

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Zhodnocení vybraných doplňků krmiv
na snížení negativních účinků mykotoxinů
na zdraví a užitkovost dojnic

MVDr. Jan Starý

2014

Vypracoval:

MVDr. Jan Starý

Studijní program: Zootechnika

Studijní obor: Speciální zootechnika

Školitel:

Prof. Ing. Jan Frelich, CSc.

Katedra zootechnických věd

Zemědělská fakulta

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem svou disertační práci, na téma: „Zhodnocení vybraných doplňků krmiv na snížení negativních účinků mykotoxinů na zdraví a užitkovost dojnic“, vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

Prohlašuji, že v souladu §47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce, a to v nezkrácené podobě fakultou elektrotechnickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce.

V Českých Budějovicích dne 18.12. 2014

.....

Jan Starý

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji všem, kteří mi při zpracování této disertační práce pomohli. Předně bych chtěl poděkovat panu profesorovi Ing. Janu Frelichovi, CSc. za vedení a všestrannou pomoc při řešení zvoleného tématu. Dále majitelům a zaměstnancům podniků, v kterých mi bylo umožněno provést mé sledování a pokusy s přidavkem premixů. A v neposlední řadě děkuji mé rodině a přátelům za velkou trpělivost a cenné rady při řešení zvoleného tématu.

ABSTRACT

The aim of this thesis was to determine levels of particular mycotoxins (zearalenone, T-2 toxin and deoxynivalenol) in forage for dairy cows and point out the problems of toxins presence. The other aim of this thesis was to record and classify the main health disorders of dairy cows. The main objective was to evaluate influence of two particular food supplements, mycotoxins binders, which are used to decrease the negative influence of mycotoxins which are commonly detected in forage. The study was carried out between years 2008 and 2013 in two companies which breed dairy cows in sub-montane areas of West and South Bohemia. During the study were examined 138 samples of forage. These tests were focused on presence of three mycotoxins - zearalenone, T-2 toxin and deoxynivalenol.

Test in company number 1 was focused on using mycotoxin binder based on aluminosilicate. By contrast test in company number 2 was focused on using mycotoxin binder based on yeast cultures - *Saccharomyces cerevisiae*. In company number 1 was proved positive effect of addition 5 kg of aluminosilicate based binder per 1 tone of forage. The main positive effect was decline of number of ill cows, most importantly decrease of metabolic disorders. On one hand, usage of this supplement did not lead to improvement of milk yield, but on the other hand there was a positive effect of decreasing number of somatic cells in milk. Test in company 2 was based on addition of 5 grams of yeast based binder per one cow. The result was mainly lower number of ill cows – decrease of problems with udder, reproduction disorders and cloven hoof problems. However, overall milk yield was not influenced by using the yeast based binder. The other positive effect was higher number of protein in milk and lower number of somatic cells.

According to this study was proved, that there is a positive effect of using both binders – aluminosilicate and yeast based. The effect is not only good health condition, but also better yield parameters. For that reasons usage of these supplements is recommended. They cannot substitute good quality forage, but they can reduce negative effect of mycotoxins already contained in the food. It is essential to monitor presence of mycotoxins regularly. If there is any sign of occurrence of mycotoxins, it is possible to decrease negative effects by using suitable binders and mixing the good quality forage with the one possibly contaminated. This leads to less negative effects on dairy cows and their health condition.

Keywords: dairy cows; mycotoxins; mycotoxins binders; health parameters; milk production; aluminosilicate (HSCAS – hydrated sodium calcium aluminosilicate); *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRAKT

Předmětem této práce bylo stanovit hladiny vybraných mykotoxinů (zearalenon, T-2 toxin a deoxynivalenol) v krmivech pro dojnice a upozornit na problematiku jejich výskytu. Nedílnou součástí práce bylo zaznamenat a kategorizovat hlavní zdravotní poruchy dojnic. Hlavním cílem bylo zhodnotit vliv dvou typů krmivových doplňků na snížení negativních účinků mykotoxinů běžně diagnostikovaných v krmivech. Studie byla prováděna v letech 2008 až 2013 ve dvou vzorových podnicích zabývajících se chovem dojeného skotu v podhorských oblastech západních a jižních Čech. Během tohoto období bylo vyšetřeno na 138 vzorků krmiv na obsah tří mykotoxinů a to zearalenonu, T-2 toxinu a deoxynivalenolu. V podniku 1 byl testován vliv krmivového doplňku na bázi hlinitokřemičitého jílu. V podniku 2 byl testován vliv krmivového doplňku založeného na základě kvasinkové kultury *Saccharomyces cerevisiae*.

V podniku 1 se nám podařilo prokázat pozitivní vliv přídavku hlinitokřemičitanového jílu, v dávkovaném množství 5 kg na 1 tunu krmiva, na snížení celkové nemocnosti dojnic, především na pokles metabolických onemocnění. Užití tohoto typu doplňku nevedlo ke zlepšení celkové mléčné užitkovosti, mělo však pozitivní vliv na snížení počtu somatických buněk v mléce. V podniku 2 se použitý kvasinkový doplněk, v dávce 5 g/ks/den, projevil pozitivně na pokles celkové nemocnosti dojnic, předně došlo k poklesu zastoupení onemocnění mléčné žlázy, reprodukčních poruch a onemocnění končetin. Celková mléčná užitkovost nebyla přídavkem kvasinkového doplňku ovlivněna, pozitivní vliv se projevil zvýšením obsahu bílkovin v mléce a poklesem počtu somatických buněk.

Na základě námi provedené studie, má použití testovaných doplňků do krmiv pro dojnice pozitivní vliv, jak na zdraví, tak užitkové parametry, a jejich podávání je doporučitelné. Ač nemohou nahradit kvalitní krmiva, mohou do značné míry zmírnit nežádoucí účinky krmiv obsahujících mykotoxiny. Důležité je provádět monitoring výskytu mykotoxinů v krmivech, neboť při podezření na kontaminaci, lze významně snížit negativní účinky mykotoxinů ředěním objemnou složkou krmiva o menší kontaminaci současně s použitím vhodného krmivového doplňku.

Klíčová slova: dojnice; mykotoxiny; mykotoxinové vyvazovače, mléčná produkce; hlinitokřemičité vyvazovače (HSCAS – hydrated sodium calcium aluminosilicate); *Saccharomyces cerevisiae*.

OBSAH

1. ÚVOD	9
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	
2.1. Taxonomické dělení plísní	13
2.2. Charakteristika mykotoxinů	15
2.3. Další kontaminanty produkované plísněmi ovlivňující příjem krmiva	50
2.4. Hlavní zdravotní poruchy dojnic	51
2.4.1. Metabolické poruchy	51
2.4.2. Poruchy reprodukce	59
2.4.3. Poruchy zdraví mléčné žlázy	64
2.4.4. Onemocnění končetin	70
2.4.5. Zdravotní poruchy s nepřímým vlivem mykotoxinů	71
2.5. Diagnostika zaplísnění a mykotoxinů	72
2.6. Metody dekontaminace mykotoxinů	75
2.6.1. Fyzikálně – chemické metody dekontaminace mykotoxinů	76
2.6.2. Silikátové vyvazovače	78
2.6.3. Mikrobiologické metody	79
Kvasinky ve výživě přežvýkavců	81
Účinek kvasinkových kultur na bachorové trávení	82
3. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	
3.1. Hypotéza	86
3.2. Cíle	86
4. METODIKA	
4.1. Charakteristika podniků	88
4.2. Sběr dat veterinárních záznamů	89
4.3. Analýza krmiv na obsah mykotoxinů	89
4.4. Aluminosilikátový vyvazovače – charakteristika a dávkování	90
4.5. Kvasinkový doplněk – charakteristika a dávkování	91
4.6. Odběry a analýza vzorků mléka	91
4.7. Statistické vyhodnocení výsledků	92
5. VÝSLEDKY A DISKUSE	
5.1. Hladiny mykotoxinů (zearalenon, deoxynivalenol, T-2 toxin) v krmivech na sledovaných farmách dojnic	93

5.1.1. Zearalenon	96
5.1.2. T-2 toxin	99
5.1.3. Deoxynivalenol	100
5.2. Četnost zdravotních poruch u sledované stádo dojníc	102
5.3. Vliv hlinitokřemičitanového adsorbéru - Podnik 1	107
5.4. Vliv kvasinkového doplňku – Podnik 2	110
6. SOUHRN	116
7. ZÁVĚR	119
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	120
9. VLASTNÍ LITERATURA	137
10. PŘÍLOHY	138

1. Úvod

Předmětem této práce bylo zjistit a popsat význam mykotoxinů na zdravotní stav a užitkovost dojnic, jako jednoho z mnoha negativních faktorů. Dále součástí práce bylo posoudit do jaké míry mohou doplňky krmiv obsahující *Saccharomyces cerevisiae* nebo hlinitokřemičitý adsorbent snížit negativní účinky mykotoxinů. Základem dobrého zdraví a následně i užitkovosti je kvalitní plnohodnotné krmivo, kvalitní pitná voda, odpovídající chovné prostředí, zootechnické, zoohygienické a veterinární zásahy. Přesto každé zvíře ve stádě je živou individualitou a jako takové může jedinec od jedince na přicházející podněty rozdílně reagovat, tak tomu je i u setkání se s mykotoxiny. Diagnostikovat mykotoxikózu je v terénních podmínkách velice obtížné, protože prozatím známé informace o účincích mykotoxinů byly získány na základě laboratorních pokusů, za přísně stanovených podmínek a za užití jednoho, nebo kombinace pouze několika pravděpodobně i v přírodě spolupůsobících mykotoxinů. Z druhé strany jsou informace o toxicitě metabolitů mikotoxinů získávány na základě analýzy tkání uhynulých živočichů, ale i zde jsme omezeni, detekčními možnostmi, finančními prostředky a laboratorním vybavením. Nejtěžší a nejhůře průkazné je tedy najít vztah mezi zdravotními komplikacemi živočichů, včetně člověka, a výskytem mykotoxinů v prostředí. Toto je do značné míry komplikováno multifaktoriálností zdravotních poruch a obtížnou detekovatelností pro nesnadné vytvoření reprezentativního vzorku krmiv a potravin. Nalezení standardů metodik kontroly hladin mykotoxinů a jejich stanovení má jako jeden z hlavních bodů i AOAC (Association of Official Analytical Chemists) a CEN (European Committee for Standardization) (CAST, 2003).

V rámci chovu dojnic je největší zřetel směřován na okoloporodní období. Péče o dojnici v období 8 týdnů před a 8 týdnů po porodu rozhoduje o celkové užitkovosti. Je to období s největším stresovým tlakem na dojnici, kdy se dokončuje vývoj plodu, probíhá regenerace mléčné žlázy, musí být porozeno zdravé a životaschopné tele a rychle nárůstá mléčná produkce a to vše za negativní energetické bilance (Skřivánek a kol., 2002; Dechow a kol., 2004).

Mnohdy se bohužel zapomíná na fakt, že vývoj budoucí dojnice začíná právě nitroděložním vývojem, pokračuje růstem v odchovných až po samotné období pohlavní dospělosti, kdy je zařazena do vlastní produkce. Mnoho chovatelů se snaží méně hodnotná nebo narušená krmiva využít právě ve výživě jalovic a tím dávají základ

budoucím potížím. Množství a využití přijatého krmiva je ovlivněno řadou mechanismů, uplatňují se stresové hormony, cytokiny, leptin, insulin, peptidy, neuropeptidy a mnoho dalších. Výsledkem vyváženého přijatého krmiva musí být zdravá mlékoproduktující dojnice (Ingvartsen a Andersen, 2000; Reynolds a Tyrrel, 2000; Jelínek a kol., 2003).

V současnosti je v České republice evidováno na 373 000 ks dojnic (Kvapilík a kol., 2014). Nejčastějším typem krmení je použití směsné krmné dávky (total mixed ration - TMR), s a nebo bez individuálního přídatku jadrných krmiv. Méně často se používá pastva dojnic, jedná se většinou o doplňkový způsob výživy v podhorských oblastech, kdy významným přínosem by měl být lepší zdravotní stav pasených zvířat oproti zvířatům trvale ustájeným. Zvířata na pastvě mají všeobecně méně problémů s končetinami, méně mastitid, méně metabolických a bachorových poruch, lepší zabřezávání a snažší porody (Eastrige, 2006; Hofírek a kol., 2009). Zároveň tyto pozitivní projevy se dostaví pouze pokud je pastva prováděna vhodným způsobem, na kvalitním pastevním porostu, za přiměřené vzdálenosti od stáje, zajištěna kvalitní pitná voda, správná volba plemene. Naproti tomu nelze při pastevním chovu konkurovat v mléčné užitkovosti stádům vysokoužitkových dojnic holštýnského plemene krmených TMR (Pavlů a kol., 2000). Zohlednit je třeba i kvalitu pastevního porostu a změny živinového složení především ke konci pastevní sezóny v podzimním období (Golinski a kol., 2006). V některých oblastech se využívají vedlejší produkty z potravinářského nebo pivovarnického průmyslu, tzv. by-products nebo accessory products. Jsou vhodným doplňkovým zdrojem dusíkatých látek, energie, mikroprvků a vitaminů, jedná se především o sojové pokrutiny, řepné výlisky, pivovarské mláto aj. (Zeman a kol., 2006; Jeroch a kol., 2006). V této souvislosti používá Luy (2012) termín tzv. „*antropogenních onemocnění*“, tedy zdravotních poruch přivozených člověkem, kdy pro snahu dosáhnout co největší užitkovosti a zisku, již není možnoé sloučit genetické dispozice s potřebou zajištění odpovídajícího krmiva a eticky přijatelné životní podmínky. Používá dokonce termínů „*agony breeding*“ nebo v němčině „*Qualzucht*“, termínu pro nesmyslnou honbu za produkcí bez ohledu na to, co taková snaha přináší a do jaké míry je takové počínání ještě přípustné z etického hlediska. Ve všech zemích, ve všech oblastech, musí být základem úspěšného chovu dojeného skotu výživa vysoce kvalitními objemnými a jadrnými krmivy (Wilcox, 1999). Vezmeme-li poměr přijatých objemných krmiv ke krmivům jadrným a jejich kvalitu, je opodstatněné upozornit na význam zaplísňených krmiv, jako faktoru vedoucímu ke sníženému příjmu krmiva, jeho

nižší využitelnosti a vyššímu výskytu bachorových a následně metabolických poruch (Yiannikouris a kol., 2004; Binder, 2007; Fink-Gremmels, 2008). Výskyt patogenních mikroorganismů v krmivech podle Hintona (2000) je uveden v Tabulce 1.

Tabulka 1. Výskyt patogenních mikroorganismů v krmivech (Hinton, 2000)

Kategorie	Krmiva a komponenty krmiv	Sušená nebo fermentovaná píče	Pastva	Krmiva ze zbytků, potravin a odpadků
A. Infekční agens přenosná na člověka z hospodářských zv. - zoonózy	Spory <i>Bacillus anthracis</i> Priony BSE <i>Salmonella enteritidis</i> Virus pseudomoru drůbeže	<i>Toxoplasma gondii</i>	Spory <i>Bacillus anthracis</i> <i>Mycobacterium</i> spp. Vajíčka tasemnic např. <i>Csticerkus bovis</i>	<i>Trichinella spiralis</i>
B. Nezoonotické infekční agens nebo jejich produkty, které působí onemocnění hosp. zvířat a lidí		Toxin <i>Clostridium botulinum</i> <i>Listeria monocytogenes</i>		
C. Infekční agens, které působí epidemie hosp. zvířat u lidí může způsobit pouze lehká onemocnění	Virus afrického moru prasat Kulhavka a slintavka Mor prasat			Virus afrického moru prasat Kulhavka a slintavka Mor prasat
D. Neinfekční agens, které působí nemoci hospodářských zvířat a lidí	Spory hyfy plísní působící alergická onemocnění	Spory a hyfy plísní působící alergická onemocnění		
E. Produkty neinfekčních agens, které působí onemocnění hosp. zvířat a lidí	Mykotoxiny	Mykotoxiny	Mykotoxiny	

Pozn.: **A.** Předpokládáno, ale ještě stále ne zcela prokázáno. **B.** Virus pseudomoru drůbeže se může přenášet na drůbež přes krmivo a ze zvířat na člověka prostřednictvím aerosolu. Riziko infekce je velmi malé, u lidí může dojít k lehkému zánětu spojivek.

Problematika plísni úzce souvisí s úrovní pěstování, skladováním a zpracováním krmiv. Nezáleží tedy jen na klimatických podmínkách, ale z velké míry především na vlivu člověka, použití vhodných odrůd do daných podmínek, použití správných technologických postupů při pěstování, sklizni a uskladnění krmiv. Jinak prostřednictvím narušených a znehodnocených krmiv dochází k ohrožení zdraví lidí a zvířat, k navýšení investic do zdravotní péče a veterinárních úkonů, nastává pokles užitkovosti hospodářských zvířat, nastává otázka jakým způsobem neškodně zlikvidovat napadená krmiva (Hussain a Brasel, 2001).

2. Literární přehled

2.1. Taxonomické dělení plísní

Plísně neboli mikromycety jsou obligátně aerobní, eukaryotní organismy. Plísně je společné označení pro velkou skupinu organismů označovaných jako houby nedokonalé – *Fungi imperfecti*, které jsou nedílnou součástí přirozeného prostředí a plní řadu nezbytných funkcí v ekologické rovnováze ekosystému, kde především narušují organické zbytky rostlin, přesto je i řada druhů přímých rostlinných patogenů, na straně druhé existuje nemalý počet tzv. endofytních hub, které v částečné symbióze jsou svému hostiteli prospěšné a to v nemalé míře i produkcí sekundární metabolitů, jež mohou působit protektivně oproti skutečným patogenům (CAST, 2003).

Taxonomické řazení plísní: říše *Fungi* – houby, třída *Eurotiomycetes*, řád *Eurotiales* – plesnivkotvaré, čeleď *Trichocomaceae* – plísněovkovité, více než 40 rodů, především rod *Aspergillus* – kropidlák, *Penicillium* – štětičkovec. Třída *Sordariomycetes*, řád *Hypocreales* – másenkotvaré, čeleď *Nectriaceae* – rážovkovité, rod *Fusarium* – srpovnička, z čeledi *Clavicipitaceae* – paličkovicovité, rod *Claviceps* – paličkovice, rod *Neotyphodium*. Třída *Dothideomycetes*, řád *Pleosporales* – zdřovkotvaré, rod *Alternaria* – čern, rod z čeledi *Pleosporaceae* – zdřovkovité *Pithomyces chartarum* (www.biolib.cz).

Dle praktického hlediska s ohledem na vliv plísní na zdraví rostlin a živočichů lze rozdělit plísně do dvou skupin. Primárně patogenní, které sami o sobě cíleně napadají svého hostitele a způsobují onemocnění. Taková onemocnění se označují mykózy a to bez jakéhokoli uplatnění mykotoxinů, ale prostřednictvím mechanismů na buněčné úrovni, jedná se o obligátní, případně fakultativní patogeny. Druhá skupina je tvořena saprofytními plísněmi, které produkují mykotoxiny jako vedlejší produkty metabolismu a tím poškozují hostitele bez svého prospěchu, takto vzniklá onemocnění se označují mykotoxikózy. Řada produktů plísní může být však i prospěšná a využívá se v medicíně jako léčivo, např. všeobecně známá antibiotika. Nejznámějším antibiotikem je penicilin z *Penicillium spp.* Dále fumagillin izolovaný z *Asp. fumigatus*, využívaný jako antikancerózum k tlumení nádorů endoteliální buněk, nebo jako součást antimalarijní léčby, antibiotikum využívané krom jiného v USA k léčbě nosematózy u včel. Kyselina fusariová produkována rodem *Fusarium*, využívána jako cytostatikum. Kyselina mykophenolová produkována rodem *Penicillium*, imunosupresivum jako součást posttransplantační léčby. Beauvericin z *Fusarium spp.*, insekticid a antibiotikum proti

G+ bakteriím a mykobakteriím. Enniatin z *Fusarium spp.* uváděný jako anti-AIDS lék a další (CAST, 2003; Glenn, 2007; Fink-Gremmels, 2008).

První problémy s mykotoxiny se objevují souběžně s rozvojem zemědělství, ergotismus zaznamenaný v Bibli, otravy popsané ve starých antických svitcích odpovídající projevům fusariotoxikózy či intoxikacím T-2 toxinem (T-2) nebo problémy způsobené s nejvyšší pravděpodobností zearalenonem (ZEA) v Etruské civilizaci, tzv. Athénská krize v 5. století před Kristem. Nebo záhadná úmrtí obdobné účinku ochratoxinu A (OTA) ve Starém Egyptě (Yiannikouris a Jouany, 2002; Morgavi a Riley, 2007;). V novodobých dějinách pak případ tzv. „*Turkeys X disease*“ z roku 1960 ve Velké Británii, kdy za příznaků nekrózy jater a hyperplazie žlučových uhynulo na 100 000 krůtích brojlerů, tehdy se jednalo o otravu aflatoxiny (AF) (Asao a kol., 1963; Newberne a Butler, 1969).

Jeden z předních představitelů mikroskopických hub rod *Fusarium* byl popsán před více než 200 lety Linkem v roce 1809 (Glenn, 2007). Studiu mykotoxinů v rámci metabolismu plísní se věnovali ve svých studiích např. Desjardins (2006), Whitlow a Hagler (2005). Nemalý podíl mají plísně a houby obsahující jedovaté a halucinogenní látky na vzniku alergií a otrav. Známý jsou pulmonální mykotoxikóza a řada nespecifických postižení zdraví známých již ze staré literatury za svůj podíl na záhadných až zázračných jevech (Šimůnek, 2003).

Růst plísní je omezen na povrchovou vrstvu, zejména pokud není siláž dokonale přikryta fóliemi. Plísně metabolizují cukry a kyselinu mléčnou za tvorby oxidu uhličitého a vody způsobují ztrátu živin v siláži, zhoršují její chuť a v neposlední řadě jsou producenty mykotoxinů (Pettersson, 2004).

Dle způsobu poškození potravin a krmiv se plísně dělí do tří skupin: polní (*Fusaria*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Claviceps* atd.); skladištní (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Byssosclama*, *Absida*, *Artrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*) a kombinované (*Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*). Plísně je možné členit i podle nároků na substrát, na kterém se uplatňují a podmínek prostředí, patří sem především teplota, vlhkost vzduchu a dostupnost kyslíku (D'Mello a kol., 1999).

Nielsen a kol. (1999) řadí plísně do tří skupin dle postupného narušení rostlinného substrátu s ohledem na stupeň vodní aktivity (W_a); do skupiny první – primárních kolonizátorů s nejnižším W_a pod 0,8 řadí rody *Penicillium*, *Aspergillus*, *Wallemia*, *Eurotium*; skupinu sekundárních kolonizátorů tvoří plísně s W_a mezi 0,8 až 0,9 zde je

zařazena *Cladosporidia*; skupina terciárních kolonizátorů o W_a nad 0,9 zahrnuje rody *Stachybotris*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Alternaria*. Plísně po napadení využívají hostitelských tkání pro svůj metabolismus, čímž snižují obsah sacharidů, proteinů i tuků, takto narušené krmivo ztrácí svou energetickou i nutriční hodnotu, v zaplísňených krmivech může dojít i ke snížení obsahu některých esenciálních aminokyselin např.: argininu, cysteinu a lysinu. Minima a maxima teplotního optima a vodní aktivity pro růst toxinogenních plísní podle Rayneriho (2006) je uvedeno v Tabulce 2.

Tabulka 2. Hodnoty teplotních a vodních parametrů pro růst toxinogenních plísní

Species	T min °C	T max °C	T optimum °C	Wa min	Wa optimum
<i>Aspergillus flavus</i>	6	46	36 - 38	0,78	0,95
<i>Aspergillus parasiticus</i>	6	46	36 - 38	0,78	-
<i>Aspergillus ochraceus</i>	12	37	36 - 38	0,77	-
<i>Penicillium verrucosum</i>	- 2	36	23	0,81	-
<i>Fusarium culmorum</i>	2	37	25	0,78	0,99
<i>Fusarium graminearum</i>	2	40	24 - 26	0,89	0,98 - 0,99
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	- 2	35	12 - 15	0,89	-
<i>Fusarium moniliforme</i>	5	42	25	0,87	-
<i>Fusarium proliferatum</i>	5	42	25	-	-

Základním opatřením proti rozšíření plísní v krmivech je dodržování osevních postupů, střídání plodin na stanovištích, odstraňování rostlinných zbytků a upřednostňování vyšlechtěných odrůd s geneticky fixovanou vyšší odolností k napadení plísněmi (Glenn, 2007).

2.2. Charakteristika mykotoxinů

Mykotoxiny jsou druhotné metabolity saprofytických a patogenních plísní (hub nedokonalých – *Fungi imperfecti*), patřících velkou měrou k rodům *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Monascus*, *Trichoderma* a *Mucor*. Název mykotoxin je odvozen z řeckých slov *mycos* „houba“ a *toxin* „jed“.

Mykotoxikóza je onemocnění, jež je vyvoláno mykotoxiny, které se do organismu dostávají nejčastěji pozřením, ale možné je i vdechnutí, nebo prostup kůží. Podle povahy otravy lze rozdělit mykotoxiny do tří skupin:

1. Akutní mykotoxikózy, jsou takové, u kterých účinek nastupuje bezprostředně po pozření, klinické projevy jsou výrazné a typické pro konkrétní mykotoxin, nebo

skupinu mykotoxinů.

2. Chronické primární mykotoxikózy se rozvíjí po dlouhodobém příjmu nízkých dávek mykotoxinů. Často se projevují nespecifickými příznaky, jako je pokles příjmu potravy, pokles hmotnosti a pokles užitkovosti.

3. Sekundární mykotoxikózy nastupují po dlouhodobé expozici nízkým dávkám mykotoxinů, neprojevují se za příznaků mykotoxikózy samotné, ale predisponují k dalším infekčním onemocněním (Pettersson, 2004; Morgavi a Riley, 2007).

Plísně vegetují a produkují své toxiny, na cereálních krmivech, stejně tak na krmivech objemných a to již v době růstu, sklizně a následně i skladování, za rozličných klimatických podmínek. Např. *Fusaria* tvoří dlouhá vláknitá makrokonidia s banánovitým či kánoi podobným tvarem. Ta se na vzduchu rozpadají a prostřednictvím větru se šíří na další rostliny (Yiannikouris a Jouany, 2002).

Krmivo napadené plísněmi je krom opticky zjistitelných změn, provázeno typickým pachem způsobeným produkcí až na 150 rozličných chemických látek, zahrnujících těkavé mastné kyseliny (MVOCs – Microbial Volatile Organic Compounds), terpeny, estery, ethery, alkoholy, aldehydy a jiné (Fink-Gremmels, 2008).

Mezi hlavní faktory ovlivňující výskyt mykotoxinů patří:

- A, Plant stress – neúrodná půda, napadení hmyzem, teplotní výkyvy,
- B, Agronomická péče,
- C, Sklizňový stres – pozdní sklizeň nebo příliš přeschlé plodiny („přestárlé“),
- D, Stres ze skladování – vlhkost, nedostatečná fermentace s nesprávnou konzervací,
- E, Chyby při předkládání krmiva.

Nejlépe však plísním svědčí vysoká vzdušná vlhkost, teploty od 20 do 30°C, neutrální až mírně kyselé pH a již narušený substrát. Například teplotní optimum pro kolonizaci *Aspergillum flavum* uvádí Smith a Moss (1985) v rozmezí mezi 25 až 35 °C, s nejvyšší produkcí aflatoxinů při 28-30°C. Whitlow a Hagler (2005) uvádí na příkladu *Fusarií* zodpovědných za alimentární toxickou aleukii, že optimální podmínky pro růst plísní nemusí zdaleka znamenat optimální podmínky pro produkci toxinů. Optimum růstu *Fusarií* uvádí 25 až 30°C, zatímco maximum mykotoxinů je tvořeno při teplotách blízkých mrazu, za situace kdy plísně nerostou. Rayneri (2006) za ideální podmínky pro růst fusariových plísní označuje teplotu 30 °C a Moss (1991) 21°C. Teplotní optimum pro tvorbu toxinů je u T-2 6-12°C, ZEA 19-20°C a deoxynivalenolu (DON) 28°C (Moss, 1991; Park a kol., 1996), viz. Tabulka 2 minimální a maximální teploty a vodní aktivity pro růst plísní (Rayneri, 2006). Jsou samozřejmě výjimky např. *Penicillium spp.*

roste i při 6°C a mnohé z mykotoxinů jsou produkovány i při teplotě pod 10°C. V některých případech může paradoxně použití fungicidů vést k oslabení růstu plísní, vyvolání stresové zátěže na plísňový organismus a tím může dojít ke zvýšení produkce toxinů. Záleží na použitém fungicidu a aktuální vodní aktivitě (Wa). Obiloviny jsou následně více vnímavé k napadení plísněmi a rozvoji produkce mykotoxinů, výjimkou je pouze rýže, u které se mykotoxiny objevují velice vzácně (Rayneri, 2006). Nejčastěji diagnostikované mykotoxiny v krmivech pro skot v Evropě uvádí Tabulka 3, výskyt mykotoxinů podle typů potravin a krmiv uvádí Tabulka 4. Více plísní je nalézáno v balících zabalených ve foliích než v seně uskladněném tradičním způsobem, přitom ze stejné píce (Yiannikouris a Jouany, 2002). Obdobně volba odrůdy např. u kukuřice může výrazně ovlivnit rozvoj plísní a produkci mykotoxinů, ranější odrůdy vykazovaly až čtyřnásobně nižší obsah mykotoxinů ZEA a DON než pozdní odrůdy. Napadení zavíječem kukuřičným (*Ostrinia nubilalis*) listů a rozvoj *Fusarií*, kdy obsah fumonisin (FUM) je až 10x vyšší, než v oblastech bez zavíječe, stejně tak je tomu u ZEA a DON (Gareis a Ceynowa, 1994; Rayneri, 2006). U travních porostů se zvyšuje obsah mykotoxinů v podzimním období. Od srpna je pomalejší růst rostlin, vyšší vlhkost a to napomáhá rozvoji plísní a následně mykotoxinům. Je tomu tak především u ergotaminu (Ergot), OTA a ZEA (Golinski a kol., 2006).

Tabulka 3. Geografické rozložení mykotoxinů (Devegowda a Castaldo, 2000)

Lokalita	Mykotoxin
Západní Evropa	ochratoxin, deoxynivalenol, zearalenon
Východní Evropa	zearalenon, deoxynivalenol
Severní Amerika	ochratoxiny, zearalenon, deoxynivalenol, aflatoxiny
Jižní Amerika	aflatoxiny, fumonisiny, ochratoxiny, deoxynivalenol, T-2 toxin
Afrika	aflatoxiny, fumonisiny, zearalenon
Asie	aflatoxiny
Austrálie	aflatoxiny, fumonisiny

Dnes je popisováno více než 400 různých mykotoxinů, které jsou děleny do několika základních skupin, nejčastěji se užívá dělení dle jejich chemické struktury a vzájemné molekulární podobnosti: aflatoxiny, fumonisiny, ochratoxiny, nespecifické tremorgeny, makrocyclické a nemakrocyclické trichotheceny, ergotamin a další (Yiannikouris a Jouany, 2002; Fink-Gremmels, 2008). Podle zaměření některých prací autoři upřednostňují např. dělení dle způsobu biosyntézy, podle mykotoxinu produkujícího skupiny plísní, hlavního toxického účinku, nebo dle mechanismu

narušení buněčného metabolismu a dále podle letální dávky (LD50) pro jednotlivé živočišné druhy a kategorie.

Tabulka 4. Nejčastější mykotoxiny v krmivech a jejich producenti (Velíšek a kol., 1999; Binder, 2007)

Mykotoxin	Druh plísně	Substrát	Účinek na organismus	Limit
Aflatoxin (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	<i>Asp. flavus</i> , <i>Asp. parasiticus</i>	Kukuřice, pistácie, ořechy, podzemnice	Hepatotoxicita, hepatokancerogenita, teratogenita	B ₁ 0,35- 0,5 těl. hm M1 2μg/kg v dětské výživě
Sterigmatocystin (prekurzor AF)	<i>Asp. flavus</i> , <i>Asp. versicolor</i> , <i>Asp. parasiticus</i>	Cereálie	Hepatokancerogenita	5- 20μg/kg potravin
Trichotheceny (Deoxynivalenol, T2 toxin, Nivalenol, Fusarenin X, HT-2 toxin, Diacetoxyscirpe- nol)	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F.</i> <i>equiseti</i> , <i>F.</i> <i>sporotrichoides</i> , <i>F.</i> <i>poae</i> , <i>Myrothecium</i> <i>verrucaria</i> , <i>M.</i> <i>roridum</i> , <i>Stachybotrys</i>	Cereálie, hlavně kukuřice, pšenice, sojové boby, olejniny, rýže	Imunotoxicita, poruchy GIT (emese, zvracení, nižší příjem krmiva), dermatitidy, hemoragie, edémy, eroze dutiny ústní	
Zearalenon	<i>F. culmorum</i> , <i>F.</i> <i>graminearum</i> (<i>Giberella zeae</i>), <i>F.</i> <i>sporotrichoides</i> , <i>F. semitectum</i>	Kukuřice, semena řepky, pšenice, ječmen, čirok, oves	Hyperestrogenní syndrom (otok vulvy, zesílení děložní sliznice, atrofie gonád, aborty	V ČR dosud ne
Ergotové alkaloidy (Ergometrin, ergosin, ergotamine aj.)	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>Cl. paspali</i> , <i>Cl. fusiformis</i>	Obiloviny	Nervový (halucinace) a gangrenózní syndrom	
Patulin	<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. urticae</i> , <i>Aspergillus</i> <i>clavatus</i> , <i>Byssosclamyces nivea</i> , <i>P. Patulinum</i>	Ovoce, zelenina,	Kancerogenita, mutagenita, neg. na GIT, imunotoxicita	0,05 – 0,1 mg/kg potravin
Fumonisin (B ₁ , B ₂ , B ₃ , B ₄ a A ₁ , A ₂) Moniliformin, Kys. fusarová	<i>Fusarium moniliforme</i> (<i>verticillioides</i>), <i>F.</i> <i>proliferatum</i>	Kukuřice i v silážích, rýže, proso	Plicní edém, leukoencefalomaláci, nefrotoxicita, hepatotoxicita	nejsou
Ochratoxin A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium</i> <i>viridicatum</i> , <i>P.</i> <i>Cyclopium</i> , <i>P.</i> <i>verrucosum</i>	Obiloviny	Nefrotoxicita, porcinní nefropatie, hepatotoxicita, imunosuprese	20μg/kg cereálií
Moniliformin, Fusarin C	<i>Fus. moniliformis</i>	Obiloviny	Kardiotoxicita, mutagenita	nejsou
Citrinin	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P.</i> <i>verrucosum</i>	Žlutá rýže, obiloviny	Hepatotoxicita, nefrotoxicita, teratogen	
Citreoviridin	<i>Penicillium citreo-</i> <i>viride</i>	Kukuřice, ořechy	Křeče, paralýza	nejsou
Sporidesmin A	<i>Pithomyces chartarum</i>			

Lolitremové alkaloidy	<i>Neotyphodium lolii</i>			
Kyselina cyklopiazonová	<i>A. flavus</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. griseofulvum</i>	Kukuřice, slunečnice	Nekróza jater, GIT, svaloviny, karcinogen	nejsou
Phomopsiny	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>			
Kys. penicilová	<i>P. aurantiogriseum</i>	Kukuřice	Cytotoxicita, karcinogenita	nejsou
Kys. tenauzonová, alternariol	<i>Alternaria alternata</i>			
Roquefortin C	<i>P. roquefortii</i>	Sýry, senáže		

WHO (World health organization) – IARC (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny světové zdravotnické organizace) (1993a,b) řadí jednotlivé mykotoxiny do skupin dle rizik karcinogenity (Tabulka 5). V roce 1993 zahrnuje velkou část mykotoxinů mezi karcinogenní látky: skupina 1 – karcinogenní pro člověka: aflatoxiny; skupina 2 – potenciálně karcinogenní pro člověka: ochratoxiny (OT) a fusariotoxiny. Trichotheceny a zearalenon byly zařazeny do skupiny 3 dle současných poznatků nekarcinogenní pro člověka (Šimůnek, 2003).

Tabulka 5. Kategorie karcinogenity dle IARC (1993a,b, 2002)

Category 1	Carcinogenic to humans (karcinogenní pro lidi)
Category 2A	Probably carcinogenic to humans (pravděpodobně karcinogenní)
Category 2B	Possibly carcinogenic to humans (možná karcinogenita)
Category 3	Not classifiable as to carcinogenicity in humans (nezařaditelný jako karcinogenní)
Category 4	Probably not carcinogenic to humans (pravděpodobně nekarcinogenní)

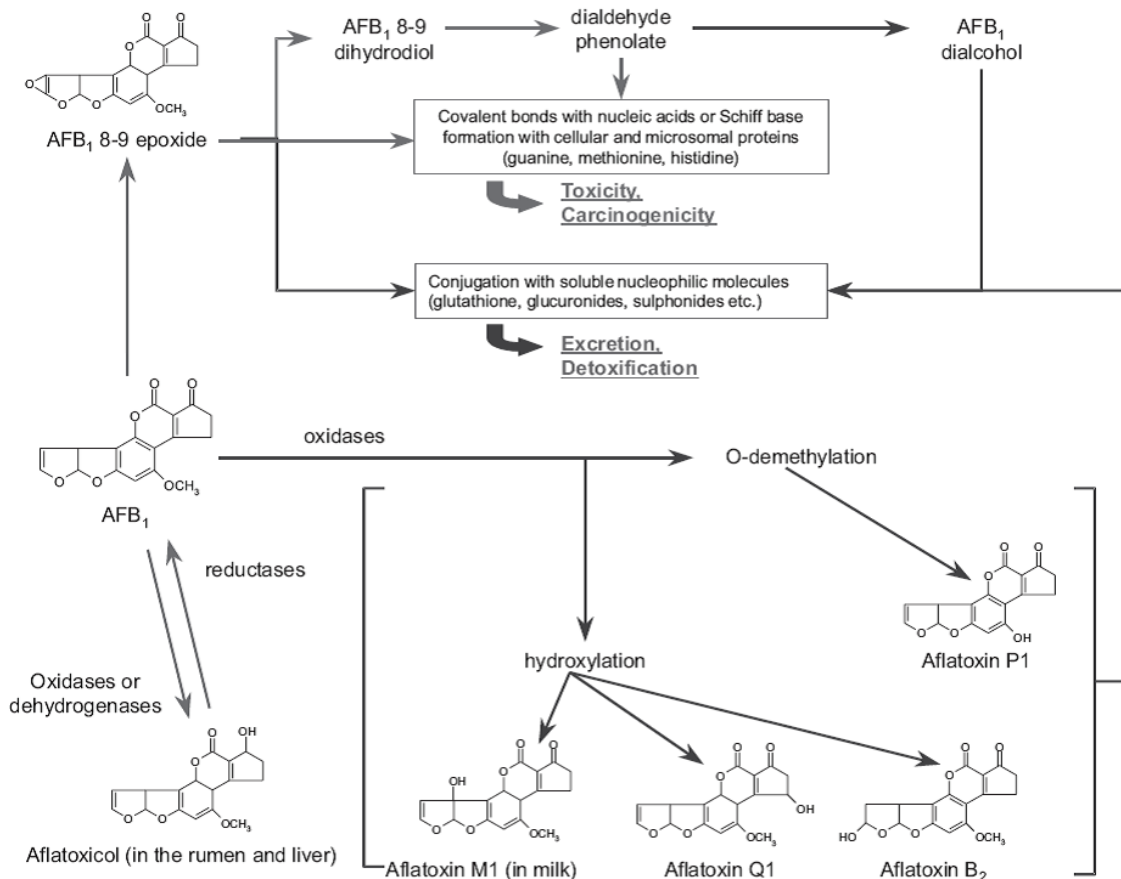
Mykotoxiny se skrze pestrost jejich toxického účinku a vzájemného synergického působení stávají rizikovým faktorem pro hospodářská zvířata a následně i člověka jako finálního konzumenta. Efekt toxického účinku mykotoxinů probíhá ve čtyřech úrovních: 1. snížení příjmu krmiva; 2. narušení metabolismu a konverze krmiv v organismu; 3. účinek na endokrinní řízení organismu; 4. suprese imunitních mechanismů (Whitlow a Hagler, 2005). Metabolismus mykotoxinů v živém organismu je sestaven z řady dějů, které zahrnují cesty detoxifikace, ale mnohdy bohužel bioaktivace za vzniku řady metabolitů o mnoho výraznějším biologickém účinku než má základní látka (Korostelova a kol., 2009). Vstřebávání v gastrointestinálním traktu (GIT) je ovlivněno charakterem molekuly, např. DON, T-2 a fumonisin B₁ (FB₁) jsou slabě absorbovány v GIT. Naproti tomu aflatoxin B₁ (AFB₁), kyselina cyklopiazonová, OTA a ZEA jsou zpracovány játry a vyloučeny žlučí (Yiannikouris a Jouany, 2002;

Gajecka a kol., 2009). Může se jednat o prostou difúzi, o využití nepolárních částí molekul nebo aktivní transport. Zearalenon a aflatoxiny se dostávají do vnitřního prostředí většinou pasivním transportem, zatímco molekuly obsahující fenolickou nebo karboxylovou skupinu využívají k transportu lipidovou membránu buněk tomu je tak např. u ochratoxinů, citrininu, kyseliny cyklopiazonové (Yiannikouris a Jouany, 2002). Tak jak probíhá v organismu detoxifikace jsou ovlivňovány i orgány přímo s mykotoxinem se setkávající, v první řadě účinek trávicích enzymů hostitele a vliv střevní případně předžaludkové mikroflóry, dále pak možnosti eliminace prostřednictvím jater, konjugace na bílkoviny plasmy a vyloučení žlučí a posléze trusem nebo skrze ledviny močí (Eaton a kol., 1994; Kan a Meijer, 2007). Biotransformace v organismu zahrnuje dvě fáze, první fáze zahrnuje redukci, oxidaci a hydrolytickou reakci. Uplatňují se především mikrosomální cytochrom P450, monooxygenázy obsahující flavin a alkoholdehydrogenázy, jsou hlavními enzymy v oxidoredukčních procesech. V druhé fázi dochází ke konjugaci vzniklých metabolitů, zvýšení jejich rozpustnosti ve vodě a tím je usnadněno jejich vyloučení močí. Uplatňují se především glukuronosyltransferáza, sulphotransferáza, metyl a aminotransferáza, S-glutathiontransferáza a N-acetaltransferáza, viz Obrázek 1 metabolismus AFB₁ (Yiannikouris a Jouany, 2002; Gajecka a kol., 2009).

Pokud organismus není schopen veškerý přijatý toxin eliminovat, dochází k akumulaci v tkáních, případně k jeho uvolňování i prostřednictvím dalších sekretů, např. mlékem. Akutní toxicita je známa již z počátečních dob studia mykotoxikóz a to především u Aflatoxinů, v roce 1960 byly izolovány jako příčina tzv. „*Turkey X disease - Hepatic necrosis*“ (Asao a kol., 1963; Newberne a Butler, 1969). Bylo sepsáno na tisíce prací o aflatoxinech a patří mezi jedny z nejstudovanějších, již v roce 1966 byla stanovena LD₅₀ 500 mg/kg pro kachňata, laboratorní potkany a ovce (Wogan, 1966). Řadou studií byl potvrzen jejich mutagenní a karcinogenní efekt skrze vazbu na DNA (Croy a kol., 1978; Bennett a kol., 1981; Foster a kol., 1983; Muench a kol., 1983).

U přežvýkavců dochází k akutní toxicitě s následkem smrti velmi zřídka, mnohem častěji je zmiňován dlouhodobý vliv vedoucí k chronickému narušení zdraví (Coulombe, 1993; Yiannikouris a Jouany, 2002; Binder, 2007). Na zvyšující se obsah mykotoxinů v krmivu poukazují práce především u zvířat chovaných na výkrm s krátkým generačním intervalem a příjmem koncentrovaných krmiv, kde dopady účinku mykotoxinů mohou mít až akutní podobu. U polygastrických zvířat jde spíše o chronický, kumulativní charakter toxikóz (Gaumy a kol., 2001; Morgavi a Riley, 2007).

Na příkladu ochratoxinu (390 – 540 µg/kg) a aflatoxinu (12 – 13 µg/kg) se pokusil Patterson a kol. (1981) navodit klinickou intoxikaci u dvanáctidenních telat, přesto byl pozorován nulový efekt, pravděpodobně pro již účinně fungující detoxifikační procesy bacheru.



Obrázek 1. Příklad metabolismu AFB₁ v játrech, proces detoxikace a cesty vedoucí ke karcinogenitě (Yiannikouris a Jouany, 2002)

U hospodářských zvířat je popsán negativní vliv aflatoxinů na pokles imunitních funkcí, na pokles hladin T-lymfocytů a snížení buněčné imunity. U skotu provedl studie Paul a kol. (1977), u ovcí Fernandez a kol. (2000). V předloženém krmivu z AFB₁ vzniká přeměnou v játrech aflatoxin M₁ (AFM₁) od 0,5 do 5% z původně přijatého krmiva, hladina AFM₁ je ovlivněna i aktuálním oxidativním stresem v organismu, úrovní mléčné užitkovosti, případně přítomností bakteriální mastitidy (Applebaum a kol., 1982; Veldman a kol., 1992). Symptomy působení mykotoxinů mohou být často dosti nespecifické a o mykotoxinech se začíná mluvit až ve chvíli, kdy dojnice neodpovídají na klasickou veterinární terapii, dle symptomů. Častá je intermitentní diarhea, mnohdy s příměsí krve nereagující na terapii antibiotiky. Obecně dochází

k poklesu produkce, nižšímu zájmu o krmivo, neupravená srst, podvyživený vzhled, tiché říje, nebo naopak říje u březích dojníc, narušení reprodukčního cyklu, zvýšení počtu abortů, zvyšuje se četnost výskytu dislokací slezu, ketóz, retence secundin, metritid, mastitid a ztučnění jater (Whitlow, 2011).

Fink-Gremmels (1999) a Placinta a kol. (1999) uvádí, že mezi 25% a 40% obilovin ze světové produkce je kontaminováno mykotoxiny. Whitlow a kol. (1994) a Yiannikouris a Jouany (2002) na základě vyšetření 2400 vzorků krmiv nasbíraných za období 9 let v Severní Karolině zjistili pozitivních na AF (nad 10 ppb) 8 – 9%, DON (nad 500 ppm) 51 – 52% pozitivních vzorků, zearalenon (nad 300 ppm) 17%, T-2 (nad 200 ppm) 5 a 4% a FB₁ (nad 1 ppm) 60%. Russel a kol. (1991) odhadují kontaminaci krmiv mykotoxiny na území Spojených států v rozmezí 19 až 24 %. Jones a kol. (1994) odhaduje na základě výpočtu poklesu efektivity výroby živočišných produktů v důsledku kontaminace krmiv mykotoxiny roční ztráty v řádech miliard amerických dolarů pro území Spojených států Amerických, podobné odhady zveřejnila i CAST (2003).

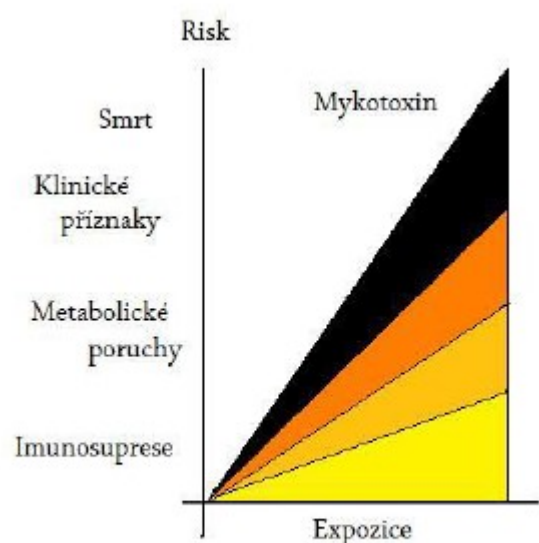
V polovině osmdesátých let 20. století se poprvé objevuje termín tzv. *skrytých mykotoxinů – masked mycotoxins*. Začalo se o nich mluvit v souvislosti s případy onemocnění odpovídajících svým průběhem již známým mykotoxikózám, ovšem bez průkazu doposud nalézaných mykotoxinů. Ukázalo se, že se jedná o projev kontaktu s metabolity mykotoxinů, které se povětšinou formou konjugace váží na plazmatické proteiny, nebo již v GIT dochází k jejich hydrolyzaci a unikají tak doposud užívaným detekčním metodám (Gareis a Ceynowa, 1994). I rostliny napadené plísněmi se snaží jejich metabolity odstranit, nebo alespoň izolovat, např. obiloviny naváží mykotoxin na cukernou složku (glukózu) a vzniklou látku umístí do vakuol, skryté mykotoxiny jsou známy u DON a ZEA (Desjardins, 2006). DON je znám pro svůj vomitogenní účinek u prasat, u skotu poškozují jaterní tkáň a snižuje obranyschopnost organismu. T-2 má podobně negativní účinek na organismus jako DON, výrazněji poškozují epitelální výstelku řady orgánů, především GIT a mléčné žlázy. ZEA je estrogenně působící látka, chemickou strukturou podobná steroidním pohlavním hormonům, ovlivňuje funkci osy hypotalamus - hypofýza - vaječníky, navíc má i anabolický efekt. OT, DON, ZEA a T-2 se na rozdíl od aflatoxinů vylučují v mléce jen ve stopovém množství, oproti tomu se kumulují v tkáních zvířat a tím narůstá i riziko pro narušení zdravotní nezávadnosti potravin.

Limity mykotoxinů v potravinách stanovuje Nařízení komise (ES) č. 1881/2006.

Maximální limity v krmivech definuje Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/32/ES. Tato směrnice řeší pouze aflatoxiny, limity ostatních mykotoxinů jsou řešeny formou Doporučení komise 2006/576/ES – o přítomnosti deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu A, T-2 toxinu, HT-2 toxinu a fumonisinů v produktech určených ke krmení zvířat. Pro výrobce krmiv je významné Doporučení Komise 2006/583/ES – k prevenci a snižování fusariových toxinů v obilovinách a výrobcích z obilovin, shrnující zásady správných agrotechnických postupů pro snížení obsahu mykotoxinů.

Vliv prostupu mykotoxinů do mléka z pohledu ochrany zdraví lidí studoval např. Guerre a kol. (2000). Potvrdil vstup AFM₁ do mléka, naproti tomu mykotoxiny typu ZEA a DON navzdory své chemické struktuře a tedy i teoretické liposolibilitě do mléka prostupují jen téměř v nulových hodnotách. Nalézt tedy korelaci mezi přijatým množstvím těchto mykotoxinů, hladinou v krvi a v mléce se zdá být pro praktičtější využití nemožné. Applebaum a kol. (1982) při dávce AFB₁ 13 mg/ks/den holštýnských dojnic prokázali vstup do mléka o hladinách od 1 do 10,5 ng/l mléka a došlo k celkovému poklesu mléčné užitkovosti. Veldman a kol. (1992) v obdobné studii poukázali na vyšší vylučování AFM₁ v prvních týdnech laktace oproti pozdějšímu období po 34. týdnu.

Dlouhodobě alterovaná obranyschopnost organismu se spolupodílí na vyšším výskytu poruch jednotlivých orgánových systémů u skotu především reprodukčního



Obrázek 2.

traktu, mléčné žlázy, GIT a končetin (Jouany, 2001), proto objeví-li se takové známky zhoršené produkce a zdravotního stavu dojnic je třeba pomyslet na riziko výskytu mykotoxinů a omezit jejich negativní vliv (Eastrige, 2006), viz Obrázek 2.

