

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Využití huminových látek ve výživě přežvýkavců
Bakalářská práce**

**Semen Stepanov
Živočišná produkce**

Ing. Vladimír Plachý, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci na téma "Využití huminových látek ve výživě přežvýkavců" vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou v textu citovány a uvedeny v seznamu literatury. Jako autor uvedené práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2022

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Vladimíru Plachému, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný přístup, užitečné rady, poskytnutou literaturu a možnost psát závěrečnou práci právě pod jeho vedením.

Využití huminových látek ve výživě přežvýkavců

Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývá studiem huminových látek (HL), jejich strukturou, základními vlastnostmi, využitím ve výživě skotu a malých přežvýkavců. Byla provedena sumarizace informací ohledně používání těchto látek, včetně podrobného rozboru a analýzy studií realizovaných po celém světě v posledních takřka 20 letech. Na jejich základě byly učiněny závěry týkající se vyhlídek a možností dalšího využití zmíněných látek v zootechnice.

Tuto práci lze rozdělit na tři části.

V první části byla analyzována základní teorie, do níž spadají hlavní přírodní zdroje a produkce huminových látek, jejich chemická struktura a klasifikace huminových látek. Rovněž byla provedena samostatná analýza funkcí a základních vlastností humin, fulvokyselin a humusu.

Druhá část bakalářské práce byla zaměřena na data z nejnovějších výzkumů v zootechnice, která se zabývala využíváním HL v chovu různých hospodářských zvířat, a to konkrétně prasat, skotu a malých přežvýkavců. Rozvedeno bylo také používání rašeliny v chovu zvířat, vliv na biochemické a hematologické charakteristiky, ochranné a antivirové vlastnosti HL.

Ve třetí části bakalářské práce byla provedena analýza vědeckých článků a nedávných studií o používání huminových látek ve výživě přežvýkavců.

Huminové látky mají na organismus hospodářských zvířat (skotu a drobných přežvýkavců) zásadní vliv, jelikož ovlivňují produkci mléka, reprodukci, bachorovou fermentaci, stravitelnost a produkci metanu.

Klíčová slova: huminové látky, huminové kyseliny, výživa, výživa přežvýkavců, skot

Use of humic substances in ruminant nutrition

Summary

This bachelor thesis deals with the study of humic substances, their structure, basic properties, the use of humic substances in the nutrition of cattle and small ruminants. Information on the use of these substances has been summarized and detailed analysis and analysis of studies carried out in the last almost 20 years around the world has been carried out. Based on them, conclusions were drawn regarding the prospects and possibilities of further use of these substances in zootechnics.

This work can be divided into three parts.

In the first part, the basic theory was analyzed and these are the main natural sources and production of humic substances, their chemical structure, classification of humic substances. A separate analysis of the functions and basic properties of humin, fulvic acids and humus was also performed.

The second part of the bachelor thesis was focused on data from the latest research in zootechnics on the use of humic substances in the breeding of various livestock, and actually pigs, cattle and small ruminants. Use of peat in animal husbandry, influence on biochemical and hematological characteristics, protective and antiviral properties of HL.

In the third part of the bachelor thesis, an analysis of scientific articles and recent studies on the use of humic substances in ruminant nutrition was performed.

Humic substances have a great effect on the organism of livestock, in fact cattle and small ruminants, humic substances affect milk production, reproduction, rumen fermentation, digestibility and methane production.

Keywords: humic substances, humic acids, nutrition, nutrition of ruminants, cattle

Obsah

1	Úvod	9
2	Cíl práce.....	10
3	Literární rešerše.....	11
3.1	Definice a klasifikace huminových látek	11
3.1.1	Přírodní zdroje, syntéza a výroba huminových látek.....	12
3.1.2	Chemická struktura a klasifikace huminových látek	12
3.1.2.1	Humínové kyseliny	13
3.1.2.2	Fulvokyseliny	13
3.1.2.3	Huminy.....	15
3.1.3	Vlastnosti a funkce huminových látek	15
3.2	Využití huminových látek u přežvýkavců.....	17
3.2.1	Používání rašeliny v chovu	18
3.2.2	Vliv huminových látek na biochemické a hematologické parametry	19
3.2.3	Ochranné a antivirové vlastnosti huminových látek.....	22
3.2.4	Humínové látky při aktivaci imunitního systému.....	22
3.2.5	Stimulace růstu a zvýšení produkce.....	23
3.2.6	Vliv huminových látek na fermentaci bacheru a produkci metanu	24
3.2.7	Působení huminových kyselin na mléčnou užitkovost skotu	26
3.2.8	Vliv humátů na reprodukci dojníc	27
3.2.9	Působení huminových kyselin na kozy.....	28
3.2.10	Působení huminových kyselin na ovce	28
3.2.11	Použití huminových kyselin a mineralů.....	29
4	Závěr	31
5	Literatura.....	32
6	Seznam použitých zkratk a symbolů	37

1 Úvod

Historie objevu huminových látek sahá do počátku 18. století. První výsledky výzkumů v této oblasti jsou spojeny s prací Franze Karla Acharda, který navrhl metody izolace huminových látek z hnědého uhlí (působením alkalického roztoku na půdu a rašelinu získal tmavě hnědý roztok). O deset let později Louis Nicolas Vauquelin izoloval podobnou látku z kmene starého jilmu. Thomas Thomson v roce 1807 pojmenoval tuto látku ulmin (z *ulmus* – jilm). Velkou pozornost huminovým látkám věnoval švédský chemik Jöns Jakob Berzelius, který v souladu s možnostmi dané doby ve své knize „Učebnice chemie“ („Lehrbuch der Chemie“, 1839) podrobně popsal složení a původ těchto sloučenin. Věnoval se i podrobnému popisu jejich interakce s kationty kovů.

Huminové látky (HL) hrají významnou roli při udržování tepelné rovnováhy planety a plní důležité funkce v ekosystému. HL vznikají v procesu humifikace jako produkt odolný vůči účinkům různých organismů. HL a jejich organominerální sloučeniny jsou dlouhodobým zásobníkem atmosférického CO₂ a hlavním zásobníkem organického uhlíku v biosféře.

V současné době probíhají práce na studiu humusového stavu půd a jejich změn pod vlivem různých faktorů, struktury, vlastností, mechanismů vzniku a transformace konkrétních HL, procesů interakce HL a minerálních složek. Centrem pozornosti jsou i jejich role v biochemických cyklech a jsou studovány vlastnosti přípravků HL a jejich praktické použití v chovu zvířat a medicíně.

2 Cíl práce

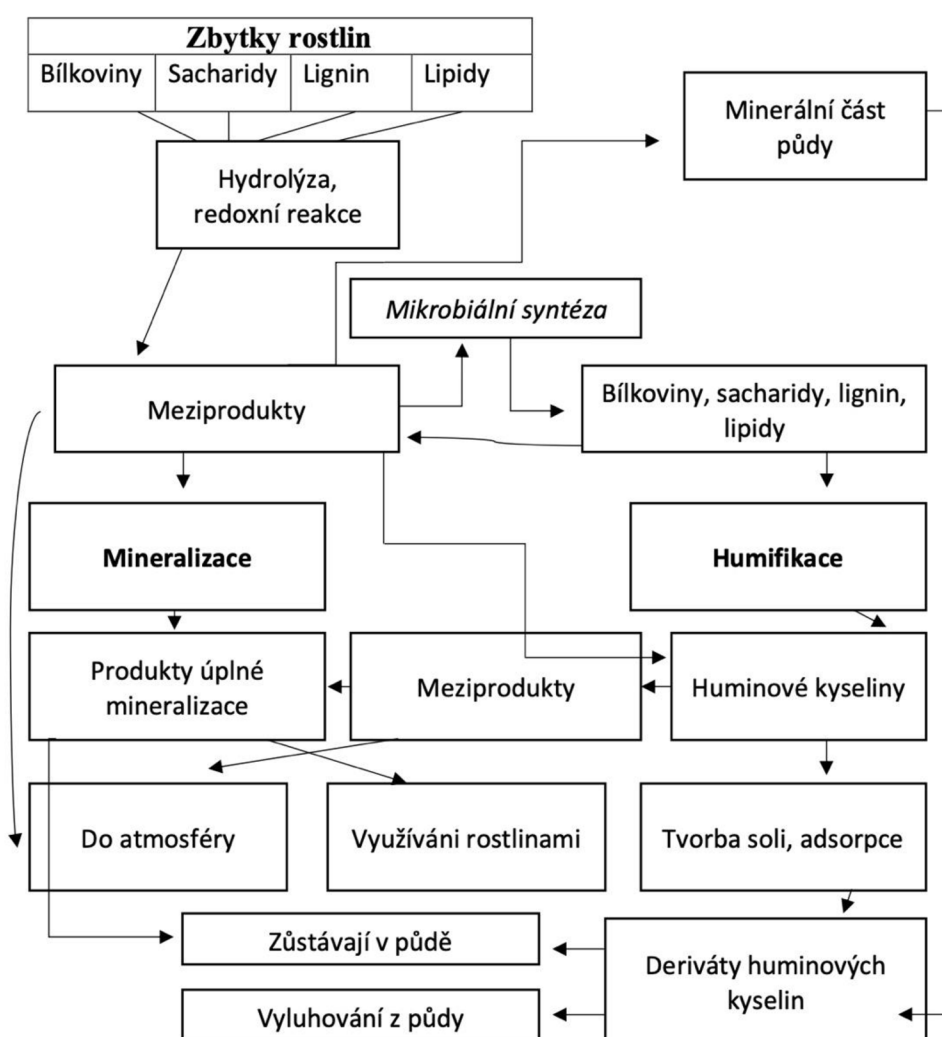
Cílem práce je sumarizace informací ohledně využívání huminových látek ve výživě přežvýkavců.

3 Literární rešerše

3.1 Definice a klasifikace huminových látek

Huminové látky, dříve nazývané „gelbstoff“ nebo žluté sloučeniny, jsou koncovými produkty rozkladu organické hmoty v mořské vodě, sladké vodě a půdě. HL jsou heterogenní směsi, které se přirozeně vyskytují v organických materiálech (MacCarthy et al. 1990). Kromě toho se termín „huminové látky“ používá jako obecný výraz k popisu barevného amorfního materiálu v humusu, který je směsí ze živočichů, zbytku rostlin a mikrobů smíchaných s minerálním podílem půdy (Tab.1).

Tab.1 Tvorba huminových látek



Dostupné z MacCarthy et al. 1990

Huminové látky se dělí na huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy. Tato klasifikace je založena na rozdílu ve způsobu extrakce těchto sloučenin různými rozpouštědly. Huminové kyseliny jsou rozpustné v alkalických roztocích, fulvokyseliny v alkalických a kyselých roztocích, huminy naopak nejsou rozpustné v alkalických a kyselých roztocích.

Huminové látky se pro vědce staly obzvláště atraktivní ve druhé polovině 20. století. Poprvé tyto látky izoloval již zmíněný německý vědec Franz Karl Achard, a to konkrétně v roce 1786. V 19. století se klasičtí chemici ve svých studiích hojně zabývali huminy, huminovými, crenovými a apocrenovými kyselinami (ty se nyní nazývají fulvokyseliny) (Janos 2009).

3.1.1 Přírodní zdroje, syntéza a výroba huminových látek

Tyto látky vznikají rozkladem rostlinných a živočišných zbytků v prostředí. Již dlouho je uznáváno, že HL mají pozitivní účinek na půdu, a tedy i na růst rostlin.

Obecně se věří, že HL se postupně integrují do sedimentů a stávají se kerogenem nebo ropnými břidlicemi, pravděpodobně jsou největší zásobárnou uhlíku na Zemi. Huminové látky jsou součástí organické hmoty. Například v minerálních půdách podíl HL činí až 80–90 %, v rašelinách do 50 %, v mořské vodě do 20 % a ve vodě řek a jezer 60–85 %. Huminové látky jsou nejpřirozenější a termodynamicky nejstabilnější formou ochrany organických látek v biosféře. Kromě toho byly látky podobné huminovým nalezeny v hnědých řasách *Pilayella littoralis* a u měkkýše (*Mytilus*). Z environmentálního hlediska zabírají HL centrální místo ve složení organické hmoty půd, je to jedna z hlavních vazeb fungování systémů životního prostředí (MacCarthy et al. 1990).

