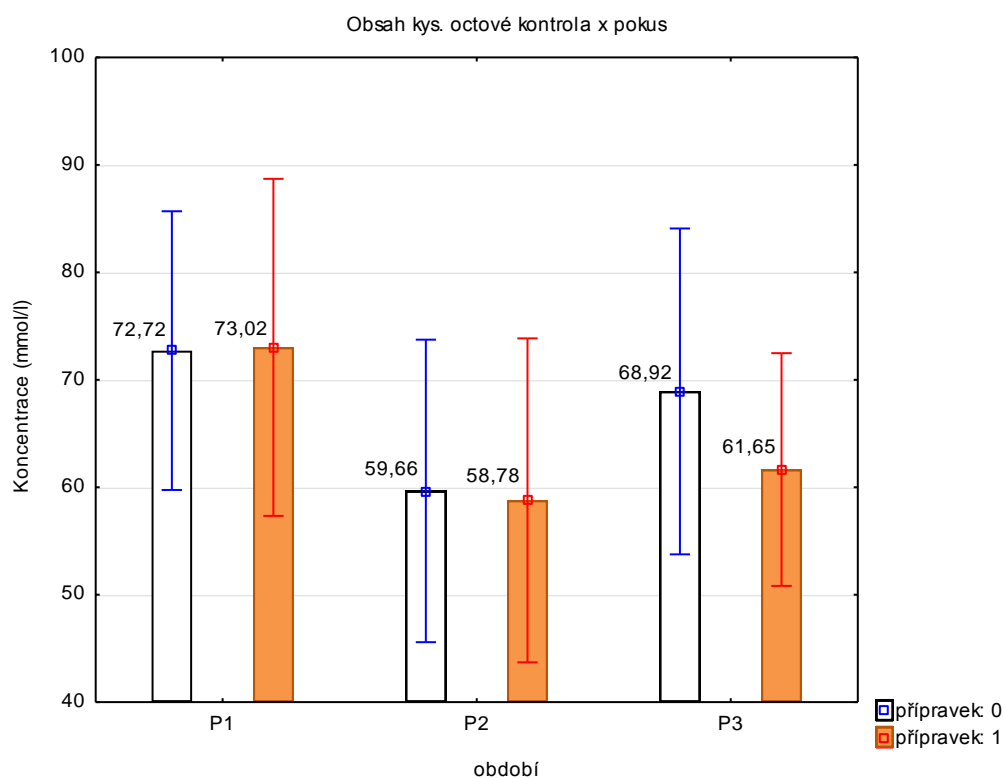
GRAF 21: Porovnání obsahu nálevníků pro P1, P2, P3



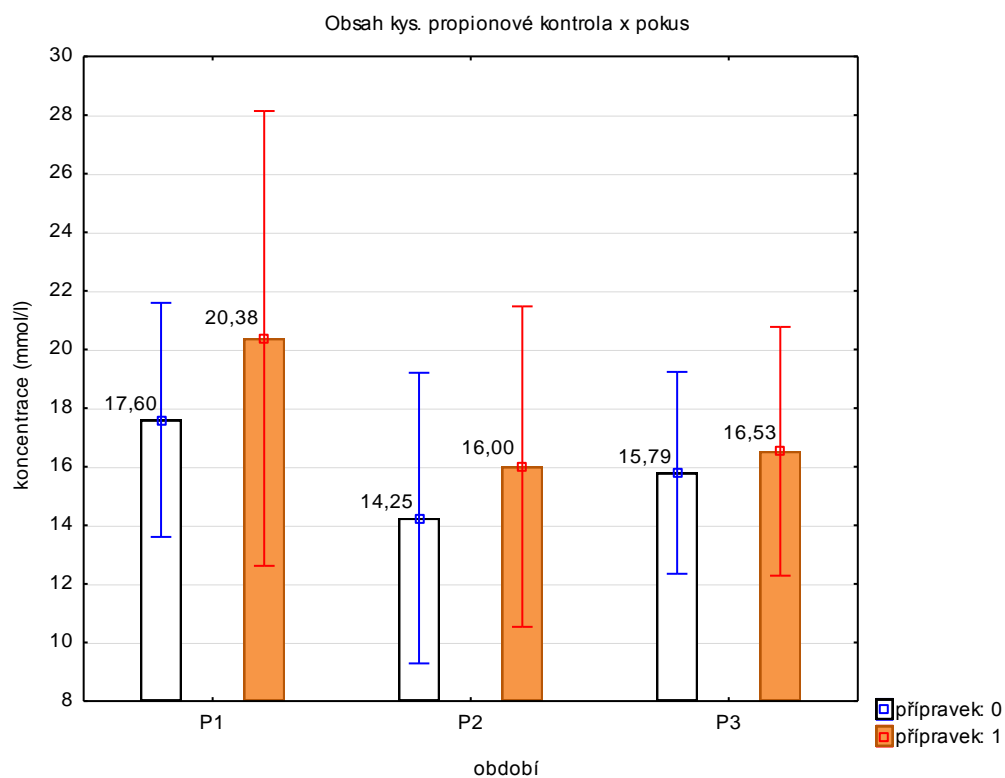
GRAF 22: Obsah čpavku v bachorové tekutině (mmol/l) pro P1, P2, P3



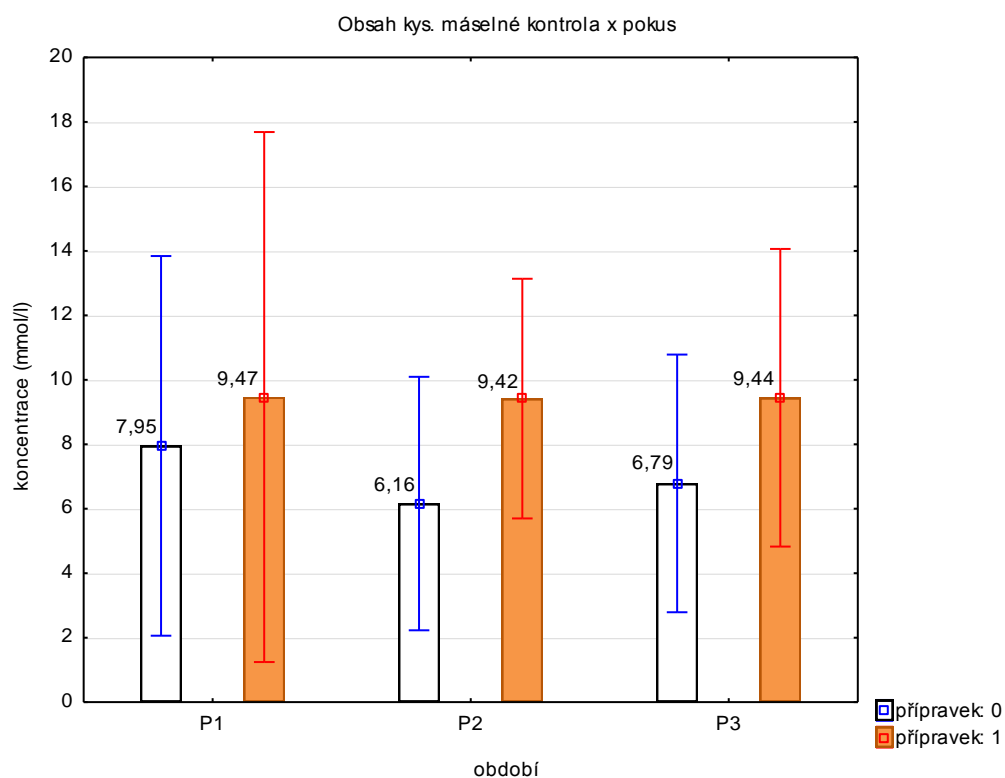
GRAF 23: Obsah kyseliny octové v bachorové tekutině (mmol/l) pro P1, P2, P3



