

Vědecký výbor výživy zvířat

**PŘÍRODNÍ TOXICKÉ LÁTKY
VE VÝŽIVĚ HOSPODÁŘSKÝCH
ZVÍŘAT**

Prof. Ing. Eva Tůmová, CSc.

Praha, červen 2006



Výzkumný ústav živočišné výroby
Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,
PSČ: 104 01, www.vuzv.cz

Obsah

	Stránka
1 Rostlinné organismy a jejich metabolity	3
2 Toxikologicky významné látky v rostlinách	5
2. 1 Proteiny, dipeptidy a aminokyseliny	5
2. 2 Mastné kyseliny	14
2. 3 Sacharidy	16
2. 4 Cheláty	18
2. 5 Fenolické sloučeniny	19
2. 6 Glykosidy	24
2. 7 Alkaloidy	29
2. 8 Mykotoxiny	32
2. 9 Další sloučeniny	34
3 Závěr	37
4 Příloha	37
5 Seznam použité literatury	39

Ve výživě hospodářských zvířat se používají komponenty, které mohou konkurovat výživě člověka, a proto se hledají další zdroje krmiv, které nemají význam ve výživě člověka. Ve vztahu k výživě zvířat má význam i zákaz používání živočišných mouček v Evropské unii u řady druhů hospodářských zvířat. V tomto směru jsou pak hledány náhradní zdroje bílkovin rostlinného původu. Použití alternativních zdrojů krmiv může však vést k ovlivnění užitečnosti zvířat a je také závislé i na jejich dostupnosti. Použití alternativních zdrojů krmiv nemusí mít pozitivní vliv na ekonomiku produkce.

V řadě krmiv rostlinného původu jsou přítomny antinutriční nebo toxické látky. Většina těchto látek jsou běžné sloučeniny různého chemického složení jako například bílkoviny, mastné kyseliny, glykosidy, alkaloidy apod., které mohou být uloženy v různých částech rostlin. U některých z těchto látek může být toxicita snížena tepelnou úpravou, máčením atd. Při použití tepelné úpravy je důležité, aby došlo ke snížení negativního působení toxické látky, ale nebyla snížena biologická hodnota krmiva. Na druhou stranu vysoká teplota může způsobit vznik dalších toxických sloučenin. Dále účinek toxických sloučenin přítomných v krmivech, zejména v obilovinách a luskovinách, může být zvýšen během sklizně, přepravy a skladování. Mezi nejvíce citlivé druhy na toxické látky patří drůbež, zatímco ostatní druhy hospodářských zvířat jsou méně vnímavé. Z tohoto důvodu budou ve studii popsány zejména účinky u drůbeže, u které je negativní působení toxických látek zjišťováno již v malých množstvích.

1 Rostlinné organismy a jejich metabolismy

Rostliny nevytvářejí centrální orgány pro určité fyziologické funkce, jako je dýchání, vyměšování nebo pro asimilaci oxidu uhličitého. Protože neexistují centrální orgány vyměšování (exkrece), nahrazuje jejich funkci buněčná exkrece. Každá buňka ukládá produkty svého metabolismu v sobě, ve zvláštních prostorech ohraničených polopropustnými membránami (kompartmen- tech). Exkrety (produkty vyměšování) jsou tak odděleny od živého protoplastu. Jedním z takových kompartmentů je vakuom, což je soubor vakuol. Vakuoly jsou dutiny v cytoplazmě rostlinné buňky vyplněné buněčným roztokem (roztokem různých látek). V mladých dělivých buňkách bývá velký počet malých vakuol, které během diferenciací buňky splývají a v dospělé buňce tvoří vakuoly podstatnou složku jejího objemu. S tvorbou vakuol souvisí dlouhivý růst rostlin. Svršek (1997) uvádí, že z chemického hlediska

je buněčný roztok vakuol koloidním nebo pravým roztokem různých produktů metabolismu rostliny. Obsahuje glycidy, proteiny, lipidy, třísloviny, organické kyseliny a aminokyseliny, alkoholy, anthokyany, flavony, pryskyřice. Toxickými produkty metabolismu jsou např. některé alkaloidy (obvykle ve formě solí s organickými kyselinami), glykosidy atd.

Některé rostlinné buňky se specializují na hromadění různých typů látek. Tyto buňky se nazývají idioblasty. Často se vyskytují idioblasty siličné, tříslovinné, s obsahem mléčné šťávy nebo alkaloidů. Některé idioblasty hromadí různé krystalické útvary. Kromě idioblastů vytvářejí mnohé rostliny různé sekreční útvary vnitřní a povrchové, do nichž vylučují produkty metabolismu.

Toxické metabolity mohou být obsaženy také v mezibuněčných prostorech (intercelulárech) ve tvaru nádržek nebo kanálek v rostlinném pletivu. Povrchovým útvarem k vylučování konečných produktů metabolismu jsou nejčastěji žláznaté nebo žahavé trichomy. Nejčastěji produkují směsi nižších terpenů a derivátů fenylypropanu, tj. silice.

Při studiu metabolismů rostlin se někdy hovoří o primárním a sekundárním metabolismu. Biogeneze proteinogenních kyselin, většiny glycidů, nukleových kyselin, některých karboxylových kyselin a proteinů se označuje jako primární metabolismus. Schémata takových metabolismů mají často cyklický charakter. Vedle těchto procesů probíhají v cytoplasmě biochemické reakce, které nejsou pro život buňky nezbytné a často jsou různé druh od druhu. Tyto reakce se souhrnně označují jako sekundární metabolismus. V cyklických schématech se objevují jako zakončení postranních větví. Rozsáhlé biochemické a molekulárně biologické výzkumy prokázaly, že sekundární metabolismus je úzce spjat s metabolismem primárním a nelze najít žádné přesné hranice mezi nimi. Mnohé konečné produkty metabolismu rostliny jednoho druhu mohou být meziprodukty (intermediáty) v metabolismu jiného druhu. Biogeneze sekundárních metabolitů je založena pouze na několika primárních metabolitech, kterými jsou aminokyseliny, acetylkoenzym A, mevalonová kyselina a meziprodukty biosyntézy šikimové kyseliny (Svršek, 1997).

Sekundární metabolity nejsou zdrojem energie ani stavebních nebo zásobních látek. Látky, které se nacházejí mimo cytoplasmu, zůstávají neměnné na rozdíl od látek rozpustných ve vodě, které se nacházejí v reaktivních oblastech buněk a podléhají změnám. Některé rostliny odbourávají alkaloidy skladované v endospermu a embryu během klíčení. Tato degradace však není životně důležitá. Totéž platí o glycidech, které vznikají degradací sekundárních

glykosidů. Předpokládá se, že slouží jako rezervní látky a že jejich biosyntetický mechanismus má fyziologickou důležitost. Mnohé biogeneze sekundárních metabolitů jsou významné také tím, že v nezměněné formě jsou tyto metabolity toxické. Vyšší živočichové nepotřebné odpadní látky eliminují pomocí ledvin, takže u nich nevzniká nutnost tvorby sekundárních metabolitů v takové míře jako u rostlin. Odpadní produkty jsou u rostlin ukládány ve vakuolách, buněčných stěnách a pokud jsou lipofilní, tak ve speciálních sekrečních buňkách a prostorech.

2 Toxikologicky významné látky v rostlinách

2.1 Proteiny, dipeptidy a aminokyseliny

2.1.1 Proteiny

Většina rostlinných proteinů je zdrojem aminokyselin pro živočišné organismy. Některé proteiny jsou schopny při perorálním příjmu specificky reagovat. V rámci bílkovin jsou známé především dva druhy proteinů s toxickým nebo antinutričním působením, inhibitory proteáz a lektiny. Inhibitory proteáz regulují sekreci pankreatu. Lektiny způsobují odumírání epitelálních buněk inaktivací jejich ribozomů a tudíž zabraňují syntéze bílkovin. Jak inhibitory proteáz, tak i lektiny bývají inaktivovány tepelnou úpravou, ale některé specifické bílkoviny přítomné v luskovinách jsou odolné vůči tepelné úpravě.

Inhibitory proteáz

Mezi inhibitory proteáz jsou zařazovány zejména chemické sloučeniny inhibující trypsin a chymotrypsin a vyskytují se v mnoha rostlinách. Jejich množství je ale obvykle velmi nízké. Inhibitory proteáz jsou přítomné především v luskovinách, například v sóji, bobu nebo hrachu. Inhibitory proteáz se nacházejí i v obilovinách, ale jejich obsahy jsou podstatně menší než v luskovinách. Sosulski et al. (1998) uvádějí, že nejvyšší koncentrace inhibitorů proteáz je v rýži, střední v ječmeni a ovsu a nejnižší v pšenici.

Ze všech inhibitorů proteáz byly nejvíce studovány tyto látky v sóji a jsou velice často používány jako modelové pro ostatní plodiny. Neupravené sójové boby obsahují inhibitor proteáz, který způsobuje snížení růstu, hypertrofii pankreatu, jejímž následkem je zvýšení

sekreční aktivity. Trypsin a chymotrypsin jsou bohaté na sirné aminokyseliny a jejich nadměrné uvolňování může způsobit až nedostatek sirných aminokyselin, zejména methioninu, který je první limitující aminokyselinou v sóji. Biochemický a fyziologický význam inhibitorů trypsinu přítomných v sóji popsal Liener (1994). Inhibitory proteáz rozdělil do dvou skupin. První skupina zahrnuje proteiny s molekulární hmotností okolo 20 000 a s působením především proti trypsinu (Kunitz inhibitor). Působí ireverzibilně, má 181 aminokyselin. Druhá skupina jsou proteiny s molekulární hmotností 8 000 a ovlivňují jak trypsin tak i chymotrypsin (Bowman-Birk inhibitor). Je složen ze 71 aminokyselin.

Snížení aktivity trypsinu ovlivňuje stravitelnost bílkovin, protože trypsin je aktivátorem všech enzymů pankreatu včetně trypsinogenu, chymotrypsinogenu a karboxypeptidázy. To znamená, že hlavní negativní působení není prostřednictvím snížené stravitelnosti bílkovin, ale ovlivnění sekreční činnosti pankreatu. Na základě negativní zpětné vazby je také ovlivněna sekrece cholecystokininu. Cholecystokinin je peptid produkovaný v tenkém střevě, který přímo působí na sekreci pankreatických enzymů. Zvýšená aktivita trypsinu ve střevě snižuje sekreci cholecystokininu. Naproti tomu přítomnost inhibitoru trypsinu stimuluje uvolňování cholecystokininu. Vyšší sekrece pankreatu způsobuje jeho hypertrofii a hyperplasiu. Zkrmování tepelně neupravené sóji tedy způsobuje zvýšení hmotnosti pankreatu u většiny hospodářských zvířat. Perilla et al. (1997) uvádějí, že při zkrmování směsí brojlerovým kuřatům, která obsahovala 41 % neupravené sóji byla hmotnost pankreatu 5,6 g, zatímco u kuřat, která byla krmena směsí se 41 % extrudované sóji byla hmotnost pankreatu 1,8 g. Kuřata krmená směsí s neupravenou sójou mají ve výkalech vyšší obsah vody a jejich výkaly jsou více lepkavé než výkaly kuřat, která byla krmena směsí s upravenou sójou. Zkrmování neupravené sóji způsobuje i nižší intenzitu růstu kuřat, ale na tomto nižším růstu se nepodílí pouze inhibitor trypsinu, ale i další látky obsažené v neupravené sóji jako například lektiny.

