

## **Vědecký výbor výživy zvířat**

# **Vliv strukturních sacharidů na bachorovou fermentaci, zdraví zvířat a kvalitu mléka**

**Ing. Veronika Koukolová, Ph.D.**

**Ing. Petr Homolka, Ph.D.**

**Ing. Václav Kudrna, CSc.**

Praha, květen 2010



**Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.**

Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,

PSČ: 104 01, [www.vuzv.cz](http://www.vuzv.cz)

ISBN

**978-80-7403-066-6**

# OBSAH

	strana
<b>Seznam použitých zkratk</b> .....	2
<b>1. Úvod</b> .....	3
<b>2. Teoretická část studie</b>	
2.1. Sacharidy v krmivech.....	4
2.2. Bachorová fermentace.....	8
2.3. Význam hodnocení vlákniny ve výživě dojnic .....	12
2.3.1. Nutriční potřeba dojnic.....	12
2.3.2. Vliv NDF na kvalitu mléka.....	13
2.3.3. Význam hodnocení vlákniny u pastevních porostů.....	14
2.3.4. Metody hodnocení nutričních ukazatelů krmiv.....	17
<b>3. Experimentální část studie</b>	
3.1. Cíl práce.....	18
3.2. Materiál a metodika.....	19
3.3. Výsledky a diskuze.....	21
3.4. Grafy, tabulky.....	25
3.5. Závěr.....	33
<b>4. Seznam použité literatury</b> .....	34

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADF	= acido detergentní vláknina
ADL	= acido detergentní lignin
<i>b</i>	= nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF (%),
<i>c</i>	= rychlost degradace frakce <i>b</i> ( $\text{h}^{-1}$ )
DNDF	= stravitelný podíl neutrálně detergentní vlákniny stanovený po 504 h <i>in situ</i> metodou (%)
ED	= efektivní bachorová degradovatelnost NDF (%)
eNDF	= efektivní NDF
ENZ	= stravitelnost organické hmoty za použití enzymatické metody
ENZ <sub>NDF</sub>	= stravitelnost NDF za použití enzymatické metody
INDF	= nestravitelný podíl NDF (%)
<i>k</i>	= rychlost pasáže částic z bachoru ( $\text{h}^{-1}$ )
KD	= krmná dávka
<i>lt</i>	= lag fáze (h)
NDF	= neutrálně detergentní vláknina
NEL	= netto energie laktace
NFC	= nestrukturní, rychle dostupné sacharidy - především škrob a cukry
NL	= dusíkaté látky
NSC	= nestrukturní sacharidy
OH	= organická hmota
TMK	= těkavé mastné kyseliny
TMR	= kompletní směsná krmná dávka
TT	= stravitelnost organické hmoty za použití Tilley a Terry <i>in vitro</i> metody
TT <sub>NDF</sub>	= stravitelnost NDF za použití Tilley a Terry <i>in vitro</i> metody

# 1. ÚVOD

Energetické hodnocení krmiv vychází z chemického složení a stravitelnosti krmné dávky (KD). Odpovídající struktura KD zajišťuje správnou činnost bачору a následně vyšší užitkovost a nižší výskyt metabolických poruch.

Nejdůležitějším a hlavním zdrojem energie v KD u přežvýkavců jsou sacharidy. Množství, kvalita a vzájemný poměr jednotlivých strukturních a nestrukturních sacharidů v krmivu významně ovlivňuje úroveň fermentace a tím i využitelnost krmiva, produkci bakteriální biomasy v bачору, užitkovost a zdravotní stav zvířat. Variabilita koeficientů stravitelnosti je podmíněna mikrobiální činností předžaludků, rychlostí pasáže částic krmiva trávicím traktem a podmínkami pro mikrobiální činnost v předžaludcích živého organismu přežvýkavců.

Sacharidový komplex (vláknina) obsahuje nestravitelné frakce a více potenciálně stravitelných frakcí – každá z nich je degradována vlastní rychlostí. Rychlost trávení sacharidů, která zahrnuje hydrolýzu polysacharidů a konverzi monosacharidů do těkavých mastných kyselin, fermentačních plynů a tepla, je základním faktorem omezujícím trávení krmiva v bачору. Rozsah trávení vlákniny závisí na velikosti nestravitelné frakce a je výsledkem procesů degradace a pasáže tráveniny z bачору. Intenzita tohoto procesu v první řadě záleží na lignifikaci buněčných stěn. Lignin vytváří se sacharidy buněčných stěn pevné vazby, které znemožňují využití jak celulózy a hemicelulózy, tak i sacharidů obsažených v protoplazmě buněk. Obsah ligninu stoupá se stářím buněk (negativně koreluje se stravitelností celulózy), a tím je považován za hlavní faktor limitující stravitelnost organických živin.

Podrobnější rozčlenění sacharidového komplexu pomocí detergentního systému na neutrálně detergentní vlákninu (NDF), acido detergentní vlákninu (ADF) a acido detergentní lignin (ADL) je nezbytnou součástí predikce nutriční hodnoty krmiv, využitelnosti KD a produkční úrovně hospodářských zvířat.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST STUDIE

Nejdůležitějším zdrojem energie v KD u přežvýkavců jsou sacharidy. Množství, kvalita a vzájemný poměr jednotlivých strukturních i nestrukturních sacharidů v krmivu poskytuje důležitou informaci o zásobení zvířat strukturní vlákninou, která významně ovlivňuje využitelnost krmiva (Koukolová a Homolka, 2008).

### 2.1. SACHARIDY V KRMIVECH

V rostlinách se nacházejí sacharidy převážně ve formě polysacharidů (Jelínek *et al.*, 2003). Polysacharidy obsažené v rostlinných krmivech jsou uloženy v buněčných stěnách (tzv. hrubá vláknina, tvořená především celulórou, hemicelulórou a ligninem, který však po chemické stránce mezi sacharidy nepatří, a malým množstvím kutinu) a v buněčné protoplazmě (zejména škrob a rozpustné sacharidy, převážně cukry) (Urban *et al.*, 1997).

#### **Dělení zásobních polysacharidů rostlin podle Velíška (2002):**

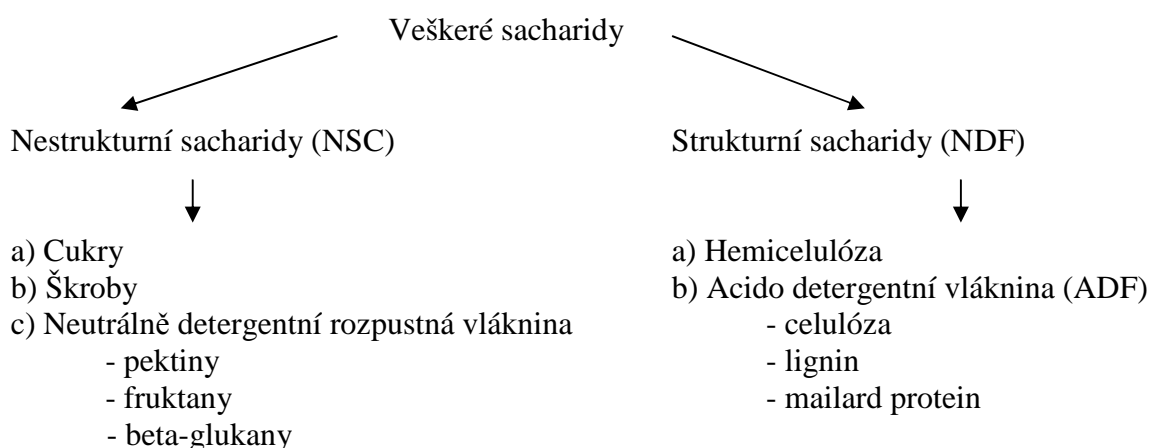
1. **škroby** (obiloviny, luštěniny, hlízy brambor);
2. **neškrobové polysacharidy**, mezi něž se řadí glukofruktany a fruktany (kořen čekanky, semena obilovin), galaktomannany, tzv. gumy semen (zásobní polysacharid některých luštěnin, jako je guarová guma a lokustová guma), glukomannany (konjakové hlízy) a xyloglukany (řepková a tamarindová semena).

#### **Funkci stavebních látek ve stěnách rostlinných buněk má (Velíšek, 2002):**

1. **celulóza**,
2. s ní asociované **necelulórové polysacharidy**:
  - a) **hemicelulózy** (u ovoce, většiny zelenin, okopanin a luštěnin jsou důležitými hemicelulózami xyloglukany, u obilovin arabinoxylany a tzv.  $\beta$ -glukany, u některých luštěnin galaktomannany);
  - b) **pektiny**.

K strukturním materiálům stěn rostlinných buněk se dále řadí polymer fenylpropanových jednotek **lignin**, který sice není složen ze sacharidových jednotek, ale je asociován s celulózą stejně tak jako necelulózové strukturní polysacharidy (Velíšek, 2002). Z kvantitativního hlediska je nejdůležitější organickou látkou po celulóze, mezi polysacharidy však nepatří. Na rozdíl od celulózy a ostatních polysacharidů není tvořen sacharidy ani jejich deriváty, nýbrž alkoholy s aromatickou složkou, mající původ ve skořicových kyselinách (Horák a Staszková, 1998). Lignin doprovází další polymerní fenolové sloučeniny (třísloviny), proteiny a polymerní lipidy (Velíšek, 2002).

Schéma 1. Teoretické členění sacharidových frakcí podle Van Sauna a Koukala, 2003).



### Charakteristika polysacharidů rostlin (Velíšek, 2002):

**Škrob** je hlavní zásobní živinou rostlin sloužící jako pohotová zásoba glukózy. Na rozdíl od strukturních polysacharidů, které jsou součástí buněčných stěn, se škrob nachází v organelách cytoplazmy nazývaných plastidy. V pletivech, kde probíhá fotosyntéza, je v malém množství v amyloplatech, speciálních buňkách kořenů, hlíz a semen. Je uložen v nerozpustných škrobových zrnech, které mají druhově specifický, geneticky daný tvar (kulatý, oválný aj.) a rozměry. Ukládání glukózy získané fotosyntézou ve formě škrobu silně snižuje velké intracelulární osmotické tlaky, kterým by jinak byly buňky vystaveny.

**Celulóza** je v přírodě nejrozšířenější organickou sloučeninou. Vyskytuje se jako základní strukturní polysacharid buněčných stěn vyšších rostlin. Nachází se také v zelených řasách, houbách a výjimečně i ve stěnách jednoduchých mořských bezobratlých živočichů (pláštěnců rodu *Tunicata*).

Metabolicky aktivní (primární) stěny buněk všech rostlinných pletiv mají společnou strukturu tvořenou náhodně orientovanými celulóзовými mikrofibrilami s převážně amorfni strukturou. Mikrofibrily tvoří základní síť ve stěnách rostlinných buněk. Jsou zde asociovány prostřednictvím nevazebných interakcí a kovalentních vazeb s dalšími strukturními polysacharidy, tzv. necelulóзовými polysacharidy (hemicelulózami a pektiny), ligninem a polypeptidy jako je extensin.

Celulóza je nerozpustná ve vodě, zředěných kyselinách, zásadách a většně rozpouštědel. Rozpouštědla však pronikají do přístupnějších amorfni oblastí mikrofibril a dochází k bobtnání, ale stupeň bobtnání je vždy nižší než u škrobu. Celulóza se rozpouští v koncentrovaných kyselinách, neboť podle podmínek (koncentrace kyseliny, teplota) dochází k hydrolýze na rozpustné fragmenty s kratším řetězcem, disacharid cellobiózu, případně až na D-glukózu. V roztocích hydroxidů je bobtnání intenzivnější než ve vodě a v kyselých roztocích při vyšších teplotách dochází k hydrolýze, případně k oxidaci.

**Hemicelulózy** jsou necelulozové polysacharidy buněčných stěn rostlin, které vyplňují prostory mezi celulóзовými vlákny. Mezi hemicelulózy se řadí heteroglukany a heteroxylylany.

**Pektiny** jsou skupinou značně polydisperzních polysacharidů o proměnném složení. Nacházejí se v pletivech vyšších rostlin jako součást stěn primárních buněk a mezibuněčných prostor. Vznikají a ukládají se hlavně v ranných stádiích růstu, kdy se zvětšuje plocha buněčných stěn.

**Lignin** je kopolymerem fenylypropanových jednotek odvozených od ferulylalkoholu (neboli koniferylalkoholu), *p*-kumarylalkohol a sinapylalkoholu. Tyto fenylypropanové jednotky (převládají *trans*-isomery) jsou nepravidelně vázány do trojrozměrných struktur etherovými vazbami (C-O-C) nebo vazbami mezi dvěma atomy uhlíku (C-C). Lignin je kovalentně vázán na polysacharidy buď přímo prostřednictvím cukerných zbytků, nebo nepřímo prostřednictvím ferulové kyseliny, kterou jsou některé

polysacharidy (např. arabinoxylany) esterifikovány. V zažívacím traktu se lignin nerozkládá, štěpí se pouze vazby mezi ligninem a ostatními polymery.