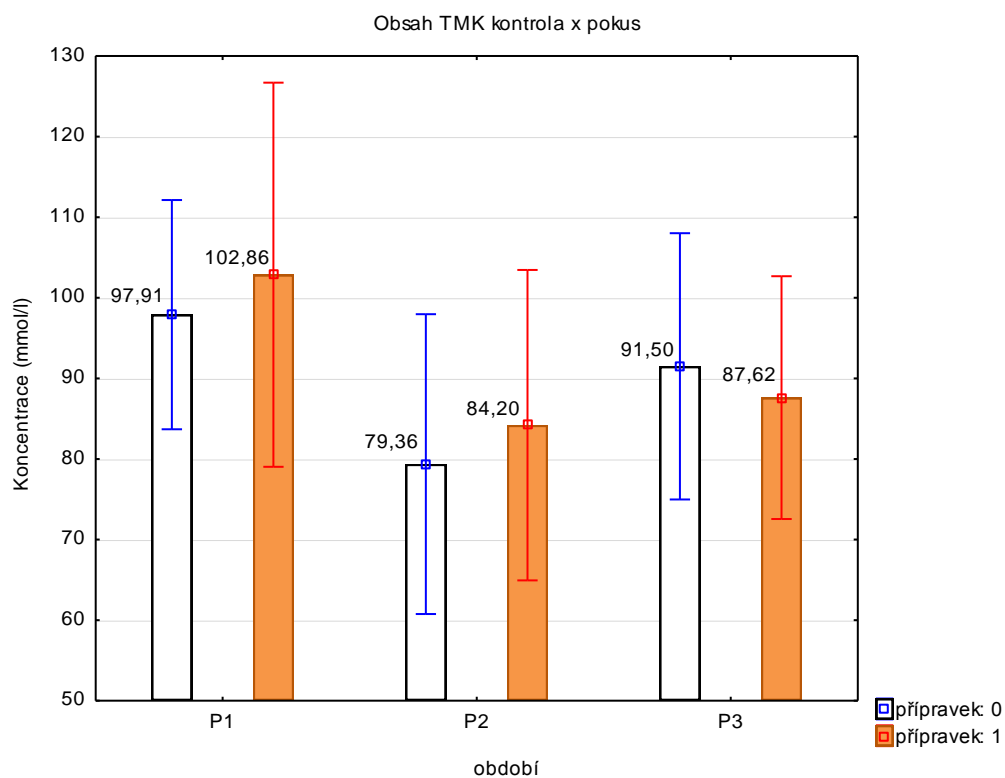
GRAF 24: Obsah kyseliny propionové v bachorové tekutině (mmol/l) pro P1, P2, P3



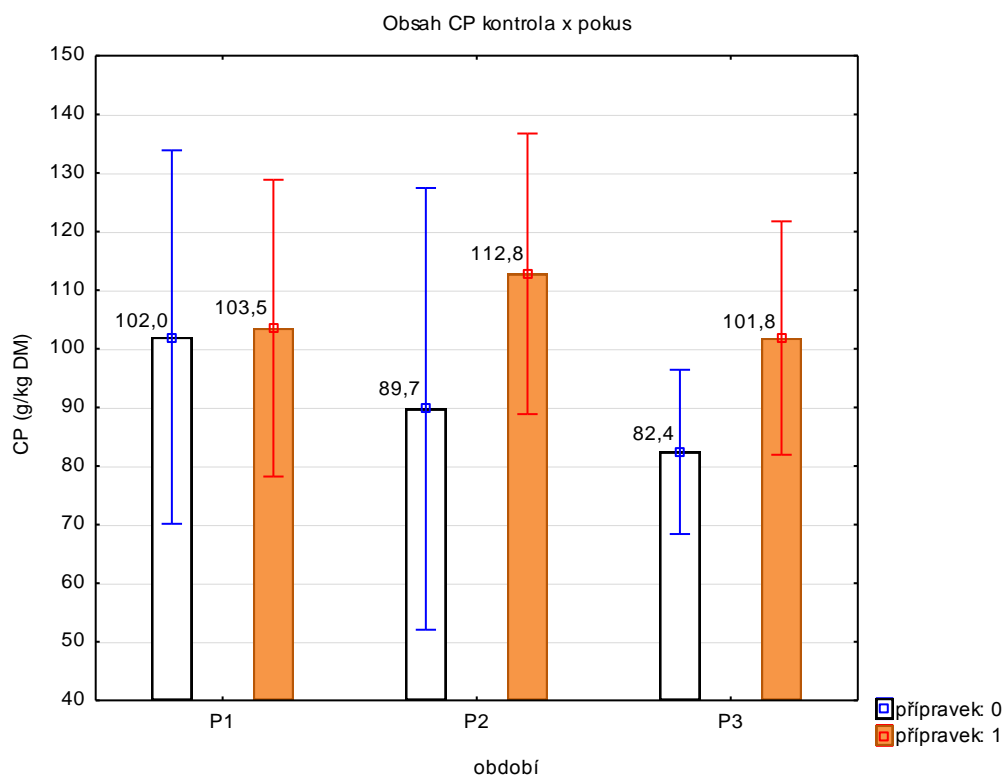
GRAF 25: Obsah kyseliny máselné v bachorové tekutině (mmol/l) pro P1, P2, P3



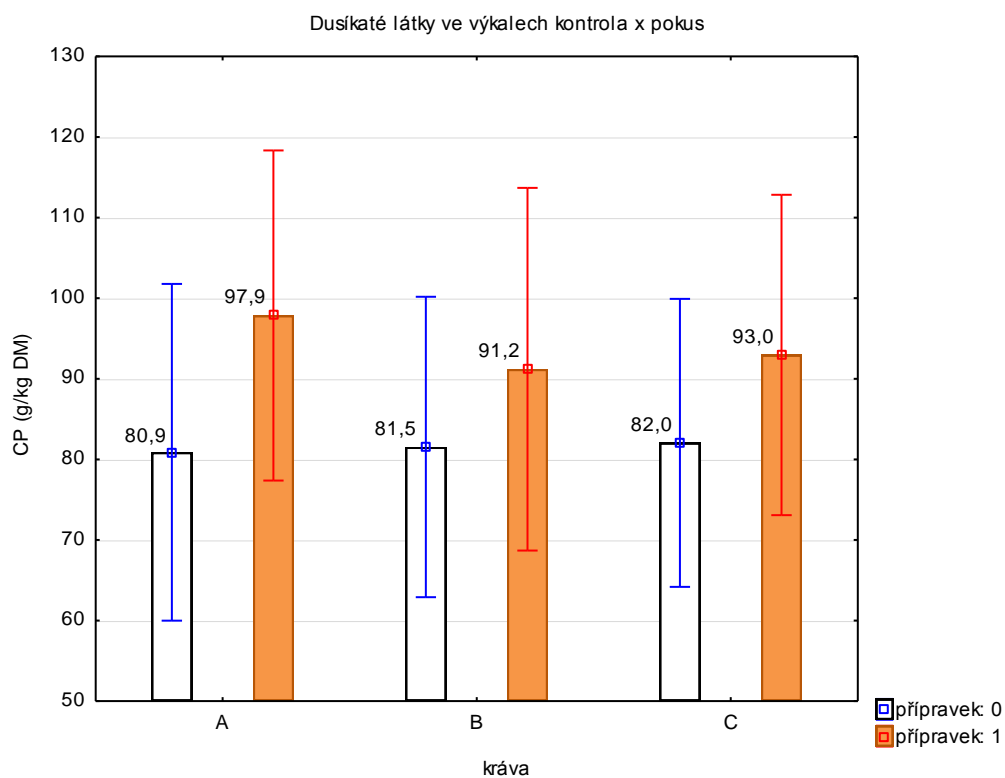
GRAF 26: Obsah těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině (mmol/l) pro P1, P2, P3