Diekman a Green (1992) popisují vlivy nejčastěji se vyskytujících mykotoxinů AF, ZEA, DON, OT a Ergot na jednotlivé druhy živočichů a jednotlivé orgánové soustavy. U skotu přes jeho

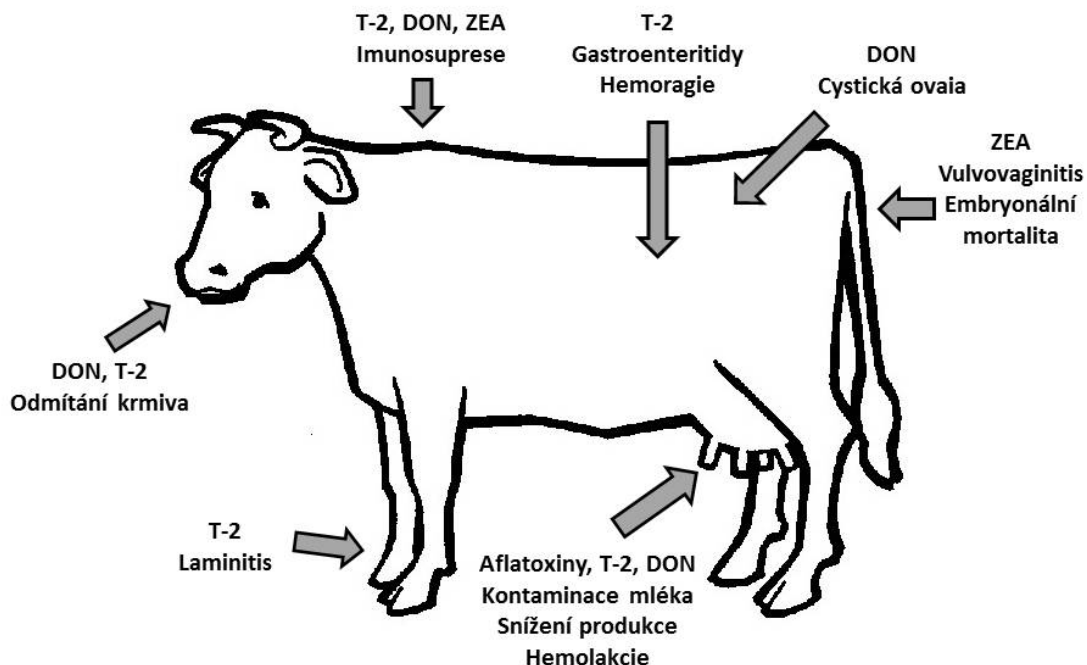
relativní odolnost vůči mykotoxinům upozorňují na dlouhodobé i podprahové dávky mykotoxinů s estrogením účinkem a na možnost, kdy v kritickém období nidace,

kombinace pozměněné uterinní sliznice, byť i s mírně narušeným zárodkem může vést k rané embryonální úmrtnosti. Ergotaminové alkaloidy jsou známy skrze negativní efekt na neuroreceptorech, svou podobností s biogenními aminy narušují vazbu na receptorech, případně stimulují acetylcholinové receptory (Mantle, 1983; McLeay a kol., 1999). Vazbou na α -adrenoreceptory a inhibicí β -adrenoreceptorů působí vasokonstrikci, čímž omezují sekreci prolaktinu jak u lidí tak i zvířat (Kolb, 1984).

V porovnání s monogastrickými zvířaty, jsou přežvýkavci mnohem lépe vybaveni k přijímání méně kvalitního krmiva a méně reagují i na nepříznivý účinek mykotoxiny napadeným krmivem. Tato úvaha je založena na předpokladu, že bachorová mikroflóra dokáže degradovat a deaktivovat převážnou většinu z přijatého množství mykotoxinů (Tabulka 6). Následný klinický obraz intoxikace mykotoxinem nebo častěji skupinou mykotoxinů, je výsledkem zbylého množství, které dále prochází slezem a je vstřebáváno v tenkém střevě. Účinek přijatého mykotoxinu, ale není tak jednoduchý, je třeba zohlednit krmnou dávku jako komplex, vlastní ovlivnění bachorové mikroflóry, která musí sama o sobě zajistit správný průběh bachorové fermentace. Předžaludky sami o sobě mají obrovskou absorpční kapacitu a napadené krmivo je často krmeno dlouhodobě a tvoří velkou část krmné dávky (KD) a navíc mnohdy bývá i jinak významně narušené (nahnilé, namrzlé, napadené plevely, škůdci aj.). Komplex takové expozice vede k vážným zdravotním poruchám, tím spíše, že se mnohdy jedná o nesprávně krmené dojnice již tak se nacházející v období negativní energetické bilance v tzv. tranzitním období a jsou tak více vnímavé k negativním vlivům (Fink-Gremmels, 2008). Působení mykotoxinů na organismus dojnice je znázorněn v Obrázku 3.

Tabulka 6. Vnímavost jednotlivých druhů hospodářských zvířat k vybraným mykotoxinům (Devegowda a Castaldo, 2000)

Mykotoxin	Toxické koncentrace	Dojnice	Prasata	Drůbež	Koně
Aflatoxiny	200 – 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$	+	+	++	+
Fumonisin	5 mg/kg (nepřežvýkavci) 100 mg/kg (přežvýkavci)	+	+	+	++
Ochratoxiny	-	-	+	+	+
T-2 toxin	100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	+	-	+	+
Deoxynivalenol	2 – 10 mg/kg	+	++	+	+
Zearalenon	200 – 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$	+	++	+	+



Obrázek 3. Schematické znázornění působení mykotoxinů na organismus dojnice

Popsat mechanismy, kterými jsou mykotoxiny přetvářeny během bachorové fermentace se pokusil simulací in vitro Niederkorn a kol. (2006). Za definovaných podmínek sledoval jak jsou schopné bachorové bakterie metabolizovat a „neutralizovat“ dotaci mykotoxinů. U DON jde až o 55% a u ostatních mykotoxinů až 88% snížení obsahu z původně přidaného množství toxinu. Obdobnou studii provedli Carvet a Lecouer (2006) se zaměřením na kvalitu získávaných produktů pro člověka. Stále se hledá míra nebezpečnosti jednotlivých mykotoxinů, jednu z limitních doporučení koncentrace mykotoxinů v krmivech ukazuje Tabulka 7.

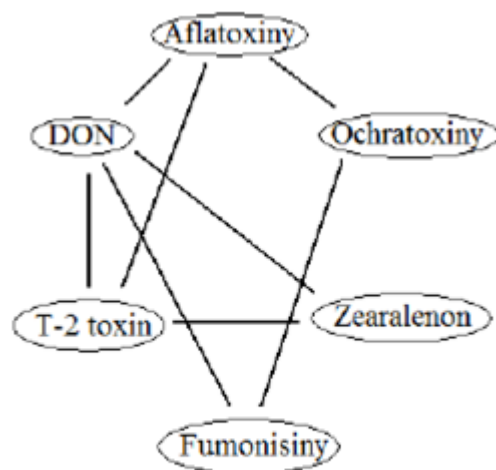
Tabulka 7. Toxické koncentrace některých mykotoxinů v krmivech (Kummer a kol., 2001)

Mykotoxin	Limit
Aflatoxiny	200 – 500 µg/kg
Fumonisin	5 mg/kg pro nepřevýkavce 100 mg/kg pro převýkavce
Deoxynivalenol	2 – 10 mg/kg
T-2 toxin	100 µg/kg
Zearalenon	200 – 300 µg/kg

Kiessling a kol. (1984) zjistili, že bachorová mikroflóra tvořící první linii obrany proti účinku mykotoxinů eliminuje až na 95% mykotoxinů z přijatého množství a

dokáže je přeměnit na méně škodlivé látky, není tomu tak u AF a DON, které dle studie, prochází téměř nezměněny. Swanson a kol. ve studii z roku 1987 prokázali biotransformaci DON na deepoxynivalenol a u T-2 úplnou degradaci. Jouany a Diaz (2005) ve své studii prokázali, že se tak nechovají všechny mykotoxiny a ne všechny jsou enzymatickými procesy v bacheru eliminovány, např. fumonisiny mívají bacher prakticky bez ovlivnění a ZEA je konvertován na mnohem potentnější alfa- a beta-zearalenon (Dänicke a kol., 2005). Mykotoxiny přímo ovlivňují bacherovou mikroflóru a uplatňuje se jejich antimikrobiální, antiprotozoální a antifungální aktivita. Např. patulin (PAT) má širokou antimikrobiální aktivitu proti gram⁺ i gram⁻ bakteriím a protozoím. Při pokusech in vitro bylo prokázáno, že podávání PAT vede ke snížení tvorby těkavých mastných kyselin, narušení celulolytických procesů, stejně tak ke snížení tvorby mikrobiálního proteinu (Escoula, 1992; Morgavi a Riley, 2007). May a kol. (2000) studovali efekt fusariových mykotoxinů na dva druhy bacherových bakterií a to na - *Ruminococcus albus* a *Methanobrevibacter ruminantium*. Oba mikroorganismy byly významně sníženy. Nálezy mykotoxinů v krmivu jsou spojovány s menším plněním předžaludků, sníženou konverzí krmiva a často s mírnou diarheou. Pozdější rozvoj symptomů vede k nižší mléčné produkci, jsou uváděny ztráty na mléce až o 15% a vzestup subklinických mastitid spolu s nárůstem počtu somatických buněk (SB) v mléce (Hadley a kol., 2006, Wenz a kol., 2007; Fink-Gremmels, 2008). Ukazuje se, že protozoární frakce bacherového obsahu je pro degradaci mykotoxinů mnohem důležitější, ale zároveň také mnohem citlivější na některé druhy bakterií (Westlake a kol., 1989; Yiannikouris a Jouany, 2002). Přesto bakterie jako *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Selenomonas ruminantium* a *Anaerovibrio lipolytica* jsou schopné využít T-2 toxin i jako zdroj energie v rámci svých enzymatických pochodů. Některé kultury *Butyrivibrio fibrosolvens* umí degradovat i další mykotoxiny diacetoxyscirpenol (DAS), DON, ZEN a OTA (Kiessling a kol., 1984; Westlake a kol., 1987; Yiannikouris a Jouany, 2002).

Synergismus mezi mykotoxiny (Obrázek 4) je další z komplikujících faktorů stanovení hlavního původce onemocnění. Krmiva jsou obvykle napadena více druhy plísní a ty



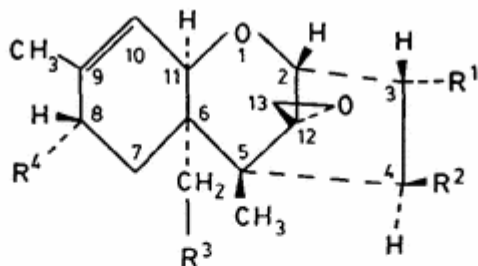
Obrázek 4.

zároveň produkují i více druhů mykotoxinů. Např. kyselina fusariová, ač sama téměř netoxická, zvyšuje toxicitu fumonisinů u drůbeže a obdobně kombinace DON a DAS nebo ZEA a kyseliny fusariové zvyšuje vylučované množství obou těchto látek v mléce pokusných krys. Fumonisin B₁ (FB₁) a DON zvyšuje hladinu krevní bílkoviny. Zatímco T-2 v kombinaci s FB₁ navozuje vzestup hladin sérového kalcia, vyšší hematokrit a hemoglobin, přesto je pozorován úbytek tělesné hmotnosti oproti kontrole o 18 až 20 %. Ještě k výraznějšímu poklesu až 46% hmotnosti dochází při výskytu jiných kombinací OTA a T-2, DON a FB₁, a DON, DAS a FB₁ (Yiannikouris a Jouany, 2002).

2.2.1. Přehled nejdůležitějších mykotoxinů kontaminující krmiva pro skot

Trichotheceny

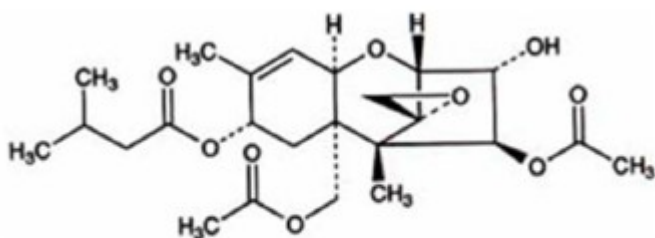
Trichotheceny je skupina zhruba 40 chemicky podobných látek, které mají jako základ tzv. trichothecenové jádro (sesquiterpenoidní strukturu). Produkují je plísňe rodů *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Myrothecium* (Hussain a Brasel, 2001; Eriksen a Pettersson, 2004). Trichotheceny jsou bezbarvé, opticky aktivní, většinou krystalické pevné látky. Jsou termostabilní do teploty 120°C, středně stabilní při teplotě 180 °C a rozkládají se během 30-40 minutového působení teplot 200-210°C. Dle chemických vlastností se rozlišují na 4 skupiny A, B, C a D. Typ A zahrnuje T-2, DAS, HT-2 toxin (HT-2), monoacetoxyscirpenol (MAS), T-2 triol a trichodermin, tyto molekuly nemají v pozici C-8 oxoskupinu. Typ B má na pozici C-8 oxoskupinu a je zde zařazen nivalenol, deoxynivalenol, 3 acetyldeoxynivalenol, fusarenon X a další. Typ C má navíc ještě jednu oxoskupinu v pozici C-7 nebo C-9, patří sem např. crotocin, produkováný plísněmi *Cephalosporium crotocinigenum* a *Trichothecium roseum*. Typ D zahrnuje tzv. makrocyclické trichotheceny, s makrocyclickým kruhem, jsou to verrukariny, roridiny a satratoxiny (SAT), a jsou produkovány plísněmi rodů *Stachybotris* a *Myrothecium*. Trichotheceny jsou poměrně rychle vstřebávány z GIT do krve, metabolizovány a vyloučeny z těla, v poměrně malé míře jsou ukládány v tkáních (Eriksen a Pettersson, 2004; Desjardins, 2006). Mezi nejvíce sledované patří především T-2, HT-2, DAS, DON, nivalenol (NIV), fusarenon X, neosolaniol, verukarin A (Eriksen a Pettersson, 2004). Společné všem trichothecenům jsou symptomy jako nauzea, poškození epitelů a porucha krvetvorby. Rychle se vstřebávají ze zažívacího ústrojí a v játrech vznikají jejich epoxidy, jež ovlivňují proteosyntézu a stavbu DNA (Placinta a kol., 1999). Nejvýznamější trichotheceny jsou znázorněny v Obrázku 5.



Trichothecene	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
A Neosolaniol	OH	CH ₃ COO	CH ₃ COO	OH
B NT-1 toxin	OH	CH ₃ COO	OH	CH ₃ COO
C NT-2 toxin	OH	CH ₃ COO	OH	OH
D Acetyl-T-2 toxin	CH ₃ COO	CH ₃ COO	CH ₃ COO	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
E T-2 toxin	OH	CH ₃ COO	CH ₃ COO	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
F HT-2 toxin	OH	OH	CH ₃ COO	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂

Obrázek 5. Trichotheceny (Schmidt, 1986)

T-2 toxin (C₂₄H₃₄O₉) – T-2



Obrázek 6. T-2 toxin (C₂₄H₃₄O₉)

T-2 toxin (Obrázek 6) a jemu chemicky příbuzný DON patří do skupiny nemakrocyclických trichothecenů, jsou produkováni parazitickými plísněmi *Fusarium tritinctum*, *F. nivale*, *F. sporotrichoides*, *F. graminearum*

(dříve *F. roseum* – pro typické červené zabarvení napadených zrn) a *Stachybotrys chartarum* a *St. atra*, rostoucí na substrátech obsahující celulózu. Nejvhodnější teplota pro jejich růst je 3 až 8°C. T-2 je nalézán téměř ve 100% napadených krmiv mykotoxiny, je proto jakýmsi márkrem napadení a za jeho přítomnosti se dá předpokládat i výskyt dalších mykotoxinů (Eriksen a Pettersson, 2004). U lidí exponovaných T-2 je popsáno onemocnění „akutní toxická aleukie“ (ATA). Probíhá ve třech fázích, nebo téměř perakutně, dle přijaté dávky T-2. Zánět sliznic GIT, přechází ve zvracení a průjmy, za sníženého obsahu červených a bílých krvinek, a nemocní umírají na jinak neškodné pro zdravého člověka banální infekce. Ve válečném období II. světové války v Rusku umřelo až na 17 000 lidí v důsledku napadení sklizně pšenice jarní mykotoxiny. Další hromadná úmrtí, naštěstí ne o takovém rozsahu, způsobili

mykotoxiny v 60. a 70. letech ve Francii a v Maďarsku (Velíšek a kol., 1999). I v našich podmínkách patří T-2 mezi nejvíce nebezpečné mykotoxiny, především v chovech drůbeže, kde je zodpovědný za výskyt erozí zobáku, ulcerace ve střevech, snížení příjmu a konverze krmiva a u nosnic vede k vyššímu výskytu křápů (Kubena a kol., 1987). U prasat způsobuje imunosupresi, nekrotické léze na rypáku, zčervenání kůže a její následné odlupování. U prasníc v posledním trimestru březosti po předložení napadeného krmiva došlo k abortům do 48 hodin. U ovcí a prasat je zjištěna leukopenie, atrofie lymfatických uzlin, thymu a sleziny. U prasat zhoršené zabřezávání, potraty, málopočetné vrhy (Hedman a kol., 1995). U vyšších živočichů vdechování substrátu se sporami *Stachybotrys spp.* a s vysokým obsahem T-2 toxinu může vést k prudkému plicnímu krvácení až úmrtí (Velíšek a kol., 1999; Awad a kol., 2008).

T-2 toxin ovlivňuje membránový transport skrze buněčnou stěnu narušením prostupu aminokyselin, nukleotidů, glukózy a změnou aktivity Ca a K kanálů (Bunner a Morris, 1988). Khachatorius (1990) demonstroval účinek T-2 na transport na mitochondriálních membránách poklesem aktivity succinil dehydrogenázy a dochází k lipidové peroxidaci vlivem volných radikálů. Trichotheceny narušují proteosyntézu vazbou na peptidyl transferázu, která je složena s velké 60S ribozomální podjednotky a tím navozují apoptózu (Eriksen a Pettersson, 2004).

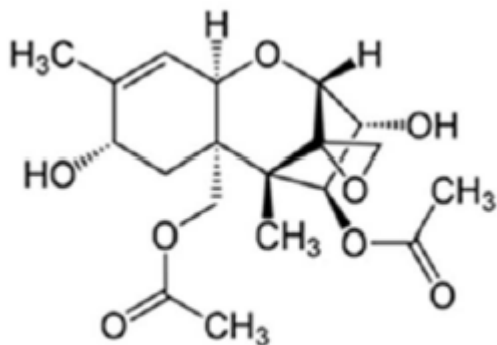
T-2 toxin snižuje svými účinky imunitní odezvu organismu (Black a kol., 1992), to se může projevit i na menší odolnosti proti parazitárním infestacím (Fekete a Kellems, 2007). Dochází ke snížení sérových koncentrací imunoglobulinu M, G a A, poklesu neutrofilní aktivity a poklesu blastogeneze lymfocytů a tím se zvyšuje náchylnost k onemocněním a uplatnění patogenů. Již v subklinické fázi dochází ke snížení příjmu a konverze krmiv (Mann a kol., 1983; Sharma, 1993; Eriksen a Pettersson, 2004; Korostelova a kol., 2009). Přestože u přežvýkavců je z 50% rozložen T-2 po průchodu předžaludky, jeho dlouhodobé působení vede k alteraci imunitních mechanismů, což se spolupodílí na vyšším výskytu poruch jednotlivých orgánových systémů. U skotu jde především o poškození reprodukčního traktu, mléčné žlázy, GIT a končetin, projevuje se celkovou skleslostí, nižším příjmem krmiva, ataxií pánevních končetin, mimo nekrózy v intestinálním traktu jsou poškozeny i játra, plíce a ledviny (Placinta a kol., 1999; Dohnal a kol., 2008, Obremski a kol., 2009). Dlouhodobé účinky podávání jaderného krmiva napadeného mykotoxiny (2 mg/kg) holštýnským dojnícím byly popsány již v roce 1972, zaznamenána byla výrazná alterace zdravotního stavu přímo i nepřímo vedoucí k úhynu několika dojnic a telat (Hsu a kol., 1972).

Hlavním účinkem je imunosuprese, hepatotoxicita, narušení epiteliálních buněk v souvislosti až s krvácivými průjmy u skotu známý jako tzv. *syndrom střevních hemoragií - Hemorrhagic Bowel Syndrome (HBS)* a zvýšením počtu SB v mléce, vzácně při vysokých koncentracích byly zjištěny i úhyny dojnic (Jones a kol., 1994; Cheeke, 1998). Placinta a kol. (1999) popsal případy zvýšené infertility a navýšení počtu potratů u dojnic krmených krmivem obsahujícím T-2 v posledním trimestru. Huszenicza a kol. (2000) při pokusu na jalovicích prokázali opožděnou ovulaci a nižší nárůst produkce prostaglandinu oproti kontrolní skupině, při podávání 9 mg/ks T-2 a den. Jones a kol. (1994) doporučuje jako maximální tolerovatelnou hladinu v krmivu pro dojnice T-2 100 ppb. Běžně zjišťované hladiny T-2 v krmivech pro skot jsou až 1000 mg/kg krmiva, přestože nejvyšší povolené limity podle nařízení ES 576 z roku 2006 jsou 100 mg/kg krmiva při 88% sušině (Dohnal a kol., 2008; Obremski a kol., 2009). Na příkladu dvou stád z USA byl demonstrován negativní vliv T-2 při hodnotách průměrně 350 ppb v krmivu, byl pozorován nižší příjem krmiva, prodloužený a výraznější úbytek hmotnosti, nižší pík laktační křivky, vyšší morbidita i mortalita, u některých dojnic se projevil průjem a během několika dní po předložení takto narušeného krmiva došlo k poklesu mléčné produkce o 15%. Objevují se dermatitidy mulce, sliznic dutiny ústní, klesá hladina krevní glukózy, zvyšují se plazmatické hodnoty P a Mg. Klesá celkový počet jak bílých tak červených krvinek a klesá obsah hemoglobinu (D'Mello a kol., 1999). Jako ochranné opatření byl nasazen jíl do krmiva, čímž došlo k částečné úpravě ztrát (Whitlow a Hagler, 2005).

T-2 byl využíván i jako biologická zbraň pod názvem „*yellow rain*“ v SSSR, T-2 má tzv. *radiomimetický účinek* (Mirocha a kol., 1982). USAMRIID (U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases) (2011) T-2 řadí pospolu s botulotoxinem, ricinem, stafylokokovým enterotoxinem B (SEB) do vojensky velice sledovaných látek. T-2 je považován za velice nebezpečný, pro svou snadnou výrobu a distribuci (tvoří aerosol o mikročástech pod 10 μm), neničí se ani tlakem ani světlem, do organismu se dostává respirační cestou, alimentárně, ale i kůží, diagnostika je obtížná a nástup klinických projevů nastává se zpožděním.

Diacetoxyscirpenol (C₁₉H₂₆O₈) – DAS

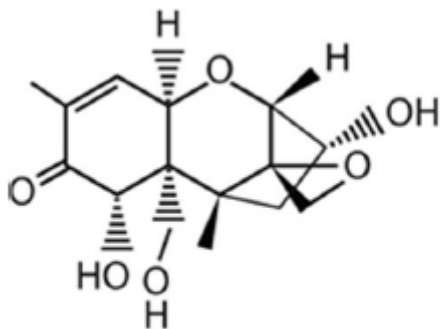
DAS je znám i pod dalšími názvy neosolaniol nebo NT-2 toxin (Obrázek 7). Je tvořen *Fusarii* (*F. sporotrichoides*, *F. graminearum*, *F. poae*), často se vyskytuje s ostatními trichothecey, především na obilninách (pšenici, ječmeni, ovsu), ale i na



Obrázek 7. Diacetoxyscirpenol ($C_{19}H_{26}O_8$)

mléčné produkce (Marasas, 1991; D'Mello a kol., 1999; Desjardins 2006).

Deoxynivalenol ($H_{15}O_{20}O_6$) – DON



Obrázek 8. Deoxynivalenol ($H_{15}O_{20}O_6$)

enterocytech, kde blokuje proteosyntézu a vyvolává apoptózu. Obdobně se projevuje u skotu snížením příjmu krmiva a snížením mléčné produkce. Do mléka jako takového se dostává v setinách promile z původně přijatého množství (Whitlow a Hagler, 2005). Na příkladu u selat se ukázalo, že krmení kontaminovanými šroty o obsahu DON 2 ppm vede k poklesu příjmu krmiva až o 21 %, při obsahu 4 ppm je nezbytné snížit podávání takto napadeného krmiva pod 8%, pokud je obsah nad 11 ppm musela by napadená pšenice být o 62% levnější, aby se vyplatilo sníženou cenou vyrovnat nedostatky v ekonomice farmy (Blaney a Williams, 1991). Charmley a kol. (1995) na příkladu krmení napadeným DON a ZEA, na základě studie s ohledem na ceny z roku 1991 uvádí pokles na porozených selatech mezi 10 – 20 %, snížením růstu opět o 10 až 20 %, což v kombinaci s náklady na veterinární péči může činit 17 – 44% z plánovaného zisku.

Dlouhodobá expozice o hladinách DON mezi 2,7 až 6,4 ppm v krmivu, působí

bramborách (Glenn, 2007). Může pospolu nebo samostatně vyvolat příznaky podobné T-2 (Whitlow a Hagler, 2005). U drůbeže je popsán jeho negativní vliv na příjem a konverzi krmiva, u nosnic snižuje kvalitu skořápek (D'Mello a kol., 1999; Al-Julaifi, 2004). Spolupůsobí HBS, poškození GIT, průjmy, eroze na sliznicích a kůži, pokles

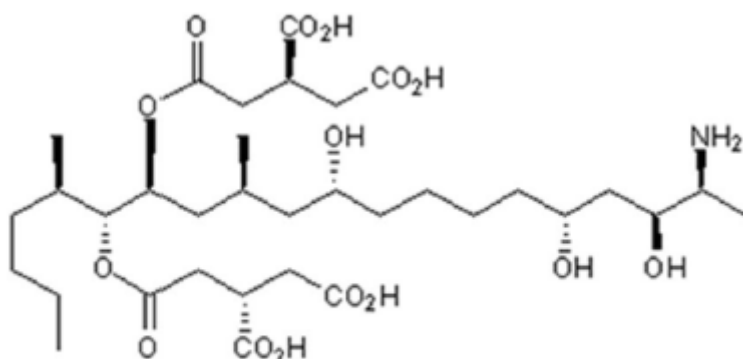
pokles mléčné produkce o 1,35 l/ks/den a snížení obsahu mléčného tuku z 3,92% na 3,04% (Charmley a kol., 1993). Jiní autoři na základě terénní studie vlivu DON na užitkovost dojnic uvádí, že již hladiny 300 ppb se projeví statisticky významným poklesem nádoje a to v průměru až o 12 litrů mléka na ks a den, dále narůstá obsah SB v mléce a jsou narušeny i reprodukční parametry (Jones a kol., 1994). Ingalls (1996) testoval účinek DON o hladině 14,6 mg/kg koncentrovaného krmiva pro vysoce užitkové dojnice, tj. 31 mg/kg živé hmotnosti, po dobu 3 týdnů a nepodařilo se mu v tomto krátkém období prokázat snížení příjmu krmiva nebo mléčné produkce. Dopad zkrmování jádra napadeným *Fusarii*, převážně vliv DON a ZEA, na bachorovou fermentaci a živinové využití v tvorbě proteinů bachorovými mikroorganismy u dojných krav zkoumal i Dänicke (2005). Mykotoxiny byly dodávány kontaminovaným jádrem (DON 7,15 mg/kg a ZEA 0,26 mg/kg), zjistili vliv na bachorovou fermentaci a dále na pasáž a využití mikrobiálního proteinu v tenkém střevě, byla zjištěna i snížená využitelnost krmiva.

Dänicke a kol. (2005) studovali vliv fusariových toxinů přijatých dojnici z zaplísňeného obilí na průběh bachorové fermentace a jejich dopad na parametry sledované v krvi a mléce. Každá dojnice byla krmena dávkou s DON 8,21 mg/kg a ZEA 0,09 mg/kg sušiny. Zdrojem mykotoxinů bylo jádro, zbytek krmné dávky tvořila kukuřičná siláž a travní senáž. Zkrmování těchto dávek vedlo ke snížení molární koncentrace kyseliny propionové oproti kontrole. Dalším ze sledovaných parametrů byly sérová aspartátaminotransferáza (AST), glutamátdehydrogenasa (GDH) a gama glutamyltransferasa (GGT) jako ukazatele tkáňového poškození. Při pokusu na holštýnských dojnicích, krmených DON o 5,3 mg/kg sušiny, došlo k poklesu pH bachorové tekutiny, snížení procentuálního zastoupení kyseliny octové a máselné, a zvýšil se obsah kyseliny valerové (Keese a kol., 2008). Korostelova a kol. (2009) ve studii zaměřené na fusariové toxiny zjistili pokles sérových imunoglobulinů a narušení metabolických parametrů ve skupině holštýnských dojnic krmených přirozeně kontaminovaným krmivem o obsahu DON 3,5 mg/kg sušiny TMR. Charmley a kol. (1993) provedl podobnou studii, sledoval však přeměnu DON v jeho metabolit deoxydeoxyvalenol a jejich vstup do mléka. Během prvních 10 týdnů laktace byl DON u zdravých dojnic téměř zcela degradován na biologicky neúčinné formy, u dojnic zatížených bachorovou acidózou, byl jeho rozklad narušen a byl zjišťován ve vyšších hladinách v krvi. Prokázali, že i za použití HPLC metod k diagnostice je vstup DON do mléka i přes vysoké podané dávky téměř nedetekovatelný, oproti T2, který do mléka

prostupuje, je vylučováno 0,0001% DON z původně přijatého množství. Masný skot a ovce jsou schopny tolerovat mnohonásobně větší množství DON v krmivu, přesto je DON doporučován jako jeden z hlavních markerů kvality krmiv (Boland a Lonergan, 2005).

Pro DON jako jediný ze skupiny trichothecenů uvádí nejvyšší přípustné hladiny zákonná norma Zákon č. 110/1997 o potravinách a tabákových výrobcích a prováděcí vyhláška 53 Sb. Maximální limit pro DON je 2 mg/kg u obilí, rýže a kukuřice, 1 mg/kg pro mouku a 0,5 mg/kg pro alternativní potraviny. Pro komplexní posouzení problematiky fusariových mykotoxinů a stanovení zdravotních rizik pro člověka a domácí zvířata, je potřeba sledovat celé spektrum mykotoxinů, protože DON je často vedlejším mykotoxinem v řadě produktů, v kterých dominuje např. NIV nebo HT-2.

Fumonisin (Fumonisin B₁ - C₃₄H₅₉O₁₅) – FUM



Obrázek 9. Fumonisin B₁ (C₃₄H₅₉O₁₅)

Fumonisin (Obrázek 9) jsou velkou skupinou mykotoxinů, objevených teprve v roce 1988 (Yiannikouris a Jouany, 2002). Jsou produkovány především plísněmi rodu *Fusarium* (*F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*,

F. verticilloides a další) a *Alternaria spp.* (Hussein a Brasel, 2001), vyskytující se hlavně na kukuřici a obilninách, teplotní optimum pro tvorbu FUM je 25°C a poměrně široké rozmezí pH 3,5 až 9, jsou to velmi termostabilní látky odolávající teplotám nad 100°C po dobu 175 min. (Marasas, 1991; Velíšek a kol., 1999). Plísně rodu *Fusarium* tvoří sexuální – telemorfni a asexuální - anamorfní stadium (Desjardins, 2006). Dle molekulární struktury se jedná o eikosanoid karboxylové estery, složité estery trikarboxylových kyselin, chemicky příbuzné látky sfingosinu a sfinganinu, látek potřebných k biosyntéze sfingolipidů, z čehož také vyplývá jejich hlavní biologický účinek (Fink-Gremmels, 1999; Glenn, 2007). FB₁ byl izolován Gelderblomem a kol. v roce 1988 a ukázal se jako rakovinový promotor. V oblasti zvýšeného výskytu *F. moniliforme* byl zjištěn vyšší výskyt rakoviny jícnu a jater u lidí (Marasas, 1991), mezi další účinky patří poškození nervové a kardiovaskulární tkáně. Skot a drůbež jsou

relativně málo vnímaví, vysoká citlivost je u koní, prasat a laboratorních zvířat. U koní způsobují leukoencefalomalacii (ELEM) pozorovatelnou již od 7 dne po podávání narušeného krmiva, způsobené narušením tvorby sfingolipidů, projevující se pohybovými potížemi a ataxií. U prasat porcinní plicní edém (PPE) (Morgavi a Riley, 2007). Grajewski a kol. (2012) v letech 2006 až 2009 určili 52 až 100% pozitivních vzorků na základě vyšetření kukuřice na zrno o hladině FB₁ až 1 mg/kg a u kukuřičných siláží až 2 mg/kg. Fumonisy napadají játra, gastrointestinální trakt, nervový systém a plíce. Akutní dávka vede k narušení činnosti plicních makrofágů u prasat a vede k plicnímu edému (Yiannikouris a Jouany, 2002; Morgavi a Riley, 2007).

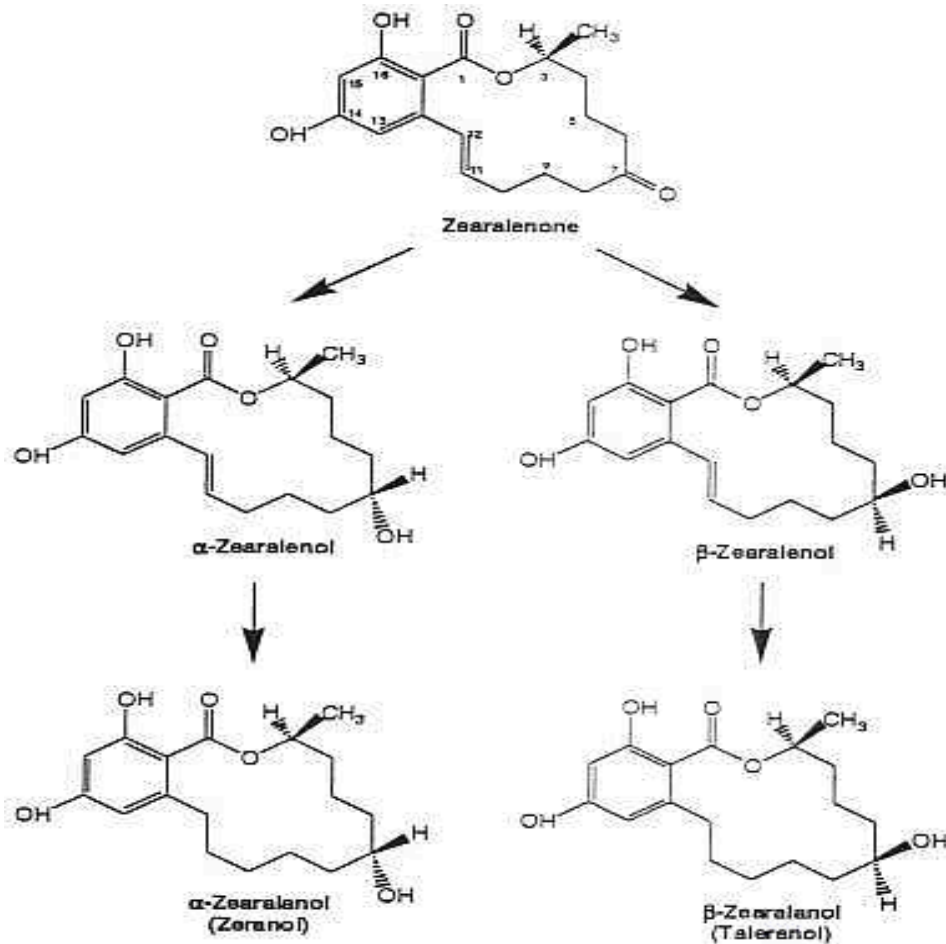
FB₁ je toxický pro dojnice, při předkládání krmiva o hodnotách 100 ppm po dobu 70 dní, signifikantně redukuje produkci mléka až o 7 kg/den/dojnici, narušuje hladiny jaterních enzymů signalizující jaterní poškození, u masného skotu vliv FUM o stejných hladinách není statisticky průkazný (Whitlow a Hagler, 2005). Scientific Committee on Food of the European Commission (SCF EU) stanovila pro FB₁ maximální tolerovatelnou denní dávku (TDI „tolerable daily intake“) na 2µg/kg živé hmotnosti.

Zearalenon (C₁₈H₂₂O₅) – ZEA

ZEA neboli F2 toxin je produkován plísněmi *Fusarium graminearum* (starší synonyma *Giberela zae*, *F. roseum*), *F. moniliforme*, *F. Sporotrichoides*, a mnoha dalšími (Desjardins, 2006, Zinedine a kol., 2007). Fusaria široce infikují krmivářské a potravinářské obilí a jsou schopna produkovat až 1900 µg/kg toxinu v suché váze obilí, nejvíce se tvoří při teplotách 3 až 8°C. Po chemické stránce se jedná o lakton (vnitřní ester karboxy hydroxylové kyseliny). Napadány jsou především kukuřice, čirok, sezamové semínko, ječmen, pšenice, oves, žito. Předpokladem pro rozvoj toxinu je narušení obalu semen (Zinedine a kol., 2007, Yiannikouris a Jouany, 2002). Dalšími zdroji často bývá zaplísňené seno a peletovaná krmiva, rozšíření je prakticky celosvětové, především ve vazbě na vyšší vlhkost substrátu a optimální teplotu, která je pro růst *Fusarií* 18°C až 30 °C (Cheeke, 1998). Gagi a kol. (2007) testoval tepelnou odolnost ZEA a zjistil, že jeho molekula odolává beze změn zahřátí na 225 °C po dobu 30 minut.

Hlavním efektem, ač nesteroidní struktury, je navození tzv. „hyperestrogenního syndromu“, typickými příznaky je zvětšená vulva, vulvovaginitidy, otok mléčné žlázy, zduření děložní sliznice, ovariální cysty, narušený vývoj oocytů, snížená produkce mléka (Minervini a Dell'Aquila, 2008). Hyperestrogenní syndrom byl popsán u

prasnic již v roce 1927 Buxtonem, ale jeho obdoba se objevuje i u dojníc a v některých oblastech i u lidí (Alldrick a Hajšelová, 2004).



Obrázek 10. ZEA a jeho metabolity (Kleinova a kol., 2002).

ZEA je poměrně rychle přeměněn bachorovou mikroflórou na α - a β -zearalenol a to zhruba z 30 % do 48 hodin, přibližně 5% je vyloučeno močí, zbytek stolicí (Obrázek 10) (Kiessling a kol., 1984; Kleinova a kol., 2002; Whitlow a Hagler, 2005). V současné době je izolováno 15 derivátů základní struktury ZEA. ZEA je estrogenně působící látka s nízkou akutní toxicitou, ale s výrazným účinkem při dlouhodobé expozici, účinky se projevují od 4 až 7 dne po pozření kontaminovaného krmiva (Gaumy a kol., 2001). LD₅₀ pro ZEA je uváděno množství 2-10 g/kg tělesné hmotnosti u laboratorních myši (Flanningan, 1991). U ZEA je znám mechanismus tzv. *masked mycotoxins*, díky kterým může unikat detekci, jedná se o tvorbu konjugovaných forem. Zearalenone-4beta-D-glukopyranosidu prostupuje trávicím traktem, za zachování své biologické aktivity, obdobně za tvorby glukosidů se do organismu dostává např. DON (Binder, 2007).

ZEA má vysokou afinitu k estrogenním receptorům a je za použití stejných enzymů a mechanismů odbouráván a z těla vylučován (Kolb, 1984; Marasas, 1991; Cheek a Shull, 1998). Biotransformací hydroxysteroid dehydrogenázou v buňkách theka granulosa ovarií, je redukcí ZEA přeměňován na α , β hydroxylované izomery zearalenol a zearalan s mnohonásobně vyšší biologickou aktivitou (Kennedy a kol., 1998; Minervini a kol., 2001; Malekinejad a kol., 2006), trans alfa zearalenol je 3–4x potentnějším estrogenem než ostatní deriváty (Richardson a kol., 1985) a mnohonásobně vyšší afinitou k estrogenním receptorům než přirozený 17 β -estradiol (E2) (Kiang a kol., 1978).

Blankenship a kol. (1982) testovali afinitu několika chemicky podobných látek k estrogenním a progestinovým receptorům. AF a cholesterol nejevily zvýšenou vazebnou aktivitu, ale ZEA se vázal 2 až 3x aktivněji, než přirozený E2. Tento mechanismus může ovlivňovat hypotalamus a inhibovat tvorbu gonadotropinu a následně narušovat proces ovulace.

U myši ZEA narušuje syntézu DNA a má teratogenní účinky (Pfohl-Leszkowicz a kol., 1995). Z pohledu na zdraví člověka, je uváděn ZEA v potravinách za jeden z faktorů ovlivňující nárůst výskytu rakovinného onemocnění prsu u žen (Ahamed a kol., 2001, Withanage a kol., 2001). Hrdina a kol. (2004) upozorňuje na skutečnost, že ZEA přechází do mléka dojnic asi v 0,01 původně přijatého množství, dle jiných autorů v téměř nedetekovatelných koncentracích.

Efekt ZEA na gravidní laboratorní potkany a intrauterinní vývoj studovali Pfohl-Leszkowicz a kol. (1995) a Gaumy a kol. (2011). Vliv na pohlavní funkce matek byl neprokazatelný, počet potomků ani činnost pohlavního systému nebyla ve srovnání s kontrolní skupinou narušena. Zajímavý nález byl u potomků, jejichž porodní hmotnost byla výrazně snížena a dále změny na pohlavním systému potomků, kdy bez ohledu zda šlo o samčí nebo samičí jedince podávané dávky vedly k jakémusi intersexualismu. Ve studii na potkanech zaměřené na vliv na mamární tkáň byl prokázán mechanismus konkurenčního navázání na estrogenové receptory s omezením účinku estrogenu tělu vlastního (Boyd a Wittliff, 1978; Minervini a Dell'Aquila, 2008).

Naopak jako za téměř netoxický byl označen ZEA u ptáků, při pokusech na kuřatech brojlerů, podávání 15 g/kg tělesné hmotnosti, nevyvolalo žádný efekt (Chi a kol., 1980). V obdobné studii Allen a kol. (1981) podávali brojlerům krmivo s obsahem ZEA 600 ppm po dobu 6-9 týdnů. ZEA neměl žádný vliv na růstu brojlerů. V pozdější studii Allen a kol. (1983) zjistili vliv ZEA na metabolismu jater a snížení snášky o 20 %

u krůt. Přesto při obdobných hladinách u kachen nenastaly žádné změny.

Při dávkách ZEA 1,5 – 3 mg/kg krmiva předkládaného prasničkám docházelo ke snížení počtu zabřezlých, k nižšímu počtu narozených selat o menší hmotnosti. Mechanismus účinku byl popsán jako narušení uterinní sliznice skrze pokles LH receptorů a progesteronové sekrece. Při 50 µg/kg krmiva jsou patrné histologické změny endometria (Etienne a Dourmad, 1994). Dopady na vnitřní pohlavní orgány popisuje Alm a kol. (2006). Stephan a kol. (2007) zjistili na vaječnicích prasniček, kterým bylo podáváno krmivo s obsahem DON 9,57 mg/kg a ZEA 0,358 mg/kg, vyšší počet chromozomových degenerací vedoucích k poruše dělení na vyvíjejícím se folikulu, tím dochází ke zhoršení podmínek pro další vývoj oocyty. Negativní účinky má ZEA i na samce, byla zjištěna nižší produkce testosteronu, narušená spermiogeneze a tím následně infertilita a feminizaci samců (Coulombe, 1993). Při dávce 500 mg ZEA na ks a den tj. 25 ppm byly zjištěny menší CL oproti kontrole (Blankenship a kol., 1982; Weaver a kol., 1986).

Veterinární univerzita ve Vídni uskutečnila ve spolupráci s Maďarskými vědci, pokusy na klisnách. Zjišťován byl vliv nízké dávky ZEA 0,5 mg/kg krmiva a den, respektive neškodné při krátkodobém působení, na reprodukční funkce (Aurich a kol., 2006). Obdobný účinek je přisuzován mykotoxinům i u skotu, kde se ale negativní účinky do velké míry snižují působením bacherové mikroflóry (Razzazi-Fazzeli a kol., 2003). Juhasz a kol. (2001) se pokoušeli objasnit vliv mykotoxinů na reprodukční funkce u klisen po porodu. Hodnotili folikulární růst, luteální funkce a edém dělohy. Podávaly denně 7 mg čištěného ZEA a efekt hodnotili prostřednictvím transrektální palpce ovarií a dělohy, ultrasonografickým zobrazením a funkčnost vaječníků stanovením hladiny progesteronu z krve. Výsledkem bylo označení dávky 7 mg/den/kus za nezpůsobující narušení růstu folikulů ani změn hladin progesteronu v krvi klisen.

Weaver a kol. (1986) podávali jalovicím 250 mg 99% ZEA v želatinových kapslích, po dobu jednoho estrálního cyklu před inseminací a dva poinseminační cykly. Nebyl zpozorován žádný efekt na úroveň zabřeznutí, hladiny progesteronu v krvi, ani na změny parametrů v krevním obraze oproti kontrolní skupině jalovic. ZEA se projevuje edematizací zevních pohlavních orgánů, hypertrofií sliznice děložní a u dojnic edematizací mléčné žlázy, snížením mléčné produkce, poklesem zabřezávání. Skot může být poškozen krmivem o obsahu 0,5 – 1 mg/kg (Radostits, 2000; Morgavi a Riley, 2007; Zinedine a kol., 2007). Towers a Sprosen (1993) uvedli ZEA za hlavní příčinu stádové infertility pasených ovcí na Novém Zélandu. ZEA působí jako obdoba

estrogenních hormonů, ale nejen ve vztahu k reprodukčnímu systému, ale i jako anabolikum stimulující proliferaci orgánů. Metabolitu alfa-zearalanolu (zeranol) bylo využíváno ve Spojených státech jako anabolika ve výkrmu skotu (Kleinova a kol., 2002). V Evropské unii je zeranol jako růstový promotor zakázán od roku 1988 (Kennedy a kol., 1998). ZEA v kombinaci s DON může vést až k syndromu stádové infertility a selhání celé reprodukce, tento jev je uváděn při zjištěných hladinách 750 ppb ZEA a 500 ppb DON, hladina zabřezávání je až o 25% nižší, u jalovic dochází k otokům mléčné žlázy, u dojnic klesá mléčná produkce, objevuje se průjem, narůstá procento infekčních onemocnění reprodukčního systému, narůstá procento embryonálního odúmrťí. Podobné projevy jsou sledovány i u dojnic na pastvě, kde i v pastevním porostu jsou zjišťovány hladiny 400 ppb (Weaver a kol., 1986; Whitlow a kol., 1994). Účinek ZEA a jeho derivátů u dojnic je mnohdy potencován kombinací s jinými mykotoxiny, především s T-2 (Trucksess, 1997).

Již v osmdesátých letech byl zkoumán protektivní účinek různých látek proti účinku ZEA, jednalo se o různé druhy vlákniny a zeolitů, jež významně omezovaly rozvoj toxikózy u laboratorních potkanů a pokusných skupin prasat (Smith, 1980).

Přípustné koncentrace ZEA podle doporučení ES 576 z roku 2006 je 200 – 300 µg/kg krmiva při 88% sušině. FAO/WHO (1995) stanovilo prozatímní maximální tolerovatelný denní příjem „*Provisional Maximum Tolerable Daily Intake*“ (PMDTI) pro ZEA 0,5 µg/kg tělesné hmotnosti. LD50 pro akutní toxicitu ZEA stanovilo JECFA (Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) na více jak 2 000 až 20 000 mg/kg tělesné hmotnosti (Zinedine a kol., 2007).

Fytoestrogeny

Fytoestrogeny jsou látky rozdílné chemické struktury se společnou schopností navozovat estrogenní účinek. V krmivech může být řada látek působících negativně na reprodukční trakt. Jedná se o přírodní toxiny obsažené v řadě rostlin. Podle Samuela (1967) fytoestrogeny jsou látky přirozeně obsažené v řadě rostlin, které mohou posilovat anebo naopak oslabovat účinek estrogenů tělu vlastních. Mezi základní fytoestrogeny patří isoflavony daidzein, daidzin, genistein, formononetin a kumestrol, látky obsažené v sóji, ale i lignany v středoevropských leguminózách z bobovitých, nebo lněných semen. Enterodiol a enterolakton působí jako přírodní estrogen a v některých případech jako antiestrogen (Opletal a Šimerda, 2010). Fytoestrogeny mohou způsobit pokles luteinizačního hormonu, ovlivnit růst folikulů a snížit hladinu

estradiolu, tím navozují prodloužení folikulární fáze. Zvyšuje se hladina sexuálních hormonů vázících v krvi globuliny. Přesto fytoestrogeny inhibují tvorbu přirozeného E2 skrze adenylátcyklázu a tyrosin kinázu, tento mechanismus může spolu souviset s vyšším výskytem estrogendependentních kancerózních onemocnění u lidí i zvířat. Studii na porovnání výskytu ZEA a estrogenních látek na pastvě provedl Skladanka a kol. (2009) se zjištěním, že estrogenní látky se nejvíce vyskytují na porostech od října do prosince a není z tohoto pohledu vhodné je využívat k pastvě. Některé druhy jetelů obsahující estrogenní látky jako formononetin a genistein působí neplodnost ovcí (James a kol., 1992). Kumestrol z vojtěšky (*Medicago sativa*) nebo formononetin z jetele (*Trifolium spp.*) zapříčiňuje polycystický ovariální syndrom (PCOS). U skotu je vyšší výskyt fytoestrogenů dáván do souvislosti s vyšším výskytem onemocnění u dojnic. Otok mléčné žlázy provázený vyšším výskytem buněčných elementů, může vést k snazšímu rozvoji klinických mastitid, je zpomalena maturace býčků, u jalovic se mohou objevit výhřezy vagíny a rekta (Zdunczyk a kol., 2003; Opletal a Šimerda, 2010). V krmivech pro hospodářská zvířata se může vyskytovat 907 až 1195 mg/kg krmiva isoflavonů (Opletal a Šimerda, 2010).

Dochází k narušení spermatogeneze, ovogeneze, oplodnění, nidaci, následně dopad na rozvoj embrya a novorozenecké přežívání. V Severní Americe, ale i v některých oblastech Evropy rostliny rodu kozince (*Astragalus spp.*) z čeledi *Fabaceae* (bobovité) obsahují alkaloid swainsonin, omezující tvorbu glykoproteinů. Krávy krmené některými druhy lupin rodily telata s tělesnými abnormalitami. Píce s bolehlavem plamatým (*Conium maculatum*) vyvolává podobné malformace plodů, může docházet k poruchám vývoje srdce, k městnavému srdečnímu selhání, otokům, poruše placentárního spojení a odúmrťi plodu a skeletálním malformacím. Zapříčinit aborty u paseného skotu mohou také zástupci rodu kýchavcovité (*Melanthiceae*) např. kýchavice bílá (*Veratrum album*) obsahující steroidní alkaloid cyklopamin a jervin, látky působící teratogenně s projevy obličejových defektů plodu, kyklopii, holoproencefalii, nebo zástupce cypřišovitých (*Cupressaceae*) jalovec obecný (*Juniperus komunis*). Hasivka orličí (*Pteridium aquilinum*) obsahující kyanogenní sloučeniny a toxiny. Ocún jesení - podzimní (*Colchicum autumnale*) obsahující kolchicin narušující mitózu, poruchou dělicího vřeténka. Starček přímětník (*Senecio jacobaea*) obsahující pyrolizidine a jakobin poškozující játra. Štědřenec odvyslý (*Laburnum anagyroides*) obsahující alkaloid cytisin, způsobující poruchy srdeční činnosti a dechu vedoucí až ke smrti, je silně dávný a otravy jsou vzácné. Reprodukci ovlivňuje i řada rostlinných

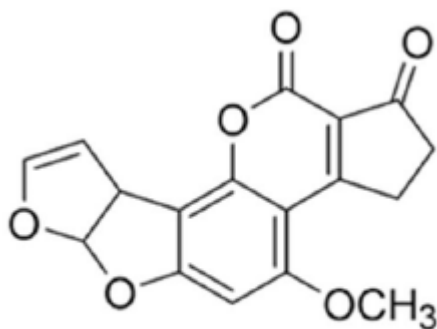
toinů, které se dostávají do krmiva a mohou vyvolat obdobné negativní projevy jako mykotoxiny. Např. ostropysk chlupatý (*Oxytropis pilosa*) obsahující alkaloid swainsonine zamezuje rozvoji embrya, obdobně působí gossypol obsažený v bavlněném semínku - doplňku krmiv v Severní Americe. Rostlinné estrogény vyskytující se v některých kultivarech jetele jako genistein a formononetin způsobují infertilitu u bahnic spojenou s výhřezy dělohy (James a kol., 1992).

Zdrojem fytoestrogenů je především pastva na porostech s vysokým podílem jetele nebo vojtěšky, které jsou hlavními producenty isoflavonů. Vysoká koncentrace těchto látek v píce je spojována se zvýšením počtu SB a skrze zvýšenou citlivost k infekcím s nárůstem onemocnění mléčné žlázy u dojnic (Zdunczyk a kol., 2003). Z hlediska fyzikálně chemických vlastností se jedná o tyto skupiny látek: isoflavony, flavony, flavanony, chalkony a dihydrochalkony, kumariny širšího spektra, lignany a látky ostatní. Příklady u nás pěstovaných zástupců rodu *Fabaceae* je jetel plazivý, j. luční a vojtěška, obsahují estrogény – formononetin, kumestrol, genistein, trifoliol, daidzein, medicaginol, lucenol a jiné. Tyto látky způsobují skrze své metabolity vzniklé v batoru a játrech hyperestrogenní syndrom, nepravidelné říje, poruchy ovulace, zpomalení zrání oocytů, zvýšenou tvorbu cyst, což vede ke snížení zabřezávání (Kalač a Míka, 1997). Např. formononetin – isoflavonový estrogen je dáván do přímé souvislosti s neplodností u skotu, podobnou látkou je daidzein – jedna z hlavních obsahových látek v sóji. Kumariny širšího spektra (kumestany) známy již od 50. let jsou spojovány s pomalejším dospíváním býčků, u jalovic nastávalo vyhřeznutí vagíny, cervix a rekta (Opletal a Šimerda, 2010).