Přírodním zdrojem s velkou koncentrací huminových látek, humin a fulvokyselin je leonardit a lignit. Jedná se o přírodní látku, která je měkká, tmavě zbarvená a má hnědou až černou barvu. Leonardit se od měkkého hnědého uhlí liší tím, že jako palivo nemá žádnou hodnotu. Proces rozkladu organických kyselin, koncentrovaných ve velkých množstvích, je velmi dlouhý a v přírodním prostředí trvá miliony let.

Po objevení huminových látek na počátku 20. století začalo docházet k výrobě prvních huminových přísad z leonarditu (Domínguez-Negrete A. et al. 2019).

Jedno z prvních známých ložisek leonarditu bylo v Dakotě (pojmenované po americkém geologovi Arthurovi Leonardovi). Od té doby je termín leonardit široce používán pro všechny minerály obsahující huminové a fulvové kyseliny. Ve státě Nové Mexiko (USA) bylo nedávno objeveno ložisko s vysokou koncentrací organické kyseliny obsažené v oxidovaném hnědém uhlí. Tyto vrstvy (nebo ložiska) se přirozeně tvoří velmi blízko povrchu zemské kůry. Proto během posledních několika tisíciletí oxidovaly. Tento přirozený proces vedl ke zvýšení obsahu huminových kyselin až o 70 %.

Kromě přírodních zdrojů huminových látek jsou k dispozici různé huminové přísady, které se vyrábí v laboratoři a používají se ke zlepšení metabolických procesů a produkce přežvýkavců (Grigorieva E. 2020).

Například I. Muniraj a kol. (2021) zkoumali mechanismus syntézy HL z kokosových vláken pomocí tyrosinázy produkované *Bacillus aryabhatai TFG5*. Bakterie *TFG5*, izolovaná z termitové zahrady, produkovala během 48 hodin fermentace tyrosinázu. V důsledku toho vědci potvrdili vliv tyrosinázy na efektivní syntézu HL z odpadu z kokosových vláken.

3.1.2 Chemická struktura a klasifikace huminových látek

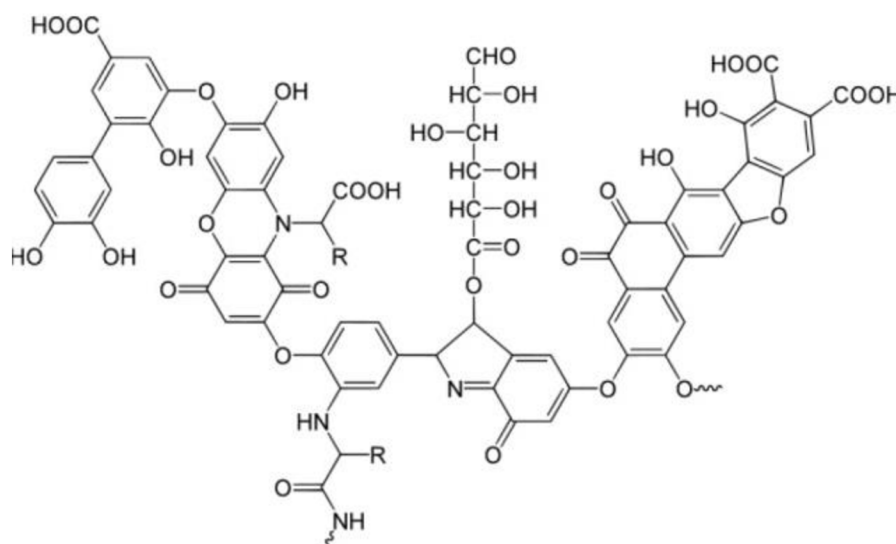
Tato klasifikace je založena na rozdílu ve způsobu extrakce těchto sloučenin různými rozpouštědly. Huminové kyseliny jsou rozpustné v alkalických roztocích, fulvokyseliny

v alkalických a kyselých roztocích, huminy jsou nerozpustné v alkalických a kyselých roztocích.

3.1.2.1 Huminové kyseliny

HK jsou tedy komplexní směsí vysokomolekulárních přírodních organických sloučenin vznikajících při rozkladu mrtvých rostlin a jejich následné humifikaci (biochemická transformace rozkladných produktů organických zbytků na humus za účasti mikroorganismů, vody a kyslíku) (Obr. 1.1) (Islam KMS a kol. 2005).

Z hlediska chemické struktury je to molekula s dlouhým řetězcem s vysokou molekulovou hmotností, tmavě hnědé barvy, rozpustná v alkalickém roztoku (Degirmencioglu 2012). Poměr vodíku a uhlíku 1:1 ukazuje významný stupeň aromatického charakteru (přítomnost benzenových kruhů ve struktuře), zatímco nízký poměr kyslíku a uhlíku ukazuje, že HK jsou méně kyselé než kyselina fulvová a další kyselé organický polymery, které lze získat z humusu. Kovy, jako je Fe^{3+} nebo Pb^{2+} , a také další sloučeniny s aromatickými nebo hydrofobními chemickými strukturami (například organické pesticidy nebo antropogenní uhlovodíky) s huminovou kyselinou dobře reagují.



Obr. 1.1 Chemická struktura huminových kyselin

dostupné z <https://sisdeagro.com/limon-tahiti/revision-sobre-el-uso-de-los-acidos-humicos-en-cultivo-de-citricos-y-limon-tahiti/>

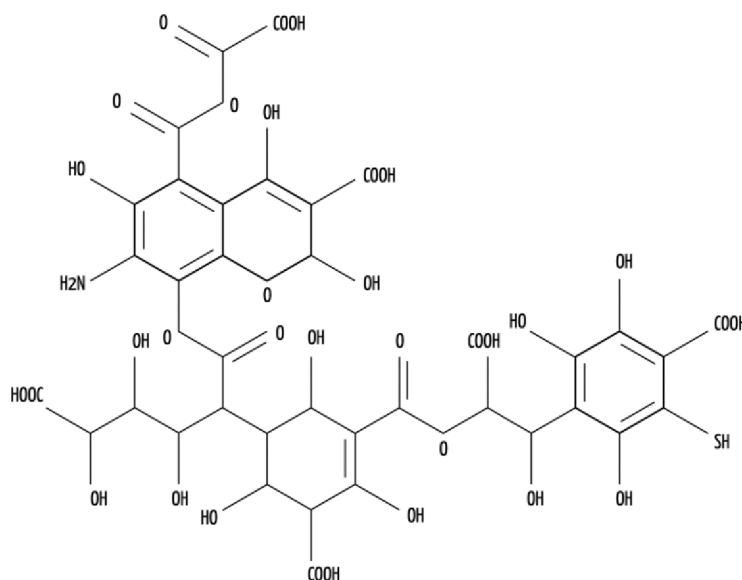
Poprvé byly huminové kyseliny izolovány z rašeliny zásaditým roztokem ve druhé polovině 18. století. Od té doby jsou zásadními činidly pro extrakci huminových kyselin z bioinertních přírodních látek alkalické roztoky, ačkoli A. G. Trusov se domníval, že alkalické roztoky nemají pro extrakci dostatečnou selektivitu (Popov 2004).

3.1.2.2 Fulvokyseliny

Fulvokyseliny (FK) jsou skupinou přirozeně se vyskytujících organických látek. FK mají složitou molekulární strukturu (obr. 1.2). Jsou to složky humusu, součást organické

hmoty půdy. Po desorpci mohou být FK snadno disociovány na řadu frakcí, které se liší složením a molekulovou hmotností.

Původem a některými vlastnostmi jsou FK podobné HK. Název fulvokyselin pochází z latinského slova „*fulvus*“ – „žlutý“, a označuje barvu látky. Předpokládá se, že fulvokyseliny vznikají jako produkt mikrobiálního metabolismu: tyto látky vznikají v extrémně malých množstvích vlivem milionů prospěšných mikrobusů během rozkladu rostlinných složek v půdě.



Obr. 1.2 Struktura molekuly fulvových kyselin

dostupné z <https://cs.weblogographic.com/what-is-difference-between-humic>

FK jsou méně aromatické (počet benzenových jader v molekule) a kyselější (poměr kyslíku k uhlíku) ve srovnání s jinými přírodními polymery v humusu. Díky svým vlastnostem ve vodných roztocích FK snadno zadržují kovové ionty a vytvářejí silné komplexy s Fe^{3+} , Al^{3+} a Cu^{3+} (Rice et al. 1991).

Studie ukazují, že HK se výrazně liší od FK v obsahu C, N, O a poměrů H/C. FK se od humin liší obsahem C a O. Byly také stanoveny rozdíly mezi huminovými kyselinami izolovanými ze sladkovodního, mořského a půdního prostředí. Podobně byly zjištěny významné rozdíly mezi fulvokyselinami ze sladkovodních a půdních zdrojů. Pozemské a sladkovodní HL obvykle obsahují rozpoznatelný lignin, ale mořské HL nikoli. Mořské a suchozemské HL se navíc liší izotopovým složením (Popov 2004).

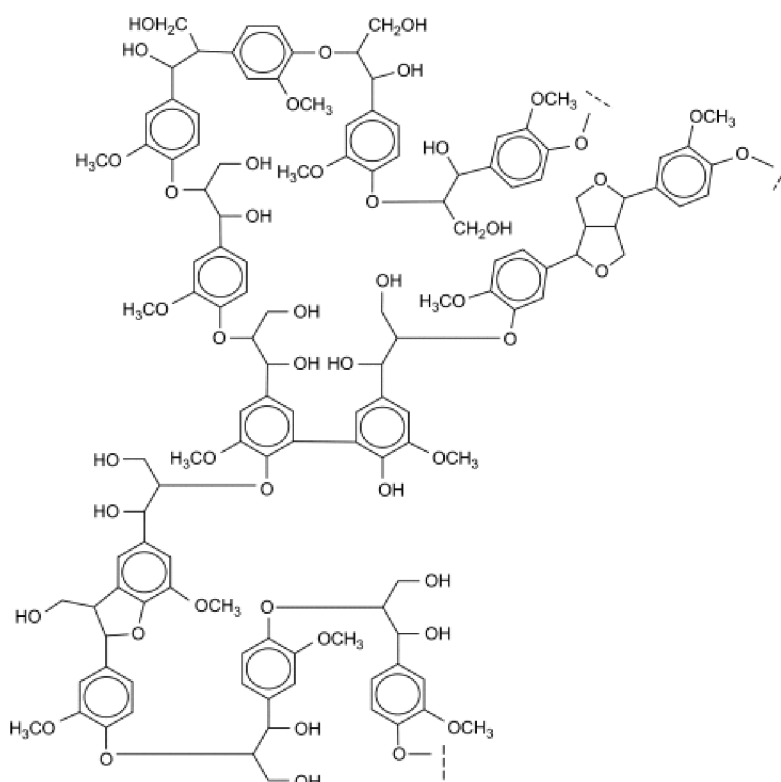
Zajímavým faktem je, že huminové kyseliny a fulvokyseliny je prakticky nemožné syntetizovat kvůli složité struktuře jejich molekul. Nicméně v dnešní době už probíhá množství studií, které se zabývají syntézou HK, FK a podobných látek (Nasir et al. 2011; Yang et al. 2014).

Většina chemických vlastností huminových látek vzniká díky přítomnosti nehuminových složek, které nelze zcela oddělit (Hayes et al. 2001). V tomto ohledu je humus rozdělen do dvou skupin: na nehuminové a huminové látky (Kumada. 1965). Současně se zlepšují metody separace takových látek – existuje množství nástrojů rozšiřujících znalosti, které se týkají složení a aspektů těchto struktur (Hayes et al. 2001).