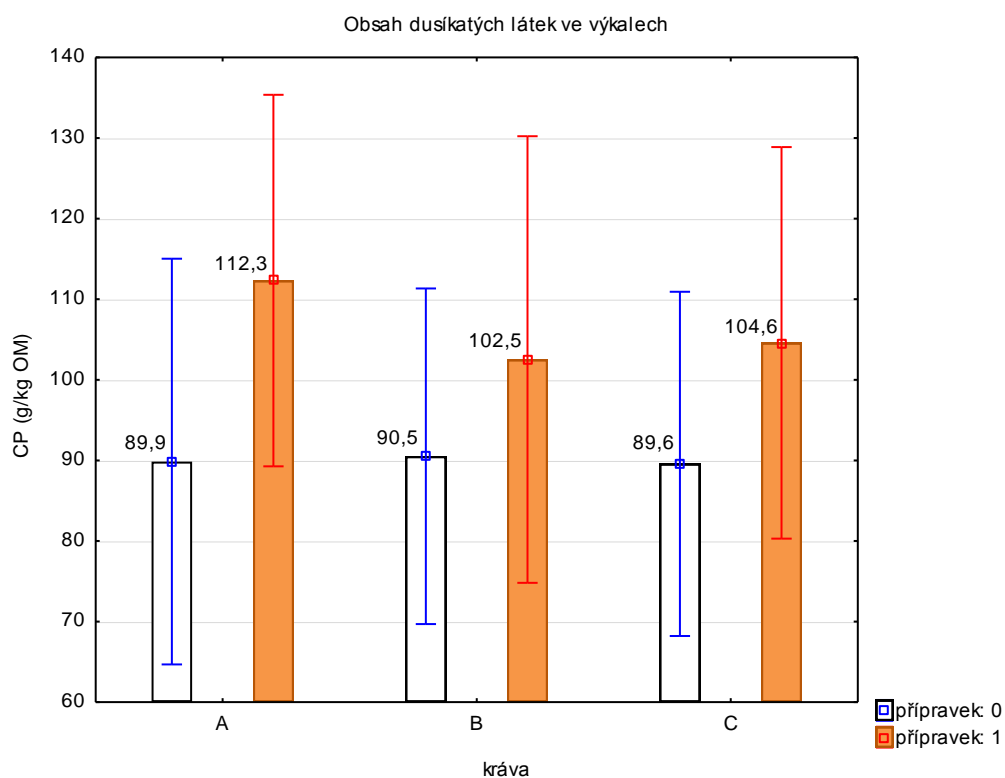
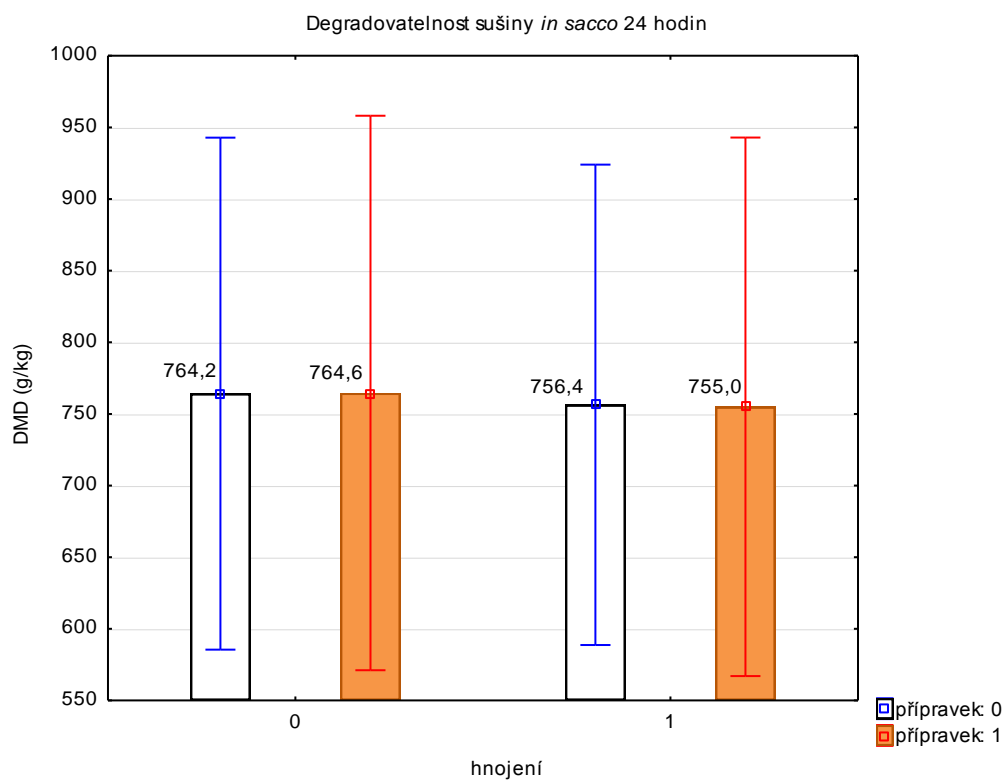
GRAF 27: Obsah dusíkatých látek v bachorové tekutině (g/kg DM) pro P1, P2, P3