Kromě fytoestrogenů je třeba brát na zřetel zvyšující se koncentrace estrogenně působících látek dostávající se do prostředí především povrchových vod činností člověka, užívání chemických látek (DDT) a farmak (syntetické estrogény) (Suchý a Herzig, 2004).

Aflatoxiny (AFB₁ - C₁₇H₁₂O₆) – AF

Aflatoxiny byly první objevené mykotoxiny, jsou produkovány plísněmi rodu *Aspergillus* spp. a to především *Asp. flavus* a *Asp. parasiticus*. Chemicky se řadí mezi difuranokumariny (Obrázek 11) (Fink-Gremmels, 2008). V 60. letech 20. století uhynulo po zkrmení kontaminovaného šrotu z podzemnice olejně na následky akutní otravy na 100 000 krůtích brojlerů (Fink-Gremmels, 1999; Hussein a Brasel, 2001). Základní druhy aflatoxinů jsou AFB₁, aflatoxin B₂ (svítí modře pod UV světlem),



Obrázek 11. Aflatoxin B1 ($C_{17}H_{12}O_6$)

aflatoxin G₁ a aflatoxin G₂ (svítí zeleně). Nejtoxictější a zároveň nejčastěji se vyskytujícím, a proto i nejspolečnejším a nezkoumanějším je AFB₁. Nejvímavější k AF jsou kuřata, kachňata a krůťata (LD 50 je 0,3 až 0,6 mg/kg živé hmotnosti). Z hospodářských savců jsou nejcitlivější prasata, přežvýkavci především díky předžaludkům jsou poměrně málo vnímaví. V mléce dojníc byl prokázán metabolit AFB₁ označovaný jako AFM₁, jehož toxicita je 10x nižší, maximální akceptovatelná množství AFM₁ v mléce je 10 – 50 ng/kg (Asao a kol., 1963; Eaton a kol., 1994).

FDA (Food Drug Administration U.S.) stanovila pro zvyšující se výskyt aflatoxinů v jaderných krmivech především v jižních oblastech USA mezní limity: 200 ppb pro chovný dobytek, 300 ppb pro masný skot ve výkrmu a pouhých 20 ppb pro dojnice a 0,5 ppb v mléce dojníc. V Evropě je měřítko ještě přísnější a to pouhých 0,05 ppb AF v mléce, obsahuje-li nad 3 ppb je nepoživatelné. Velká intoxikace AF se přihodila v roce 1974 v Indii, kdy po konzumaci jídla z napadené kukuřice onemocnělo na 1000 lidí a 100 jich zemřelo.

Běžnější je kumulativní a pozvolný účinek AF, přesto při hladinách mezi 300 až 700 ppb dochází k akutní aflatoxikóze. Vzniká poškození jater spojené s jejich zduřením a překrvením a žloutenkou, dochází k akutním krvavým průjmům a krvácením v dalších parenchymatózních orgánech jako jsou plíce a ledviny, u samců dochází k poklesu ejakulátu a atrofii gonád, samci jsou vnímavější než samice. AF zapříčiňují akumulaci mastných kyselin v jaterní tkáni, ledvinách, srdci, mohou působit encefalopatie a edémy. K úhynům dochází v řádech hodin až dní. Skrze narušení syntézy DNA interakcí na guaninové báze, dochází k buněčné smrti, případně hepatokarcinogenitě. AFB₁ je nejúčinnějším hepatokarcinogenem (Hussain a Brasel, 2001; Yiannikouris a Jouany, 2002). AFB₁ v kombinaci s T-2 poškozuje imunitní mechanismy, narušením proteosyntézy a růstu buněk a narušením membrán periferních lymfocytů (Sharma, 1993).

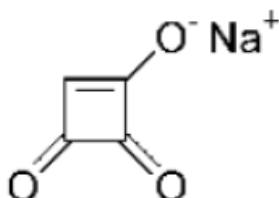
Projevy toxicity jsou pozorovány při hladinách 100 ppb, kdy oproti kontrolním skupinám jsou výrazně hmotnější játra, aniž by byl pozorován statisticky rozdílný celkový růst skotu ve výkrmu. U dojníc krmených napadeným krmivem o hladinách 120 ppb po jeho vysazení a založením nekontaminovaného krmiva došlo k navýšení

mléčné produkce až o 25% (Whitlow a Hagler, 2005). Applebaum a kol. (1982) poukázal na fakt, že krmivo přirozeně kontaminované AF vede ke snížení mléčné produkce, oproti pokusu, kdy byl do krmiva přidán čistý AF, který se neprojevil celkovou změnou nádoje. Je pravděpodobné, že je to v důsledku chybění synergismu s ostatními mykotoxiny v krmivu. V ČR se limity pro AFB₁ v krmivech pohybují podle druhu zvířete 5 – 50 µg/kg. LD50 pro různé druhy savců jsou uvedeny v Tabulce 8.

Tabulka 8. Vybrané hodnoty LD50 pro AFB₁ (mg/kg) dle Wild a Gong (2010)

Druh	Dávka (mg/kg)	Druh	Dávka (mg/kg)
Králík	0,30	Potkan	5,50
Kočka	0,60	Makak	7,80
Pes	0,05 - 1,00	Myš	9,00
Prase	0,60	Křeček	10,20
Pavián	2,00	Člověk	0,54 - 1,62

Moniliformin (C₄H₃O₃Na)



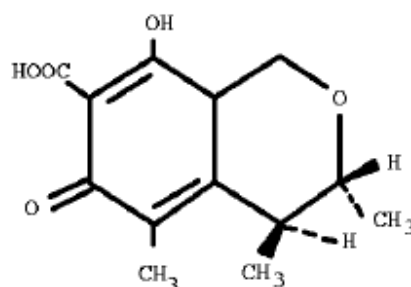
Obr.12. Moniliformin

Moniliformin (Obrázek 12) je produkován plísněmi *Fusarium* především *F. moniliforme*, rostoucí na mnoha obilninách, ovsu, lnu, sóje, prosu, kukuřici a pšenici. Má kardiotoxický efekt, po expozici jeho účinkům dochází ke kardiomegálii, degeneraci kardiomyocytů a jejich apoptóze. Nebezpečný je především pro drůbež (kachny a kuřata).

Mezi další účinky patří kožní onemocnění, artritidy a leukoencefalomalácie. Jemu blízký beauvericin je toxický pro hmyz, dále fusarin C s mutagenními účinky, a fusaproliferin o určité cytotoxicitě (Hussein a Brasel, 2001; Glenn, 2007; Herzig a kol., 2008).

Citrinin (C₁₃H₁₄O₅) – CIT

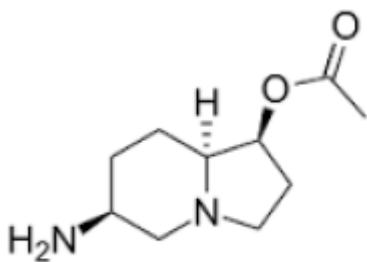
CIT (Obrázek 13) se vyskytuje pospolu s OT a je produkován plísněmi *Penicillium citrinum*, *P. expansum* a *Penicillium verrucosum*, ale i rodem *Aspergillus spp.* (*Asp. tereus*, *Asp. Candidus*) a *Monascus*. Vzniká při teplotě od 15 až do 37°C. Je nefrotoxický, působí lymfopenii,



Obr. 13. Citrinin (C₁₃H₁₄O₅)

byly prokázány kancerogenní, mutagenní a teratogenní vlastnosti. CIT byl zkoumán i jeho antibiotický potenciál, pro nefro a hepatotoxicitu se od využití ustoupilo (Velíšek a kol., 1999). U dojnic vyvolává syndrom pyrexie-pruritus-hemoragie a u telat může způsobovat hemoragický syndrom. Má antifungální, antibakteriální, antiprotozoární a insekticidní účinek, proto byl po objevení v třicátých letech 20. století pro tyto účely zkoumán, dnes je znám jako silný teratogen a dále se nevyužívá. Na obilovinách se vyskytuje již před sklizní (Fink-Gremmels, 2008).

Slaframine (C₁₀H₁₈N₂O₂) - Slaf

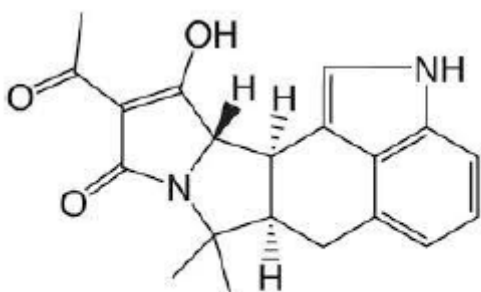


Obr. 14. Slaframine

Slaframine (Obrázek 14) je alkaloid pocházející z plísní rodu *Rhizoctonia* nacházejících se na červeném jeteli, ale i jiných píceřinách. Je parciální agonista cholinergních receptorů, projevuje se tzv. *slobbers disease*, u skotu, koní, ale i u ovcí a prasat. Prvním projevem je silný slinotok, nastupuje poškození jater, průjmy slzení, plynatost, ztuhlost

kloubů, odmítání krmiva a celková ztráta kondice, postupně se rozvíjí cyanóza a dyspnoe. Příbuzný alkaloid swainsonine způsobuje neurotoxický syndrom u zvířat i lidí, je doprovázený ataxií, depresemi, snížením propriorecepce a třesem (Fink-Gremmels, 2008).

Kyselina cyklopiazonová (C₂₀H₂₀N₂O₃) – CPA



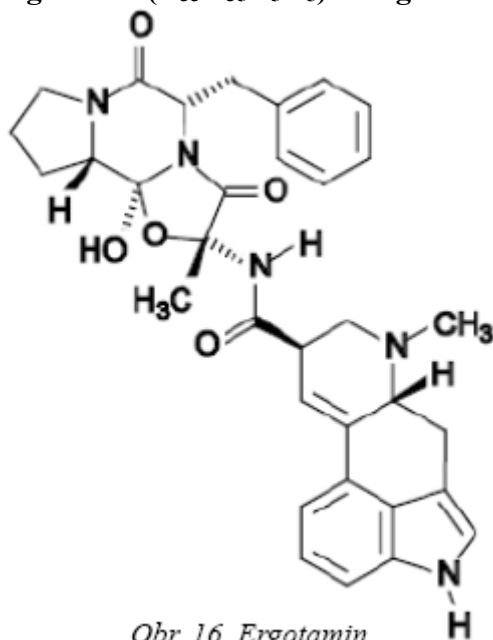
Obr. 15. Kyselina cyklopiazonová

CPA (Obrázek 15) je produkována plísní *Aspergillus flavus* a některými z rodu *Penicillium spp.* (*P. cyclopium*, *P. commune*). CPA působí změny v transportu vápníkových iontů, jež vedou skrze narušení proteosyntézy poruchou transkripce RNA k osmotické smrti buněk.

Inhibuje adenosintrifosfatázu v sarkoplasmatickém retikulu svalových buněk a narušením Ca²⁺ kanálů, svalovou kontraktilitu, napadené myofibrily vypadají podobně jak při nutriční deficienci vitamínu E a selenu. Klinické projevy jsou slabost, letargie, narušená koordinace, neschopnost pohybu, změny jsou pozorovány jak na kosterní tak srdeční svalovině. Prvně byla objevena s onemocněním a úhyny kachňat a ovcí,

nejvnímavější jsou však psi, nejméně vnímaví laboratorní potkani. Histopatologicky jsou patrné nekrózy GIT, jater a skeletální svaloviny. Je řazen mezi potencionální karcinogeny. Objevuje se především na kukuřici, slunečnicových semenech i sýrech s bílou plísní. Prozatím nejsou stanoveny mezní limity pro obsah CPA v krmivu a potravinách (Šimůnek a Březina, 1997).

Ergotamin ($C_{33}H_{35}N_5O_5$) – Ergot



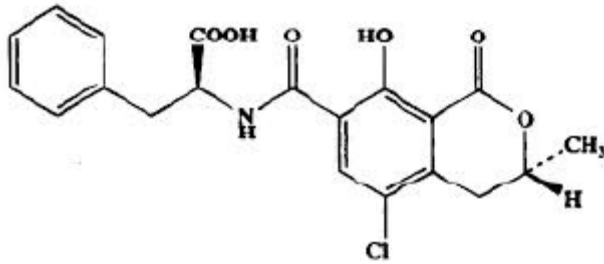
Obr. 16. Ergotamin

Ergot (Obrázek 16) jsou skupinou alkaloidů produkovaných především plísní *Claviceps purpurea* – paličkovice nachová rostoucí na semenech, ale i listech jednoletých rostlin, producenty jsou i *Neotyphodium spp.* Případy ergotismu jsou známy již ze starověku a vážou se na rozvoj zemědělství a pěstování obilovin. Ve středověké literatuře se o ergotismu mluví jako o *ohňi sv. Antonína* (Cheek a Shull, 1998). Deriváty námelových alkaloidů jsou vyživny v porodnictví, léčích proti migréně,

jsou využívány k přípravě kyseliny lysergové, psychotické droze LSD. Do skupiny tremorgenních alkaloidů patří i řada paspalitremů a lolitremů (Fink-Gremmels, 2008). V podmínkách Severní Ameriky a Evropy jsou často napadány i trávy čeledi lipnicovitých rodu *Festuca spp.* (kostřava), kde se vyskytuje příbuzný alkaloid ergovaline, který je brán jako markrový, s ním je spojená tzv. kostřavová toxikóza (*fescue toxicosis*). Působí redukcí mléčné produkce, ztrátu hmotnosti, zhoršené zabřezávání, v letních měsících vede k horší snášenlivosti vysokých teplot doprovázené nekrózami tuku, které nastává v důsledku periferní vasokonstrikce, dále jsou pozorovány laminitidy a nekrózy končetin tzv. *fascue foot* (Fink-Gremmels, 2008).

Ochratoxiny – Ochratoxin A ($C_{20}H_{18}ClNO_6$) – OT

OT (Obrázek 17) zahrnují několik chemicky podobných mykotoxinů, z nichž největší význam zaujímá OTA (OT A, OA), celosvětově rozšířený a produkovaný plísněmi rodu *Apergillus* především *Asp. ochraceus* (Brazílie, Chile, Egypt, Senegal, Tunis, Indie a Indonésie) druhou plísní produkující OTA je *Penicillium verrucosum*, *P.*

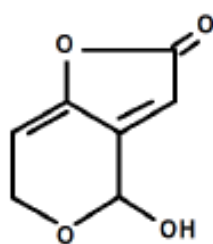


Obr.17. Ochratoxin A

viridicatum (Kanada, USA, Evropa, Jižní Amerika). OTA se tvoří při vlhkosti substrátu nad 20% a teplotě 3 až 5 °C (CAST, 2003). Na buněčné úrovni OTA poškozuje proteosyntézu, kdy dochází

k narušení transkripce přes RNA záměnou za fenylalanin. Otravy OT byly popsány u lidí na Balkáně a ve Skandinávii v chovech prasat. Přežvýkavci jsou výrazně méně vnímaví, protože skrze hydrolyzu bachorovou mikroflórou dochází k tvorbě podstatně méně potentnějšího OTA- α . Je nalézán v kukuřičných silážích i seně společně se ZEA (Hohler a kol., 1999; Lioi a kol., 2004). Akutní otravy jsou nejčastěji u drůbeže a prasat, skrze kontaminované obiloviny, oves, pšenici, žito, ječmen, kukuřici, ale i řepkové produkty. OTA působí nefropatie, průjmová onemocnění a do organismu se dostává kontaminovaným obilným šrotem, následkem bývají vyšší úhyny, nižší konverze krmiv, u nosnic pozastavená produkce vajec, krvavé stopy ve vejcích, křehká skořápka a krvavé skvrny v mase brojlerů jsou známkou rizika kontaminace krmiva OTA (Stoev a kol., 2002). U prasat je syndrom onemocnění spojovaný s krmivem kontaminovaným OTA jako porcinní nefropatie (*kidney damage*). Zvířata hůře prosperují, objevují se krváceniny a je častější úhyn před porážkou, u kanců je pozorováno narušení fertility spermií. Jsou provázeny inapetencí, polydipsií, narušením funkce ledvin, za další navozují imunopresi inhibicí T i B lymfocytů a rozvoj karcinomů jater a ledvin, dochází k urychlení a rozšíření apoptózy lymfocytů (Lioi a kol., 2004). U lidí je OTA dáván do souvislosti s tzv. „Balkánskou endemickou nefropatií“. Za vyvolání příznaků akutní otravy je považována hladina OTA 1400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva, dochází k poškození buněk proximálních ledviných tubulů, s patrnou karyomegalií. Maximální limity jsou stanoveny ve Francii na 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva (JECFA, 2006; Yiannikouris a Jouany, 2002).

Patulin ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$) - PAT

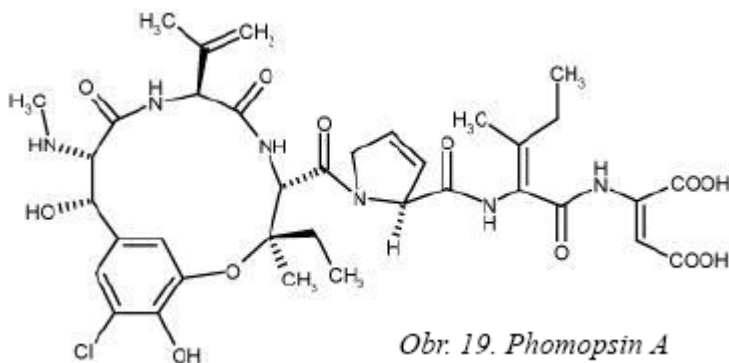


Obr. 18. Patulin

PAT je jedním z méně patogenních mykotoxinů (Obrázek 18), je produkován především plísněmi *Penicillium expansum*, *P. urticae*, *Aspergillus clavatus*, *Byssochlamys nivea*. Je obecně znám pro svůj výskyt na plísněmi napadeném ovoci, je tepelně deaktivovatelný (zahřátí na 125 °C po dobu 4 hodin, deaktivuje

na 90 % původně obsaženého toxinu) a plísně jej produkující jím nekontaminují hlubší vrstvy substrátu, může se vyskytovat i na cereáliích a objemných krmivech (Bräse a kol., 2013). Při alkoholovém kvašení se plně odbourává, stejně i mikrovlnný ohřev jej deaktivuje (Velíšek a kol., 1999). Zajímavostí je, že vysoký obsah vitamínu C v ovoci má protektivní charakter proti degradaci PAT teplem, zde je mírně rozpor dle Šimůnka (2003) vitamín C chrání PAT, dle Velíška a kol. (1999) napomáhá jeho likvidaci. Po chemické stránce je řazen mezi laktony. V průzkumu siláží ve Francii bylo na 59% pozitivních na PAT (Yiannikouris a Jouany, 2002). PAT narušuje iontovou permeabilitu buněčných stěn, vnitrobuněčnou komunikaci a skrze oxidativní stres vede k buněčné smrti. Je dobře rozpustný ve vodě a stabilní v kyselém prostředí při pH 3 až 6. V gastrointestinálním traktu působí degenerace epitelu, s projevy zánětu, ulcerací až hemoragií. Má i neurotoxický účinek, poškozují CNS, slezinu, játra, ledviny, respirační systém. PAT má obecně antibiotický efekt proti gram-pozitivním bakteriím (Whitlow, 2011). Může být potenciálně karcinogenní a mutagenní, u zvířat je znám především jako nervový syndrom, s třesou, ataxií, ulehnutí, případně úhyn. U skotu byl popsán případ úhynu 100 ks krav krměných sušeným mlátem, zdrojem byl napadený ječný slad PAT. Mírnější napadení se projevuje nechutenstvím a poklesem mléčné produkce (CAST, 2003). Při přidavku do bacherové kultury o 20, 40 a 80 mg/den, redukuje tvorbu těkavých mastných kyselin (TMK), trávení vlákniny a bakteriální růst (Tapia a kol., 2005). Ve výrobcích z napadeného ovoce hladiny PAT obvykle nepřevyšují 0,1 mg/kg, stanovené hladiny dle WHO (2002) jsou 0,05 mg/kg, dle české legislativy 0,05 až 0,1 mg/kg u potravin (Velíšek a kol., 1999).

Phomopsiny ($C_{36}H_{45}ClN_6O_{12}$) (Obrázek 19)

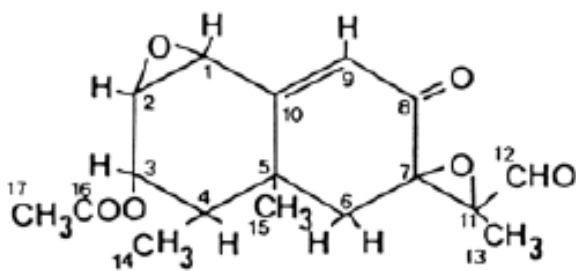


Jedná se o skupinu mykotoxinů produkovaných plísní *Diaporthe toxica* (dříve jako *Phomopsis leptostromiformis*) rostoucí na lupinách. Prozatím je popsáno 5 subtypů phomopsinů A až E.

Hlavním účinkem těchto polypeptidů je vazba na tubulin a tím narušení mikrotubulů buněk, nej-vnímavější jsou játra a následně ledviny. U skotu se projevují za příznaků

hepatotoxikóza, u koní a prasat je výrazný nefrotoxický efekt. Stanovení limitů bezpečnosti krmiv a potravin, je zatím předmětem výzkumu (EFSA, 2012).

Roquefortin ($C_{22}H_{23}N_5O_2$) (Obrázek 20)

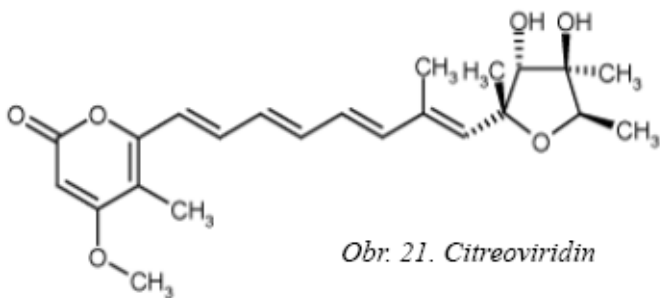


Obr. 20. Roquefortin

Mykotoxin produkovaný plísněmi rodu *Penicillium*, především *P. roqueforti*, jedné se o komerčně využívaný druh kulturní plísně k výrobě sýrů s tzv. modrou plísní, je to plíseň relativně odolná k nižší koncentraci kyslíku i nižšímu pH, proto se může

nalézat v kukuřičných silážích a vyskytuje se často i v senážních balících. Roquefortin C je potencionálně nefrotoxický, patří mezi tremorgeny a je-li nalézán v silážích je dáván do souvislosti s nárůstem zdravotních poruch ve stádech skotu (Whitlow a Hagler, 2005).

Citreoviridin ($C_{23}H_{30}O_6$) (Obrázek 21)

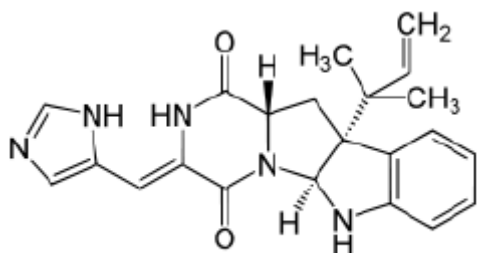


Obr. 21. Citreoviridin

Citreoviridin se vyskytuje na kukuřici a žluté rýži, produkuje jej *Penicillium citreoviride*. U zvířat může vyvolat akutní podobu nemoci *Beri-beri* za obdobných symptomů, jako jsou křeče a paralýza, ale

s nulovou odpovědí na léčbu vitamínem B₁. Úhyn nastane zástavou srdce (Velíšek a kol., 1999).

PR toxin ($C_{17}H_{20}O_6$) - PR

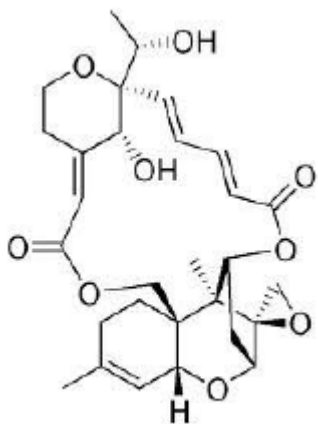


Obr. 22. Pr – toxin

PR mykotoxin (Obrázek 22) produkovaný plísní *Penicillium Roqueforti*, tvoří se nejen na sýrových kulturách, ale i na obilí a v silážích, je dáván do souvislosti s aborty a retencí sekundin u skotu (Still a kol., 1972). Způsobuje akutní toxicitu u myší, krys a koček, vzestupem permeability kapilár, vedoucí k poškození plic, srdce, jater a ledvin (Chen a kol., 1982).

Ve výzkumu travních senází a siláží byl nalezen ve 40% vzorků a tím dáván do souvislosti s nárůstem zdravotních poruch u skotu (Boysen a kol., 2000; Auerbach, 2006).

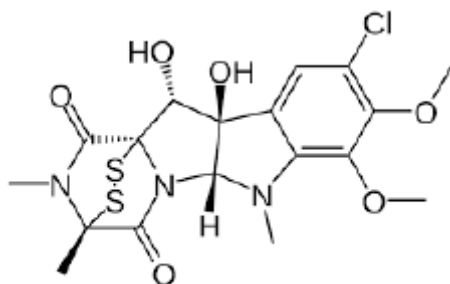
Satratoxin ($C_{29}H_{36}O_9$) - SAT



Obr. 23. Satratoxin H

Satratoxiny (Obrázek 23) patří mezi makrocyclické trichotheceny, produkované především plísněmi rodu *Stachybotrys*, jsou nerozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné v alkoholech a polárních rozpouštědlech. Působí vyrážky, záněty kůže, krvácení z nosu, bolesti na hrudi, krvácení v plicích, hypertermii, bolesti hlavy, únavu. Po přijetí vysokých dávek je smrtelný, LD 50 pro laboratorní myši je 1 – 1,4 mg/kg při injekčním podání. Je 5x potentnější než T-2, vnímavá jsou především mláďata, ovce a koně (Croft a kol., 1986).

Sporidesmin ($C_{22}H_{24}ClN_3O_8S_3$)



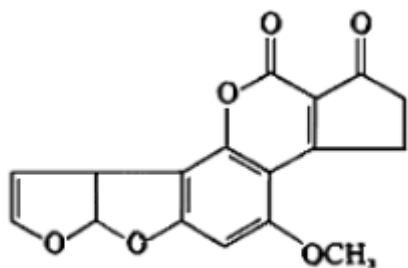
Obr. 24. Sporidesmin

Sporidesmin (Obrázek 24) je produkován saprofytní plísní *Pithomyces chartarum*, běžně se vyskytující na pastvinách. Sporidesmin A je látka vyvolávající faciální ekzém a hepatopatie, tyto projevy jsou známé u ovcí a skotu. Narušením žlučníku a žlučovodů nedochází k odvodu žluči do střev, tělo se nezbavuje metabolitů chlorofylu

a ty se hromadí v tkáních, výsledkem jsou typické projevy fotosenzibilizace neosrstěné a málo pigmentované kůže, dojnice jsou citlivé na dotyk při dojení, objevují se kožní změny ve slabinách, vemeni, především strucích a zarudnutí korunky, často je dermatitida komplikována myiázemi (Hodges a Shannon, 1966; Rahman a Taylor, 1967).

Sterigmatocystin ($C_{18}H_{12}O_6$)

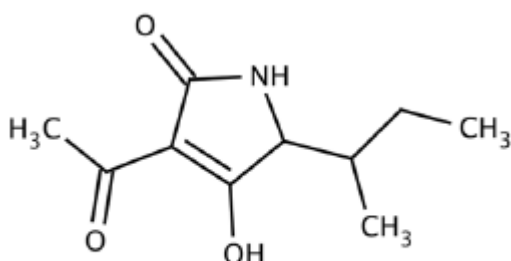
Je mykotoxinem produkovaným zástupci rodu *Aspergillus*, především *Asp. versicolor* (Bartoš a Matyáš, 1983). Chemicky je příbuzný s AF, patří mezi furanokumariny, je prekurzorem AFB₁, je hepatotoxický a karcinogenní i když méně než aflatoxiny, dle IARC (2002) je řazen do skupiny 2B. Je nalézán na obilninách, u nás



Obr. 25. Sterigmatocystin

na ovsu v zahraničí pak na rýži a v případě lidské výživy na napadených sýrech. U skotu je spojován s krvavými průjmy a úhyny – případová studie z Tennessee (Vesonder a Horn, 1985).

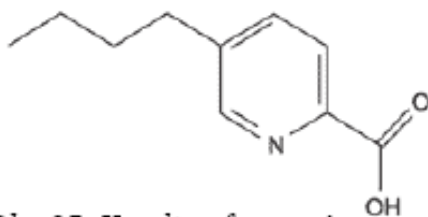
Kyselina tenuová (C₁₀H₁₅NO₃) – Tenua



Obr. 26. Kyselina tenuová

Tenua (Obrázek 26) produkuje plíseň *Alternaria alternata*, je jedním z mnoha zkoumaných produktů plísní pro možný přínos v léčbě onkologických onemocnění. Při pokusech na laboratorních myškách se naopak projevil inhibiční efekt na růst některých tumorů (Hocking a kol., 2006).

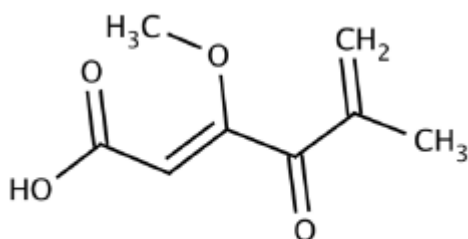
Kyselina fusarová (C₁₀H₁₃NO₂)



Obr. 27. Kyselina fusarová

Kyselina fusarová je sama o sobě pro teplokrevné živočichy málo toxická, opravdu v extrémních dávkách může vyvolat zvracení a únavu. Potencuje negativní účinek ostatních mykotoxinů, produkovaných *Fusarium spp.* (Bacon a kol., 1996).

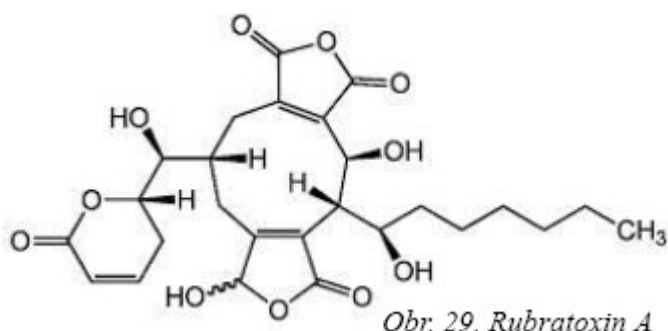
Kyselina penicilová (C₈H₁₀O₄)



Obr. 28. Kyselina penicilová

Jak již název napovídá tvoří ji zástupci rodu *Penicillium*, ale také *Aspergillus*, rostoucí na kukuřici. Jedná se o poměrně malou molekulu, patřící mezi laktamy. Působí tukovou degenerací jater a nekrózy v jaterním parenchymu, je řazena mezi kancerogeny, zároveň je však využívána ve výzkumu urychlení apoptózy při léčbě některých typů lymfomů a pro antibiotický a antivirální efekt (Velíšek a kol., 1999; Kummer a kol., 2001).

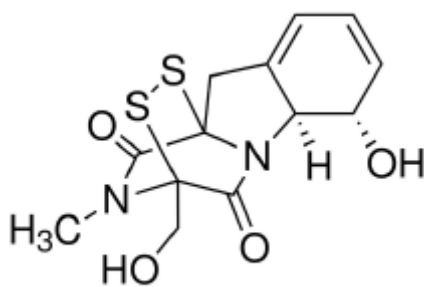
Rubratoxiny A a B (C₂₆H₃₀O₁₁) (Obrázek 29)



Rubratoxiny tvoří plísně rodu *Penicillium* (*P. rubrum* a *P. purpurogenum*). Rubratoxiny jsou hepatotoxické, teratogenní, embryotoxické a mutagenní. Akutní toxicita se projevuje překrvením sliznic, hemoragiemi,

nekrózami jater a ledvin u prasat, skotu a drůbeže (Hussain a Brasel, 2001). Přesto byly zkoumány i pro antikancerózní efekt v pokusech na myších (Hocking a kol., 2006).

Gliotoxin (C₁₃H₁₄N₂O₄S₂)



Gliotoxin je mykotoxin obsahující síru (Obrázek 20), produkovaný vícero druhy plísní, hlavně rodů *Aspergillus*, *Trichoderma* a *Penicillium*. Název získal dle plísně *Gliocladium fimbriatum*, byl detekován i u kvasinek rodu *Candida*. Účinek gliotoxinu je především imunosupresivní, působí apoptózu buněk

imunitního systému neutrofilů, eosinofilů, granulocytů. V in vivo studiích působil protizánětlivě, ve 40tých letech byl zkoušen jako antibiotikum, antivirotikum a antimykotikum. U drůbeže působí respirační potíže a u skotu aborty (CAST, 2003; Fink-Gremmels, 2008).

2.3. Další kontaminanty produkované plísněmi ovlivňující příjem krmiva

Nejen skrze plísněvé toxiny, ale i prostřednictvím dalších sloučenin narušují chuť krmiva, jedná se o řadu aromatických organických látek, které jsou zodpovědné za charakteristický pach napadeného krmiva. Dnes je popisováno na 150 různých organických sloučenin, mezi které patří rozličné ketony, estery, ethery, alkoholy, aldehydy, uhlovodíky a terpeny (Fiedler a kol., 2001). Mnohé z nich jsou přímo spojované s tzv. *Sick-Building Syndrom* (SBS), jak u zvířat tak i lidí. Vytváří charakteristický plísněvý pach, dráždí spojivky, respirační ústrojí, spolupůsobí vznik astma (Fischer a Dott, 2003; Kim a kol. 2007). U koní je chronické dráždění

prostřednictvím napadeného krmiva a slámy příčinou tzv. *chronické obstrukční nemoci*, nebo též RAO (Respiratory Airway Obstruction Disease) či COPD (Chronic Pulmonary Disease), fotosensibilizace u telat, a zhoršení kvality spermatu u plemenných býků (Wintzer, 1999; Laan a kol., 2006; Fink-Gremmels, 2008).

2.4. Hlavní zdravotní poruchy dojnic

2.4.1. Metabolické poruchy

Chyby ve výživě dojnic vedou k řadě bachorových a následně metabolických poruch, které vyúsťují a spoluúčastní se většiny onemocnění, jako jsou mastitidy, reprodukční poruchy, laminitidy a další nemoci. Vzájemnými vztahy mezi výživou, prostředím a zdravím na úrovni stáda se zabývá obor: „Preventivní a produkční medicíny dojnic“ – „Preventive and production veterinary medicine“ (Herd health management) (Wilcox, 1999; Hofírek a kol., 2004). V rámci zdravotních poruch se nejčastěji hovoří o konkrétních syndromech jako je poporodní paréza (milk fever), syndrom ztučnění dojnic (fat cow syndrome), acidóza (acidosis); případně dle USA klasifikace SRA (Subclinical Rumen Acidosis), ketóza (ketosis), prostá indigestce (simple indigestion), při každé z těchto poruch je příčinou nesprávná výživa v kombinaci s narušením bachorové fermentace (Shearer a Giesy, 1991; Reynolds a Tyller, 2000; Enemark a kol., 2002). Neméně významným prvkem je dodržení období přípravy na další laktaci a to období stání na such, kdy jako optimální se jeví konvenční 60-ti denní období, prodlužování nepřinese žádný efekt ani v mléčné produkci, ani v úbytku nedoléčených onemocnění. Zkrácení na pouhých 35 dní sebou přináší vyšší vyřazení dojnic v důsledku chronických mastitid a podobně, neprojevalo se však nárůstem metabolických poruch (Santschi a kol., 2011). Řízení příjmu potravy u dojnic je pod vlivem řady faktorů, na jedné straně složení krmné dávky, na straně druhé metabolický stav dojnice, což zahrnuje v jaké reprodukční a laktační fázi se dojnice nachází, obsah tělesného tuku, a to vše je řízeno pohlavními hormony, stresovými hormony, leptinem, insulinem, GIT peptidy, cytokiny, neuropeptidy, jako např. neuropeptidem Y, galaninem a kortikotropin-releasing faktorem (Ingvarsen a Andersen, 2000). Více aktuálních informací např. na Milkproduction.com nebo Cattlesite.com. Produkční poruchy se dají rozdělit do podkategorií:

- A. poruchy trávení v předžaludcích
- B. ketóza, hepatopatie a jaterní kóma

- C. porodní paréza, hypofosforemické ulehnutí, hypomagnesemie, osteopatie
- D. deficiencie mikroelementů
- E. methemoglobinemie

A. Metabolické dysfunkce a onemocnění GIT - Ekosystém bachoru

Bachor je základním kamenem zdraví a užitkovosti dojnic. Dobře rozvinutý bachor dojnic o obsahu až 200 litrů je unikátní ekosystém, v němž žije více jak 200 rozdílných druhů bakterií a jiných mikroorganismů, které mají specifické a nezastupitelné funkce při rozkladu krmiva. Optimální pH bachorového prostředí je 6,5 – 7,2. Mikrobiální populace v bachoru zahrnuje bakterie, protozoa a houby. U přežvýkavců je více jak 75% potřebné energie a dusíkatých látek získáváno z jinak nestravitelného krmiva, díky správně fungující bachorové fermentaci, jejímž základem je anaerobióza (Wallace, 1994; Kudrna a kol., 1998). Nedílnou součástí trávení přežvýkavců je, že mohou přijaté krmivo přežvykovat, čímž zmenšují částice krmiva a tím významně zvětšují plochu, na kterou mohou bachorové mikroorganismy působit. Zároveň to prodlužuje bakteriím čas k degradaci přijatého krmiva (Mudřík a kol., 2006). V předžaludku dochází působením mikrobiálních enzymů ke štěpení celulózy, dále zde probíhá hydrolyza degradovatelných dusíkatých látek, tvorba bílkovin a syntéza vitamínů (Kudrna a kol., 1998; Reece, 1998).

Bakterie tvoří přibližně polovinu živé hmoty z žijících organismů v bachoru. Dělí se do několika skupin a to na celulolytické, amylolytické, sacharolytické, využívající kyseliny, metanogenní, proteolytické, lipolytické a syntetizující vitaminy. Všechny tyto bakterie společně vytváří řadu produktů (Jelínek a kol., 2003). Např. *Acidaminococcus fermentans* fermentuje karbohydráty, *Anaerovibrio lipolytica* dělí tuky, *Bacteroides amylophilus* produkuje amylázu, *Selenomonas ruminantium* tvoří kyselinu octovou a propionovou, *Lactobacillus casei* též tvoří kyselinu octovou, *Peptostreptococcus Elsdenii*, *Streptococcus ruminantium*, *Propionibacterium Shermani* a další (Hobson, 1972).

Plísně a kvasinky zajišťují v bachorovém prostředí narušení hrubé vlákniny. Rhizoidy pronikají rostlinným materiálem, narušují rostlinnou buněčnou stěnu a tím usnadňují bakteriální trávení celulosy. Tyto plísně jsou anaerobní a jsou stálou součástí bachorového obsahu. Z hlavních zástupců to jsou *Neocallimastix frontalis*, *Sphaeromonas communis*, *Piromonas communis* a řada dalších (Jelínek a kol., 2003; Lascano a kol., 2009a).

Kromě bakterií a mikroskopických hub se na bachorovém trávení účastní množství prvoků. Prvoci se dělí do rodů: *Isotricha*, *Dasytricha*, *Diplodinium*, *Entodinium*, *Epidinium*. Jsou konečným článkem mikrobiálního trávení v bachoru, zabudovávají uvolněné látky do svých těl a tím vytváří jednoduché proteiny k využití makroorganismem přežvýkavce. Prvoci jsou nejvnímavější skupinou bachorové mikrofauny a v případě poškození vnitřního prostředí hynou jako první (Jelínek a kol., 2003).

Hlavními trávicími poruchami spojenými s narušenými krmivou jsou: jednoduchá bachorová dysfunkce – *dysfunctio proventriculi simplex* (forestomach dysfunction); acidóza bachorového obsahu chronická/akutní – *acidosis ingestae ruminis/acuta* (rumen acidosis); alkalóza bach. obsahu – *alcalosis ingestae ruminis* (ruminal alcalosis); akutní tympanie bachoru – *tympania ruminis acuta* (ruminal tympany); hniloba bachorového obsahu – *putrefaction ingestae ruminis* (decomposition of rumen content); levo či pravostranná dislokace slezu – *dislocatio abomasi* (abomasal displacement). Všechny tyto poruchy trávení v předžaludku mohou vyústit v posledně jmenovanou hnilobu bachorového obsahu (Radostis a kol., 2000; Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011). V udržitelnosti bachorového trávení hraje hlavní roli vyváženost mikrobiálního prostředí mezi bakteriemi, prvoky a plísněmi (Shearer a Giesy, 1991; Zeman, 2006).

Akutní acidóza bachorového obsahu vzniká náhlým zkrmením většího množství sacharidů, povětšinou jádra, dochází ke změně poměrů TMK a jejich producentů, klesá zastoupení celulolytických bakterií a narůstá obsah kyseliny mléčné, obsah kyseliny octové, hlavního prekurzoru mléčného tuku klesá. Celková užitkovost prudce klesá a může končit až úhynem. Ke vzniku chronické acidózy vede naopak nedostatek hrubé vlákniny, produkce klesá o 15 až 20%, pokles ml. tuku až o 2%. V obou případech dochází k rozvoji acidózy metabolické a ovlivnění celkového zdravotního stavu. Chronická acidóza mimo jiné zvyšuje náchylnost k zánětlivým změnám na sliznicích a působí disproporce v metabolismu minerálních látek, především Na, K, P, Ca (Radostis a kol., 2000; Enemark a kol., 2002; Scott a kol., 2011).

Alkalóza bachorového obsahu, tedy zvýšení pH bachorové tekutiny, je způsobena předkládáním krmiv bohatých na dusíkaté látky, může nejčastěji nastat při pastvě na mladých porostech a zkrmování senáží z mladé píce. Alkalizace je důsledkem nadměrné tvorby amoniaku, který nestačí bachorová mikroflóra zpracovat. Amoniak dráždí sliznice trávicího traktu, narušuje množení bachorové mikroflóry a vstřebaný do krve působí metabolickou alkalózu. Je narušen metabolismus Ca a Mg a poklesá tvorba

mikrobiálního proteinu v bachoru a detoxikačními procesy jsou silně zatíženy játra. U lehčích forem poklesá příjem krmiva a užitkovost o 15 – 20%, u těžších dochází k ulehnutí, provázenému hypersalivací, třesy svalstva až křečemi, končit může až úhynem (Hofireka kol., 2009; Scott a kol., 2011).

Tympanie – akutní nadmutí, vzniká v důsledku enormního nahromadění plynů v bachoru v důsledku intenzivní mikrobiální fermentace. Většinou k tympanii dochází nesprávnou pastvou na mladých porostech s nedostatkem hrubé vlákniny, vysoce rizikové jsou jetele, vojtěška, jetelotravní a luskovinoobilní směsky, krmiva namrzlá, či sklizená za deště, při krmení TMR k tympanii dochází zřídka. Tympanie se rozlišuje na tympanii akutní prostou a pěnovou. Pěnová tympanie představuje stav tvorby bublinek, jež nemohou být eruktovány, dochází k ní po pozření rostlin s vysokým obsahem saponinů. Zvířata hynou v důsledku enormního tlaku na bránici a vnitřní orgány dutiny břišní (Fourichon a kol., 1999; Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

Od prosté bachorové dysfunkce k hnilobě bachorového obsahu

Hnilobné procesy v bachoru se dostávají u zvířat s bohatou proteinovou, nebo naopak vysokoenergetickou dietou s nedostatkem strukturální vlákniny, je tedy vyústěním bachorové alkalózy nebo naopak bachorové acidózy, nebo jako následek jiných narušení krmné dávky. Namrzlé, zaplísňené či jinak kontaminované krmivo též vedou k narušení bachorové fermentace s narušením aktivity bachorových mikroorganismů. Pokles TMK (kyseliny octová, propionová a máselná) vede ke zvýšení pH (7,5 – 8,5). V bachoru převládají hnilobné bakterie, projevuje se toxémie, přecházející v sepsi organismu. Jakékoli narušení správné funkce bachové mikroflóry se projeví: nechutenstvím spojeným s nižším příjmem krmiva; poklesem mléčné produkce; změnami v zastoupení složek mléka (pokles mléčného tuku a proteinu); k vyššímu výskytu kulhajících zvířat a častější reprodukční poruchy (Slavík a kol. 2004; Seeling a kol., 2006). Těžká poškození vedou k úplnému odmítnutí potravy, ulehnutí, k hepatopatiím jaternímu kómatu, nezřídka končící až smrtí. Terapie a znovuobnovení bachorového trávení je obtížné a v těžších případech mnohdy neúspěšné. Léčba zahrnuje na prvním místě vyloučení nevhodného krmiva, pokusit se o odstranění alespoň části „mrtvého obsahu“, podávání prodigestiv, hepatoprotektiv, přenesení mikroorganismů ze zdravého zvířete a vhodné je doplnit léčbu infuzní terapií (Radostis a kol., 2000; Hofírek a kol., 2009).

Zvláštním typem onemocnění předžaludků je mykotická rumenitida. Dochází k pomnožení patogenních plísní přímo v předžaludcích. Onemocnění je charakteristické

ztekucením bacherového obsahu, atonii předžaludků, dehydratací organismu navzdory nitrožilní rehydratační terapii, průjmem, anorexií, slábnutím a úhynem v průběhu 2 až 3 dnů (Radostis a kol., 2000).

B. Ketóza, hepatopatie a jaterní kóma

Ketóza (acetonemie) akutní nebo chronická je onemocnění v důsledku nesprávného metabolismu cukrů za vzniku vysokého obsahu ketolátek (kys. β -hydroxymáselná, kys. acetoctová, aceton). Dochází k jejich zvýšení v krvi, mléce i moči (což se i diagnosticky využívá), nejčastěji v první třetině laktace v období tzv. „negativní energetické bilance“ a velmi často souvisí se vznikem lipomobilizačního syndromu u dojnic v poporodním období. S akutní formou se v našich chovech setkáváme zřídka, častější je forma chronická, při které dochází k poklesu mléčné produkce v průměru o 20 %. Důležitým preventivním opatřením je předkládání vyvážené KD odpovídající dané fázi laktace a zamezení rozvoje lipomobilizačního syndromu (Shearer a Giesy, 1991; Hofírek a kol., 2009, Scott a kol., 2011).

Lipomobilizační syndrom (fat cow syndrome), ztučnění (adipositas) a hepatopatie, z nichž přichází na mysl především steatóza (lipidóza, tuková dystrofie) jater různého stupně. Ke ztučnění jater (zvýšení obsahu tuku o 20 až 45 %) dochází v důsledku nesprávné výživy, především předkládáním energeticky bohatých krmiv v období stání na sucho. Rozvoj problémů nastává v období nejvyšší negativní energetické bilance, ke které dochází mezi 7 až 10 týdnem laktace. Ta je způsobena tím, že dojnice nadměrně krmené mají ztučnělá játra, vrchol ztučnění bývá 1 až 2 týdny po porodu, maximální dojivost je ve 4 až 7 týdnů po porodu a vrchol spontánního příjmu krmiva je až 8 či 10 týden po porodu. Dochází k nadměrné lipolýze tělesných tukových rezerv, zatížení již tak ztučněných jater a prohloubení stavu mezi energetickou potřebou dojnice a schopností ji zajistit. V akutních případech u opravdu „velmi dobře“ živených dojnic nastává jaterní kóma a úhyn, často také označení „syndrom tučných krav“ U chronických případů se projeví ve složení mléka, klesá celkový nádoj, obsah bílkovin a stoupá obsah buněčných elementů (Shearer a Giesy, 1991; Slavík a kol. 2004). S lipomobilizačním syndromem a obdobím negativní energetické bilance je spojován nejvyšší výskyt zdravotních poruch ať infekčních jako jsou metritidy, mastitidy, metabolismus Ca, Mg, funkční jako atonie gastrointestinálního traktu, dislokace slezu, problémové porody, narušení hormonální regulace, atd. (Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

C. Porodní paréza, hypofosforemické ulehnutí, hypomagnesemie, osteopatie

Porodní paréza (*Paresis puerperalis*) je akutní nehoréčnaté onemocnění vysoko produkčních dojnic vázané na poporodní období, způsobené nevyrovnaností v metabolismu Ca. Problém začíná již v době stání na suchu, kdy jsou dojnice překrmovány krmivy obohacenými na Ca, po porodu nastává deficit Ca, pro nedostatečnou produkci parathormonu, resorpci Ca ze střeva reabsorpci v ledvinách. Dojnice náhle přestává přijímat krmivo, uléhá, apatická. Paréza začíná u pánevních končetin a postupuje kranálně, poklesá tělesná teplota (Radostis a kol., 2000; Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

Hypofosforemické ulehnutí je způsobeno dlouhodobým nedostatkem P v krmné dávce a následně v krevní plazmě, v kombinaci s chronickou acidózou bachorového obsahu. Projevuje se slabostí až ulehnutím se zachovalým vědomím nejčastěji u nejlepších dojnic. Slabost je působena nedostatečnou tvorbou ATP, jehož je P esenciální součástí (Radostis a kol., 2000; Scott a kol., 2011).

Hypomagnezémie – travní, pastevní tetanie, vyskytuje se především na jaře na mladé pastvě, chudé na hořčík. Rozlišujeme subklinickou, subakutní a akutní formu, při které dochází ke vzniku tonickoklonických křečí, plovacích pohybů, opustotonu, exoftalamu, křečovému stažení tlamy. Při tomto stavu se zvíře rychle unaví, může dojít k aspiraci potravy, poranění končetin a k úhynu v důsledku křeče bránice (Shearer a Giesy, 1991; Hofírek a kol., 2009).

Osteopatie je skupina onemocnění projevující se především změnami na kostře, jedná se o polyfaktoriální soubor příčin, nevyrovnaná krmná dávka, karence vitamínu D, karence mikroprvků, předně Mn, Cu, Zn, chronické onemocnění ledvin, předžaludků, karence bílkovin a esenciálních aminokyselin. Obecně se v našich podmínkách vyskytují vzácně, pokud ano pak náchylnější jsou plemena holštýnskému typu, než plemena simenská. Mezi hlavní patří křivice (rachitis), onemocnění zahrnující nevyrovnanost v metabolismu Ca, P a vitamínu D. Osteoporóza je sporadické onemocnění vzniklé v důsledku nesprávné přestavby kostí, za nevyrovnaného poměru potřebných složek, tj. bílkovin, Ca, P, Cu a vitamínu C. Predispozičními faktory jsou bachorové disfunkce, především chronická acidóza. Osteomalacie – demineralizace kostí postihující nejlepší dojnice v poslední třetině březosti a v prvních měsících laktace. Příčinou je nedostatek P, Ca a vitamínu D, nebo nesprávný poměr Ca:P. Fibrózní degenerace kostí je častěji ve výkrmu býků než u dojnic (Radostis a kol., 2000;

Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

D. Deficiencie makro a mikroprvků a vitaminů

Hypokalémie nedostatek draslíku se v klinické formě projevuje svalovou slabostí až ulehnutím. Příčiny nedostatku K jsou dlouhodobý nedostatek v krmné dávce, zvýšené ztráty při průjmových onemocněních a neadekvátně řešené acidózy (Hofírek a kol., 2009).

Hyponatrémie může být primární v důsledku karence v KD, nebo sekundární v důsledku interakcí s K ionty. Sodík reprezentuje na 90% tělesných bází, a zásadně ovlivňuje metabolismus vody v těle, je absorbován v tenkém střevě a vylučován především močí, ale i potem a mlékem. Účastní se udržování osmotického tlaku extracelulární tekutiny, acidobazické rovnováhy, polarizace a depolarizace membrán nervových vláken, je aktivátorem řady enzymatických reakcí. Při nedostatku klesá chuť k jídlu, je narušen proces trávení, klesá mléčná užitkovost, zhoršuje se reprodukce tj. tichá říje, hypoplazie ovarií, anestrus. Při silné karenci, si zvířata snaží pomoci alotriofagií, olizováním, projevuje se dehydratací, svalovými třesy, nervovými poruchami (Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

Z mikroprvků je v našich přírodních podmínkách dlouhodobě řešen nedostatek selenu. Selen spolu s vitaminem E je součástí řady enzymů a jeho nedostatek logicky ovlivňuje metabolické pochody v organismu zvířat, předně je součástí glutationperoxidázy (GSH-Px), thioredoxinreduktázy (TR), dejodázy (DJ) a dále v selenoproteinech P a W. U dojnic je nutné sledovat hladinu Se v krvi, nedostatek se projeví nárůstem mastitid. Vstřebávání selenu je negativně ovlivněno jeho redukcí v bachoru na hůře využitelné sloučeniny (Eastrige, 2006).