3.1.2.3 Huminy

Pojem humus (humin, humáty) (obr. 1.3) zahrnuje směs materiálů, které jsou nerozpustné ve vodních systémech a obsahují nehumínové složky, jako jsou uhlovodíky s dlouhým řetězcem, estery, kyseliny, a dokonce relativně polární mikrobiální struktury, jako jsou polysacharidy a glomalin (výživá se jako indikátor kvality půdní organické hmoty), které lze spojit za vzniku nepolárních částí půdy a minerálů, jakož i rostlinných složek, jež jsou vysoce odolné vůči rozkladu (Hayes et al. 2001).

Dle názoru F. J. Stevenson (1982) jsou huminy zásaditou nerozpustnou frakcí půdní organické hmoty nebo humusu. Aiken a kol. (1985) ve svých studiích tvrdí, že humin je frakce HL, která je nerozpustná ve vodě při jakékoli hodnotě pH.



Obr. 1.3 Chemická struktura huminů

dostupné z <https://cs.weblogographic.com/what-is-difference-between-humic>

Humus je dostupná surovina, kterou lze použít v zemědělství a chovu zvířat jako humátový nápoj nebo suché krmivo, slouží jako zdroj minerálních a organických látek ke stimulaci růstu. Odedávna se používá jako lidový lék na různé nemoci. V Evropě jsou humáty považovány za stimulatory růstu a vznikají z rozložených rostlin pomocí živých bakterií v půdě (Galip et al. 2010).

3.1.3 Vlastnosti a funkce huminových látek

Huminové látky jsou komplexní přírodní a vysoce molekulární sloučeniny, které mohou být charakterizovány pouze pomocí komplexu fyzikálně-chemických a fyzikálních metod. Jako polymerní sloučeniny představují huminové látky velmi různorodé kombinace organických

molekul (sacharidy, aminokyseliny a mastné kyseliny) a jsou vysoce odolné vůči mikrobiální degradaci.

HL obsahují uhlíku 40–60 %, kyslíku 30–50 %, vodíku 3–7 % a dusíku 1 až 5 % (poměr na bezvodou látku). Složení huminových kyselin se od některých jednotlivých organických sloučenin významně liší. Odchytky v elementárním složení huminových kyselin jsou vysvětleny tím, že příliš závisí na půdním typu, chemickém složení rostlinných zbytků a podmínkách humifikace, protože HK jsou skupinou chemických sloučenin, které jsou podobné jen ve složení a vlastnostech.

V HL získaných z různých objektů může být různé množství dusíku. Současně je většina dusíku koncentrována v aminokyselinách a 1–10 % v monosacharidech. Významný podíl celkového množství dusíku je součástí různých půd. Tyto sloučeniny zřejmě nejsou ani proteinové a ani sacharidové povahy a nejsou amoniakem.

V popelu huminových kyselin je téměř vždy detekována síra, fosfor, křemík, železo a hliník, stejně jako některé další prvky. Funkční skupiny huminových kyselin určují rozmanitost těchto sloučenin. Kyselost je dána přítomností kyselých funkčních skupin, nejdůležitějšími jsou fenol hydroxylové (OH) a karboxylové (COOH) (Trckova 2005).

Huminové kyseliny jsou polyfunkční polyelektrolyty. Molekulové hmotnosti HL se pohybují od několika stovek do milionů daltonů (Perminova at al. 2009). Chromatografické analýzy ukázaly, že molekulová hmotnost HL je primárně ovlivněna jejich zdrojem (sladká voda, půda, rašelina a uhlí) a v průměru to je kolem 300 000 g·mol⁻¹ (Trckova 2005).

Z biologického hlediska byly HL tradičně považovány za nepřístupné pro asimilaci kvůli jejich vysoké molekulové hmotnosti a strukturální složitosti. Pozdější studie těchto organických sloučenin však ukázaly, že nejsou tak žáruvzdorné, jak se myslelo (Perminova at al. 2009).

S ohledem na velký počet funkčních skupin jsou HL schopny proniknout téměř do všech biotických struktur a zúčastnit se biochemického cyklu probíhajícího v živých organizmech. V těle jsou metabolizovány jako xenobiotické chemikálie a vyvolávají mnoho nespécifických i specifických reakcí, od stresových, například v reakci na indukci proteinů tepelného šoku, až po účinky podobné herbicidům na primární producenty. HL navíc mohou měnit aktivitu membránově vázaných pump pro chemikálie, což ovlivňuje biokoncentraci xenobiotik a těžkých kovů (Steinberg et al. 2011).

Huminové sloučeniny, jakožto hlavní složka půdní organické hmoty, jsou široce studovány v různých oblastech zemědělství – chemie půdy, fyziologie rostlin a zvířat, zootechnika. Tyto látky hrají důležitou roli v koloběhu znečišťujících látek v životním prostředí a také významně přispívají ke zlepšení globálního stavu úrodnosti půdy. Tyto vlastnosti spolu s hlavní poptávkou po bezpečných potravinách a udržitelném zemědělství přispěly ke zvýšení ekologického významu huminových látek, které jsou v poslední době uznávány jako možný nástroj pro řešení ekologických problémů (Trevisan at al. 2008).

V dnešní době poskytují o funkci huminových látek moderní technologie čím dál více informací, které jsou založeny na: stabilizaci půdních agregátů, sekvestraci (vázáni) antropogenních organických chemikálií a sekvestraci uhlíku z atmosférického CO₂. Tato schopnost vysvětluje, proč některé půdy zadržují více uhlíku než jiné a proč se složení a struktura huminových látek v některých půdách liší od těch v jiných (Hayes at al. 2001).

Kromě toho byl určen vliv huminových kyselin na bioenergetický systém rostlinného organismu, včetně jejich fytohormonálního účinku. Zvýšení energetických zásob podporuje aktivaci syntézy proteinů, což je hlavní stavební materiál. Pod vlivem huminových látek se mění obsah některých živin v rostlinných buňkách, což může přispět k aktivaci mnoha enzymatických systémů. Tyto změny vytvářejí podmínky pro zvýšení odolnosti rostlin v extrémních podmínkách, jejich fotosyntetické schopnosti.

Z toho vyplývá, že HL přispívají k:

- zvýšení výnosu zemědělských plodin;
- zvýšení podobnosti a vitality klíčivosti semen;
- posílení tvorby kořenů a metabolismu v rostlinách, absorpci a asimilaci prvků minerální výživy;
- zvýšení aktivity nitrát reductázy a v důsledku toho zvýšení odolnosti rostlin vůči chorobám, mrazu a suchu (Islam at al. 2005).

HL hrají klíčovou roli v několika biogeochemických cyklech, a to díky své schopnosti přenášet elektrony během mnoha abiotických a mikrobiálních transformací. Vědci Valenzuela a kol. navrhli, že HL mohou zprostředkovat anaerobní oxidaci metanu (AOM) v kombinaci se snížením obsahu oxidu dusného (N_2O) v rašelinných sedimentech. Výzkum vědců poskytuje několik důkazů poukazujících na souvislost mezi redukcí AOM a N_2O prostřednictvím extracelulárního mechanismu přenosu elektronů zprostředkovaného redoxními funkčními skupinami v huminových látkách.

Výsledky studie Valenzuely a kol. (2009) naznačují, že HL mohou hrát důležitou roli v prevenci emisí skleníkových plynů (CH_4 a N_2O) z rašelinných sedimentů.

Jak vidíte, huminové a fulvokyseliny jsou hlavními extrahovatelnými složkami půdy, které se používají hlavně ke zvýšení úrodnosti půdy a ke zvýšení absorpce živin rostlinami.

Důležitým faktem je, že HL jsou široce používány nejen v agronomii a pěstování rostlin, ale také v chovu zvířat, o kterém budu diskutovat níže.

3.2 Využití huminových látek u přežvýkavců

Vědci dokázali, že u HL probíhá antimikrobiální aktivita a že mají absorpční a detoxikační vlastnosti. V půdě HL podporují růst mikrobů, došlo se tedy k závěru, že podobný účinek mohou mít v bacheru a že mohou zvýšit mikrobiální aktivitu a zlepšit fermentaci (Terry at al. 2018).

Už mnoho let se proto odborníci na výživu a mikrobiologové zajímají o správu bacherového mikrobiálního ekosystému s cílem zlepšit produkci domácích přežvýkavců. Kvůli rostoucím obavám z používání antibiotik a dalších stimulatorů růstu v odvětví krmiv pro zvířata se za posledních 10–20 let zvýšil zájem o vliv mikrobiálních doplňkových látek na krmivo. Koncept používání humátů jako alternativní doplňkové látky v krmivech je stále důležitější, zejména po zákazu používání antibiotik v krmivech jako stimulatorů růstu (Galip et al. 2010).

Chov hospodářských zvířat je znám jako hlavní přispěvatel ke globální produkci skleníkových plynů. CH_4 je nejen skleníkový plyn, ale také představuje ztrátu 2–12 % veškeré spotřebované energie. Existuje mnoho strategií pro snížení emisí CH_4 u přežvýkavců a používání krmných přísad je stále považováno za jednu z nejslibnějších metod v intenzivních výrobních systémech (Terry at al. 2018).

Stepchenko (2006) prokázal, že zařazení biologicky aktivních doplňkových látek huminové povahy do krmiv stimuluje metabolické procesy a stravitelnost živin, podporuje ukládání dusíku, aktivuje asimilaci vápníku a fosforu a některých dalších minerálních prvků.

Níže se podíváme na výzkum vědců v těchto záležitostech.

Analýza literatury ukázala, že HL jsou široce používány v zemědělství, v průmyslu, veterinární medicíně, farmakologii a zootechnice, protože mají různorodé spektrum pozitivních účinků na živočišný organismus a na životní prostředí.

Mechanismus účinku huminových látek na živočišný organismus byl studován v laboratorních a výrobních podmínkách. S. A. Visser (1972) proto zkoumal distribuci celkové značené huminové kyseliny v organismu potkana, kterému byla podána intraperitoneálně nebo s pitnou vodou. Bez ohledu na způsob požití byly stopy zjištěny téměř ve všech orgánech, metabolitech a exkretech zvířat, což naznačuje, že kyselina huminová se dostala do tkání zvířat a byla metabolizována. Stejný autor při pokusech s izolovanými kousky jater zjistil, že přítomnost kyseliny huminové urychluje metabolismus D-glukózy, L-leucinu a uridinu značených uhlíkem. V modelových pokusech s izolovanými kousky tenkého střeva také prokázal, že kyselina huminová zlepšuje průchod anorganických iontů střevní stěnou. Všechny tyto skutečnosti umožnily Visserovi učinit závěr o možnosti průchodu huminových kyselin buněčnými membránami a jejich metabolismu v živočišném organismu (Bezuglova & Zinchenko 2016).

3.2.1 Používání rašeliny v chovu

Například v zemědělských stájích se jako podestýlka často používá rašelina, která obsahuje značné procento huminových látek. Struktura rašeliny má příznivý vliv na prevenci odřenin na končetinách zvířat.

Rašelina díky svým absorpčním vlastnostem snižuje tvorbu pachů ve stájích a také různých znečišťujících látek.

Vysoký obsah huminových látek v rašelině a také absence nepříznivých účinků (alergie, zdravotní potíže dýchacích cest, prašnost) umožňují použití rašeliny při krmení zvířat.

Rašelinové přípravky chrání vysoce citlivé sliznice trávicího traktu, žaludku a střev, zejména u mladých hospodářských zvířat.

Rašelina se proto obvykle používá jako přísada do krmiva pro selata k prevenci průjmu. Kvůli nízkému pH (od 3,0 do 5,5) způsobují HL rašeliny pokles pH střeva zvířete s následným omezením růstu patogenních bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*.

Preventivní experimenty byly prováděny na dvoudenních telatech s průjmem, která dostávala rašelinu v dávkách 200 g / den, dispergovanou v mléce po dobu 16 dnů. V důsledku toho bylo prokázáno, že HK mají příznivý účinek na zkrácení doby trvání průjmu a snížení úmrtnosti.

Kyselina huminová se také používá k léčbě poruch trávení a průjmu u koček a psů (Trckova 2005).