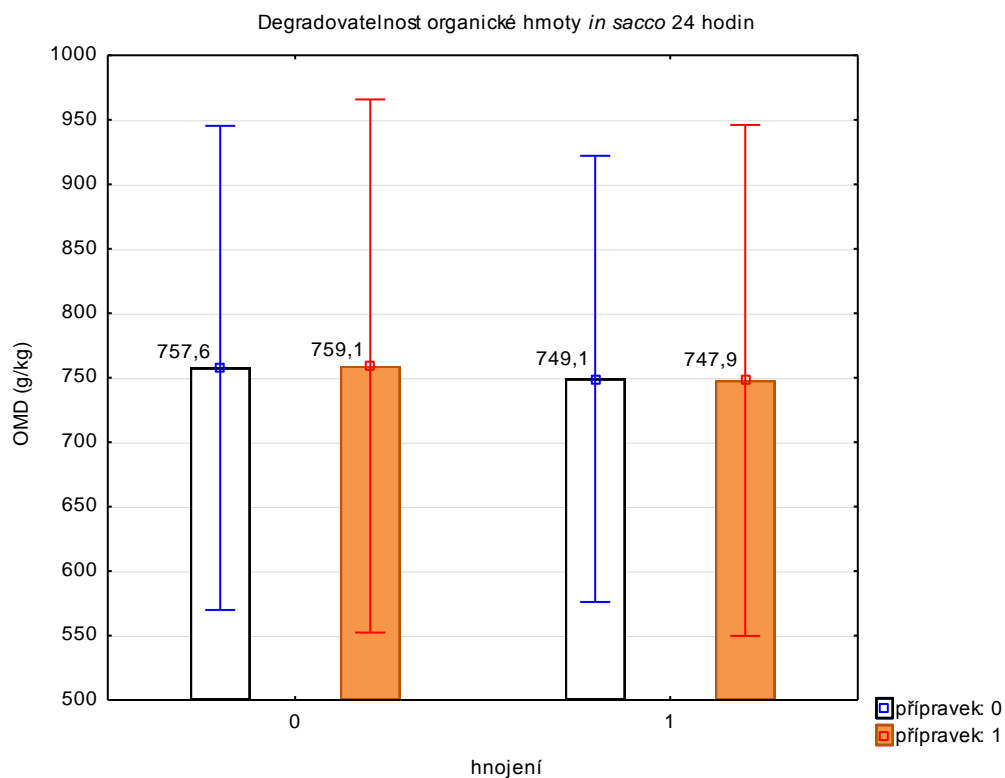
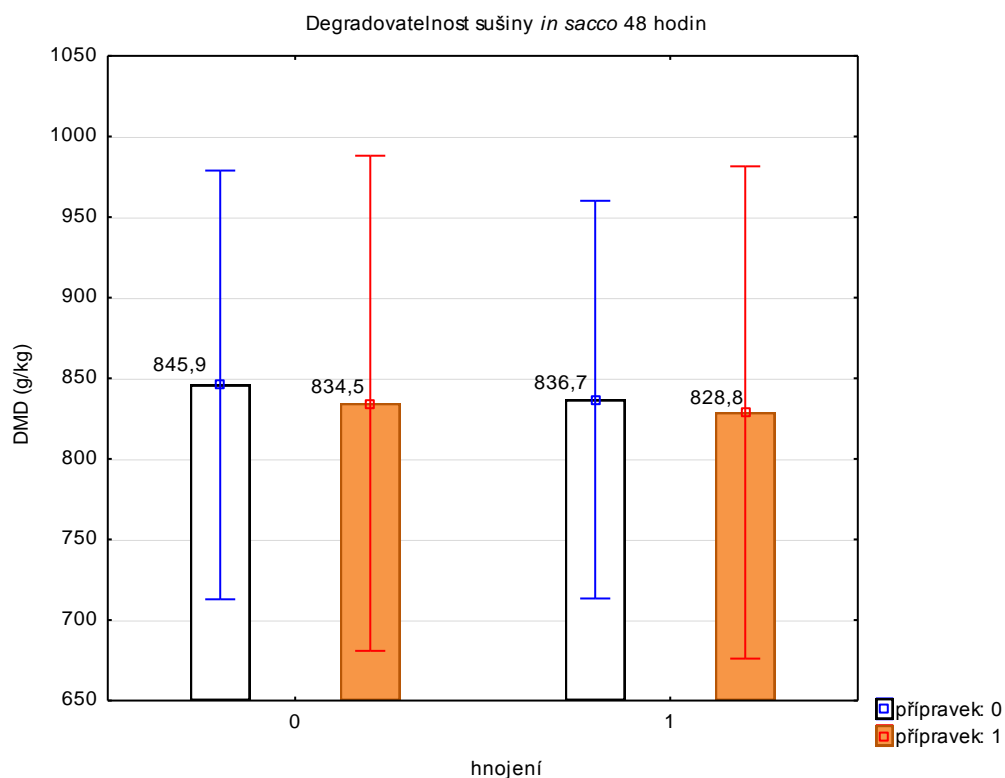


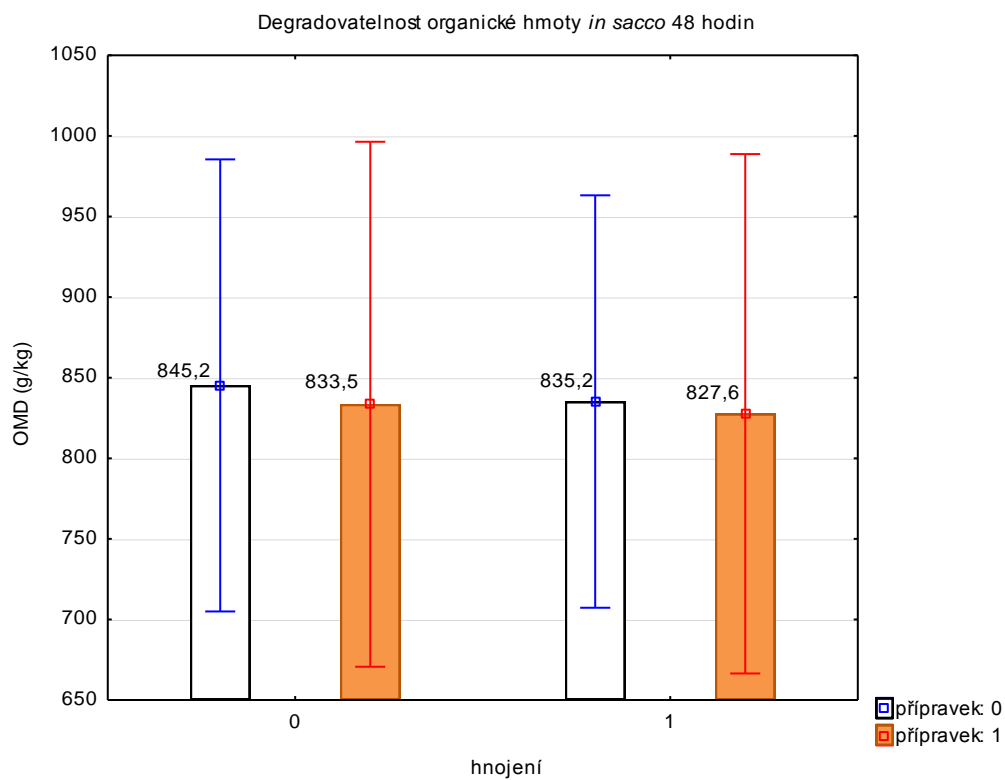
GRAF 28: Obsah dusíkatých látek ve výkalech (g/kg DM)



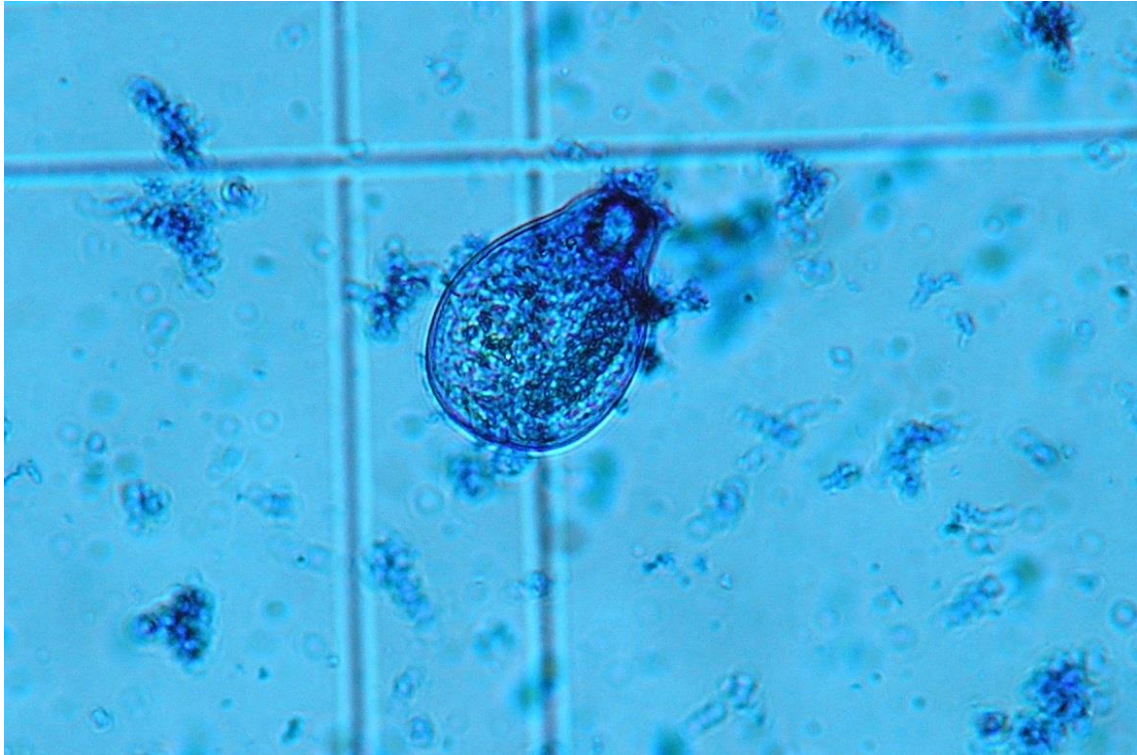
GRAF 29: Obsah dusíkatých látek ve výkalech (g/kg OM)