Inhibitory proteáz jsou termolabilní a jejich aktivitu je možné omezit právě teplenou úpravou. Rozsah snížení aktivity inhibitoru trypsinu je závislý na teplotě a době tepelné úpravy. Farrel (2005) uvádí, že teplená úprava sójových bobů je poměrně drahá, zejména ve vztahu ke snížení negativního působení inhibitorů proteáz. Perez-Maldonado et al. (2003) zjistili, že v této souvislosti je vhodnější využít odrůdy sóji, které jsou selektovány na nižší obsah Kunitzova inhibitoru. Doporučují tuto sóju do startérových krmných směsí pro brojlerová kuřata, protože kuřata mají vyšší intenzitu růstu v porovnání s kuřaty krmnými

běžnou neošetřenou sójou. U dospělých slepic nebyl pozorován rozdíl v užítkovosti slepic krmených odrůdou se sníženým obsahem Kunitzova inhibitoru a běžnou neošetřenou sójou.

Důležitý je i obsah sušiny v sójové moučce. To je nezbytné pečlivě kontrolovat zejména během komerčního zpracování sóji tak, aby bylo dosaženo co nejvyšší nutriční hodnoty. Pro posouzení obsahu inhibitorů trypsinu v sóji se nejčastěji používá ureásový test, který je však pouze nepřímým stanovením aktuální aktivity inhibitoru trypsinu. Jedním z nejlepších způsobů detekce aktivity inhibitoru trypsinu je test založený na inhibici aktivity trypsinu u skotu na syntetickém substrátu N – a – DL-arginin-p-nitroanilidu nebo kaseinu (Kakade et al., 1974). Pro Kunitzův inhibitor trypsinu je výhodný ELISA test.

Lektiny

Řada rostlin obsahuje fytohemoaglutininy známé jako lektiny, aglutininy nebo hemoaglutininy. Lektiny mají schopnost aglutinace červených krvinek u různých druhů hospodářských zvířat díky interakci lektinů s cukry přítomnými na povrchu buněčných membrán, zejména červených krvinek. Tyto interakce se netýkají pouze červených krvinek, ale i dalších buněk. Hemoaglutininy působí pouze tehdy, když mají nejméně dvě aktivní složky. Lektiny dále ovlivňují vstřebávání živin, zejména bílkovin. To je způsobeno především vazbou lektinů na střevní stěny a následné snížení jejich vstřebávací funkce. Lektiny snižují zejména růst zvířat.

Toxicita lektinů je variabilní, například lektiny obsažené v kukuřici nebo ječmeni jsou relativně netoxické, ale zkrmování vysokých dávek fazolí může u potkanů vyvolat úhyn v důsledku toxicity lektinů obsažených ve fazolích. Nejvíce je toxicita sledována u rostlin, jejichž semena obsahují ricinový olej (např. skočec obecný, rostliny z čeledi pryšcovitých) jehož součástí jsou ricin a abrin, robin a u bobovitých rostlin je obsažen fasin. Ricin a abrin obsahují dva lektiny, subunit A a B, u nichž je významné zejména spolupůsobení. Podle Wileye (1991) subunity inaktivují ribosomy. Subunit B se váže na povrchové receptory buňky, kde zůstávají zbytky galaktózy a tato vazba buňku inaktivuje. Subunit A je enzym s katalytickou aktivitou. Poškozuje ribosomy eukaryotických buněk rozložením hlavní rRNA a tím zabraňuje syntéze bílkovin. Jediná molekula je schopna rozrušit celou buňku. Barbieri et al. (1993) uvádějí, že některé lektiny jsou známé jako ribozom inaktivující proteiny (RIPs) a

jsou složeny pouze ze subunit A. Tyto lektiny jsou méně toxické než lektiny obsahující subunit A a B. RIPs jsou součástí velkého množství rostlin, zejména ječmene a kukuřice.

Kromě ricinu a abrinu je významným lektinem i sójový aglutinin obsažený v sóji a vyskytující se v několika různých izoformách, které jsou detekovatelné imunochemickým vyšetřením, ale účinek mají velmi podobný. Při pokusech s potkany bylo zjištěno, že sójový aglutinin obsažený v neupravené sóji snížil růst o 25 %, přibližně 60 % lektinu nebylo v trávicím traktu inaktivováno. Účinek se projevil zejména ve střevech, kde došlo k porušení mimózoového epitelu, atrofii mikrovilů a snížení vitality epiteliálních buněk. Lektin v interakci se střevním epitelem způsobil zvýšení hmotnosti tenkého střeva v důsledku hyperplasie buněk. Dalším negativním působením sójového aglutininu bylo snížení koncentrace inzulinu v krvi, inhibice disacharidáz a proteás ve střevech, degenerativní změny v játrech a ledvinách, zabránění vstřebávání železa a tuků (Liener, 1994).

Lektiny je možné inaktivovat tepelnou úpravou, jejich biologická aktivita je rozložitelná především vlhkou cestou (napařováním) nikoliv však suchým teplem. Pro získání co nejvyšší nutriční hodnoty je třeba především u luskovin tepelně upravit celá zrna. U sóji se tepelnou úpravou za vlhka inaktivuje sójový aglutinin a současně s tím se rozruší i inhibitory proteás a odstraní inhibice hemoaglutinace a tím se zlepší její výživná hodnota. Z výše uvedených lektinů je nejvíce toxický ricin. Po tepelné úpravě semen, která ricin obsahují buď autoklávováním nebo vařením, je možné do krmných směsí pro kuřata zařadit až 2,5 % semen, která obsahují ricin.

2.1.2 Toxické dipeptidy

Zejména ve výživě drůbeže mohou způsobit problém dva dipeptidy gizerozin a linatin. Gizerozin není rostlinným dipeptidem, ale vyskytuje se některých rybích moučkách a způsobuje narušení sliznice svalnatého žaludku a výskyt vředů u brojlerových kuřat. Linatin je přítomný ve lněném šrotu a vytváří látku antagonistickou vůči vitamínu B6.

Gizerozin

Gizerozin (2-amino-9-(4-imidazol)-7-azononanová kyselina) byl zaznamenán jako toxická sloučenina způsobující krevní výrony do jícnu a volete kuřat a narušení sliznice svalnatého

žaludku. Gizerozin vzniká reakcí lyzinu s imidazoyletyl histidinem v průběhu sušení rybí moučky. Nevzniká ve všech rybích moučkách, pouze těch, které jsou sušené za vyšších teplot, obsahujících červené maso a volný histidin. Bílé rybí maso při sušení snižuje hladinu volného histidinu a nedochází tak ke vzniku gizerozinu.

Wessels a Post (1989) poprvé zjistili působení gizerozinu u brojlerových v roce 1983 v Jihoafrické republice, kdy do krmných směsí brojlerových kuřat bylo zařazené velké množství rybí moučky.

Gizerozin je nejvíce problematický u kuřat. Sugahara et al. (1988) uvádějí, že maximální koncentrace L-gizerozinu v krmné směsi pro kuřata by měla být menší než 0,4 ppm. Hladina vyšší než 0,5 ppm způsobuje narušení sliznice žaludku, vytváření vředů a může vést až k perforaci žaludku a duodéna. Narušení sliznice žaludku a vředy způsobují rozsáhle krváceniny zatímco perforace žaludku nebo duodéna vede k úhynu kuřete během 1 hodiny. Prvními příznaky toxikózy gizerozinem je anorexie a snížení přírůstku. Masumura et al. (1985) popisují reakci gizerozinu jako potenciálního stimulatoru receptorů H_2 -histaminu v proventikulu. Tato stimulace způsobuje nadměrné uvolnění HCl a následně výrazné snížení pH v proventikulu a celém žaludku. Extrémně nízké pH vede k poškození vrstvy koilinu a submukózy žaludku jejímž následkem je narušení sliznice, vznik vředu a perforace.

Rosselot et al. (1996) poukazují na vysoké korelace mezi gizerozinem a histaminem v rybí moučce, které jsou 0,59 – 0,63. s tím pak souvisí vyšší negativní působení gizerozinu.

Pro snížení toxického působení gizerozinu byly používány různé látky jako například antagonisty receptorů H_2 histaminu cimetidin nebo sloučeniny snižující kyselost v žaludku. Výsledky těchto sledování nebyly průkazné, převážně nebyla získána prevence proti působení gizerozinu. Guinotte et al. (1993) uvádějí, že potenciálním inhibítozem sekrece kyseliny chlorovodíkové by mohl být omeprazol, který by mohl snížit nebo řídit sekreci kyseliny chlorovodíkové způsobenou gizerozinem.

Gizerozin může být stanoven v rybí moučce nebo v krmivu kapalinovou chromatografií (Ohta et al., 1988) nebo radioimunologickými metodami (Torrs et al., 1999). Diaz a Sugahara (1995) doporučují při pochybnosti výskytu gizerozinu v rybí moučce udělat jednoduchý test na kuřatech a na základě tohoto testu posoudit, zda je moučka vhodná pro zařazení do

krmných směsí. Gizerozin může být v interakci s dalšími toxickými sloučeninami přítomnými v krmné směsi, zejména s mykotoxiny. Vysoká koncentrace aflatoxinu B1 (3 ppm) v krmné směsi může zvýšit letální působení gizerozinu (Diaz a Sugahara, 1995).

Množství gizerozinu v rybí moučce je ovlivněno především teplotou sušení při negativním působení zejména vysokých teplot. Wessels a Post (1989) uvádějí, že určitou prevencí proti působení gizerozinu mohou být antacida. Pozitivně působí i vysoký doplněk lyzinu (až 1 %) do krmné směsi pro brojlerová kuřata, který současně zvyšuje intenzitu růstu.