Zinek je esenciální prvek jak pro rostliny tak živočichy. Zn je nezbytný pro růst, vývoj kostí, kvalitu kůže a kožních derivátů, pro správný vývoj pohlavních orgánů, imunitní funkce, tvorbu inzulinu, činnost bachorové mikroflóry a v mnoha dalších metabolických pochodech. U přežvýkavců dochází ke sníženému vstřebávání při acidózách bachorového obsahu. Nedostatek se klinicky projevuje především onemocněním kůže, častěji se vyskytuje dermatitis interdigitalis, dermatitis uberoinguinalis, zhoršená rohovina, nejen rohů, ale hlavně paznehtů (Hofírek a kol., 2009).

Měď je významný esenciální prvek, potřebný ke správnému růstu a krvetvorbě, přesněji hemoglobinopoeze. Při výrazném nedostatku se objevují ataxie, anémie, poruchy

pigmentace, poruchy vývoje kostí. Pokud dochází ke karencím u přežvýkavců, je to díky procesům v předžaludcích, kde se tvoří z organických i anorganických forem sulfidy, jež jsou nevyužitelné.

Mangan je obsažen ve všech tkáních, především v mitochondriích. Je nezbytný pro správný růst a vývoj, je nezbytný pro tvorbu skeletu, krvinek, nervové tkáně, pro reprodukci a imunitní mechanismy. Mangan se podílí na syntéze cholesterolu, který je prekurzorem steroidních hormonů. Absorpce manganu je odvislá od složení bачorové mikroflóry, obsahu vlákniny a výskytu fytátů.

Jod je závislý od výskytu v půdě, nedostatek se projevuje vznikem strumy, narušení tělesného růstu a vývoje CNS. Ionty jodu jsou účinně vstřebávány z GIT a u přežvýkavců se uplatňuje i opakované zpětné vylučování do slezu.

Železa je v našich podmínkách dostatek, veškeré potřeby jsou kryty přísunem běžnými krmivy, i když využitelnost z přijatého množství je asi jen 10%. Železo je nezbytné k tvorbě hemoglobinu a myoglobinu a účastní se prostřednictvím enzymů řady metabolických procesů. Hlavním příznakem nedostatku je anemie. Při absorpci železo do určité míry soutěží s cobaltem, zinkem, fosfáty, mědí a je ovlivněno fytáty a šťavelany.

Cobalt je esenciálním mikroprvkem nejen pro makroorganismus, ale především pro symbiotické mikroorganismy bачoru. V těle je obsažen jako součást vitamínu B12 (kobalaminu). Je důležitým faktorem růstu bачorových mikroorganismů celulolytických, tvořících bakteriální protein a TMK. Nedostatek kobaltu „akobaltóza“ se projevuje nechutenstvím, hubnutím, anemií, matnou srstí.

Chrom je v těle nezbytný pro metabolismus cukrů a tuků i proteinů. Je kofaktorem pro správné působení inzulínu. Nedostatek chromu se běžně nezjišťuje, pokud k němu dojde, projevuje se zvýšenou vnímavostí k infekcím, zhoršenou fertilitou, narušeným růstem (Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

E. Methemoglobinemie je onemocnění všech kategorií skotu charakterizované zvýšeným obsahem methemoglobinu v krvi, nejčastější příčinou je zvýšený obsah dusičnanů a dusitanů v krmivech a pitné (napájecí) vodě. Část dusitanů se přímo vstřebává, část je redukována na amoniak, v krevním řečišti mění dvojmocné železo na trojmocné a z hemoglobinu se stává nefunkční methemoglobin, neschopný zásobit tkáň kyslíkem. Mimo riziko zvýšení nesprávným použitím průmyslových hnojiv a kejdy je nebezpečné i zkrmování rostlin s kumulační schopností pro dusitany a dusičnany jako

řepka, krmná kapusta, řepice a další. Subklinické formy se projevují snížením užitkovosti až o 20 %, aborty, dusičnany vylučované mlékem znemožňují jeho další technologické zpracování (Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

2.4.2. Poruchy reprodukce

Plodnost je základní biologická a užitková vlastnost, dána schopností produkovat životaschopné potomstvo. Na základě plodnosti se odvíjí obě užitkové vlastnosti a to jak mléčná tak masná užitkovost. Bez zajištění březosti zakončené porodem zdravého potomstva není možno zajistit obnovu stáda a nenastane plnohodnotná laktace. Plodnost je proto zásadním způsobem ovlivňuje ekonomiku chovu. Je základních šest faktorů ovlivňujících výslednou plodnost: 1. výživa; 2. infekční nemoci; 3. dědičnost; 4. management; 5. prostředí a za 6. toxické vlivy. Heritabilita ukazatelů plodnosti je velmi nízká ($h^2 = 0,1 - 0,2$), proto o plodnosti plemenic rozhoduje především chovatel úrovní výživy, technologií chovu a zootechnicko-veterinární péčí (James a kol., 1992; Louda a kol., 2000).

Březost u skotu je 270 – 300 dnů, holštýnský skot 276 – 282 dní, český strakatý 287 – 291 dní. Pohlavní dospělost nastává v období 7 – 12 měsíců, tj. při 30 – 40% živé hmotnosti v dospělosti, první zapouštění se provádí ve věku 14 – 16 měsíců. Tělesné dospělosti skot dosahuje ve věku 4 – 6 let. Senium nastává po 20 roce života (Louda a kol., 2000).

Pohlavní hormony

Reprodukční cyklus je řízen na základě hormonální osy hypotalamus - hypofýza - ovaria - děloha, na základě zpětnovazebných mechanismů mezi jednotlivými úrovněmi, dále je nepostradatelná vazba na řadu dalších regulačních mechanismů v těle, hormony nadledvinek, růstové hormony, hormony štítné žlázy, a další.

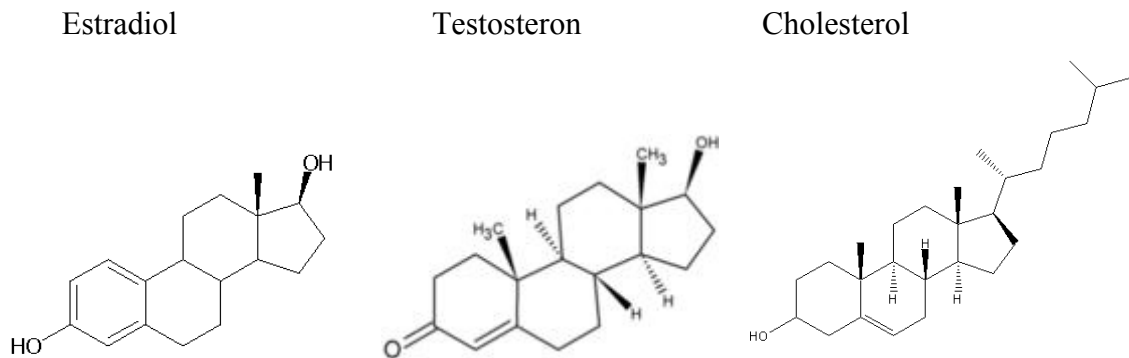
Gonadoliberiny - GnRH (peptid) se tvoří v hypothalamu a uvolňují se nárazově, tím se udržuje receptivita buněk hypofýzy reagující tvorbou folikulotropinu (FSH) a lutropinu (LH). *Somatotropin* je růstový hormon, pod jeho vlivem dochází k růstu kostí a syntéze bílkovin při růstu orgánů. *Folikulotropin* FSH (chemicky glykoprotein), pod jeho vlivem se množí folikulární tekutina, společně s LH stimuluje sekreci estrogenů. *Lutropin* LH - luteinizační hormon (chemicky glykoprotein) je přiváděn krví do vaječniku, kde po ovulaci podmiňuje růst a přetrvání žlutého tělíska (CL). *Prolaktin* – luteotropin (protein) přímo podněcuje proliferaci buněk mléčné žlázy a sekreci mléka.

Oxytocin (peptid) je tvořen v hypothalamu a vylučován zadním lalokem hypofýzy. Hormon působící kontraktilitu myometria, a hladkosvalových buněk v mléčné žláze, nutná je předešlá stimulace zvýšení počtu oxytocinových receptorů, působením estrogenů. *Relaxin* (peptid), tvořen ve vaječnících a placentě, působí relaxaci krčku děložního a pánevních vazů v době porodu. *Progesteron* (steroid) je hlavním představitelem gestagenů, tvoří se v CL na ovariu, ale také v placentě, děloze a kůře nadledvin. Vazbou na receptory v sexuálním centru inhibuje sekreci gonadoliberinů. *Prostaglandin F-2 α* - PGF-2 α (glykopeptid) je produkován děložní sliznicí pokud nedojde k oplození a rozvoji zárodku. Pod vlivem PGF -2 α dochází k regresi CL. *Androgeny* (steroidy) u samic jsou v převážné míře produkovány kůrou nadledvinek. Mají stimulační efekt na endo- i myometrium. Udržují libido sexualis, a jsou prekurzory estrogenů (Doležal a Kudláč, 1997; Jelínek a kol., 2003).

Estrogeny ER - patří mezi steroidní hormony, jejichž základem je cholesterol, z kterého přes meziprodukt pregnolon, za účinku folitropinu je potvrzena přeměna na testosteron a následně v estrogeny. Hlavními estrogeny jsou: *estradiol*, *estrion*, *estriol* (Obrázek 32). *Estrogeny* ovlivňují vývoj samičích pohlavních orgánů a změny při říjovém cyklu, v malé míře se uplatňují i u samců (Doležal a Kudláč, 1997; Jelínek a kol, 2003). Hlavním estrogenem je *estradiol (17 β -estradiol)*, jedná se o čistého agonistu receptorů ER- α . V plazmě se z 98% váže na vazebný globulin (*steroidhormonebindingglobulin* – SHBG) biologický čas eliminace je 1/2 až 1 hodina. Je zodpovědný za proliferaci endometria a rozvoj sekundárních pohlavních znaků, stimuluje rozvoj stromatu a tubulární části mléčné žlázy. Estrogeny jsou přirozené samičí hormony, které se ovšem do určité míry vyskytují i u samců. V těle savců jsou popsány dvě izoformy estrogenových receptorů ER- α a ER- β , aktivace ER- α vede k aktivaci přibližně 500 genů, aktivace ER- β vede k indukci zhruba poloviny těchto genů. Receptory ER- α převažují především v dlouhých kostech, ER- β pak především v kostech krátkých (obratle). Přirozené estrogeny jsou aktivátory ER- α , tím je docíleno pozitivního účinku estrogenů, např. brání osteoporóze, cizorodé estrogeně působící látky mohou aktivovat ER- β a tím vést k rozvoji osteoporózy (Lincová a Farghali, 2007). Estrogenové receptory rozvíjejí svůj účinek v diméru, aby došlo k aktivační, nebo inhibiční konformaci diméru estrogenových receptorů, je nezbytná vazba s některým z koregulačních proteinů cílové tkáně, tyto proteiny působí jako koaktivátory, nebo korepresory receptorového komplexu. Jejich známo více než 20 a každá cílová tkáň obsahuje nejméně jeden ER (endometrium, kosti, mléčná žláza). Dle

množství a vzájemného ovlivnění „*xenoestrogeny*“ vyvíjí výsledný účinek a ten může být značně odlišný. Zvyšují mitotickou aktivitu endometria, pokud vstupují do metabolické dráhy samostatně bez spoluúčasti progestinů, zvyšuje se negativní karcinogenní účinek na endometrium, skrze vliv na ER v hypotalamu a adenohipofýze blokují uvolňování gonadotropinů a při kontinuálním podávání brání ovulaci. U samců tlumí spermatogenezi, produkci androgenů, tlumí rozvoj prostaty a navozují atrofii varlat. U samic libido snižují, u samic naopak zvýrazňují (Jelínek a kol., 2003; Hofírek a kol., 2009). Estrogeny působí mírně anabolicky, podporují retenci vody a sodíku, zlepšují resorpci vápníku a jeho využití kostní tkání, dále podporují tvorbu řady plazmatických proteinů např. globulinů vážících thiroxin (TBG), globulinů vážících pohlavní hormony (SHBG), kortikoidy vážící globulin – transkortin. Ovlivňují krevní srážlivost zvýšením plazmatických hladin koagulačních faktorů, aplikace vyšších dávek po delší dobu může působit tromboembolické stavy (Lincová a Faghali, 2007).

Obr. 31. Steroidní pohlavní hormony



Říjový cyklus

Říjovým nebo též pohlavním cyklem se rozumí soubor změn na reprodukčních orgánech plemenic periodicky se opakujících. Nejzřetelnějším projevem je vlastní říje, období svolnosti k páření se samcem. Pohlavní cyklus je rozdělen podle orgánových a psychických změn na čtyři fáze - proestrus, estrus, metestrus, diestrus. Doba reprodukčního klidu se označuje anestrus, je obdobím beze změn na ovariích a dalších pohlavních orgánech. Je běžným u zvířat se sezónní pohlavní aktivitou, koně, malí přežvýkavci. U skotu se nevyskytuje, pokud ano, je následkem vysoké mléčné produkce nebo patologických změn (Doležel a Kudláč, 1997).

Skot patří mezi polyestrická zvířata, délka pohlavního cyklu je v průměru od 19 – 23 dnů, průměrná délka říje 12 - 24 hodin, ovulace nastává 8 hodin po říji, vhodná doba

k inseminaci je v 2. polovině říje. U vysokoužitkových dojnic vzrůstají nároky na přesnou detekci říje, neboť se u nich zkracuje i na pouhých 8 až 12 hodin a vlastní projevy jsou méně nápadné (Hofírek a kol. 2009).

Reprodukční management je součástí komplexní péče o dojnice, s tím, že většina uvedených produkčních chorob má s reprodukční problematikou přímou souvislost. U zaprahých dojnic s BCS (body condition score) nad 4,0 jsou generovány peripartální problémy se záněty dělohy, s její involucí i s ovulačním cyklem (Sheldon a kol., 2006). Zvýšení mléčné užitkovosti z 6 000 na 12 000 litrů vedlo k dvouapůlnásobnému zvýšení frekvence výskytu mastitid. Souběžně s mastitidami se zvyšuje také četnost poruch reprodukce a stejně tak tomu je u nemocnosti pohybového aparátu (Urban, 1997; Louda a kol., 2000; Bouška a kol., 2006).

Hodnocení reprodukce

Informace k určení úrovně reprodukce je potřeba získávat z více zdrojů informací. Podle reprodukčních ukazatelů stáda, zohlednit chované plemeno, technologii chovu, užitkovost a přírodně-klimatické podmínky, vést přehlednou evidenci o konkrétních patologických změnách na reprodukčním ústrojí. Mezi nejdůležitější a nejlépe přehledné ukazatele kvality plodnosti patří servis perioda a délka mezidobí, nejobektivnějším ukazatelem je pak počet narozených telat (Louda a kol., 2000).

Bekana a kol. (1996) provedli studii, kdy porovnávali skupinu zvířat bez klinických projevů na reprodukčním systému a skupinu s klinicky zjevným onemocněním dělohy, porovnávali hladinu pohlavních hormonů a prostaglandinu F₂-α, množství bakterií v obsahu dělohy a dobu potřebnou k úplné involuci. Prokázali, že hladiny PGF₂-α korelují se stavem na děloze a vývojem na vaječnicích.

Negativní vliv na reprodukci ovlivněním řídicích funkcí, poklesem obranyschopnosti a nebo skreslením zevních projevů říje mohou mít i estrogeně působící látky přijaté prostřednictvím krmné dávky (Samuel, 1967; James a kol., 1992).

Studie na estrogeně působící látky provedl Khodabadehlou a kol. (1997) v Německu, v Rakousku Hochsteiner a kol. (2001), Binder (2007) a Aurich a kol. (2006), tedy v zemích velmi blízkých v přírodních podmínkách České republiky. Přehled kontaminace objemných krmiv estrogeně působícími látkami připravil v Čechách Nedělník a Moravcová (2005).

Mwaanga a Janowski (2000) popsali hlavní příčiny a formy anestrů u dojnic. Nedostatečná výživa sama o sobě je velice nepravděpodobným důvodem anestrů, protože přežvýkavci jsou schopni využít i méně kvalitních a pro jiné živočichy hůře

ztravitelných krmiv. Problém nastává v kombinaci s vysokou mléčnou užitkovostí, kde je, ale na vině spíše geneticky podmíněná schopnost produkovat mléko na úkor vlastních potřeb organismu, než malnutrice. Případy tzv. domnělého anestru, kdy zhruba 60% dojnic projevuje zevní příznaky říje v noci, tento problém řeší pravidelná detekce říje nebo moderní metody – pedometry.

Reprodukční poruchy

Poruchy reprodukčního systému jsou obrazem celkového zdravotního stavu organismu. Pokud jsou zachovány přirozené obranné mechanismy, nenarušená hormonální regulace, je pro patogenní původce velice obtížné se uplatnit. Nemoci reprodukčních orgánů lze rozdělit na funkční a infekční, ale v organismu probíhají za vzájemného ovlivnění.

Hormonální řízení je zjednodušeně řečeno záležitostí zpětnovazebných mechanismů na ose hypothalamus → hypofýza → ovaria → uterus + placenta + koncept. Ještě při větším zjednodušení hypothalamické gonadoliberiny jsou prvohybatelem dění na pohlavních orgánech a sami přizpůsobují svou činnost aktuálnímu stavu, v případě dělohy vyvíjejícímu se konceptu, nebo v případě patologických změn zvětšujícímu se obsahu dělohy jiného charakteru (Doležel a Kudláč, 1997; LeBlanc a kol., 2002; Jelínek a kol., 2003; Gilbert a kol., 2005).

Klinicky zjištělé změny na vaječnicích jsou nejčastěji folikulární cysty a corpora lutea perzistens, u vysoce užitkových dojnic může docházet k anestrui a atrofii vaječniců. Folikulární cysty vznikají za nedostatku LH, při mírnější nevyrovnanosti LH k FSH vznikají luteální cysty, případně po proběhlé ovulaci cysty žlutého tělíska. Ovariální cysty postihují v průměru 10% dojnic s vyšším výskytem u dojnic vysokoužitkových a vyššího věku (Zulu a Penny, 1998). Folikulární cysty se manifestují u plemenic v podobě nymfomanie 10%, častější a nepravidelnou říjí 38%, pouze jednou nebo dvěma říjemi, případně přechodem k anestrui 52%. Corpus luteum perzistens (CLP), o přetrvávajícím CL hovoříme tehdy pokud zůstává déle jak 30 dní po přerušení gravidity a nebo při přetrvání z předchozího cyklu. Nejedná se o primární funkční poruchu, ale dopad nevyrovnanosti v neurohumorálním řízení reprodukčních funkcí. Nejčastěji vzniká jako corpus luteum periodicum, které nepodlehlo regresi vlivem PGF-2 α , souvisí s ranou embryonální mortalitou nebo patologickým obsahem v děloze. CLP je zodpovědné přibližně za 10% reprodukčních poruch plemenic (Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

Změny na děloze, případně infekční záněty dělohy jsou opět jen dopadem

spolupůsobení poruch hormonální regulace, celkově oslabených obranných mechanismů a infekční noxy čekající na svou příležitost. Podle doby trvání můžeme popisovat metritis acuta nebo metritis chronica, podle rozsahu postižených struktur, endometritis, myometritis, metritis, salpingitis. Podle charakteru exudátu - endometritis purulenta (pyometra), endometritis catarrhalis, endometritis fibrinosa, e. necroticans, případně endometritis I. až IV. stupně (Hofírek a kol., 2009). U vysokoprodukčních dojnic probíhá endometritida různého rozsahu od subklinických po akutní klinicky se projevující, v průměru u 53% dojnic ze stáda. Incidence endometritid byla stanovena na základě cytologického vyšetření endometriálního aspirátu dojnic 60 dní po porodu (Gilbert a kol., 2005). Mezi nejčastější patogeny nacházející se v obsahu dělohy řadíme: *Streptococcus pyogenes*, *Str. zooepidemicus*, *Arcanobacterium pyogenes*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*. Bez ohledu na původce a stav poškození dělohy je nutné v 1. řadě stabilizovat ovariální cyklus, samotná antibiotická terapie zaměřená na infekci dělohy je nedostatečná. Neméně důležité je věnovat pozornost optimální kondici dojnic vzhledem k reprodukční fázi a řešení metabolických poruch a ostatních onemocnění (Doležel a Kudláč, 1997).

2.4.3. Poruchy zdraví mléčné žlázy

Fyziologie mléčné žlázy

Mléčná žláza (*glandula mammaria*, mammae, udder), je parenchymatózní orgán vyvinutý u savců k zajištění výživy mláďat. Jedná se o modifikovanou mazovou žlázu, schopnou produkovat specifický sekret – mléko (Jelínek a kol, 2003). Laktologie je věda zabývající se tvorbou, zpracováním, účinky a úpravou mléka. Laktace je přirozená schopnost savců, tvořit mléko k výživě mláďat. Dojnost je potenciální schopnost dojnice produkovat mléko, vyvíjí se působením genotypu a vývojových činitelů (výživa a životní podmínky plodu v matce, výživa a životní podmínky jedince od narození do dospělosti, prodělaná celková onemocnění, onemocnění mléčné žlázy). Dojivost je množství nadojeného mléka, vyprodukované samicí za určitý časový úsek (kalendářní rok, laktaci, den). Je výsledkem spolupůsobení dojnosti a laktačních činitelů. Z dojivosti lze usuzovat na dojnost. Dojitelnost je schopnost dojnice uvolňovat při dojení mléko. Závisí především na průměru strukového kanálku a na roztažitelnosti strukového svěrače. Ukazatelem dojitelnosti je tzv. minutový výdojek. Mléčnost vyjadřuje schopnost produkovat mléko, uváděno hlavně u masných plemen s ohledem na dostatek

výživy pro tele (Hofírek a kol, 2009). Mléčná užitkovost je typická pro dané plemeno (dále mluvíme o užitkovosti masné a kombinované, dříve i tažná síla). Normovaná laktace je produkce mléka vztažená na 305 dní. Denním nádojem označujeme množství mléka získané za 1 den, za všechna dojení, jedno, dvě nebo tři (Bouška a kol, 2006).

Tvorba a sekrece mléka

Mléko se začíná tvořit v mléčných alveolech krátce před porodem, během porodu nebo těsně po něm. V první fázi se zvětšuje enzymatická aktivita v sekrečních buňkách alveolů a diferencují se jejich buněčné organely. To je provázáno omezenou sekrecí mléka před porodem. V období porodu a bezprostředně po něm nastává hojná sekrece všech složek mléka.

Mléko nezralé – Mlezivo – Kolostrum je mléko, které je tvořeno těsně po porodu. U krávy se tvoří pouze krátce po porodu asi 5 dnů. Toto mléko se od zralého liší zejména vyšším obsahem bílkovin, tuku a minerálních látek. Bílkoviny jsou tvořeny specifickými imunoglobuliny, které mají za úkol imunizovat narozené mládě a vytvořit mu imunitu proti různým infekcím. Zvýšený obsah minerálních látek je zastoupen především vyšším množstvím hořčíku, který se podílí na odstranění střevní smolky mláděte. *Mléko zralé* je mléko, které se tvoří během laktace. U krávy přibližně od 5. dne po porodu. *Mléko starodojné* je mléko v období před zaprahnutím, dochází k nárůstu minerálních složek, klesá obsah tuku i bílkoviny (Louda a kol., 2000; Bouška a kol., 2006).

Přeměna látek potravy na prekurzory mléka probíhá v převážné míře mimo mléčnou žlázu. Většina prekurzorů mléka se vytváří v játrech ze živin, přicházejících z trávicího ústrojí a krví se dopravují do mléčné žlázy, kde se přeměňují ve složky mléka (Jelínek a kol., 2003; Slavík a kol., 2004). U přežvýkavců hraje významnou úlohu zejména předžaludek, ve kterém vznikají při kvasných procesech některé specifické prekurzory mléka (Jelínek a kol., 2003). Předpokladem sekrece mléka je intenzivní prokrvení mléčné žlázy. Na jeden litr vytvořeného mléka proteče vemenem krávy okolo 500 litrů krve. Každá sekreční buňka produkuje všechny složky mléka (Bouška a kol., 2006).

Obsah tuku v mléce

Obsah tuku v mléce je poměrně snadno ovlivnitelný nutričními vlivy. Aby byl plně využit genetický potenciál dojnic pro vysokou mléčnou produkci je nezbytné, aby krmná dávka měla mnohem vyšší koncentraci energie než přirozená krmná dávka pro přežvýkavce. Takový typ krmné dávky představuje riziko snížení obsahu tuku v mléce,

zvláště je-li poměr sušiny objemných krmiv ke koncentrovaným nízký a je-li nízký obsah vlákniny v KD (Hofírek a kol., 2009).

Většina mléčného tuku (asi 75 %) je syntetizována v mléčné žláze. U skotu jsou prekurzory mléčného tuku hlavně těkavé mastné kyseliny, které vznikají při fermentačních procesech v bachoru (Ingvartsen a Andersen, 2000; Bouška a kol., 2006). Hlavním prekurzorem pro syntézu mléčného tuku v mléčné žláze je kyselina octová, která je tvořena v bachoru ze strukturálních sacharidů v průběhu bachorové fermentace, nebo je výsledkem beta oxidace mastných kyselin tukové tkáně dojníc. Dalšími prekurzory mléčného tuku jsou kyselina máselná a beta hydroxymáselná. Pro syntézu mléčného tuku jsou využívány i mastné kyseliny obsažené v krmivech - jadrná krmiva, siláže, senáže. KD s optimální koncentrací strukturální vlákniny a dobrými podmínkami pro trávení celulózy jsou zárukou dostatečné tvorby kyseliny octové, a tím i dobré syntézy mléčného tuku (Kudrna a kol., 1998). Čím více se utvoří v bachoru kyseliny octové, tím více stoupá obsah tuku v mléce. Mléčný tuk syntetizovaný v buňkách sekrečního epitelu mléčné žlázy se uvnitř buněk formuje do tukových kapének, které se apokrinní sekrecí uvolňují do dutiny alveolů (Bouška a kol., 2006).

Rozhodující roli pro produkci kyseliny octové hraje průběh fermentace v bachoru, který je ovlivněn složením KD a následně zastoupením jednotlivých kmenů bakterií. Každá skupina bakterií má mimo dostatku substrátu také určité optimální rozmezí pH jako podmínku vysoké aktivity. Optimální pH bachorového prostředí pro celulótycké bakterie je mezi 6,2 až 6,8 a při poklesu pH pod 6,0 celulólytické bakterie odumírají, čímž dochází k výraznému snížení produkce kyseliny octové a následně snížení obsahu tuku v mléce (Ingvartsen a Andersen, 2000; Hofírek a kol., 2009).

Sacharolytické bakterie, které zpracovávají škroby, přežívají i podstatně nižší pH a k jejich odumírání dochází při pH kolem 5. Podle podílu objemných a jadrných krmiv v KD dochází ke změnám v pH bachorové tekutiny a zastoupení jednotlivých TMK. Zóna optimálního trávení vlákniny je při pH od 6,3 do 6,8. Naopak produkce kyseliny propionové stoupá postupně s poklesem pH pod 6,5. Zastoupení jednotlivých TMK v bachoru tedy úzce souvisí s pH bachorové tekutiny. Snížení obsahu tuku v mléce lze chápat do určité míry jako indikátor zvýšeného výskytu acidóz v chovu (Hofírek a kol., 2009). Vysoké dávky koncentrovaných krmiv s vysokým podílem škrobů a rozpustných sacharidů, podporují tvorbu kyseliny propionové a depresivně působí na tvorbu kyseliny octové a tím i na syntézu mléčného tuku. Příznivěji v toto případě působí menší dávky koncentrátů podávané častěji než vysoké dávky předkládané pouze 2 x denně (Kudrna a

kol., 1998). TMR je za současných podmínek neoptimálnější způsob výživy vysokoprodukčních dojnic (Zeman a kol., 2006). Hofírek a kol. (2009) uvedli, že je obsah tuku v mléce důležitým ukazatelem výskytu metabolických poruch ve stádě a jeho změny mohou indikovat i vážnější narušení zdravotního stavu dojnic.

Obsah bílkovin v mléce

Obsah bílkovin v mléce je ovlivňován především obsahem energie v krmné dávce. Existuje pozitivní korelace mezi příjmem energie a koncentrací bílkoviny v mléce. Zvýšení obsahu bílkoviny v mléce může být dosaženo krmením většího množství energie, při nedostatku energie dochází naopak ke snížení obsahu bílkoviny. Vyšší množství energie v KD zvyšuje produkci těkavých mastných kyselin v bacheru a mění se rovněž poměr jednotlivých TMK ve prospěch kyseliny propionové. Vyšší množství energie v KD rovněž zvyšuje množství mikrobiálního proteinu produkovaného v bacheru. Vztah závislosti na dotaci bílkovina energie v krmné dávce dojnic ukazuje Tabulka 9. (Hofírek a kol., 2009).

Většina proteinů mléka je syntetizována v mléčné žláze z aminokyselin z krevní plazmy. Sérový albumin a imunoglobuliny do mléka přechází z krve. Pro syntézu mléčných bílkovin je nezbytný přísun neesenciálních a esenciálních aminokyselin. Zatímco monogastriční zvířata jsou odkázána na krmivo jako na zdroj esenciálních aminokyselin, pro přežvýkavce je jejich zdrojem i bacherová mikroflóra. Mléčné bílkoviny vytvořené v mléčné žláze jsou z buněk mléčných alveolů transportovány exocytózou (Bouška a kol., 2006).

U vysokoprodukčních dojnic je nejvýznamnějším zdrojem aminokyselin mikrobiální protein. O jeho tvorbě rozhoduje mnoho faktorů, především obsah energie v KD, a to její podíl, který je tvořen rozpustnými sacharidy a škroby. Dále je to obsah dusíkatých látek, obsah fosforu, zinku, kobaltu a řada dalších látek. Významnou roli zastává kvalita krmiv a technika krmení. Při vyrovnané KD vznikne v průběhu dne až 1,5 kg mikrobiálního proteinu, což po jeho trávení ve střevě tvoří největší zdroj aminokyselin pro tvorbu mléčné bílkoviny. Při hodnocení obsahu proteinu v mléce je důležité sledovat rovněž poměr obsahu tuku a proteinu v mléce. Tento poměr se liší podle plemene chovaných dojnic, ale lze vypočítat určité zákonitosti. Při poklesu tohoto poměru pod 1,0 (v chovu je vysoký obsah bílkovin a naopak nízký obsah tuku v mléce) lze očekávat ve stádě zvýšený výskyt bacherových acidóz, vysokou acidogenní zátěž stáda a trvá-li tato situace delší dobu dochází z pravidla k narušení reprodukčních funkcí dojnic (Hofírek a kol., 2009; Scott a kol., 2011).

Obsah močoviny v mléce

Množství močoviny v mléce je ovlivňováno především množstvím amoniaku, který je produkován v bachoru. Amoniak v bachoru vzniká degradací proteinu KD a slouží jako substrát pro syntézu bakteriálního proteinu. Nadbytek amoniaku, který není v bachoru využit se vstřebává do krve, v játrech je transformován na močovinu, která přechází do krve a odtud je exkretována mlékem a močí a část je znovu využita v bachoru (hepatoruminální cyklus). Syntéza močoviny v játrech je vlastně detoxikací amoniaku, který je buněčným jedem a především při jeho zvýšení v krvi dochází k alteraci nervové soustavy (Hofírek a kol., 2009). Syntéza močoviny patří mezi energeticky nejnáročnější reakce v organismu, takže část energie KD je tímto způsobem spotřebována. Dále jsou při vysoké koncentraci močoviny v krvi nadbytečně zatěžována játra, která vzhledem k vysoké metabolické aktivitě jsou u vysokoprodukčních dojnic nejčastěji postiženým orgánem. Při závažných hepatodystrofiích doprovázených snížením funkce jater dochází ke snížení močoviny v krvi. Naopak výrazné zvýšení močoviny v mléce nastává při poruchách funkce ledvin se sníženou exkreční schopností (Jelínek a kol., 2003; Hofírek a kol., 2009).

Tabulka 9. Hodnocení krmné dávky na základě obsahu močoviny v mléce (Hofírek a kol., 2009)

Obsah bílkovin (%)	Koncentrace močoviny (mmol/l)		
	<2,5	2,5 – 5,0	>5,0
< 3,2	Nedostatek energie Nedostatek bílkovin	Nedostatek energie	Nedostatek energie Přebytek bílkovin
3,2 – 3,6	Nedostatek bílkovin Mírný přebytek energie	Energie a bílkoviny v rovnováze	Přebytek bílkovin Mírný nedostatek energie
> 3,6	Přebytek energie Nedostatek bílkovin	Přebytek energie	Přebytek energie Přebytek bílkovin

Obsah močoviny v organismu a mléce ovlivňuje:

- 1/ příjem proteinu a energie
- 2/ příjem proteinu degradovatelného a nedegradovatelného v bachoru
- 3/ příjem vody a sušiny v KD
- 4/ zdravotní stav, zvláště funkčnost jater a ledvin, některá onemocnění, pastva

5/ doba odebrání vzorků mléka po nakrmení (Hanuš a kol., 2010).

Koncentrace močoviny v mléce koreluje s obsahem v krvi. Referenční hodnoty jsou také shodné (Hofírek a kol., 2009).

Za fyziologický obsah močoviny v mléce se považuje 15 až 35 (častěji 20 až 30) mg/100 ml. Podlimitní a nadlimitní hodnoty mohou být v kombinaci s odchýlenými bílkovinami posuzovány jako neadekvátní situace výživy krav (Hanuš a kol., 2010).

Počet somatických buněk v mléce

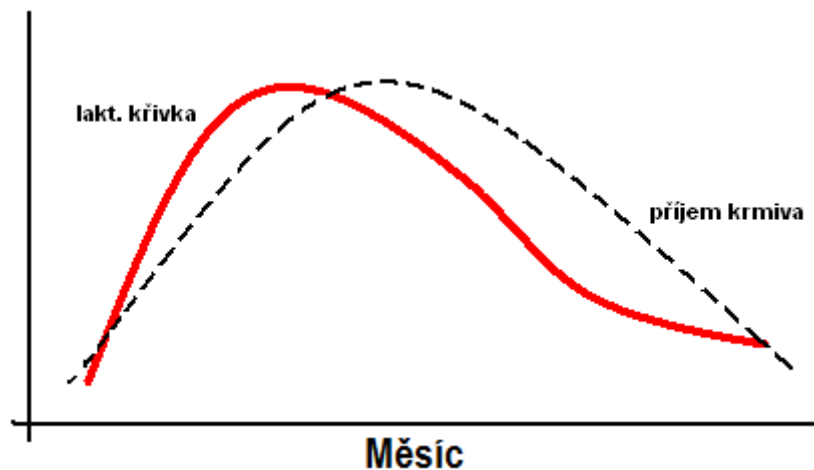
Somatické buňky jsou buňky a útvary z krve a z mléčné žlázy. Patří mezi ně leukocyty, lymfocyty, monocyty, erytrocyty, fibrin a buňky epitelu. Jejich počet narůstá při aktivaci imunitního systému dojnice infekcí. V případě infekce vemene (mastitidě) se jedná zejména o bílé krvinky (leukocyty), jejichž počet může být zvýšený (150 tisíc až 1 milion buněk/ml) již v případě subklinického stádia, kdy zvíře nemusí mít další projevy onemocnění (Scott a kol., 2011).

Mléko se zvýšeným počtem somatických buněk evidentně pochází z více či méně zanícené mléčné žlázy a má jiné vlastnosti než mléko ze zdravé mléčné žlázy. Somatické buňky se v získaném mléce postupně rozpadají a uvolňují celou řadu enzymů, které ovlivňují nejen trvanlivost mléka, ale jeho vlastnosti pro další zpracování. Enzymy ze somatických buněk mohou také narušit proces fermentace, proto není mléko se zvýšeným počtem somatických buněk vhodné pro výrobu fermentovaných výrobků (Radostis a kol., 2000).

Obsah buněčných elementů v mléce dojnice je ovlivněn různými faktory. I u zdravých zvířat může počet buněčných elementů kolísat, aniž by musela nastat porucha zdravotního stavu mléčné žlázy. Je známo, že s délkou laktace počet somatických buněk lehce stoupá i v naprosto zdravé mléčné žláze, zvláště u dojnic krátce před zaprahnutím (Hofírek a kol., 2009). Je obecně známo, že u neinfikovaných krav je vyšší počet SB po porodu a před zasušením. Nejnižší počet SB se fyziologicky vyskytuje od vrcholu do půlky laktace. Dále se na zvýšení PSB v chovu podílí funkce dojícího zařízení a určitý vliv má i roční období. Nejvyšší hodnoty PSB bývají zjišťovány v letních měsících. Proto počet SB v bazénových vzorcích mléka nelze jednoznačně považovat za určitý indikátor výskytu metabolických poruch ve stádě. Ke zvýšení PSB v mléce totiž dochází prakticky při všech metabolických poruchách (acidóze, ketóze, alkalóze, apod.) (Hofírek a kol., 2009).

Mastitidy neboli zánětlivé stavy mléčné žlázy mají řadu příčin, které dělíme na infekční (virové, bakteriální, plísňové) a neinfekční (trauma, podchlazení aj.). Dle

rozlišení původců mluvíme o kontagiózních původcích mastitid k přenosu dochází při dojení (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*). Vzniká klinická a subklinická mastitida v průběhu laktace. Mezi environmentální původce mastitid řadíme *Escherichia coli*, která se běžně vyskytuje v prostředí. *E. coli* působí především klinické mastitidy v krátké době po otelení (Hofírek a kol., 2004; Scott a kol., 2011). Ellis a kol. (2006) na základě porovnání ekologických farem s konvenčními ve Velké Británii, zjistili, že na výskyt mastitid, nemá tolik vliv hygiena prostředí a způsob chovu, jako zdravotní stav dojnic a jejich celková zátěž.



Obrázek 32. Negativní energetická bilance ve vztahu k laktační křivce.

2.4.4. Onemocnění končetin

Problémy s končetinami jsou další významnou skupinou onemocnění, které vznikají v důsledku narušení celkového zdravotního stavu i přímým účinkem toxických látek na kůži a kožní deriváty končetin. Skupina onemocnění končetin je v úzké vazbě na metabolický stav organismu při chronické metabolické acidóze, dochází k vzniku chronické laminitidy, jež může resultovat ve vznik chodidlových vředů. Narušení elasticity vazivového aparátu prstu vede k uvolnění meziprstních vazů a iritace uvolněného meziprstí vede ke vzniku meziprstních mozolů (Radostis a kol., 2000; Enemark a kol., 2002; Hofírek a kol., 2009).

Holzauer a kol. (2006) sumarizovali výskyt onemocnění končetin v chovech dojeného skotu v Holandsku, *Dermatitis digitalis* byla diagnostikována jako nejčastěji se vyskytující onemocnění a to u 21,2% sledované populace skotu (n=22 454 ks dojnic). S *dermatitis digitalis* úzce souvisí a spoluvyskytují se i další poruchy autopodia skotu,

jako jsou mezivrstvní mozoly, flegmóny, chodidlové vředy a další. Nejvíce rizikovou skupinou jsou dojnice v tranzitním období a na vrcholu laktace, nejméně pak dojnice v době stání na sucho. Mnohem více jsou vnímavé dojnice holštýnské oproti jiným plemenům, nebo kříženkám. Olechnowicz a Jaskowski (2011) uvádí dle souhrnu z literatury, že průměrná incidence onemocnění končetin v populaci dojených krav je 20%. Zhruba 65% kulhajících krav se nachází v období od 60 do 100 dne laktace, přestože incidence v prvních 30 dnech po porodu je do 6,5 %. Dle výzkumu je 90% onemocnění končetin spojeno s narušením v oblasti bílé čáry a hovoří o papilomatózní *dermatitis digitalis* (Holzhauer a kol., 2006)

T-2 jako narušitel obnovy epitelů zvyšuje riziko uplatnění patogenních bakterií a plísni v oblasti autopodia skotu. Řada mykotoxinů vyvolává fotosenzibilizaci, skrze ovlivnění endotelu vaskulitidy a posléze laminitidy (Whitlow a Hagler, 2005).

2.4.5. Zdravotní poruchy s nepřímým vlivem mykotoxinů

Nemalou skupinou onemocnění skotu jsou zdravotní poruchy nepřímo související s produkcí, jedná se o onemocnění očí, kůže, CNS, respiračního aparátu, imunitního systému, kterým se nevěnuje v rámci udržení kontroly zdraví stáda takový význam, ale neoddělitelně jsou součástí zdravotního stavu. Změny na očích, kůži a sliznici dutiny ústní, jsou obrazem napadení negativními noxami, stejně jako jejich narušení se stává vstupní branou pro další infekty a spolupůsobí jako stresový faktor zatížení organismu jako celku.

Oči - mykotické konjunktivitidy, konjunktivitidy v důsledku zaplísnění, znečištění krmiva prachem, vliv *Moraxeli bovis*, mechanické poranění neodrohovanými zvířaty, nebo nešetrnou technologií ustájení.

Chuť a nenarušené sliznice dutiny ústní, které mohou být narušeny dráždivými až ulcerace tvořícími složkami krmiva, rostliny, plísně, sklo, kovy, zemina, tvrdé části rostlin, plevelné rostliny – bodláky, dřevo, sůl, desinfekční prostředky a další.

Nemalou skupinou onemocnění jsou mykotické infekce, které samostatně nebo v kombinaci s jinými patogeny, ať viry nebo bakteriemi se podílejí na řadě syndromů. Respirační syndrom, diarhenní syndrom, mykotické dermatitidy (*Trichophyton spp.*, *Microsporium spp.*, *Candida spp.*, *Malassezia spp.* aj.). Bronchopneumonie, sinusitidy, hepatitidy za účasti *Aspergillus spp.*, mykotické konjunktivitidy, cystitidy a další (Radostis a kol., 2000; Scott a kol., 2011).

Narušení imunitního systému u prasat zvyšuje vnímavost k virovým a bakteriálním infekcím. Zvýšený výskyt salmonelózy u prasátek krmených krmivem kontaminovaným AF (Miller a kol. 1978), které zvyšují vnímavost k dysentériím (Jones a kol., 1994). Obdobný efekt na častější onemocnění salmonelózou byl zjištěn u OTA (Stoev a kol., 2000), lymfopenie, odumření neutrofilů a makrofágů, vzestup eozinofilů, pokles schopnosti aktivní fagocytózy (Müller a kol., 1999). FUM zvyšují možnost kolonizace tenkého a tlustého střeva *E. coli* (Oswald a kol., 2003). Trichotheceny narušují kontinuitu kožního povrchu, mohou se snáze uplatnit kožní mykózy, spolu s bakteriálními a virovými infekcemi (Whitlow a Hagler, 2005).

2.5. Diagnostika zplísnění a mykotoxinů

Plísně mohou produkovat mykotoxiny na rostlinném materiálu po celou dobu růstu, zpracování, skladování, až po samotné předložení zvířatům. Odlišnosti v tvorbě mykotoxinů jsou dány plodinou, technologií zpracování a skladování. Snaha o využití domácích plodin, nákladnost na kontrolu obsahu mykotoxinů, vedou často chovatele ke zkrmování kontaminovaných krmiv, snahou vědeckých pracovišť je zavést metody detekce mykotoxinů přímo k chovatelům a producentům krmiv se snadnou diagnostikou a za přijatelnou cenu (Pettersson, 2004).

Základem úspěšné diagnostiky je odebrání reprezentativního vzorku, což není vždy dobře možné, neboť plísně se rozšiřují v ložiscích a ani toto rozložení nemusí odpovídat produkci toxinů. Přesto by mělo platit, že testování krmiv je ekonomicky výhodnější, a vede k zavedení účinných opatření a k omezení negativního vlivu na chovaná zvířata a tím brání ekonomickým ztrátám v konečné produkci. Vzorky mohou být uchovávány řadou způsobů, sušením, mrazením, vakuováním, uchováním v transportním mediu pro kultivaci plísní (Whitlow, 2011).

Metody detekce mykotoxinů lze dělit dle praktického využití na terénní a laboratorní, nebo dle druhu použitého testu na fyzikálně chemické, biologické a někdy jsou přiřazovány metody mykologické. Metody fyzikálně chemické zahrnují především chromatografické vyšetření a ELISA testy.

Terénní jsou určeny přímo chovatelům pro rychlý přehled o výskytu jednotlivých druhů mykotoxinů. Používají se kultivační sety, kde výsledkem je vyjádření positivity na křížky + až +++++. Jsou vyvinuty i screeningové rychlé testy, výsledkem je + nebo -, s citlivostí od 20 µg/kg krmiva. Použití fluorometru, dodávané kalibrované standardy a

za užití patřičného softwaru je ihned znám výsledek. Metody laboratorní – tenkovrstevná chromatografie, je poměrně rychlou metodou, dle kontrolních standardů je určen obsah zjišťovaných mykotoxinů. Kapalinová vysokoúčinná chromatografie, plynová chromatografie (HPLC) – metody náročnější na vybavení, ale schopné detekovat i stopová množství látek. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) cenově dostupná a dostatečně rychlá metoda detekce s možností kvantifikace sledované látky.

Biologický pokus, využívá specifické citlivosti některých živočichů k toxickým látkám, např. žábřonožek *Artemia spp.*, nebo prvoků - trepka velká (*Paramecium caudatum*), inj. aplikací samičkám laboratorních myší k průkazu ZEA. Z etického hlediska se ustupuje od těchto metod (Šimůnek, 2003).

V České republice je využívána ke kontrole krmiv především metoda ELISA, metody HPLC jsou využívány k vědeckým výzkumům, nebo u látek, které není možné ELISA metodou stanovit. V terénních podmínkách se stanovují za použití screeningových setů a následně se kontrolují ELISA metodou. Výsledky vyšetření krmiv v ČR ukazuje Tabulka 10 a Tabulka 13 (Nedělník a Moravcová, 2005). Výsledky vyšetření pomocí HPLC metody ve stejných letech v Itálii Tabulce 12 (Rayneri, 2006).

Tabulka 10. Nálezy mykotoxinů v krmivech vyšetřených v České republice (Kummer a kol., 2001)

Mykotoxin	Počet vzorků	Počet pozitivních vzorků	Procento pozitivních vzorků
Aflatoxin B	1030	27	2,6
Ochratoxin A	398	19	4,8
Zearalenon	645	138	21,4
Deoxynivalenol	331	53	16,0
T-2 toxin	332	29	8,7

V roce 2009 Reed a Moore publikovali výsledky průzkumu zaměřeného na výskyt mykotoxinů v krmivech pro dojnice v Rakousku. K detekci mykotoxinů z pastvy, travní a kukuřičné siláže a sena použily HPLC metodu. Pozitivita vzorků na ZEA v rozmezí 1 až 80 mg/kg v sušině byla nad 60% i u sena. DON byl pozitivní u 50% vzorků a dosahoval hodnot až 1,76 mg/kg sušiny krmiva. Ostatní sledované mykotoxiny vykazovaly pozitivitu, ale nepřesahovaly mezní limity, bylo tomu tak u AF, OTA, FUM, Ergot a lolitremu B.

Tabulka 11. Krmiva a s nimi spojené mykotoxiny tučně zvýrazněné jsou nalézány mnohem častěji (Pettersson, 2004)

Krmivo		Mykotoxiny produkované během růstu	Mycotoxiny produkované během skladování
Obiloviny a vedlejší produkty jejich zpracování	Ječmen	DON, NIV, ZEA, T-2, HT-2,	OTA, AF, CIT
	Kukuřice	DON, FUM, ZEA,	ZEA, AF
	Proso		
	Oves	DON, NIV, HT-2, T-2	OTA, CIT
	Rýže		AF, Sterig, OTA
	Žito	Ergot	OTA
	Čirok		AF
	Pšenice	DON, NIV, ZEA, Ergot	OTA, AF, CIT
	Pšeničné otruby	DON, NIV,	OTA
Olejniny	Kokosová moučka		AF
	Mouka z bavl. sem.	AF, Tenua	AF
	Podzemnicová mouka	AF, ZEA	AF, OTA, CIT
	Mouka z lněného s.		
	Mouka palm. jader		AF
	Řepkové pokrutiny		
	Sojová moučka		AF
	Slunečnicová mouka		
Luštěniny	Fazole		OTA
	Hrách		OTA
Kořeny a hlízy	Maniok	ZEA	AF
	Krmná řepa		
	Cukrová řepa		
Objemná krmiva	Travní siláž		Roq, Pat, PR, ZEA
	Luštěniny		Roq, Pat, PR, ZEA
	Kukuřice	AF	Roq, Pat, PR, ZEA
	Seno		
	Sláma	DON	ZEA, SAT
Pastevní porosty	Travní porost	ZEA, DON, Ergot	
	Jílek vytrvalý	Spor, Lol, Pasp	
	Kostřava	Ergot	
	Jetel červený	Slaf	

Metodiku chromatografické detekce mykotoxinů z mléka rozpracoval a zpřesnil Sorensen a Elbaek (2005) touto metodou je možné v mléce běžně stanovit na 18 mykotoxinů a metabolitů: OTA, zearalenone – alfa (zearanol), beta (taleranol), FB₁, FB₂, T-2, HT-2, T-2 triol, DAS, 15-monoacetoxyscirpenol (MAS), DON, 3-acetydeoxynivalenol (3-AcDON), 15-acetyldeoxynivalenol (15-AcDON), deepoxydeoxynivalenol (DON-1) a AFM₁. V případě potřeby detailnější analýzy lze

samozejmě použitím chromatografických metod, stanovit jakýkoli z dosud známých desítek až stovek mykotoxinů. Pro zjišťování cesty a hromadění ZEA a jeho metabolitů ve folikulární tekutině použili Takagi a kol. (2008) kapalinovou chromatografii.

Driheuis a kol. (2008) za použití kapalinové chromatografie provedli stanovení obsahu mykotoxinů v téměř 300 vzorcích kukuřičných siláží a travních senáží, zjistili, že 72% vzorků kukuřičných siláží bylo pozitivních na DON, v travních senážích byl DON nalezen v 10%, u ZEA byla pozitivita 49% u kukuřičných siláží a 6% u travních senáží. Vzorky byly odebírány v letech 2002 až 2004, a na základě výsledků, vyhodnotil DON a ZEA za hlavní rizikové mykotoxiny v objemných krmivech pro dojnice, také i proto, že ve zkoumaných vzorcích nebyly nalezeny další mykotoxiny, ani T-2, HT-2, OT, AF ani jiné.

Tabulka 12. Procentuální výskyt mykotoxinů na kukuřici, v letech 2000 až 2004, v Itálii, v každém roce zpracováno 150 vzorků, HPLC metodou (Rayneri, 2006)

Rok	ZEA (> 10 ppb)	DON (> 20 ppb)	FUM (> 10 ppb)	AFB ₁ (> 0,2 ppb)	OTA (> 1 ppb)
2000	14,4	0,0	90,0	0,0	9,3
2001	5,2	10,4	93,5	6,3	2,1
2002	82,6	95,8	97,9	2,1	50,0
2003	0,0	16,0	96,2	14,3	8,6
2004	9,5	15,5	98,6	3,3	1,5

Tabulka 13. Průměrná koncentrace mykotoxinů v silážích (v ppm) v ČR v období 2003 až 2004 (n = 65), (Nedělník a Moravcová, 2005)

	Vojtěšková siláž	Kukuřičná siláž	Jetelotravní siláž
AF B1	0,0035	0,0014	0,0028
T-2	0,1760	0,2600	0,2420
F B1	0,0500	1,8700	0,4700
DON	0,5000	0,9600	0,6300
ZEA	0,5770	1,3770	0,1790
% pozitivních	100	96	100

2.6. Metody dekontaminace mykotoxinů

Za optimální se považuje zamezit rozvoji plísní a tvorbě mykotoxinů před jejich vznikem, tento souhrn zahrnuje tři opatření:

- Omezení infekce zemědělských plodin toxinogenními plísněmi v období růstu rostlin.
- Rychlé a účinné vysušení sklizených plodin a jejich správná konzervace a skladování.
- Použití účinných přípravků k omezení rozvoje plísní, omezení napadení rostlin jinými

patogeny, zamezit mechanickému a fyzikálnímu narušení skladovaných krmiv a potravin (Velíšek a kol., 1999; Driehuis, 2013), (Tabulka 14).