GRAF 30: Vliv hnojení na degradovatelnost sušiny po 24 hodinách inkubace *in sacco*

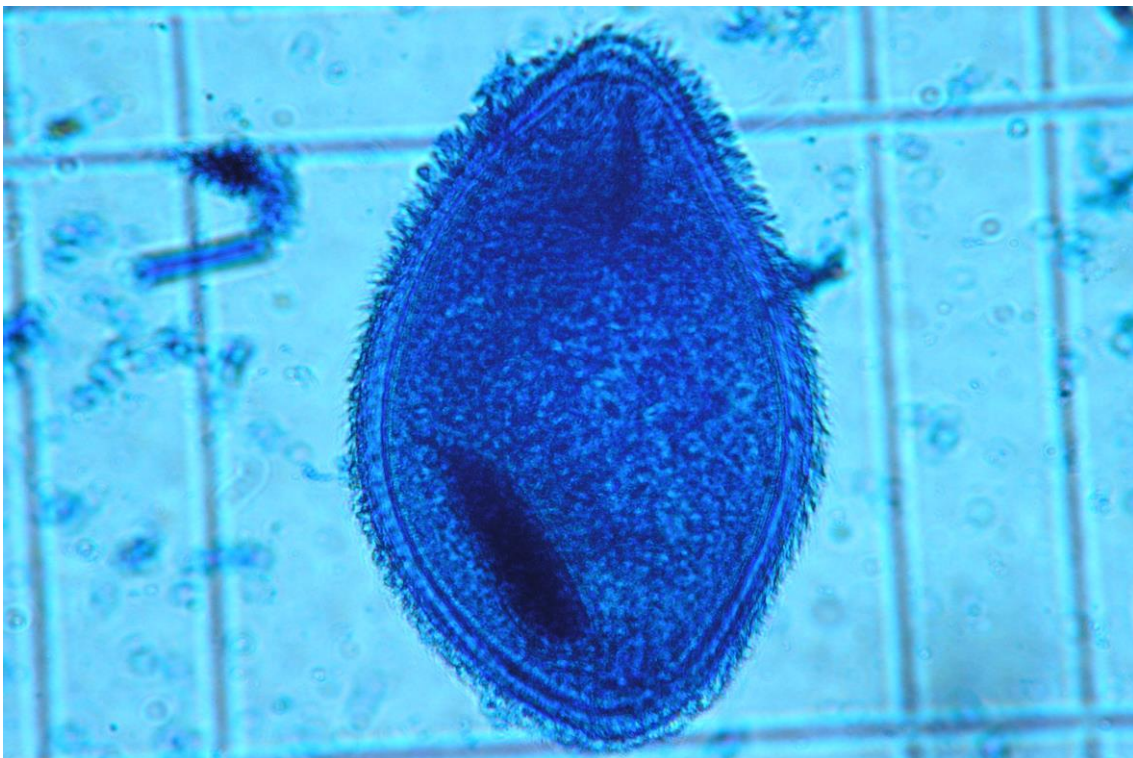
GRAF 31: Vliv hnojení na degradovatelnost organické hmoty po 24 hodinách inkubace *in sacco*GRAF 32: Vliv hnojení na degradovatelnost sušiny po 48 hodinách inkubace *in sacco*

GRAF 33: Vliv hnojení na degradovatelnost organické hmoty po 48 hodinách inkubace *in sacco*

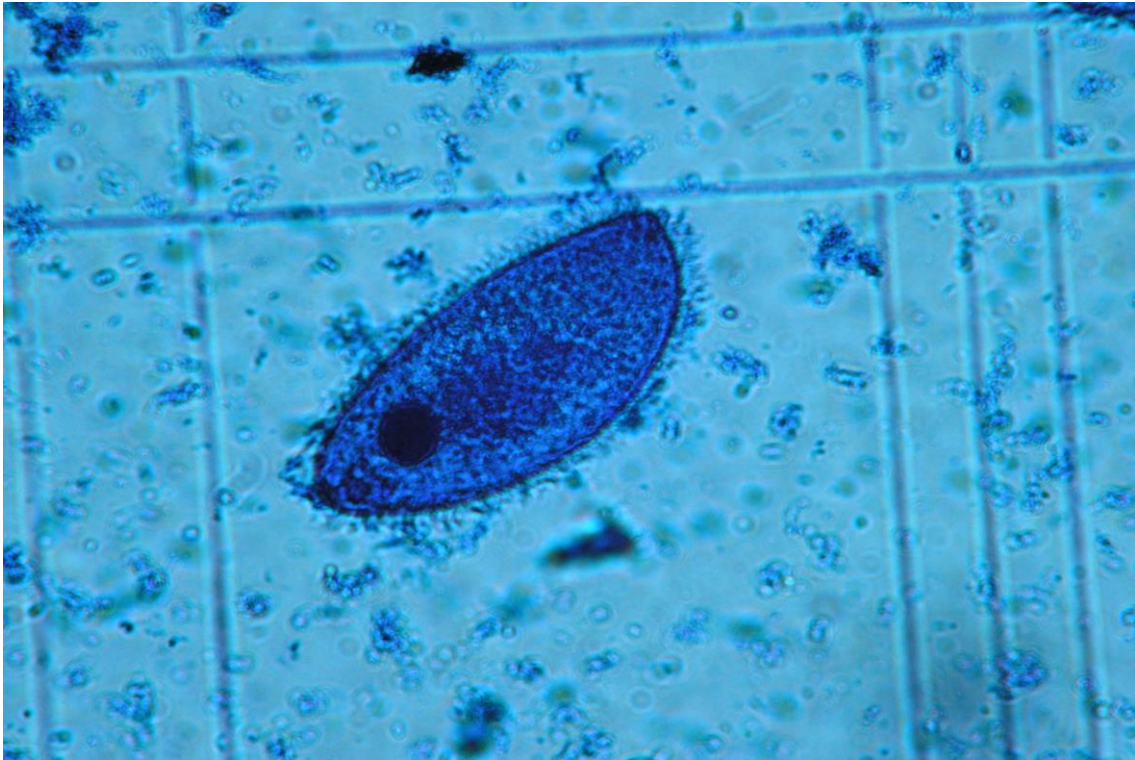
OBRÁZEK 2: *Buetschlia polymorphella bovis*