Linatin

Linatin je dipeptid vznikající kondenzací 1-amino-D-prolinu a kyseliny glutamové a je antagonistou vitamínu B6. Vyskytuje se ve lněné moučce a v dalších částech lnu. Kromě toho může lněná moučka obsahovat i cyanogenní glykosidy jako linustatin, neolinustatin a linamarin. Toxickou součástí linatinu je aminokyselina 1-amino-D-prolin, která asymetricky substituuje sekundární hydrát, který kondenzuje s pyridoxinem a pyridoxin fosfátem ve stabilní hydrát. Pyridoxin fosfát je zapojen do transaminace, dekarboxylace a dalších reakcí aminokyselin v metabolismu. Kuřata, která jsou vystavena vysokým dávkám linatinu mají podobné příznaky jako při klasickém nedostatku vitamínu B6 včetně anorexie, sníženého růstu, perósy a křečí. Tyto příznaky bývají většinou připisovány karenci vitamínu B6. Toxický efekt linatinu nebyl pozorován u dospělé drůbeže.

2. 1. 3 Toxické aminokyseliny

Toxické aminokyseliny jsou neproteinového původu a z celkového množství asi 300 jsou toxické pouze některé. Jejich toxicita zpravidla není velká a pouze chronický příjem či špatný zdravotní stav umožňují metabolické poškození.

Aminokyseliny nebílkovinného původu s toxickým nebo antinutričním působením se vyskytují v mnoha luskovinách, které jsou často používány jako zdroj proteinů. Tyto aminokyseliny bývají v nekonjugované formě a obvykle zasahují do metabolismu esenciálních aminokyselin.

Kanavanin a indospicin

Kanavanin a indospicin jsou aminokyseliny nebílkovinného charakteru, které jsou strukturálně podobné aminokyselině arginin. Kanavanin se nachází v bobovitých rostlinách, a semenech rostliny *Canavalia insiformis*, kde je obsažen v množství kolem 1,2 – 3,7 % (Belmar a Morris, 1994). Při výživářských studiích s použitím bobu je důležité odlišit působení L-kanavaninu od dalších toxických sloučenin, které jsou přítomné v bobu, především lektin a konkanavalin. Při hodnocení vlivu kanavaninu je nezbytné vždy použít čistou aminokyselinu. Vliv kanavaninu na brojlerová kuřata je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1 Vliv doplňku L-kanavaninu na užitkovost brojlerových kuřat

Obsah L-kanavaninu v krmné směsi	Doba zkrmování	Vliv na užitkovost	Literatura
0,03 %	2 týdny	Bez vlivu na růst, úhyn a spotřebu krmiva	Shquier et al. (1989)
0,35 %	7 týdnů	Bez vlivu na růst, denní spotřebu krmiva a stravitelnost bílkovin	Belmar a Morris, (1994)
1 %	11 dnů	25% snížení růstu a spotřeby krmiva	Michelangeli a Vargas (1994)

Koncentrace kanavaninu 0,35 % nemá výrazný vliv na brojlerová kuřata, zatímco obsah 1 % snižuje růst a spotřebu krmiva. D'Mello (1995) uvádí, že brojlerová kuřata jsou poměrně vnímavá vůči kanavaninu, protože nevyklučují moč ve formě močoviny a nesyntetizují arginin. Při zkrmování kanavaninu dochází ke zvýšenému vylučování kyseliny močové jehož následkem je nárůst aktivity arginázy. Tato zvýšená aktivita arginázy způsobuje to, že při metabolismu se využívá kanavanin na místo argininu. Projevy jsou stejné jako při antagonismu lysinu a argininu. Nedostatek argininu má na kuřata nepříznivý vliv, protože se jedná o esenciální aminokyselinu. Navíc kanavanin může negativně ovlivnit průnik lysinu a argininu buněčnou membránou. Kuřata, která mají zvýšený příjem kanavaninu mají rovněž vyšší koncentraci ornitinu, což je způsobeno inaktivací ornitin dekarboxylázy. Kuřata pak vykazují aktivitu ornitin dekarboxylázy pouze 19% ve srovnání s kuřaty, která nepřijímala kanavanin. Přítomnost kanavaninu ve fazolích je možné zjistit kolorimetrickou metodou nebo kapalinovou chromatografií (Viroben a Michelangeli-Vargas, 1997).

Indospicin je dalším analogem argininu a je inhibítozem arginázy. Toto působení ovlivňuje především savce, kteří vylučují močovinu, zatímco u ptáků, kteří vylučují kyselinu močovou má argináza v metabolismu bílkovin zanedbatelnou roli.

Z posledních studií je zřejmé, že kanavanin i indospicin jsou inhibitory základních a stavebních syntetáz oxidů dusíku (Pass et.al., 1996). Syntetázy oxidů dusíku vytvářejí oxidy dusíku z argininu a mají důležité funkce související s uvolňováním krevních cév, neutralizace kyslíkových radikálů, se změnami transmise, vytváření imunity a usmrcováním nádorových buněk a parazitů. Je uváděno, že toxické působení kanavaninu a indospicinu může souviset právě s inhibicí syntetáz oxidů dusíku.

Mimosin

Mimosin je přítomen v tropické luskovině *Leuceana leucocephala*, která se vyskytuje zejména v pásmu dešťů Jižní Ameriky, Afriky, Asie a severní Austrálie. Acamovic a Pennycott (2003) zjistili, že skot je odolný proti působení toxinů této rostliny za předpokladu, že předžaludky jsou dostatečně kolonizovány bakterií *Synergistes jonesii*. D'Mello a Acamovic (1989) uvádějí, že mimosin u kuřat způsobuje snížení růstu a u slepic pokles produkce vajec. Mimosin je v této rostlině, která se využívá jako zdroj dusíkatých látek, obsažen v množství 3 – 5 %. Dalšími antinutričními faktory jsou inhibitory proteás, taniny a galaktomanany.

Studie zaměřené na stanovení vlivu mimosinu na brojlerová kuřata ukazují, že vnímavější na jeho toxické působení jsou malá kuřata než dospělá zvířata. Růst a spotřeba krmiva byly velmi významně ovlivněny při zkrmování směsí s 0,33 % mimosinu v krmné směsí (D'Mello a Acamovic, 1989). Na druhou stranu dospělá zvířata jsou schopna metabolizovat malá množství bez výrazného vlivu na užitkovost. Kamada et al. (1998) sledovali vliv mimosinu na užitkovost a stavbu kostí brojlerových kuřat. Kuřata krmená směsí s obsahem 1 % mimosinu během prvních 12 dnů měla živou hmotnost o 50 % nižší než kuřata kontrolní, vyvinutou osteopatii charakterizovanou snížením síly kostí a obsahem minerálních látek.

Aminokyseliny s dlouhým řetězcem: β - aminopropionitrilová (BAPN), β -N-oxalylamino L- alanin (BOAA) a β -cyano-L-alanin (BCA)

Aminokyseliny s dlouhým řetězcem vyvolávají degenerativní onemocnění spojovacích tkání a nervového systému. Aminokyselina BAPN se běžně vyskytuje v semenech hrachoru vonného a kozince sladkolistého. U pasoucího se skotu může velká přítomnost hrachoru být příčinou otrav. Na skot působí zejména kyselina α,γ – diaminomáselná a kyselina α -amino- β -oxalylamino propionová, které způsobují lathyrismus nebo osteolthathyrismus.

Přítomnost hrachoru v krmivu pro drůbež způsobuje rozsáhlé abnormality na kostech a vaskulárního systému poškozením kolagenových a elastických vláken. U kuřat BAPN vyvolává běžné deformace kostí a změny arteriálního elastinu s následným zeslabením stěn aorty. Dále u brojlerových kuřat způsobuje zkroucení prstů, ataxii, paralýzu končetin a úhyn (Raharjo et al., 1988). U slepic zhoršuje tvorbu podskořápečných blan a skořápky rozšířením vzdálenosti mezi jednotlivými kolagenními vlákny, tím ovlivňuje velikost a rozložení pórů zřidnutí houbové vrstvy skořápky (Chowdhury a Davis, 1995). To se promítá do snížení pevnosti skořápky a podskořápečných blan a velké pórovitosti slabé skořápky. U kuřecího zárodku způsobuje BAPN abnormality ve vývoji kůže a ovlivňuje velikost a tvar pěřových folikulů (Marsh a Galin, 1994).

Vikve obsahují BCA, která může být současně přítomná i ve formě dipeptidu kyseliny glutamové (α -glutamyl- β - cyano-L-alanin). BCA má větší toxické účinky než BOAA. Obsah vikve v množství 20 – 40 % v krmné směsi způsobuje 70 – 100% úhyn a výrazně snižuje růst kuřat (Haper a Arscott, 1962). Zvyšuje nervozitu zvířat a příznaky nervových poruch, které mohou způsobit úhyn. Farran et al. (1995) zjistili, že zařazení vikve v množství 22,5 % do krmné směsi pro slepice snižuje snášku, živou hmotnost a spotřebu krmiva. Po úpravě semene autoklávováním je možné do krmné směsi pro slepice zařadit až 25 % vikve. O působení BCA u drůbeže je poměrně málo informací.

Aminokyseliny obsahující selen

Některé rostliny obsahují strukturální analogy sirných aminokyselin, ve kterých byla síra nahrazena selenem (Se-Met, Se-Cys) a otrava vzniká v důsledku kumulace selenu v organismu. Aminokyseliny obsahující selen se vyskytují především ve vikvích a jsou to Se-methylselenocystein a selenocysteonin. Rostliny rodu *Astragalus* (kozinec) jsou toxické

rostliny známé jako akumulátory selenu a mohou ukládat velké množství selenu v rozmezí od 1000 do 10000 ppm. Proto toxické působení těchto rostlin je stejné jako toxicita selenu.

2. 2 Mastné kyseliny

Řada mastných kyselin je známa tím, že může negativně působit na zdraví zvířat nebo nepříznivě ovlivnit jejich užitek. Například polyenové mastné kyseliny rybího tuku mohou způsobit rybí zápach masa a vajec. K detekci tohoto zápachu dochází při koncentraci 4 % v tuku.

2. 2. 1 Cyklopropanové mastné kyseliny

Cyklopropanové mastné kyseliny (CPFA) jsou přirozeně přítomné v rostlinách, které obsahují propenový řetězec v jejich uhlíkovém řetězci. Dvě CPFA se vyskytují v semenech a dalších částech rostlin řádu *Malvales* (slézotvaré). Jsou to kyselina malvalová (2-octyl-1-cyklopropan-1-heptanoát) a kyselina sterkulová (2-octyl-1-cyklopropan-octanoát). Rostliny řádu *Malvales* zahrnují druhy, které jsou ekonomicky významné pro člověka i hospodářská zvířata jako bavlník a kapok (rostlina ze skupiny plodin poskytujících vlnu).