Doposud nejlepší metodou separující strukturní sacharidy od sacharidů nestrukturních je metoda NDF (Van Soest *et al.*, 1991). Cílem této metody je analyticky oddělit obsah buněčných stěn od obsahu buněčného a zároveň jednoduchým postupem rozdělit obsah buněčných stěn na celulózu, hemicelulózu a lignin, a tak kvantifikovat obsah vlákninové frakce v rostlinných buňkách (NRC, 2001).

NDF představuje zbytek buněčných stěn (tvořený hemicelulózou, celulózou a ligninem) získaný po mírné hydrolýze za varu v pufrovaném neutrálním roztoku detergentu laurylsulfátu sodného. Podskupinou NDF je vláknina rozpustná v kyselém prostředí, tj. ADF je zbytek buněčných stěn (celulóza a lignin), který zůstane po kyselé hydrolýze v prostředí detergentu (cetyltrimetylamónium bromid v 1 N kyselině sírové). ADL je zbytek buněčných stěn (lignin) získaný oxidací zbytku po stanovení ADF 72% kyselinou sírovou za studena, tímto je ze vzorku odstraněna celulóza (Van Soest, 1963; Janknecht, 2000).

Hlavní funkce NDF frakce v KD přežvýkavců je poskytovat energii pro mikrobiální syntézu, zajišťovat správnou činnost bachoru a tím i zdravotní stav zvířat (Mertens, 1994). Avšak příliš vysoké množství NDF v KD může negativně omezit příjem krmiva zvířaty, neboť tato frakce krmiva pak prezentuje hlavní část obsahu bachoru. Tím, že vláknina přispívá k plnivosti bachoru, dobrovolný příjem krmiva zvířete nekoreluje pouze s koncentrací přijaté vlákniny v KD, ale koreluje také s kinetickou činností bachoru (Mertens, 1994; Stensig *et al.*, 1994). Variabilitu využitelnosti vlákninové frakce v KD přežvýkavců lze tedy charakterizovat jako parametr závislý na druhu píce a vlivu řady asociativních faktorů. Toto záleží na úrovni krmení a poměru objemu ku koncentrovaným krmivům (Colucci *et al.*, 1990; Huhtanen a Jaakkola, 1993; Stensig a Robinson, 1997).

NDF je úzce spojována s příjmem sušiny. Není-li NDF v KD zastoupena v potřebném množství, lze předpokládat omezený příjem krmiva. Minimální stanovený obsah NDF pro krávy v první fázi laktace je mezi 27 až 30 % sušiny krmné dávky. Je doporučováno, aby minimálně 75 % z veškeré NDF v krmné dávce bylo dodáno pící. Je to míra zajišťující odpovídající množství účinné vlákniny. I přes tato doporučení je



množství NDF v KD předmětem stálé diskuse, stejně jako negativní korelační vztah mezi obsahem ADF a stravitelností píce (Davis, 1992; cit. Urban *et al.*, 1997). Proto byl stanoven minimální požadavek 19 až 21 % ADF ze sušiny krmné dávky pro všechny dojnice v laktaci, což je minimum nutné k zachování řádné činnosti bachorového systému a normální tučnosti mléka, a to za předpokladu, že ADF je dodávána pící, která splňuje kritéria efektivního zdroje vlákniny (NRC, 2001).

## 2.2. BACHOROVÁ FERMENTACE

Sacharidy tvoří 50 až 80 % sušiny pícin (Míka *et al.*, 1997). Sacharidy jsou zdrojem energie jak pro přežvýkavce, tak pro bachorové mikroorganismy (Jelínek *et al.*, 2003). Bachorová fermentace je velmi precizně biologicky a nutričně regulovaný kompletní systém spolupůsobení výše jmenovaného mikrobiálního ekosystému, krmiva a zvířat, který má při hodnocení úrovně výživy vysokou diagnostickou hodnotu (Vajda *et al.*, 2003). Odpovídající zastoupení cukrů, škrobu, pektinů, hemicelulózy, celulózy a proteinu v KD umožňuje optimální tvorbu bachorových kyselin, růst bakterií, reguluje pH hodnotu bachoru, přežvýkování zvířete a příjem krmiva (Janknecht, 2000).

Výsledným produktem bachorové fermentace jsou těkavé mastné kyseliny (TMK) – octová, propionová a máselná (Kowalczyk a Zebrowska, 2000; Illek a Matějčíček, 2002; Vajda *et al.*, 2003), které se vstřebávají do krve přes bachorovou stěnu (Kudrna *et al.*, 1998) a slouží tak k nezbytné úhradě energetických potřeb zvířete (Kowalczyk a Zebrowska, 2000). Vzájemný poměr produkce acetátu a propionátu závisí na zastoupení vlákniny a koncentrátů v krmné dávce (Kudrna *et al.*, 1998), proto je nutné ve výživě přežvýkavců vycházet ze speciálního způsobu přeměny krmiv v jejich trávicím traktu na konečné živočišné produkty.

Nutriční hodnota píce u přežvýkavců velice závisí na poměru buněčného obsahu a buněčných stěn a na schopnosti bachorových mikroorganismů degradovat buněčné stěny rostlin a fermentovat dostupné sacharidy (Waldo, 1986). Toto je v podstatě určeno chemickým složením krmiva (Van Soest, 1994).

## Celulóza

Rostliny obsahují 20 - 45 % celulózy (Jelínek *et al.*, 2003). Inkubováním krmiva v bachoru přežvýkavců se vytváří příznivé podmínky pro štěpení celulózy na glukózu a následné odbourání této monózy na methan, vodík, acetát, propionát a butyrát. Degradace glukózy v bachoru přežvýkavců souvisí se vznikem důležitých metabolických meziproductů a s uvolňováním energie, transformované do molekul ATP. Hydrolýza tohoto polysacharidu je katalyzována enzymem 1,4- $\beta$ -glukosidázou (celulázou), vytvářející kratší řetězce oligosacharidů a posléze až disacharid celobiózu (Horák a Staszková, 1998).

Na trávení celulózy se podílejí různé druhy celulolytických bakterií a bachorové anaerobní houby, jejichž enzymy se liší vazebným místem a specifikou působení. Největší podíl hydrolýzy připadá na celulolytické bakterie *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus* a *Fibrobacter succinogenes* (Míka *et al.*, 1997).

Štěpení celulózy probíhá ve třech stupních (Jelínek *et al.*, 2003):

1. Štěpení celulózy depolymerázou na menší fragmenty.

Depolymerizace zahrnuje hydrolýzu celulózy souborem exoglukáz a endoglukáz -  $C_x(1,4\text{-}\beta\text{-glukan:glukanohydroláz})$  – na směs celodextrinů  $C_2\text{-}C_3$ . Tyto enzymy hydrolyzují jak krystalickou, tak především amorfní celulózu.

2. Štěpení těchto fragmentů celobiohydrolázou na celobiózu.

U mikrokrystalické celulózy se synergicky s glukanohydrolázami uplatní celobiohydroláza  $C_x(1,4\text{-}\beta\text{-glukan:celobiohydroláza})$ , která z neštěpeného místa v krystalické oblasti uvolňuje celobiózu a umožňuje tak další působení glukanohydroláz. Rychlost hydrolýzy amorfní celulózy však neovlivňuje.

3. Štěpení celobiózy celobiázou na glukózu a její zkvašování na těkavé mastné kyseliny.

Výsledkem působení glukanohydrolázy a celobiohydrolázy je směs celodextrinů, které jsou degradovány na glukózu  $\beta$ -glukosidázami. Glukóza je dále mikrobiálně fermentována na těkavé mastné kyseliny (TMK), především kyselinu octovou (65 %), propionovou (20 %) a máselnou (15 %). Za 24 hodin se v předžaludku dojnice

vytvoří kolem 4,5 kg, u ovce kolem 0,5 kg TMK a tyto pokryjí 40 až 70 % celkové energetické potřeby. Celkové množství a zastoupení jednotlivých TMK závisí na řadě faktorů jako je druh zvířete, složení krmné dávky, čas od nakrmení apod.

Rozsah hydrolýzy celulózy bachorovými mikroorganismy je závislý na obsahu ligninu, pektinu a jiných stavebních látek, které vytvářejí se sacharidy buněčných stěn pevné vazby a limitují tak stravitelnost organických živin (Urban *et al.*, 1997). Štěpení celulózy v předžaludku ovlivňuje zejména obsah výše uvedených inkrustujících látek, lehce stravitelných sacharidů a dusíkatých látek v krmivu. Podstatně lépe stravitelná je celulóza z mladých rostlin. S přibývajícím obsahem ligninu stravitelnost celulózy klesá. Příklad škrubu stravitelnost vlákniny snižuje jednak poklesem hodnoty pH v důsledku zvýšené tvorby kyselin a jednak zmnožením amylolytických bakterií na úkor celulolytických. Inhibiční účinek škrubu se podařilo snížit přidáním močoviny. Celulolytické bakterie potřebují ke svému rozmnožování minimálně pětiprocentní obsah dusíkatých látek v krmivu. Mírné zvýšení podílu dusíkatých látek štěpení celulózy stimuluje, zatímco vysoké dávky bílkovin celulolytické procesy tlumí (Jelínek *et al.*, 2003).

### **Hemicelulóza**

Degradace hemicelulóz v bachoru probíhá podobně jako degradace celulózy, ale zahrnuje větší škálu enzymatických aktivit. Stejně druhy celulolytických bakterií hydrolyzujících celulózu se podílejí na štěpení hemicelulózy (Dehority, 1993).

Degradace probíhá působením endo- a exo-glukanáz, které nepolymerizují a rozpouštějí hlavní polysacharidické řetězce. Substituční skupiny a postranní řetězce se uvolňují a dále degradují účinkem aktivit početných specifických glukosidáz (Dehority, 1993). Hydrolýzou hemicelulózy vzniká disacharid xylobióza, který je intracelulárním enzymem xylosidázou rozštěpen na xyulózu a ostatní pentózy (Jelínek *et al.*, 2003).

### **Pektin**

Pektiny představují významnou složku rostlin vikvovitých, méně jsou zastoupeny u trav. Stavebním kamenem pektinu je galakturonová kyselina. Pektin-metylésteráza štěpí jeho esterové vazby na kyselinu polygalakturonovou a metanol.

Hydrolýzu alfa 1-4 glykosidické vazby polygalakturonové kyseliny. V předžaludku se pektin tráví ze 75 % až 90 %. Podílejí se na tom především bakterie (*B. succinogenes*, *B. ruminicola*, *B. fibrisolvens*, *S. bovis*, *Lachnospira multiparus*, bachorové spirochety) a některé rody protozoí (Jelínek *et al.*, 2003).

## **Škrob**

Mikrobiálními enzymy se škrob štěpí přes maltózu na glukózu, případně na glukózofosfát. Amylázy byly zjištěny jak v bachorové tekutině, tak i v řadě bakterií a protozoí. Maltóza, uvolněná extracelulárními amylázami, je v reakci katalyzované maltázou rozložena na dvě molekuly glukózy. Vzhledem k velmi rychlé utilizaci glukózy v bachoru nelze její přítomnost v bachorové tekutině běžnými metodami stanovit. Část maltózy, podobně jako tomu bylo u celobiózy, může být fosforolytickým mechanismem katalyzovaným maltózofosforylázou fermentována na jednu molekulu glukózy a molekulu glukózo-1-fosfátu (Jelínek *et al.*, 2003).

Trávení škrobu probíhá mnohem rychleji než trávení celulózy. Ve srovnání s trávením škrobu ve střevě dochází v předžaludku k energetickým ztrátám v podobě metanu a tepla. Rychlost trávení škrobu závisí na druhu a velikosti škrobových zrn a na jeho fyzikálním stavu. Např. kukuřičný škrob se hydrolyzuje rychleji než bramborový. Tepelná úprava narušuje krystalickou strukturu škrobu a značně urychluje jeho trávení.

Na trávení škrobu se podílí především *Streptococcus bovis* (50-60 %) a *Clostridium butyricum* (20-30 %). Konečným produktem trávení škrobu je kyselina octová, propionová, máselná, mravenčí, mléčná a jantarová. Z nálevníků především rody *Entodinium* a *Isotricha* ukládají část škrobu ve formě glykogenu (Jelínek *et al.*, 2003).

K rozpustným rostlinným cukrům se řadí i fruktozany, polymery fruktózy. V mladé trávě mohou tvořit až 20 % sušiny. V předžaludku jsou štěpeny přes fruktózu až na TMK (Jelínek *et al.*, 2003).

## 2.3. VÝZNAM HODNOCENÍ VLÁKNINY VE VÝŽIVĚ DOJNIC

### 2.3.1. Nutriční potřeba dojnic

Optimální úroveň výživy dojnic je představována naplněním živinových potřeb bachorových mikroorganismů v podobě sacharidů, dusíkatých a minerálních látek a jednak doplněním toku mikrobiálních bílkovin a produktů fermentace v bachoru nedegradovatelnými složkami, které zajistí plnohodnotné naplnění nutričních potřeb dojnic. Při sestavování KD bychom měli maximálně podpořit pozitivní funkce bachorových mikroorganismů na jedné straně a na straně druhé minimalizovat fermentační ztráty (Kudrna *et al.*, 1998). V tabulce 1 jsou uvedeny doporučené obsahy živin podle McCullough (1994), cit. Kudrna *et al.* (1998).