Bylo pozorováno zlepšení vstřebávání živin a účinnost jejich transformace při použití HL. Fulvokyseliny přítomné v rašelině mohou vytvářet chelátové komplexy s minerálními prvky s následnou změnou jejich elektrického náboje, což umožňuje zvířeti rychle absorbovat

živiny. A huminové kyseliny zvyšují propustnost buněčných membrán, a tím usnadňují přenos minerálů z krve do buněk (Trckova 2005).

Kyseliny huminové a fulvové mohou také tvořit chelátové komplexy s řadou toxických látek (těžké kovy, jako je olovo, rtuť, kadmium, chrom; toxiny produkované patogenními bakteriemi, plísněmi, pesticidy atd.). Tak se projevuje detoxikační schopnost huminových látek. Na rozdíl od chelátových komplexů s minerálními látkami však mají neutrální náboj, jsou nerozpustné a jejich asimilace organismy je obtížná. V souladu s tím jsou vylučovány střevy a nejsou ukládány v těle, a proto potom nemají na tělo škodlivý účinek (Trckova 2005).

3.2.2 Vliv huminových látek na biochemické a hematologické parametry

Je důležité se zmínit o vlivu HL na biochemické a hematologické parametry. Studie ukázaly, že přidání krmiva s 1,0 % humátu do krmné směsi masných plemen slepic vedlo k významnému snížení tloušťky břišní tukové vrstvy, což naznačuje zlepšení metabolismu lipidů. Ačkoli nižší koncentrace humátu (0,5 %) v krmné směsi takový účinek nevykazovala (Trckova 2005).

Bylo zjištěno, že kyselina huminová působí jako expandér, zvyšuje propustnost buněčné stěny, což v konečném důsledku zlepšuje přenos minerálů z krve do kostí a buněk (Trckova 2005).

Výzkumníci Tunç a Yörük (2012) dokázali, že diety doplněné humátem 0,0, 0,1, 0,2 a 0,4 % významně snížily hladinu cholesterolu a LDL u ovcí

Výsledkem posledních studií bylo zjištěno, že HK pozitivně působí na mléčnou užitkovost u koz, že produkce mléka se zvýšila se zvýšením dávky huminových kyselin z 11g na 3 g/kg živé hmotnosti v krmné směsi. Co je důležité je to, že kvalita a složení mléka se nezměnily. Kromě toho byla hladina cholesterolu v krevním séru v experimentálních skupinách o 22–24 mg / dl ($P < 0,05$) nižší než v kontrolní skupině, a nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v hladině glukózy, celkového proteinu a triacylglycerolu (Lubimova et al. 2020).

K. Kim a kol. (2013) ohdali, že kombinované použití huminových kyselin (2 %) a prášku z borůvkových listů (0,2 %) snížilo hladinu cholesterolu v krvi selat z 86,6 mg/dl (kontrola) na 74,8 mg/dl ($P < 0,01$). HK navíc spolu s borůvkovými listy zlepšovaly imunitní systém. Použití HK jak samostatně, tak společně s borůvkovými listy v této studii také ovlivnilo kvalitu masa: zvýšila se jeho šťavnatost, zvýraznila se chuť. Huminové látky zlepšují růstovou výkonnost prasat a pomáhají snižovat vylučování amoniaku z hnoje. Toto by mohlo být využito i v chovu malých a velkých přežvýkavců.

Ratnykh O. A. (2018) ve své studii zjistil, že huminové látky snižují závažnost cytolyzy hepatocytů, přispívají k normalizaci stavu alkalické rezervy, metabolismu bílkovin, sacharidů, lipidů, vitamínů a minerálů a funkčního stavu jater, mají pozitivní vliv na klinický stav zvířat, stimulují růst. Podle jeho názoru je optimální terapeutická dávka humátu draselného pro hepatózu u skotu 10 mg/kg tělesné hmotnosti a má se aplikovat po dobu 30 dnů.

G. Griban a kol. (2008) studovali hematologické parametry krve během profylaktického užívání propolisu a hydrohumátu. Jimi odhalené změny v leukoformuli (lymfocytóza, posun neutrofilního jádra doleva) ukazují na účinnost zkoumaných imunomodulátorů při akutních zánětlivých procesech, zejména při akutní endometritidě. Současně byl v prenatálním období

zaznamenán pozitivní vliv na počet lymfocytů zapojených do imunitní odpovědi při využívání propolisových přípravků a v poporodním období při současném použití propolisu a hydrohumátu.

Kromě zlepšení metabolismu lipidů HL zlepšují metabolismus bílkovin, minerálů a také posilují ochranné a adaptační schopnosti zvířat. Celková koncentrace bílkovin v krevním séru u brojlerových kuřat krmených humátem sodným se na konci období krmení zvyšuje o 8–10 % – v bederních svalech a hrudníku o 6 %, respektive o 10 % (Trckova 2005).

B. G. Efimov a E. A. Efimova (2008) provedli studii vlivu hydrohumátu, minerálních solí, mikroprvků a jejich kombinace na ukazatele metabolismu bílkovin u telat. Výsledky jejich experimentu ukázaly, že nebyl žádný významný rozdíl mezi celkovou koncentrací bílkovin v krevním séru u kontrolních zvířat a telat, která dostávala hydrohumátový nebo polyminerální doplněk. Jejich kombinované působení vedlo ke snížení obsahu albuminu o 10,1 % ($P < 0,001$). Koncentrace nebílkovinných dusíkatých látek klesla v krevním séru telat všech experimentálních skupin vlivem dusíku močoviny. Zejména jeho hladina pod vlivem hydrohumátu a minerálních látek klesla ve vztahu ke kontrole o 10,4 % ($P < 0,01$ a jejich kombinovaným působením – o 22 % ($P < 0,001$). Vliv pouze hydrohumátu na aktivitu enzymů v krevním séru byl nevýznamný. V důsledku toho vědci došli k závěru, že kombinované použití hydrohumátu a mikroelementů v krmné dávce telat způsobuje nárůst anabolických procesů, stimuluje energetické procesy a zlepšuje funkční stav jater.

Efimov a Rakitniansky (2008) studovali vliv huminu a hydrohumátu na energetické a metabolické procesy u krav v období laktace při přirozeném nedostatku mikroelementů v krmné dávce. Experiment byl proveden na holštýnských kravách po 2–3 oteleních v první polovině laktace. Byly vytvořeny dvě skupiny krav, v každé 20 zvířat, která byla chována ve stejných podmínkách. Krávy kontrolní skupiny dostaly standardní krmnou dávku, ale s nedostatkem mědi (55,35 mg), kobaltu (4,52 mg) a jódu (4,97 mg), a experimentální po dobu 30 dnů požívaly hydrohumát (50 mg/kg živé hmotnosti). Výsledky jejich experimentu ukázaly, že použití hydrohumátu při nedostatku mědi, kobaltu a jódu vedlo k nevýznamnému snížení frekvence respiračních pohybů a minutového objemu ventilace plic. Současně se zvýšila relativní ventilace plic o 8,3 %, bylo zaznamenáno prohloubení dýchání (o 15,5 %). Studie vlivu hydrohumátu na stav erythropoézy ukazuje na nárůst počtu erytrocytů o 9,4 % a na tendenci zvyšování hladiny hemoglobinu. Pod vlivem hydrohumátu v těle krav se zvyšuje hladina nespecifické rezistence, což je indikováno zvýšením hladiny γ -globulinů v krevním séru o 21,3 %, zatímco hladina celkových bílkovin se zvyšuje pouze o 8,2 %. Zlepšení funkčního stavu jater je také indikováno poklesem sérové aktivity asparagové transaminázy, která je hlavním transaminačním enzymem u skotu, o 9,4 %. Mezi ukazateli metabolismu lipidů u krav pod vlivem hydrohumátu je třeba odlišit zvýšení obsahu β -lipoproteinů v krevním séru o 18,7 %. Při hodnocení změn metabolismu a energie u krav v průběhu laktací vědci zaznamenali nedostatečně výrazný účinek hydrohumátu. Podle jejich názoru je důvodem nedostatek stopových prvků v krmné dávce, což vede k nedostatečné účinnosti léku.

Chumak S. V. (2010) studoval vlastnosti dávkové formy „licking blocks“, využití biologicky aktivních sloučenin na základě huminových látek ke zlepšení metabolických procesů u ovcí. Ve svém experimentu při vytváření „licking blocks“ výzkumník použil přísadu „humilid“, která obsahovala 10 % huminových kyselin. V průběhu studie bylo zjištěno, že účinek dávkové formy huminových kyselin na přežvykavce je pozitivní.

Dávková forma huminových látek vedla při konzumaci ovcemi ke snížení poškození buněčných membrán ve stresu, urychlila regeneraci, pozitivně působila na metabolismus, zvířata byla méně citlivá na negativní vlivy vnějšího prostředí.

Stav zvířat byl hodnocen z následujících údajů: tělesná teplota, srdeční frekvence, dechová frekvence a smrštění bachoru, a byla provedena kultivační biologická zkouška na přítomnost *Trepky velké* (Chumak 2010).

V průběhu studií v oblasti účinku používání hydrohumátu a oxyhumátu v chovu prasat bylo zjištěno, že použití hydrohumátu zvyšuje obsah celkových bílkovin v krevním séru, alfa-globulinů, beta-lipoproteinů, způsobuje tendenci k nárůstu gama globulinů. A bylo zjištěno, že při užívání hydrohumátu a oxyhumátu buď klesá, nebo se zvyšuje průměrný denní přírůstek (Chumak 2008).

Tým vědců z Běloruska zjistil, že aplikace huminového přípravku "Humosil" do krmné dávky krav zvýšila obsah hemoglobinu o 5,5 %, erytrocytů o 6,6 %, alkalických rezerv o 5,2 %, z čehož autoři usuzují, že se aktivují metabolické procesy v organismu. Obsah celkového proteinu v krevním séru, který odráží zásobení organismu živinami a plastickými látkami, se u krav krmených huminovým přípravkem zvýšil o 7,7 %. Současně se zvýšilo množství albuminu a gama-globulinu o 8,3 %, což zvýšilo ochranné schopnosti u zvířat experimentální skupiny. V důsledku toho bylo u pokusné skupiny pozorováno zvýšení průměrné denní dojivosti o 6,4 %. Současně byla hrubá dojivost na krávu 1433,4 kg, což bylo o 103,51kg více než v kontrolní skupině. Současně se zvýšila tučnost mléka krav pokusné skupiny a zlepšila se kvalita produkce z hlediska obsahu sušiny, laktózy a bílkovin (Naumova a kol. 2010).

Vysokos a Grishchuk (2008) zkoumali účinnost krmení krav v období stání na sucho humátem sodným v zóně radiační kontaminace. V průběhu jejich experimentu bylo zjištěno, že při dlouhodobém působení zvýšených dávek záření, které potlačovalo fyziologický stav těla krav, zavedení humátu sodného do krmné směsi měsíc před otelením přispělo ke zvýšení počtu červených krvinek v krvi o 30 %, obsahu hemoglobinu o 7,9 %, celkových bílkovin o 7,9 %. Současně se zlepšilo kvalitativní složení mleziva v důsledku zvýšení sušiny o 11,6 %, surového popela o 15,1 %, tuku 1,7krát, imunoglobuliny o 27,7 %. Kontaminace radioaktivním céziem byla 1,5krát nižší než v kontrolní skupině. Porod u krav proběhl bez zvláštních komplikací, došlo k rychlejšímu uvolnění placenty, zkrácení doby porodu o 22,5 % a index inseminace se snížil téměř 2krát. Novorozená telata se vyznačovala vyšší růstovou schopností v postnatálním období vývoje (o 5,4 %), velkým počtem erytrocytů (o 7,5 %), zvýšeným obsahem hemoglobinu (o 25,3 %) a celkově vyšším obsahem bílkovin (o 25,6 %). V podmínkách zvýšeného radiačního znečištění je tedy z biologického a ekonomického hlediska slibné použít jako doplňkovou látku přípravek humátu sodného, jehož využívání kravami v období stání na sucho je doporučeno v dávkách 15–20 mg/kg živé hmotnosti.