CPFA jsou obsaženy v bavlníkovém oleji v množství 1 – 2 % a jsou rovněž přítomny v bavlníkové moučce. Kyselina malvalová bývá zjišťována ve vyšších koncentracích než kyselina sterkulová. CPFA jsou významné zejména u slepic z hlediska produkce vajec, protože mohou negativně ovlivnit jejich kvalitu. U slepic CPFA zvyšuje účinek gosypolu ve vztahu ke zintenzivnění olivově zelené barvy žloutku a narůžovělé zbarvení bílku. Navíc větší množství CPFA zkrmované nosnicím vyvolává u žloutku jeho ztuhnutí, vytvoření krusty na povrchu a zvýšení viskozity během krátké doby skladování v chladu. Tato změna je zapříčiněna zvýšením koncentrace nasycených mastných kyselin ve žloutku. Vaječný žloutek a tuková tkáň slepic krměných CPFA obsahují velmi málo jódu a velké množství kyseliny stearové (C18:0) a kyseliny palmitové (C16:0). Současně bývá zjišťováno málo kyseliny palmitolejové (C16:1, ω -7) a kyseliny olejové (C18:1, ω -9) (Keshavarz, 1993). Ke zvýšení obsahu nasycených mastných kyselin dochází v důsledku přímého inhibičního efektu CPFA na Δ^6 a Δ^5 desaturace v jaterních mikrotomech, které jsou prevencí denaturace kyseliny stearové a palmitové a dalších mononenasycených mastných kyselin. Negativní efekt je

způsoben nevratnou reakcí propenového řetězce CPFA s triolovou skupinou přítomnou v játrech. Kromě této reakce inhibice může být výsledkem konkurence mezi CPFA a normálního substrátu nebo produktu denaturace v průběhu mikrosomální syntézy fosfolipidů (Cao et. al., 1993).

CPFA přítomné v krmivu neovlivňují pouze složení mastných kyselin žloutku, působí i na prostupnost vitelinní membrány. Výsledkem této změněné prostupnosti vitelinní membrány žloutku je difúze železa ze žloutku do bílku a jeho vazba na ovotransferin a vytvoření conalbuminu, který se chová jako chelát železa. Reakce mezi ovotransferinem a železem způsobuje růžové zbarvení bílku. Část ovotransferinu může pronikat i do žloutku, kde se rovněž spojuje se železem a vyvolává lososovité zbarvení žloutku. Růžový bílek se objevuje zejména u vajec skladovaných několik týdnů.

2. 2. 2 Kyselina eruková

Kyselina eruková (C22:1, $\omega - 9$) je hlavní mastnou kyselinou v řepkovém oleji a hořčičném oleji. Kyselina eruková je přítomna zejména v oleji starších odrůd řepky v množství 25 – 45 %, ale současné odrůdy jsou v podstatě bez kyseliny erukové. Odrůdy řepky typu Canola obsahují méně než 2 % kyseliny erukové z celkového množství mastných kyselin a dále méně než 30 μmol glykosinolátů na gram oleje. Faktory, které ovlivňují nutriční hodnotu Canoly nejsou pouze kyselina eruková a glukosinoláty, ale také sinapin, taniny a fytáty. Tyto antinutriční faktory budou popsány v další části.

Kyselina eruková je především kardiotoxická sloučenina schopná způsobit tukovou degeneraci a fibrózu srdečních buněk. Kyselina eruková rovněž negativně ovlivňuje syntézu ATP u rostoucích kuřat. U kuřat kyselina eruková vyvolává snížení spotřeby krmiva, redukcí růstu a omezení metabolismu lipidů a i jednotlivých mastných kyselin (Sim et al., 1983). Renner et al. (1979) uvádějí, u kuřat kyselina eruková snižuje ukládání tuku a menší využití tuků z krmiva. Negativní vliv má již koncentrace nad 0,6 % v krmivu.

U slepic, které dostávaly krmnou směs s řepkovým olejem obsahujícím kyselinu erukovou došlo ke snížení spotřeby krmiva, snášky, hmotnosti vajec, hmotnosti žloutku a líhivosti ve srovnání se slepicemi, které dostávaly krmnou směs s hovězím lojem nebo kukuřičným olejem. Kromě toho u slepic, které byly krmeny směsí s více než 10 % řepkového oleje sice

nebyla zjištěna jiná vůně nebo chuť, ale tato vejce byla posuzována při senzorickém hodnocení jako horší (Leslie et al., 1973).

2. 3 Sacharidy

Obiloviny mají velmi vysoký obsah cukrů včetně škrobu a polysacharidů buněčných stěn. Vysoké dávky obilovin v krmných směsích pro drůbež jsou limitovány zejména přítomností neškrobových polysacharidů. Neškrobové polysacharidy (β - glukany a arabinoxylany) a α – galaktosid oligosacharidy (rafinóza a stachyóza) jsou nestravitelné enzymy produkovány trávicím traktem drůbeže. Tyto sloučeniny nevyvolávají toxikózy jako takové, ale mají antinutriční účinky, které mohou ovlivnit užítkovost kuřat a slepic. Nepříznivý účinek těchto látek je možné omezit vlhčením zrn nebo šrotů a tím podpořit působení přirozených enzymů. Další možností je přidání vhodných enzymů, které štěpí zejména β – glukany v jednoduché polymery, které neinhibují difuzi a transport živin.

2. 3. 1 β - glukany

β – glukany a pentosany jsou souborem strukturálních sacharidů přítomných v endospermu buněčných stěn obilovin. Dříve se předpokládalo, že jsou výhodné ve výživě kuřat zejména z hlediska fermentace ve střevech, v současné době se předpokládá, že mají antinutriční efekt i v malých koncentracích jako je 5 % v krmné směsi. Negativní působení β – glukánů souvisí s jejich vlivem na viskozitu tráveniny. Je ovlivněna zejména absorpce mastných kyselin a monoglyceridů a jsou příčinou malabsorpčního syndromu u kuřat. Klinickým projevem působení β – glukánů u brojlerových kuřat je růstová deprese, zvýšení spotřeby krmiva, tekutý a lepkavý trus (Annison a Choct, 1991).

Dalšími polysacharidy neškrobové povahy schopnými nepříznivě ovlivnit užítkovost drůbeže je pektin a xantam. Negativní působení těchto látek může být omezeno přidáním exogenních β – glukánáz a pentosanáz do krmné směsi. Tyto enzymy částečně rozrušují β – glukany a pentosany snížením jejich viskozity (Campbell a Bedford, 1992).

2. 3. 2 Oligosacharidy

α -galaktosidy, sukróza, rafinóza a stachylóza jsou oligosacharidy o nízké molekulární hmotnosti obsahující α - 1,6 galaktosidovou vazbu. Tyto sloučeniny se vyskytují v sóji a fazolích a jsou nestravitelné díky nedostatku α - 1,6 galaktosidázy. Přesto součásti rozpustné vlákniny významně neovlivňují viskozitu tráveniny. Na druhou stranu nestravitelné cukry procházejí tenkým střevem do tlustého střeva, kde slouží jako substrát bakteriální fermentace a způsobují velmi rychlý růst bakterií.

2. 4 Cheláty

Jsou to sloučeniny rostlinných buněčných stěn jako silikáty, fytáty a oxaláty, které jsou schopny se vázat s některými ionty kovů a vytvářet z nich sloučeniny, které jsou biologicky nepřístupné. Cheláty nezpůsobují příznaky toxicity, ale jejich vazba kovových iontů může vyvolat jejich nedostatek. Jedinými cheláty, které způsobují akutní otravu jsou rozpustné oxaláty, které v krevním séru vytvářejí z vápníku krystaly. Krystaly kalcium oxalátu mohou blokovat tubuly ledvin a vyvolat akutní ledvinové selhání. Hořčík, vápník, zinek a železo mohou být také vázány sloučeninami s kyselinou močovou, kyselinou fenolovou a rezidui sulfátů.

2. 4. 1 Kyselina fytová

Kyselina fytová je považována za hlavní zásobní formu fosfátu a inositolu v semenech. Vhodným chemickým označením kyseliny fytové je myoinositol 1,2,3,4,5,6 – haxakis (dihydrogen fosfát). Kyselina fytová je silným chelátovým agens, které váže divalentní kovové ionty do formy fytátu, který je nevyužitelný při trávení. S vysokým obsahem fytátu je také spojena malá využitelnost zinku, vápníku, hořčíku a železa. Na téma kyseliny fytové byla zpracována studie prof. Marounka (2004), a proto nebude dále rozebíráno její působení.

2. 4. 2 Oxaláty

Kyselina oxalová (šťavelová) se nachází v mnoha rostlinách, kde vznikají soli zejména se zásadami. Kyselina oxalová se vyskytuje v rostlinách čeledi šťavelovitých (*Oxalidaceae*), rdesnovitých (*Polygonaceae*), merlíkovitých (*Chenopodiaceae*), lipnicovitých (*Poaceae*). Soli kyseliny oxalové se vytvářejí především s draslíkem a sodíkem. Tyto soli jsou rozpustné a jsou vstřebávány trávicím traktem. Naproti tomu soli vzniklé vazbou s vápníkem a hořčíkem jsou nerozpustné krystaly a jsou nevstřebatelné. Rostliny, které obsahují mnoho kyselin v buňce (pH 2) mají rozpustné oxaláty draslíku. Rostliny s malým obsahem kyselin v buňce (pH 6) vytvářejí oxaláty nerozpustné s vápníkem a hořčíkem.

Rozpustnost solí kyseliny oxalové určuje v rostlině mechanismus toxicity. Rozpustné oxaláty se vstřebávají a dostávají se do oběhového systému, kde se spojují s vápníkem v plazmě a vytvářejí nerozpustné oxaláty vápníku. Cheláty vápníku u skotu způsobují hypokalcemii, tetanické křeče a případně i úhyn pokud jsou přijímány velké dávky oxalátů. Toxicita chelátu vápníku u drůbeže je vysvětlována i mechanickým poškozením sliznic ostrými krystalky této látky a následné působení volné kyseliny nebo proteolytických enzymů (Svršek, 1997). V případě nízkého obsahu oxalátů dochází ke zhoršení kalcifikace kostí a vaječné skořápky. Oxaláty vápníku mohou krystalizovat i v krevních cévách a způsobit tak vaskulární nekrózu a hemorragie. V tubulech ledvin vedou k anurii, uremii a akutnímu selhání ledvin. Rozpustné oxaláty jsou klasifikovány jako slabě toxické sloučeniny. Pro týden stará kuřata je LD₅₀ 984 mg/kg živé hmotnosti (Williams a Olsen, 1992).