Tabulka 1. Optimální úroveň živin v KD dojnic v průběhu mezidobí (zdroj: McCullough, 1994; cit. Kudrna *et al.*, 1998).

Živiny v %	Období laktace			Období stání na sucho	
	Ranné	Střední	Pozdní	Počátek	Před otelením
NL	17-20	15-17	14-15	12	14-15
Degradovatelné NL	60-65	62-67	65-78	65-70	62-68
Nedegradovatelné NL	22-40	33-37	30-36	30-35	32-38
Rozpustné NL (% z NL)	30-35	30-37	30-50	32-35	31-34
Vláknina (ADF)	19-21	20-23	21-24	26-30	25-28
Vláknina (NDF)	30-33	30-36	34-40	40-45	37-40
NDF z píče	20-24	20-25	21-25	32-36	28-33
NSC	30-35	32-37	32-38	32-40	31-38
Tuk	5-7,5	5-6	3-5	3-4	3-5
NEL (MJ/kg)	7-7,5	6,8-7,3	6,5-7	5,4-5,9	6-6,5

ADF = acido-detergentní vláknina, NDF = neutrálně-detergentní vláknina, NEL = netto energie laktace, NL = dusíkaté látky, NSC = nestrukturní sacharidy.

KD s optimální koncentrací strukturní vlákniny je významným činitelem, který rozhoduje o příjmu krmiva, fermentační činnosti bachoru, stravitelnosti živin a mléčné produkci dojnic (Zebeli *et al.*, 2006). Příjem sušiny je ovlivněn poměrem NFC:NDF v KD (pozn. NFC = nestrukturní, rychle dostupné sacharidy - především škrob a cukry), (Yang a Beauchemin, 2006). S rostoucím obsahem NDF a poměrem NFC:NDF se snižuje stravitelnost NDF (Beauchemin, 2000).

Příjem sušiny krmiva záleží na energetické potřebě dojnic a plnicím efektu předkládané KD (Allen, 2000). Tento plnicí efekt je úzce spojován se zastoupením NDF

v sušině KD. Není-li NDF v KD zastoupena v potřebném množství a ve správné struktuře, lze předpokládat omezený příjem krmiva. Minimální stanovený obsah NDF pro krávy v první fázi laktace je mezi 27 až 30 % sušiny KD. Je doporučováno, aby minimálně 75 % z veškeré NDF v KD bylo dodáno pící. Je to míra zajišťující odpovídající množství účinné vlákniny. I přes tato doporučení je množství NDF v KD předmětem stálé diskuse, stejně jako negativní korelační vztah mezi obsahem ADF a stravitelností píce (Davis, 1992; cit. Urban a kol., 1997). Proto byl stanoven minimální požadavek 19 až 21 % ADF ze sušiny KD pro všechny dojnice v laktaci, což je minimum nutné k zachování řádné činnosti bachorového systému a normální tučnosti mléka, a to za předpokladu, že ADF je dodávána pící, která splňuje kritéria efektivního zdroje vlákniny (NRC, 2001).

### **2.3.2. Vliv NDF na kvalitu mléka**

Optimální podmínky pro bachorovou fermentaci jsou vedle dalších faktorů předpokladem produkce kvalitního mléka. Podíl jednotlivých složek mléka není konstantní, k největším změnám dochází v obsahu mléčného tuku. Menší změny jsou v obsahu bílkovin a k nejmenším dochází v obsahu laktózy a většiny minerálních látek v mléce obsažených. Hlavním prekursorem mléčného tuku v mléčné žláze je kyselina octová, která je tvořena v bachoru ze strukturních sacharidů v průběhu bachorové fermentace. Dalšími prekursory mléčného tuku jsou kyselina máselná a hydroxymáselná. Pro syntézu mléčného tuku jsou využívány i mastné kyseliny obsažené v krmivech – jadrná krmiva, siláže, senáže (Kudrna *et al.*, 1998).

Efektivnost NDF je ovlivňována velikostí částic, stupněm lignifikace, hydratací buněčných stěn a zastoupením v jednotlivých skupinách krmiv (Zeman *et al.*, 2006). Dostatečné množství efektivní vlákniny pozitivně stimuluje produkci slin, žvýkání, přežvykování a udržování optimálních hodnot pH bachorového obsahu - tím vším zabraňuje poruchám bachorové fermentace (Mertens, 2000).

V souvislosti s velikostí částic efektivní NDF (eNDF) bylo zjištěno, že v jemně rozmělněných krmivech ztrácí svůj stimulační efekt (Zeman *et al.*, 2006). Vysoký podíl jemně mletých a kašovitých krmiv negativně ovlivňuje tvorbu kyseliny octové, a tím i tvorbu mléčného tuku (Kudrna *et al.*, 1998). Se vzrůstající velikostí částic jednotlivých

krmiv stoupá i jejich efektivita mechanické stimulace. Pro zajištění dobré motoriky bachoru a přežvykování by měla směsná KD pro dojnice obsahovat minimálně 21 % eNDF nebo 75 % NDF z píce. Při posuzování zastoupení eNDF v KD je třeba vzít v úvahu i snížení velikosti částic při přípravě směsné KD a velikost částic v nepřijatém zbytku KD. Selektivní příjem jemnějších podílů KD může být příčinou vzniku bachorových acidóz (Zeman *et al.*, 2006).

Správná délka částic má velký vliv na stravitelnost živin a dobrou funkci bachoru. Při vysokém podílu kukuřičné siláže v KD by mělo alespoň 10 % částic přesahovat délku 19 mm, 40 až 50 % by mělo být mezi 8 až 19 mm a 40 až 50 % částic by mělo být pod 8 mm (Drevjany *et al.*, 2004; Homolka a Kudrna, 2007).

Tabulka 2. Optimální délky částic (v původní sušině) (Drevjany *et al.*, 2004).

Druh krmiva	Množství vzorku	Vrchní síto	Střední síto	Spodní (dno)
TMR	350 g	> 10 %	30-50 %	< 50 %
Senáž	> 220 g	20 %	20 – 50 %	< 50 %
Kukuřičná siláž	> 450 g	5 %	50 %	< 50 %

Vysoký podíl jemně mletých krmiv a kašovitá krmiva negativně ovlivňují tvorbu kyseliny octové, a tím i tvorbu mléčného tuku. Obsah tuku v mléce ovlivňuje také přechod ze zimní KD na bázi konzervovaných krmiv na letní, založenou na zkrmování zelené píce. Zvláštním problémem je v tomto směru pastva zejména na mladém travním porostu, která má nízký obsah hrubé vlákniny a vysoký obsah rozpustných sacharidů. Z těchto důvodů se vytváří menší množství kyseliny octové a následně je omezena syntéza mléčného tuku (Drevjany *et al.*, 2004; Homolka a Kudrna, 2007).

### 2.3.3. Význam hodnocení vlákniny u pastevních porostů

V posledních letech vzrostl zájem o tradiční způsob obhospodařování travních porostů pastvou (Heitschmidt *et al.*, 2004). Využívání travních porostů k pastvě přežvýkavců v horských oblastech má rozhodující význam při řešení problémů s využíváním a ochranou krajiny a interakcemi mezi rostlinnou a živočišnou výrobou (Kadlec *et al.*, 2004; Lemaire *et al.*, 2005; Gibon, 2005, Čermák *et al.*, 2008). Pastva by měla být nepostradatelná v péči o mnohá, zvláště chráněná území (Pavlů *et al.*, 2001).

Výsledkem pravidelného přepásání porostů je stoupající druhová pestrost nejen rostlinných, ale i živočišných společenstev.

Zároveň „pasevní“ péče o krajinu také znamená vyhovět nutričním požadavkům pasených zvířat. Měla by být zajištěna optimální rovnováha mezi pasoucími se zvířaty a spásaným porostem (Van Soest, 1994), která zajišťuje odpovídající užitek z zvířat (Troxler a Jans, 2000). Přestože úlohou zemědělství (podporovaného správami chráněných území) je především udržení krajinného rázu (Homolka a Pavelek, 2002), je nutné zabývat se i skutečnou krmnou hodnotou těchto porostů ve vztahu k nutriční potřebě pasených zvířat. Vzhledem k tomu, že pastva přežvýkavců nachází podstatné uplatnění v marginálních oblastech ČR je nutné znát nutriční hodnotu pasevní píče v návaznosti na schopnost využít potřebné živiny zvířetem. Kvantitativní i kvalitativní změny nutriční hodnoty pasevní píče, kterým jsou vystavena v průběhu pasevní sezóny pasoucí se zvířata (Buxton a Fales, 1994), jsou přímo úměrně závislé na botanickém druhu píče, vegetační fázi, půdním typu, klimatických podmínkách (množství srážek, teplotní režim), způsobu případného hnojení porostu, době sklizně i nadmořské výšce (Mládek, 2005; Beever a Mould 2000; Dubbs *et al.*, 2003; Tang *et al.*, 2006). V horských oblastech ČR je pastva důležitou součástí živočišné produkce. Tyto pastviny mohou být charakterizovány nízkou teplotou a vysokou nadmořskou výškou, a jejich vysoká variabilita v teplotách a srážkách přímo ovlivňuje produkci rostlin (Xue *et al.*, 2005). V porovnání s intenzivně obhospodařovanými pastvinami je zde více variability v rámci bohatosti druhů zatravněné plochy. Je to způsobeno různým vegetačním stupněm (zralostí) jednotlivých rostlin a rozdíly stravitelnosti (Lardy *et al.*, 2004) v rámci druhů píče nezávislé na stupni zralosti (Bruinenberg *et al.*, 2002).

Uspokojení potřeby živin závisí na množství přijaté píče, obsahu živin, stupni stravitelnosti a využití zvířaty. Všeobecně je pasevní píče přijímána *ad libitum* (dle libosti). Příjem a spotřeba je dána druhem píče a je v úzkém vztahu ke stravitelnosti, protože při nižší stravitelnosti klesá příjem píče. Většinou se uvádí, že příjem pasených zvířat se lineárně zvyšuje spolu se stravitelností, a to až do hodnoty 80 %, která je limitní pro travinné porosty mírného pásma. Stravitelnost píče závisí na vegetačním stádiu rostliny v době spásání nebo sklizně. Jak části rostlin stárnou, stávají se obvykle méně stravitelné. Stravitelnost trav v mírném pásu se obvykle do kvetení snižuje pomalu, pak nastává rychlý pokles. Se stářím porostu se stravitelnost píče snižuje,



zatímco výnos stoupá, proto ekonomická růstová perioda před sklizní je kompromisem mezi stravitelností a výnosem. Obvykle se pro skot doporučuje rozmezí stravitelnosti sušiny od 50 % u krav stojících na sucho až nad 70 % u mladých telat (Pavlů *et al.*, 2001).

Tabulka 3. Porovnání ukazatelů kvality dočasného a polopřirozeného pastevního porostu (Pavlů *et al.*, 2001).

	% sušiny	NEL (MJ)	Vláknina (g.kg <sup>-1</sup> sušiny)	Dusíkaté látky (g.kg <sup>-1</sup> sušiny)	Stravitelnost org. hmoty (%)
Polopřirozený pastevní porost	17 - 22	4,8 - 5,0	160 - 200	180 - 220	70 - 75
Dočasný travní porost	15 - 20	5,5 - 6,0	150 - 200	180 - 220	75 - 80

Správná organizace pastvy a přesně stanovená krmivářská opatření podpoří zdravotní stav a užitkovost zvířat během pastevní periody. Hodnota travního porostu je velmi úzce spjatá s intenzitou využití. Nejvyšší stravitelnost poskytuje mladá tráva s nízkým obsahem vlákniny mezi 18 a 22 % v sušině. Na počátku pastevní sezóny se této kvality zpravidla dosahuje – trávy jsou bohatě olistěné a jsou ještě před květem. Po úspěšné změně krmiva ze zimního na letní krmení sežerou krávy do 14 kg sušiny (této kvality), což v tomto časovém úseku může znamenat užitkovost z pastvy kolem 20 l mléka (viz. tabulka 4), (Wiesmann a Vorschneiderová, 2001).

Tabulka 4. Potenciál užitkovosti z pastevního porostu (trávy) na příkladu intenzivně sekané pastvy (obsah energie podle DLG – tabulky), (Wiesmann a Vorschneiderová, 2001).

Stav porostu	Obsah energie na kg sušiny MJ NEL	Maximální příjem kg sušiny	Užitkovost z pastvy kg mléka
1. seč, před metáním	6,75	14	18
1. seč, v metání	6,39	12	13
1. seč, do poloviny květu	5,95	11	9,2
1. seč, konec květu	5,46	8,5	3,2
1. seč, přestárlá	4,85	7	-0,6

Pozn. při stejném vývojovém stádiu pastevního porostu (výchozí: 1 seč před metáním) se snižuje obsah energie pastevního porostu v následujících sečích o 0,2 – 0,3 MJ NEL za měsíc.