Garashchuk a kol. (2008) studovali vliv oxyhumátu na metabolické procesy u prasat. V důsledku experimentu autoři dospěli k následujícím závěrům; že použití oxyhumátu zlepšuje procesy aerobní oxidace, zvyšuje hladinu celkových lipidů v krvi prasat zvýšením obsahu fosfolipidů a ovlivňuje aktivitu jednotlivých enzymatických systémů těla.

3.2.3 Ochranné a antivirové vlastnosti huminových látek

Je známo, že přípravky obsahující humáty mají ochranné vlastnosti proti virovým onemocněním. Mechanismus antivirového působení humátů přítomných v rašelině je takový, že na sebe váží virové částice, což jim brání přilepit se na povrch buňky. Například ve veterinární medicíně se huminové kyseliny rašeliny používají k prevenci šíření slintavky a kulhavky mezi prasaty. Kromě toho byla prokázána účinnost humátů proti rhinovirovým infekcím, viru *Coxsackie A9*, herpetickým virům typu 1 a 2, viru lidské imunodeficiency HIV/AIDS, viru chřipky typu A a B a dalším infekcím dýchacích cest (Trckova 2005).

3.2.4 Huminové látky při aktivaci imunitního systému

HL přítomné v rašelině mohou zvýšit aktivitu imunitního systému. Mechanismus účinku huminových látek je spojen s jejich schopností vytvářet v těle komplexní sacharidy, které působí jako modulátory mezibuněčné interakce. Udrží rovnováhu a aktivitu imunitního systému, což v konečném důsledku brání vzniku autoimunitních chorob. Podle Riede a kolegů mohou HL in vitro aktivovat granulocyty, což má za následek tvorbu toxických meziproductů kyslíku, hlavně H_2O_2 (Trckova 2005).

Shenga a kol. (2014) došli k závěru, že zahrnutí huminových látek v koncentraci 5 a 10 % do krmné dávky neovlivnilo průměrný denní příjem krmiva, zatímco průměrný denní přírůstek hmotnosti byl největší ve skupině přijímající 10 % huminových látek, zvýšil se na 0,759 kg ($P < 0,05$). Ve stejné experimentální skupině byl vyšší rozdíl v relativním počtu lymfocytů v prvním a posledním týdnu experimentu (25 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (3,4 %). Na základě toho byl učiněn závěr, že HL mohou mít příznivý účinek na imunitní systém zvířat.

Zigo (2020) provedl studii, jejímž cílem bylo zjistit vliv diety s přidanou kyselinou huminovou na parametry mléka, dále vliv na počet somatických buněk a výskyt mastitidy v poporodním období. Za tímto účelem bylo vybráno dvacet dojnic poslední fáze březosti ze stáda 140 krav. Vybrané krávy byly náhodně rozděleny do dvou skupin: kontrolní (B) a experimentální (E). Obě skupiny byly krmeny stejnou krmnou směsí a skupina E byla navíc doplněna HK v celkové dávce 100 g na krávu denně během posledních 50 dnů březosti. Parametry mléka (sušina, laktóza, tuk, hrubý protein, kasein a močovina) a PSB každé krávy, stejně jako přítomnost mastitidy, byly kontrolovány po 10 a 30 dnech během prvního měsíce laktace. Výsledky studie nakonec ukázaly, že doplňky stravy s HK významně snížily mléčnou močovinu (MU) a PSB 10. den po porodu, ale neovlivnily jiné mléčné složky. Kromě poklesu MU a PSB o 20 % se snížil výskyt mastitidy způsobené stafylokoky. Na základě svých zjištění vědci dospěli k závěru, že HK stabilizovala trávení živin, o čemž svědčí pokles MU ve skupině doplňků. Nepřímé příznivé účinky HK zlepšily vývoj imunitních reakcí, což vedlo ke snížení PSB a vzniku mastitidy způsobené stafylokoky negativními na koagulázu.

Bylo také prokázáno, že místní nebo obecné použití huminových látek snižuje nežádoucí infekce po popáleninách nebo radiačních onemocněních. Například míru přežití krys po vystavení smrtelným dávkám záření kobaltem lze zvýšit použitím humátu sodného. HL rašeliny vykazují významné protizánětlivé vlastnosti. Snižují také záněty kloubů a podporují hojení poškozených šlach a kostí (Trckova 2005).

Bylo zjištěno, že humáty mají tendenci předcházet buněčným mutacím. Studie tedy ukázaly, že kyselina huminová může u potkanů snížit poškození žaludeční sliznice způsobené ethanolem (Trckova 2005).

3.2.5 Stimulace růstu a zvýšení produkce

Různé studie poukazují na pozitivní vliv rašelinových přípravků na růst, procento produkce a také na snížení počtu úmrtí zvířat nespecifického původu. Někteří vědci naznačují, že humáty díky svým chelatačním vlastnostem mohou zvýšit absorpci dusíku, fosforu a dalších živin.

Doplnění krmné dávky o 0,1–0,2 % humátů vedlo ke zvýšení produkce, zvýšení krmné účinnosti krmiva a také snížení úmrtnosti kuřat a stejný vlivům byl pozorovat i u přežvýkavců (El-Zaiat 2008).

S. Gomez-Rosales (2015) a Islam (2005) prokázali, že přidání červího kompostu jako zdroje huminových látek do pitné vody skotů a drůbeže mělo příznivé účinky na růstový výkon a stravitelnost. Počáteční a konečná tělesná hmotnost, denní přírůstek a denní příjem krmiva byly přitom stejné a nezávisely na koncentraci filtrátu v pitné vodě.

Je známo, že antibiotika se široce používají ke zlepšení růstu zvířat (v EU je používání antibiotik pro zlepšení růstové schopnosti zakazáno). V současné době se jako stimulanty růstu používají organické kyseliny, rostlinné extrakty, enzymy, probiotika a prebiotika. Právě huminové kyseliny jsou široce používány jako alternativa k antibiotikům stimulujícím růst ke zlepšení růstové schopnosti a zdraví hospodářských zvířat. Vědci zjistili, že huminové kyseliny zlepšují stravitelnost a uchovávají živiny. A co víc, huminové kyseliny mohou působit jako antibakteriální činidla a omezovat růst plísní. Přístup k používání humátů v krmivu jako alternativní doplňkové látky do krmiv nabývá stále většího významu, zejména po zákazu používání antibiotik v krmivech jako stimulantů růstu. Kyselina huminová zvyšuje absorpci živin tím, že prodlužuje délku klků, a jak se délka klků zvětšuje, zvětšuje se absorpční plocha živin. Absorpce živin v konečném důsledku zlepšuje růstový výkon (Arif et al. 2009).

Zajímavá je také skutečnost, že huminové kyseliny snižují stres a zápach z výkalů. Tyto látky mají pozitivní vliv na funkci jater, což v konečném důsledku snižuje úmrtnost a zvyšuje růst hospodářských zvířat (Islam et al. 2005).

E. A. Ekshova a kol. (2015) provedli výzkum na základě farem v Rusku, v regionu Ryazan, který byl zaměřen na studium vlivu huminových doplňkových látek na zdraví a produktivitu mladých hospodářských zvířat (výkrm prasat, jalovic, brojlerů a kuřat). Předmětem experimentu byly krmné přísady získané z rašeliny. Studie ukázaly, že studovaná aditiva v dávkách 0,4–0,5 ml na 1 kg živé hmotnosti mají vysokou biologickou aktivitu ve vztahu k organismu. Byl zaznamenán jejich pozitivní vliv na produktivní vlastnosti všech studovaných zvířat. U kuřat brojlerů se rychlost růstu zvýšila o 1–3 %, porážková hmotnost o 1–6 %. Současně se konverze krmiva snížila o 1,5–3 %. U prasnic se tempo růstu zvýšilo o 8–15 %, porážková hmotnost se zvýšila o více než 6 % a konverze krmiva se snížila o 3–3,5 %. U telat byl nárůst přírůstků 11–13 %, náklady na krmivo na 1 kg přírůstku živé hmotnosti se snížily o 7,5–8 %. Všechna zvířata byla aktivní, vyznačovala se upraveným vzhledem, leskem opeření. Klinické ukazatele jsou v normálním rozmezí. Krevní obraz experimentálních zvířat byl v rámci fyziologických norem. Analýza údajů ukázala, že huminové doplňkové látky

mají pozitivní vliv na krvetvorbu, zvyšují koncentraci hemoglobinu, vápníku, fosforu a celkových bílkovin a albuminu v krevním séru. Huminové krmné přípravky u prasat přispěly ke zvýšení počtu výkalů *Escherichia coli* s nepatogenními vlastnostmi v normálním rozmezí, aniž by způsobovaly dysbiotické projevy. To vše dohromady mělo pozitivní vliv na ekonomické ukazatele. Další zisk z používání těchto aditiv činil 3–7 %. Vědci dospěli k závěru, že huminové doplňkové látky mají pozitivní vliv na zdraví mladých hospodářských zvířat, což výrazně zvyšuje produkci při nižších nákladech na krmivo. Vyznačují se nízkými výrobními náklady, poskytují ekonomický efekt a jejich použití při krmení mladých zvířat je při stanovených dávkách docela účelné.

3.2.6 Vliv huminových látek na fermentaci bachoru a produkci metanu

Mezi vědci narůstají obavy z dopadu chovu skotu na životní prostředí, zejména pokud jde o emise skleníkových plynů. Analýza literatury také ukazuje na zájem o vývoj strategií ke snížení expozice metanu ve střevech přežvýkavců.

Cílem studie S. Terryho a kol. (2018) bylo studovat vliv huminových látek na fermentaci bachoru, stravitelnost živin, emise metanu (CH₄) a bachorový mikrobiom telat krmených dietou na ječné siláži. Telata dostávala základní dietu sestávající ze 60 % ječné siláže a 40% koncentráту, 100-, 200- nebo 300-mg granulovanými humusovými látkami/kg tělesné hmotnosti.

Každé období trvalo 28 dní se 14 dny adaptace. Vzorky bachoru byly odebrány 15. den v 0, 3, 6 a 12 hodinách po krmení. Celkový objem moči a výkalů byl sbírán od 18 do 22 dnů. Krevní vzorky byly odebrány 22. den v 0 a 6 hodin po krmení. Od 26. do 28. dne byla telata umístěna do dýchacích boxů s otevřeným okruhem pro měření CH₄. Kyselost bachoru byla nepřetržitě monitorována během období měření CH₄ pomocí záznamníků konstantního pH. Základní hodnoty byly stejné (P = 0,47) pro všechna ošetření. Koncentrace amoniaku-N a počet prvoků v bachoru reagovaly přímo (P = 0,03), kdy se oba parametry zvýšily o H100 a poté se snížily na v H300.

Celková stravitelnost hrubých bílkovin (CP) v traktu (P = 0,04) se lineárně zvyšuje s HL ve srovnání s kontrolou. Nebyl pozorován žádný účinek HL na produkci CH₄ (g/den; P = 0,83). HL však snížily relativní počet proteobakterií (P = 0,04) a zvýšily relativní počet *Synergistetes* a *Euryarchaeota*. Výsledky výzkumníků ukázaly, že HL, které jsou zahrnuty v dávkách až 300 mg/kg tělesné hmotnosti neovlivňují produkci CH₄ (Terry at al. 2018).

Vědci také provedli studii, která zkoumala vliv huminových látek na charakteristiky fermentace a mikrobiální kolonie pomocí stimulace bachoru. Experiment zahrnoval použití kontrolní diety (krmivo: koncentrát; 60:40) bez přidání huminových látek a použití huminových látek v množství 1,5 g/den nebo 3,0 g/den. Sušina, pH, parametry fermentace a produkce plynu byly měřeny od 8 do 15 dnů.

V důsledku experimentů bylo zjištěno, že zahrnutí huminových látek neovlivnilo množství sušiny, pH ani koncentraci těkavých mastných kyselin. Produkce NH₃ lineárně klesala s rostoucími hladinami huminových látek ve stravě. Na celkovou tvorbu plynu CO₂ nebo CH₄ nebyl žádný vliv. Avšak mikrobiota téměř nebyla ovlivněna. Ve vzorcích byl počet rodů *Lachnospiraceae*, *Succinivibrionaceae* a *Fibrobacter* snížen ošetřením 3,0 g/den, zatímco počet *Anaeroplasmata*, *Olsenella* a *Pseudobutyrvibrio* se zvýšil na 5, 10 a 15 den.