Rostliny čeledi *Araceae* (pryskyřníkovité) obsahují nerozpustné oxaláty v listech a dalších částech rostliny (tabulka 2). Naproti tomu rozpustné soli nejsou vstřebávány do krevního oběhu, zatímco nerozpustné krystaly vápníku a hořčíku pronikají do jazyka a hltanu, kde způsobují velké podráždění a otoky. Některé rostliny také obsahují proteolytické enzymy (například difenbachie), které způsobují vznik kininů a histaminu a jsou příčinou otoků.

Rostliny obsahující oxaláty jsou využívány jako zdroje energie pro drůbež, a to zejména v rozvojových zemích a jsou uvedeny v tabulce 2 (Samarasinghe a Rajaguru, 1992). Pokud se chceme vyhnout jejich toxickému působení, je třeba tyto rostliny používat ve výživě zvířat velmi opatrně. Dalšími zdroji rozpustných oxalátů jsou zrniny a sušené rostliny napadené plísněmi produkujícími velké množství kyseliny oxalové (např. *Aspergillus niger*).

Tabulka 2 Rostliny obsahující velké množství oxalátů (Samarasinghe a Rajaguru, 1992)

Rostliny ukládající rozpustné oxaláty		Rostliny ukládající nerozpustné oxaláty	
Latinský název	Český název	Latinský název	Český název
Amaranthus retroflexus	Laskavec obecný	Alocassia spp.	Alokázie
Chenopodium album	Merlík bílý	Paladium arboreum	Úžovník
Oxalis cernua	Šťavel	Colocasia esculenta	Kolokázie pravá (taro)
Rheum raponticum	Reveň bul..	Dieffenbachia spp.	Difenbachie
Rumex spp.	Šťovík	Monstera deliciosa	Monstera
Sarcobatus vermiculatus	Kupínovec červovitý	Philodendron cordatum	Filodendron

2. 5 Fenolické sloučeniny

Fenolické sloučeniny jsou v rostlinách poměrně rozšířené. Některé jsou jednoduchými metabolity zatímco jiné vytvářejí složité struktury s neznámou funkcí. Fenolické sloučeniny týkající se výživy drůbeže zahrnují volné fenolové kyseliny, polymerické fenoly (taniny), gossypol a sinapin.

2. 5. 1 Fenolové kyseliny

Fenolové kyseliny jsou jednoduché fenoly obsahující jednu nebo více karboxylových skupin umístěných buď v aromatickém řetězci nebo s vedlejším řetězcem. Mezi fenolové kyseliny patří kyselina benzoová a kyseliny skořicová. Fenoly na bázi kyseliny benzoové jsou v přírodě poměrně rozšířené, patří mezi ně p-hydroxybenzoová, protokatechurová, vanilová a galová. Skořicová kyselina je přítomna ve většině olejnatých semen a často vytváří estery s cukry. Některé fenolické látky se nacházejí ve slunečnici jako například estery kyseliny kávové a chinonové.

Některým volným fenolovým kyselinám je třeba věnovat větší pozornost především ve výživě drůbeže, protože vytvářejí o-chinony, které jsou schopné vázat lyzin a methionin.

Kyselina skořicová a její estery se vyskytují v semenech olejnin a jsou snadno oxidovatelné fenol-oxidázami (fenoláza, polyfenoloxidáza) na o-chinony, například chlorogenchinon. Vytvořené o-chinony nemají enzymatické působení nebo mohou vytvářet kovalentní vazby s amino skupinami, triolovými skupinami nebo methylenovými. Lyzin a thioestery methioninu bývají atakovány o-chinony a způsobují tak nevyužitelnost těchto aminokyselin. Tvorba o-chinonů je významná zejména při zkrmování slunečnicové moučky u drůbeže.

2. 5. 2 Taniny

Taniny jsou definovány jako přirozené polyfenolické sloučeniny rozpustné ve vodě s molekulární hmotností 500 až 3000 schopné vysrážet bílkoviny z vodných roztoků. Jsou uváděny spíše jako skupina sloučenin podobných vlastností schopných vytvářet stabilní formy s jinými molekulami. Po chemické stránce jsou taniny složitou skupinou, obvykle se rozdělují do 2 skupin na hydrolyzovatelné a kondenzované taniny. Hydrolyzovatelné taniny obsahují centrální karbohydrátové jádro (glukózu nebo kyselinu chinovou) esterifikované fenolovou karboxylovou kyselinou jako např. kyselinou galovou. Vyskytují se zejména v tropických luskovinách. Kondenzované taniny jsou polymery flavan-3-nolů spojených s uhlíkovou vazbou. Ve většině luskovin jsou taniny přítomné ve formě kondenzovaných taninů.

Některé komponenty krmných směsí pro drůbež obsahují značné množství kondenzovaných taninů jako například čirok, proso, řepka a některé olejnin. Bavlník obsahuje určité množství kondenzovaných taninů (1,6 % sušiny) zatímco ječmen, tritikale a sója mají téměř nezjistitelné množství taninů (0,1 % sušiny). Mezi komponenty krmných směsí s vysokým obsahem taninů patří čirok. Jansman (1993) uvádí obsah taninů v rozmezí 2,7 – 10,2 %.

Kultivary čiroku s vysokým obsahem taninů jsou poměrně hodně pěstovány, protože jsou odolné proti ozobu před sklizní a při skladování proti plísním. Obsah taninů poměrně často koreluje s tmavší barvou semene. Na druhou stranu Boren a Waniska (1992) upozorňují, že podle pokusů s 24 odrůdami čiroku a obsahem taninů od 0,05 do 3,67 %, barva semene není přesným indikátorem obsahu taninů. Zkrmování čiroku s vysokým obsahem taninů brojlerovým kuřatům způsobuje růstovou depresi a snížení spotřeby krmiva, u slepic pokles snášky. Elkin et al. (1978) zjistili při zkrmování čiroku s vysokým obsahem taninů významně vyšší výskyt abnormalit končetin ve srovnání s čirokem s nižším obsahem taninů.

Taniny jsou obsaženy v řepkovém šrotu a v hořčici v množství 2,8 – 3,7 % a u drůbeže snižují stravitelnost bílkovin a využití krmiva. Množství taninů nad 0,5 % v krmivu snižuje růst a využitelnou energii a stravitelnost bílkovin. Obsah taninů nad 4 % výrazně zvyšuje úhyn. Taniny jsou rovněž schopné inhibovat aktivitu některých enzymů (trypsin, lipázu a amylázu).

Snížení negativního efektu zkrmování komponentů s obsahem taninů lze dosáhnout doplňkem DL-methioninu nebo látek vázající taniny. Například želatina a polyetylglykol mají vysokou schopnost vázat taniny a jsou tedy schopny jeho vazbou výrazně snížit jeho toxické účinky.

2. 5. 3 Gosypol

Použití bavlníkové moučky ve výživě hospodářských zvířat je omezeno vysokým obsahem vlákniny a přítomností toxických sloučenin jako jsou taniny a gosypol, žlutý polyfenolický pigment. Gosypol se vyskytuje v pigmentových zrnech semen bavlníku a rovněž se nachází i v listové části rostlin. Obsah gosypolu je v bavlníkových semenech rozdílný v závislosti na odrůdě. Percy et al. (1996) uvádějí obsah gosypolu v rozmezí 0,3 – 3,4 %. Běžná bavlníková moučka obsahuje okolo 0,5 % volného gosypolu. V případě, že bavlníková moučka je využívána ve výživě člověka, musí obsahovat méně než 0,045 % volného gosypolu. Gosypol se může v bavlníku nacházet ve volné formě, toxické formě a vázaný na fenolické a aldehydové skupiny. Fenolické skupiny vytvářejí estery a étery. Aldehydové skupiny reagují s aminy a vytvářejí sloučeniny s organickými kyselinami, které jsou termolabilní. Během extrakce olejů za tepelných podmínek a při zpracování bavlníkové moučky za tepla aldehydové sloučeniny gosypolu se mohou pojit s ϵ -aminovými slupinami lyzinu a dalších zbytků aminokyselin v bavlníkové globuliny. Vázaný gosypol není vstřebáván a není tedy toxický. Na druhou stranu se snižuje využitelnost lyzinu bavlníkové moučky. Způsob výroby bavlníkové moučky stanovuje hodnotu jeho proteinu a obsah volného gosypolu. Během lisování se velké množství volného gosypolu váže na aminokyseliny a snižuje tak nutriční hodnotu bílkovin. Při extrakci za použití rozpouštěcích prostředků získáváme bílkovinu vysoké kvality, ale také velké množství volného gosypolu, kterého je obvykle mezi 0,1 – 0,5 %. Celá semena mají převážně volný gosypol.

Brojlerová kuřata mohou přijímat krmivo do 100 ppm volného gosypolu, aniž by se to projevilo na jejich užítkovosti. Krmné směsi pro slepice by měly obsahovat méně než 50 ppm volného gosypolu, což je prevence zeleného zbarvení žloutku zejména při skladování. Kromě nazelenalého zbarvení žloutku vysoká koncentrace gosypolu snižuje líhivost oplozených vajec. Pro snížení toxicity gosypolu je možné přidat do krmných směsí soli železa, které váží skupiny gosypolu. Je doporučován poměr volného gosypolu a železa 1 : 1, ale přesto by množství volného gosypolu v krmivu nemělo přesáhnout 400 ppm pro brojlerová kuřata a 150 ppm pro slepice. Vysoký obsah bílkovin rovněž působí příznivě, zejména u granulovaných krmných směsí. Pravděpodobně to souvisí s vazbou volného gosypolu se zbytky aminokyselin. Gosypol může reagovat s ϵ -aminovými slupinami lyzinu a argininu a také triolovými skupinami cysteinu (Leeson a Summers, 2001).

Farrell (2005) uvádí, že bavlníková moučka může být v krmných směsích pro drůbež obsažena v množství kolem 5 % a negativní působení gosypolu může být neutralizováno rozpustnými sloučeninami železa. Více než 0,06 % volného gosypolu v krmivu pro brojlerová kuřata snižuje růst a k výrazné růstové depresi dochází při obsahu 1,2 %. Perez- Maldonado et al. (2001) poukazují na snížení stravitelnosti aminokyselin (lyzinu, treoninu) u brojlerových kuřat při obsahu gosypolu v krmivu 0,02 %.

U slepic je snáška snížena již při obsahu 0,024 %, který rovněž negativně ovlivňuje líhivost. Kromě toho i velmi nízký obsah gosypolu (0,005 %) způsobuje olivové zbarvení žloutku (Farrell, 2005).