Cílem organizace pastvy by mělo být udržení této kvality porostu, jinak klesá užitkovost z pastvy velmi rychlým tempem. Vyrovnání klesající užitkovosti produkčním krmivem je omezené. Při dvou dávkách šrotu by maximální jednorázová

dávka měla být 6 kg produkčního šrotu na krávu – z důvodu zachování zdraví bachoru by se mělo zařadit maximálně 6 kg produkčního šrotu denně. To znamená, že při nejlepší kvalitě pastvy a přidáním jádra lze nakrmit zvíře na 28 až 32 l mléka denně (Wiesmann a Vorschneiderová, 2001).

#### **2.3.4. Metody hodnocení nutričních ukazatelů krmiv**

Běžně využívanými postupy ke zhodnocení těchto nutričních aspektů krmiva je stanovení chemického složení krmiva a koeficientů stravitelnosti živin. Stravitelnost živin hodnocena poměrně pracnými a časově náročnými metodami: bilančními metodami (*in vivo*) (Schiemann, 1981; Vencl, 1985), *in situ* či *in sacco* metodami (Ørskov a McDonald, 1979). Z tohoto důvodu je efektivnějším řešením vyvíjení a zlepšování dostupných laboratorních metod (*in vitro*), neboť se jeví jako perspektivní postupy snáze praktikovatelné v běžných laboratořích (Tilley a Terry, 1963; Setala *et al.*, 1984; Antoniewicz *et al.*, 1992; Tománková a Homolka, 1995; Tománková a Homolka, 1999; Tománková a Homolka, 2002; Koukolová *et al.*, 2004; Forejtová *et al.*, 2005). Pro aplikaci těchto *in vitro* postupů je však nutné testovat tyto metody na souboru krmiv a na základě porovnání s *in vivo* metodami odvodit parametry regresních rovnic (Tománková a Homolka, 1999; Hvelplund a Weisbjerg, 2000) pro přesnou predikci hodnot.

Všechny tyto metody připouští variabilitu výsledků, která úzce souvisí s odlišností metodických postupů rozličných experimentálních pracovišť, proto je nezbytné kalibrovat přesnost *in vitro* hodnot s hodnotami *in vivo* (Míka *et al.*, 1997; Tománková a Homolka, 1997) a *in situ* (Aufrère *et al.*, 1991; Michalet-Doreau *et al.*, 1992; Mertens, 1993). K zdokonalení *in vitro* metod s *in situ* metodami slouží porovnání a odvození predikčních rovnic, výpočet korelačních koeficientů a jednotlivých parametrů těchto rovnic (Aufrère *et al.*, 1991; Michalet-Doreau *et al.*, 1992) poměrně s dostatečnou přesností (Koukolová *et al.*, 2004).

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST STUDIE

Charakteristika objemné píce pastevních porostů je rozhodující pro podrobnější a preciznější popis kinetiky trávicího traktu a rozšiřování typové variability vzorků, neboť nové poznatky fyziologie výživy hospodářských zvířat tak přispívají ke zdokonalování a ucelování koncepce biologických i teoretických modelů mechanismu trávicích pochodů zvířete.

#### 3.1. CÍL PRÁCE

Stanovení degradovatelnosti NDF u píce *in vitro* metodami a jejich ověření metodou *in situ* na kanylovaných kravách probíhalo u souboru 24 vzorků pastevní píce.

Cílem práce bylo vhodným metodickým postupem stanovit:

1. Tři nejdůležitější parametry popisující profil degradovatelnosti neutrálně detergentní vlákniny (NDF):

- parametr *b* (tj. parametr „potenciální stravitelnost“),
- parametr *c* (tj. parametr „rychlost degradace“),
- parametr DNDF (tj. parametr „absolutně stravitelná část NDF“).

2. Vypočítat parametr ED (tj. parametr „efektivní degradovatelnost“).

3. Vytvořit predikční rovnice pro výše uváděné parametry k ověření (standardizaci) dvou *in vitro* metod testovaných na kanylovaných kravách metodou *in situ*. Predikční rovnice byly založeny na hodnotách *in vivo* stravitelnosti organické hmoty a obsahu NDF frakce.

### 3.2. MATERIÁL A METODIKA

Původ vzorků. Vzorky biomasy pocházely ze tří šumavských pastvin (Kaplice) různých nadmořských výšek – Velký Chuchelec (650 m), Malý Chuchelec (700 m) a Rojov (850 m). Část pastvin byla rozdělena do dvou oplůtků (oplůtek číslo 1, oplůtek číslo 2), ze kterých byl odebírán průměrný vzorek pastevního porostu. V průběhu sledovaného vegetačního období bylo zaznamenáváno botanické složení porostu (jeteloviny : trávy : byliny) na 1 m<sup>2</sup> vymezeného oplůtku.

Stanovení základních živin. Původní vzorek byl analyzován metodickými postupy AOAC (1990) na obsah sušiny, popele a dusíkatých látek (NL; Kjeldahl method, N × 6,25). Frakce vlákniny (NDF, ADF a ADL) byly stanoveny podle Van Soesta *et al.* (1991) na přístroji Fibertec analyzer (Fibertec System M). Před vlastním stanovením frakce NDF byl navážený vzorek ošetřen alfa-amylázou po dobu 24 h v termostatu s teplotou 38° C podle Ferreira *et al.* (1983).

In situ degradovatelnost. Parametry bachorové degradovatelnosti NDF (parametr *b* „potenciální stravitelnost“ a parametr *c* „rychlost degradace“) a efektivní bachorová degradovatelnost NDF byly hodnoceny metodou *in situ* (velikost pórů nylonových sáčků byla 37 mikronů) podle metodického postupu Hvelplund a Weisbjerg (2000). Usušený a namletý materiál byl ve třech opakováních inkubován 2, 4, 8, 16, 24, 48, 96, 168 a 504 hodin v bachoru tří suchostojných kanylovaných holštýnských krav. Degradovatelnost NDF byla upravována 0 hodinovým inkubačním intervalem pro korekci na případný únik částec krmiva z původní navážky (nylonové sáčky byly propírány ve studené vodě v automatické pračce). Nezdegradované reziduum vzorku bylo rozborováno na obsah NDF v roztoku neutrálního detergentu (Van Soest *et al.*, 1991) na přístroji Ankom 220 Fiber Analyzer (Anonymus, 1998). Efektivní bachorová degradovatelnost NDF byla vypočítána pro výtokovou rychlost částic z bachoru  $k = 0,02 \text{ h}^{-1}$  podle rovnic McDonalda (1981) a Ørskova a McDonalda (1979):

a) Rovnice zahrnující parametr lag time (*lt*) (McDonald, 1981):

$$ED = b \times (c / (c + k)) \times \exp^{-k \times lt}$$

b) Rovnice nezahrnující parametr  $lt$  (Ørskov a McDonald, 1979):

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

Kde: ED = efektivní bachorová degradovatelnost NDF (%),  $b$  = nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF (%),  $c$  = rychlost degradace frakce  $b$  ( $\text{h}^{-1}$ ),  $\exp$  = exponenciální funkce,  $k$  = rychlost pasáže částic z bachoru ( $\text{h}^{-1}$ ),  $lt$  = lag time (h).

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

$$\text{INDF} = 100 - \text{DNDF}$$

Kde: INDF = nestravitelný podíl NDF (%); DNDF = stravitelný podíl NDF stanovený po 288 h *in situ* metodou (%).

In vitro stravitelnost. *In vitro* stravitelnost organické hmoty (OH) a *in vitro* stravitelnost NDF byla stanovena dvěma různými laboratorními metodami; metodou Tilley a Terry (1963) a metodou enzymatickou (Weisbjerg a Hvelplund, 1993; Koukolová *et al.*, 2004).

In vivo stravitelnost. *In vivo* stravitelnost OH vycházela ze stanovení *in vitro* stravitelnosti OH enzymatickou metodou (ENZ):  $\text{in vivo} = 0,260 + 0,658 \times \text{ENZ}$  podle Sjøgaard *et al.* (2001).

Predikční rovnice. Ke zpracování získaných dat byla použita korelační, vícenásobná regresní analýza a validační test za použití statistického programu SAS (SAS Institute, 2000).

### 3.3. VÝSLEDKY A DISKUZE

Charakteristika pastevní píce odebírané ve třech různých nadmořských výškách v marginálních oblastech Šumavy je uvedena v tabulce 5. Přestože byla píce na sledovaných pastvinách odebírána ve stejných termínech, byla zaznamenána značná variabilita v botanickém složení, což je způsobeno rozdílnou vegetační fází porostu v závislosti na nadmořské výšce. Hodnoty průměrné teploty a úhrnu srážek byly typické pro sledovanou oblast. Se zvyšující se nadmořskou výškou klesal podíl jetelovin a bylin ( $P = 0,33$  a  $P < 0,05$ , respektive), podíl trav se zvyšoval ( $P = 0,57$ ). Botanické složení porostu ovlivňuje například výživa a typ půdy, počasí, dostupnost vody a jiné faktory (Bruinenberg *et al.*, 2002; Van Soest, 1994; Skapetas *et al.*, 2004).

Chemické složení píce pastevních porostů je zaznamenáno v tabulce 6. Obsah NL kolísal od 63,1 do 210,4 g/kg sušiny. Statisticky významný rozdíl nebyl prokázán v obsahu NL pro píci sklizenou v období duben až červenec v nadmořských výškách 650 m a 800 m. Píce pastevního porostu z nadmořské výšky 700 m byla odebírána pouze ve čtyřech termínech (7. 5., 22. 5., 5. 6. a 3. 7.), což částečně vysvětluje proč průměrný obsah NL byl nižší (127 g/kg sušiny v 700 m) oproti obsahu NL v nadmořských výškách 650 m (143 g/kg sušiny) a 850 m (144 g/kg sušiny), které byly reprezentovány pěti termíny odběru (24. 4., 7. 5., 22. 5., 5. 6. a 3. 7.). Pokles obsahu NL ( $P < 0,05$ ) s postupující vegetační fází (zralostí) byl rovněž zaznamenán Arthingtonem a Brownem (2005). Naopak obsah NDF, ADF a ADL se s postupující vegetační fází porostu zvyšoval ( $P < 0,05$ ). Toto bylo v souladu s autory Elizalde *et al.* (1999) a Dubbs *et al.* (2003). Hodnota NDF se pohybovala mezi 324 a 592 g/kg sušiny. Koncentrace ADF a ADL byla od 199 do 361 g/kg sušiny a od 25,7 do 60,4 g/kg sušiny, respektive. Vliv nadmořské výšky (650 m, 700 m, 850 m) a termínu sklizně (24. 4., 7. 5., 22. 5., 5. 6. a 3. 7.) na obsah popele, NL, NDF, ADF a ADL je uveden v tabulce 6. Popel, NL, NDF, ADF a ADL byly statisticky významně ovlivněny nadmořskou výškou ( $P < 0,01$ ) a termínem sklizně ( $P < 0,0001$ ) (tabulka 6). Graf 1 (A, B, C) znázorňuje vliv termínu sklizně a nadmořské výšky na obsah NL, NDF a ADL, respektive. Obecně, se zvyšující se nadmořskou výškou narůstal ( $P < 0,01$ ) obsah NL, NDF a ADL v rámci termínu sklizně. S postupující vegetační fází porostu obsah NL klesal, zatímco obsah NDF a ADL narůstal.

*In vitro* stravitelnost OH a *in vitro* stravitelnost NDF byla stanovena Tilley a Terry metodou a enzymatickou metodou (tabulka 6). *In vitro* stravitelnost OH stanovená Tilley a Terry metodou (TT) byla v rozmezí 407 až 779 g/kg a *in vitro* stravitelnost OH stanovená enzymatickou metodou (ENZ) byla v rozmezí 471 až 829 g/kg. *In vitro* stravitelnost NDF stanovená Tilley a Terry metodou (TT<sub>NDF</sub>) vykazovala hodnoty od 134 až 608 g/kg a enzymatické stanovení (ENZ<sub>NDF</sub>) vykazovalo hodnoty od 196 do 627 g/kg. Píce odebraná v prvním termínu odběru nevykazovala nejvyšší hodnoty *in vitro* stravitelnosti OH a NDF. Tyto hodnoty stravitelnosti mohou souviset s nadmořskou výškou a vyjadřovat tak nepřímý vztah v rámci klimatických podmínek daného prostředí; což je hlavní faktor ovlivňující začátek doby jarního růstu (Van Soest, 1994) u všech spásaných rostlin. Rozdílnost v začátku růstu jednotlivých druhů píce může vést k rozdílnosti v hodnotách stravitelnosti a stupně lignifikace. V grafu 1 (D) je znázorněn vliv nadmořské výšky v různých termínech odběru pastevní píce na hodnoty stravitelnosti OH stanovené TT metodou. Pokles stravitelnosti OH stanovené TT metodou v rámci všech sledovaných nadmořských byl patrný ( $P < 0,0001$ ) v období od 7. 5. (průměru 692 g/kg sušiny) do 3. 7. (v průměru 444 g/kg sušiny). Stravitelnost OH TT metodou byla v průměru 690 g/kg sušiny pro nadmořskou výšku 650 m, 576 g/kg sušiny pro nadmořskou výšku 700 m a 557 g/kg sušiny pro nadmořskou výšku 850 m. Stravitelnost OH stanovená TT negativně korelovala s obsahem NDF ( $r = -0,78$ ) a ADL ( $r = -0,93$ ) (netabelováno). Podobně jako uvádí Yang a Beauchemin (2006) a Kononoff a Heinrichs (2003) ve svých publikacích, s narůstajícím obsahem NDF docházelo k lineárnímu poklesu stravitelnosti OH a NDF ( $P < 0,001$ ). Stravitelnost píce z botanicky rozmanitých pastvin se v době sklizně liší v rozdílném stupni zralosti v rámci různých travních druhů (Bruinenberg *et al.*, 2002), ve variabilitě stáří listů (Groot a Neuteboom, 1997), v rozdílnosti fáze odnožování (Van Loo, 1993) a v různém zastoupení trav a leguminóz a způsobu pěstování jednotlivých druhů.