OBRÁZEK 3: *Dasytricha kabani*



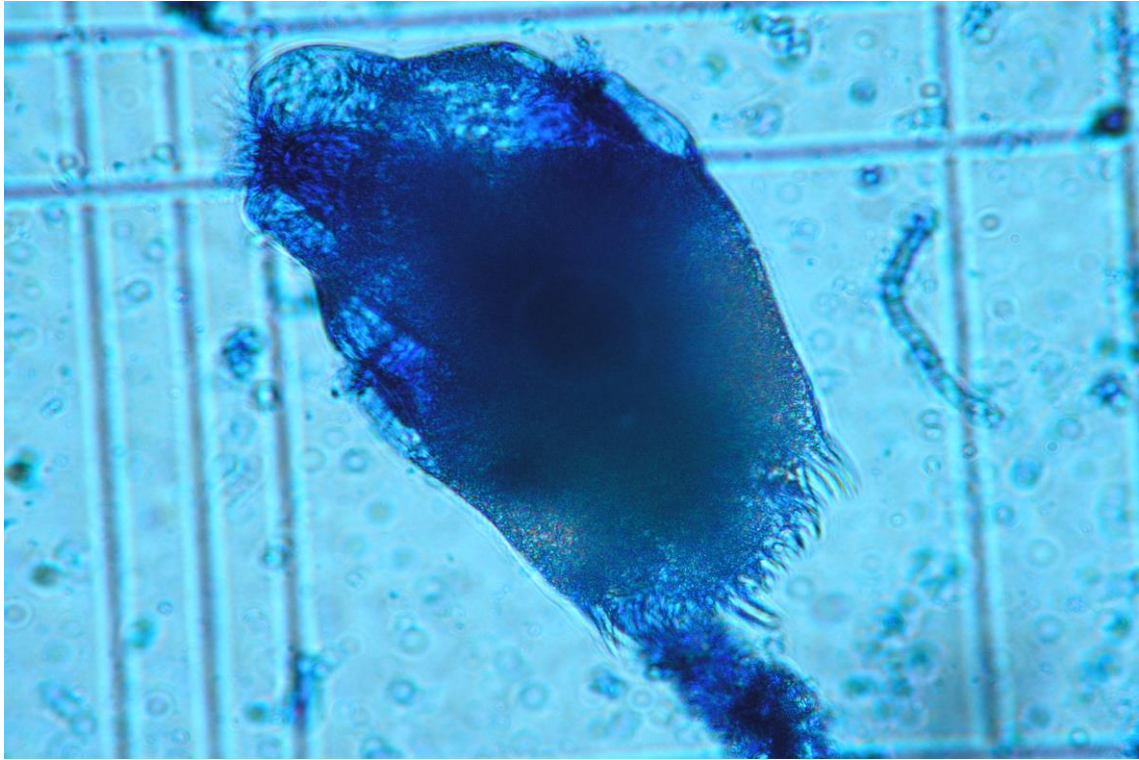
OBRÁZEK 4: *Isotricha intestinalis*



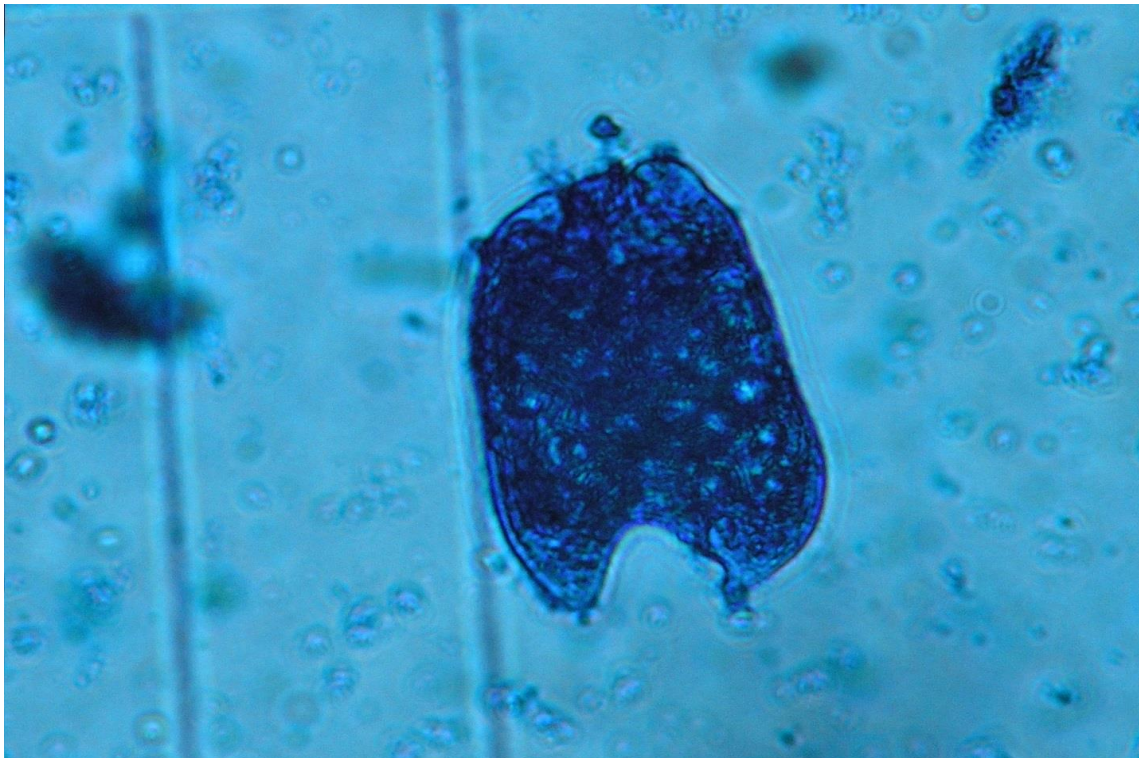
OBRÁZEK 5: *Entodinium caudatum*



OBRÁZEK 6: *Ophryoscolex purkynjie*




OBRÁZEK 7: *Ostrachodinium mamosum*



OBRÁZEK 8: Chemický rozbor přípravku Biopolym FZT

UNIVERSITÄT HOHENHEIM
LANDESANSTALT FÜR
LANDWIRTSCHAFTLICHE CHEMIE



Universität Hohenheim (710), D - 70593 Stuttgart

Schulze & Hennsen GmbH
Postfach 1133
21368 Dahlenburg

Datum: 17.10.2005
Auftrags-Nr 2005/1-00892
Ihr Zeichen: Ho/HSCH/G
Ihr Auftrag vom 30.05.2005

Untersuchungsbefund Seite 1 von 1

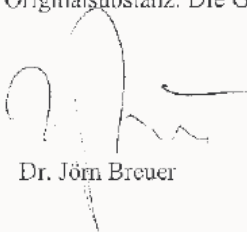
Labortagebuch-Nr.: 2005/1-S19240

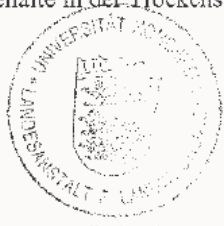
| | | | |
|----------------|--------------|--------------------|--------------------|
| Probenart: | Suspension | Probenahmedatum: | nicht bekannt |
| Bezeichnung: | Biopolym FZT | Probenehmer: | Auftraggeber |
| Eingangsdatum: | 20.05.2005 | Verpackung/Plombe: | PE-Kanister / ohne |

| Parameter | Einheit | Gehalt in der | |
|---|---------|-----------------|------------------|
| | | Trockensubstanz | Originalsubstanz |
| Trockensubstanz, 105°C (TS) | % | 100 | 5,1 |
| Kohlenstoff (C) | % | 17,1 | 0,87 |
| Stickstoff (N) | % | 0,33 | 0,017 |
| Phosphor (P ₂ O ₅) | mg/kg | 341 | 17 |
| Kalium (K ₂ O) | mg/kg | 20500 | 1050 |
| Calcium (Ca) | mg/kg | 5160 | 263 |
| Magnesium (Mg) | mg/kg | 1610 | 82 |
| Natrium (Na) | mg/kg | 231000 | 11800 |
| Zink (Zn) | mg/kg | 35 | 1,8 |
| Kupfer (Cu) | mg/kg | 7,84 | 0,40 |
| Nickel | mg/kg | <2,0 | <0,10 |
| Blei (Pb) | mg/kg | <2,0 | <0,10 |
| Chrom (Cr) | mg/kg | 1,9 | 0,10 |
| Quecksilber (Hg) | mg/kg | 0,14 | 0,007 |
| Eisen (Fe) | mg/kg | 155 | 7,9 |
| Schwefel (S) | mg/kg | 10300 | 526 |

Anmerkung: Untersucht wurde die frische Originalsubstanz. Die Gehalte in der Trockensubstanz sind berechnet.