Působení gosypolu je možné snížit u bavlníkového šrotu tepelnou úpravou, během které se váže 80 – 90 % gosypolu s bílkovinami a vytváří netoxické sloučeniny. Drůbež lépe snáší gosypol při doplňování solí železa do krmných směsí (1 – 2 ppm železa na 1 ppm gosypolu). Také fermentace bavlníkové močky za použití některých hub může snížit obsah volného gosypolu až o 90 % (Leeson a Summers, 2001).

2. 5. 4 Sinapin

Sinapin je cholin ester kyseliny sinapové a je hořkou sloučeninou vyskytující se v plodinách rodu *Brassica* a *Crambe*. Řepková moučka typu canola obsahuje mezi 2,5 až 3 % sinapinu, zatímco moučka z *Crambe* pouze 0,5 %. Sinapin je prekurzorem trimethylaminu, který se vytváří činností střevních bakterií. Při zkrmování řepkové moučky hnědovaječným slepicím byl zjišťován rybí zápach vajec. Tento rybí zápach je způsobován přítomností trimethylaminu zejména v množství 1 – 5 µg/ g vejce. Štěpením sinapinu vznikají i nadbytečné metylové skupiny, které rovněž mohou být možnými faktory pro vznik nežádoucí chutě a vůně masa kuřat krmených krmnými směsmi s vysokým obsahem řepkového šrotu (Tůmová, 1986). Problém rybího zápachu je spojen i s glukosinoláty v řepkové moučce, které inhibují enzym trimethyl-amin-oxidázu v játrech. Fenwick et al. (1989) zjistili, že když se přidá do krmné směsi bez řepkové moučky 200 ppm 5-vinyloxazolidon-2- thion a 2-hydroxybut-3-enyl glukosinolát, má to stejný efekt jako zkrmování řepkové moučky s glukosinoláty.

Rybí zápach vajec je možné odstranit zkrmováním směsi obsahující méně než 0,1 % sinapinu. Jestliže řepková moučka typu canola obsahuje 3 % sinapinu, je možné ji do krmné směsi pro hnědovaječné slepice zařadit v množství 3 %. K rybímu zápachu nedochází pokud je sinapin hydrolyzován na cholin a kyselinu sinapovou před přijetím potravy.

Působení sinapinu je možné omezit různými úpravami řepkového extrahovaného šrotu. Goh et al. (1983) uvádějí, že obsah sinapinu je možné snížit amonizací.

2. 5. 5 Hypericin a fagopyrin

Hypericin a fagopyrin jsou známé jako rostlinné toxiny schopné vyvolat primární fotosenzitivitu. Hypericin se vyskytuje v listech, stoncích a květech rostlin rodu *Hypericum*, zejména v třezalce tečkované (*Hypericum perforatum*). Fagopyrin je nalézán v semenech a listech pohanky.

Fotosenzitivita je jev, při kterém málo pigmentovaná kůže nadměrně reaguje na sluneční záření za přítomnosti sloučenin vnímavých na světlo v kůži. Tyto sloučeniny absorbují ultrafialové záření ze slunce a převádějí ho do receptorů molekul, které začnou chemickou reakci v makromolekulách kůže. Léze vzniklé těmito sloučeninami vytvářejí otoky, zarudnutí,

exsudativní výpotky séra až nekrózu kůže. Tyto změny pravděpodobně souvisejí s narušením buněčných membrán. (Leeson a Summers, 2001). Několik případů fotosenzitivity způsobené hypericinem a fagopyrinem bylo zjištěno u skotu, ale nikdy u drůbeže, přesto, že fotosenzitivita byla zjištěna právě u drůbeže. Fotosenzitivita u drůbeže je zjišťována zejména ve vztahu k furakumarinům, které se nacházejí v některých okoličnatých rostlinách, především v kmínu (*Ammi majus*). Semena z jedné rostliny kmínu v krmivu pro drůbež způsobují fotosenzitivitu zobáku a běháků, léze na očích.

2. 6 Glykosidy

Glykosidy jsou nejrozsáhlejší skupinou sekundárních metabolitů. Jsou to sloučeniny složené z jedné poloviny z cukrů a druhé poloviny necukerných látek nazývaných aglykony. Obě složky jsou spojené glykosidickou vazbou etherového charakteru. Některé glykosidy jsou toxické, zatímco jiné musí být hydrolyzovány, aby získaly toxický účinek. Zejména aglykony mohou být toxické jako takové nebo hydrolyzou se změny na antinutriční látky. Glykosidy jsou v rostlinné říši poměrně rozšířené.

2. 6. 1 Kyanoglykosidy

Kyanoglykosidy obsahují glykosidivě spojenou část kyanhydridovou s jedním nebo dvěma glycidy. Kyanoglykosidy jsou hydrolyzovány specifickými enzymy na toxický kyanovodík. Ke vzniku kyanovodíku může dojít i spontánní autolýzou rostlinných tkání a to za předpokladu přítomnosti specifických glukosidů a vody, zejména po narušení buněčných stěn. Kyanoglykosidy se v rostlinách nacházejí ve velmi nízkých koncentracích. Kyanoglykosidy se vyskytují ve více než 2000 rostlinných druzích, nejvíce v semenech čeledi růžovitých (*Rosaceae*). Hlavním druhem obsahujícím kyany a využívaným ve výživě zvířat je maniok. Poměrně běžným kyanoglykosidem je linamarin, který se nachází v jeteli plazivém, manioku a ve lnu.

Tradičním způsobem odstranění kyanů z kořenů manioku je strouhání či řezání a promývání vodou. Jinou možností je sušení rozmělněného manioku na slunci, kdy dochází k evaporaci kyanovodíku. Běžně se kyanovodík odstraňuje vařením s následným vysušením.

Tabulka 3 Kyany a rostliny využívané ve výživě hospodářských zvířat (Leeson a Summers, 2001)

Krmivo	Kyanoglykosid
Lněné semeno	Linustatin, neolinustatin, linamarin
Maniok	Linamarin, lotaustralin
Čirok	Dhurrin
Vikve	Vicianin

Kyanoglykosidy nejsou toxické sami o sobě, ale jejich toxicita vzniká působením enzymů přítomných v rostlinách s kyany a vytvářejících kyanovodík. Obě složky jak kyany, tak i enzymy jsou v rostlinách od sebe oddělené. Kyany jsou v epitelálních buňkách, zatímco enzymy jsou v mezofilních buňkách. Ke vzniku kyanovodíku dochází při poškození rostliny buď mechanicky, mrazem nebo suchem a kyany se dostávají do styku s enzymy.

Kyanovodík se rychle vstřebává z trávicího traktu jako velmi slabá kyselina a disociuje se v krvi. Kyanidový iont (CN⁻) je velmi silný a váže se s železem v krvi, reaguje s oxidem železa působením cytochrom oxidázy v mitochondriích a vytváří pevnou sloučeninu blokující dýchací řetězec. Výsledkem je to, že hemoglobin nemůže být přenašečem kyslíku a dochází k úhynu v důsledku buněčné hypoxie (cyanotická anoxie). Krev má charakteristickou tmavočervenou barvu. K úhynu dochází pouze v případě, když jsou zkrmovány rostliny v čerstvé, neupravené formě. Užitečnost drůbeže není při zkrmování manioku ovlivněna pokud koncentrace kyanovodíku v krmné směsi nepřesáhne 100 ppm. Příznaky otravy kyanoglykosidy jsou podobné jako u nervových poruch, abnormální dýchání, třes, modrání a vrávorání.

Zvířata nejsou vnímavá k malému množství kyanů. Malá množství kyanů jsou rozkládána na thiokyanáty pomocí ubichinonového enzymu rhodenáza. Rhodenáza je zjistitelná u kuřat ve všech tkáních (Aminlari a Shahbazi, 1994). Je vysoce aktivní v proventiculu, kde má klíčovou roli v detoxikaci kyanů ještě před absorpcí. Rhodenáza přenáší síru z různých zdrojů (zejména z thiosulfátů) a z kyanů vytváří thiokyanáty. Thiokyanáty jsou podstatně méně

toxické než kyany, ale jsou goitrogenní a při dlouhodobém působení mohou vyvolat strumu (zvětšení štítné žlázy). Kromě toho dlouhodobý rozklad kyanovodíků působením thiosulfátů může způsobit nedostatek síry, který se projeví snížením spotřeby krmiva a přírůstkem.

2. 6. 2 Glukosinoláty

Glukosinoláty jsou rovněž známy jako thioglykosidy a jsou velkou skupinou toxických látek přítomných v řadě rostlin. Glukosinoláty jsou obsaženy například v hořčici, křenu, zelí, kapustě, brokolici, květáku, tuřínu. Nejvíce se vyskytují u rostlin čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Nešlechtěné odrůdy řepky obsahují 110 - 150 mol alifatických glukosinolátů / g neolejné složky. U odrůd řepky typu Canola je obsah glukosinolátů 10 – 25 mol/ g. Obecně je doporučováno v krmivu pro drůbež méně než 2,5 mol / g.

Stejně jako thioglykokyanidy, ani glukosinoláty nepůsobí toxicky sami o sobě, ale vždycky jsou v rostlinách doprovázeny enzymem myrozinázou, který štěpí thioglykosidovou vazbu. Hydrolyza glukosinolátů myrozinázou nebo neenzymatickou cestou (teplem popřípadě nízkým pH) vytváří řadu toxických sloučenin, které zasahují do stavby aglykonové části. Jako nečastější aglykony vznikají isothiokyanát a epithionitril. Cyklizací isothiokyanátu vznikají nejjedovatější látky této skupiny oxazolidinthioly.

Většina glukosinolátů je rozdělována do tří tříd podle konečného produktu jejich rozkladu. Největší skupinou glukosinolátů jsou sloučeniny s alkylovou nebo alkenylovou skupinou (řetězcem), které při rozkladu vytvářejí isothiokyanáty. Druhou skupinou, která je menší, jsou glukosinoláty obsahující β -hydroxy radikály, ze kterých mohou vzniknout nestabilní hydroxyisothiokyanáty. Třetí skupinou jsou glukosinoláty s indolovým jádrem (indolglukosinoláty neboli glukobasiciny), které obsahují thiokyanidy. Tyto tři skupiny glukosinolátů mohou v závislosti na pH způsobovat vznik nitrilů.