Vliv nadmořské výšky a termínu sklizně na *in situ* NDF degradovatelnost je znázorněn v grafu 2 a v grafu 3, respektive. Profil degradovatelnosti NDF byl založen na metodě nejmenších čtverců vycházejících z jednotlivých inkubačních intervalů z důvodu nevyrovnanosti dat způsobené počtem dní mezi jednotlivými termíny odběrů píce. V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty parametrů *in situ* bachorové degradovatelnosti NDF. Parametry NDF degradovatelnosti byly korigovány 0 h inkubačním intervalem

pro případný únik částeczek z nylonového sáčku. Parametr  $b$  byl nižší než DNDF zjišťovaný po dlouhodobém inkubačním intervalu 504 h. Hodnoty parametru  $b$  kolísaly od 0,590 do 0,874 a hodnoty parametru DNDF kolísaly od 0,672 do 0,900. Oba parametry ( $b$ , DNDF) byly ovlivněny nadmořskou výškou ( $P < 0,01$ ) a současně byly významně ovlivněny termínem sklizně ( $P < 0,0001$ ), (tabulka 7). V grafu 1 (E) je znázorněn vliv termínu sklizně a nadmořské výšky. Parametr DNDF byl významně ovlivněn termínem sklizně především v nadmořské výšce 850 m. Parametr DNDF u vzorků píče sklizené v období 24. 4. až 3. 7. vykazoval klesající průměrné hodnoty pro sledované nadmořské výšky, tj. 0,852 pro nadmořskou výšku 650 m, 0,845 pro nadmořskou výšku 700 m a 0,811 pro nadmořskou výšku 850 m. Rychlost degradace frakce NDF (parametr  $c$ ) vykazovala hodnoty od 0,024 do 0,069 h<sup>-1</sup>. Parametr  $c$  byl statisticky významně ovlivněn termínem sklizně ( $P < 0,01$ ), vliv nadmořské výšky nebyl prokázán (tabulka 7 a graf 1 (F)). Parametr lag fáze ( $lt$ ) byl v průměru 0,5 h (minimální hodnota  $lt$  byla 0 h, maximální hodnota  $lt$  byla 1,2 h). Obecně, s postupující vegetační fází porostu hodnoty parametrů bachorové degradovatelnosti (parametr  $b$ , parametr  $c$ ) a efektivní bachorová degradovatelnost NDF (ED) klesaly. ED NDF byla počítána s výtokovou rychlostí 0,02 h<sup>-1</sup> pomocí dvou rovnic: (1) rovnice nezahrnující parametr  $lt$  podle Ørskova a McDonalda (1979) a (2) rovnice zahrnující parametr  $lt$  podle McDonalda (1981), kde v obou případech ED NDF kolísala od 0,356 do 0,627. S narůstající nadmořskou výškou hodnoty ED klesaly ( $P < 0,05$ ). Tento trend je způsoben rozdíly v botanických fenofázích růstu rostlin v různých nadmořských výškách. Termín odběru vzorků měl statisticky významný vliv na ED NDF,  $b$ , DNDF ( $P < 0,0001$ ) a  $c$  ( $P < 0,01$ ). V průběhu vegetačního období 7. 5. až 3. 7. klesala ED NDF (pro hodnoty počítané bez parametru  $lt$ ) v průměru od 0,611 (termín 7. 5.), 0,597 (22. 5.), 0,525 (5. 6.) do 0,433 (3. 7.). Průměrná ED NDF počítaná s parametrem  $lt$  byla v těchto termínech 0,612 (termín 7. 5.), 0,598 (22. 5.), 0,526 (5. 6.) a 0,434 (3. 7.). Vzhledem k vyrovnanosti těchto hodnot ED NDF, byly dále brány v potaz hodnoty bachorové degradovatelnosti počítané bez parametru  $lt$ .

Termíny sklizně 7. 5., 22. 5., 5. 6. a 3. 7. vykazovaly snižující se hodnoty parametru  $b$  (0,833, 0,852, 0,791 a 0,652) a stejný pokles byl zaznamenán u parametru DNDF (0,881, 0,891, 0,851 a 0,745), respektive. Vliv zralosti na parametry degradovatelnosti byl srovnatelný s ostatními autory (Elizalde *et al.*, 1999; Yu *et al.*,



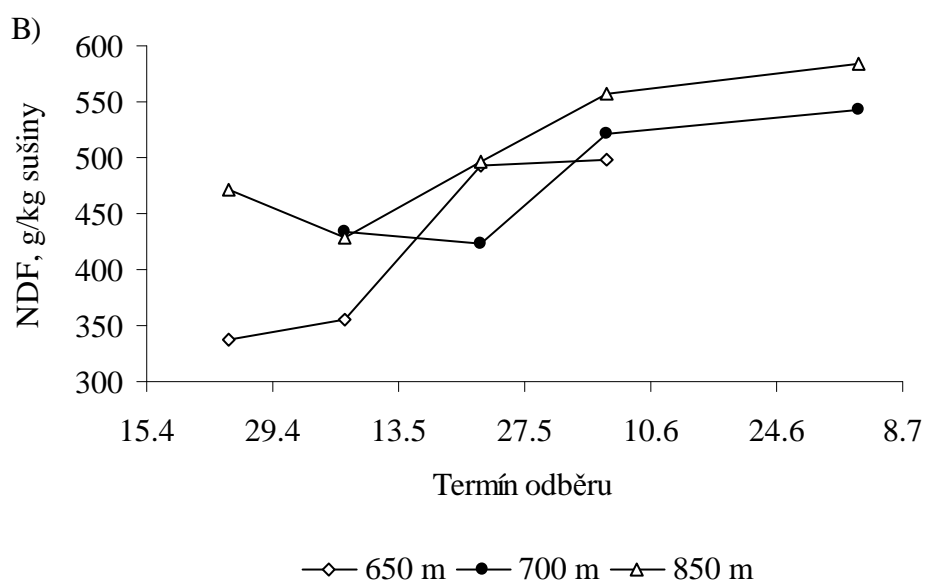
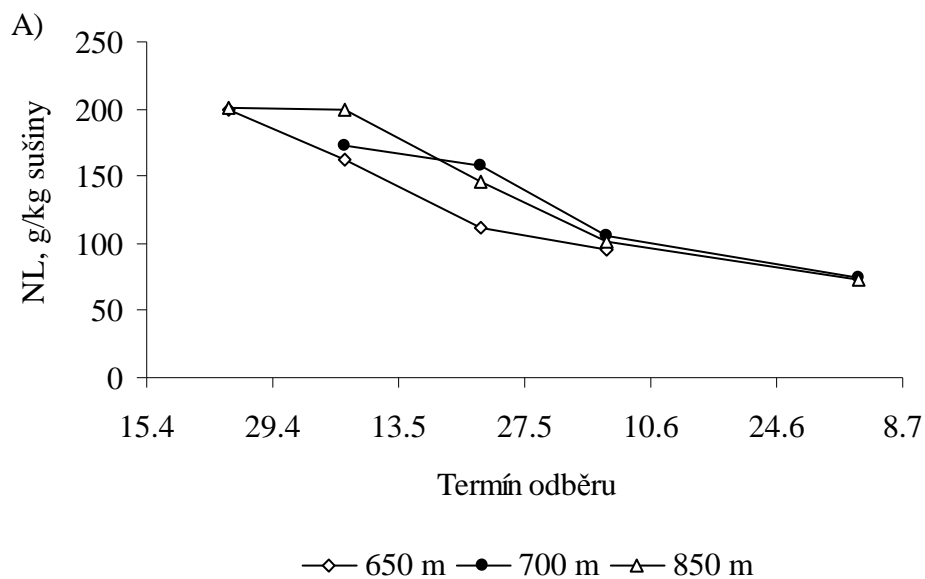
2004). Rozdíly jednotlivých botanických fenofází souvisejí se složením buněčných stěn, obsahu fenolových kyselin a koncentrací ligninu (Yu *et al.*, 2003; Yu *et al.*, 2004). Tito činitelé pak vzájemně ovlivňují degradovatelnost polysacharidů buněčných stěn (Jung a Allen, 1995). Parametry degradovatelnosti (*b*, *c* a DNDF) sledovaných porostů vykazovaly podobné hodnoty korelačních koeficientů jako tomu bylo pro vzorky objemné píče publikované v práci Koukolová *et al.* (2004). Parametr *b* a tudíž i parametr DNDF značně korelovaly ( $P < 0,0001$ ) s obsahem ADL ( $r = -0,81$  a  $r = -0,76$ , respektive) a s poměrem ADL/NDF ( $r = -0,86$  pro *b* a DNDF) (tabulka 8). Parametr *c* nejvíce pozitivně koreloval ( $P < 0,001$ ) s *in vitro* stravitelnostmi a negativně ( $P < 0,0001$ ) s frakcí NDF ( $r = -0,85$ ), ADF ( $r = -0,88$ ) a ADL ( $r = -0,75$ ). Na rozdíl od výsledků Koukolová *et al.* (2004) obsah NL tohoto experimentu méně koreloval s parametry *b* a DNDF. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně výsledkem nižší koncentrace NL u hodnocených trvalých travních porostů (NL se pohybovaly v rozmezí 63,1 a 210,4 g/kg sušiny; tabulka 6) ve srovnání s intenzivně obhospodařovanými píceňkami (čerstvou či silážovanou píčí), u které hodnoty NL kolísaly od 94 do 289 g/kg sušiny), (Koukolová *et al.*, 2004).

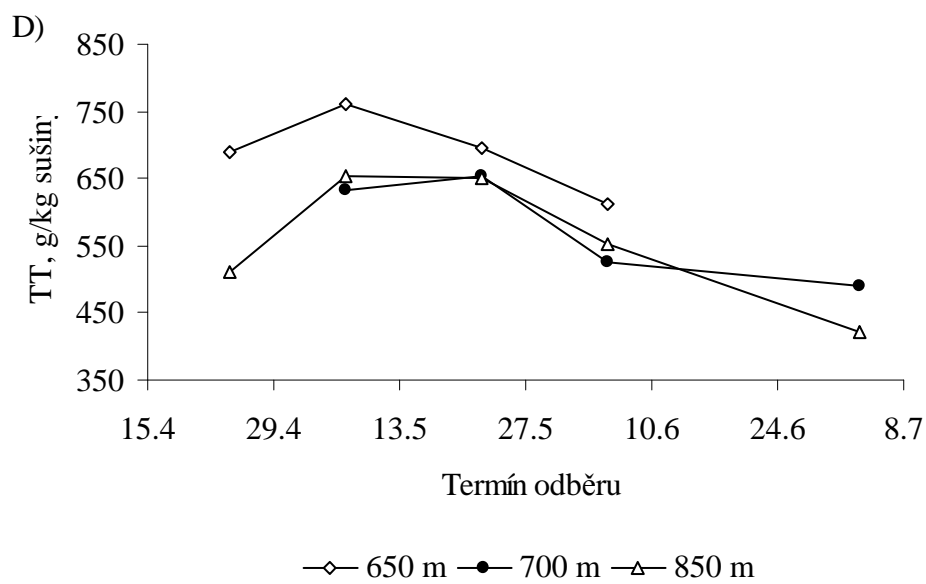
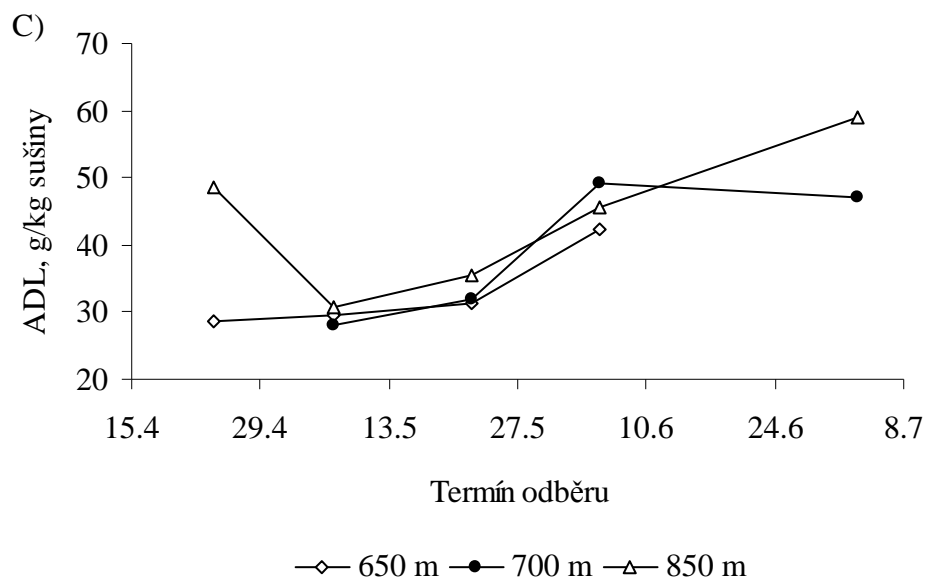
Parametry degradovatelnosti NDF (*b*, *c*, DNDF) byly uvedeny do vztahu s obsahem živin, *in vitro* a *in vivo* stravitelností pomocí vícenásobné lineární regresní analýzy a stepwise procedury pro selekci vlivů jednotlivých proměnných. Dostačující predikční rovnice jednotlivých parametrů degradovatelnosti NDF (*b*, *c*, DNDF) vycházely z *in vivo* stravitelnosti OH a obsahu NDF (tabulka 9).