Mit freundlichen Grüßen


Dr. Jörn Breuer



Hausanschrift:
Emil-Wolff-Str. 14
D - 70599 Stuttgart

Telefon:
Zentrale: (0711) 459 - 2671
Bodenuntersuchung: - 2672
Futtermitteluntersuchung: - 2667 u. 2668
Telefax: - 3495

Frachstation:
Deutsche Bahn
Güterabfertigung
70565 Stuttgart (Vaihingen)
Ruppmannstr. 2

9.2. Seznam vlastních publikací

Certifikované metodiky:

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., FRELICH, J., KOSTKA, M., VOSTOUPAL, B. (2012): Vliv vybrané stimulační látky na kvalitu složek kravského mléka. České Budějovice. Certifikovaná metodika. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 20s. ISBN 978-80-7394-340-0.

ČERMÁK, B., ŠOCH, M., KUBÁT, V., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ZÁBRANSKÝ, L., VOSTOUPAL, B. (2012): Možnosti využití doplňku Biopolymu v prevenci a posílení zdraví telat a vykrmovaného skotu. České Budějovice. Certifikovaná metodika. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 29s. ISBN 978-80-7394-342-4.

Publikační výstupy s IF:

ZÁBRANSKÝ, L., ŠOCH, M., BROUČEK, J., NOVÁK, P., TEIML, P., JIROTKOVÁ, D., PETRÁŠKOVÁ, E., RAABOVÁ, M., SMUTNÝ, L., SMUTNÁ, Š. (2015): Influence of selected feeding supplements on the growth and health in calves depending on sex, period of the birth, and number of mother's lactations. Acta Vet. Brno. Přijato k tisku.

Ostatní publikační výstupy:

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., KADLEC, J., LÁD, F., VOSTOUPAL, B. (2010): The Influence of the Different Levels of Crude Proteins in Feed Mixture for Pigs and Poultry and Biopolym Addition Concentrate for Farm Building Microclimate. *Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii: Scientifical Papers Animal Sciences and Biotechnologies*, 43(1), 26-28.

PETRÁŠKOVÁ, E., HNISOVÁ, J., ČERMÁK, B., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2010): The Influence of Biopolym FTZ on the Content of Nitrogen Compounds in Rumen. *Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii: Scientifical Papers Animal Sciences and Biotechnologies*, 43(1), 91-93.

HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ČERMÁK, B., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2010): The Effect of Selected Stimulating Substances on Quality Components in Cow Milk. *Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii: Scientifical Papers Animal Sciences and Biotechnologies*, 43(1), 66-67.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2011): Vliv vybrané stimulační látky na kvalitu složek kravského mléka. *Krmivářství* 2, 34-37.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2011): Influence of Chosen Stimulants on Selected Quality Ingredients of Cow's Milk and Rumen Parametres. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies: Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii*, 44(1), 19-23.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2011): Influence of Biological Agents Effects on Reduction of Ammonia Concentration in Stables of Intensive Farm Animals Breeding. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies: Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii, 44(1), 482-785.

PETRÁŠKOVÁ, E., HNISOVÁ, J., ČERMÁK, B., ŠOCH, M., FRELICH, J. (2011): The Effect of Selected Biostimulating Substance on the Degradation in the Rumen. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies: Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii, 44(1), 80-84.

HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ČERMÁK, B., ŠOCH, M., FRELICH, J. (2011): The Effect of Biostimulative Substance on Daily Milk Yield and Quality Components in Cow's Milk. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies: Lucrari Stiintifice Zootehnie si Biotehnologii, 44(1), 55-57.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., BULÍN, V., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2011): Ověření vlivu preparátu BIOPOLYM-GRANULÁT na výsledky užitkovosti vykrmovaného skotu. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2011. Praha: VÚŽV Praha, 22-24.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., KUBÁT, V., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2011): Možnosti ovlivnění výsledku užitkovosti a zdraví telat preparátem Biopolym. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2011. Praha: VÚŽV Praha, 25-27.

HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ČERMÁK, B. (2011): Vliv biostimulační látky na denní dojivost a kvalitu složek mléka. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2011. Praha: VÚŽV Praha, 42-44.

PETRÁŠKOVÁ, E., HNISOVÁ, J., ČERMÁK, B. (2011): Vliv vybrané biostimulační látky na degradaci krmiv v bachoru. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2011. Praha: VÚŽV Praha, 76-77.

KUBÁT, V., PETRÁŠKOVÁ, E., JANČÍK, F., ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., LÁD, F., HOMOLKA, P. (2011): Ovlivnění fermentačních procesů jetelových siláží mořskou řasou v praxi. Krmivářství 6, 12-15.

KUBÁT, V., PETRÁŠKOVÁ, E., JANČÍK, F., ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., HOMOLKA, P., LÁD, F. (2011): Ovlivnění fermentačních procesů jetelových siláží přípravkem Biopolym. In Jak dál ve výuce "Výživa a krmení zvířat". Praha: ČZU, 131-137.

PETRÁŠKOVÁ, E., HNISOVÁ, J., ČERMÁK, B., KOZELKOVÁ, J., KECSEIOVÁ, K. (2012): The Effect of Biopolym FZT on the Degradation of Feed in the Rumen. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, 45(1), 73-76.

HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ČERMÁK, B., KOZELKOVÁ, J., KECSEIOVÁ, K. (2012): The Effect of Stimulative Substance on the Content of Components in Cow's Milk and the Number of Ciliates in Rumen Fluid. *Lucrari Stiintifice Zootehnie si biotehnologii: Scientifical Papers Animal Sciences and Biotechnologies*, 45(2), 162-165.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., BULÍN, V., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B. (2012): The Influence of Biopolym-Granulate on Performance of Fattening Cattle. *Lucrari Stiintifice Zootehnie si biotehnologii: Scientifical Papers Animal Sciences and Biotechnologies*, 45(2), 38-40.

KECSEIOVÁ, K., KOZELKOVÁ, J., VOLFOVÁ, K., ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., PODSEDNÍČEK, M. (2012): Comparison of Pasture Vegetation in LFA Areas. *Lucrari Stiintifice Zootehnie si biotehnologii: Scientifical Papers Animal Sciences and Biotechnologies*, 45(1), 397-399.

LÁD, F., HANETŠLÉGROVÁ, P., KADLEC, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ČERMÁK, B. (2012): Posouzení kvality travních siláží v provozních podmínkách. *Krmivářství* 5, 23-25.

KUBÁT, V., PETRÁŠKOVÁ, E., JANČÍK, F., ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., HOMOLKA, P., LÁD, F. (2012): The effect of different preparations for the quality parameters of clover silages. In *Animal physiology*. Lednice, 109-114.

KUBÁT, V., PETRÁŠKOVÁ, E., JANČÍK, f., ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., HOMOLKA, P., LÁD, F., KOHOUTOVÁ, H. (2012): The effect of preparation BIOPOLYM on fermentation processes of red clover silages. In *Book of Abstracts of the 63rd Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Bratislava: Výzkumný ústav ekonomiky pol'nohospodárstva a potravinárstva, 165.

VOLFOVÁ, K., FRELICH, J., ČERMÁK, B., PETRÁŠKOVÁ, E., KOBES, M. (2012): Kvalitativní parametry pastevních porostů v různých nadmořských výškách. In *Nové poznatky v lukařství a pastvinářství*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 40-45.

KUBÁT, V., PETRÁŠKOVÁ, E., JANČÍK, F., ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., HOMOLKA, P., LÁD, F. Silages of red clover – the effect of different preparations for the quality parameters in 1st and 2nd cut. In *NutriNET 2012*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 115-120.

PETRÁŠKOVÁ, E., PEJCHOVÁ, K., VAZDOVÁ, P., ČERMÁK, B., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M. (2013): Vliv přípravku Biopolym FZT na bachorovou degradaci krmiv. In *X. Kábrtovy dietetické dny*. Brno: Tribun EU, 222-227.