Toxický nebo antinutriční vliv glukosinolátů závisí na typu sloučeniny vzniklé po enzymatické hydrolyze. Obecně glukosinoláty, které produkují kyany ovlivňují činnost štítné žlázy zjišťovanou na základě koncentrace tyroidních hormonů v plazmě a vyšší hmotností štítné žlázy. Naproti tomu glukosinoláty ze kterých vznikají nitrily mají toxický účinek na játra a ledviny. Oxazolidinethiny, známé také jako goitryny jsou potenciálními strumygenními sloučeninami. Goitryny inhibují zapojení jódu do prekurzorů toroidních hormonů, zejména tyroxinu (T4) a také ovlivňují jeho sekreci. Snížení sekrece tyroxinu je spojena se snížením

růstu, hyperplasií a hypertrofií štítné žlázy. Tento efekt není možné omezit ani přidávání jódu do krmiva. Také thiokyanáty a isothiokyanáty omezují využití jódu ve štítné žláze, ale jejich působení je méně negativní než goitrinů. Vliv thiokyanátů se projeví zejména při nízkém obsahu jódu v krmné směsi a je možné ho odstranit doplňkem jódu. Téměř polovina glukosinolátů v řepkách typu canola je prkurzorem thiokyanátů. Nitrily jsou více toxické než goitriny kyany.

Zkrmování řepky s vysokým obsahem glukosinolátů způsobuje u slepic vyšší úhyn, snižuje snášku a hmotnost vajec. Maximální doporučené množství je řepkového šrotu pro slepice je 5 %. Toto množství může být zvýšeno na 10 % při použití řepkového šrotu s nízkým obsahem gluksinolátů. U brojlerových kuřat množství řepkového šrotu v krmné směsi závisí na obsahu glukosinolátů a již koncentrace mezi 3,1 a 4,5 mg/g snižuje živou hmotnost o 10 % (Fenwick et al., 1989). Metoda, která by pomohla snížit negativní působení glukosinolátů u drůbeže nebyla doposud vyvinuta.

2. 6. 3 Saponiny

Saponiny jsou velkou skupinou strukturálně podobných sloučenin, které mají zmýdelňující účinek a nebo působí jako detergenty. V důsledku tohoto působení jsou v první řadě jedovaté pro ryby. Chemicky jsou saponiny triterpeny nebo steroidní glykosidy, a proto jsou rozlišovány dvě skupiny saponinů – skupina obsahující triterpenoidní aglykony a druhou skupinou steroidní aglykony. Většina saponinů přítomných v zrninách a objemném krmivu jsou triterpeny. Vyskytují se ve stovkách rostlin včetně vojtěšky, slunečnice, lupiny, hrachu, sóji či podzemnice. Vysoké koncentrace saponinů se nacházejí ve vojtěšce (zejména ve výhoncích), v hrachu a sóji. Ačkoliv saponiny vytvářejí mnoho rozdílných látek, všechny mají několik společných charakteristik jako hořká chuť, nadýmavost, hemolytické účinky a schopnost vytvářet složité komplexy se žlučovými kyselinami a cholesterolem a tím snižovat obsah cholesterolu.

Saponiny v krmivu způsobují, že zvířata nerada přijímají krmivo, které je obsahuje. Snižují spotřebu krmiva nejen prostřednictvím hořké chuti saponinů, ale i v důsledku dráždění mukózy v dutině ústní a ve střevech. Saponiny rovněž snižují růst a ovlivňují vstřebávání cholesterolu, mastných kyselin a vitaminů rozpustných v tucích. Jenkins a Atwatl (1994) zjistili, že kuřata, která dostávala v krmivu 0,9 % triterpenoidních saponinů měla nízkou

spotřebu krmiva, přírůstek živé hmotnosti a stravitelnost tuku. Dále vylučovala více cholesterolu a bylo zjištěno nižší vstřebávání vitamínu A a D. Naproti tomu zkrmování steroidních saponinů nemělo žádný vliv na sledované ukazatele.

Leeson a Summers (2001) uvádějí, že zařazení 20 % vojtěškové moučky do krmné směsi pro kuřata představuje přibližně 0,37 % saponinů a snižuje růst kuřat. Přítomnost saponinů ve vojtěšce je rozdílná v nadzemní části i v kořenech. Zařazení 2 % saponinů z nadzemní části do krmiva křepelek neovlivnilo růst, zatímco stejné množství z kořenů snížilo růst.

Negativní působení saponinů v krmivu může být omezeno úpravou za použití horké vody nebo etanolovou extrakcí.

2. 6. 4 Hemolytické glykosidy (vicin, convicin)

Vicin a convicin jsou pyrimidin β -glukosidy vyskytující se v rostlinách rodu *Vicia* (vikev). Jsou hydrolyzovány anaerobní mikroflórou dolní části trávicího traktu na vysoce působivé aglykony divicin a isouramil. Divicin a isouramil se podílejí na vzniku hemolytické anemie u člověka, kde dochází ke genetickému nedostatku aktivity glukoso-6-fosfát dehydrogenázy (G6PD). Jedinci se zvýšenou vnímavostí vůči nedostatku G6PD trpí hemolytickou anemií (favismus) vyvolanou oxidativním stresem v důsledku vazby divicinu a isouramilu, popřípadě jejich metabolitů, na červené krvinky.

Marquardt et al. (1974) uvádějí, že neupravený bob koňský snižuje u brojlerových kuřat růst a využitelnost krmiva. Muduuli et al. (1981) zjistili, že vicin ovlivňuje reprodukci u slepic. Vicin způsobil snížení oplozenosti vajec a líhivosti, pokles produkce vaječné hmoty v důsledku snížené hmotnosti vajec, nepatrně snížil i snášku. Tato studie také poukazuje na skutečnost, že vicin u slepic způsobil hemolýzu červenýchrvinek a oxidativní stres. Tyto změny souvisely s zvýšenou koncentrací plasmových lipidových peroxidů, snížením poměru vitamínu E: lipidům a zvýšením hemolýzy červenýchrvinek. Kudrna (2004) uvádí, že v jetelovinách lze hemolytické účinky saponinů snížit silážováním.

2. 6. 5 Další glykosidy

Dalším typem glykosidů jsou antrachinonové glykosidy, jejichž aglykon uvolněný po hydrolýze je derivátem antrachinonu. Tyto glykosidy jsou přítomné zejména u rostlin čeledi řešetlákovitých (*Rhamnaceae*), rdesnovitých (*Polygonaceae*) a bobovitých (*Fabaceae*). Často se používají jako projímavé drogy.

Kardioaktivní glykosidy získaly svůj název kvůli účinku na nemocné srdce. Aglykonem je steroidní struktura (cyklo-pentanoperhydrofenanthren) s laktonovým kruhem v poloze uhlíku C(17). Kardenolidy mají pětičlenný laktonový kruh s jednou dvojnou vazbou. Čisté izolované kardioaktivní glykosidy jsou důležitá léčiva nemocí srdce. Toxikologicky významné druhy rostlin jsou konvalinka vonná (*Convallaria majalis*), brslen evropský (*Euonymus europaeus*), druhy rodu náprstník (*Digitalis*), čičorka pestrá (*Coronilla varia*). Nepříjemná hořká chuť a schopnost vyvolat zvracení po požití obvykle zabraňuje větší saturaci organismu srdečními glykosidy.

Furanokumariny jsou glykosidově vázané kumarinové deriváty (deriváty laktonu kyseliny alfa-hydroxyskořicové) s furanovým kruhem připojeným buď lineárně (psoralenový typ) nebo angulárně (angelicinový typ). Výskyt furanokumarinů byl zaznamenán zejména v čeledích routovitých (*Rutaceae*) a miříkovitých (*Apiaceae*). Jejich toxikologický význam spočívá ve fotosenzibilizujících vlastnostech.

2. 7 Alkaloidy

Alkaloidy jsou sekundárními metabolity, které se v rostlinách vyskytují ve velké míře. Alkaloidy jsou bezbarvé, nerozpustné ve vodě a mohou vytvářet soli s kyselinami. Všechny alkaloidy obsahují dusík a obecně tvoří heterocyklickou strukturu. Existuje na tisíce alkaloidů, ale většina z nich není považována za toxické. Mezi alkaloidy s nevyšší toxicitou zejména pro drůbež jsou řazeny pyrilizidin, piperidin a alkaloidy s tropanovým jádrem.

2. 7. 1 Pyrolizidinové alkaloidy (monocrotalin, senecionin)

Pyrolizidinové alkaloidy jsou velkou skupinou přírodních látek s hepatotoxickým účinkem. Nacházejí se v poměrně velkých koncentracích v rostlinách v krotaláriích, *Crotalaria spectabilis* a *C. retusa* (3,85 a 2,7%). V rostlinách mohou být ve třech typech: monoestery (např. heliotrin), diestery (např. lasiokarpin) a cyklické diestery (např. monocrotalin, jacobin, senecionin). Největší toxicitu vykazují především cyklické diestery, zatímco monoestery jsou nejméně toxické. Pyrolizidinové alkaloidy nejsou toxické sami o sobě, ale musí být aktivovány vysoce reaktivními pyrolovými metabolity cytochromových enzymů. Tato aktivita je zejména v játrech, ale může se vyskytovat i v dalších orgánech, které obsahují cytochromové enzymy. Mezi tyto orgány se řadí například plíce, ledviny, srdce a trávicí trakt. Tyto toxické metabolity vzniklé enzymatickou činností jsou známé jako pyroly nebo dihydropyrolizidony. Pyroly jsou velmi reaktivní molekuly, které reagují s makromolekulárními sloučeninami v buňce. Pyroly mohou ovlivnit DNA až do míry omezení množení buněk v důsledku antimitochondriálního působení. U pyrolů může být odstraněn jejich toxický účinek vazbou na glutathion nebo rozložením esterových skupin pomocí esteráz. Allen et al. (1960) uvádějí, že obsah 0,3 % *C. spectabilis* u kuřat vyvolává 100% úhyn. U uhynulých kuřat byly zjišťovány hemoragie v játrech, plicích a osrdečníku. Všechna zvířata měla výrazně zmenšená játra. V poslední době se objevila řada studií zaměřených na patologické změny způsobené pyroly. Klinickým projevem působení pyrolů je růstová deprese a anorexie. Příznaky jsou zjišťovány u všech druhů drůbeže, ale nejvíce u kuřat. Akutní intoxikace je charakterizována vláknitostí jater a žlutou či hnědou barvou. Chronická intoxikace způsobuje atrofii a nepravidelnosti ve velikosti a tvaru jaterních laloků, které občas bývají pokryté fibrinem. Velikostí jsou játra přibližně 2 – 3 krát větší proti normální velikosti. Ledviny jsou světlé a zvětšené. Rostliny rodu *Crotalaria* bývají často nacházeny se semeny sóji a čiroku (Leeson a Summers, 2001).