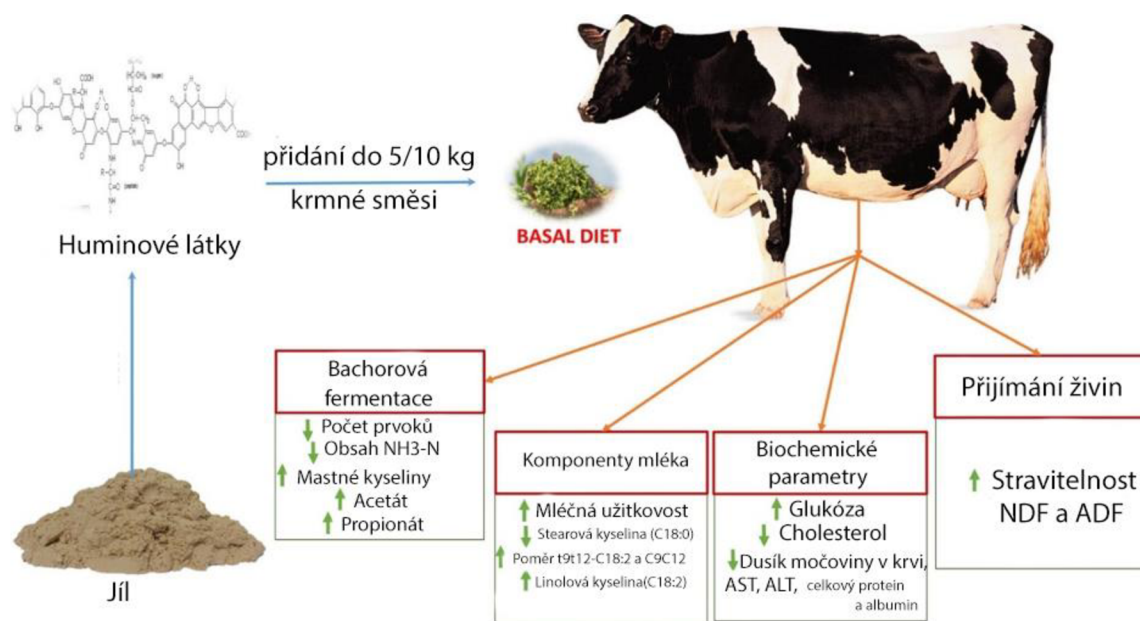
Tento experiment ukázal potenciální využití huminových látek jako přírodní doplňkové látky, která může hrát roli v metabolismu dusíku, aniž by nepříznivě ovlivňovala bachorovou mikrobiotu (Terry at al. 2018).

Hassan a kol. (2020) studovali vliv huminových látek pocházejících z jílu na příjem živin, stravitelnost, bachorovou fermentaci, dojivost a mléčné složky u holštýnsko-fríských krav. Do experimentu bylo zařazeno 12 dojnic s používáním základní krmné směsi bez huminových látek (kontrola), krmné směsi s HL v dávce 5 g/kg stravy a 10 g/kg na den. Studie byla prováděna ve 3 obdobích, z nichž každé sestávalo z 21 dnů.

V důsledku experimentu bylo zjištěno, že přidání huminových látek neovlivňuje příjem živin a rychlost absorpce, s výjimkou hrubých bílkovin, které vykazovaly lineární nárůst. Kyselost bachoru (pH) byla mezi skupinami podobná.

Přestože experimentální krmná směs způsobila zvýšení celkového obsahu těkavých mastných kyselin a podílů acetátu, diety s HL způsobily lineární zvýšení hladiny glukózy v krvi a snížení hladiny cholesterolu v krvi a dusíku močoviny. Diety neměly žádný účinek na složky mléka.

Vědci dospěli k závěru, že HL pocházející z jílu v dávce 5 g/kg stravy mohou mít požadovaný účinek na příjem živin, profil fermentace bachoru, biochemické parametry, výtěžnost mléka a profil mastných kyselin (obr. 1.4) (Hassan a kol. 2020).



Obr. 1.4 Změny v různých ukazatelích během experimentu při přidávání huminových látek jílu do stravy krávy v dávce 5 g/kg a 10 g/kg (Hassan a kol. 2020)

Vliv humátů na bachorovou fermentaci u holštýnských krav byl studován v experimentu McMurphyho. Šest holštýnských krav (317 ± 22 kg) (průměrná živá hmotnost) v každém ze čtyř období dostalo jednu ze čtyř diet: 1) dietu s vysokým obsahem koncentrátů bez huminových kyselin (kontrola); 2) kontrola plus 5,0 g HK/kg; 3) kontrola plus 10,0 g HK/kg; 4) kontrola plus 15,0 g HK/kg. (Humáty na kg se přidávají do krmné dávky na základě sušiny.)

Období byla 21 dnů dlouhá, aby umožnila 14 dní adaptace před hodnocením. Krávy byly krmeny jednou denně v 06:00. Příjem sušiny byl stanoven od 14. do 21. dne, kdy byly odebrány vzorky bachoru a krve. Vzorky potravin byly odebírány denně, sušeny v sušárně při 55 °C a skladovány pro chemickou analýzu.

V důsledku této studie vědec a jeho kolegové dospěli k závěru, že humát s vysokým obsahem kyseliny huminové fermentaci v bachoru výrazně neovlivňuje. Zahrnutí humátů do stravy však mírně změnilo příjem sušiny, když byly HL obsaženy v množství 5,0 g/kg (McMurphy at al. 2011).

Ve studii vědců byly indikátory fermentovatelnosti a produkce metanu hodnoceny se zvýšením hladiny humátu sodného metodou vývoje plynu *in vitro*. Bylo sestaveno pět experimentálních diet obsahujících humát sodný v množství 0, 5, 7,5 10 a 12,5 g/kg krmné směsi. Inokulum bylo připraveno z bachorové tekutiny západoafrické trpasličí kozy (WAD). Inkubační doba byla 24 hodin při 39°C. Výsledky ukázaly pokles obsahu CH₄, VFA, acetátu, propionátu, butyrátu, vodíku po přidání humátu sodného do krmné směsi až do 10 g/kg stravy. Došlo ke zvýšení VFA, acetátu, propionátu, butyrátu se zahrnutím 12,5 g/kg humátové krmné směsi. Kromě toho se zvýšilo využití vodíku, metabolizovatelná energie (ME), adenosintrifosfát (ATP), mikrobiální biomasa, stravitelnost organické hmoty a mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA). Vědci dospěli k závěru, že účinek humátu sodného v krmné směsi koz závisí na dávce a že přidání až 10 g/kg humátu sodného do stravy koz WAD může účinně snížit produkci metanu a současně zajistit energii pro bachorové mikroby a další metabolické činnosti zvířete (Ikyume at al. 2020).

3.2.7 Působení huminových kyselin na mléčnou užitkovost skotu

Další studie ukázala, že používání huminových kyselin jako přísady do krmiv pro zvířata vede ke zvýšení produkce mléka a ke zvýšenému procentu tuku u dojníc. Dojný skot navíc vykazoval rychlejší přírůstek na váze a problémy se sklony ke konfliktům byly významně sníženy (Trckova 2005).

Kromě toho je známá nová studie A. Tetera a kol. (2021), ve které autoři studovali účinek huminových látek, konkrétně oxyhumolitu, na koagulační vlastnosti mléka od holštýnsko-fríských krav. Jejich experiment byl proveden na 64 kravách rozdělených do dvou skupin po 32 kravách – kontrolní (CON) a experimentální (H). Krávy skupiny H dostaly huminové minerály jako doplňkovou látku obsahující 65 % huminových kyselin po dobu 60 dnů. Vzorky mléka byly odebrány dvakrát, po 30 a 60 dnech. Po 30 dnech nedošlo k žádným významným změnám v chemickém složení mléka. Koagulační vlastnosti mléka se však zlepšily. Mléko ze skupiny H koagulovalo o 15 % rychleji po 30 a 60 dnech ve srovnání s kontrolní skupinou. Po 60 dnech došlo ke zvýšení obsahu tuku, bílkovin a kaseinu. Zvýšil se také obsah vápníku a železa. Výsledky studie vědců ukázaly, že HL ve stravě krav mohou zlepšit odpovídající vlastnosti mléka pro výrobu sýrů.

Následující experiment byl proveden na ekologické mléčné farmě v Holandsku. Pro studii byly vybrány 4 skupiny po 10 dojnících. Skupiny smíchané podle věku, laktačního stádia a úrovně produkce byly rozděleny následovně: kontrolní skupina, 2 g HK denně, 3 g HK denně a 4 g HK denně.

Experimentální skupiny byly krmeny přísadou Lithicin™, který obsahoval huminovou kyselinu získanou z huminového hnědého uhlí z USA. Produkce mléka, tuků a bílkovin byla zaznamenávána každých 14 dní po dobu dvou měsíců.

Výsledky experimentu jsou následující. Údaje o produkci mléka ukázaly zlepšené hodnoty mléka, tuku a FPCM (mléko korigované na tuk a bílkoviny) pro všechny úrovně krmení ve srovnání s kontrolní skupinou. Současně byl pozorován pouze mírný pokles bílkovin pro všechny úrovně krmení HK. Bylo zjištěno, že dávka 2 g HK/den je nejúčinnější při zvyšování produkce mléka, zatímco 3 g HK/den bylo účinnější při zvyšování tuku a FPCM. 4 g HK/den jsou neoptimální. V důsledku toho mají ošetřené huminové kyseliny příznivý vliv na produkci mléka u dojnic (Bennie 1999).

Studie T. Degirmencioglu (2012) ukázala, že přidání přírodních huminových látek do stravy koz zlepšuje produkci mléka a také snižuje hladinu cholesterolu v krevním séru. V důsledku toho autor navrhl dietu s přidáním huminových kyselin jako alternativní metodu ke zvýšení produkce mléka u mléčných koz.

Griban a Efimov (2008) ve svém studii změn v sekreční aktivitě mléčné žlázy krávy pod vlivem hydrohumátu dospěli k závěru, že kombinované použití hydrohumátových a měďnatých solí, kobaltu a jódu v krmné směsi krav zvyšuje sekreční aktivitu mléčné žlázy. Hydrohumát lze podle autorů využít nejen ke zvýšení denního nádoje, ale také k prevenci latentních forem mikroelementózy u telat.

3.2.8 Vliv humátů na reprodukci dojnic

Zayarko a kol. (2008) zkoumali vliv krmení humátem sodným na průběh poporodního období a na reprodukční schopnost červených stepních krav. Studie byla prováděna v chovech hospodářských zvířat v okrese Krinichansk v oblasti Dnepropetrovska na Ukrajině. Experiment byl proveden na 63 klinicky zdravých kravách ve věku od 3 do 10 let, živé hmotnosti 450–500 kg. Byly z nich vytvořeny tři skupiny po 21 kravách.

Zvířata z první skupiny byla navíc krmena humátem sodným v dávce 10 až 12 mg/kg živé hmotnosti po etapách během celého období březosti a poporodního období až do dalšího oplodnění. Druhá skupina krav dostávala pouze základní krmnou směs. Krávy třetí skupiny na základě analýzy krmné dávky obdržely další komplex mikroelementů pro doplnění chybějících mikroelementů. Experiment byl prováděn během období stání na sucho, období po porodu, inseminace.

Experimentální výsledky ukázaly, že humát sodný příznivě ovlivňoval morfologické a biochemické parametry krve krav, zatímco došlo k mírnému nárůstu počtu erytrocytů a hemoglobinu a zlepšil se metabolismus. Během experimentu byl u krav prokázán stimulační účinek humátu sodného v případě ovariální hypofunkce. U zvířat experimentální skupiny se říje projevila dříve o 5 až 6 dnů.