Tabulka 14. Koncept HACCP přístupů k eliminaci zatížení mykotoxiny (Herrman a Walker, 1999)

Období	Komodita	Riziko	Opatření
Předsklizňové	Obilniny, olejnata semena, ořechy, ovoce	Napadení plísněmi a následná kontaminace mykotoxiny	Odolné odrůdy Insekticidní programy Závlahové systémy Časování prací, obměna plodin, kontrola plevelů
Sklizeň	Obilniny, olejnata semena, ořechy, ovoce	Vzestup produkce mykotoxinů	Sklizeň v optimálních podmínkách, odstraňovat posklizňové zbytky Co nejrychleji sušit do 10% vlhkosti
Skladování	Obilniny, olejnata semena, ořechy, ovoce	Již přítomnost, nebo tvorba dalších mykotoxinů	Udržovat nízkou vlhkost, zamezit přístupu škůdců, skladovat v čistých suchých prostorách
Zpracování	Obilniny, olejnata semena, ořechy, ovoce	Přeměna mykotoxinů, nebo udržení obsahu	Testovat všechny složky krmiv Dodržovat správné výrobní postupy
Krmení	Dojnice, masná plemena, drůbež	Přenos mykotoxinů do produktů živočišného původu	Monitorovat obsah mykotoxinů v krmivech a potravinách

Zásady optimálního způsobu dekontaminace mykotoxinů z krmiva:

1. Mykotoxin musí být inaktivován nebo transformován na netoxickou látku;
2. Spóry plísní a mycelia, musí být usmrceny, aby nemohlo dojít k novotvorbě mykotoxinů;
3. Krmivo si musí zachovat svou původní nutriční hodnotu a zároveň chutnost;
4. Nesmí se změnit fyzikální vlastnosti krmiv, oproti původnímu krmivu;
5. Celý proces dekontaminace musí být ekonomicky únosný.

Doporučení z *Mycotoxins in Food*, kapitola Detection and Control (Pettersson, 2004).

2.6.1. Fyzikálně – chemické metody dekontaminace mykotoxinů

Vyvarovat se mykotoxinům zahrnuje především správnou výrobní praxi krmiv a to nejen ohledně sklizně a skladování, ale dodržováním obměny polních plodin, odpovídající hustota porostu, výběr vhodných odrůd do daných oblastí, zabraňovat

narušení hmyzem a pleveli. Sklizeň musí být prováděna za optimálních podmínek, minimálně narušit zrna a rostliny. Konečně podmínky skladování za ideální teploty a vlhkosti se zamezením narušení skladištními škůdci – hmyzem a hlodavci. U obilovin pomáhá síťování, vytřídění narušených zrn, odstranění vnějších obalů zrn a mletí, u kukuřice se výskyt mykotoxinů sníží až o 20%. U silážovaných krmiv navodit co nejrychleji kyselé prostředí a zamezit přístupu vzduchu, potažmo kyslíku. U jaderných krmiv je základní předpoklad prevence rozvoje plísní, vlhkost substrátu pod 14 % do 48 hodin po uskladnění (Whitlow, 2011).

Až následně přichází na řadu konzervanty redukující růst plísní a „vychytávače“ mykotoxinů. Látky testované na snížení hladin mykotoxinů v již kontaminovaných krmivech mají společné nevýhody ve zvyšování ceny, navýšení ztrát krmiv, snižují chutnost a nutriční hodnotu napadených krmiv, většinou nemají plně selektivní účinek a zvyšují náročnost na aplikaci a manipulaci s krmivy.

Metody dekontaminace a omezení rozvoje mykotoxinů jsou členěny na fyzikální, chemické a biologické (Placinta a kol., 1999). Čpavkování, tlak, teplota jsou efektivní proti aflatoxinům, ale mnohem méně účinné proti fumonisinům (FUM) a dokonce vedou k tvorbě toxičtějších látek, jako u hydrolýzy T-2 toxinu za vzniku toxičtějšího HT-2. Ozonizace, chlorování, hydroxid amonný, hydrogen peroxid, kyselina chlorovodíková, síření (SO₂) jsou účinné proti DON, formaldehyd (proti ZEA), siřičitan sodný, oxid siřičitý, hydroxid vápenatý a uhličitan amonný. Růst plísní může být redukován také přísadky organických kyselin, hlavně kyseliny propionové (Lacey, 1989).

Pražení a zahřátí proti DON, UV proti aflatoxinům. Dále se dají využít kyselina propionová, přísadka kyseliny askorbové – vitamin C (Whitlow, 2011), zkouší se užití hydroxidu vápenatého, metylaminu, v laboratorních podmínkách redukují obsah DON o 82 % a ZEA až o 90 % již během 5 minut probíhající reakce (Rempe a kol., 2013).

Alkalická hydrolýza hydroxidem vápenatým efektivně snižuje obsah T-2 toxinu a DAS v kontaminovaných krmivech. DON. Díky své technické náročnosti a vysokým nákladům však nejsou chemické metody dekontaminace potravin komerčně využívány (Lacey, 1989). V in vitro podmínkách je testováno použití specifických polymerů typu cholestyramin a crosprovidon, zatím se nepodařilo prokázat spolehlivou účinnost v in vivo testech (Huwig, 2001). Přísadka 0,5 až 4 % uhličitanu sodného vede k snížení aktivního ZEA v krmivu, optimálnímu se při in vitro pokusech jeví přísadka 2 % do krmiv pro prasata (Polak a kol., 2009).

Jednou ze zkoušených metod bylo i užití ultrafialového záření, které efektivně narušuje molekulu u aflatoxinů, bohužel dochází i k narušení jiných biologicky důležitých látek (EFSA, 2012).

2.6.2. Silikátové vyvazovače

K odstranění toxických látek z krmiv se používá řada postupů s méně či více výrazným efektem na snížení hladin mykotoxinů. Aktivní uhlí (Carbo adsorbens) je jedna z nejdéle používaných látek k dekontaminaci, bohužel nepatří k selektivním adsorbérům, účinnost zjišťovaná in vitro neodpovídá in vivo, kdy je méně účinné (Dänicke, 2009). Aktivní uhlí se používá jako antidotum při mnoha otravách již od 19. století. Má velkou sorpční kapacitu 500 až 3 500 m²/g (Huwig a kol., 2001; Whitlow 2011). Na podobném principu fungují hlinitokřemičité jíly, proto se objevují jisté obavy z rizika poškození biologické hodnoty krmiv, ty na rozdíl od aktivního uhlí s poměrně jednoduchou strukturou a tím i mechanismem vazby nežádoucích látek, jsou složeny z několika vrstev o různé chemické struktuře, jednotlivé složky jsou dle typu jílu, zastoupeny v různém poměru. Selektivita se navíc zvyšuje elektropolarizací částí molekul jednotlivých složek (Huwig a kol., 2001).

U většiny přípravků na bázi jílu je základem hlinitokřemičitan s vázaným iontem, většinou alkalickým kovem, nebo kovem alkalických zemin. Minerální jíly jsou vrstvené hlinitokřemičitany o základní chemické struktuře [Si₂O₅]²⁻ mezi nejznámějšími je to kaolin Al₄(OH)₈Si₂O₅. Zeolity jsou složeny z tetraedru oxidu křemičitého SiO₄ a oxidu hlinitého AlO₄ s centrálně uloženým atomem kovu, např. ortoklas KAlSi₃O₈ nebo zeolit A {Na₁₂[Al₁₂Si₁₂O₄₈]·27 H₂O}. Část SiO₄ je elektroneutrální, část AlO₄ nese jeden záporný náboj, který je kompenzován pozitivním nábojem nejčastěji sodného iontu. Zeolity se tak dají připodobnit sítu, které zachycuje rozličné molekuly podle jejich velikosti, tvaru a náboje, jsou též někdy označovány za „anorganické houby“ (Huwig a kol., 2001). Bentonitové a aluminium-silikátové jíly byly zkoušeny ke snížení toxicity AF u prasat (Lindemann a kol., 1993), Smith (1980) testoval účinek zeolitů při podávání do krmiva kontaminovaného ZEA u prasat a krys, u skotu Diaz a kol. (1997).

Tomasevic-Canovic (1996) sledováním hladin vybraných aminokyselin a vitamínů ukázal, že hlinitokřemičitanové jíly vyvazují selektivně molekuly mykotoxinů, podle jejich polarizovaných struktur a tím nedochází ke snížení hladin ani u jedné z biologicky významných složek krmiva (ani aminokyseliny, ani vitamíny).

Devegowda a Castaldo (2000) upozornili i na negativní vliv jílu u ZEA a

fusariotoxinů a naopak vedou k narušení vstřebávání mikroprvků a vitamínů. ZEA je poměrně dobře vyvazován zeolity, ale nespecificky váže i část vitamínu E a lysinu (Huwig a kol., 2001). Sova a kol. (1991) označili podobné typy zeolitů za neúčinné a výsledky užití oproti AFB₁ za neprůkazné.

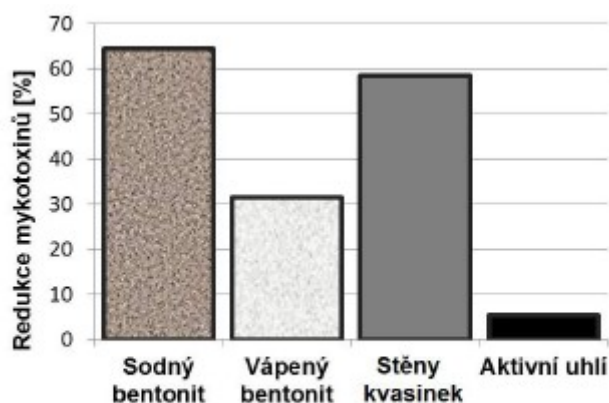
Phillips a kol. (1988) testovali na 38 různých adsorbérů ze skupiny křemičitanů a hlinitokřemičitanů a zjistil, že hydratovaný sodno-vápený hlinitokřemičitan (HSCAS-hydrated sodium calcium aluminosilicate) měl nejvyšší účinnost ve vazbě s AFB₁ a tvoří stabilní komplex v pH rozmezí 2-10 a teplotě 37°C. HSCAS je užitečný jako přídavek do krmiv pro drůbež, skot, ovce, prasata. Účinný je, ale jen částečně proti ZEA a OTA a téměř neúčinný je proti T-2, DON a diacetyxyascirpenol (Huwig a kol., 2001). Ramos a kol. (1996) testovali sodný bentonit, přírodní jíl užívaný v peletovaných krmivech je účinný na AF, ale velmi slabě na ZEA, NIV a OTA. Ramos a kol. (1996) zkoušeli vazbu OT na vinylový polymer krospondon a styrenový polymer cholestyramine. Dokázal, že cholestyramin má in vitro velice slabý vazebný účinek na snížení obsahu ochratoxinu v krvi, žluči a tkáních pokusných zvířat. Při použití krospondonu na eliminaci ZEA při in vitro testu, se též ukázal jako málo účinný.

2.6.3. Mikrobiologické metody

Mezi tyto metody patří využití bakterií produkujících kyselinu mléčnou, propionovou, bifidobakterie, které mají ve své stěně struktury, jež jsou schopny vázat mykotoxiny a tím ovlivňují dostupnost v organismu, např. *Flavobacterium aurantiacum*, *Rhizopus spp.*, *Neurosporasitophilla* (Gimeno a Martins, 2006). Niederkon a kol. (2006) testoval schopnost in vitro připravených kultur propiogenních a laktogenních bakterií eliminovat vybrané druhy fusariových mykotoxinů. Dospěli k závěru, že inokulací těchto kultur je možné dosáhnout, až 88% eliminace u ZEA, 82% u FB₁, 100% u FB₂, u DON tomu bylo cca 55%. Mnohem účinnější se ukázaly laktogenní bakterie, než propiogenní a neoptimálnější neutrální pH.

Dalším testovaným způsobem je detoxifikace mykotoxinů využitím bakteriálních kultur *Eubacterium BBSH 797*, které prostřednictvím specifických enzymů rozkládají trichothecenové toxiny ve střevě zvířat (Binder, 2007) Nově objevená plíseň *Trichosporon mycotoxinivorans*, jež spolupůsobí respirační potíže u živočichů včetně člověka a je jednou z příčin cystické fibrózy orgánů, především plic, je testována i pro svou schopnost degradovat mykotoxiny jako ZEA, OTA, DON, FB₁ a pravděpodobně další, hlavně z řad trichothecenů (Schatzmayer a kol., 2006).

Nejvýrazněji jsou využívány gluko-manany z vnější vrstvy stěn kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Buněčná stěna kvasinek obsahuje nejen polysacharidovou



Obr. 33. Vazebná kapacita adsorbérů

složku (glucany a manany), ale též řadu proteinů, tuků, které tvoří dobře dostupná adsorpční místa. Např. u ZEA je 1g kvasinkových stěn schopen vázat na 2,7 mg čistého mykotoxinu (Huwig a kol., 2001). Obrovská vazebná kapacita je uváděna v řadě studií, kdy 500g glukomananů přidaných do

krmiva, mělo obdobný sorbční efekt jako přidání 8 kg jílových vyvazovačů (Erasmus a kol., 1992; Stanley a kol., 1993; Yiannikouris a Jouany, 2002). Vazebná kapacita adsorbérů je uvedena v Obrázku 33. Esterifikované glukomanany, přirozená součást kvasinek, mají vysokou schopnost vázat mykotoxiny, např. při podílu 0,05% z diety vede k redukci sekrece AF v mléce o 58 %, vyšší účinek byl popisován i v porovnání se sodnými bentonity. Pozitivní účinek je i na jiné typy mykotoxinů ZEA a fusariotoxiny (Devegowda a Castaldo, 2000). Yiannikouris a kol. (2004) popisuje mechanismus vazby na upravené stěny kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, skrze nekovalentní vazbu na beta-D-glukany chitinové stěny a tím výrazně snižuje efekt volného ZEA. Korostelova a kol. (2007) na skupině holštýnských dojnic prokázala pozitivní vliv přídavku již 0,2% glukomananů do TMR kontaminovaného krmiva DONem, oproti kontrole nedošlo k poklesu Imunoglobulinů, především IgA a narušení osmolality séra změnou sodných iontů.

Další cestou využití biologických procesů je snaha inokulovat upravené kultury plísni rodu *Rhizopus* a *Aspergillus*, které nejsou schopny produkovat mykotoxiny, a tyto kompetitivně obsadí substrát (Wiedmeier a kol., 1987). Tyto způsoby jsou však poměrně pomalé a vedou k narušení substrátu, jejich praktické využití se tak jeví málo pravděpodobné (Cotty a Bhatnagar, 1994). Praktické užití našel *Rhodosporidium kratochvilovae* v degradaci Patulinu na ovoci (Castoria a kol., 2011). K deaktivaci OTA a PAT byly zkoušeny kultury *Lactobacillus acidophilus* VM 20, vedli ke snížení obsahu OTA o 95 % a *Bifidobacterium animalis* VM 12 snižuje obsah Patulinu o 80% (Fuchs a kol., 2008).

Užití živých kultur jako dopňků krmiv pro přežvýkavce blíže definuje Vyhláška MZe 451/2000 k zákonu o krmivech č. 91/1996. aplikované množství je udávané v CFU (colony forming units). V USA je pro přidávané kultury bakterií a kvasinek užíván termín DFM (direct fed microbial).

Tabulka 15. Schopnost glukomananů ze stěn *Saccharomyces cerevisiae* k vazbě mykotoxinů (Yiannikouris a Jouany, 2002; Girish a Devegowda, 2006)

Mykotoxin	% vazby
Aflatoxiny (Celkově)	95,0
Fumonisin	67,0
Zearalenon	77,0
T-2 toxin	33,4
Citrinin	18,4
DAS	12,7
DON Deoxynivalenol	12,6
OTA Ochratoxin A	12,5
NIV Nivalenol	8,2
Fusariotoxin	7,9

Nezanedbatelnou roli tvoří ve snížení účinku mykotoxinů též řada přírodních antioxidantů a vitamínů např. Selen, vit. C, A a E, chrání proti uvolněným radikálům, tlumí peroxidaci tuků a především inhibuje mutagenní procesy (Galvano a kol., 2001). Podle Santin a kol. (2003) efekt stěn kvasinek ve vazbě na ochratoxinu zvyšuje příjem a konverzi krmiva u ptáků.

Kvasinky ve výživě přežvýkavců

Příznivý vliv kvasinek na produkční parametry zvířat byl znám již po více 70 let, i když mechanismus jejich účinku nebyl jasný. Historicky se kvasnice zařazovaly mezi tzv. neidentifikované růstové faktory, jejichž příznivý efekt na produkci zvířat byl uznáván, ale nebyl zdůvodnitelný obsahem živin v kvasnicích samých (Huwig a kol., 2001).

Dawson et. al. (1990) prokázal, že pokud jde o stimulaci bachorových bakterií, jsou živé kvasinky mnohem účinnější než kvasinky inaktivované. Inaktivované kvasinky nemají na bachorové bakterie téměř žádný vliv. Živé kvasinky vylučují koenzymy, které mají na růst a aktivitu bachorových bakterií stimulační vliv. Jsou-li však použity kvasinky inaktivované, k této stimulaci nedochází (Girard, 1994). Někteří výrobci se však opírají o názor, že účinek sušených či lyofilizovaných kvasinek je

srovnatelný s účinkem živých kvasinek a nabízí kvasinkové preparáty bez garance přítomnosti živých buněk, které se obvykle dávkují ve větším množství, ale jejich cena za jednotku hmotnosti je nižší (Wallace, 1994).

Nejprůkaznější pozitivní efekt kvasinek na zlepšení užitkovosti zvířat byl pozorován v případě zvířat krmených méně kvalitní pící s nedostatkem některých esenciálních živin (Jouany, 2001; Galvano a kol., 2001). Kvasinky jsou také vhodným doplňkem při zkrmování krmné dávky s vysokým podílem lehce fermentovaných sacharidů, protože napomáhají stabilizovat bacherové prostředí (Williams a kol., 1991; Jouany, 2001). Vliv kvasinek na zlepšení užitkovosti zvířat se také různí v závislosti na složení krmné dávky, zejména na množství a formě využitelné energie a jejím vzájemném poměru k obsahu bílkovin v krmné dávce (Doležal a kol., 2005).

Vyráběné preparáty se rozlišují podle kmene použitých kvasinek a koncentrace živých buněk tvořících kolonie (CFU) v 1 g nebo v 1 ml (Jouany, 2001). Účinek kvasinkové kultury tedy závisí především na výběru vhodného mikrobiálního kmenu, podmínkách kultivace, koncentraci živých kvasinkových buněk a dávce preparátu. Rozdílnost účinku různých kvasinkových kultur otevírá prostor pro hledání a studium nových kmenů a jejich specifických vlastností, například i prostřednictvím genetických modifikací (Wallace, 1994).

Účinek kvasinkových kultur na bacherové trávení

Výzkumné práce signalizují, že zařazení kvasinek do diet pro dospělé i nedospělé přežvýkavce může upravit prostředí bacheru (Erasmus a kol., 1992). V některých laboratorních studiích byl prokázán vliv kvasničné kultury na zvýšení počtu celulolytických bakterií a zvýšenou produkci čpavku smíšenou bacherovou populací (Erasmus a kol., 1992; Eastrige, 2006; Patra, 2012).

Významný efekt kvasničné kultury na bacherové prostředí je především ve změnách v koncentraci ruminální kyseliny mléčné, kvasinky redukují fermentaci kyseliny mléčné jak u zcela rozvinutého bacheru (Williams a kol., 1991; Erasmus a kol., 1992) tak i vyvíjejícího se bacheru telat (Scott a Nisbet, 1992). Snížená produkce kyseliny mléčné má následné účinky na pH bacherového obsahu, bacherovou mikrobiální populaci, produkci těkavých mastných kyselin, degradaci v bacheru, rychlost pasáže, nakonec i na příjem krmiva (Williams a kol., 1991). Přídavky kvasinek dokonce zvyšují využití kyseliny mléčné některými mikroorganismy (Koul a kol., 1998).

Významný vliv kvasničné kultury je také na zvýšení počtu bachorových mikroorganismů celulólytických, amylolytických, proteolytických a všech anaerobních, rovněž zvýšení celkového počtu životaschopných mikroorganismů (Koul a kol., 1998; Lascano a kol., 2009a). Zvýšení počtu celulólytických bakterií, nebo posílení jejich životaschopnosti, může dodatečně signalizovat změny pH bachorového obsahu. Kvasničná kultura může mít vliv na pH jako kauzativní faktor pro zvýšení mikrobiální populace v bachoru (Williams a kol., 1991; Scott a Nisbet, 1992).

V bachorové tekutině k rozmnožování kvasinek pro téměř bezkyslíkové podmínky nedochází, metabolicky však zůstávají aktivní. Čerpáním zbytků kyslíku, který se do bachoru dostává spolu s potravou zlepšují podmínky pro anaerobní organismy (Binder, 2007).

Výzkumy ukazují, že doplněk kvasničné kultury působí zvyšování pH bachoru (Koul a kol., 1998; Scott a Nisbet, 1992) nebo snížení depresního účinku nízkého pH (Williams a kol., 1991). Dále signalizují, že kvasničná kultura nemůže mít stejný účinek ve všech dietách nebo za všech podmínek. Jsou však indikace, že diety s kvasničnou kulturou mohou mít vliv na rozsah změn pH (Koul a kol., 1998; Scott a Nisbett, 1992). Změny v pH bachoru po přidavku kvasinek, mohou být přisuzovány změnám ve složení mikrobiální populace, v nárůstu nové či dosud potlačované populace mikroorganismů (Kumar a kol., 1997), to může způsobit snížení produkce kyseliny mléčné a celkový posun k produkci těkavých mastných kyselin (Koul a kol., 1998).

Základní účinek přidavku kvasinek je v jejich schopnosti upravit v bachoru nevýhodné prostředí pro rozklad celulózy. Přídavek kvasinek má minimální vliv na stravitelnost živin u diet z koncentrovaných krmiv, ale kvasinky mohou zmírnit negativní efekty v kombinaci koncentrovaných a objemných krmiv (Williams a kol., 1991). Efekt specifických bachorových kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae*) na využití krmiva je spojený s nárůstem trávení vlákniny a stabilizací pH bachorového obsahu i při krmení méně kvalitních kukuřičných siláží (Guedes a kol., 2008). Převážně se to týká vyššího využití málo rozložitelných frakcí vlákniny – celulózy a hemicelulózy. Hlavní rozdíl ve využití vlákniny ovlivňuje obsah ligninu v krmivu. Lignin je nestravitelná směs organických látek, která zhoršuje využití celulózy a hemicelulózy z vlákniny mikroorganismy v bachoru. Výzkumné práce na toto téma prokázaly tento pozitivní vliv převážně u objemů o horší kvalitě, kdy nedošlo k řádnému využití krmné dávky. Pokud, ale měl objem vyšší množství NDV (NDF) vlákniny než 46 %, což se takřka nevyskytuje, pak ani kvasinky svou aktivitou nenapomohly k vyššímu využití krmné

dávky (Mosoni a kol., 2007; Lascano a kol., 2009b).

Za anaerobních podmínek kvasinky fermentují vodorozpustné sacharidy, zejména glukózu na etanol a oxid uhličitý (alkoholové kvašení). Současně při alkoholovém kvašení vzniká teplo a energie (ATP). Anaerobní metabolismus je v porovnání s aerobním odbouráváním glukózy energeticky 18x méně efektivní (Jelínek a kol., 2003). Wiedmeier a kol. (1987) testoval vliv kvasinkových kultur (*Saccharomyces cerevisiae*) v kombinaci s přípravky na bázi *Aspergillus oryzae*. Přídavek samotné kvasinkové kultury (90g/den a kus), tak i v kombinaci s *Aspergillem* (90g/den a kus) měly pozitivní vliv na zvýšení kyseliny octové a propionové, zvýšení stravitelnosti vlákniny, dále vedly k nárůstu počtu celulolytických mikroorganismů. Yoon a Stern (1996), v obdobné studii na posouzení vlivu kvasinkových kultur *Saccharomyces cerevisiae* (59g/den a kus) samostatně nebo v kombinaci s *Aspergillem oryzae* (3g/ks a den), prokázali vyšší využitelnost dusíkatých látek, vyšší obsah těkavých mastných kyselin v bachorové tekutině a celkově vyšší stravitelnost předkládaných krmiv, viz. Obrázek 34.



Obr. 34: Mechanismus účinku kvasinkové kultury (Jouany, 2001)

Přídavek 10g/ks a den *Saccharomyces cerevisiae* do krmiva pro holštýnské dojnice, nemělo žádný efekt na změnu pH, byl přesto vyšší příjem sušiny, a mléčná produkce naznačovala zvyšující se tendenci, obsah kyselin ymléčné klesl z 1,93 na 1,73 mmol/l bachorové tekutiny, složení mléka se nikterak významně nezměnilo (Erasmus a kol., 1992).

Schwartz a kol. (2009) se pokusili ve studii zaměřené na zjištění vlivu přídavku kvasinkových kultur (*Saccharomyces cerevisiae*) 10 g/ks a den, jako prevence a zvýšení odolnosti při teplotním stresu. Zjistili, že u obou skupin, krmených i nekrmených přídavkem kvasinek dochází v době teplotního stresu k snížení mléčné produkce, úbytku tělesné hmotnosti a poklesu mléčného tuku.

3. Vědecká hypotéza a cíle práce

3.1. Hypotéza

Mykotoxiny jsou často diskutovanou příčinou zdravotních poruch v chovech hospodářských zvířat. Přežvýkavci jsou vzhledem ke kapacitním možnostem předžaludků, považováni za poměrně málo vnímaví k účinku mykotoxinů oproti ostatním druhům hospodářsky chovaných zvířat jako je drůbež nebo prasata. Druhým důvodem proč se neočekává výrazný přímý účinek mykotoxinů je fakt, že základem krmné dávky jsou objemná krmiva, která obecně v porovnání s krmivem koncentrovanými obsahují nižší hladiny mykotoxinů.

Dojnice jsou oproti drůbeži nebo prasatům dlouhověká zvířata, přijímají velké množství objemných krmiv doplněných o jaderné krmné směsi a toto krmivo jim je podáváno dlouhodobě. Dojnice jsou převážnou část života pod stálou zátěží kombinace březosti a mléčné produkce. Jaká je míra vlivu mykotoxinů (zearalenon, T-2 toxin a deoxynivalenol) vyskytujících se v krmivech pro dojnice a do jaké míry jsme schopni ovlivnit jejich negativní působení použitím speciálních doplňků krmiv.

Ovlivní přídavek hlinitokřemičitého adsorbéru produkční a zdravotní parametry stáda dojníc?

Ovlivní kvasinkový doplněk produkční a zdravotní parametry stáda dojníc?

3.2. Cíle

- Stanovit hladinu mykotoxinů zearalenonu, T-2 toxinu a deoxynivalenolu v krmivech pro dojnice v modelových podnicích.

- Stanovit četnost zdravotních poruch u sledovaných stád dojníc, podle hlavních skupin onemocnění rozdělených dle orgánových soustav: onemocnění mléčné žlázy; onemocnění metabolická, jež zahrnují jak poruchy trávení v předžaludcích tak s nimi úzce související onemocnění; onemocnění reprodukční soustavy; onemocnění pohybového aparátu především autopodia, onemocnění jiná, tj. skupina onemocnění, která se mohou vyskytnout zcela náhodně, ale stejně tak mohou být i indicií hlubších problémů v chovu.

- Zhodnotit vliv mykotoxinových adsorbérů na bázi hlinitokřemičitých jíílů na celkovou nemocnost a jednotlivé kategorie zdravotních poruch.

- Zhodnotit vliv mykotoxinových adsorbérů na bázi hlinitokřemičitých jíílů na mléčnou produkci, celkový nádoj, jednotlivé kvalitativní parametry mléka.

- Zhodnotit vliv doplňků krmiv s obsahem *Saccharomyces cerevisiae* na celkovou nemoconost a jednotlivé kategorie zdravotních poruch.

- Zhodnotit vliv doplňků krmiv s obsahem *Saccharomyces cerevisiae* na mléčnou produkci, celkový nádoj, jednotlivé kvalitativní parametry mléka.

4. Metodika

4.1. Charakteristika podniků

Podnik 1 je zemědělská společnost zabývající se především rostlinou a živočišnou prvovýrobou. Společnost hospodaří na zemědělské půdě o výměře 1630 ha, v blízkosti města Nepomuk v nadmořské výšce 450 až 520 m n.m. Chov skotu je zaměřen na výrobu masa i mléka, celkem chová cca 700 kusů skotu, z toho 180 krav Českého strakatého plemene k produkci mléka, dále v pastevních areálech 70 krav bez tržní produkce mléka, a v odchovných 220 ks jalovic a 110 ks mladých býků. Dojnice jsou ustájeny v zrekonstruované volné stáji a dojeny v rybinové dojárně - 2×7 stání. Charakteristika vývoje mléčné užitkovosti je uvedena v Tabulce 16.

Tabulka 16. Podnik 1

	Podnik 1					
Rok	07/08	08/09	09/10	10/11	11/12	12/13
Ø mléka (l/den)	6 151	6 339	6 298	6 470	6 578	6760
Tuk (%)	3,90	3,94	4,33	4,57	4,46	4,38
Bílkovina (%)	3,41	3,45	3,45	3,52	3,51	3,58
Laktace (dny)	298	298	299	295	297	296
Mezidobí (dny)	410	397	421	413	388	400

TMR je navážena 2x denně vertikální míchacím krmným vozem, v průběhu dne je průběžně přihrnována mechanicky traktorem s lopatou. Skladování krmiv je v silážních žlabech a silážních vacích, seno uskladněno ve velkoobjemových balících v senících, jadrná směs přimíchávána ze zásobního sila.

Podnik 2, je společnost zaměřená na zemědělskou prvovýrobu, hospodaří v podhůří Šumavy (okolí města Prachatic) na pozemcích s výměrou cca 1350 ha zemědělské půdy, obhospodařované pozemky se rozkládají v nadmořské výšce 450 až 900 m n.m., stáj pro dojnice se nachází v nadmořské výšce 750 m n.m. V roce 2006 byla postavena nová stáj s dřevěnou nosnou konstrukcí a volným ustájením, dojírna je zde rybinová s trigonovým uspořádáním (7 + 7 + 8), vybavená elektronickým řídicím a vyhodnocovacím systémem. Charakteristika vývoje mléčné užitkovosti je v Tabulce 17. Rostlinná výroba je zaměřena především na výrobu krmiva pro skot a to jak objemné píče, tak jadrných krmiv. Důležitou součástí rostlinné výroby je údržba trvalých travních porostů. Jako tržní plodiny jsou pěstovány řepka a částečně kukuřice. V živočišné výrobě je nosným programem chov holštýnských krav (350 ks), produkce

mléka, prodej zástavových býčků a plemených jalovic. Společnost chová i stádo krav bez tržní produkce mléka plemene Limousine a jeho kříženců.

Tabulka 17. Podnik 2

	Podnik 2					
Rok	07/08	08/09	09/10	10/11	11/12	12/13
Ø mléka (l/den)	7 814	8 131	8 617	8 304	8 580	8 971
Tuk (%)	4,00	3,88	3,61	3,62	3,52	3,45
Bílkovina (%)	3,30	3,27	3,26	3,29	3,28	3,27
Laktace (dny)	296	296	296	296	294	297
Mezidobí (dny)	431	389	421	401	393	396

Krmení je obdobné jak v podniku 1, TMR navážená 2x denně vertikálním míchacím krmným vozem, v průběhu dne průběžně přihrnováno mechanicky traktorem s lopatou. Objemná krmiva jsou skladována v silážních žlabech a silážních vacích, seno uskladněno ve velkoobjemových balících v senících, jadrná směs přimíchávána ze zásobního sila.

4.2. Sběr dat veterinárních záznamů

Záznamy o veterinárních ošetřeních byly evidovány v měsíčních intervalech od 1.1.2008 do 31.12.2013. Jednotlivá onemocnění byla rozčleněna do 5 kategorií

1. Onemocnění mléčné žlázy (mastitis akuta, mastitis chronica, hemolakcie apod.)
2. Metabolické poruchy – MTB; (acidóza bachorového obsahu, ketóza, poporodní paréza, dislokace slezu, prostá indigeste)
3. Reprodukční poruchy (retence sekundin, metritis, syndrom ovariálních cyst, corpus luteum perzistens, anestrie, ztížený porod)
4. Onemocnění končetin (pododermatitis, dermatitis interdigitalis, tyloma interdigitale, rostelholzův vřed)
5. Onemocnění jiná – nezařazená, skupina onemocnění přímo nesouvisejících s výživou a užitkovostí (uberoinguinalní dermatitida, dermatofytóza, bronchopneumonie, onemocnění očí)

Onemocnění byla sumarizována i jako onemocnění celkem – celková nemocnost v daném měsíci.

4.3. Analýza krmiv na obsah mykotoxinů

K analýze byly vybrány mykotoxiny zearalenon (ZEA), T-2 toxin (T-2) a

deoxynivalenol (DON) na základě literárních údajů a počtu prací zaměřených především na tyto tři mykotoxiny a jejich úzký vztah se zdravím a užitkovostí dojníc.

Vzorky krmiv byly odebírány ze skladových prostor silážních žlabů, případně seníků, nebo z krmné chodby již jako předložená TMR. Termíny vzorkování byly stanoveny do minimálně 2 měsíčních intervalů, se snahou pokrýt vyšetřením co největší počet základních krmiv k přípravě TMR.

Vzorky byly odebírány formou reprezentativního vzorku dle Vyhlášky č. 415/2009 Sb., o stanovení požadavků na odběr vzorků a způsobu zveřejnění metod laboratorního zkoušení produktů ke krmení k Zákonu č. 91/1996 Sb., o krmivech, Vyhláška č. 356/2008 Sb., kterou se provádí zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů. České právní předpisy vychází z Direktivy Evropské unie z roku 1994, která stanoví vzorkovací postup. Vzorek = odmocnina z (20 x počet tun), tento vzorek, je nutné dokonale promíchat a vytvořit z něho konečný vzorek o hmotnosti 1 kg.

Stanovení mykotoxinů bylo prováděno metodou ELISA v akreditované laboratoři SVÚ Jihlava, parcoviště Brno.

ELISA test je kompetitivní imunoenzymatický test, založený na principu reakce antigenu s protilátkou. Jamky mikrotitrační destičky jsou pokryty specifickou protilátkou proti konkrétnímu mykotoxinu. Přidáním standardů mykotoxinu nebo roztoku vzorku, protilátky a enzymem značeného mykotoxinu (enzymový konjugát), soutěží volný a enzymem značený mykotoxino vazebná místa na protilátce. Ve stejné době jsou protilátky mykotoxinu navazovány na imobilizovanou ovčí protilátku. Všechny nenavázané enzymové konjugáty se poté odstraní v promývacím roztoku. Chromogen/substrát se přidá do jamek a konjugát zbarví chromogen do modra. Přidáním stop činidla se modrá barva změní ve žlutou. Adsorbance se proměří fotometricky při vlnové délce 450 nm. Adsorbance je nepřímo úměrná koncentraci mykotoxinu ve vzorku.

4.4. Aluminosilikátový vyvazovače – charakteristika a dávkování

Jedná se o kombinaci bipolárních sodnovápených hlinitokřemičitých jílu illitu a chloritu, určených předně k adsorpci mykotoxinů zearalenonu a fumonisinů (CoBind). Hliník zakomponovaný do struktury hlinitokřemičitanu dokáže vytvářet komplexní sloučeniny s koordinačním číslem 6. Celá kostra proto vykazuje záporný náboj, který je třeba kompenzovat. Z tohoto důvodu jsou ve strukturách hlinitokřemičitých jílu pevně

vázány kladně nabitě ionty kovů, nejčastěji Mg^{2+} , K^+ , Fe^{2+} , nebo i Fe^{3+} . Tím je dán bipolární charakter adsorbentu, který umožňuje lépe vyvazovat polární molekuly mykotoxinů. Ve vazbě na adsorbent hrají zásadní roli alkoholové skupiny (-OH), karbonily (=O), karboxyly (-COOH), halidy, aminoskupiny (-NH₂) a jiné.

Dávkování je určeno dle potřeby v rozmezí 1 až 5 kg/t krmiva, ve sledovaném podniku bylo podáváno 5 kg/t krmiva.

Tabulka 18. Podávání premixu podle roků a měsíců (■ - období s přidavkem a □ - období bez přidavku premixu - □)

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
2008				■	■	■	■					
2009		■	■	■	■					■	■	■
2010	■	■					■	■	■	■	■	
2011		■	■	■	■						■	■
2012						■	■	■				
2013	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

4.5. Kvasinkový doplněk – charakteristika a dávkování

Námi zvolený kvasinkový premix (Rumex SC) patří do skupiny doplňkových látek a stabilizátorů. Jedná se o směs fytochemických látek určených výhradně pro výrobu krmiv, složený z aromatických látek (éterické oleje, saponiny) a kultury *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 (E 1711) – min. $2 \cdot 10^9$ CFU/g, doplňkové látky jsou oxid křemičitý, koloidní (E 551b). Doporučený přírůstek premixu je 5 g/ks/den do TMR.

Tabulka 19. Podávání premixu podle roků a měsíců (■ - období s přidavkem a □ - období bez přidavku premixu - □)

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
2008										■	■	■
2009	■								■	■	■	■
2010								■	■	■	■	■
2011	■	■	■	■	■						■	■
2012						■	■	■	■	■	■	■
2013	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

4.6. Odběry a analýza vzorků mléka

Vzorky mléka byly odebírány pomocí autosampleru náhodně 5x až 6x měsíčně a rozborovány v autorizované laboratoři. Sledované parametry byly, obsah mléčného tuku, bílkoviny, močoviny, somatické buňky a denní nádoj.

4.7. Statistické vyhodnocení výsledků

K vyhodnocení vlivu podávání absorbéru na sledované parametry byla využita statistická metoda jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA). Data splňovala podmínky pro použití tohoto parametrického testu, protože na základě Levenova testu bylo ověřeno, že rozptyly uvnitř sledovaných skupin byly ve všech případech homogenní. Hodnoty testů byly posuzovány na dvou hladinách významnosti: $p < 0,05$ – statisticky významný rozdíl a $p < 0,01$ – statisticky vysoce významný rozdíl. Výpočty byly provedeny v programu Statistica 11.

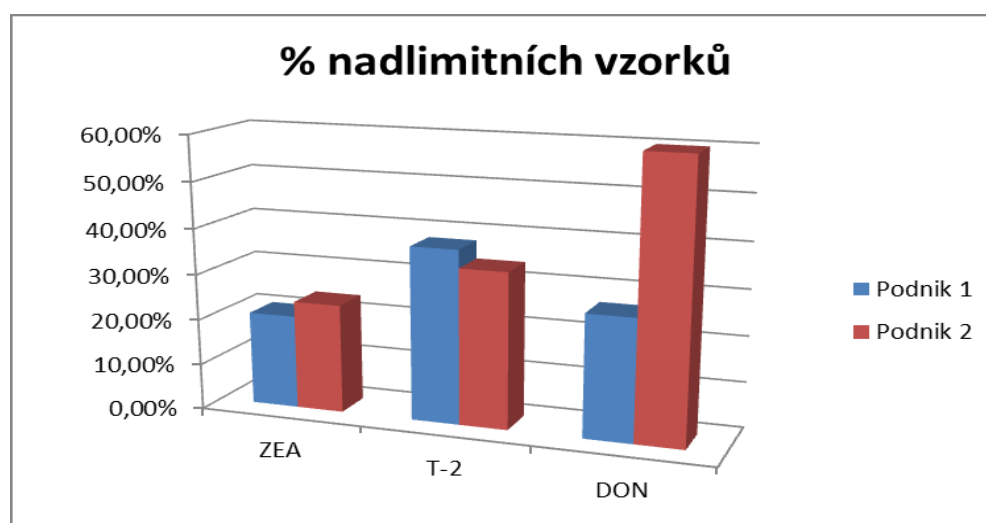
K dalšímu zpracování dat a grafickému zobrazení výsledků byl využit program Microsoft Excel 2010.

5. Výsledky a diskuse

5.1. Hladiny mykotoxinů (zearalenon, deoxynivalenol, T-2 toxin) v krmivech na sledovaných farmách dojnic

Na sledovaných farmách bylo vyšetřeno 138 vzorků krmiv na obsah třech mykotoxinů, ZEA, T-2 a DON, vzorky byly odebírány v období 2006 až 2013. Všechny z vyšetřovaných vzorků byly pozitivní na výskyt mykotoxinů a ve všech byly nalezeny měřitelné hodnoty sledovaných mykotoxinů, pokud byly k analýze zadány. Počet vyšetřovaných vzorků jednotlivých mykotoxinů a procento vzorků s nadlimitním obsahem uvádí Graf 1 a Tabulka 20.

Graf 1. Procentuální zastoupení nadlimitních vzorků, stanovený limit 100 µg/kg krmiva pro ZEA a T-2, pro DON 500 µg/kg krmiva



Tabulka 20. Procentuální zastoupení vzorků s nadlimitním obsahem sledovaných mykotoxinů dle podniků

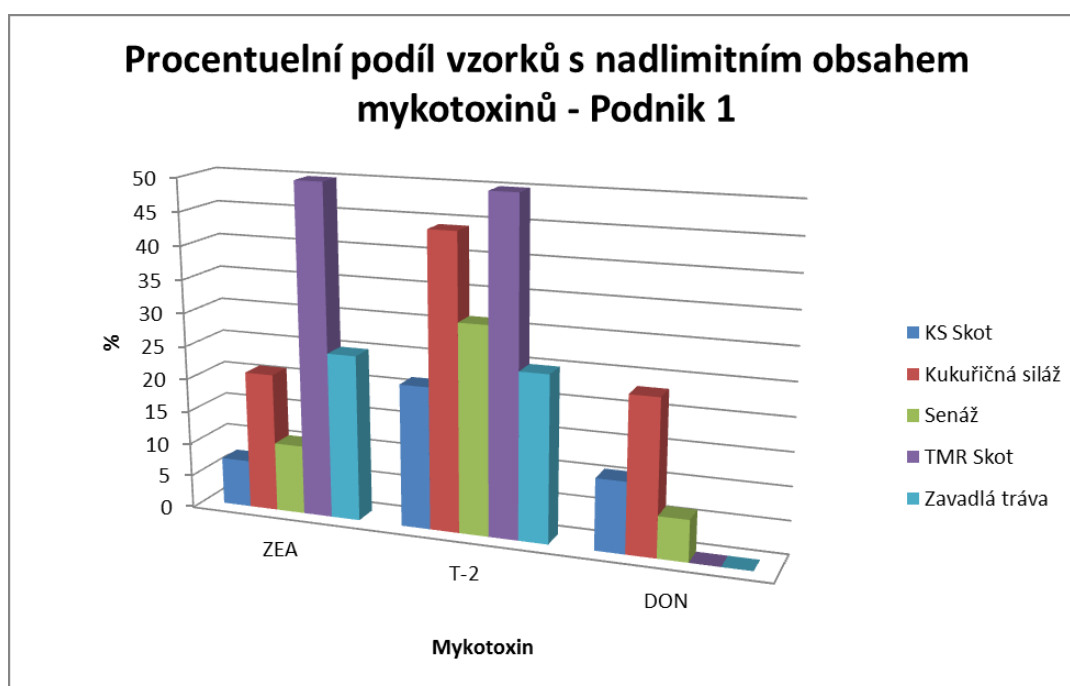
	Mykotoxin					
	n	ZEA (%)	n	T-2 (%)	n	DON (%)
Podnik 1	39	20,5	58	37,9	15	26,7
Podnik 2	42	23,8	50	34,0	20	60,0

(n = počet vyšetřovaných vzorků na daný mykotoxin)

Driheuis (2013) shrnul studie o mykotoxinech v krmivech pro skot od osmdesátých let do současnosti, pozitivita vzorků kukuřičných siláží a travních senáží se pohybuje u ZEA v rozmezí 13% (v roce 2005) až po 96% (v roce 1998), u DON od 10% (v roce 2004) do 91% (v roce 1999). Průměrné hodnoty DON u pozitivních vzorků se pohybují od 0,6 do 1,85 mg/kg u ZEA od 0,05 do 0,45 mg/kg krmiva.

V Grafu 2 je znázorněno v jakém typu krmiva pro dojnice na sledovaných farmách byly nalezeny nejvyšší koncentrace mykotoxinů. Jetelotravní senáže a kukuřičné siláže označil za hlavní rizika zdroje mykotoxinů především DON a ZEA pro dojnice v podmínkách vysokoužitkových stád dojnic Driehuis a kol. (2013). V naší studii se potvrdilo, že z objemných krmiv jsou nejrizikovější kukuřičné siláže, případně TMR na jejich základě připravené, jako tomu bylo u TMR podniku 1, zde byl v kukuřičné siláži nalezena nejvyšší hodnota ZEA a to 604 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva. V jiném vzorku, ale opět v kukuřičné siláži byl nalezen nejvyšší záchyt DON 1321 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva, u T-2 byl nejvyšší záchyt v jadrné směsi pro dojnice v podniku 1 o obsahu 968 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva, mnohem rizikovější je obsah 924 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva v podniku 2 v jetelotravní senáži.

Graf 2. Procentuální podíl nadlimitních vzorků podle jednotlivých krmiv



Námi zjištěné hodnoty potvrzují zveřejněné výsledky Výzkumného ústavu pícninářského v Troubsku u Brna, z roku 2005, kdy byly zveřejněny výsledky vyšetření objemných krmiv na obsah mykotoxinů, s 93 až 100% pozitivitou na kontaminaci mykotoxiny, Tabulka 21.

Tabulka 21. Průměrné koncentrace mykotoxinů v sušině různých typů objemných krmiv (v ppm, tj. mg/kg) Nedělník a Moravcová (2005)

	AF	T-2	FUM	DON	ZEA	pozitivní vzorky %
Vojtěšková siláž	0,0035	0,176	0,050	0,500	0,577	100
Kukuřičná siláž	0,0014	0,260	1,870	0,960	1,377	96
Jetelotravní siláž	0,0028	0,242	0,470	0,630	0,179	100
Travní siláž	0,0024	0,207	1,110	0,550	1,197	93
GPS Ječmen	0,0024	0,163	1,130	1,370	0,500	100

Gareis (2005) shrnul studie z několika zemí v rámci Evropské unie a zjistil, že pozitivita vzorků pro DON je více jak 50%, další z nejčastěji diagnostikovaných mykotoxinů v EU je ZEA a T-2 (Tabulka 22). Obdobně uvádí Devegowda a Castaldo (2000) DON a ZEA jako hlavní kontaminanty krmiv ve střední a západní Evropě, navíc přikládá význam OTA. V námi vyšetřovaných vzorcích, byl též nejvyšší hladiny u Deoxynivalenolu a to až o hodnotě 1329 µg/kg, Tabulka 23.

Tabulka 22. Výskyt ZEA, T-2, DON v rámci zemí EU (Gareis, 2005)

	Počet zúčastněných zemí	Počet analyzovaných vzorků	Pozitivní vzorky %
ZEA	9	5018	32
T-2	8	3490	20
DON	11	11 022	57

Tabulka 23. Hodnoty mykotoxinů ve vzorcích krmivu sledovaných stád dojnic.

(µg/kg)	Celkem			Podnik 1			Podnik 2		
	ZEA	T-2	DON	ZEA	T-2	DON	ZEA	T-2	DON
max.	604,00	968,00	1329,00	604,00	968,00	805,00	290,00	924,00	1329,00
min.	25,00	8,00	105,00	25,00	9,00	105,00	28,00	8,00	107,00
průměr	86,63	165,76	505,49	105,60	207,50	393,40	86,50	141,86	561,36

Pokusně bylo odebráno i několik vzorků sena a zavadlé jetelotravní píče před senážováním. I v těchto vzorcích byl nalezen ZEA v rozmezí 25 až 129 µg/kg krmiva a T-2 od 8 do 120 µg/kg krmiva, na DON tyto vzorky nebyly vyšetřovány. Je zřejmé, že hlavní původ mykotoxinů v krmivu pro dojnice je v kukuřičných silážích, jetelotravních senážích a jadrných krmných směsích. Seno a krmná sláma přidávána v malém množství, obsahují v porovnání s kukuřičnými silážemi malá množství mykotoxinů a mimoto jsou tato krmiva přidáván pouze v řádech několika kilogramů což je vzhledem k celkovému objemu krmiv jako zdroj mykotoxinů zanedbatelné.

Anorexie, reprodukční poruchy, gastrointestinální eroze, snížení užitkovosti to jsou společné indicie pro kontaminaci krmiva fusariovými mykotoxiny (D’Mello a kol., 1999). T-2, DON, ZEA a jiné mykotoxiny jsou příčinou snížení mléčné užitkovosti, občasného výskytu klinických symptomů mykotoxikóz a ojediněle i úhynu dojníc v chovech dojeného skotu v severovýchodním Polsku, v oblastech přírodními podmínkami těm českým velice podobných (Obremski a kol., 2009), Tabulka 24.

Tabulka 24. Výskyt mykotoxinů v krmivech pro dojnice v Polsku (Obremski a kol., 2009)

Druh krmiva	Obsah mykotoxinů (µg/kg)		
	ZEA	T-2	DON
Krmmná směs	220	240	3 160
Seno	50	771	-
Travní senáž	-	134	50
Kukuřičná siláž	50	220	70

Hodnoty hladin a procento pozitivních vzorků vyšetřených na námi sledované mykotoxiny odpovídá literárním údajům a neliší se od výskytu srovnatelných klimatických oblastí v Evropě nebo ve světě. Výskyt mykotoxinů je ukazatelem kvality krmiv, i když do určité míry se na jejich výskytu podílí klimatické podmínky a vývoj počasí v konkrétním sklizňovém roce. V Německu byla 96% pozitivita vzorků na ZEA v roce 1998, v letech 1993 až 1995 dosahovala pozitivita vzorků maximálně 38% (Driehuis, 2013). V našich vzorcích byly nejvyšší hodnoty obsahu mykotoxinů v krmivech z podzimní sklizně roku 2007 a to v kukuřičné siláži.

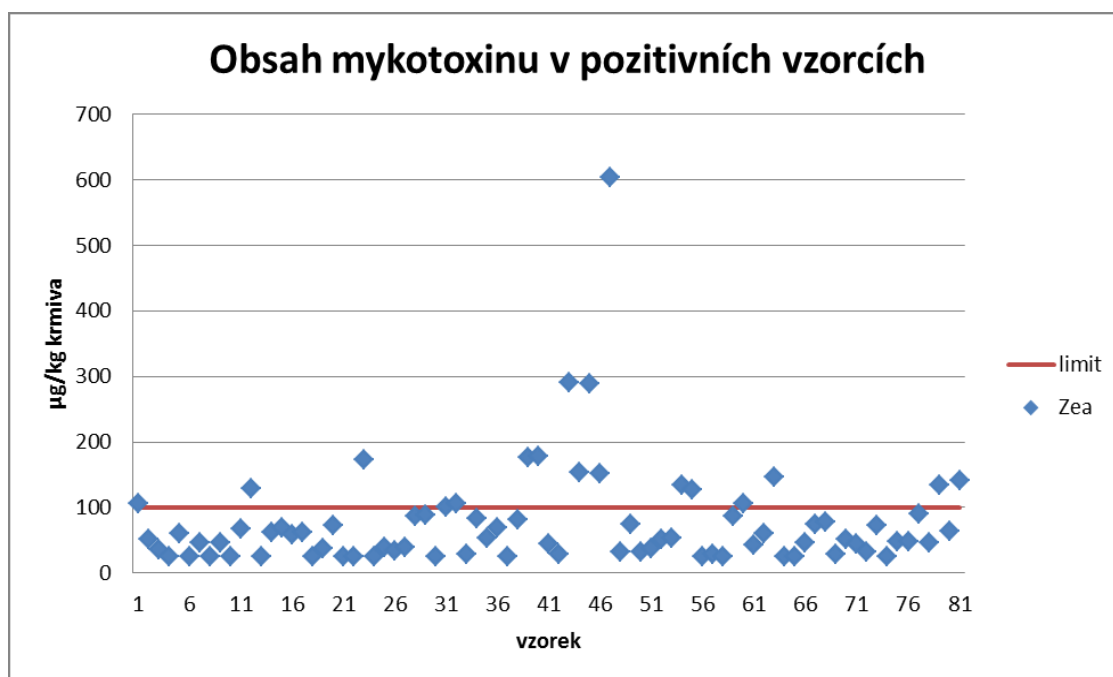
Při zkrmování krmiv o vysokém obsahu jakéhokoliv mykotoxinu, dochází díky kombinaci s ostatními složkami krmné dávky k „naředění“ a tím poklesu celkového přijatého množství mykotoxinu. Důležitým faktorem je i vzájemná kombinace mykotoxinů, případně synergistické působení, u námi vyšetřených vzorků které byly vyšetřovány souběžně nejvíce na dva mykotoxiny, pokud byla nalezena vysoká hladina např. ve vzorku kukuřičné siláže odebrané v listopadu 2007, u ZEA byl naměřen obsah 604 µg/kg krmiva a ve stejném vzorku byla hladina T-2 pouze 32 µg/kg krmiva. Ve vzorku jetelotravní senáže odebrané v září 2007 byla zjištěna hladina T-2 664 µg/kg krmiva, u ZEA pouze 82 µg/kg krmiva.