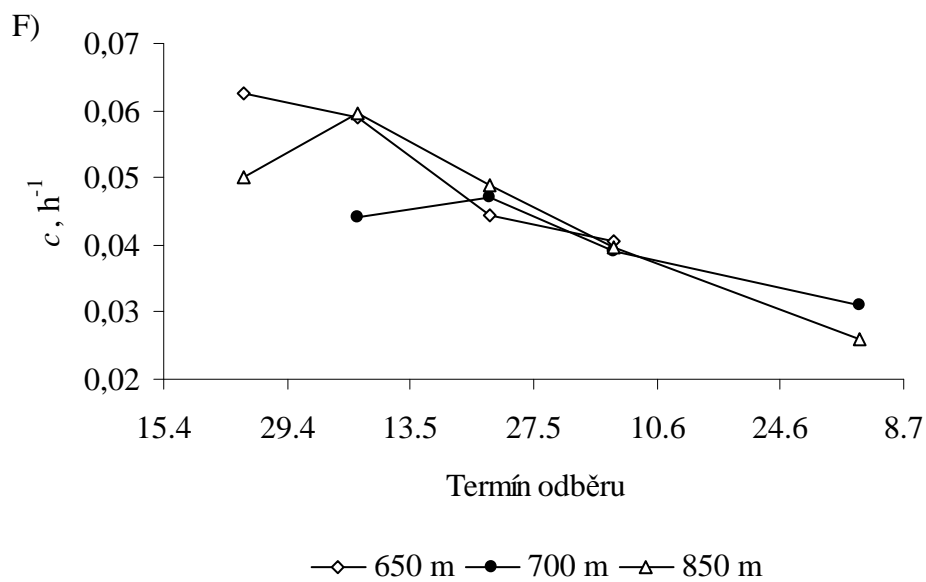
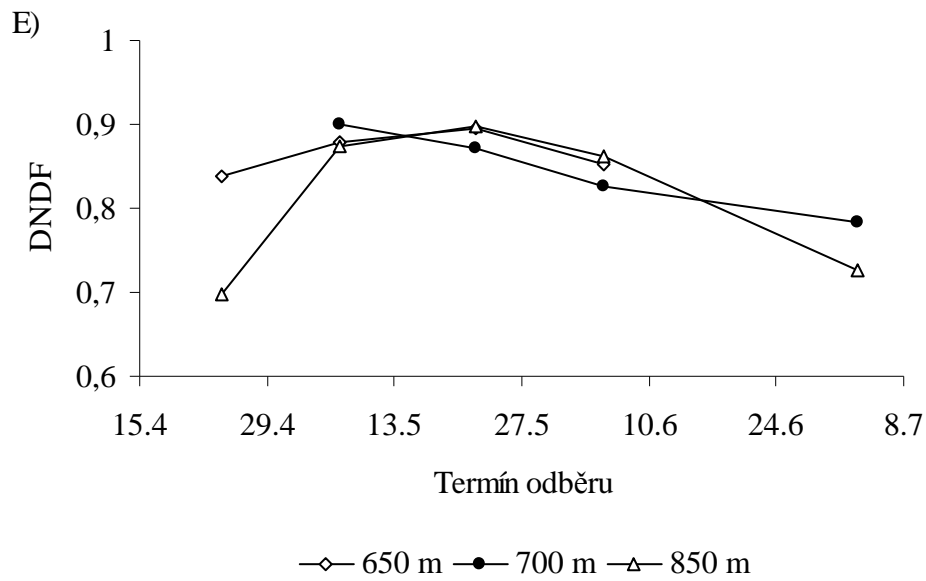
Uvedené predikční rovnice pro pastevní píči (tabulka 9) se liší od predikčních rovnic (Koukolová *et al.*, 2004) sestavených pro objemnou píči (jetelotráva, jílek vytrvalý, jetelotrávní siláž) z intenzivně obhospodařovaných ploch. Z toho vyplývá, že predikční rovnice nejsou univerzálním nástrojem pro predikci parametrů degradovatelnosti u objemné píče.

### 3.4. GRAFY, TABULKY

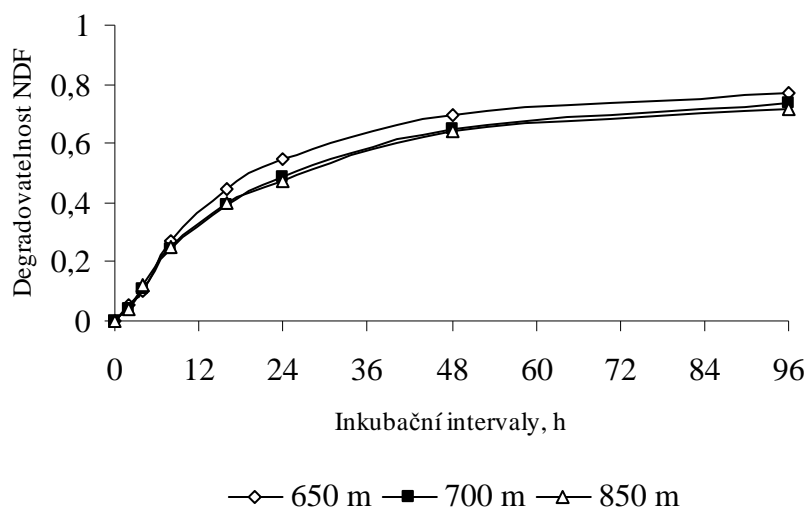
Graf 1. Vliv nadmořské výšky (650, 700, 850 m. n. m.) a termínu odběru (24. 4., 7. 5., 22. 5., 5. 6., 3. 7.) na obsah NL (graf A), NDF (graf B), ADL (graf C), *in vitro* stravitelnost OH stanovenou TT metodou (graf D), DNDF (graf E) a parametr *c* (graf F). Pozn. seznam zkratk je uveden na straně 2.



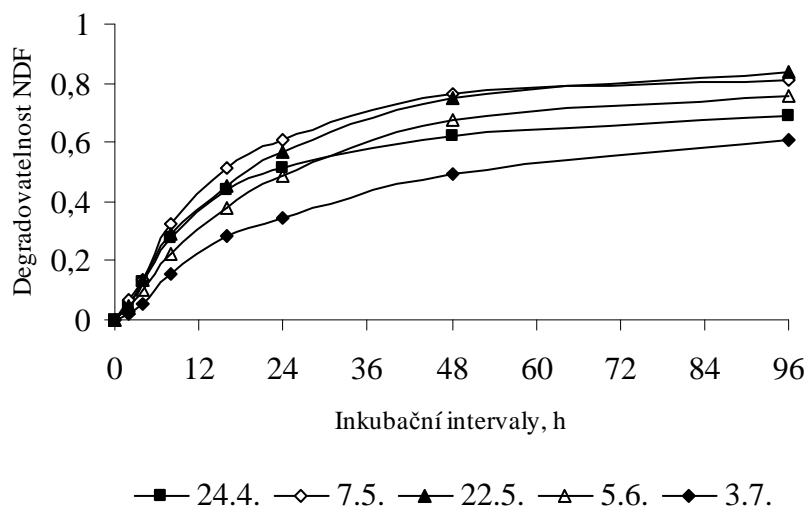




Graf 2. Vliv nadmořské výšky na *in situ* bachorovou degradovatelnost NDF (metoda nejmenších čtverců).



Graf 3. Vliv termínu odběru na *in situ* bachorovou degradovatelnost NDF (metoda nejmenších čtverců).



Tabulka 5. Seznam použitých vzorků píce pastevních porostů odebíraných ve třech různých nadmořských výškách v marginálních oblastech Šumavy v České republice.

Vzorek	Termín odběru	Botanické složení v % jeteloviny : trávy : byliny	Stav porostu, fenologické fáze
Nadmořská výška 650 m (Velký Chuchelec)			
1	24. 4.		nepasený <sup>1,8</sup>
2			nepasený <sup>1,8</sup>
3	7. 5.	50 : 30 : 20	nepasený <sup>2</sup>
4		9,5 : 75 : 15,5	nepasený <sup>2</sup>
5	22. 5.	12,5 : 60 : 27,5	nepasený <sup>3</sup>
6		5 : 59,5 : 35,5	nepasený <sup>3</sup>
7	5. 6.	20,5 : 48 : 31,5	nepasený <sup>4</sup>
8		2 : 71 : 27	nepasený <sup>4</sup>
9	3. 7.	33 : 51 : 16	po spasení <sup>5</sup>
10		16 : 65 : 19	po spasení <sup>5</sup>
Nadmořská výška 700 m (Malý Chuchelec)			
11	7. 5.	5 : 44 : 51	nepasený <sup>6</sup>
12	22. 5.	3,5 : 55 : 41,5	nepasený <sup>3</sup>
13	5. 6.		nepasený <sup>4,8</sup>
14	3. 7.	4 : 77 : 19	nepasený <sup>7</sup>
Nadmořská výška 850 m (Rojov)			
15	24. 4.		nepasený <sup>1,8</sup>
16			nepasený <sup>1,8</sup>
17	7. 5.	6 : 83 : 11	nepasený <sup>1,2</sup>
18		26,5 : 65 : 8,5	nepasený <sup>1,2</sup>
19	22. 5.	8,5 : 82,5 : 9	nepasený <sup>3</sup>
20		5 : 81 : 14	nepasený <sup>3</sup>
21	5. 6.	35 : 53 : 12	nepasený <sup>4</sup>
22		21 : 68 : 11	nepasený <sup>4</sup>
23	3. 7.	6 : 86 : 8	nepasený <sup>7</sup>
24		19 : 70 : 11	nepasený <sup>7</sup>

<sup>1</sup>fáze odnožování až počátek sloupkování (vegetativní fáze bylin; fáze poupat u *Taraxacum officinale*)

<sup>2</sup>počátek sloupkování až plné sloupkování většiny trav; počátek kvetení bylin (růst stonků, reprodukční fáze)

<sup>3</sup>sloupkování až počátek metání

<sup>4</sup>metání až počátek kvetení většiny trav

<sup>5</sup>fáze odnožování až tvorba listů (obruští porostu po pastvě)

<sup>6</sup>počátek sloupkování až plné sloupkování většiny trav, počátek kvetení bylin (růst stonků, reprodukční fáze)

<sup>7</sup>plné kvetení až zralost

<sup>8</sup>bez botanického rozboru

Tabulka 6. Základní živinové složení a *in vitro* stravitelnost (g/kg sušiny) vzorků pasterních porostů.