Vědci dospěli k závěru, že krmení krav humátem sodným v období stání na sucho a v poporodním období v dávkách 10–12 mg/kg živé hmotnosti po dobu 21 dnů má příznivý vliv na reprodukční funkce: průběh březosti, porodu, podporuje oddělení placenty a involuci dělohy po otelení. Humát sodný stimuluje neurohumorální regulaci pohlavních orgánů, zlepšuje morfologické a biochemické složení krve a obecně stimuluje reprodukční funkci zvířat (Zayarko 2008).

HL mají mnoho pozitivních účinků, konkrétně antibakteriální, antivirové a protizánětlivé účinky na zvířata. Tyto sloučeniny aktivují imunitní systém zvířat, vykazují ochranné, antivirové vlastnosti, výrazně zlepšují růst a produktivitu zemědělských zvířat atd.

3.2.9 Působení huminových kyselin na kozy

Huminové látky mají pozitivní vliv i na kozy. Podle výzkumů vědců huminové látky působí v těle zvířat na dvou úrovních – buněčné a subcelulární. V těle koz pronikají do buňky a účastní se metabolických procesů, přičemž je optimalizují, usnadňují průchod střevní stěnou anorganickým iontům a podporují vstřebávání esenciálních minerálů (Islam KMS a kol. 2005).

Nejčastěji huminové kyseliny se přidávají do krmiva ve formě granulí, prášku a vloček, jiné jsou tekutými extrakty humátů a slouží jako přísady do krmiva při napájení koz.

Přítomnost huminových látek v krmné dávce koz stimuluje metabolické procesy u koz, snižují úmrtnost, zvyšují hmotnost zvířat, posilují imunitní systém, zvyšují odolnost vůči stresu, podporují přenos kyslíku v červených krvinkách.

Během jednoho z posledních výzkumů byl zaznamenán značný vliv HL na kozy. Přídavek přírodních huminových kyselin do krmiva dojných koz (v dávce 3 g/kg tělesné hmotnosti) byl doprovázen zvýšením užitkovosti zvířat. Zvýšení mléčné užitkovosti neznamenovalo změnu ve složení mléka, zároveň byl pozorován pokles hladiny cholesterolu v krevním séru koz (Degirmencioglu 2014).

Během dalšího výzkumu u koz krmených HK se zvýšil obsah mléčného tuku a bílkovin. Odchovaná mláďata měla zvýšenou tělesnou hmotnost a o 31 % větší denní přírůstek ve srovnání s kozami v kontrolní skupině. HK se tedy účinně použít jako slibnou organickou přísadu pro modulaci fermentace v batoru. Použití HK zlepšilo dojivost a kvalitu mléka u koz, jakož i rychlost růstu mláďat, bez negativního vlivu na zdraví zvířat (El-Zaiat 2018).

3.2.10 Působení huminových kyselin na ovce

Četné studie prokázaly, že huminové látky mají pozitivní vliv na organismus ovcí.

Léky na humátové bázi jsou tedy pro své antiresorpční, adstringentní, antibakteriální, protizánětlivé a antivirové účinky ideální pro léčbu trávicích onemocnění a metabolických poruch u ovcí (Islam KMS a kol. 2005).

Terapeutické a profylaktické vlastnosti huminových látek jsou založeny na jejich schopnosti aktivovat imunobiologickou reaktivitu organismu, zejména stimulovat buněčnou a humorální imunitu. Používání huminových látek ve stravě ovcí proto vede ke zvýšené odolnosti vůči stresu, infekcím a výrazně zkracuje dobu rekonvalescence po léčbě ovcí. Humáty především nepronikají hluboko do těla, ale působí v lumen gastrointestinálního traktu a na střevní stěně (Ikyume at al. 2020).

Huminové látky jsou tedy pro ovce potřebné a užitečné, působí příznivě na celkový vývoj zvířat, pomáhají předcházet chorobám zvířat, pomáhají zlepšovat trávení, látkovou výměnu a mají antibakteriální, protizánětlivé a antivirové účinky.

El-Zaiat a kol. (2018) zjišťovali účinek kyseliny huminové na batorovou fermentaci, parametry krve a složení mléka u koz a rychlost růstu mláďat. Za tímto účelem bylo dvacet březích koz plemene Barki rozděleno do dvou skupin (10 koz na skupinu), chováno jednotlivě

v uzavřených kotelích a měly smíšenou dietu dvakrát denně. Krmná dávka se skládala ze 400 g hrubého krmiva a 600 g směsi koncentráту. Kozy byly krmeny krmnou směsí bez HK (kontrolní dieta) a orálně podávanými HK v dávce 2 g na kozu (HK dieta) po dobu 14 dnů před porodem a 56 dní po porodu. Výsledky ukázaly, že dieta HK zvyšuje pH, koncentrace amoniaku a prvků v bacheru klesala. Pro zvířata, která byla krmena HK, bylo charakteristické zvýšení hladiny celkových bílkovin, globulinů a glukózy v krvi, zatímco koncentrace močoviny, cholesterolu, volných mastných kyselin a β -hydroxybutyrátu v krvi byla snížena.

Vliv kyseliny huminové na kvašení v bacheru ovcí. Galip a kol. (2010) provedli studii, ve které studovali účinek huminové kyseliny na bacherovou fermentaci a krevní obraz u beranů. V průběhu experimentu byl hodnocen účinek kyseliny huminové na procento různých krevních parametrů. Studie zahrnovala tři samce beranů, trvání experimentu zahrnovalo dobu 22 dnů (15 dní pro adaptaci, 7 dní pro sběr). Každý obdržel 10 g/den HK (kontrolní skupina), 5 g/den (analytická skupina) a 10 g/den HK (analytická skupina 2). HK byla smíchána s krmnou směsí, která se skládala z 5 % obilí a 95 % vojtěškového sena. Byl analyzován obsah bacheru odebraný před a po 3 hodinách a 6 hodinách po ranním krmení ve dnech 1 a 7 každého období sběru. Ve stejné dny byly odebrány vzorky krve. V důsledku experimentu bylo zjištěno, že s přidavkem HK nejsou žádné významné rozdíly v biochemických a hematologických parametrech. To znamená, že použití humátů v krmivech pro zvířata nemá negativní vliv na biochemické a zejména hematologické parametry krve. Přidání HL do krmné směsi beranů nemělo významný vliv na složení krve, fermentaci bacheru a populaci prvků v bacheru.

Vliv HK na fermentaci a populaci řasnatých prvků v bacherové tekutině ovcí *in vitro*. Varadyova a kol. provedli *in vitro* studii účinku huminové kyseliny ve formě doplňkové látky Humacid 60 Basic (H60B) na bacherovou fermentaci a populaci řasnatých prvků v bacherové tekutině ovcí krmených krmnou směsí s vysokým obsahem vlákniny. Výsledky experimentu vědců ukázaly, že produkce celkových těkavých mastných kyselin byla v dávkových plodinách při použití diety H60B významně snížena. Dieta H60B snížila množství amoniaku v bacheru. Došlo k nárůstu populace *Enoploplastron triloricaatum*, *Isotricha sp.* a *Ophryoscolex c. tricoronatus*. H60B neovlivnil obecnou populaci řasnatých prvků a *Entodinium spp.* V důsledku toho vědci dospěli k závěru, že přípravky HK nejsou účinné jako antiprotozoální látky (Varadyova at al. 2009).

Marcin a kol. 2020 studovali vliv huminových látek s močovinou na populaci prvků a fermentaci v bacheru ovcí. Účelem jejich studie bylo zjistit účinek huminových látek v kombinaci s močovinou na pH, amoniak, celkové těkavé mastné kyseliny, populaci prvků, amylolytické a celulolytické aktivity v bacherové tekutině. V důsledku toho vědci došli k závěru, že konzumace krmiva s HK v kombinaci s močovinou měla významně pozitivní vliv na hladiny amoniaku a populace prvků v bacherové tekutině.

3.2.11 Použití huminových kyselin a mineralů

Mnoho studií zjistilo, že biologicky aktivní látky jako vitamíny, antibiotika, hormony, enzymy, stopové prvky, huminové sloučeniny, za vhodných podmínek krmení a chovu zvířat podporují trávicí, syntetické a metabolické procesy. Odhalují potenciální fyziologické rezervy, zvyšují odolnost organismu vůči nepříznivým faktorům a zvyšují přírůstek živé hmotnosti.

To potvrdily i studie vědců, kde bylo zjištěno, že huminové sloučeniny zpomalují adsorpci organických látek, čímž urychlují vstřebávání stopových prvků: hořčíku, železa, zinku, mědi, a tím mají stimulační účinek na metabolismus zvířat. I přes velký arzenál biologicky aktivních látek používaných v chovu zvířat, hledání nových, účinnějších i ze surovin pokračuje a je vždy horkým tématem (Chumak VO 2008).

Řada studií prokázala, že humát sodný z rašeliny aktivuje enzymatické systémy syntézy proteinů, antitoxickou funkci jater, redoxní procesy a nespecifickou odolnost organismu. Lék způsobuje u zvířat změnu biochemických parametrů krve, zvýšení v rámci fyziologických norem obsahu bílkovin, jejich gamaglobulinové frakce a kyselé kapacity. Vlivem huminových kyselin se zvyšuje odolnost zvířat vůči nepříznivým faktorům prostředí v důsledku zvýšení baktericidní a lysozymové aktivity krevního séra, koncentrace imunoglobulinů a imunokompetentních buněk s fagocytární aktivitou (Ikyume at al. 2020).

Byl prokázán pozitivní vliv různých dávek humátu sodného (0,3; 0,4; 0,51 mg na 1 kg živé hmotnosti) na spotřebu krmiva, biochemické složení krve, užitkovost zvířat a ekonomickou efektivitu produkce hovězího masa.

Zařazení humátu sodného do krmné dávky skotu má pozitivní vliv na redoxní procesy v těle zvířat, o čemž svědčí biochemické složení krve. Současně dochází ke zvýšení koncentrace celkových bílkovin v krevním séru o 2,1–3,9 %, ke snížení koncentrace močoviny o 7,2–15,3 %.

Přidání krmných směsí mladému skotu s přídavkem humátu sodného v množství 0,3-0,51 ml na 1 kg živé hmotnosti poskytuje průměrné denní přírůstky na úrovni 1040-1092 g (kontrola - 1015 g) (Radchikova a kol 2015).

4 Závěr

Huminové látky jsou chemické sloučeniny, které vznikají ze stabilizované organické hmoty půdy nebo humusu při rozkladu rostlinného a živočišného materiálu v půdě. HL se dělí na: huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy. Jsou široce používány v agronomii ke zlepšení úrodnosti půdy a ke zvýšení produktivity zemědělských rostlin.

HL také hrají obrovskou roli v chovu zvířat. Snižují toxický účinek zbytkového množství herbicidů, těžkých kovů, radionuklidů kontaminujících půdu a dalších škodlivých látek. Využívání humin v krmivech přináší řadu přínosů pro zdraví, růst a produktivitu zvířat. Kromě toho tyto sloučeniny pozitivně ovlivňují metabolismus lipidů, bílkovin, minerálů a také mají schopnost vytvářet ochranný film na slizničním epitelu žaludku a střev, chránící tělo zvířete před infekcemi a toxiny.

V těle přežvýkavců humáty přidávané do krmných dávek pomáhají stabilizovat střevní flóru zvířete a zvyšovat růst mikroorganismů ve střevech. Tyto látky stimulují dobré mikroby a zároveň potlačují ty špatné. Humáty, které mají vliv na metabolismus dusíku, nemají negativní vliv na bachorovou mikrobiotu. Používání doplňkových látek do krmiv na bázi huminových látek je jednou z účinných metod zmírňování účinků produkce metanu, která vzniká v průběhu života zemědělských zvířat, zejména přežvýkavců (Bezuglova & Zinchenko 2016).

Na základě výše uvedeného lze HL považovat za kvalitní přísady do krmiv, které lze použít v různých odvětvích chovu zvířat.