5.1.1. Zearalenon

V námi odebraných vzorcích byla nalezena maximální hodnota pro ZEA 604 µg/kg krmiva, bylo to v kukuřičné siláži podnik 1, sklizeň podzim 2006, odběr vzorku

listopad 2007. Nejvyšší hodnota v krmivu na podniku 2, byla nalezena v jetelotravní senáži a dosahovala hodnoty 290 µg/kg krmiva, vzorek byl odebrán v lednu 2009. Průměrná hodnota z vyšetřovaných vzorků na obsah ZEA byla 86,63 µg/kg krmiva, přičemž za mezní je udávána hladina 100 µg/kg krmiva. Tato hodnota byla překročena v 20,5 % případů z vyšetřovaných vzorků v podniku 1a u 23,8 % z testovaných vzorků v podniku 2, viz Graf 3.

Graf 3. Zearalenon v krmivech ve sledovaných podnicích a vzorky vykazující nadlimitní hodnoty



Podle obsahu mykotoxinů v jednotlivých hlavních složkách krmiv, lze spočítat denní příjem čistého mykotoxinu na ks a den.

Výpočet absolutního přijatého množství ZEA dojnící prostřednictvím objemných krmiv za den. Zearalenon (podnik 1, červenec 2008):

- kukuřičné siláži 604 µg/kg krmiva22 kg/ks/den
- jetelotravní senáž 152 µg/kg krmiva.....14 kg/ks/den

$$X = 22 \times 604 + 14 \times 152$$

$$X = 15\,432 \text{ µg/ks/den} \dots \text{ tj. } \underline{15,43 \text{ mg /ks/den}}$$

Reed a Moore (2009) zkompletovali údaje z několika studií o výskytu a účincích ZEA a DON na zdraví a reprodukci přežvýkavců v pastevním porostu a travních

senázích jihovýchodní Austrálie. I v jejich studii byl více jak nadpoloviční počet vzorků pozitivní jak na ZEA tak DON, a oba tyto mykotoxiny byly označeny za původce infertility. V roce 1999 byly pastevní porosty z 93% pozitivní na ZEA a u 37% vzorků přesahovaly hodnoty ZEA limit 1,0 mg/kg krmiva v sušině.

Obsah ZEA v travních porostech stoupá ke konci vegetačního období, zvláště je nalézán při podzimní sklizni a senážování travních porostů, nejvíce jsou vnímavé druhy: ovsík vyvýšený (*Arrhenateum elatius*) a srha říznačka (*Dactylis glomerata*). Nejvyšší hodnoty dosahují koncem podzimu (až 145,7 mg/kg/rostlin) (Skládanka a kol., 2009; Golinski a kol., 2006). V našich vzorcích byl nalezen nejvyšší výskyt právě v kukuřičné siláži sklizené na podzim 2007 v podniku 1 a v podniku 2 jetelotravní senáži sklizené podzim 2008, o hodnotě 290 µg/kg krmiva.

ZEA je celosvětově sledovaným mykotoxinem, jeho koncentrace se liší dle oblasti, roku sklizně a vyšetřované komodity. Přesto např. v Německu jsou zjišťovány hodnoty až 1,79 mg/kg krmiva, v Argentině jsou pozitivní vzorky o obsahu až 3,06 mg/kg krmiva v objemných krmivech pro skot (Zinedine a kol., 2007), k těmto hodnotám jsme se v našich vzorcích na štěstí ani nepřiblížili.

Na základě výzkumu metabolismu ZEA in vivo bylo zjištěno, že zatímco jiné mykotoxiny, např. DON jsou bachorovou mikroflórou degradovány, tak ZEA je metabolizován na pět produktů, z nichž α -zearalenol (zeranol) má násobně vyšší biologickou účinnost, tento efekt je o to výraznější pokud se nachází v kombinaci s T-2. Efekt účinku ZEA se ještě umocňuje, pomalým vylučováním a enterohepatální cirkulací (D'Mello a kol., 1999). ZEA a jeho derivát α -zearalenol in vitro zabraňují maturaci oocytů, narušují steroidogenesi, tím výrazně narušují ovariální cyklus (Minervini a Dell'Aquila, 2008). Dochází k rozvoji estrogenního syndromu s hyperplazií děložní sliznice, otoky vulvy a mléčné žlázy, atrofii ovarií, abortům (Binder, 2007), podílí se tak na vyšším výskytu reprodukčních onemocnění a zhoršení reprodukčních ukazatelů. Kiessling a kol. (1984) zjistili, že 90 až 100% ZEA je metabolizováno na α -zearalenol bachorovou mikroflórou. Pokud tomuto jevu chceme zabránit je přídavek *Saccharomyces cerevisiae* schopen degradovat až 80% z původního množství ZEA (Devegowda a Castaldo, 2000). Různé typy jílu jako monmorilonit váží 108 mg/g přidaného doplňku ZEA (Ramos a kol., 1996). Aktivní uhlí dokáže navázat až 100% přijatého ZEA, ale bohužel působí velmi neselektivně i na ostatní esenciální složky potravy (Zinedine a kol., 2007).

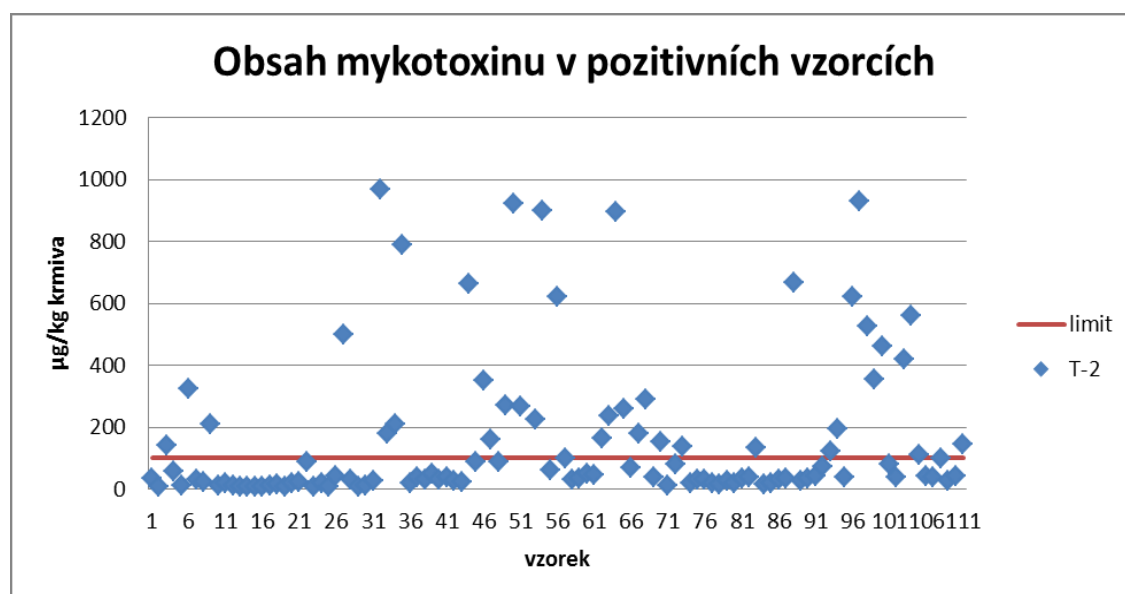
Při zkrmování krmiva o obsahu 13 až 22 ppm ZEA poklesla koncepce o 25%

(Weaver a kol., 1986). Přídavek ZEA do krmiva v koncentracích od 385 do 1982 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva po dobu jednoho týdne, může vést k poklesu mléčné užitkovosti, přesto při krátkodobém podávání nebyl tento efekt statisticky průkazný (Yiannikouris a Jouany, 2002).

5.1.2. T-2 toxin

Nejvyšší hodnota T-2 o hodnotě 968 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva, byla nalezena v krmné směsi pro skot v podniku 1, jednalo se o směs, která ředěním s objemnými krmivými v rámci přípravy TMR, ve výsledku ovlivní celkovou hladinu T-2 poměrně málo. V podniku 2 bylo nalezeno nejvíce T-2 v jetelotravní senáži sklizené v pozdním létě 2007 a vzorkované v květnu 2008, zjištěná hodnota byla 924 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva. Další nejvyšší hodnoty T-2 byly zachyceny v kukuřičné siláži v podniku 1 ze sklizně 2006, o hladině 900 a 896 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva. Průměrné hodnoty T-2 byly 207,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva v podniku 1 a 141,86 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva v podniku 2. Nejvíce nadlimitních vzorků (při limitní hranici 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ krmiva) bylo nalezeno ve výsledné TMR. V podniku 1 ve 37,9% ze všech vyšetřených vzorků přesahovaly zjištěné hodnoty mezní limit a v podniku 2 tomu bylo ve 34% z vyšetřovaných vzorků, Graf 4.

Graf 4. T-2 toxin v krmivech sledovaných podniků a vzorky vykazující nadlimitní hodnoty



Výpočet absolutního přijatého množství T-2 dojnící prostřednictvím objemných krmiv za den. T-2 toxin (podnik 2, květen 2008):

- jetelotravní senáž 924 µg/kg krmiva14 kg/ks/den
- kukuřičná siláž 88 µg/kg krmiva.....22 kg/ks/den

$$X = 14 \times 924 + 22 \times 88$$

$$X = 14\,872 \text{ µg/ks/den ... tj. } \underline{14,87 \text{ mg/ks/den}}$$

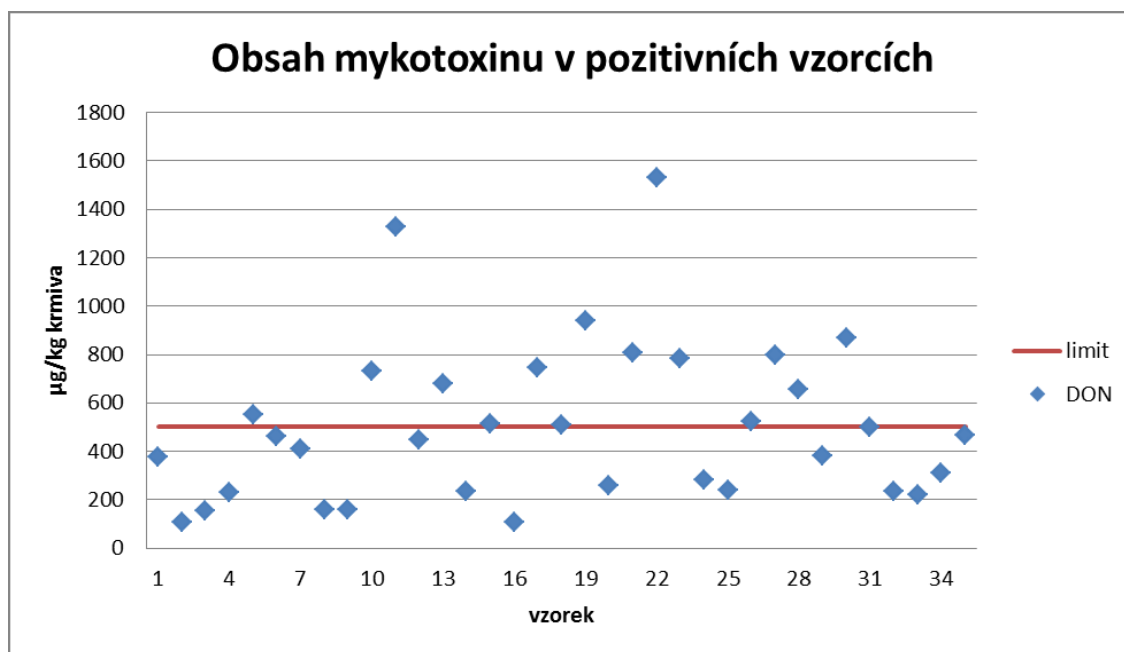
T-2 je nejvíce nebezpečným trichothecenem, co do rizika akutní toxikózy. Působí změny v krevním obraze, klesá obsah erytrocytů i leukocytů, především T lymfocytů, klesá obsah anorganického fosforu (P) a hořčíku (Mg) v krvi, klesá i hladina krevního cukru. Klinicky se T-2 toxikóza projevuje sníženým příjmem krmiva, zastavením růstu, dermatitidami mulce a mukokutánních přechodů (D'Mello a kol., 1999). Zkrmování kontaminovaného krmiva T-2 o obsahu 1 mg/kg (1 ppm) vede ke vzniku hemoragického syndromu skotu (Hsu a kol., 1972).

T-2 toxin může způsobit infertilitu, a ojediněle i potraty, pokud dojde k jeho vysokému výskytu v poslední třetině březosti (D'Mello a kol., 1999; Weaver a kol., 1986). Klinické projevy jako tvorba ulcerací v bacheru a enteritidy byly pozorovány při hladinách 640 µg/kg (Obremski a kol., 2009), hladiny vyšší než 640 µg/kg byly zjištěny v 11 z testovaných vzorků krmiv, při těchto hladinách se již může projevit přímý toxický účinek T-2. V podniku 1 tomu bylo ve čtyřech případech u kukuřičné siláže, jedenkrát u finální TMR a v jednom případě u jetelotravní senáže a v jednom vzorku krmné směsi, v podniku 2 byla nejvyšší hladina v jetelotravní senáži, odběr vzorku duben 2010.

5.1.3. Deoxynivalenol

Deoxynivalenol byl nalezen v největším množství (1329 µg/kg krmiva) ve vzorku z kukuřičné siláže odebraném v podniku 2 v dubnu 2010, jednalo se o kukuřici sklizenou koncem léta 2009. V podniku 1 byl nejvyšší záchyt (805 µg/kg krmiva) DON též ve vzorku kukuřičné siláže a to ve vzorku odebraném v lednu 2011, sklizeň 2010. Průměrný obsah ve vyšetřovaných vzorcích v podniku 1 byl 393,4 µg/kg krmiva a v podniku 2 byl průměrný obsah ve vyšetřovaných vzorcích 561,36 µg/kg krmiva. Obsah DON ve vzorcích krmiva je znázorněn v Grafu 5.

Graf 5. Obsah deoxynivalenolu ve vzorcích krmiv u sledovaných stád dojníc



Nejvíce napadeným krmivem byly v obou podnicích kukuřičné siláže, na druhém místě pak krmné směsi jejichž hlavní složkou jsou právě kukuřičné senáže u nich však dochází při přípravě TMR ke značnému naředění.

Výpočet absolutního přijatého množství DON dojnici prostřednictvím objemných krmiv za den. DON (podnik 2, duben 2009):

- kukuřičná siláž 1 329 µg/kg krmiva.....22 kg/ks/den
- jetelotravní senáž 512 µg/kg krmiva14 kg/ks/den

$$X = 22 \times 1\,329 + 14 \times 512$$

$$X = 36\,406 \text{ µg/ks/den ... tj. } 36,4 \text{ mg/ks/den}$$

DON je čteně nalézán v kukuřici, kukuřičné siláži a travních senážích, při opravdu vysokých koncentracích způsobuje zánětlivá onemocnění typu mastitidy a laminitidy (Fink-Gremmels, 2008). Kontaminace objemných krmiv fusarií a jejich toxiny, vede k nižšímu příjmu krmiva, zhoršené utilizaci krmiv a přispívá k acidóze bachorového obsahu. Výsledkem je úbytek tělesné hmotnosti, pokles mléčné užitkovosti a mírný průjem s vyšším obsahem nestrávené vlákniny ve stolici (Escoula, 1992).

Přítomnost DON v krmivu pro skot, se projeví sníženou užitkovostí, nižším zájmem o příjem krmiva a to již při hodnotách 10-20 mg/kg krmiva (Osweiler, 2000).

Výše snížení příjmu krmiva koreluje s poklesem mléčné užitkovosti (Jouany a Diaz, 2005). DON při dávce 31 mg/100 kg tělesné hmotnosti dojnice, a při podávání po dobu tří týdnů, se neprojeví sníženým příjmem krmiva, ani sníženou mléčnou produkcí, ani změnami složek mléka (Ingalls, 1996). Jiná studie z USA a Kanady, naopak upozorňuje na pokles mléčné užitkovosti a zvýšení počtu somatických buněk v mléce při dlouhodobém zkrmování napadeného krmiva. Statisticky významný pokles byl zaznamenán při hladinách DON mezi 2,6 až 6,5 mg/kg krmiva (Charmley a kol., 1993; Jouany a Diaz, 2005). Těchto hladin obsah mykotoxinů v námi testovaných krmivech nedosahoval. Klesá obsah plazmatického proteinu, albuminu, vápníku a fosforu, mohou být narušeny renální funkce (D'Mello a kol., 1999). Charmley a kol. (1993) popisují, že DON stejně u skotu tak u jiných hospodářských zvířat již při dávkách 1 až 11 mg/kg krmiva, může navodit anorexii, podmínkou je dlouhodobé zkrmování narušených krmiv mykotoxiny.

Při předkládání krmiva o obsahu 2 600 až 6 500 µg/kg dojnícím, došlo k poklesu mléčné produkce o 13% (Charmley a kol., 1993). V námi sledovaných podnicích takto extrémní hodnoty nalézány nebyly (nejvyšší hladina 1,3 mg/kg krmiva) a ani se nedá v porovnání s literaturou předpokládat negativní vliv na celkovou mléčnou užitkovost.

5.2. Četnost zdravotních poruch u sledovaných stád dojnic

Četnost zdravotních poruch u sledovaných stád dojnic, které vyžadovali veterinární ošetření bylo zaznamenáno v průměru za každý měsíc na jednotlivých farmách viz Tabulka 25, pro porovnatelnost byly údaje převedeny na počet případů na 100 kusů a 1 měsíc. Podnik 1 se věnuje chovu dojnic plemene české červenostrakaté zatímco podnik 2 chová dojnice plemene holštýnského. Podnik 1 hospodaří v nižší nadmořské výšce a v příznivějších klimatických podmínkách než podnik 2. Dojnice kombinovaných plemen, sice nedosahují tak vysoké mléčné užitkovosti jak dojnice holštýnské, na straně druhé jsou méně vnímavé k onemocněním, Graf 6.

Tabulka 25. Počet léčených dojnic v měsíci, přepočteno na 100 ks, podle jednotlivých kategorií onemocnění

Podnik	Ml. žláza	Metabolismus	Reprodukce	Končetiny	Jiná	Celkem
Podnik 1	2,19	0,49	2,40	1,07	0,08	6,23
Podnik 2	2,49	0,20	2,28	2,18	1,00	8,11

Graf 6. Porovnání podniku 1 a 2 podle jednotlivých kategorií onemocnění dojníc.



V podniku 2, věnujícímu se chovu dojníc holštýnského plemene dochází častěji k onemocněním mléčné žlázy, končetin, ale i jiným. Celková průměrná nemocnost je vyšší než u podniku 1, kde je chován Český strakatý skot. Holštýnské vysoce užitkové dojnice jsou vnímavější ke zdravotním poruchám, než dojnice červenostrakaté. V podniku 1 byly řešeny v průměru 2,4 reprodukční problémy za měsíc, nejčastěji se jednalo o retenci sekundin. 2,19 případů klinických mastitid zhruba 1 kulhající dojnice. V podniku byly nejčastěji řešeny mastitidy v průměru 2,49 případů za měsíc na 100 ks, druhé nejpočetnější onemocnění byly reprodukční poruchy tj. nejčastěji retence sekundin a poporodní endometritidy, 2,28 případů za měsíc na 100 ks. Třetí kategorií co do počtu zdravotních poruch vyžadujících zásah veterinárního lékaře byly kulhající dojnice, v průměru 2,18 ks/měsíc, viz Tabulka 25 a Graf 6.

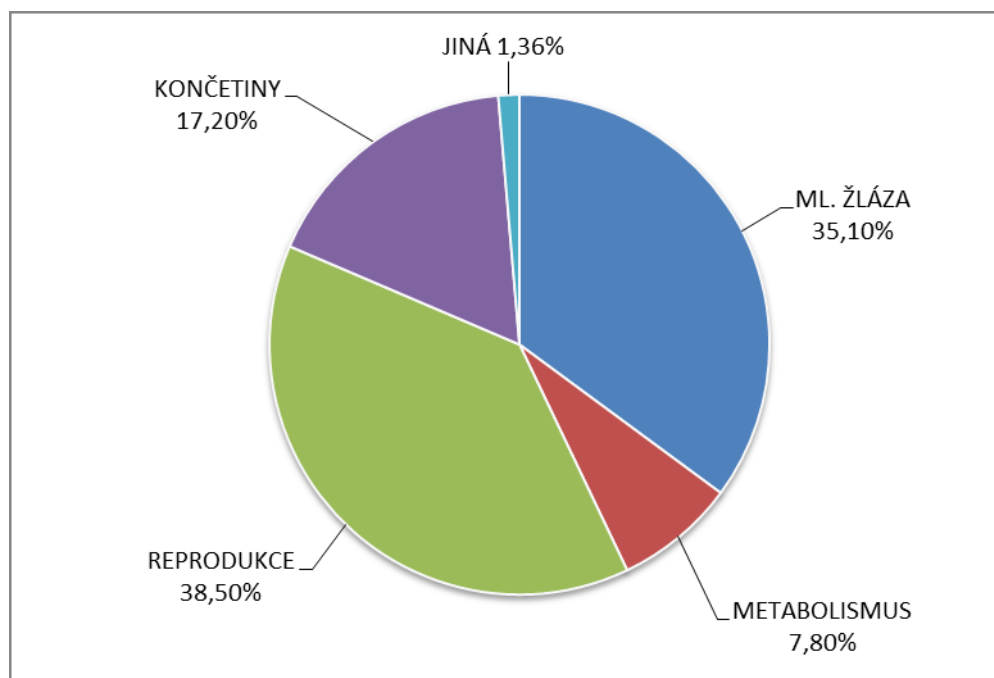
Tabulka 26. Zastoupení jednotlivých kategorií onemocnění z celkového počtu nemocných dojníc v %

Podnik	Ml. žláza	Metabolismus	Reprodukce	Končetiny	Jiná
Podnik 1	35,10	7,80	38,50	17,20	1,36
Podnik 2	31,10	2,33	28,00	26,67	11,90

V obou podnicích jsou hlavním problémem onemocnění mléčné žlázy a reprodukční poruchy, což odpovídá i údajům z literatury (Fourichon a kol., 1999), mastitidy a reprodukční poruchy jsou nejpočetnější skupinou onemocnění dojníc.

Zadržená placenta, metritidy a syndrom ovariálních cyst se logicky nejvyšší měrou podílí na zhoršení reprodukčních ukazatelů. Aborty, poporodní ulehnutí, dislokace slezu nebo mastitidy se sice projeví zvýšením nákladů, ale reprodukční ukazatele negativně neovlivňují. Četnost zastoupení jednotlivých onemocnění v podniku 1 uvádí Graf 7.

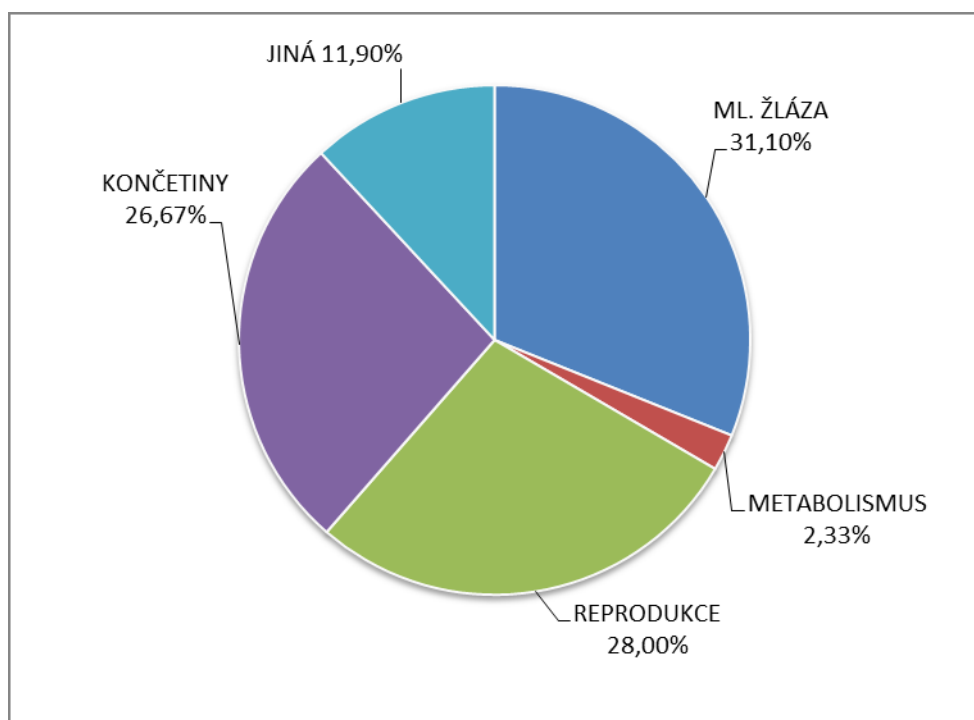
Graf 7. Zastoupení jednotlivých kategorií onemocnění v podniku 1 (2008 – 2013) v %



Nejpočetnější skupinou onemocnění dojnic, vyžadující veterinární ošetření byla v podniku 1 reprodukční onemocnění. Zahrnovala 38,5% ze všech případů. Druhou nejvíce početnou skupinou byla onemocnění mléčné žlázy s 35,1% z celkového počtu ošetření. Onemocnění kategorie jiná, zahrnují zdravotní poruchy jako respirační nemoci, onemocnění očí, kožní problémy, čítá nejmenší skupinu, do pouhých 1,36 % z celkového počtu nemocí.

V podniku 2 byla nejčastěji řešena onemocnění mléčné žlázy a to v 31,1 % případů, druhou nejpočetnější skupinou byly poruchy reprodukce a 3. nejvíce početnou skupinou byla onemocnění končetin. Onemocnění jiná čítala na 11,9% z celkového počtu případů, bylo to především v důsledku častého výskytu onemocnění respiračního aparátu v podniku 2. Procentuální zastoupení nemocí je znázorněno v Grafu 8.

Graf 8. Zastoupení jednotlivých kategorií onemocnění v podniku 2 (2008 – 2013) v %



Stanovení vlivu zdravotních poruch na příjem krmiva a mléčnou užitkovost bylo předmětem studie Bareille a kol. (2003), jednotlivá onemocnění byla rozdělena do kategorií, zda šlo o onemocnění mléčné žlázy, dělohy či metabolická. Sledována u skupiny dojnic v prvních 140 dnech laktace určených jako období nejvyšší zátěže. Na základě 107 328 denních záznamů z 1 050 laktací 551 dojnic, byly stanoveny vzájemné vztahy mezi skupinou onemocnění, denním příjmem krmiva a ml. produkcí. V den diagnózy onemocnění se již projeví pokles nádoje o 4,1 až 25,7 kg/ks/den (diarhea, klinická mastitida, ketóza, poporodní ulehnutí), zároveň dochází k poklesu příjmu krmiva mezi 6,7 až 14,7 kg/den. Za celou laktaci dochází ke ztrátám od 109 do 160 l mléka na dojnici. Nejvíce ztrát na mléce bylo způsobeno mastitidami, poraněním struků, otokem vemene - až 48 litrů mléka do uzdravení, ztížený porod, zadržené lůžko, poporodní metritida - ztráta až 46 litrů mléka, ketóza, poporodní ulehnutí - 64 litrů mléka na dojnici, laminitidy, pododermatitidy - ztráta 48 litrů mléka. Negativní dopad se samozřejmě prohlubuje při kombinaci onemocnění. Beaudeau a kol. (2000) sestavili jakýsi žebříček statistické pravděpodobnosti vyřazení dojnice z chovu podle typu onemocnění, od nejvíce pravděpodobného důvodu: mastitida → dislokace slezu → pohybové potíže → onemocnění struků → ketóza → vysoký počet SB → aborty → až po další méně častá onemocnění.

LeBlanc a kol. (2002) se zabývali výzkumem výskytu endometritid v poporodním období u dojnic. Dospěli k závěru, že při 16,9% incidenci klinických endometritid se při důkladném vaginoskopickém vyšetření počet diagnostikovaných případů navýší až na 44%. Dojnice se skrytou neléčenou endometritidou bude o 27% později zpět zařazena do reprodukce a je u ní 1,7x vyšší pravděpodobnost vyřazení z důvodu reprodukčních problémů. Gilbert a kol. (2005) uvádí, že při podrobném cytologickém vyšetření endometria dojnic do 60 dní po porodu je výskyt endometritid od 37 do 74 %. Klesá reprodukční úspěšnost a stoupají náklady na léčbu.

V námi sledovaných podnicích reprodukční onemocnění tvořila 28 % v podniku 2 a 38,5 % v podniku 1 z celkového počtu onemocnění endometritidy byly spolu se zadržným lůžkem nejčastěji řešeným problémem v obou chovech. Fourichon a kol. (1999) naopak ve své studii uvádí, že *retentio secundinarum* se vůbec nemusí projevit snížením mléčné produkce. Ivemeyer a kol. (2012) se zaměřili na analýzu nejčastějších zdravotních poruch v chovech dojeného skotu v tzv. „*organic farms*“, nebo ekologických chovech dojnic. Použili též dělení na onemocnění mléčné žlázy, laminitidy (končetiny), metabolická onemocnění, reprodukční poruchy a vzhledem k zaměření práce přiřadil i poruchy chování. Uvádí, že na 66% onemocnění má příčinu v metabolických poruchách, 58% zahrnují onemocnění mléčné žlázy, 47 % laminitidy a reprodukční onemocnění na 39%.

Hlavním problémem i v ekologických chovech jsou mastitidy a laminitidy, problémy s reprodukcí jsou méně početné. Celková nemocnost vede ke snížení mléčné užitkovosti v průměru o 0,3 až 2,3 kg/ks/den. Kategoriemi, které se nejvíce podílí na poklesu užitkovosti jsou především reprodukční poruchy (retence sekundin, ztížený porod, metritida). Naopak syndrom ovariálních cyst (SOC) má neprůkazný vliv na mléčnou užitkovost. Metabolická onemocnění (ketóza, dislokace slezu) se mohou projevit poklesem užitkovosti od 3,5 do 10,9 kg/ks/den. Onemocnění končetin se mohou a nemusí projevit poklesem užitkovosti od 0,7 do 1,3 kg/ks/den (Fourichon a kol., 1999).

Často diskutovanou je otázka vzájemného vztahu kulhání a mléčné užitkovosti, kdy onemocnění končetin se projeví v 54 až 65% případů v prvních 100 dnech laktace. Ať jde o onemocnění rohoviny, chodidlový vřed, nemoci bílé čáry nebo jiný problém, vždy se zvýšený počet kulhajících dojnic ve stádě projeví poklesem nádoje a zhoršením reprodukčních ukazatelů (Olechnowicz a kol., 2011). Sogstad a kol. (2006) prokázal statisticky významný vztah mezi středně těžkým a silným kulháním a prodlouženou

servis periodou u dojnic. Na základě průzkumu Holzhouera a kol. (2006), zahrnují onemocnění končetin v produkčních chovech dojnic v Holandsku na 20 až 25% případů ze všech nemocných. Klinické projevy mohou být velmi výrazné, silné kulhání s nemožností zatížit končetinu, až po příznaky méně typické, jako je delší doba ležení, menší zájem o krmivo a nižší mléčná užitkovost. S počtem kulhajících zvířat, klesá mléčná produkce a zhoršují se reprodukční ukazatele, a na tyto problémy navazuje vyšší počet nutně vyřazených zvířat (Olechnowicz a kol., 2011). V důsledku kulhání se zhoršují i reprodukční ukazatele, jednak zhoršením kondice dojnic a pak i horší detekovatelností říjících se zvířat (Socha a kol., 2002).

5.3. Vliv hlinitokřemičitanového adsorbéru - Podnik 1

Vliv hlinitokřemičitého adsorbéru na nádoj a složky mléka v podniku 1 je uveden v Tabulce 27. Přídavek hlinitokřemičitého preparátu pozitivně ovlivňuje hladinu somatických buněk (PSB) v mléce ($p < 0,05$). Z průměrných 277,88 tis/ml v období bez podávání adsorbéru došlo k poklesu na 245,40 tis/ml v době s přídavkem hlinitokřemičitanu, Graf 9. Vliv na jiné složky mléka, jako mléčný tuk a mléčný protein, jakož ani na celkový nádoj se nepodařilo statisticky prokázat.

Tabulka 27. Vliv hlinitokřemičitého adsorbéru na nádoj a složky mléka - Podnik 1

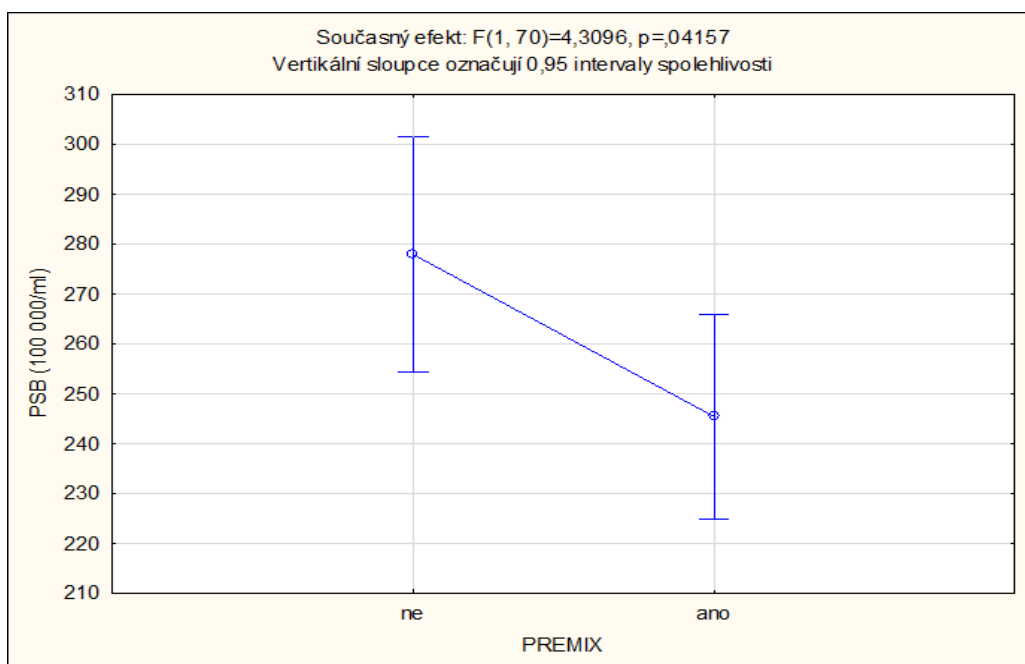
Proměnná	Celkem (N = 72)	Bez (N = 31)	S (N=41)
	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
Nádoj	2725,87 ± 414,57	2683,83 ± 444,00	2757,66 ± 393,26
Tuk	3,92 ± 0,13	3,92 ± 0,13	3,92 ± 0,13
Bílkovina	3,47 ± 0,10	3,47 ± 0,10	3,47 ± 0,10
PSB	259,38 ± 67,28	277,88 ± 77,32	245,40 ± 55,55*
Močovina	276,50 ± 42,09	285,92 ± 36,52	269,38 ± 44,98

(Bez = bez hlinitokřemičitanového adsorbéru, S = s přídavkem hlinitokřemičitanového adsorbéru; * $p < 0,05$ statisticky průkazné; průměrná data ± SD).

Ramos a kol. (1996) zjistili, že sodný bentonit, přírodní jíl užívaný v peletovaných krmivech, je účinný na AF a velmi slabě na ZEA, nivalenol a OTA, to se projevuje úbytkem reprodukčních onemocnění, ale i pokles SB v mléce může být indicií o potlačení estrogenního účinku ZEA. Podle Huwiga a kol. (2001) dokáží hlinitokřemičité jíly svým selektivním účinkem potlačit negativní účinky i dalších fusariotoxinů a jejich přídavek se projeví potlačením jejich negativních účinků. Například negativní účinek T-2, který narušuje epitelie jak gastrointestinálního traktu i mléčné žlázy, může být jedním z původců zvýšení somatických buněk v mléce, zvláště pak pokud spolupůsobí s jiným

mykotoxinem, nejčastěji ZEA (Whitlow a Hagler, 2005).

Graf 9. Počet somatických buněk v mléce Podnik 1



Vliv hlinitokřemičitého adsorbéru na nemocnost dojnic v podniku 1 je uveden v Tabulce 28. V naší studii jsme prokázali statisticky významný vliv ($p < 0,05$) hlinitokřemičitého adsorbéru na celkové snížení onemocnění dojnic z 12,3 na 10,6 případů za měsíc v době podávání adsorbéru (Graf 10) a snížení metabolických onemocnění a disfunkci bacheru (MTB) z 1,16 případů za měsíc na 0,7 (Graf 11).

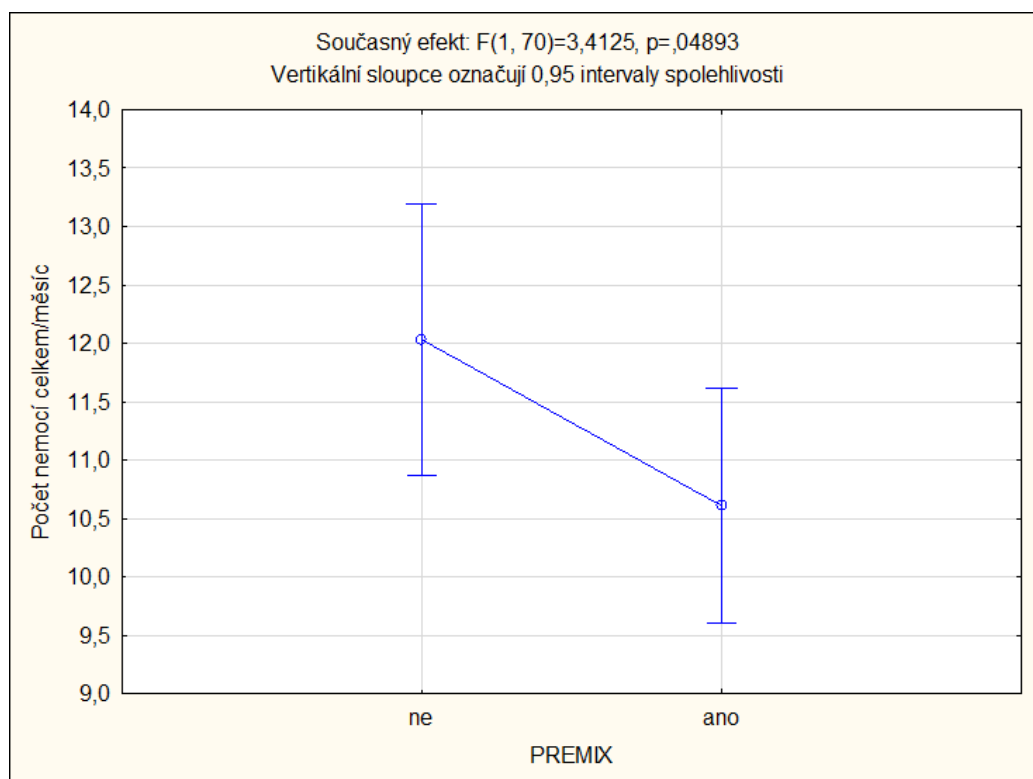
Tabulka 28. Vliv hlinitokřemičitého adsorbéru na nemocnost dojnic – Podnik 1

Proměnná	Celkem (N = 72)	Bez (N = 31)	S (N=41)
	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
Mléčná žláza	3,94 ± 1,43	3,99 ± 1,56	3,93 ± 1,35
MTB	0,88 ± 0,96	1,16 ± 1,07	0,66 ± 0,82*
Reprodukce	4,32 ± 1,84	4,55 ± 1,57	4,15 ± 2,03
Končetiny	1,93 ± 1,33	2,10 ± 1,40	1,81 ± 1,27
Jiná	0,15 ± 0,57	0,26 ± 0,82	0,07 ± 0,26
Celkem	11,22 ± 3,29	12,03 ± 3,32	10,61 ± 3,17*

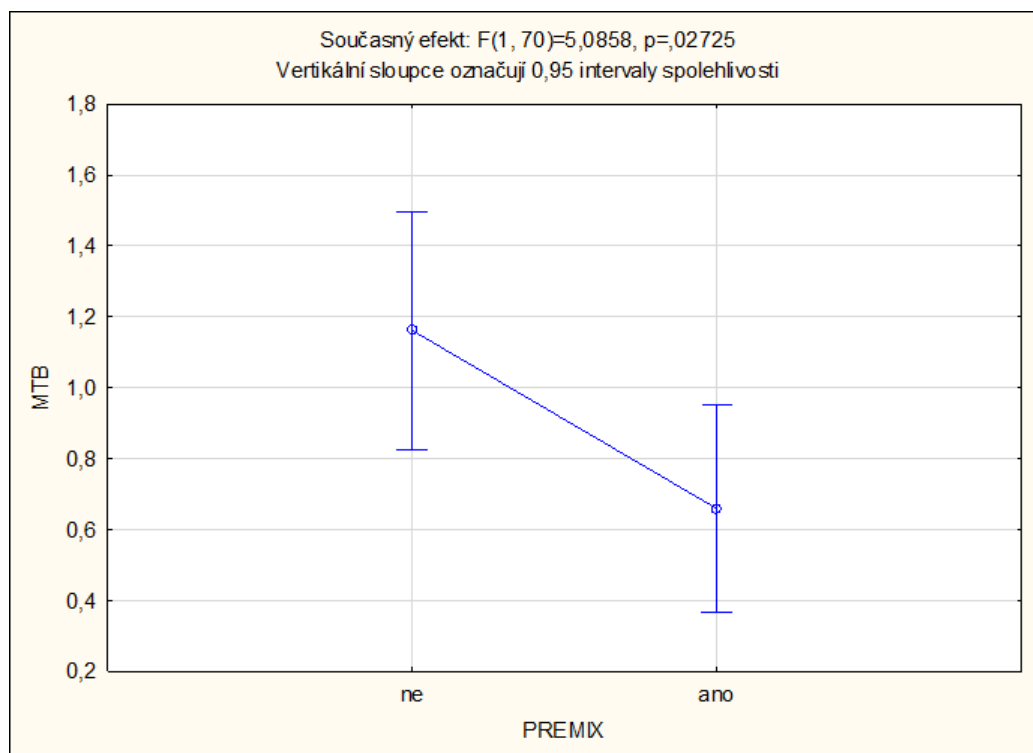
(Bez = bez hlinitokřemičitanového adsorbéru, S = s přidavkem hlinitokřemičitanového adsorbéru; * $p < 0,05$ statisticky průkazné; průměrná data ± SD).

Nejčastěji řešeným problémem byla jednoduchá bacherová indigesce, ojediněle se objevilo poporodní ulehnutí, onemocnění jako dislokace slezu nebo akutní acidóza bacherového obsahu se v podniku 1 prakticky nevyskytují.

Graf 10. Celkový počet onemocnění Podnik 1



Graf 11. Počet metabolických onemocnění Podnik 1



5.4. Vliv kvasinkového doplňku – Podnik 2

Na základě statistického vyhodnocení období, kdy byl přidáván do krmné směsi kvasinkový přípravek (5 g/ks/den) a obdobím bez přídatku, jsme zjistili statisticky významný ($p < 0,01$) pozitivní vliv kvasinkového přídatku na počet reprodukčních onemocnění ve sledovaném období, vychytávač má vliv na zvýšení obsahu bílkoviny v mléce, zároveň dochází k statisticky významnému poklesu počtu somatických buněk. V naší studii se nepodařilo prokázat vliv na nádoj, obsah tuku a močoviny v době přidávání kvasinkového doplňku s obsahem *Sacharomyces cerevisiae*, Tabulka 29.

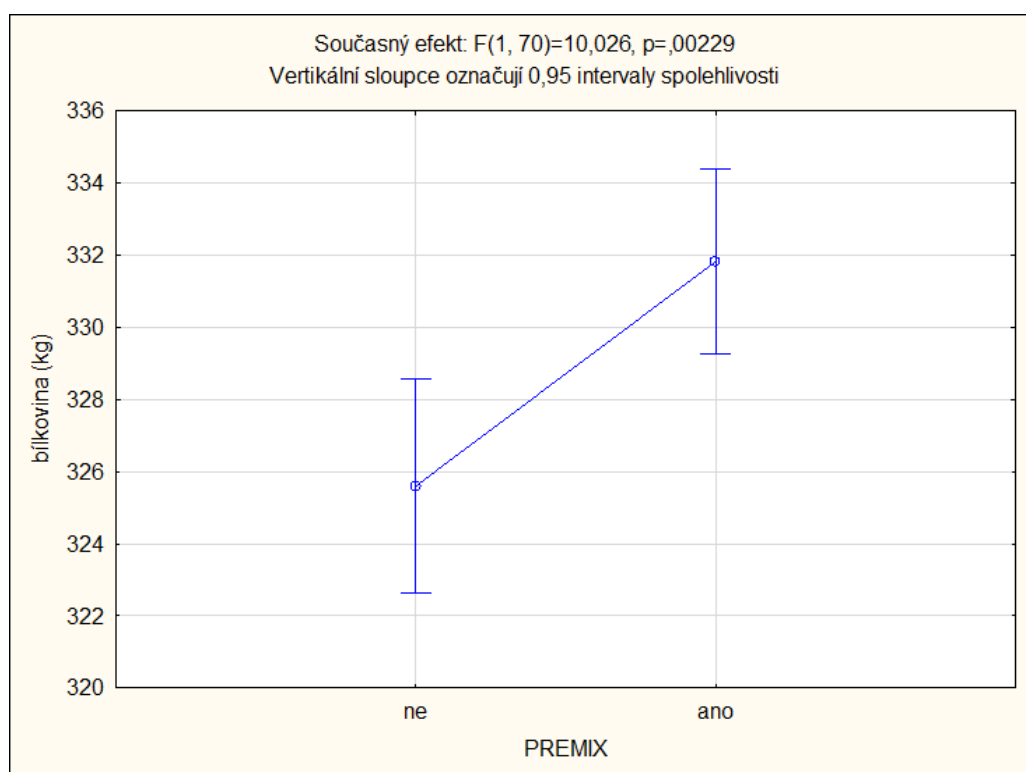
Tabulka 29. Vliv kvasinkového doplňku na nádoj a složky mléka - Podnik 2

Proměnná	Celkem (N = 72)	Bez (N = 31)	S (N=41)
	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
Nádoj	7262,84 ± 744,01	7373,08 ± 473,88	7182,16 ± 888,89
Tuk	372,89 ± 14,28	372,53 ± 13,68	373,16 ± 14,88
Bílkovina	329,14 ± 8,77	325,60 ± 8,00	331,82 ± 8,45**
PSB	325,18 ± 54,95	348,45 ± 63,22	307,58 ± 40,32**
Močovina	203,91 ± 36,05	204,51 ± 38,31	203,46 ± 34,72

(Bez = bez kvasinkového doplňku, S = s přídatkem kvasinkového doplňku; ** $p < 0,01$ statisticky vysoce průkazné; průměrná data ± SD).

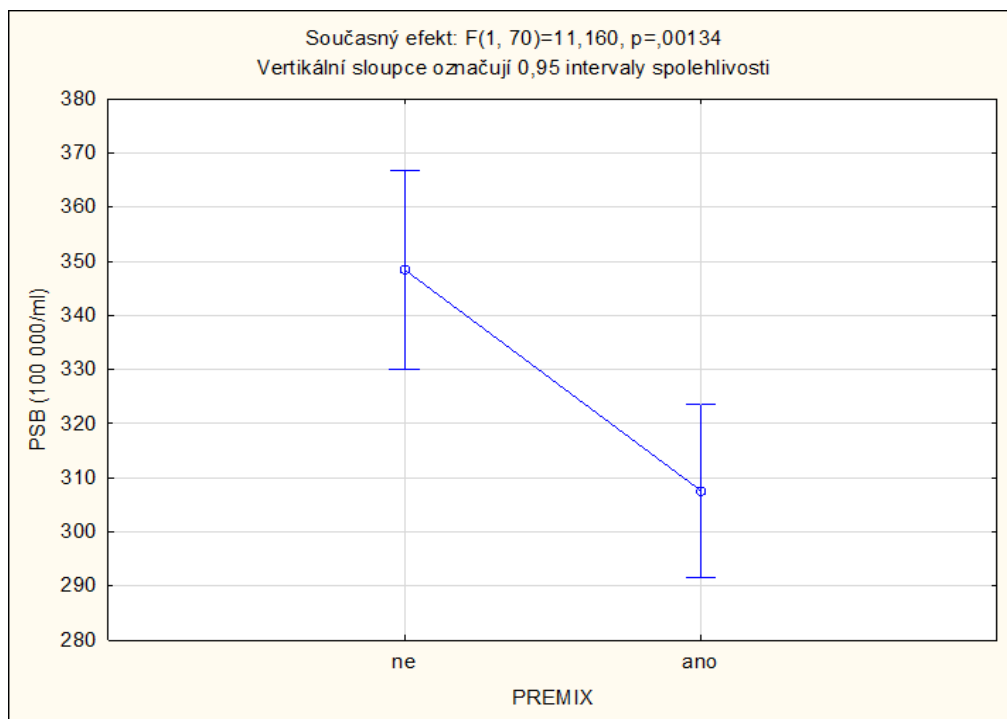
Přídavek kvasinky obsahujícího doplňku vede ke statisticky průkaznému zvýšení obsahu bílkovin v mléce (Graf 12). Nárůst byl z 325,6 na 331,8 kg (viz Tabulka 29). Mosoni a kol. (2007) při pokusu na kanylovaných ovčích krmených přídatkem živých kvasinek prokázali prokazatelně vyšší zastoupení celulólytických bakterií v bachorové tekutině, což vede k lepší stravitelnosti vlákniny. Na podobné studii u skotu Dawson a kol. (1990) prokázali celkově vyšší zastoupení anaerobních bakterií a až osminásobný nárůst populace bakterií celulólytických. Girard a Dawson (1994) zjistili, že některé specifické kmeny *Saccharomyces cerevisiae* podporují v růstu právě ty druhy bakterií, jež tráví vlákninu za produkce kyseliny jantarové a octové, která je následně využívána jako zdroj pro tvorbu mléčného tuku. Pozitivní vliv přídatku kvasinek potvrdil i Doležal a kol. (2005), dochází k navýšení tvorby těkavých mastných kyselin a vyšší využití amoniaku. Čím více je vytvořeno kyseliny octové, tím vyšší je obsah mléčného tuku (Bouška a kol., 2006; Kudrna a kol., 1998).

Graf 12. Bílkoviny v mléce Podnik 2



Při přidávání kvasinkového doplňku dojnícím došlo k poklesu celkového počtu somatických buněk v mléce z 348,45 na 307,58 (ve 100 000 ml) (Graf 13). Erasmus a kol. (1992) provedli studii zabývající se přidáváním kultury *Saccharomyces cerevisia* (10 g/den/ks) do krmiva dojnícím. Denní příjem krmiva byl zvýšen o 1,4 kg/ks/den. Produkce mléka stoupla o 1,1 kg/ks/den, poměr složek mléka se statisticky významně neprojevil. Obdobně Williams a kol. (1991) ve studii prokázali navýšení mléčné užitkovosti o 5 až 14%, to se nám bohužel prokázat nepodařilo, v naší studii nedošlo za použití krmného doplňku se *Saccharomyces cerevisiae* k navýšení mléčné užitkovosti. Došlo sice ke snížení onemocnění mléčné žlázy, poklesu počtu SB v mléce, ale na celkové tržnosti mléka se to nikterak neprojeвило. Ke stejným zjištěním dospěl i Kung a kol. (1996) a Schwartz a kol. (2009), kteří testovali pozitivní vliv přídatku kvasinek na zátěž spojenou s vysokou mléčnou produkcí, případně s teplotním stresem u dojníc a nepodařilo se jim prokázat pozitivní vliv ani na produkci mléka ani na obsah složek.

Graf 13. Počet somatických buněk v mléce Podnik 2



V Tabulce 30 je uvedený vliv kvasinkového doplňku na nemocnost dojnic v podniku 2. Při použití kvasinkového doplňku došlo k statisticky průkaznému poklesu onemocnění mléčné žlázy, končetin ($p < 0,01$), reprodukčních poruch, jiných nemocí a a k celkovému poklesu nemocnosti dojnic ($p < 0,05$). Nepodařilo se prokázat pozitivní vliv na pokles metabolických a bachorových onemocnění a u onemocnění kategorie jiné došlo dokonce v době skrmování k nárůstu výskytu případů. Největší měrou se na tomto jevu podílel nárůst onemocnění respiračního aparátu.