Vzorek	Chemické složení (g/kg sušiny)					<i>In vitro</i> stravitelnost (g/kg sušiny)				
	Popel	NL	NDF	ADF	ADL	ENZ <sub>NDF</sub>	TT <sub>NDF</sub>	ENZ	TT	
Nadmořská výška 650 m (Velký Chuchelec)										
24. 4.	1	125,1	188,8	332	202	31,4	505	434	746	695
	2	97,5	209,6	342	199	25,7	526	446	757	687
7. 5.	3	84,0	171,0	324	213	26,4	627	608	829	779
	4	80,4	154,7	388	248	32,4	519	572	762	741
22. 5.	5	71,4	107,1	477	285	31,2	466	586	684	733
	6	75,1	116,1	508	299	31,6	390	485	631	658
5. 6.	7	80,6	97,1	482	303	45,0	355	387	618	615
	8	68,6	93,3	514	301	39,9	307	381	581	611
3. 7.	9 <sup>1</sup>	97,0	145,0	416	269	45,3	425	332	683	600
	10 <sup>1</sup>	96,0	150,0	461	291	41,2	363	346	623	578
Nadmořská výška 700 m (Malý Chuchelec)										
7. 5.	11	86,2	172,0	434	248	28,1	472	455	700	633
22. 5.	12	78,2	157,7	423	257	31,8	438	457	699	655
5. 6.	13	63,0	105,6	521	307	49,2	279	337	562	525
3. 7.	14	67,4	74,4	543	322	47,2	259	205	528	491
Nadmořská výška 850 m (Rojov)										
24. 4.	15	76,9	210,4	451	253	44,1	385	258	641	547
	16	79,5	191,1	491	275	52,8	317	190	569	472
7. 5.	17	79,0	195,1	441	252	31,2	449	507	701	654
	18	81,6	205,1	416	233	30,2	463	521	708	653
22. 5.	19	66,7	147,2	492	287	37,1	388	498	644	649
	20	69,3	143,5	501	285	33,6	397	508	648	653
5. 6.	21	60,8	106,3	542	313	41,8	315	404	567	600
	22	52,1	95,3	573	340	49,5	201	281	485	506
3. 7.	23	55,8	63,1	592	361	57,6	203	134	471	407
	24	56,4	82,0	576	350	60,4	196	174	480	434
Pravděpodobnost vlivu nadmořské výšky a termínu odběru										
Nadm. výška		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Termín odběru		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<b>N × T</b>		0,19	0,08	0,03	0,06	0,05	0,53	0,12	0,19	0,16

pozn. seznam zkratk je uveden na straně 2

<sup>1</sup>mladá rostoucí píce po předchozím spasení

Tabulka 7. Parametry degradovatelnosti NDF u vzorků pasterovaných porostů.

Vzorek	Bez parametru lag fáze				S parametrem lag fáze <sup>6</sup>				
	$b^1$	$c^2$	ED <sup>3</sup>	DNDF <sup>4</sup>	$lt^5$	$b$	$c$	ED	
Nadmořská výška 650 m (Velký Chuchelec)									
24. 4.	1	0,768	0,069	0,596	0,826	0,1	0,767	0,070	0,596
	2	0,793	0,056	0,585	0,851	0,6	0,787	0,062	0,587
7. 5.	3	0,856	0,064	0,653	0,869	1,0	0,848	0,075	0,656
	4	0,812	0,054	0,591	0,888	0,8	0,805	0,060	0,594
22. 5.	5	0,874	0,044	0,600	0,898	0,6	0,869	0,047	0,601
	6	0,858	0,045	0,596	0,891	1,0	0,851	0,051	0,598
5. 6.	7	0,807	0,041	0,542	0,850	1,2	0,799	0,046	0,544
	8	0,814	0,040	0,541	0,856	1,1	0,806	0,044	0,542
3. 7.	9 <sup>7</sup>	0,717	0,061	0,539	0,790	0,4	0,714	0,064	0,540
	10 <sup>7</sup>	0,718	0,044	0,493	0,804	0,4	0,715	0,046	0,494
Nadmořská výška 700 m (Malý Chuchelec)									
7. 5.	11	0,848	0,044	0,582	0,900	0,9	0,841	0,048	0,583
22. 5.	12	0,826	0,047	0,579	0,871	0,2	0,824	0,048	0,580
5. 6.	13	0,755	0,039	0,501	0,826	0,7	0,750	0,042	0,502
3. 7.	14	0,690	0,031	0,417	0,783				
Nadmořská výška 850 m (Rojov)									
24. 4.	15	0,657	0,057	0,486	0,722	0,6	0,652	0,062	0,488
	16	0,590	0,043	0,402	0,672	0,6	0,587	0,045	0,403
7. 5.	17	0,814	0,067	0,627	0,872	0,1	0,812	0,069	0,627
	18	0,835	0,052	0,602	0,876				
22. 5.	19	0,853	0,050	0,609	0,897	0,3	0,851	0,052	0,610
	20	0,847	0,048	0,599	0,898				
5. 6.	21	0,801	0,045	0,553	0,869				
	22	0,776	0,034	0,488	0,854	0,7	0,770	0,036	0,488
3. 7.	23	0,618	0,028	0,362	0,712	0,8	0,614	0,030	0,362
	24	0,649	0,024	0,356	0,739	0,5	0,645	0,025	0,356
Pravděpodobnost vlivu nadmořské výšky a termínu odběru									
Nadm. výška	<0,01	0,55	0,03	<0,01	0,05	<0,01	0,21	0,03	
Termín odběru	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	<0,01	<0,01	<0,01	
<b>N × T</b>	<0,01	0,40	0,06	<0,01	0,07	<0,01	0,66	0,06	

<sup>1</sup>nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF

<sup>2</sup>rychlost degradace frakce  $b$  ( $h^{-1}$ )

<sup>3</sup>efektivní bachorová degradovatelnost NDF počítaná s výtokovou rychlostí  $0,02 h^{-1}$

<sup>4</sup>nestravitelný podíl NDF stanovený po 504 h *in situ* metodou (100 – bachorová degradovatelnost NDF stanovená po 504 h)

<sup>5</sup>lag fáze (h)

<sup>6</sup>výsledky nejsou znázorněny pro vzorky, u kterých hodnota lag fáze byla nulová

<sup>7</sup>mladá rostoucí píce po předchozím spasení  
pozn. seznam zkratk je uveden na straně 2



Tabulka 8. Korelační koeficienty parametrů degradovatelnosti NDF ( $b^1$ ,  $c^2$ , DNDF<sup>3</sup>) ve vztahu k chemickému složení a stravitelnosti *in vitro*.

Parameter	$b$	$c$	DNDF
$c$	0,42*		
DNDF	0,98***	0,36	
NDF <sup>4</sup>	-0,40	-0,85***	-0,33
ADF <sup>4</sup>	-0,38	-0,88***	-0,31
ADL <sup>4</sup>	-0,81***	-0,75***	-0,76***
ADL/NDF <sup>5</sup>	-0,86***	-0,29	-0,86***
NL <sup>4</sup>	0,15	0,81***	0,09
TT <sub>NDF</sub> <sup>6</sup>	0,91***	0,67**	0,87***
ENZ <sub>NDF</sub> <sup>6</sup>	0,60*	0,84***	0,53*
TT <sup>6</sup>	0,84***	0,75***	0,78***
ENZ <sup>6</sup>	0,61*	0,86***	0,54*

<sup>1</sup> nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF

<sup>2</sup> rychlost degradace frakce  $b$  ( $h^{-1}$ )

<sup>3</sup> nestravitelný podíl NDF stanovený po 504 h *in situ* metodou (100 – bachorová degradovatelnost NDF stanovená po 504 h)

<sup>4</sup> g/kg sušiny

<sup>5</sup> poměr ADL/NDF

<sup>6</sup> *in vitro* stravitelnost organické hmoty a NDF

Statistická průkaznost \*P < 0,05, \*\*P < 0,001, \*\*\*P < 0,0001

pozn. seznam zkratk je uveden na straně 2

Tabulka 9. Vícenásobná regresní analýza pro predikci parametrů degradovatelnosti NDF ( $b^1$ ,  $c^2$ , DNDF<sup>3</sup>). Jednotkami pro chemické analýzy jsou kg/kg sušiny a pro stravitelnost kg/kg.

Proměnná Y	Proměnné X a parametry regresní analýzy	R <sup>2</sup>	RMSE <sup>4</sup>	PRESS <sup>5</sup>
Zahrnující <i>in vivo</i> stravitelnost organické hmoty a frakci NDF				
$b$	$-2,16 + 1,94 \text{ NDF} + 2,98(\text{in vivo})^6$	0,680	0,050	0,059
$c$	$0,079 - 0,144 (\text{NDF} \times \text{NDF})$	0,744	0,006	0,007
DNDF	$-1,37 + 1,94 (\text{NDF} \times \text{NDF}) + 2,60(\text{in vivo})^6$	0,611	0,044	0,053

<sup>1</sup> nerozpustná, ale potenciálně degradovatelná frakce NDF

<sup>2</sup> rychlost degradace frakce  $b$  ( $h^{-1}$ )

<sup>3</sup> nestravitelný podíl NDF stanovený po 504 h *in situ* metodou (100 – bachorová degradovatelnost NDF stanovená po 504 h)

<sup>4</sup> střední kvadratická odchylka

<sup>5</sup> predikční odchylka (chyba III. druhu) ověřená testem cross-validation

<sup>6</sup> *in vivo* stravitelnost organické hmoty predikovaná *in vitro* enzymatickou metodou

pozn. seznam zkratk je uveden na straně 2

### 3.5. ZÁVĚR

Nutriční hodnota pastevní píce sledované v různých nadmořských výškách se lišila ve stravitelnosti OH a NDF. Parametry bachorové degradovatelnosti NDF zřetelně korelovaly s chemickým složením vzorků. Tyto údaje vypovídají o vlivu vegetační fáze porostu, ovlivněného nadmořskou výškou, na kvalitu píce v průběhu vegetačního období. Kolísající nutriční hodnota pastevní píce by měla být vzata v úvahu při optimalizaci pastevních systémů z hlediska výživy pasoucích se zvířat a ochrany biodiverzity spásaných oblastí. Zároveň hodnocení píce z hlediska frakcí vlákniny (NDF, ADF a ADL), parametrů degradovatelnosti NDF, *in vitro* a *in vivo* stravitelnosti je nezbytné pro zpřesňování nutriční hodnoty krmiv a validaci nových metod vycházejících z fyziologie trávicího ústrojí přežvýkavců. Tyto poznatky lze pak aplikovat při sestavování krmných dávek, které významně ovlivňují užitkovost hospodářských zvířat.

## 4. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Allen M. S. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 1598-1624.
- Anonymous (1998). Method for Determining Neutral Detergent Fiber (aNDF). Ankom Technology, USA, pp 2.
- Antoniewicz A., Van Vuuren A. M., Van Der Koelen C. J., Kosmala J. (1992). Intestinal digestibility of rumen undergraded protein of formaldehyde-treated feedstuffs measured by mobile bag and *in vitro* technique. *Anim. Feed Sci. Technol.* 39: 111-124.
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> Edition. Washington, DC.
- Arthington J.H., Brown W.F. (2005). Estimation of feeding value of four tropical forage species at two stages of maturity. *J. Anim. Sci.* 83: 1726-1731.
- Aufrère J., Graviou D., Demarquilly C., Vérité R., Michalet-Doreau B., Chapoutot P. (1991). Prediction *in situ* degradability of feed proteins in the rumen by two enzymatic methods (solubility and enzymatic degradation). *Anim. Feed Sci. Technol.* 33: 97-116.
- Beauchemin K. A. (2000). Managing rumen fermentation in barley based diets: Balance between high production and acidosis. *Adv. Dairy Technol.* 12: 109-125.
- Beever D.E., Mould F.L. (2000). Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. In: Givens D.I., Owen E., Axford R.F.E., Omed H.M. (eds), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CAB International, pp 15-42.
- Bruinenberg M.H., Valk H., Korevaar H., Struik P.C. (2002). Factors affecting digestibility of temperate forages from seminatural grasslands: a review. *Grass and Forage Sci.* 57: 292-301.
- Buxton D. R., Fales S. L. (1994). Plant environment and quality. In: G. C. Fahey, M. Collins, D. R. Mertens, L. E. Moser (Editors), *Forage quality, evaluation, and utilization*. Am. Soc. Agron. Madison, WI, 155-199.
- Colucci P. E., Macleod G. K., Grovum W. L., McMillan I., Barney D. J. (1990). Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *J. Dairy Sci.* 73: 2143-2156.
- Čemák B., Frelich J., Vávrová L., Starý J. (2008). Změny v obsahu dusíkatých látek, hrubé vlákniny a ligninu v pastevním porostu ve vztahu k mléčné užitkovosti ve vybraných podnicích LFA oblastí. *Výživa dojnic, Pohořelice* 5. 6. 2008. 25-30. ISBN 978-80-87144-02-2

- Davis C. L. (1992). F. Urban, J. Bouška, V. Čermák, O. Doležal, J. Fulka (jr.), J. Fulka, J. Futerová, P. Homolka, F. Jílek, V. Kudrna, R. Loučka, E. Machačová, M. Marounek, J. Miklík, Z. Mudřík, P. Jaroslav, Z. Poděbradský, L. Šereda, V. Skřivanová, J. Váchal, J. Vetyška, J. Žižlavský (1997) (Editors). Chov dojeného skotu, nakladatelství APROS, ISBN 80-901100-7-X. 288 p.
- Dehority B. A. (1993). Microbial ecology of cell wall fermentation. In: H. G. Jung *et al.* (Editors), Forage cell wall structure and digestibility, Amer. Soc. Agron., Madison, Wisconsin. 425-453.
- Drevjany L., Kozel V., Padrůněk S. (2004). Holštýnský svět. 344 p.
- Dubbs T.M., Vanzant E.S., Kitts S.E., Bapst R.F., Fieser B.G., Hewlett C.M. (2003). Characterization of season and sampling method effects on measurement of forage duality in fescue-based pastures. *J. Anim. Sci.* 81: 1308-1315.
- Elizalde J.C., Merchen N.R., Faulkner D.B. (1999). *In situ* dry matter and crude protein degradation of fresh forages during the spring growth. *J. Dairy Sci.* 82: 1978-1990.
- Ferreira A.M., Kerstens J., Gast C.H. (1983). The study of several modifications of the neutral detergent fibre procedure. *Anim. Feed Sci. Tech.* 9: 19-28.
- Fibertec System M. Manual Part NO 1537, T 8305 Prabin & Co AB Tecator. Appendix to Fibertec Manual, Finn Alstin.
- Forejtová J., Lád F., Třináctý J., Richter M., Gruber L., Doležal P., Homolka P., Pavelek L. (2005). Comparison of organic matter digestibility determined by *in vivo* and *in vitro* methods. *Czech J. Anim. Sci.* 50 (2): 47-53.
- Gibon A. (2005). Managing grassland for production, the environment and the landscape. Challenges at the farm and the landscape level. *Livest. Prod. Sci.* 96 (1): 11-31.
- Groot J.C.J., Neuteboom J.H. (1997). Composition and digestibility during ageing of Italian ryegrass leaves of consecutive insertion levels. *Journal of Science of Food and Agriculture.* 75: 227-236.
- Heitschmidt R.K., Vermeire L.T., Grings E.E. (2004). Is rangeland agriculture sustainable? *J. Anim. Sci.* 82 (E. Suppl.): E138-E146.
- Homolka P., Pavelek L. (2002). Nutriční hodnota píče horských pastvin v Krkonošském národním parku využívaných k pastvě ovcí. Chov zvířat v trvalo udržitelnom poľnom poľnohospodárstve, 2. Časť. 411-414.
- Horák V., Staszková L. (1998). Rostlinné polysacharidy. Biochemie, Skripta České Zemědělské Univerzity v Praze. 200 p.