VAZDOVÁ, P., LÁD, F., KŘÍŽ, P., HAVELKA, Z., ŠPATENKA, P., PEJCHOVÁ, K., PETRÁŠKOVÁ, E., NÁVARA, D., INGVORTOVÁ, M. (2013): Vliv nízkoteplotního plazmatického výboje na nutriční hodnoty zrnin. In *X. Kábrtovy dietetické dny*. Brno: Tribun EU, 209-212.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B., TUCU, D. (2013): Possibilities of influencing the results on performance and health of calves with biopolym preparat. Abstract book of the Conference INTEGRATED SYSTEMS FOR AGRI-FOOD PRODUCTION - SISTEME INTEGRATE DE PRODUCTIE SIPA 2013.

INGVORTOVÁ, M., ČERMÁK, B., PEJCHOVÁ, K., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., ZÁBRANSKÝ, L., ŠIMKOVÁ, A., ŠVEJDOVÁ, K., MNERIE, D. (2013): Effects of flaxseed supplementation to lactating goats on milk fatty acid content. Abstract book of the Conference Integrated systems for agri-food production - sisteme integrate de productie SIPA 2013.

PETRÁŠKOVÁ, E., PEJCHOVÁ, K., VAZDOVÁ, P., ČERMÁK, B., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M., ZÁBRANSKÝ, L., NÁVARA, D., PROCHÁZKOVÁ, M. (2013): Využití přípravku biopolym ve výživě polygastrů. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2013. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby Praha, 55-57.

INGVORTOVÁ, M., CERRUTO, G., GORI, A., CABONI, M., PETRÁŠKOVÁ, E., PEJCHOVÁ, K., VAZDOVÁ, P., ČERMÁK, B., LÁD, F., NÁVARA, D. (2013): Vliv teplotního stresu na obsah tuku a zastoupení mastných kyselin v parmezánu v regionu Emilia Romagna. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2013. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby Praha, 22-24.

ZÁBRANSKÝ, L., ŠOCH, M., PAZDERKOVÁ, L., ŠIMKOVÁ, A., ŠVEJDOVÁ, K., PETRÁŠKOVÁ, E. (2013): Vliv probiotik a homeopatik na výskyt kokcií v trávicím traktu kuřat. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2013. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby Praha, 104-105.

PEJCHOVÁ, K., ČERMÁK, B., LÁD, F., KOBES, M., INGVORTOVÁ, M., PETRÁŠKOVÁ, E., NÁVARA, D., VAZDOVÁ, P., JÍLKOVÁ, L. (2013): Vliv nadmořské výšky na kvalitu pastevního porostu. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2013. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby Praha, 52-54.

VAZDOVÁ, P., PEJCHOVÁ, K., LÁD, F., NÁVARA, D., INGVORTOVÁ, M., PETRÁŠKOVÁ, E. (2013): Vliv ošetření nízkoteplotním plazmatickým výbojem na stravitelnost zrnin. In Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2013. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby Praha, 98-100.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., PEJCHOVÁ, K., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B., TUCU, D. (2013): Possibilities of influencing the results on performance and health of calves with biopolym preparat. Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology (print), XVII, 2, 29-36.

ČERMÁK, B., HNISOVÁ, J., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., VOSTOUPAL, B., TUCU, D. (2013): Possibilities of influencing the results on performance and health of calves with biopolym preparat. Abstract book of the Conference Integrated systems for agri-food production SIPA 2013.

ČERMÁK, B., HNIŠOVÁ, J., MARTÍNKOVÁ, L., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., ZÁBRANSKÝ, L., MARŠÁLEK, M. (2014): Influence of Biopolym Granulat Effects on Reduction of Ammonia Concentration in Stables of Intensive Farm Animals Breeding. *Scientific Papers Animal Science And Biotechnologies*, 47(2), 13-15.

HNIŠOVÁ, J., ČERMÁK, B., PETRÁŠKOVÁ, E., ŠOCH, M., ZÁBRANSKÝ, L., MARŠÁLEK, M. (2014): The Effect of Biopolym Granulat on Quality Components in Cow Milk. *Scientific Papers Animal Science And Biotechnologies*, 47(2), 16-17.

PETRÁŠKOVÁ, E., PEJCHOVÁ, K., VAZDOVÁ, P., ČERMÁK, B., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M., ZÁBRANSKÝ, L., NÁVARA, D., PROCHÁZKOVÁ, M. (2014): Vliv hydrolyzátu mořské řasy *ascophyllum nodosum* na stravitelnost živin v bachoru. In *Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2014*. Brno: ČHMU Brno, 67-69.

PETRÁŠKOVÁ, E., INGVORTOVÁ, M., VAZDOVÁ, P., PEJCHOVÁ, K. (2014): Vliv hydrolyzátu mořské řasy *Ascophyllum nodosum* na bachorovou fermentaci. In *Zootechnika 2014*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 136-143.

PEJCHOVÁ, K., ČERMÁK, B., VAZDOVÁ, P., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M., PETRÁŠKOVÁ, E. (2014): Vliv četnosti pasení na obsah živin v porostu. In *Zootechnika 2014*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 152-160.

PEJCHOVÁ, K., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M., VAZDOVÁ, P., VOLFOVÁ, K., PETRÁŠKOVÁ, E. (2014): Vliv četnosti pasení na obsah živin v pastevních porostech v lokalitách s různou nadmořskou výškou. In *Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2014*. Brno: ČHMU Brno, 64-66.

VAZDOVÁ, P., PEJCHOVÁ, K., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M., PETRÁŠKOVÁ, E., HAVELKA, Z., VOLFOVÁ, K. (2014): Vliv nízkoteplotního plazmatického výboje na obsah aminokyselin v zrninách. In *Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2014*. Brno: ČHMU Brno, 107-108.

VAZDOVÁ, P., PEJCHOVÁ, K., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M., PETRÁŠKOVÁ, E., HAVELKA, Z., KRÍŽ, P., VOLFOVÁ, K., NOVOTNÁ, M. (2014): Effect of low-temperature plasma discharge on the protein composition of grains. In *Lazarove dni výživy a veterinárnej dietetiky XI*. Košice: UVMF Košice, 32-35.

VAZDOVÁ, P., PEJCHOVÁ, K., LÁD, F., INGVORTOVÁ, M., PETRÁŠKOVÁ, E., HAVELKA, Z., VOLFOVÁ, K. (2014): Vliv nízkoteplotního plazmového výboje na bílkovinné složení zrn. In *Zootechnika 2014*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 162-171.

ZÁBRANSKÝ, L., ŠOCH, M., ŠÍP, P., ŠIMKOVÁ, A., ŠVEJDOVÁ, K., ČERMÁK, B., PETRÁŠKOVÁ, E., MARŠÁLEK, M. (2014): Influence of selected feeding supplements on

the occurrence of coccidias in digestive tract of pheasants. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 47(2), 347-351.

INGVORTOVÁ, M., ČERMÁK, B., KRÁL, V., LÁD, F., PEJCHOVÁ, K., PETRÁŠKOVÁ, E., VAZDOVÁ, P. (2014): Vliv přídatku lněného semene na obsah mastných kyseliny v mléce koz. In *Zootecnika 2014*. České Budějovice: JU ZF České Budějovice, 144-150.

INGVORTOVÁ, M., LÁD, F., PEJCHOVÁ, K., VAZDOVÁ, P., PETRÁŠKOVÁ, E., VOLFOVÁ, K. (2014): Vliv přídatku lněného semene na obsah polynenasycených mastných kyselin v mléce koz chovaných na farmě v LFA oblasti. In *Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2014*. Brno: VÚŽV Praha, 30-32.