Tabulka 30. Vliv kvasinkového doplňku na nemocnost dojnic – Podnik 2

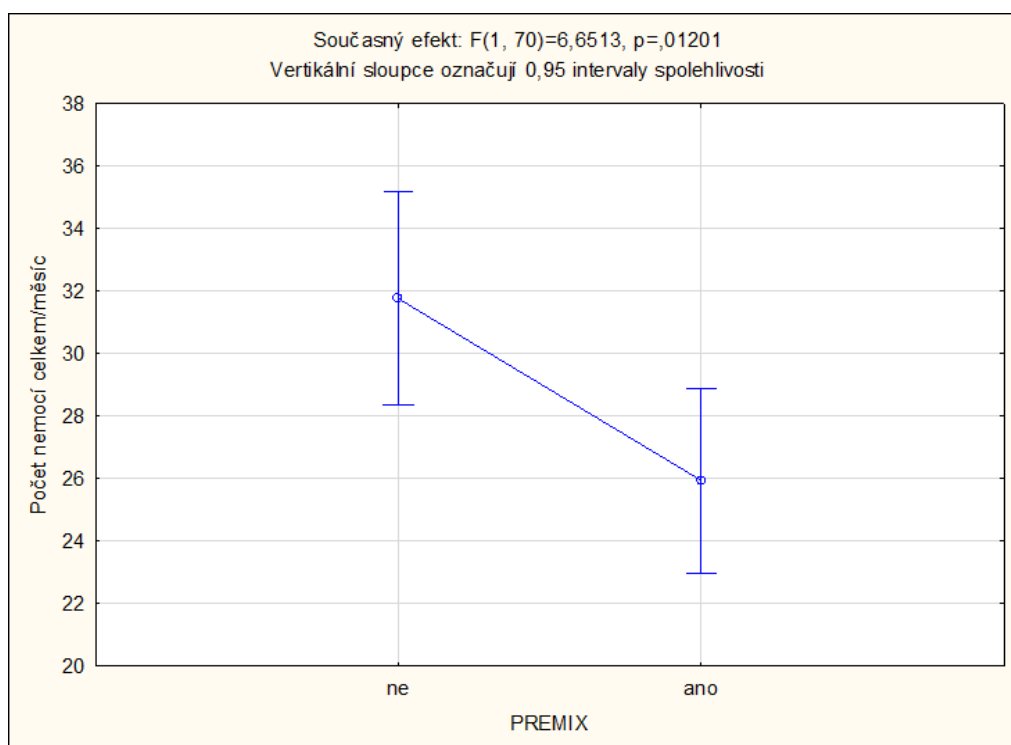
Proměnná	Celkem (N = 72)	Bez (N = 31)	S (N=41)
	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
Mléčná žláza	8,72 ± 5,15	10,55 ± 4,83	7,34 ± 5,00**
MTB	0,67 ± 0,93	0,65 ± 0,88	0,68 ± 0,99
Reprodukce	7,97 ± 3,97	8,97 ± 4,62	7,24 ± 3,25*
Končetiny	7,60 ± 4,54	9,00 ± 4,54	6,54 ± 4,29**
Jiná	3,49 ± 3,27	2,61 ± 3,37	4,15 ± 3,06*
Celkem	28,46 ± 9,86	31,77 ± 10,19	25,95 ± 8,92*

(Bez = bez kvasinkového doplňku, S = s přidáním kvasinkového doplňku; * $p < 0,05$ statisticky průkazné; ** $p < 0,01$ statisticky vysoce průkazné; průměrná data ± SD).

Girard (1994) a Guedes a kol. (2008) zjistili, že kvasinky zvyšují

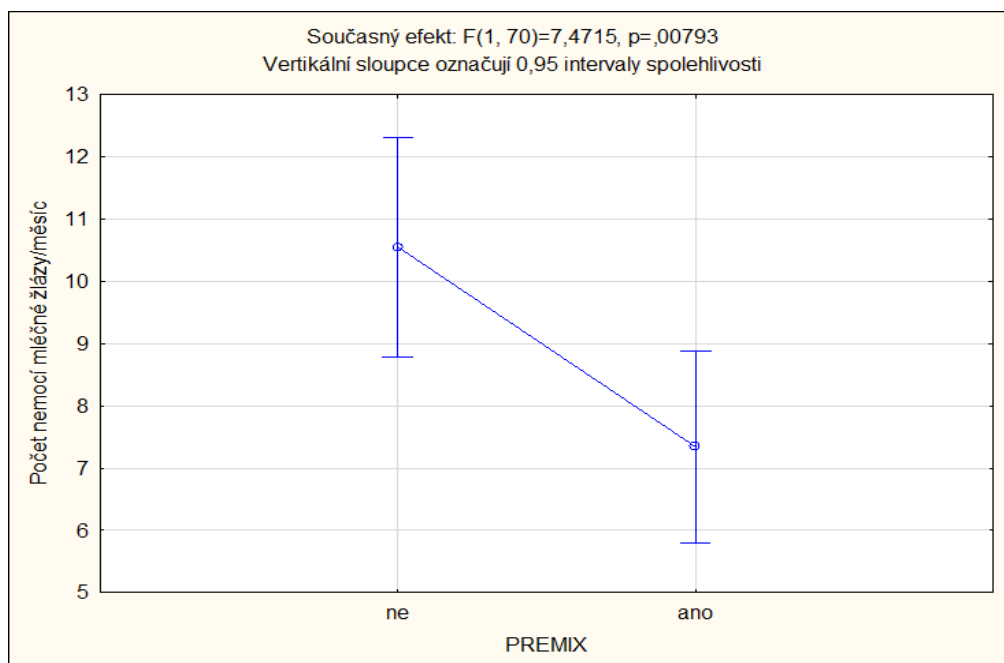
metabolizovatelnou energii a dokáží zvýšit glukogenický potenciál i u méně kvalitních siláží. Mimoto dochází k navýšení populací bakterií metabolizujících kyselinu mléčnou, což vede ke snížení kyselosti a stabilizaci pH bacherového obsahu. Tímto mechanismem může být docíleno nižšího výskytu bacherových a následně metabolických disfunkcí a na ně navazujících dalších zdravotních poruch (Patra, 2012). V našem pokusu se podařilo prokázat, že v období podávání kvasinek došlo k statisticky průkaznému poklesu celkového počtu onemocnění (Graf 14). Přidávání kvasinek do méně kvalitních, a nebo naopak vysoce koncentrovaných na vlákninu chudých krmiv se jeví jako přínosné pro stabilizaci bakterií bacherové mikroflóry a zamezení metabolických disfunkcí dojnic (Lascano a kol., 2009b).

Graf 14. Počet onemocnění celkem Podnik 2



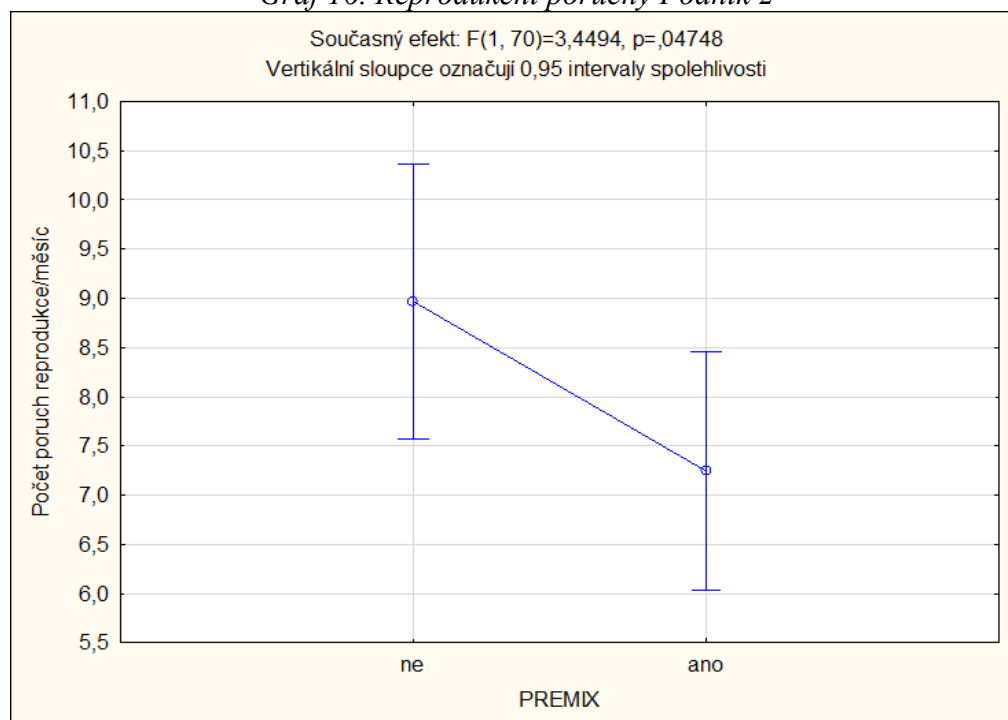
Počet případů onemocnění mléčné žlázy poklesl v období zkrmování kvasinkového doplňku z 10,6 na 7,3 ošetření vyžadujících případů z celkového počtu 350 dojnic (Graf 15). Nejčastěji byly řešeny klinické mastitidy s celkovým narušením zdravotního stavu postihující jednu až dvě čtvrtě mléčné žlázy a ve většině případů se jednalo o kaudální část vemene.

Graf 15. Počet nemocí mléčné žlázy Podnik 2



V období, kdy byl zkrmován kvasinkový doplněk poklesl statisticky významně počet reprodukčních poruch z 8,97 případů na 7,24 v období s přidavkem doplňku, při počtu 350 dojnic ve stádě, Graf 16 a viz Tabulka 30.

Graf 16. Reprodukční poruchy Podnik 2

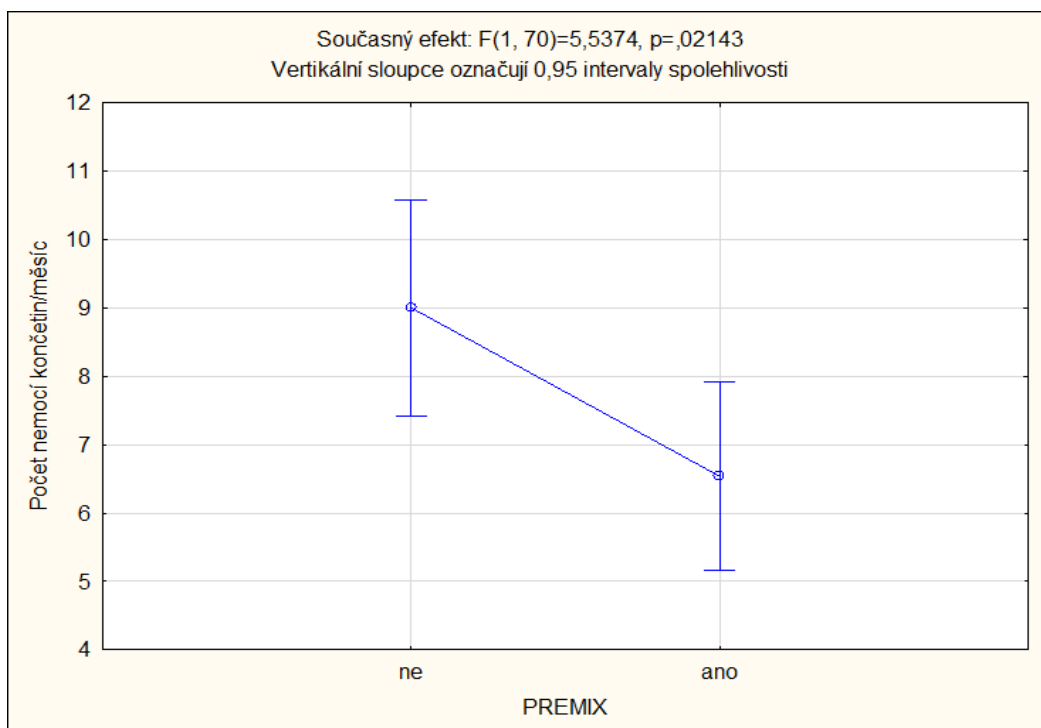


Nejčastěji bylo nutné řešit zadržanou placentu, poporodní endometritidy, ovariální

cysty se objevovaly ojediněle. V našem pokusu došlo k poklesu výskytu reprodukčních onemocnění, což může být způsobeno pozitivním vlivem přísady kvasinek jak pro stabilizační efekt na bachorové prostředí, tak i pro schopnost vázat některé typy mykotoxinů, např. T-2 toxin a ZEA, které jsou prokazatelně zodpovědní za vyšší výskyt reprodukčních poruch (Huszenicza a kol., 2000; Huwig a kol., 2001).

Průměrný počet zvířat trpících onemocněním končetin poklesl v období kdy byl přidáván kvasinkový doplněk o 2,46 případů měsíčně (při $n = 350$ ks dojnic) (Graf 17). Na zvýšeném výskytu kulhajících zvířat se mohou podílet především trichotheceny T-2 a DON, pro svůj epiteliotrpní účinek v případě T-2 i pro jeho ovlivnění endotelu a narušení permeability kapilár na koncovém článku prstu, vedoucí k rozvoji laminitidy. T-2 i DON narušují epitelie, tím i dermis meziprstí a celkovou imunosupresí otevírají bránu infekčním onemocněním končetin (D'Mello a kol., 1999; Whitlow a Hagler, 2005).

Graf 17. Počet onemocnění končetin Podnik 2



6. Souhrn

Cílem této práce bylo zhodnotit v průběhu šesti let vliv vybraných doplňků krmiv na snížení negativních účinků mykotoxinů na zdraví a užitkovost dojnic ve dvou vybraných podnicích podhorských oblastí jižních a západních Čech. Na základě literárních údajů byly vybrány mykotoxiny zearalenon, T-2 toxin a deoxynivalenol jako vzorové kontaminanty krmiv pro dojnice. Aflatoxiny, ochratoxiny, patulin a řada dalších z dnes asi 400 známých mykotoxinů jsou zmíněny v literárním přehledu, také mohou významně narušit zdraví dojnic, ale jsou diskutovány většinou s problémy ve výživě monogastričních zvířat a drůbeže a navíc není reálné vyšetřit krmiva na celé spektrum teoreticky přítomných mykotoxinů.

Zearalenon je mykotoxinem známým pro svůj estrogení potenciál, kompeticí s estrogenními receptory působí potíže v hypofyzoovariálním řízení ovariálního cyklu, estrogenizací pohlavních orgánů působí morfologické změny jako edematizace sliznice dělohy, pochvy a poševní sliznice, které mohou resultovat v klinicky se projevující onemocnění. Na základě vyšetření vzorků krmiv odebraných na modelových podnicích není vzácností překročení limitních hodnot 100 µg/kg krmiva a dokonce záchyt i 604 µg/kg krmiva, hladin kdy už se dá očekávat i přímé klinické projevy mykotoxikózy.

T-2 toxin má výrazný imunopresivní účinek, je epiteliotropním toxinem působícím až hemoragické enteritidy, laminitidy, pokles červených i bílých krvinek. Jeho vysoké hladiny jsou obdobně jako u ZEA vázány především na jadrné směsi, ale vysokých koncentrací dosahuje i v kukuřičných silážích a TMR z nich připravených. V námi testovaných vzorcích byla zjištěna nejvyšší koncentrace v krmné směsi pro dojnice v podniku 1 o hodnotě 968 µg/kg krmiva, větší význam z hlediska přijatého celkového množství, ale mají hodnoty z kukuřičné siláž a jetelotravní senáže podniku 1 i 2, kde byly hodnoty ve více vzorcích hodně nad limitními 100 µg/kg krmiva (např. 620, 664, 788, 896 či 900 µg/kg krmiva).

Deoxynivalenol je produkován podobným spektrem plísní a i za stejných přírodních podmínek jako T-2, přestože v minulých letech byl vyšetřován především pro vomitogenní syndrom u prasat, v posledních letech je na něho stále více zaměřena pozornost i v chovech skotu. Jeho biologické účinky jsou velice podobné T-2, imunoprese, gastrointestinální poruchy, nechutenství, snížená mléčná produkce, vyšší nemocnost. Je-li vyšetřováno krmivo na přítomnost mykotoxinů, je zvolen z finančních důvodů jako markrový právě DON a nebo T-2. V našich vzorcích krmiv byla nejvyšší

hladina (1 329 µg/kg krmiva) nalezena v kukuřičné siláži v podniku 2.

V části věnované zjištění četnosti jednotlivých kategorií zdravotních poruch bylo zjištěno a víceméně potvrzeno, že kategorií vyžadující nejvíce veterinárních zásahů jsou reprodukční poruchy (38,5% podnik 1 a 28,0% podnik 2), na srovnatelné úrovni co do počtu jsou onemocnění mléčné žlázy (35,1% podnik 1 a 31,1% podnik 2), onemocnění metabolická a bachorové disfunkce se v klinické podobě vyskytují méně často (7,8% podnik 1 a 2,3 podnik 2), stejně jako je tomu u onemocnění končetin (17,2% podnik 1 a 26,7 podnik 2), které jsou nemalou skupinou onemocnění, ale v dobře vedeném chovu ustupují do pozadí. Lepším ukazatelem může být porovnání nemocnost jednotlivých chovů přepočtem na 100 ks dojnic, kdy se potvrdí, že dojnice podniku 1 českého strakatého plemene vykazují téměř o dva případy na měsíc menší nemocnost oproti dojnicím holštýnským v podniku 2.

Při posouzení vlivu hlinitokřemičitého doplňku se nám podařilo prokázat pozitivní vliv na pokles somatických buněk v mléce, kdy měsíční průměrná hodnota klesla z 277,88 tis./l na 245 tis./l, neprokázali jsme však žádný další pozitivní vliv na kvalitativní složky jako je obsah tuku, bílkoviny nebo močoviny v mléce, stejně jako se nepodařilo prokázat, že přídatek hlinitokřemičitého adsorbéru by měl pozitivně ovlivnit celkový nádoj.

V rámci zdravotních poruch došlo k snížení onemocnění bachoru a metabolických poruch, jiné kategorie nemocí ani celková nemocnost dojnic nebyla přídatkem adsorbéru ovlivněna.

Na základě námi získaných údajů, má kvasinkový doplněk statisticky průkazný vliv na zvýšení obsahu mléčné bílkoviny z 325,6 na 331,8 kg. Pozitivní vliv na snížení počtu somatických buněk 348,5 na 307,6 tis./ml. Obsah tuku a močoviny nebyl přídatkem kvasinkového premixu průkazně ovlivněn, stejně jako celkový nádoj.

V období přidávání kvasinkového premixu došlo k výraznému poklesu celkového počtu nemocných dojnic (z 31,8 na 26,0 případů za měsíc, n=350), a to především poklesem onemocnění mléčné žlázy (z 10,6 na 7,3 případů za měsíc, n=350), reprodukčních (9,0 na 7,2 případů/měsíc, n=350) a končetin (z 9,0 na 6,5 případů/měsíc, n=350). Paradoxně došlo k navýšení onemocnění kategorie jiná, která zahrnovala převážně respirační potíže a onemocnění očí (z 2,6 případů na 4,2 za měsíc, n=350).

Výsledkem práce je, že je nutné snažit se připravit a podávat dojnicím co nejkvalitnější krmiva, přesto průběžně provádět kontrolu krmiv na výskyt mykotoxinů a zohlednit jejich nález jako důležitý kvalitativní parametr krmiv. V případě pozitivního

nálezu přistoupit k opatřením směřujícím k minimalizaci negativního vlivu mykotoxinů, nejlépe se vyvarovat zkrmování kontaminovaných krmiv, pokud to není možné přistoupit k „ředění“ s mykotoxiny prostým krmivem, případně použít mykotoxinového adsorbéru a nebo ještě lépe krmivového doplňku, který často má ještě další pozitivní účinky, zlepšení stravitelnosti, případně chutnosti krmiv.

7. Závěr

Hladiny mykotoxinů ve vyšetřených vzorcích krmiv pro dojnice odpovídají publikovaným nálezům i z jiných studií v České republice, v Evropské unii nebo Spojených státech amerických.

Na základě kategorizace zdravotních poruch jsme určili onemocnění mléčné žlázy a reprodukční poruchy jako kategorie, které jsou nejfrekventovanějšími v chovech dojnic a které také vyžadují nejčastější veterinární péči.

Při posouzení námi vybraných doplňků krmiv se premix založený na bázi živé kultury *Saccharomyces cerevisiae* ukázal jako přínosnější, než doplněk hlinitokřemičitého vyvazovače. Pro oba doplňky krmiv je společný pozitivní vliv na snížení počtu SB. Kvasinkový doplněk výrazně pozitivněji ovlivňuje nemocnost dojnic, jak v celkovém počtu onemocnění tak v jednotlivých sledovaných kategoriích.

Na základě námi zjištěných výsledků lze doporučit kvasinkový premix jako vhodný doplněk krmiva pro dojnice, k zlepšení využitelnosti krmné dávky a snížení negativního vlivu mykotoxinů. Hlinitokřemičité preparáty přesto nelze zavrhnout, jejich užití je jistě účelné a v kombinaci s jinými přípravky mohou být přínosné.

8. Seznam použité literatury

1. Ahamed, S., Foster, J.S., Bukovsky, A., Wimalasena, J., (2001). Signal transduction through the Ras/Erk pathway is essential for the mycoestrogen zearalenon-induced cell-cycle progression in MCF-7 cells. *Molecular Carcinogenesis* 30, 88–98.
2. Al-Julaifi, M.Z., (2004). Simultaneous occurrence of neosolaniol in poultry feeds with high incidences of decreased in feed conversion efficiency, weight gain, egg production, and thinner egg shell. *Saudi Arabian Journal of Biological Science* 11, 67–72.
3. Alldrick, A.J., Hajšelová, M., (2004). Zearalenone. Mycotoxins in food: detection and control. Woodhead Publishing, 355–366 pp.
4. Allen, N.K., Mirocha, C.J., Weaver, G., Aakhus-Allen, S., Bates, F., (1981). Effects of dietary zearalenone on finishing broiler chickens and young turkey poults. *Poultry Science* 60, 124–131.
5. Allen, N.K., Peguri, A., Mirocha, C.J., Newman, J.A., (1983). Effects of *Fusarium* cultures, T-2 toxin, and zearalenone on reproduction of turkey females. *Poultry science* 62, 282–289.
6. Alm, H., Brussow, K.P., Torner, H., Vanselow, J., Tomek, W., Danicke, S., Tiemann, U., (2006). Influence of *Fusarium* toxin contaminated feed on initial quality and meiotic competence of gilt oocytes. *Reproductive Toxicology* 22, 44–50.
7. AOAC (Association of Official Agricultural, today Analytical Chemists). Dostupné na: www.aoac.org (navštíveno 4.9.2014).
8. Applebaum, R.S., Brackett, R.E., Wiseman, D.W., Marth, E.H., (1982). Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: feed intake and yield, toxin content and quality of milk of cows treated with pure and impure aflatoxin. *Journal of Dairy Science* 65, 1503–1508.
9. Asao, T., Buchi, G., Abdel-Kader, M.M., Chang, S.B., Wick, E.L., Wogan, G.N., (1963). Aflatoxin B and G. *Journal of the American Chemical Society* 85, 1706–1707.
10. Auerbach, H., (2006). Mould growth and mycotoxins contamination of silages: sources, types and solutions. Bad Segeberg, Germany, Alltech Inc. Dostupné na: <http://en.engormix.com/MA-mycotoxins/articles/mould-growth-mycotoxin-contamination-t219/p0.htm> (navštíveno online 10.10.2014).
11. Aurich, J.E., Hoppen, H.O., Trampler, R., Zentek, J., Boehm, J., Razzazi-Fazeli, E., Aurich, C., (2006). Effect of mycotoxins on reproductive function in mares. *Animal Reproduction Science* 94, 238–241.
12. Awad, W. A., Ghareeb, K., Böhm, J., Razzazi, E., Hellweg, P., Zentek, J., (2008). The impact of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) on poultry. *International Journal of Poultry Science* 7, 827–842.
13. Bacon, C.W., Porter, J.K., Norred, W.P., Leslie, J.F., (1996). Production of fusaric acid by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Mikrobiology* 62, 4039–4043.
14. Bareille, N., Beaudreau, F., Billon, S., Robert, A., Faverdin, P., (2003). Effects of health disorders on feed intake and milk production in dairy cows. *Livestock Production Science* 83, 53–62.
15. Bartoš, J., Matyáš, Z., (1983). Research on sterigmatocystine in Czechoslovak-produced grain. *Veterinary medicine* 28, 182–192.

16. Beaudeau, F., Seegers, H., Ducrocq, V., Fourichon, C., Bareille, N., (2000). Effect of health disorders on culling in dairy cows: a review and critical discussion. *Animal Zootechnology* 49, 296–311.
17. Bekana, M., Johnson, P., Kindhal, H., (1996). Intrauterine bacterial findings and hormonal profiles in post-partum cows with normal puerperium. *Acta Veterinaria Scandinavica* 37, 251–263.
18. Bennett, R.A., Essigmann, J.M., Wogan, G.N., (1981). Excretion of an aflatoxin-guanine adduct in the urine of aflatoxin B1-treated rats. *Cancer Research* 41, 650–654.
19. Binder, E.M., (2007). Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Animal Feed Science and Technology* 133, 149–166.
20. Black, R.D., McVet, D.S., Oehme, F.W., (1992). Immunotoxicity in the bovine animal. *Veterinary and Human Toxicology* 34, 438–442.
21. Blaney, B.K., Williams, K.C., (1991). Effective use in livestock feeds of mouldy and wether damaged grain containing mycotoxins. Case histories and economic assessments pertaining to pig and poultry industries of Queensland. *Australian Journal of Agricultural Research* 42, 993–1012.
22. Blankenship, L.T., Dickey, J.F., Bodine, A.B., (1982). In vitro mycotoxin binding to bovine uterine steroid hormone receptors. *Theriogenology* 17, 325–331.
23. Boland, M.P., Lonergan, P., (2005). Effects of nutrition on fertility in dairy cows. *Advances in Dairy Technology* 15, 19–33.
24. Bouška, J., Doležal, O., Jílek, F., Kudrna, V., Kvapilík, J., Příbyl, J., Rajmon, R., Sedmíková, M., Skřivanová, V., Šlosárková, S., Tyrlová, Y., Vacek, M., Žižlavský, J., (2006). Chov dojeného skotu. Profi Press, Praha, 186 s.
25. Boyd, P.A., Wittliff, J.L., (1978). Mechanism of Fusarium mycotoxin action in mammary gland. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 4, 1–8.
26. Boysen, M.E., Jacobson, K.G., Schnurer, J., (2000). Molecular identification of species from the penicillium group associated with spoiled animal feed. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1523–1526.
27. Bräse S., Gläser F., Kramer C.S., Lindner S., Linsenmeier A.M., Masters K., Meister A.C., Ruff B.,M., Zhong S., (2013). Progress in the chemistry of organic natural products. The chemistry of mycotoxins. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* 97, 1–300.
28. Bunner, D.L., Morris, E.R., (1988). Alteration of multiple cell membrane functions in L-6 myoblasts by T-2 toxin: an important mechanism of action. *Toxicology and Applied Pharmacology* 92, 113–121.
29. Carvet, S., Lecouer, S., (2006). Fusariotoxin transfer in animal. *Food and Chemical Toxicology* 44, 444–453.
30. CAST (Council for Agricultural Science and Technology), (2003). Mycotoxins: risks in plant, animal, and human systems. Ames, Iowa, USA, *Task Force Report* 139, 199 s.
31. Castoria, R., Mannina, L., Duran-Patron, R., Maffei, F., Sobolev, A.P., De Felice, D.V., Pinedo-Rivilla, C., Ritieni, A., Ferracane, R., Wright, S.A.I., (2011). Conversion of the mycotoxin patulin to the less toxic desoxypatulinic acid by the biocontrol yeast *Rhodospiridium kratochvilovae* strain LS11. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 59, 11571–11578.
32. Cattlesite.com. Dostupné na: <http://www.cattlesite.com/> (navštíveno online 13.9.2014).
33. Cotty, P.J., Bhatnagar, D., (1994). Variability among atoxigenic *Aspergillus flavus* strains to prevent aflatoxin contamination and production of aflatoxin

- biosynthetic pathway enzymes. *Applied Environmental Microbiology* 60, 2248–2251.
34. Coulombe, R.A., (1993). Biological action of mycotoxins. *Journal of Dairy Science* 76, 880–891.
 35. Croft, W.A., Jarvis, B.B., Yatawara, C.S., (1986). Airborne outbreaks of trichothecene toxicosis. *Atmospheric Environment* 20, 549–552.
 36. Croy, R.G., Essigmann, J.M., Reinhold, V.N., Wogan, G.N., (1978). Identification of the principal aflatoxin B1-DNA adduct formed in vivo in rat liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 75, 1745–1749.
 37. D’Mello, J.P.F., Placinta, C.M., MacDonald, A.M.C., (1999). Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Animal Feed Science and Technology* 80, 183–205.
 38. Dänicke, S., Matthaus, K., Lebzien, P., Valenta, H., Stemme, K., Ueberschar, K. H., Razzazi-Fazeli, E., Böhm, J., Flachowsky, G., (2005). Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat grain on nutrient turnover, microbial protein synthesis and metabolism of deoxynivalenol and zearalenone in the rumen of dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 89, 303–315.
 39. Dänicke, S., (2009). Feed additives for detoxification of mycotoxins, rare earth elements and further feed additives. *Praktische Tierarzt* 90, 856–891.
 40. Dawson, K. A., Newman, K. E., Boling, J. A., (1990), Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-feed ruminal microbial activities. *Journal of Animal Science*, 68, 3392-3398.
 41. Dechow, C.D., Rogers, G.W., Sander-Nielsen, U., Klei, L., Lawlor, T.J., Clay, J.S., Freeman, A.E., Abdel-Azzim, G., Kuck, A., Schnell, S., (2004). Correlation among body condition scores from various sources, dairy form, and cow health from the United States and Denmark. *Journal of Dairy Science* 87, 3526–3533.
 42. Desjardins, A.E., (2006). *Fusarium mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology*. APS Press, St. Paul Minnesota, USA, 260 s.
 43. Devegowda, G., Castaldo, D., (2000). Mycotoxins: hidden killers in pet foods. Is there a solution? In: Technical Symposium on mycotoxins. Alltech Inc. Nicholasville KY, USA.
 44. Diaz, D.E., Blackwelder, J.T., Hagler, W.M., Jr., Hopkins, B.A., Jones, F.T., Anderson, K.L., Whitlow, L.W., (1997). The potential of dietary clay products to reduce aflatoxins transmission to the milk of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80, 26 s.
 45. Diekman, M. A., Green, M. L., (1992). Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *Journal of Animal Science* 70, 1615–1627.
 46. Dohnal V., Jezková, A., Jun, D., Kuca, K., (2008). Metabolic pathways of T-2 toxin. *Current Drug Metabolism* 9, 77–82.
 47. Doležal, R., Kudláč, E., (1997). *Veterinární gynekologie*. VFU Brno, 1. vydání, 145 s.
 48. Doležal, P., Doležal, J., Třináctý, J., (2005). The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation in dairy cows. *Czech Journal of Animal Science* 50, 503–510.
 49. Doporučení komise ES ze 17. srpna 2006 o přítomnosti deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu A, T-2 a HT-2 a fumonisinů v produktech určených ke krmení zvířat (2006/576/ES).
 50. Doporučení komise ES ze 17. srpna 2006 k prevenci a snižování fusariových toxinů v obilovinách a výrobcích z obilovin (2006/583/ES).

51. Driehuis, F., Spanjer, M.C., Scholten, J.M., Giffel, M.C.T., (2008). Occurrence of mycotoxins in maize, grass and wheat silage for dairy cattle in Netherlands. *Food Additives and Contaminants Part – B Surveillance* 1, 41–50.
52. Driehuis, F., (2013). Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. *Agricultural and Food Sciences* 22, 16–34.
53. Eastridge, M. L., (2006). Major advances in applied dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science* 89, 1311–1323.
54. Eaton, D.L., Ramsdell, H.S., Neal, G.E., (1994). Biotransformation of aflatoxins. In: *The Toxicology of aflatoxins: human health, veterinary, and agricultural significance*. Academic Press, San Diego, pp 45–72.
55. EFSA (European Food Safety Authority), (2012). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of phomopsins in feed and food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, Parma Italy. *EFSA Journal* 10, 52 s.
56. Ellis, K.A., Mihm, M., Innocent, G., Cripps P., McLean, W.G., Howard, C.V, Grove-White, D., (2006). The effect of farming system on dairy cow cleanlines in the UK and the implications to udder health. *Aspect of Applied Biology* 79.
57. Enemark, J.M.D., Jorgensen, R.J., Enemark, P., (2002). Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical rumen acidosis: a review. *Veterinaija ir Zootechnika* 42, 16–29.
58. Erasmus, L.J., Botha, P.M., Kistner, A., (1992). Effects of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 75, 3056–3065.
59. Eriksen, G.S., Pettersson, H., (2004). Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 114, 205–239.
60. Escoula, L., (1992). Patulin production by *Penicillium granulatum* and inhibition of ruminal flora. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 11, 45–48.
61. Etienne, M., Dourmad, J.Y., (1994). Effects of zearalenone or glukosinolates in the diet on reproduction in sows: a review. *Livestock Production Science* 40, 99–113.
62. FAO/WHO (1995). Application of risk analysis to food standard issues. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, Geneva, World Health Organization.
63. Fekete, S.G., Kellems, R.O., (2007). Interrelationship of feeding with immunity and parasitic infection: a review. *Veterinárni Medicína* 52, 131–143.
64. Fernandez, A., Hernandez, M., Verde, M. T., Sanz, M., (2000). Effect of aflatoxin on performance, hematology, and clinical immunology in lambs. *Canadian Journal of Veterinary Research* 64, 53–58.
65. Fiedler, K., Schutz, E., Geh, S., (2001). Detection of microbial organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 204, 111–121.
66. Fink-Gremmels, J., (1999). Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Veterinary Quarterly* 21, 115–120.
67. Fink-Gremmels, J., (2008). The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *The Veterinary Journal* 176, 84–92.
68. Fischer, G., Dott, W., (2003). Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Archives of Microbiology* 179, 75–82.

69. Flanningan, B., (1991). Mycotoxins. In: D'Mello, J.P.F., Duffus, C. M., Duffus, J.H., (1991). Toxic substances in crop plants. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 226–557.
70. Foster, P.L., Eisenstadt, E., Miller, J.H., (1983). Base substitution mutations induced by metabolically activated aflatoxin B1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 80, 2695–2698.
71. Fourichon, C., Seegers, H., Bareille, N., Beaudou, F., (1999). Effects of disease on milk production in the dairy cow: a review. *Preventive Veterinary Medicine* 41, 1–35.
72. Fuchs, S., Sontag, G., Stidl, R., Ehrlich, V., Kundi, M., Knasmüller, S., (2008). Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food and Chemical Toxicology* 46, 1398–1407.
73. Gagi, V., Avram, M., Belc, N., Iorga, E., Diaconu, M., Diaconu, A., Pricop, M., (2007). The effect of processing temperature and time on zearalenone concentration from maize products. *Romanian Biotechnological Letters* 123431–3434.
74. Gajecka, M., Jakimiuk, E., Zielonka, L., Obremski, K., Gajecki, M., (2009). The biotransformation of chosen mycotoxins. *Polish journal of veterinary science* 12, 283–303.
75. Galvano, F., Piva, A., Ritieni, A., Galvano, G., (2001). Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. *Journal of Food Protection* 64, 120–131.
76. Gareis, M., Ceynowa, J., (1994). Influence of the fungicide matador (tebuconazole/triadimenol) on mycotoxin production by *Fusarium culmorum*. *Lebensmittel-Untersuchung-Forschrift* 198, 244–248.
77. Gareis, M., (2005). Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in food and assessment of dietary intake. In: Abstract of lectures and posters the third conference „The Mycotoxin“. Noordwijk aan Zee, the Netherlands, pp. 25–27.
78. Gaumy, J.L., Bailly, J.D., Burgat, V., Guerre, P., (2001). Zearalenone: properties and experimental toxicity. *Revue de Médecine Vétérinaire* 152, 219–234.
79. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar, R., Kriek, N.P.J., (1988). Fumonisin: novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 1806–1811.
80. Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, Ch.L., Erb, H.N., Frajblat, M., (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64, 1879–1888.
81. Gimeno, A., Martins, M.L., (2006). Mycotoxins and mycotoxicosis in animals and humans. Special Nutrients. Dostupné na: www.specialnutrients.com (navštíveno online 10.10.2014).
82. Girard, I.D., Dawson, K.A., (1994). Effects of yeast culture on the growth of representative ruminal bacteria. *Journal of Animal Science* 77, 300.
83. Girish, C.K., Devegowda, G., (2006). Efficacy of glucomannan-containing yeast product (mycosorb®) and hydrated sodium calcium aluminosilicate in preventing the individual and combined toxicity of aflatoxin and T-toxin in commercial broilers, asian-aust. *Journal of Animal Science* 19, 877–883.
84. Glenn, A.E., (2007). Mycotoxigenic fusarium species in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 137, 213–240.

85. Golinski, P., von Boberfeld, W.O., Koztecki, M., Kaczmarek, Z., Golinski, P. K., (2006). Accumulation of secondary metabolites formed by field fungi in autumn-saved herbage. *Journal of Agronomy and Crop Science* 192, 344–351.
86. Grajewski, J., Błajet-Kosicka, A., Twarużek, M., Kosicki, R., (2012). Occurrence of mycotoxins in Polish animal feed in years 2006–2009. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 95, 870–877.
87. Guedes, C.M., Goncalves, D., Rodrigues, M.A.M., Dias-Da-Silva A., (2008). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Sciences and Technology* 145, 27–40.
88. Guerre, P., Bailly, J.D., Benard, G., Burgat, V., (2000). Milk excretion of the mycotoxins: which risks for the consumer. *Revue de Médecine Veterinaire* 151, 7–22.
89. Hadley, G., Wolf, C., Harsh, S., (2006). Dairy cattle culling patterns, explanations and implications. *Journal of Dairy Science* 89, 2286–2296.
90. Hanuš, O., Genčurová, V., Štolc, L., Hering, P., (2010). Variabilita minoritních složek mléka. *Náš Chov*, 26–28.
91. Hedman, R., Pettersson, H., Engström, B., Elwinger, K., Fossum, O., (1995). Effects of feeding nivalenol contaminated diets to male broiler chickens. *Poultry Science* 74, 620–625.
92. Herrman, J., and R., Walker. (1999). Risk analysis of mycotoxins by the joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA). *Third International Conference on Mycotoxins*, Tunis, 8 s.
93. Herzig, I., Suchý, P., Straková, E., (2008). Vliv mikotoxinů sterigmatocystinu, moniliforminu, diacetoxyscirpenolu, phomopsinu A a toxinů mikromycet rodu *Alternaria* na zdraví zvířat a bezpečnost potravin. Vědecký výbor výživy zvířat, Praha, 38 s.
94. Hinton, M.H., (2000). Infections and intoxications associated with animal feed and forage which may present a hazard to human health. *Veterinary Journal* 159, 13–19.
95. Hobson, P.N., (1972). Physiological characteristics of rumen microbes an relation to diet and fermentation patterns. *Proceedings of the Nutrition Society* 31, 135–139.
96. Hocking, A.D., Pitt, J.I., Samson, R.A., Thrane, U., (2006). Advances in food mycology. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 571, 372 s.
97. Hodges, R., Shannon, J.S., (1966). The isolation and structure of sporidesmin C. *Australian Journal of Chemistry* 19, 059–1066.
98. Hofírek, B., Pechová, A., Doležal, R., Pavlata, L., Dvořák, R., Fleischer, P., (2004). Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. VFU Brno, 184 s.
99. Hofírek, B. Dvořák, R., Němeček, L., Doležel, R., Pospíšil, Z., (2009). Nemoci skotu. Noviko Brno, 1149 s.
100. Hohler, D., Sudekum, K.H., Wolfram, S., Frohlich, A.A., Marquart, R.R., (1999). Metabolism and excretion of ochratoxin a fed to sheep. *Journal of animal science* 77, 1217–1223.
101. Hochsteiner W, Kahlbacher, H., Shuh, M., (2001). The most important mycotoxins in Austrian animal feed. *Wiener Tierärztliche Monatenschrift* 88, 342–346.
102. Holzhauer, M., Hardenberg, C., Bartels C. J. M., Frankena, K., (2006). Herd- and Cow-level prevalence of digital dermatitis in the Netherlands and associated risk factors. *Journal of Dairy Science* 89, 580–588.

103. Hrdina, V., Hrdina, R., Jahodář, L., Martinec, Z., Měrka, V., (2004). Přírodní toxiny a jedy. Galén Karolinum, Praha, 302 s.
104. Hsu, I.C., Smalley, E.B., Strong, F.M., Ribelin, W.E., (1972). Identification of T-2 toxin in moldy corn associated with a lethal toxicosis in dairy cattle. *Applied Microbiology* 24, 684–690.
105. Hussein, H.S., Brasel, J.M., (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167, 101–134.
106. Huszenicza, G., Fekete, S., Szigeti, G., Kulcsar, M., Febel, H., Kellems, R. O., Nagy, P., Cseh, S., Veresegyhazy, T. Hullar, I., (2000). Ovarian consequences of low dose peroral *Fusarium* (T-2) toxin in ewe and heifer model. *Theriogenology* 53, 1631–1639.
107. Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O., Dutler, H., (2001). Mycotoxins detoxification of animal feed by different adsorbents. *Toxicological Letters* 122, 179–188.
108. Charmley, E., Trenholm, H.L., Thompson, B.K., Vudathala, D., Nicholson, J.W. G., Prelusky, D.B., Charmley, L.L., (1993). Influence of deoxynivalenol in the diet of dairy cows on feed intake, milk production, and its composition. *Journal of Dairy Science* 76, 3580–3587.
109. Charmley, L.L., Trendholm, H.L., Prelusky, D.B., Rosenberg, A., (1995). Economic losses and decontamination. *Natural Toxins* 3, 199–203.
110. Cheeke, P.R., (1998). Natural toxicants in feeds, forages and poisonous plants. Interstate Publishers, Danville USA, 2. vydání, 481 s.
111. Chen, F.C., Chen, C.F., Wei, R.D., (1982). Acute toxicity of PR toxin, a mycotoxin from *Penicillium roqueforti*. *Toxicon* 20, 433–44.
112. Chi, M.S., Mirocha, C.J., Weaver, G.A., Kurtz, H.J., (1980). Effect of zearalenone on female white leghorn chickens. *Applied and Environmental Microbiology* 39 1026–1030.
113. Ingalls, J.R., (1996). Influence, of deoxynivalenol on feed consumption by dairy cows. *Animal feed science technology* 60, 297–300.
114. Ingvarsten, K.L., Andersen, J.B., (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science* 83, 1573–1598.
115. IARC (International Agency for Research on Cancer), (1993a). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Aflatoxins. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, WHO, IARC, Lyon 56, pp. 245–395.
116. IARC (International Agency for Research on Cancer), (1993b). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Ochratoxin A. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, WHO, IARC, Lyon 56, pp. 489–521.
117. IARC (International Agency for Research on Cancer), (2002). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Fumonisin B1. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, WHO, IARC, Lyon 82, pp. 301–366.
118. Ivemeyer, S., Smolders, G., Brinkmann, J., Gratzler, E.B., Henriksen, B.I.F., Huber, J., Leeb, C., March, S., Mejdell, C., Nicholas, P., Roderick, S., Stöger, E., Vaarst M., Whistance, L.K., Winckler, C., Walkenhorst, M., (2012). Impact of animal health and welfare planning on medicine use, herd health and production in European organic dairy farms. *Livestock Science* 145, 63–72.

119. James, L.F., Panter, K.E., Nielsen, D.B., Molyneux, R.J., (1992). The effect of natural toxins on reproduction in livestock. *Journal of Animal Science* 70, 1573–1579.
120. Jelínek, P., Koudelka, K., Doskočil, J., Ilek, J., Kotrbáček, V., Kovářů, F., Kroupová, V., Kučera, M., Kudláč, E., Trávníček, J., Valent, M., (2003). Fyziologie hospodářských zvířat. MZLU Brno, 414s.
121. Jeroch, H., Čermák, B., Kroupová, V., (2006). Základy výživy a krmení hospodářských zvířat. Vědecká monografie, JU ZF České Budějovice, 290 s.
122. Jones, T.J., Genter, M.B., Hagler, W.M., Hansen, J.A., Mowrey, B.A., Poors, M.H., Whitlow, L.W., (1994). Understanding and coping with effect of mycotoxins in live stock feed and forage. North Carolina State University, Raleigh, N.C.: North Carolina Cooperative Extension Service, pp. 1–14.
123. Jouany, J.P., (2001). A new look at yeastcultures as probiotics for ruminants. *Feed Mix* 6, 17–19.
124. Jouany, J., Diaz, D., (2005). Effects of mycotoxins in ruminants. In: The mycotoxin blue book. Diaz, Nottingham University Press, Thrumpron, Nottingham, pp. 295–321.
125. Juhasz, J., Nagy, P., Kulcsar, M., Szigeti, G., Reiczigel, J., Huszenicza, G., (2001). Effect of low-dose zearalenone exposure on luteal function, follicular activity and uterine oedema in cycling mares. *Acta Veterinaria Hungarica* 49, 211–222.
126. Kalač, P., Míka, V., (1997). Přírodní škodlivé látky v rostlinných krmivech. Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha, 1. vydání, 322 s.
127. Kan, C.A., Meijer, G.A.L., (2007). The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 133, 84–108.
128. Keese, C., Meyer, U., Rehage, J., Spilke, J., Boguhn, J., Breves, G., Danicke, S., (2008). Ruminal fermentation patterns and parameters of the acid base metabolism in the urine as influenced by the proportion of concentrate in the ration of dairy cows with and without *Fusarium* toxin-contaminated triticale. *Archives of Animal Nutrition* 62, 287–302.
129. Kennedy, D.G., Hewitt, S.A., McEvoy, J.D., Currie, J.W., Cannavan, A., Blanchflower, W.J., Elliot, C.T., (1998). Zeranol is formed from *Fusarium* spp. toxins in cattle in vivo. *Food Addit Contam Journal* 15, 393–400
130. Khachatorius, G.C., (1990). Metabolic effects of trichothecene T-2 toxin. *Canadian Journal of Physiology Pharmacology* 68, 1004–008.
131. Khodabadehlou, H, Hoffmann, B., Pallauf, J., (1997). Investigation on the occurrence and content of oestrogenic activity in cattle feed in the state of central hessia, Germany. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 104, 291–294.
132. Kiang, D.T., Kennedy, B.J., Pathre, S.V., Mirocha, C.J., (1978). Binding characteristics of zearalenone analogs to estrogen receptors. *Cancer Research* 38, 3611–3616.
133. Kiessling, K. H., Petterson, H., Sandholm, K., Olsen, M., (1984). Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa and rumen bacteria. *Applied and Environmental Mikrobiology* 47, 1070–1073.
134. Kim, J.L., Elfman, L., Mi, Y., Wieslander, G., Smedje, G., Norback, D., (2007). Indoor molds, bakteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in school – associations with asthma and respiratory symptoms in pupils. *International Journal of Indol Environment and Health* 17, 153–163.

135. Kleinova, M., Zöllner, P., Kahlbacher, H., Hochsteiner, W., Lindner, W., (2002). Metabolic profiles of the mycotoxin zearalenone and of the growth promoter in urine, liver, and muscle of heifers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50, 4769–4776.
136. Kolb, E., (1984). Recent knowledge on the mechanism of action and metabolism of mycotoxins. *Z Gesamte Inn Med* 38, 353–358.
137. Korostelova, S.N., Smith, T.K., Boermans, H.J., (2007). Effects of feedborne fusarium mycotoxins on the performance, metabolism, and immunity of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 3867–3873.
138. Korostelova, S.N., Smith, T.K., Boermans, H.J., (2009). Effects of feed naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on metabolism and immunity of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92, 1585–1593.
139. Koul, V., Kumar, U., Sareen, V.K., Singh, S., (1998). Mode of action of yeast culture (*Yea sacc* 1026) for simulation of rumen fermentation in buffalo calves. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77, 407–413.
140. Kubena, L.F., Harvey, R.B., Corrier, D.E., Huff, W.E., Phillips, T.D., (1987). Effects of feeding deoxynivalenol (DON, vomitoxin) – contaminated wheat to female white leghorn chickens from day old through egg production. *Poultry Science* 66, 1612–1618.
141. Kudrna, V., Illek, J., Mrkvička, J., a kol., (1998). *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj Praha, 362s.
142. Kumar, U., Sareen, V.K., Singh, S., (1997). Effect of yeast culture supplementation on ruminal microbial populations and metabolism in buffalo calves fed a high roughage diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73, 231–236.
143. Kummer, V., Faldíková, L., Herzig, I., Láníková, A., (2001). Účinky mykotoxinů na zdraví a reprodukci zvířat, diagnostika a prevence mykotoxikóz. VÚVeL Brno, 43 s.
144. Kung, L.Jr., Krecke, E.M., Tung, R.S., Hession, A.O., Sheperd, A.C., Cohen, M.A., Swain, H.E., Leedle, J.A.Z., (1996). Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. *Journal Dairy Science* 80, 2045–2051.
145. Kvapilík, J., Růžička, Z., Bucek, P., a kol., (2014). *Ročenka – Chov skotu v České republice*. Praha, 98 s.
146. Laan, T.T.J.M., Bull, S., Pirie, R., Fink-Gremmels, J., (2006). The role of alveolar macrophages in the pathogenesis of recurrent airway obstruction in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, 167–174.
147. Lacey, J., (1989). Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Bacteriology - Symposium Supplement* 67, 11–25.
148. Lascano, G.J., Zanton, A.J., Heinrichs, A.J., (2009a). Concentrate levels and *Saccharomyces cerevisiae* affect rumen fluid-associated bacteria numbers in dairy heifers. *Livestock Science* 126, 189–194.
149. Lascano, G.J., Zanton, G.I., Suarez-Mena, F.X., Heinrichs, A.J., (2009b). Effects of limit feeding high- and low-concentrate diets with *Saccharomyces cerevisiae* on digestibility and on dairy heifer growth and first– lactation performance. *Journal of Dairy Science* 92, 5100–5110.
150. LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H., (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of dairy science* 85, 2223–2236.

151. Lincová, D., Farghali, D., (2007). Základní a aplikovaná farmakologie. Galén Praha, 2. vydání, 672 s.
152. Lindemann, M.D., Blodgett, D.J., Kornegay, E.T., Schuring, G.G., (1993). Potential ameliorators of aflatoxins in weanling/growing swine. *Journal of Animal Science* 71, 171–178.
153. Lioi, M.B., Santoro, A., Barbieri, R., Salzano, S., Ursini, M.V., (2004). Ochratoxin A and zearalenone: a comparative study on genotoxic effects and cell death induced in bovine lymphocytes. *Mutation Research* 557, 19–27.
154. Louda, F. a kol., (2000). Chov skotu. ČZU Praha, 187 s.
155. Luy, J., (2012). Performance-related health disorders in farm animals – the ethical dimension. *Zuchtungskunde* 84, 39–51.
156. Malekinejad, H., Colenbrander, B., Fink-Gremmels, J., (2006). Hydroxysteroid dehydrogenases in bovine cells convert zearalenone into its hydroxylated metabolites α -zearalenol and β -zearalenol. *Veterinary Research Communications* 30, 445–453.
157. Mann, D.D., Buening, G.M., Hook, B., (1983). Effects of T-2 toxin on bovine serum proteins. *American Journal of Veterinary Research* 44, 175–1759.
158. Mantle, P.G., (1983). Amino acid neurotransmitter release from cerebrocortical synaptosomes of sheep with severe ryegrass staggers in New Zealand. *Research of Veterinary Science* 34, 373–375.
159. Marasas, W.F.O., (1991). Toxicogenic *Fusaria*. In: Mycotoxins and animal foods. CRC Press, Boca Raton, pp. 119–139.
160. May, H., Wu, Q., Blake, C., (2000). Effects of the *Fusarium* spp. mycotoxins fusaric acid and deoxynivalenol on the growth of *Ruminococcus albus* and *methanobrevibacter ruminantium*. *Canadian Journal of Mikrobiology* 46, 692–699.
161. McLeay, L.M., Smith, B.I., Munday-Finch, S.C., (1999). Tremorgenic mycotoxins paxilline, penitrem and lolitrem B, the non-tremorgenic 31- epilolitre B and electromyographic activity of the reticulum and rumen of sheep. *Research of Veterinary Science* 66, 119–127.
162. Milkproduction.com. Dostupné na: <http://www.milkproduction.com/> (navštíveno 13.9.2014).
163. Miller, D.M., Stuart, B.P., Crowell, W.A., Cole, R.J., Goven, A.J., Brown, J., (1978). Aflatoxicosis in swine: its effect on immunity and relationship to salmonellosis. *American Association of Veterinary Lab Diagnostics* 21, 135–146.
164. Minervini, F., Dell'Aquila, M.E., Maritato, F., Minoia, P., Visconti, A., (2001). Toxic effects of the mycotoxine zearalenone and its derivatives on in vitro maturation of bovine oocytes and 17 β - estradiol levels in mural granulosa cell cultures. *Toxicology in Vitro* 15, 489–495.
165. Minervini, F., Dell'Aquila, M.E., (2008). Zearalenone and reproductive function in farm animals. *International Journal of Molecular Sciences* 9, 2570–2584.
166. Mirocha, C.J., Watson, S., Hayes, W.A., (1982). Occurrence of trichothecenes in samples from Southeast Asia associated with “yellow rain“. Proceedings of the Fifth International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phytotoxins, Vienna, *Austrian Chemical Society*, pp. 130–133.
167. Morgavi, D.P., Riley, R.T., (2007). An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with *Fusarium* toxins. *Animal Feed Science and Technology* 137, 201–212.