- Huhtanen P., Jaakkola S. (1993). The effects of forage preservation method and proportion of concentrate on digestion of cell wall carbohydrates and rumen digesta pool size in cattle. *Grass and Forage Science*. 48: 155-165.
- Hvelplund T., Weisbjerg M.R. (2000). *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and post-rumen availability. In: Givens D.I., Owen E., Axford R.F.E., Omed H.M. (eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing. 233-258.
- Illek J., Matějčiček M. (2002). Použití propylenglykolu ve výživě dojnic. *Náš chov*. 1: 54-55.
- Janknecht G. (2000). Americké hodnocení krmiv s NDF a ADF. *Úspěch ve stáji*. 3: 3-4.
- Jelínek P., Koudela K., Doskočil J., Illek J., Kotrbáček V., Kovářů F., Kroupová V., Kučera M., Kudláč E., Trávníček J., Valent M. (2003). *Fyziologie hospodářských zvířat*. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 414 p. ISBN 80-7157-644-1
- Jung H.G., Allen M.S. (1995). Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 2774-2790.
- Kadlec J., Čermák B., Lád F., Klimeš F. (2004). Dynamika kvalitativních charakteristik trav z hlediska jejich stravitelnosti (Dynamic of quality characteristic of fodder grasses in relationship to their digestibility). *Collection of Scientific Paper, fakulty of Agriculture in České Budějovice, Series for Animal Science, volume XXI., České Budějovice, 1 Special Issue*. 125-127.
- Kononoff P.J., Heinrichs A.J. (2003). The effect of reducing alfalfa haylage particle size on cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 86: 1445-1457.
- Koukolová V., Homolka P. (2008). Hodnocení stravitelnosti neutrálně-detergentní vlákniny ve výživě skotu. *Metodika*. 29 p. ISBN 978-80-7403-016-1
- Koukolová V., Weisbjerg M.R., Hvelplund T., Lund P., Čermák B. (2004). Prediction of NDF degradation characteristics of grass/clover forages based on laboratory methods. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 691-708.
- Kowalczyk J., Zebrowska T. (2000). Włókno pokarmowe skład chemiczny i biologiczne działanie. *Institut Fizjologii i Zwierzat im. Jana Kielanowskiego w Jablonnie*, 05-110 Jablonna. 119-127.
- Kudrna a kol. (1998). *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj Praha. 362 p. ISBN 80-239-4241-7
- Kudrna V., Homolka P. (2007). Vliv krmné dávky dojnic na množství a kvalitu mléčného tuku. *Vědecký výbor výživy zvířat, Praha, Prosinec 2007*. 49 p.

- Lardy G.P., Ulmer D.N., Anderson V.L., Caton J.S. (2004). Effects of increasing level of supplemental barley on forage intake, digestibility, and ruminal fermentation in steers fed medium-quality grass hay. *J. Anim. Sci.* 82: 3662-3668.
- Lemaire G., Wilkins R., Hodgson J. (2005). Challenges for grassland science: managing research priorities. *Agriculture ecosystems and environment.* 108 (2): 99-108.
- Lund P. (2002). The effect of forage type on passage kinetics and digestibility of fibre in dairy cows. Ph.D.-Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University (Denmark). 171 p.
- McDonald I. (1981). A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agr. Sci.* 96: 251-252.
- Mertens D. R. (1993). Kinetics of cell wall digestion and passage in ruminants. In: H.G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield, J. Ralph (Editors). *Forage Cell Wall Structure and Digestibility.* American Society of Agronomy. 535-570.
- Mertens D. R. (1994). Regulation of feed intake. In: G. C. Fahey, J. M. Collins, D. R. Mertens, L. E. Moser (Editors), *Forage Quality, Evaluation and Utilization.* American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI. 450-493.
- Mertens D. R. (2000). Physically effective NDF and its use in dairy rations explored. *Feedstuffs April.* 10: 11-14.
- Michalet-Doreau B., Ould-Bah M. Y. (1992). *In vitro* and *in sacco* methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen. A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40: 57-86.
- Míka V., Harazim J., Kalač P., Kohoutek A., Komárek P., Pavlů V., Pozdíšek J. (1997). *Kvalita píče. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha.* 227 p. ISBN 80-96153-59-2
- Mládek J. (2005). Pastva jako prostředek údržby trvalých travních porostů v CHKO. Závěrečná zpráva (MŽP, program BIOSFÉRA – SE/téma VaV/602/11/03 (2003-2005). 298 p.
- NRC (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle.* 7<sup>th</sup> ed. National Research Council, Washington, USA. pp. 381.
- Ørskov E.R., McDonald I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agr. Sci.* 92: 499-503.
- Pavlů a kol. (2001). *Pastvinářství.* 96 p.

- Setälä J., Vaatainen H., Ettala T. (1984). *In vitro* evaluation of protein digestibility in the abomasum and small intestine of ruminants. J. Agric. Sci. (Finland). 56: 151-161.
- Schiemann R. (1981). Archiv. f. Tierernähr. 31, 1-19.
- Skapetas B., Nitas D., Karalazos A., Hatziminaoglou I. (2004). A study on the herbage mass production and quality for organic grazing sheep in a mountain pasture of northern Greece. Livest. Prod. Sci. 87: 277-281.
- Søgaard K., Weisbjerg M.R., Thøgersen R., Mikkelsen M. (2001). Laboratory methods for estimation of digestibility in forages for cattle, focussing on starch rich whole crop cereals (in Danish). Forskningsrapport no. 34. Statens Husdyrbrugsforsøg (Denmark). pp. 28.
- Statistical Analysis Systems Inc. (2003). SAS; Statistic's Version 9.1 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Stensig T., Robinson P. H. (1997). Digestion of passage kinetics of forage fiber in dairy cows as affected by fiber-free concentrate in the diet. J. Dairy Sci. 80: 1339-1352.
- Stensig T., Weisbjerg M. R., Madsen J., Hvelplund T. (1994). Estimation of voluntary feed intake from *in sacco* degradation and rate of passage of DM and NDF. Livest. Prod. Sci. 39: 49-52.
- Tang S., Tan Z., Zhou C., Jiang H., Jiang Y., Sheng L. (2006). A comparison of *in vitro* fermentation characteristics of different botanical fractions of mature maize stover. J. Anim. Feed Sci. 15: 505-515.
- Tilley J.M.A., Terry R.A. (1963). A two stage technique for the *in vitro* digestion of forages. J. Brit. Grassl. Soc. 18: 104-111.
- Tománková O., Homolka P. (1995). Predikce střevní stravitelnosti dusíkatých látek nedegradovaných v batoru enzymatickou metodou. Czech J. Anim. Sci. 40: 171-175.
- Tománková O., Homolka P. (1997). Comparison of enzymatic technique and mobile bag technique for determination of intestinal digestibility of feedstuff undegradable protein. Czech J. Anim. Sci. 42: 219-222.
- Tománková O., Homolka P. (1999). Predikce střevní stravitelnosti proteinu nedegradovaného v batoru kombinovanou enzymatickou metodou. Czech J. Anim. Sci. 44: 323-328.
- Tománková O., Homolka P. (2002). Intestinální stravitelnost dusíkatých látek u jadrných krmiv stanovená enzymaticky kombinovanou metodou. Czech J. Anim. Sci. 47 (1): 15-20.
- Troxler J., Jans F. (2000). Optimal management of forage on extensive mountain grazing pastureland: influences on vegetation and animal performance. In: Søgaard K., Ohlsson

- C., Sehesed J., Hutchings N.J., Kristensen T. (eds). Balancing environmental and economic demands. *Grassland Science in Europe*. 5: 319-321.
- Urban F. a kolektiv (1997). Chov dojeného skotu. Nakladatelství APROS, 288 p. ISBN 80-901100-7-X
- Vajda V., Mitřík T., Maskal'ová I., Bachratý M. (2003). Nutričná regulácia bachorových funkcií. *Slovenský chov*. 4: 32-33.
- Van Loo E.N. (1993). On the relation between tillering, leaf area dynamics and growth of perennial ryegrass (*Lilium perence* L.). Ph.D.-Thesis. Wageningen.
- Van Saun J. R., Koukal P. (2003). Výživa přežvýkavců – trávení sacharidů. *Farmář*. 1: 40-42.
- Van Soest P. J. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determinations of fiber and lignin. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 46: 829.
- Van Soest P.J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press. pp. 476.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991). Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
- Velíšek J. (2002). *Chemie potravin 1*. 344 p. ISBN 80-86659-00-3
- Vencl B. (1985). Metodické zásady pro provádění bilančních a skupinových pokusů na přežvýkavcích. VÚŽV Uhřetěves. 36 p.
- Waldo D. R. (1986). Effect of forage quality on intake and forage-concentrate interactions. *J. Dairy Sci.* 69: 617-631.
- Weisbjerg M. R., Hvelplund T. (1993). Estimation of NE content (FUC) in straights and concentrate mixtures (in Danish). *Forskningsrapport Nr. 3, Statens Husdyrbrugsforsk.* pp. 39.
- Wiesmann D. Vorschneiderová L. (2001). Krmění dojnic. Co dovoluje pastva? In: Pavlů a kol. (2001): *Pastvinářství*. 96 p.
- Xue B., Zhao X.Q., Zhang Y.S. (2005). Seasonal changes in weight and body composition of yak grazing on alpine-meadow grassland in the Qinghai-Tibetan plateau of China. *J. Anim. Sci.* 83: 1908-1913.
- Yang W. Z., Beauchemin K. A. (2006). Physically effective fiber: Method of determination and effects on chewing, ruminal acidosis, and digestion by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 2618-2366.



- Yang W.Z., Beauchemin K.A. (2006). Increasing the physically effective fiber content of dairy cows diets may lower efficiency of feed use. *J. Dairy Sci.* 89: 2694-2704.
- Yu P., Christensen D.A., McKinnon J.J. (2003). Effect of variety and maturity stage on chemical composition, carbohydrate and protein subfractions, *in vitro* rumen degradability and energy values of timothy and alfalfa. *Can. J. Anim. Sci.* 83: 279-290.
- Yu P., Christensen D.A., McKinnon J.J. (2004). *In situ* rumen degradation kinetics of timothy and alfalfa as affected by cultivar and stage of maturity. *Can. J. Anim. Sci.* 84: 255-263.
- Zebeli Q., Tafaj M., Steingass H., Metzler B., Drochner W. (2006). Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 89: 651-668.
- Zeman a kol. (2006). *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 360 p. ISBN 80-86726-17-7

Poděkování:

Studie byla uskutečněna s finanční podporou MZE0002701404.

**Vydal:** Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.  
Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves

**Název:** Vliv strukturních sacharidů na bachorovou fermentaci, zdraví zvířat a kvalitu mléka

**Autoři:** Ing. Veronika Koukolová, Ph.D.  
Ing. Petr Homolka, Ph.D.  
Ing. Václav Kudrna, CSc.  
Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha Uhřetěves

**Stanovisko:** Dr. Ing. Pavel Tvrzník  
Mikrop Čebín, a.s.

ISBN           **978-80-7403-066-6**

Vydáno bez jazykové úpravy.

Studie vznikla v rámci Vědeckého výboru výživy zvířat.

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