5 Literatura

1. Aiken G.R. 1985. Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances. Wiley-Interscience, New York. 363–385
2. Arif M, Alagawany M, Abd El-Hack ME, Saeed M, Arain MA, Elnesr SS. 2019. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review. Iranian journal of veterinary research. **20(3)**: 167–172.
3. Balla D, Dietrich O, Quast J. 2000. Solute retention in groundwater table controlled fen area with respect to various land use scenarios. International Peat Journal. **10**: 3–47.
4. Bennie PH, Tomassen and Robert H. Faust. 1999. The use of a Processed Humic acid product as a feed supplement in Dairy Production in the Netherlands. The BioAG Corporation. Nevada.
5. Bezuglova OS, Zinchenko VE. 2016. Application of Humic Substances in Animal Husbandry (Review). Dostizheniya nauki i tekhniki. **30(2)**: 89–93.
6. Degirmencioglu T. 2014. Using humic acid in diets for dairy goats. Animal Science Papers and Reports. **32(1)**: 25-32.
7. Degirmencioglu T. 2014. Using humic acid in diets for dairy goats. Animal Science Papers and Reports. **32(1)**:25-32.
8. Domínguez-Negrete, A, Gómez-Rosales S, Angeles ML, López-Hernández LH, Reis-de Souza TC, López-García Y, Zavala-Franco A, Téllez-Isaias G. 2019. Effect of the Addition of Humic Substances as Growth Promoter in Broiler Chickens Under Two Feeding Regimens. Animals: an open access journal from MDPI, **9(12)**: 1101.
9. Efimov VG, Efimova EA. 2008. Indicators of protein metabolism in calves under the influence of hydrogumate and trace elements / Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. Dnepropetrovsk. 174–176.
10. Efimov VG, Rakitnyansky VN. 2008. Influence of hydrohumate on metabolism and energy in lactating cows on the background of micronutrient deficiency / Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. Dnepropetrovsk. 196–198.
11. Ekshova EA. 2015. Prospects for the use of humic feed additives from peat raw materials in the diets of young farm animals / Student science: modern technologies and innovations in agriculture. Ryazan State Publishing House university. 64–68.
12. El-Zaiat HM, Morsy AS, El-Wakeel EA, Anwer MM, and Sallam S.M. 2018. Impact of humic acid as an organic additive on ruminal fermentation constituents, blood parameters and milk production in goats and their kids growth rate. Journal of Animal and Feed Sciences. **27**: 105–113.
13. Galip N, Polat U, Biricik H. 2010. Effects of supplemental humic acid on ruminal fermentation and blood variables in rams. Italian Journal of Animal Science. Vol. **9(4)**:74.
14. Garashchuk MI. 2008. Influence of oxygumate on metabolic processes in pigs / Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. Dnepropetrovsk. 86–188.
15. Gerlach H, Gerlach A, Schottdorf W, Haufe S, Helm H. 2013. Oral application of charcoal and humic acids to dairy cows influences Clostridium botulinum blood

- serum antibody level and glyphosate excretion in urine. *Journal of Clinical Toxicology*. **4(2)**.
16. Gomez-Rosales S, M. de L. Angeles. 2015. Addition of a worm leachate as source of humic substances in the drinking water of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. **28(2)**: 215–222.
 17. Grigorieva E. 2020. About humic preparations. *International agricultural journal*. **5**: 43–53
 18. Gryban VG, Duda YV, Sedykh NY. 2008. Hematological parameters of cows' blood in the prophylactic use of propolis and hydrogumate / Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. *Dnepropetrovsk*. 189–191.
 19. Gryban VG, Efimov VG. 2008. Changes in the secretory activity of the mammary gland of cows under the influence of hydrogumate and trace elements / Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. *Dnepropetrovsk*. 191–193.
 20. Hassan AA, Salem AZM, Elghandour MMY, AbuHafsa SH, Reddy PRK, Atia SES, Vidu L. 2020. Humic substances isolated from clay soil may improve the ruminal fermentation, milk yield, and fatty acid profile: A novel approach in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. **268**.
 21. Hayes Michael HB, Clapp C Edward. 2001. Humic substances: considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. *Soil Science*. **166(11)**: 723–737.
 22. Chumak SV, Chumak VO. 2015. Licking blocks which enriched with biologically active substances for sheep. *The Animal Biolog*. **17(4)**: 210.
 23. Chumak VO. 2008. Effects of hydrogumate and oxyhumate application in pig breeding. Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. *Dnepropetrovsk*. 179–182.
 24. Ikyume TS, Yusuf OS, Azeez OAD, Olalekan PT. 2020. In vitro gas production, methane production and fermentation kinetics of concentrate diet containing incremental levels of sodium humate. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. **85**: 183–189.
 25. Islam KMS, Schuhmacher A, Gropp JM. 2005. Humic Acid Substances in Animal Agroculture. *Pakistan Journal of Nutrition*. **4(3)**: 126–134.
 26. Janos P. Separation methods in the chemistry of humic substances. 2003. *J. Chromatography*. **983**: 1–18.
 27. Ji F, McGlone JJ, Kim SW. 2006. Effects of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics, and ammonia emission. *Journal of Animal Science*. **84(9)**: 2482–90.
 28. Kim PJ, Pramanik P. 2013. Fractionation and characterization of humic acids from organic amended rice paddy soils. *Science of The Total Environment*. 466–467, 952–956.
 29. Kucukersan S, Kucukersan K, Colpan I, Goncuoglu E, Reisli Z, Yesilbag D. 2005. The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen. *Veterinárni Medicína* **50(9)**: 406–410.

30. Kumada K. 1965. Studies on the colour of humic acids. Part 1 on the concepts of humic substances and humification. *Soil Science and Plant Nutrition*. **11(4)**: 1–16.
31. Lubimova NA, Rabinovich GY. 2020. Humic substances as components of feed additives (review). *Achievements of science and technology of agro-industrial complex*. **34(9)**: 77–84.
32. MacCarthy P, Malcolm RL, Clapp CE, Bloom PR. 1990. An Introduction to Soil Humic Substances. *Humic Substances in Soil and Crop Sciences*. American Society of Agronomy.
33. Marcin A, Bujňák L, Mihok TP. 2020. Effects of humic substances with urea on protozoal population and fermentation in the rumen of sheep. *Journal of Animal Science*. **23(1)**: 60–69.
34. McMurphy CP, Duff GC, Sanders SR, Cuneo SP, Chirase NK. 2011. Effects of supplementing humates on rumen fermentation in Holstein steers. *South African Journal of Animal Science*. **41(2)**: 134–140.
35. Muniraj I, Shameer S, Ramachandran P, Uthandi S. 2021. *Bacillus aryabhattai* TFG5-mediated synthesis of humic substances from coir pith wastes. *Microbial Cell Factories*. **20(48)**.
36. Nasir S, Sarfaraz TB, Khan KM, Aleem A, Parveen R. 2011. Synthesis, colorfastness evaluation and utilization of humic acid derived dyes/pigment. *Journal of the Chilean chemical society*. **56(1)**: 556–565.
37. Naumova GV, Thomson AE, Ovchinnikova TF, Zhmakova NA, Makarova NL, Dobruk EA, Pestis VK. 2010. New biologically active preparation "Gumosil" and effectiveness of its use in diets of dairy cows. *Mat. International Conference "Humic substances and phytohormones in agriculture"*. Dnepropetrovsk. 30–33.
38. Ozturk E, Coskun I. 2006. Effects of humic acids on broiler performance and digestive tract traits.
39. Perminova VI, Fritz HF, Kudryavtse AV, Kulikova NA, Gudrun Abbt-Braun HS, Petrosyan VS. 2003. Molecular Weight Characteristics of Humic Substances from Different Environments As Determined by Size Exclusion Chromatography and Their Statistical Evaluation. *Environmental Science & Technology*. **37(11)**: 2477–2485.
40. Piccolo A. 2001. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science*. **166(11)**: 810–832.
41. Popov AI. 2004. *Humic substances: properties, structure, formation*. Saint Petersburg State University, Saint Petersburg.
42. Radchikova GN, Akulich VI, Girdzieskaya GE, Yaroshevich SA. 2015. Efficiency of sodium humate feeding during fattening young cattle. *Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Husbandry*. **12**:46-54.
43. Ratnykh OA. 2018. Therapeutic efficacy of potassium humate in hepatitis of lactating cows and calves of the dairy period. *Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I. Voronezh*.
44. Rice JA, MacCarthy P. 1991. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. *Organic Geochemistry*. **17(5)**: 635–648.

45. Sheng Ping, Ribeiro OG, Yuxi Wang, McAllister TA. 2018. Humic substances reduce ruminal methane production and increase the efficiency of microbial protein synthesis in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **99(5)**: 2152–2157.
46. Shermer CL, Maciorowski KG, Bailey CA, Byers FM, Ricke SC. 1998. Caecal metabolites and microbial populations in chickens consuming diets containing a mined humate compound. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **77**: 479–486.
47. Steinberg CEW, Meinelt T, Timofeyev MA. Humic substances (review series). Part 2: Interactions with organisms. *Environmental Science and Pollution Research*. **15(2)**: 128–135.
48. Stepchenko LM. 2006. Participation of humic substances from peat in management of metabolic processes in broiler chickens. *Mat. International Conference*. Minsk. 143–145.
49. Stepchenko LM. 2008 The role of humic preparations in management of metabolic processes in formation of biological production of farm animals. *Dnepropetrovsk*. 70–74.
50. Stevenson FJ. 1982. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. Department of Agronomy. University of Illinois. 2–12.
51. Terry AS, Ribeiro GO, Gruninger RJ, Hunerberg M, Sheng Ping, Chaves AV, Burlet J, Beauchemin KA, McAllister TA. 2018. Effect of humic substances on rumen fermentation, nutrient digestibility, methane emissions, and rumen microbiota in beef heifers. *Journal of Animal Science*. **96(9)**: 3863–3877.
52. Terry AS, Ribeiro GO, Gruninger RJ, Hunerberg M, Sheng Ping, Chaves AV, Burlet J, Beauchemin KA, McAllister TA. Humic Substances Alter Ammonia Production and the Microbial Populations Within a RUSITEC Fed a Mixed Hay – Concentrate Diet. *Frontiers in mikrobiology*. **9**: 1410.
53. Teter A, Kedzierska-Matysek M, Barłowska J, Król J, Brodziak A, Florek M. 2021. The Effect of Humic Mineral Substances from Oxyhumolite on the Coagulation Properties and Mineral Content of the Milk of Holstein-Friesian Cows. *Animals*. **11**:1970.
54. Trckova M. 2005. Peat as a feed supplement for animals: a review. *Veterinární Medicína*. **50(8)**: 361–377.
55. Trevisan S, Francioso O, Quaggiotti S, Nardi S. 2010. Humic substances biological activity at the plant-soil interface. From environmental aspects to molecular factors. *Plant Signal Behav*. **5(6)**:635–643.
56. Valenzuela EI, Padilla-Loma C, Gómez-Hernández N, López-Lozano NE, Casas-Flores S, Cervantes FJ. 2020. Humic Substances Mediate Anaerobic Methane Oxidation Linked to Nitrous Oxide Reduction in Wetland Sediments. *Front Microbiol*. **15(11)**:587.
57. Váradyová Z, Kišidayová S, Jalč D. 2009. Effect of humic acid on fermentation and ciliate protozoan population in rumen fluid of sheep in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **89**:1936-1941.
58. Visser SA. 1972. Physiological action of humic acids on living cells. *The Proceedings of the IV International Peat Congress*. Finland: Ctaniemy. 186–192.
59. Vysokos MP, Gryshchuk GP. 2008. Effectiveness of feeding sodium humate to dry cows in the area of radiation contamination / Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. *Dnepropetrovsk*. 184–185.

60. Yang C, Zeng Q, Yang Y, Xiao RY, Wang YZ, Shi H. 2014. The synthesis of humic acids graft copolymer and its adsorption for organic pesticides. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. **20(3)**:1133–1139.
61. Zayarko OI. 2008. Influence of sodium humate on the reproductive function of cows / Achievements and prospects for the use of humic substances in agriculture. Dnepropetrovsk. 203–205.
62. Zigo F. 2020. Impact of humic acid as an organic additive on the milk parameters and occurrence of mastitis in dairy cows. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. **4**:358–364.

6 Seznam použitých zkratk a symbolů

HK – huminové látky

HL – huminové kyseliny

FK – fulvokyseliny