168. Mosoni, P., Chaucheyras-Durand, F., Bera-Maillet, C., Forano, E., (2007). Quantification by real time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *Journal of Applied Microbiology* 103, 2676–2685.
169. Moss, M.O., (1991). The environmental factors controlling mycotoxin formation. In: *Mycotoxins and animal foods*. CRC Press, Boca Raton FL, USA, pp. 37–56.
170. Mudřík, Z., Doležal, P., Koukal, P., a kol. (2006). *Základy moderní výživy skotu*. Praha, 270 s.
171. Muench, K.F., Misra, R.P., Humayun, M.Z., (1983). Sequence specificity in aflatoxin B1-DNA interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 80, 6–10.
172. Müller, G., Kielstein, P., Rosner, H., Berndt, A., Heller, M., Köhler, H., (1999). Studies of the influence of ochratoxin A on immune and defence reactions in weaners. *Mycoses* 42, 495–505.
173. Mwaanga, E.S., Janowski, T., (2000). Anoestrus, in dairy cows: causes, prevalence and clinical forms. *Reproduction of Domestic Animals* 35, 193–200.
174. Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách.
175. Nedělník, J., Moravcová, H., (2005). Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro dojnice. *Veterinářství* 4, 214–219.
176. Newberne, P.M., Butler, W.H., (1969). Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals: a review. *Cancer Research* 29, 236–250.
177. Niederkorn, V., Boudra, H., Morgavi, D.P., (2006). Binding of *Fusarium* mycotoxins by fermentative bacteria *in vitro*. *Journal of applied microbiology* 10, 849–856.
178. Nielsen, K.F., Gravesen, S., Nielsen, P.A., Andersen, B., Thrane, U., Frisvad, J.C., (1999). Production of mycotoxins on artificially and naturally infested building materials. *Mycopathologia* 145, 43–56.
179. Obremski, K., Zielonka, L., Gajecka, M., Jakimiuk, E., Gajecki, M., (2009). Mycotoxins – dairy cattle breeding problem. A case report. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 53, 221–224.
180. Olechnowiz, J., Jaskowski, J.M., (2011). Behaviour of lame cows: a review. *Veterinarni Medicina* 56, 581–588.
181. Opletal, L., Šimerda, B., (2010). Fytoestrogeny přírodního původu, výskyt v krmivovém (potravinovém) řetězci, pozitivní a negativní účinky. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. Vědecký výbor výživy zvířat Praha, 59 s.
182. Oswald, I.P., Desautels, C., Laffitte, J., Fournout, S., Peres, S.Y., Odin, M., Le Bars, P., Le Bars, J., Fairbrother, J.M., (2003). Mycotoxin fumonisin B1 increases intestinal colonization by pathogenic *Escherichia coli* in pigs. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 5870–5874.
183. Osweiler, G.D., (2000). Mycotoxins – contemporary and clinical issues of food animal health and productivity. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 16, 511–530.
184. Park, D., Njapau, H., Boutrif, E., (1996). “Minimizing risks posed by mycotoxins utilizing the HACCP concept.” Third Joint FAO/WHO/NEP, *International Conference on Mycotoxins*, Tunis.
185. Patra, A.K., (2012). The use of live yeast products as microbial feeds additives in ruminant nutrition. *Asian journal of Animal and Veterinary Advances* 7, 366–375.

186. Patterson, D.S. P., Shreeve, B.J., Roberts, B.A., Berret, S., Brush, P.J., Glancy, E.M., (1981). Effect on calves of barely naturally contaminated with ochratoxin A and groundnut meat contaminated with low concentration of aflatoxin B1. *Research of Veterinary Science* 31, 213–218.
187. Paul, P.S., Johson, D.W., Mirocha, C.J., Sopper, F.F., Thoen, C.C., Weber, A.F., (1977). In vitro stimulation of bovine peripheral blood lymphocytes : suppression of phyto mitogen and specific antigen lymphocyte responses by aflatoxin. *American Journal of Veterinary Research* 38, 2033–2035.
188. Pavlů, V. a kol., (2000). Pastvinářství. VÚRV Liberec, 96 s.
189. Pettersson, H., (2004). Controlling mycotoxins in animal feed. In: Mycotoxins in food, detection and control. Woodhead Publishing, Cambridge, UK, 488 s.
190. Pfohl-Leskowicz, A., Chekir-Ghedira, L., Bacha, H., (1995). Genotoxicity of zearalenone, an estrogenic mycotoxin: DNA adduct formation in female mouse tissues. *Carcinogenesis* 16, 2315–2320.
191. Phillips, T.D., Kubena, L.F., Harvey, R.B., Taylor, D.R., Heidelbaugh, N.D., (1988). Hydrated calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxins. *Poultry Science* 67, 243–247.
192. Placinta, C.M., D’Mello, J.P.F., MacDonald, A.M.C., (1999). A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 78, 21–37.
193. Polak, M., Gajecki, M., Kulik, T., Luczynski, M. K., Obremski, K., Gora, M., Gajecka, M., Jamiuk, E., Zielonka, L., (2009). The evaluation of the efficacy of sodium carbonate as zearalenone destructor in feeding stuffs. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 12, 103–111.
194. Radostis, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Hinchcliff, K.W., (2000). Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. W. B. Saunders Company, London, UK, 9. vydání, 1877 s.
195. Rahman, R., Taylor, A., (1967). A new metabolite of pithomyces chartarum related to the sporidesmin. *Chemical Communications London* 20, 1032–1032.
196. Ramos, A.J., Fink-Gremmels, J., Hernandez E., (1996). Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of non nutritive adsorbent compounds. *Journal of Food Protection* 59, 631–641.
197. Rayneri, A., (2006). The role of climatic condition on mycotoxin production in cereal. *Veterinary Research Communications* 30, 87–92.
198. Razzazi-Fazeli, E., Böhm, J., Adler, A., Zentek, J., (2003). Fusarium mycotoxins and their significance in animal husbandry. *Wiener Tierärztliche Monatenschrift* 90, 202–210.
199. Reece, W.O., (1998). Fyziologie domácích zvířat. Grada Publishing, Praha, 456 s.
200. Reed, K.F.M., Moore, D.D., (2009). A preliminary survey of zearalenone and other mycotoxins in Australian silage and pasture. *Animal Production Science* 49, 696–703.
201. Rempe, I., Kersten, S., Valenta, H., Dänicke, S., (2013). Hydrothermal treatment of naturally contaminated maize in the presence of sodium metabisulfite, methylamine and calcium hydroxide; effects on the concentration of zearalenone and deoxynivalenol. *Mycotoxins research* 29, 169–175.
202. Reynolds, C.K., Tyrrel, H.F., (2000). Energy metabolism in lactating beef heifers. *Journal of Animal Science* 78, 2696–2705.
203. Richardson, K.E., Hagler, W.M., Mirocha, C.J., (1985). Production of zearalenone, α - and β -zearalanol by *Fusarium* spp. in rice culture. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 33, 862–866.

204. Russel, L., Cox, D.F., Larsen, G., Bodwell, K., Nelson, C.E., (1991). Incidence of moulds and mycotoxins in commercial animal feed mills in seven midwestern states 1988 – 1989. *Journal of Animal Science* 69, 5–12.
205. Samuel, D.E., (1967). A review of the effects of plant estrogenic substances on animal reproduction. *The Ohio Journal of Science* 67, 308–312.
206. Santin, E., Paulillo, A.C., Nakagui, L.S.O., Allesi, A.C., Polveiro, W.J.C., Maiorka, A., (2003). Evaluation of cell wall yeast as adsorbent of ochratoxin in broilers diets. *International Journal of Poultry Science* 2, 465–468.
207. Santschi, D.E., Lefebvre, D.M., Cue, D.I., Girard, C.L., Pellerin, D., (2011). Incidence of metabolic disorders and reproductive performance following a short (35 – d) or conventional (60 – d) dry period management in commercial holstein herds. *Journal of Dairy Science* 94, 3322–3330.
208. Scott, A.M., Nisbet, D.J., (1992). Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* 75, 1736–1744.
209. Scott, P.R., Penny, C.D., Macrae, A.I., (2011). Cattle medicine. Manson Publishing Ltd/The Veterinary Press, UK, 289 s.
210. Seeling, K., Labzien, P., Dänicke, S., Spilke, J., Südekum, K.H., Flachowsky G., (2006). Effects of level of feed intake and *Fusarium* toxin-contaminated wheat on rumen fermentation as well as on blood and milk parameters in cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90, 103–115.
211. Sharma, R.P., (1993). Immunotoxicity of mycotoxins. *Journal of Dairy Science* 76, 892–897.
212. Shearer, J.K., Giesy, R., (1991). Metabolic diseases of dairy cattle. *Proceedings of the 28th annual Florida Dairy Production Conference*, 71–88.
213. Sheldon, I.M., Wothes, D.C, Dobson, H., (2006). The management of bovine reproduction in elite herds: review. *Veterinary Journal* 171, 70–78.
214. Schatzmayr, G., Taubel, M., Vekiru, E., Moll, D., Schatzmayr, D., Binder, E.M., Krska, R., Loibner, A.P., (2006). Detoxification of mycotoxins by biotransformation. *Mycotoxin Factbook*, 3rd World Mycotoxin Forum, pp. 363–375.
215. Schmidt, R., (1986). HPLC of trichothecenes – separation of neosolaniol, NT-toxin, and NT-2 toxin. *Mycotoxin Research* 2, 39–43.
216. Schwartz, G., Rhoads, M.L., VanBaale, M.J., Rhoads, R.P., Baumgard, L.H., (2009). Effect of supplemental yeast culture on heat-stressed lactating holstein cows. *Journal of Dairy Science* 92, 935–942.
217. Skladanka, J., Dohnal, V., Dolezal, P., Jezkova, A., Zeman, L., (2009). Factors affecting the content of ergosterol and zearalenone in selected grass species at the end of the growing season. *Acta Veterinaria Brno* 78, 353–360.
218. Skřivánek, M., Šlosárková, S., Fleischer, P., Dvořák, P., (2002). Peripartální období – klíč k plnohodnotné produkci dojníc. *Veterinářství* 52, 175–180.
219. Slavík, P., Illek, J., Matějčík, M., Klouda, Z., (2004). Mléko jako ukazatel zdraví dojníc – bílkoviny. *Veterinářství* 54, 459–464.
220. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/32/ES ze dne 7. května 2002 o nežádoucích látkách v krmivech.
221. Smith, T.K., (1980). Influence of dietary fiber, protein and zeolite on zearalenone toxicosis in rats and swine. *Journal of Animal Science* 50, 278–285.
222. Smith, J.E., Moss, M.O., (1985). *Mycotoxins: formation, analysis and significance*. Chichester, New York, John Wiley and Sons.

223. Sogstad, A.M., Osteras, O., Fjeldaas, T., (2006). Bovine clae and limb disorders related to reproductive performance and production diseases. *Journal of Dairy Science* 89, 2519–2528.
224. Socha M.T., Tomlinson D.J., Rapp C.J., Johnson B.A., (2002). Lameness: diagnosis and impact on reproduction. *Hoof Health Conference*, Columbus, Ohio USA, pp. 16–17.
225. Sorensen, L.K., Elbaek, T.H., (2005). Determination of mycotoxins in bovine milk by liquid chromatography tandem mass spektrometry. *Journal of Chromatography B-analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 820,183–196.
226. Sova, Z., Pohunková, H., Reisnerová, H., Slámová, A., Haisl, K., (1991). Hematological and histological response to the diets containing aflatoxins B1 and zeolite in broilers of domestic fowl. *Acta Veterinaria Brno* 60, 31–40.
227. Stanley, V.G., Ojo, R., Wolddesenbet, S., Hutchinson, D.H., (1993). The use of *Saccharomyces cerevisiae* to suppress the effects of aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Science* 72, 1867–1872.
228. Stephan, K., Kauffold, J., Wähner, M., (2007). Zearalenon and its effect on sows and piglets. *Research in Pig Breeding* 1, 1–3.
229. Still, P., Wei, R.D., Smalley, E.B., (1972). A mycotoxin from penicillium roqueforti isolated from toxic cattle feed. *Fedder Proceedings* 31, 733.
230. Stoev, S.D., Goundasheva, D., Mirtcheva, T., Pavlov, D., Mentle, P.G., (2000). Susceptibility to secondary bacterial infections in growing pigs as an early response in ochratoxicosis. *Experimental and Toxicologic Pathology* 52, 287–296.
231. Stoev, S.D., Djuvinov, D., Mirtcheva, T., Pavlov, D., Mentle, P.G., (2002). Studies of some feed additives giving partial protection againts ochratoxin A toxicity in chicks. *Toxicology Letters* 135, 33–50.
232. Suchý, P., Herzig, I., (2004). Zpráva vědeckého výboru výživy zvířat. Plísně a mykotoxiny – Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech. Vědecký výbor výživy zvířat Brno, 19.
233. Swanson, S.P., Nicoletti, J., Rood, H.D. Jr., Buck, W., Cote, L.M., (1987). Metabolism of three trichothecene mycotoxins, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, and deoxynivalenol, by bovine rumen microorganisms. *Journal of Chromatography* 414, 335–342.
234. Šimůnek, J., Březina P., (1997). Kyselina cyklopiazonová - méně známá kontaminanta potravin (Cyclopiazonic acid - less known contaminant of foods). *Sborník Vysoké školy pozemních vojsk, VŠPV Vyškov*, p. 5-16. 1.
235. Šimůnek, J. (2003). Mykotoxiny. Dostupné na: www.med.muni.cz/prelek/mykotw/mtobec.htm (navštíveno online 10.10.2014).
236. Takagi, M., Mukai, S., Kuriyagawa, T., Takagaki, K., Uno, S., Kokushi, E, Otoi, T., Budiiyanto, A., Shirasuna, K., Miyamoto, A., Kawamura, O., Okamoto, K., Deguchi, E., (2008). Detection of zearalanone and its metabolites in naturally contaminated follicular fluids by using LC/MS/MS and in vitro effects of zearalenone on oocyte maturation in cattle. *Reproductive Toxicology* 26, 164–169.
237. Tapia, M.O., Stern, M.D., Soraci, A.L., Meronuck, R., Olson, W., Gold, S., Koski-Hulbert, R.L., Murphy, M.J., (2005). Patulin producing molds in corn silage and high moisture corn and effects of patulin on fermentation by ruminal microbes in continous culture. *Animal and Feed Science and Technology* 119, 247–258.

238. Tomasevic-Canovic, M., Dumic, M., Vukicevic, O., Duricic, M., Jovanovic, S., (1996). Adsorption effects of mineral adsorber on the clinoptilolite basis .2. adsorption behaviour in the presence of amino-acids and vitamins. *Acta Veterinaria Beograd* 46, 227–234.
239. Towers, N.R., Sprosen, J.M., (1993). Zearalenone-induced infertility in sheep and cattle in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 41, 223–224.
240. Trucksess, M.W., (1997). Mycotoxins. *Journal of Association of Official Analytical Chemists International* 80, 119–126.
241. Urban, F., (1997). Chov dojeného skotu. Praha, 289 s.
242. Veldman, V., Meijst, J.A.C., Borggreve, J., Heers-van der Tol, J.J., (1992). Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. *Animal Production* 55, 163–168.
243. Velíšek, J., Davídek, J., Dobiáš, J., Doležal, M., Dostálová, J., a kol., (1999). Chemie potravin 3. OSSIS Tábor, 368 s.
244. Vesonder, R.F., Horn, B.W., (1985). Sterigmatocystin in dairy cattle feed contaminated with *Aspergillus versicolor*. *Applied and Environmental Mikrobiology* 49, 234–235.
245. Vyhláška č. 451/2000 ze dne 11. prosince 2000, kterou se provádí zákon o krmivech, ve znění zákona č. 244/2000 Sb., ve znění vyhlášky č. 343/2001, č. 72/2001 Sb., č. 169/2002 Sb., č. 544/2002 Sb., č. 284/2003 Sb., č. 434/2003 Sb., č. 184/2004 Sb., č. 77/2005 Sb. a č. 84/2006 Sb., č. 278/2007 Sb.
246. Vyhláška č. 356/2008 ze dne 16. září 2008, kterou se provádí zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů.
247. Vyhláška č. 415/2012 ze dne 21. listopadu 2012 o přípustné úrovni znečišťování a jejím zjišťování a o provedení některých dalších ustanovení zákona o ochraně ovzduší ve znění vyhlášky č. 155/2014 Sb.
248. Wallace, R.J., (1994). Ruminant microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: progress and problems. *Journal of Animal Science* 72, 2992–3003.
249. Walkenhorst M., (2012). Impact of animal health and welfare planning on medicine use, herd health and production in European organic dairy farms. *Livestock Science* 145, 63–72.
250. Weaver, G.A., Kurtz, H.J., Behrens, J.C., Robison, T.S., Seguin, B.E., Bates, F.Z., Mirocha, C. J., (1986). Effect of zearalenone on the fertility of virgin dairy heifers. *American Journal of Veterinary Research* 47, 1395–1397.
251. Wenz, J., Jensen, S., Lombard, J., Wagner, B., Dinsmore, R., (2007). Herd management practices and their association with bull tank somatic cell count on United States dairy operations. *Journal of Dairy Science* 90, 3652–3659.
252. Westlake, K. Mackie, R.I., Dutton, M.F., (1987). T-2 toxin metabolism by ruminal bacteria and its effect on their growth. *Applied Environmental Microbiology* 53, 587–592.
253. Westlake, K., Mackie, R.I., Dutton, M.F., (1989). In vitro metabolism of mycotoxins by bacterial, protozoal and ovine ruminal fluid preparations. *Animal Feed Science and Technology* 25, 169–178.
254. Whitlow, L.W., Nebel, R.L., Hagler, W.M., (1994). The association of deoxynivalenol in grain with milk production loss in dairy cows. In: Biodeterioration Research 4. Plenum Press, New York, pp.131–139.
255. Whitlow, L.W., Hagler, W.M., (2005). Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs* 77, 69–79.
256. Whitlow, L.W., (2011). Molds and mycotoxins in your dairy feeds. North Carolina State University, Raleigh, *Dairy Health Conference*, pp. 1–29.

257. Wiedmeier, R.D., Arambel, M.J., Walters, J.L., (1987). Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *Journal of Dairy Science* 70, 2063–2068.
258. Wilcox, C.J., (1999). Large dairy herd management. *American Dairy Science Assotiation*, 500 s.
259. Wild, C.P., Gong, Y.Y., (2010). Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis* 31, 71–82.
260. Williams, P.E., Tait, C.A., Innes, G.M., Newbold, C.J., (1991). Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *Journal of Animal Science* 69, 3016–3026.
261. Wintzer, H.J., (1999). Nemoci koní. Hajko & Hajková Bratislava, 1. vydání, 538 s.
262. Withanage, G.S., Murata, H., Koyama, T., Ishiwata, I., (2001). Agonistic and antagonistic effects of zearalenone, an estrogenic mycotoxin, on SKN, HHUA, and Hep G2 human cancer cell lines. *Veterinary and Human Toxikology* 43, 6–10.
263. Wogan, G.N., (1966). Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. *Bactriological Rview* 2, 460–470.
264. WHO (World Health Organization), (2002). The world health report 2002. Reducing risks promoting healthy life. Dostupné na: <http://www.who.int/whr/en/> (navštíveno 7.8.2014).
265. Wwww.biolib.cz, (2014). Dostupné na: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id357873/> (navštíveno 7.10.2014).
266. Yiannikouris A., Jouany J.P., (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals: Review. *Animal Research* 51, 81–89.
267. Yiannikouris, A., Francois, J., Poughon, L., Dussap, C.G., Bertin, G., Jeminet, G., Jouany, J.P., (2004). Adsorption of zearalenone by Beta-D-glukans in the saccharomyces cerevisiae cell wall. *Journal of Food Protection* 67, 1195–1200.
268. Yoon, I.K., Stern, M.D., (1996). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79, 411–417.
269. Zákon č. 91/1996 ze dne 15. března 1996 Sb., Zákon o krmivech, ve znění zákona č 244/2000 Sb., č 147/2002 Sb., č 320/ 2002 Sb., č. 21/2004 Sb., úplné znění č. 114/2004 Sb. č 444/2005 Sb., č 214/2007 Sb.
270. Zákon č. 110/1997 o potravinách a tabákových výrobcích a prováděcí vyhláška 53 Sb.
271. Zdunczyk, S., Zerbe, H., Hoedemaker, M., (2003). Importance of estrogens and estrogen-active compounds for udder health in cattle. A review, *Deutsche tierärztliche wochenschrift*, 110, 461 – 465.
272. Zeman, L., a kol., (2006). Výživa a krmení hospodářských zvířat. Profipress Praha, 360 s.
273. Zinedine, A., Soriano, J.M., Molto, J.C., Manes, J., (2007). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin, *Food and chemical toxikology* 45, 1– 18.
274. Zulu, V.C., Penny, C., (1998). Risk factors of cystic ovarian disease in dairy cattle, *Journal of reproduction and development* 44, 191–195.
275. JECFA (engl. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives - JECFA), (2006). The case of maximum levels for ochratoxin A (OTA) in cereals. *Good Hygiene Practices Along the Coffee Chain*, 3s.

276. USAMRIID (U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases) (2011).
USAMRIID's medical management of biological casualties handbook. U.S.
Army Medical Research, Maryland, 7. vydání, 269 s.

9. Vlastní literatura

- Starý J., Frelich J., Šlachta M., (2007). The health response of two dairy breeds to sub-mountains pasture conditions in the southern Bohemia. VII – medzinárodná vedecká konferencia Banská Bystrica, *Ekológia Travného Porastu*, 366–368.
- Frelich J., Šlachta M., Starý J., (2008). The milk performance and health response of dairy cows to seasonal pasture in Sub-mountain areas. *International Symposium on Agriculture Croatian*, 838–841.
- Frelich J., Šlachta M., Starý J., Rost M., (2008). The health status and milk performance of pastured and confined dairy herds in south Bohemia. *Journal of Agrobiology*, 177–183.
- Starý J., Frelich J., Šlachta M., (2008). Úroveň výskytu zearalenonu a T-2 toxínu v krmivech pro dojnice v LFA oblastech. Levels of mycotoxins zearalenon and T2-toxin in cows' feeds within LFA areas. *Biotechnologie*.
- Starý J., Frelich J., Kubešová M., (2008). Vztah mezi složkami mléka a četností zdravotních poruch u dojených stád využívajících sezónní pastvu. Relationship between milk composition and health diseases occurrence in seasonal pastured dairy herds. *Biotechnologie*.
- Čermák B., Frelich J., Vávrová L., Starý J., (2008). The Changes of Crude Protein, Crude Fibre and Lignin in Grazing Herbage and Their Influence on Milk Yield in Selected Dairy Herds in LFA Areas. Pohořelice.
- Starý J., Svoboda V., Frelich J., (2010). Evaluation of the Efficacy of Purified Silicic Acid to Reduce the Toxicity of Mycotoxins on Somatic Cells of Dairy Cows. Den mléka, Praha.

10. Přílohy

Příklad Krmná dávky pro dojnice, (Prima Agri)

Kategorie		Dojnice	Dojnice	Suchostojné	Součty a průměry	
Počet kusů		600	600	600	3	
Hmotnost (kg)		600	600	600	600	
Užitkovost (l/kg)		29,9	19,5	----	24,7	
Faze laktace		2	7	----	5	
Cena za 1 (Kč) - NEL-skot		1.83	1.37	----	1.65	
Kód	Krmná dávka číslo Název (kg/kus) Název krmiva	1.přípustná 1,0 (kg)	2.přípustná 1,0 (kg)	3.přípustná 1,0 (kg)	Celkový návoz na den (t)	Celkový návoz na období (t)
993440	Kukuřice Nebahovy	22.000	18.000	3.000	0.043	0.043
1340	Luční seno průměrné	----	----	3.000	0.003	0.003
316	Sul krmná	----	0.050	0.030	0.000	0.000
1400	Ječná sláma průměr	0.750	0.750	1.000	0.003	0.003
993713	DOVpra	8.500	3.500	----	0.012	0.012
993590	senáž Prachatice	14.000	17.000	17.000	0.048	0.048
130	Sojovy extr. srot (48%)	0.500	0.500	0.300	0.001	0.001
993655	CRISTAL OPTIMUM	0.100	0.150	----	0.000	0.000
993385	ANTI-ACIDOSIS	0.100	----	----	0.000	0.000
314	krmny vapenec	0.150	0.100	----	0.000	0.000
993406	CRISTAL 10/5/9 SE	----	----	0.200	0.000	0.000
Krmná dávka-návoz (kg/kus)		46.100	40.050	24.530		
Celkový návoz KD na den (t)		0.046	0.040	0.025		
Sušina krmné dávky (%)		44.69	40.15	45.23		
Sušina (g)		20600.3	16081.2	11094.1		
NEL-skot (MJ)		136.013	100.009	----		
PDIN/PDIE		1.092	1.048	----		
NEL/Sušina		6.603	6.219	5.192		
NL/Sušina		17.174	14.894	11.688		
VI/Sušina		15.660	19.463	27.976		
Ca/P		2.929	2.719	1.446		
K/Na		4.226	4.724	6.177		
PDI-A/NL		28.603	25.338	----		
%tuku/sušina		2.275	2.077	----		

Příklad Složení jadrné směsi DOVP, (Prima Agri)

(c) AgroKonzulta Zámberk s.r.o., Tel:+420 465676767, Fax:+420 465676700, E-mail: krmprg@agrokonzulta.cz	
(Výživa skotu	
v6.040+)	
NÁVRH KRMNÉ SMĚSI	
List: 1 10.10.2009	
(KDS0002160)	
<p>Číslo výpočtu: 60/2 Název: Dojnice Období od: 3. 1.2008 do: 3. 1.2008 Datum výpočtu: 10.10.2009 Norma: 300 Dojnice</p>	
Složení navržené krmné směsi	
Cena Složení	
Kód	Název krmiva (Kč/t) (%)
# 10	Jecmen semeno 0000.00 19.000
# 5	Pšenice semeno prumerne 0000.00 19.000
# 130	Sojovy extr. srot (48%) 0000.00 28.000
# 20	KUKURICE semeno 0000.00 18.000
# 3687	Sojovy olej 00000.00 0.500
# 314	krmny vapenec 0000.00 2.500
# 316	Sul krmna 0000.00 0.500
993655	CRISTAL OPTIMUM 00000.00 2.500
# 100	Repka extrah. srot typ 0000.00 10.000
Vyhodnocení živinových ukazatelů	
Ukazatel Jednotka Složení	
Sušina (g)	887.0
N-Látky (g)	232.64
PDIA (g)	80.01
PDIN (g)	160.81
PDIE (g)	129.76
Tuk (g)	25.329
Vláknina (g)	42.96
Škrob (g)	343.750
NEL-skot (MJ)	6.871
Vápník (g)	15.559
Fosfor (g)	6.058
Sodík (g)	5.309
Draslík (g)	8.97
Chlór (g)	3.94
Hořčík (g)	3.473
Síra (g)	2.084
Měď (mg)	51.38
Mangan (mg)	119.36
Zinek (mg)	200.32
Selen (mg)	0.669
Jód (mg)	1.684
Vit.A (m.j.)	12500
Vit.D (m.j.)	2500
Tokoferol (mg)	35.90
Niacin (mg)	44.38
Kys.mléčná(g)	0.00
Kys.octová(g)	0.00
Kys.másel.(g)	0.00
.....	
PDIN/PDIE	1.239
NEL/Sušina	7.746
NL/Sušina	26.226
Vl/Sušina	4.843
Ca/P	2.568
K/Na	1.689
PDI-A/NL	34.391
%tuku/susina	2.855
Vyhodnocení krmné směsi	
Cena krmné směsi (Kč/t) : 5526.00	

Obsah mykotoxinů ve vyšetřených vzorcích

Podnik 1					Podnik 2				
Datum	Krmivo	ZEA	T-2	DON	Datum	Krmivo	ZEA	T-2	DON
29.6.2006	KS Skot			105	6.10.2008	KS Skot			375
29.6.2006	KS Skot	25	11		6.10.2008	KS Skot		36	
29.6.2006	Kukuřičná siláž	60	324		6.10.2008	KS Skot	106	9	
28.3.2007	Senáž	26	32		6.10.2008	Senáž	52	140	
28.3.2007	Seno	46	24		19.10.2008	Seno	36	56	
28.3.2007	KS Skot	25	9		19.10.2008	Senáž	25	212	
28.3.2007	Seno	62	10		19.10.2008	Sláma	47	14	
28.3.2007	Senáž	62	16		19.10.2008	KS Skot	25	19	
28.3.2007	Zavadlá tráva	25	7.5		19.10.2008	Senáž	68	12	
28.3.2007	KS Skot	25	7.5		19.10.2008	Zavadlá tráva	129	8	
28.3.2007	Zavadlá tráva	25	9		19.10.2008	Kukuřičná siláž	70	7.5	
28.3.2007	TMR Skot	40	44		19.10.2008	Seno	58	12	
4.7.2007	Senáž	34	498		19.10.2008	Zavadlá tráva	38	18	
4.7.2007	Seno	40	30		19.10.2008	Senáž	72	24	
4.7.2007	KS Skot	25	26		19.10.2008	KS Skot	25	88	
4.7.2007	KS Skot	100	968		19.10.2008	Kukuřičná siláž	172	21	
4.7.2007	TMR Skot	106	788		19.10.2008	Kukuřičná siláž	86	9	
4.7.2007	KS Skot		19	152	19.10.2008	Senáž	88	12	
4.7.2007	KS Skot		40	230	19.10.2008	KS Skot		180	
4.7.2007	Senáž	28	52		19.10.2008	KS Skot		210	
4.7.2007	Kukuřičná siláž	84	33		19.10.2008	KS Skot		33	553
16.9.2007	Seno	25	24		19.10.2008	Senáž	54	40	
16.9.2007	Senáž	82	664		19.10.2008	KS Skot	70	28	
16.9.2007	KS Skot		266	461	19.10.2008	Senáž	176	87	
16.9.2007	Kukuřičná siláž		224		19.10.2008	Kukuřičná siláž	178	351	
16.9.2007	Kukuřičná siláž		900		4.12.2008	Senáž	44	162	
16.9.2007	Senáž		60	160	4.12.2008	Kukuřičná siláž	28	88	
25.9.2007	Kukuřičná siláž	289	620		29.1.2009	Senáž	290	272	
16.11.2007	Senáž	152	100		29.1.2009	Senáž	154	924	
16.11.2007	Kukuřičná siláž	604	32		29.1.2009	KS Skot			410
16.11.2007	Seno	32	36		20.5.2009	Senáž	74	51	
16.11.2007	Kukuřičná siláž		896		23.4.2009	Kukuřičná siláž	32	45	
16.11.2007	Senáž		40		23.4.2009	Senáž	38	164	
14.2.2008	Kukuřičná siláž	128	152		20.5.2009	Kukuřičná siláž	52	236	
14.2.2008	Senáž	25	12		20.5.2009	Senáž	54	260	
14.2.2008	Senáž	28	80		20.5.2009	Senáž	134	68	
29.2.2008	Kukuřičná siláž	25	136		20.5.2009	Kukuřičná siláž		180	
4.3.2008	Seno	86	20		26.6.2009	Kukuřičná siláž		292	

4.3.2008	Kukuřičná siláž	106	32		20.7.2009	Senáž	78	135	
15.4.2008	Senáž	42	32		24.8.2009	Kukuřičná siláž	28	15	
19.5.2008	Seno	60	20		6.10.2009	Seno	52	21	
19.5.2008	Kukuřičná siláž	146	16		6.10.2009	Kukuřičná siláž	44	32	
19.5.2008	Seno	25	27		24.2.2010	KS Skot	32	36	
19.5.2008	Senáž	25	21		9.4.2010	Senáž	72	668	
19.5.2008	KS Skot	46	36		13.4.2010	Kukuřičná siláž	25	28	
19.5.2008	Senáž	74	40		13.4.2010	Seno	48	36	
19.5.2008	Senáž	90	72		24.4.2010	KS Skot	48	44	
19.5.2008	Kukuřičná siláž	46	124		27.4.2010	Senáž		40	
19.5.2008	Senáž		196		27.4.2010	Kukuřičná siláž		528	
19.5.2008	Kukuřičná siláž		620		27.4.2010	Senáž		356	
22.5.2008	Kukuřičná siláž		932		11.5.2010	Senáž		40	
22.5.2008	Kukuřičná siláž		460		20.5.2010	KS Skot			161
23.5.2008	Senáž		80		13.8.2010	Kukuřičná siláž		99	
23.5.2008	Kukuřičná siláž		420		13.8.2010	Senáž		28	
10.6.2008	Kukuřičná siláž		560		27.1.2011	Kukuřičná siláž	134		1329
18.6.2008	Senáž		111		27.1.2011	Kukuřičná siláž	64		678
18.6.2008	Senáž		44		27.1.2011	Senáž			234
4.7.2008	Senáž		40		29.6.2011	Senáž			512
19.7.2008	Kukuřičná siláž			732	29.6.2011	KS Skot			107
19.7.2008	Senáž		44	446	29.9.2011	Kukuřičná siláž	142		744
19.7.2008	Senáž			257	29.9.2011	Senáž			508
19.7.2008	Kukuřičná siláž			805	2.12.2011	Kukuřičná siláž			939
19.7.2008	KS Skot			529	3.1.2012	Senáž			238
19.7.2008	Kukuřičná siláž			782	18.7.2012	Kukuřičná siláž			525
19.7.2008	Senáž			281	2.12.2012	Senáž			796
12.8.2008	Senáž			381	2.12.2012	KS Skot			657
12.8.2008	KS Skot		146	237	29.5.2013	Kukuřičná siláž			867
12.8.2008	Kukuřičná siláž			220	29.5.2013	Kukuřičná siláž			501
					29.5.2013	KS Skot			312
					29.5.2013	Kukuřičná siláž			468

Onemocnění podnik 1, absolutní hodnoty a přepočteno na 100 ks (n = 180)

Rok	Měsíc	Absolutní hodnoty						Přepočteno na 100 ks (n=350)					
		Ml. Žláza	MTB	Repro	Končetiny	Jiná	Celkem	Ml. Žláza	MTB	Repro	Končetiny	Jiná	Celkem
2008	I.	6	1	6	1	0	14	3,33	0,56	3,33	0,56	0,00	7,78
2008	II.	3	2	8	3	2	18	1,67	1,11	4,44	1,67	1,11	10,00
2008	III.	5	1	5	2	0	13	2,78	0,56	2,78	1,11	0,00	7,22
2008	IV.	7	0	3	4	0	14	3,89	0,00	1,67	2,22	0,00	7,78
2008	V.	5	2	6	2	0	15	2,78	1,11	3,33	1,11	0,00	8,33
2008	VI.	4	1	2	3	1	11	2,22	0,56	1,11	1,67	0,56	6,11
2008	VII.	7	1	5	0	0	13	3,89	0,56	2,78	0,00	0,00	7,22
2008	VIII.	9	3	3	2	0	17	5,00	1,67	1,67	1,11	0,00	9,44
2008	IX.	4	0	2	4	1	11	2,22	0,00	1,11	2,22	0,56	6,11
2008	X.	2	2	5	1	0	10	1,11	1,11	2,78	0,56	0,00	5,56
2008	XI.	4	1	7	0	0	12	2,22	0,56	3,89	0,00	0,00	6,67
2008	XII.	3	1	4	2	0	10	1,67	0,56	2,22	1,11	0,00	5,56
2009	I.	7	0	8	0	4	19	3,89	0,00	4,44	0,00	2,22	10,56
2009	II.	4	2	2	1	0	9	2,22	1,11	1,11	0,56	0,00	5,00
2009	III.	5	0	9	4	0	18	2,78	0,00	5,00	2,22	0,00	10,00
2009	IV.	3	1	7	3	0	14	1,67	0,56	3,89	1,67	0,00	7,78
2009	V.	3	0	8	1	0	12	1,67	0,00	4,44	0,56	0,00	6,67
2009	VI.	4	2	6	3	0	15	2,22	1,11	3,33	1,67	0,00	8,33
2009	VII.	4	3	6	4	0	17	2,22	1,67	3,33	2,22	0,00	9,44
2009	VIII.	5	3	5	3	0	16	2,78	1,67	2,78	1,67	0,00	8,89
2009	IX.	3	1	4	3	0	11	1,67	0,56	2,22	1,67	0,00	6,11
2009	X.	2	0	2	3	0	7	1,11	0,00	1,11	1,67	0,00	3,89
2009	XI.	4	3	5	1	0	13	2,22	1,67	2,78	0,56	0,00	7,22
2009	XII.	4	0	4	2	0	10	2,22	0,00	2,22	1,11	0,00	5,56
2010	I.	5	0	4	2	0	11	2,78	0,00	2,22	1,11	0,00	6,11
2010	II.	2	1	2	1	0	6	1,11	0,56	1,11	0,56	0,00	3,33
2010	III.	3	1	3	5	0	12	1,67	0,56	1,67	2,78	0,00	6,67
2010	IV.	4	3	6	2	0	15	2,22	1,67	3,33	1,11	0,00	8,33
2010	V.	2	1	3	2	0	8	1,11	0,56	1,67	1,11	0,00	4,44
2010	VI.	3	1	3	4	0	11	1,67	0,56	1,67	2,22	0,00	6,11
2010	VII.	5	1	4	3	0	13	2,78	0,56	2,22	1,67	0,00	7,22
2010	VIII.	4	2	7	2	0	15	2,22	1,11	3,89	1,11	0,00	8,33
2010	IX.	4	2	6	2	0	14	2,22	1,11	3,33	1,11	0,00	7,78
2010	X.	3	1	2	3	0	9	1,67	0,56	1,11	1,67	0,00	5,00
2010	XI.	4	2	4	3	0	13	2,22	1,11	2,22	1,67	0,00	7,22
2010	XII.	5	3	4	2	0	14	2,78	1,67	2,22	1,11	0,00	7,78
2011	I.	5	2	3	1	1	12	2,78	1,11	1,67	0,56	0,56	6,67
2011	II.	3	1	5	2	1	12	1,67	0,56	2,78	1,11	0,56	6,67
2011	III.	4	1	1	4	0	10	2,22	0,56	0,56	2,22	0,00	5,56
2011	IV.	4	0	4	3	0	11	2,22	0,00	2,22	1,67	0,00	6,11
2011	V.	1	1	4	2	0	8	0,56	0,56	2,22	1,11	0,00	4,44
2011	VI.	2	0	3	2	0	7	1,11	0,00	1,67	1,11	0,00	3,89
2011	VII.	5	0	4	3	0	12	2,78	0,00	2,22	1,67	0,00	6,67
2011	VIII.	3	0	5	4	0	12	1,67	0,00	2,78	2,22	0,00	6,67
2011	IX.	5	0	6	2	0	13	2,78	0,00	3,33	1,11	0,00	7,22
2011	X.	4	0	5	1	0	10	2,22	0,00	2,78	0,56	0,00	5,56
2011	XI.	7	0	7	3	0	17	3,89	0,00	3,89	1,67	0,00	9,44

2011	XII.	3	0	7	4	0	14	1,67	0,00	3,89	2,22	0,00	7,78
2012	I.	4	0	4	4	0	12	2,22	0,00	2,22	2,22	0,00	6,67
2012	II.	3	2	4	0	0	9	1,67	1,11	2,22	0,00	0,00	5,00
2012	III.	4	1	3	2	0	10	2,22	0,56	1,67	1,11	0,00	5,56
2012	IV.	3	0	2	0	0	5	1,67	0,00	1,11	0,00	0,00	2,78
2012	V.	4	0	4	1	0	9	2,22	0,00	2,22	0,56	0,00	5,00
2012	VI.	5	0	6	0	0	11	2,78	0,00	3,33	0,00	0,00	6,11
2012	VII.	3	0	4	0	0	7	1,67	0,00	2,22	0,00	0,00	3,89
2012	VIII.	5	0	2	3	0	10	2,78	0,00	1,11	1,67	0,00	5,56
2012	IX.	4	0	3	0	0	7	2,22	0,00	1,67	0,00	0,00	3,89
2012	X.	1	0	4	0	0	5	0,56	0,00	2,22	0,00	0,00	2,78
2012	XI.	3	1	6	2	0	12	1,67	0,56	3,33	1,11	0,00	6,67
2012	XII.	4	1	3	1	0	9	2,22	0,56	1,67	0,56	0,00	5,00
2013	I.	3	1	3	0	1	8	1,67	0,56	1,67	0,00	0,56	4,44
2013	II.	4	1	5	2	0	12	2,22	0,56	2,78	1,11	0,00	6,67
2013	III.	4	0	2	1	0	7	2,22	0,00	1,11	0,56	0,00	3,89
2013	IV.	2	0	1	2	0	5	1,11	0,00	0,56	1,11	0,00	2,78
2013	V.	3	0	3	2	0	8	1,67	0,00	1,67	1,11	0,00	4,44
2013	VI.	4	2	4	1	0	11	2,22	1,11	2,22	0,56	0,00	6,11
2013	VII.	6	0	5	0	0	11	3,33	0,00	2,78	0,00	0,00	6,11
2013	VIII.	4	0	3	0	0	7	2,22	0,00	1,67	0,00	0,00	3,89
2013	IX.	3	0	2	2	0	7	1,67	0,00	1,11	1,11	0,00	3,89
2013	X.	4	1	5	1	0	11	2,22	0,56	2,78	0,56	0,00	6,11
2013	XI.	2	0	7	1	0	10	1,11	0,00	3,89	0,56	0,00	5,56
2013	XII.	5	0	2	0	0	7	2,78	0,00	1,11	0,00	0,00	3,89

Onemocnění podnik 2, absolutní hodnoty a přepočteno na 100 ks (n = 350)

Rok	Měsíc	Absolutní hodnoty						Přepočteno na 100 ks (n=350)					
		Ml. Žláza	MTB	Repro.	Končetiny	Jiná	Celkem	Ml. Žláza	MTB	Repro.	Končetiny	Jiná	Celkem
2008	I.	11	2	6	14	0	33	3,14	0,57	1,71	4,00	0,00	9,43
2008	II.	18	2	15	18	1	54	5,14	0,57	4,29	5,14	0,29	15,43
2008	III.	25	1	22	14	0	62	7,14	0,29	6,29	4,00	0,00	17,71
2008	IV.	12	0	18	15	0	45	3,43	0,00	5,14	4,29	0,00	12,86
2008	V.	15	0	14	11	0	40	4,29	0,00	4,00	3,14	0,00	11,43
2008	VI.	20	2	10	9	0	41	5,71	0,57	2,86	2,57	0,00	11,71
2008	VII.	11	2	7	6	1	27	3,14	0,57	2,00	1,71	0,29	7,71
2008	VIII.	14	1	11	12	0	38	4,00	0,29	3,14	3,43	0,00	10,86
2008	IX.	10	0	7	5	0	22	2,86	0,00	2,00	1,43	0,00	6,29
2008	X.	17	0	18	11	0	46	4,86	0,00	5,14	3,14	0,00	13,14
2008	XI.	11	3	12	7	0	33	3,14	0,86	3,43	2,00	0,00	9,43
2008	XII.	22	2	8	11	0	43	6,29	0,57	2,29	3,14	0,00	12,29
2009	I.	23	0	5	13	2	43	6,57	0,00	1,43	3,71	0,57	12,29
2009	II.	16	0	11	10	1	38	4,57	0,00	3,14	2,86	0,29	10,86
2009	III.	8	1	16	6	0	31	2,29	0,29	4,57	1,71	0,00	8,86
2009	IV.	8	0	10	14	3	35	2,29	0,00	2,86	4,00	0,86	10,00
2009	V.	10	0	14	17	1	42	2,86	0,00	4,00	4,86	0,29	12,00
2009	VI.	16	0	12	6	0	34	4,57	0,00	3,43	1,71	0,00	9,71
2009	VII.	11	3	10	4	0	28	3,14	0,86	2,86	1,14	0,00	8,00
2009	VIII.	12	0	8	5	4	29	3,43	0,00	2,29	1,43	1,14	8,29
2009	IX.	10	0	11	16	0	37	2,86	0,00	3,14	4,57	0,00	10,57

2009	X.	15	2	6	5	0	28	4,29	0,57	1,71	1,43	0,00	8,00
2009	XI.	9	0	8	16	5	38	2,57	0,00	2,29	4,57	1,43	10,86
2009	XII.	10	0	11	6	0	27	2,86	0,00	3,14	1,71	0,00	7,71
2010	I.	12	1	6	6	0	25	3,43	0,29	1,71	1,71	0,00	7,14
2010	II.	8	0	7	12	3	30	2,29	0,00	2,00	3,43	0,86	8,57
2010	III.	4	0	3	9	1	17	1,14	0,00	0,86	2,57	0,29	4,86
2010	IV.	4	2	8	9	1	24	1,14	0,57	2,29	2,57	0,29	6,86
2010	V.	10	0	5	7	3	25	2,86	0,00	1,43	2,00	0,86	7,14
2010	VI.	5	0	9	14	5	33	1,43	0,00	2,57	4,00	1,43	9,43
2010	VII.	10	1	3	13	2	29	2,86	0,29	0,86	3,71	0,57	8,29
2010	VIII.	6	0	4	9	2	21	1,71	0,00	1,14	2,57	0,57	6,00
2010	IX.	9	0	8	18	7	42	2,57	0,00	2,29	5,14	2,00	12,00
2010	X.	10	0	3	11	7	31	2,86	0,00	0,86	3,14	2,00	8,86
2010	XI.	5	0	5	11	10	31	1,43	0,00	1,43	3,14	2,86	8,86
2010	XII.	2	0	3	3	1	9	0,57	0,00	0,86	0,86	0,29	2,57
2011	I.	2	0	3	3	1	9	0,57	0,00	0,86	0,86	0,29	2,57
2011	II.	3	2	1	3	3	12	0,86	0,57	0,29	0,86	0,86	3,43
2011	III.	5	0	8	4	1	18	1,43	0,00	2,29	1,14	0,29	5,14
2011	IV.	1	0	8	3	2	14	0,29	0,00	2,29	0,86	0,57	4,00
2011	V.	3	3	7	4	3	20	0,86	0,86	2,00	1,14	0,86	5,71
2011	VI.	5	1	11	3	11	31	1,43	0,29	3,14	0,86	3,14	8,86
2011	VII.	7	0	11	4	12	34	2,00	0,00	3,14	1,14	3,43	9,71
2011	VIII.	2	0	8	3	8	21	0,57	0,00	2,29	0,86	2,29	6,00
2011	IX.	3	2	10	15	3	33	0,86	0,57	2,86	4,29	0,86	9,43
2011	X.	8	1	7	6	11	33	2,29	0,29	2,00	1,71	3,14	9,43
2011	XI.	6	1	7	8	12	34	1,71	0,29	2,00	2,29	3,43	9,71
2011	XII.	5	0	5	11	10	31	1,43	0,00	1,43	3,14	2,86	8,86
2012	I.	11	1	6	4	3	25	3,14	0,29	1,71	1,14	0,86	7,14
2012	II.	6	0	5	3	5	19	1,71	0,00	1,43	0,86	1,43	5,43
2012	III.	7	0	5	2	5	19	2,00	0,00	1,43	0,57	1,43	5,43
2012	IV.	7	0	4	2	4	17	2,00	0,00	1,14	0,57	1,14	4,86
2012	V.	8	0	4	1	7	20	2,29	0,00	1,14	0,29	2,00	5,71
2012	VI.	10	0	10	4	4	28	2,86	0,00	2,86	1,14	1,14	8,00
2012	VII.	8	1	7	5	3	24	2,29	0,29	2,00	1,43	0,86	6,86
2012	VIII.	5	0	7	6	5	23	1,43	0,00	2,00	1,71	1,43	6,57
2012	IX.	8	0	6	4	4	22	2,29	0,00	1,71	1,14	1,14	6,29
2012	X.	6	1	8	5	3	23	1,71	0,29	2,29	1,43	0,86	6,57
2012	XI.	5	0	8	6	4	23	1,43	0,00	2,29	1,71	1,14	6,57
2012	XII.	3	0	4	5	8	20	0,86	0,00	1,14	1,43	2,29	5,71
2013	I.	11	1	9	5	4	30	3,14	0,29	2,57	1,43	1,14	8,57
2013	II.	10	2	5	11	6	34	2,86	0,57	1,43	3,14	1,71	9,71
2013	III.	4	3	10	7	2	26	1,14	0,86	2,86	2,00	0,57	7,43
2013	IV.	2	1	5	5	4	17	0,57	0,29	1,43	1,43	1,14	4,86
2013	V.	6	0	8	5	6	25	1,71	0,00	2,29	1,43	1,71	7,14
2013	VI.	7	0	9	3	4	23	2,00	0,00	2,57	0,86	1,14	6,57
2013	VII.	5	0	8	1	7	21	1,43	0,00	2,29	0,29	2,00	6,00
2013	VIII.	4	2	8	2	2	18	1,14	0,57	2,29	0,57	0,57	5,14
2013	IX.	5	0	1	5	4	15	1,43	0,00	0,29	1,43	1,14	4,29
2013	X.	7	1	4	3	6	21	2,00	0,29	1,14	0,86	1,71	6,00
2013	XI.	4	0	4	5	8	21	1,14	0,00	1,14	1,43	2,29	6,00
2013	XII.	2	0	3	7	3	15	0,57	0,00	0,86	2,00	0,86	4,29



Fotografie 1. Narušené okraje kukuřičné siláže



Fotografie 2. Čistě ukončená stěna v silážním žlabu, ale kontaminace zeminou



Fotografie 3. Nekvalitní nahnilá jetelotravní senáž



Fotografie 4. Detail nahnilé jetelotravní senáže

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AF aflatoxiny
AFB₁ aflatoxin B₁
AFM₁ aflatoxin M₁
AOAC Association of Official Agricultural, today Analytical Chemists
AST aspartátaminotransferáza
ATA akutní toxická aleukie
ATP adenosintrifosfát
BCS body condition score
CAST Council for Agricultural Science and Technology
CFU colony forming units
Cit citrinin
CL corpus luteum
CLP corpus luteum perzistens
CNS centrální nervová soustava
CPA cyclopiazonic acid
-COOH karboxylová skupina
DAS diacetoxyscirpenol
DFM direct fed microbial (v USA je tento termín užíván pro přidávané kultury bakterií)
DON Deoxynivalenol
EFSA European Food Safety Authority
ELEM equinní leukoencefalomalacie
ELISA enzyme linked immunosorbent assay
ER estrogenový receptor
Ergot ergotamin
E2 - 17 β -estradiol
FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations
FB₁ Fumonisin B₁
FDA Food drug administration v USA
FSH Folikulotropin
FUM fumonisin
GDH glutamátdehydrogenasa
GGT gama glutamiltransferasa

GIT gastrointestinální trakt
GnRH Gonadoliberiny
GSH-Px glutationperoxidázy
HBS Hemorrhagic bowel syndrome
HPLC high-performance liquid chromatography
HSCAS Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate
HT-2 HT-2 toxin
JECFA The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
KD krmná dávka
kJ kilojoule
LD 50 letální dávka
LH Lutropin
Lol lolitremy
MAS monoacetoxyscirpenol
MTB metabolická onemocnění a disfunkce bachoru
MVOCs Microbial Volatile Organic Compounds
NH₂ amino skupina
NIV nivalenol
NL dusíkaté látky
NRC National Research Council
OT ochratoxiny
OTA ochratoxin A
Pasp paspalitrem
PAT patulin
PCOS polycystický ovariální syndrom
pH záporný logaritmus vodíkových iontů
Phom phomopsin
PMDTI Provisional Maximum Tolerable Daily Intake
PPE parciální plicní edém
PSB hladina somatických buněk
Sat satratoxin
SB somatické buňky
SBS Sick-Building Syndrom
SCF Scientific Committee on Food of the European Commission

SEB stafylokokový enterotoxin B
SHBG sex hormon binding globulin
SOC syndrom ovariálních cyst
Spor sporidesmin
Sterig sterigmatocystin
TBG thiroxin binding globulin
TDI tolerable daily intake
Tenua tenuazoic acid kyselina tenuová
TMK těkavé mastné kyseliny
TMR směsná krmná dávka (total mixed ration)
T-2 T-2 toxin
USAMRIID U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases
VFA (TMK) těkavé mastné kyseliny
VVV vědecký výbor veterinární
Wa vodní aktivity
WHO World health organization
ZEA Zearalenon
ž. hm. živá hmotnost