2. 7. 2 Piperidinové alkaloidy

Většina přírodních alkaloidů, které se vyskytují v rostlinách a mikroorganismech, mají ve své struktuře piperidinové jádro. Nejvýznamnější alkaloidy této skupiny jsou přítomné v bolehlavu, zejména v semenech, ale i v dalších částech rostlin. Tato dvouletá rostlina pochází z Evropy, ale zdomácněla v severní i jižní Americe a v Asii. Toxické části bolehlavu obsahují nejméně 8 piperidinových alkaloidů (Panter a Keller, 1989). Nejvýznamnější je

koniín, který je obsažen v semenech a γ -konicein, který je ve velkém množství ve vegetativních částech rostlin. Koniín byl prvním alkaloidem objeveným v roce 1927 a také prvním chemicky syntetizovaným v roce 1886. Vzniká pro alkaloidy netypickou cestou acetátové syntézy.

Existuje poměrně málo údajů o intoxikaci bolehlavem. Frank a Reed (1986) uvádějí toxikózu způsobenou bolehlavem u krůt chovaných ve volném výběhu. Klinickými příznaky byl třes, paralýza a zvýšený úhyn. Základní analýza ukázala překrvení jater, zánět střevní sliznice a velké množství semen bolehlavu plamatého ve voleti, žláznatém i svalnatém žaludku. V další studii Frank a Reed (1990) zjišťovali toxicitu koniínu u kuřat. Toxikóza je projevila nervozitou, depresemi a paralýzou. Nebyly zjištěny hrubé ani mikroskopické léze. Nejcitlivější vůči toxicitě koniínu jsou křepelky, pak kuřata a nejméně krůty. Při intoxikaci koniíнем byla rovněž zjištěna residua koniinu v jedlých částech kuřat. Je zřejmé, že intoxikace semeny bolehlavu u drůbeže může působit toxicky i na člověka. V Evropě byla zjištěna otrava u lidí po konzumaci křepelky, které byly intoxikovány semeny bolehlavu. Koniín byl zjištěn v játrech a ve svalstvu již 7 dní po příjmu semen bolehlavu. Proto je doporučováno věnovat velkou pozornost drůbeži tam, kde má přístup k rostlinám bolehlavu.

Dalšími pyridinovými alkaloidy jsou nikotin a anabasin. Nikotin vzniká z ornitinu a kyseliny nikotinové, jejímiž prekurzory jsou glycerol a kyselina asparagová. Anabasin vzniká z lizinu a kyseliny nikotinové.

2. 7. 3 Atropin a skopolamin

Lilkovité rostliny (*Solanaceae*), kterých je kolem 1600 druhů, mohou produkovat alkaloidy s tropanovým jádrem, jež mají jak toxické, tak i farmakologické účinky. Mezi jedovaté lilkovité rostliny patří například rulík zlomocný (*Atropa belladonna*), blín černý (*Hyoscyamus niger*) nebo mandragora lékařská (*Mandragora officinalis*). Tyto rostliny mohou být jako plevelné rostliny v porostech sóji, lnu, kukuřice, pšenice a čiroku a jejich semena se tak mohou dostat do krmiv. Tyto rostliny pocházejí zejména z oblastí tropů a subtropů a nejčastěji znečišťují sóju (List et al., 1979).

Hlavními tropanovými alkaloidy jsou skopolamin (hyoscin) a atropin (dl-hyoscin). Biogeneze těchto látek začíná ornitinem, z něhož vzniká pyrolidinový derivát. Jeho kondenzací se třemi acetátovými jednotkami vzniká tropanol. Obsah tropanových alkaloidů

je v lilkovitých rostlinách poměrně variabilní. List et al. (1979) našli semena durmanu (*Datura stramonium*) v sóji a zjistili, že obsahují 0,29 % atropinu, 0,05 % skopolaminu a celkové množství alkaloidů bylo 0,34 % poměr skopolaminu a atropinu byl přibližně 15 : 85. Naproti tomu Kovatsis et al. (1993) zjistili u jiného druhu durmanu (*Datura ferox*) poměr skopolaminu a atropinu 98 : 2. Kromě semen jsou tyto alkaloidy v poměrně velkém množství přítomny i v mladých rostlinách.

Day a Dilworth (1984) zjišťovali vliv semen durmanu na brojlerová kuřata. Při obsahu durmanu v krmné směsi 3% měla kuřata nižší intenzitu růstu a ve 3 týdnech věku měla živou hmotnost nižší o 33 % proti kontrole a kuřata, která měla v krmné směsi 6 % durmanu měla živou hmotnost nižší o 38 % v porovnání s kontrolními kuřaty. Autoři nepozorovali klinické změny u pokusných kuřat. Jako bezpečné množství při výskytu v krmivu pro kuřata je považováno 1 %.

Kovatsis et al. (1993, 1994) sledovali vliv *Datura ferox* u brojlerových kuřat a slepic na užitkovost a zdravotní stav. Alkaloidy dávali v množství 1,5, 15, 75 a 150 ppm. U kuřat došlo ke snížení růstu, ale nezjistili vliv na srdeční činnost ani dechovou frekvenci. Rovněž při histologickém vyšetření nebyly zjištěny žádné změny. U slepic množství 150 ppm snížilo snášku, ale nemělo vliv na hmotnost vajec, tloušťku skořápky ani živou hmotnost. Tep se zvýšil již za 5 týdnů zkrmování. Dechová frekvence ovlivněna nebyla. Za bezpečné množství alkaloidů je považováno 75 ppm.

2. 8 Mykotoxiny

Mykotoxiny jsou sekundárními metabolity některých druhů plísní rostoucích ve specifických podmínkách. Primární metabolity plísní jsou využívány k syntéze biomasy a jako zdroj energie v primárním metabolismu. Naproti tomu sekundární metabolismus je omezen pouze na několik druhů plísní, u kterých se objevuje po dokončení růstu a obvykle bývá spojován s genetickými změnami. Sekundární metabolity zahrnují pigmenty a sloučeniny působící proti mikroorganismům (antibiotika), rostlinám (fytotoxiny) nebo živočichům respektive člověku (mykotoxiny). Biologický význam sekundárních metabolitů stále není znám. Podmínky prostředí, které ovlivňují růst plísní a produkci mykotoxinů v krmivech jsou vázány jak na samotné krmivo, tak i na podmínky skladování. Některé

faktory ovlivňující produkci mykotoxinů mohou být ovlivněny. Například pokud vlhkost zrnin je 12 % a méně, tak růst plísní je výrazně omezen.

Tabulka 4 Faktory ovlivňující růst plísní a produkci mykotoxinů (Leeson a Summers, 2001)

Vnitřní faktory	Vnější faktory
Složení krmiva (lipidy, cukry, stopové prvky atd.)	Relativní vlhkost nad 70 % podporuje růst plísní
Snižující se pH omezuje růst plísní, což je důvodem pro použití organických kyselin jako krmných aditiv pro snížení růstu plísní při skladování (např. kys. propionová).	Vnější teplota je důležitým faktorem podporujícím růst plísní. Optimální teplota je rozdílná pro růst plísně a produkci mykotoxinů. Obecně např. plísně <i>Aspergillus</i> a <i>Penicilium</i> lépe rostou při vyšších teplotách.
Vlhkost zrnin. Optimální vlhkost pro růst saprofytických plísní je > 13 % a pro fytopatogenní plísně > 20 %.	Plísně jsou aerobní mikroorganismy. Např. u fusárií je poukazováno na skutečnost, že když při skladování zrnin je v atmosféře pouze 5 % kyslíku a 40 % CO ₂ , jsou růst plísní a produkce mykotoxinů významně omezeny.
Důležitým faktorem je také aktivita volné vody, která je k dispozici pro růst plísní. Některé komponenty (např. podzemnice olejná) mají nízký obsah volné vody v semenech, ale vysokou aktivitu volné vody podporující růst plísně <i>Aspergillus</i> a produkci aflatoxinů.	Velikost zrna. Malé zrniny mají relativně velký povrch, který umožňuje růst plísní.

Problematice plísní a mykotoxinů byla věnována studie Suchý a Herzig (2005), proto se tato práce mykotoxiny nezabývá.

2. 9 Další sloučeniny

2. 9. 1 Nitráty

Obsah nitrátů v obilovinách a luskovinách kolísá v závislosti na druhu, odrůdě a podmínkách pro pěstování. Běžně se pohybuje v rozmezí 0,5 – 18 ppm. Negativní působení nitrátů může být omezeno přeměnou na méně toxické dusíkaté sloučeniny vlivem mikroorganismů v trávicí trubici zvířat. Podobné je to i v rostlinách, kde nitráty mohou být redukovány na nitrity právě mikrobiálním metabolismem. Nitráty se vstřebávají v trávicím traktu a dostávají se do červených krvinek kde oxidují Fe²⁺ oxyhemoglobinu na Fe³⁺ a

vytvářejí methemoglobin. Methemoglobin není schopen vázat a přenášet kyslík do tělních tkání. Výsledkem methemoglobinémie v tkáních je hypoxie. Diaz et al. (1995) uvádějí, že u brojlerových kuřat je chronická hypoxie spojená s hypertenzí a kardiomyopatií. Autoři ověřovali hladinu nitrátů v krmné směsi v množství 0, 200, 400, 800, 1200 a 1600 ppm u brojlerových kuřat a krůt po dobu 14 nebo 35 dnů. U obou druhů drůbeže došlo k významnému zvýšení methemoglobinémie již po 7 dnech, ale pak se vrátila na normální hladinu i přes přítomnost nitrátů v krmivu. Kardiomyopatie se objevila u krůt při koncentraci nitritů nad 1200 ppm asi u 20 % zvířat, u kuřat v 5 % případů. U obou druhů se vyvinula anemie již při koncentraci 800 ppm. Užiteklost byla ovlivněna při vyšších koncentracích. Z výsledků je zřejmé, že negativní působení nitrátů je až při vysokých koncentracích, které nejsou běžné ani v zrninách nebo luskovinách. Kromě obilovin a luskovin může být hlavním zdrojem nitrátů napájecí voda.

2. 9. 2 Biogenní aminy

Živočišné moučky jsou poměrně vhodným prostředím pro mikrobiální kontaminaci a to jak před zpracováním, tak i po něm. Růst bakterií a jejich metabolismus mohou enzymaticky ovlivnit některé živiny v těchto moučkách. Biogenní aminy jsou dekarboxylované sloučeniny vznikající v průběhu bakteriální degradace některých aminokyselin. Přírodní biogenní aminy nebo látky z nich vzniklé mohou mít farmakogenní účinek. Příkladem může být histamin, který vzniká z histidinu a katecholaminové hormony (DOPA, dopamin, norepinefrin nebo epinefrin), které vznikají z fenyletylaminu. Mezi běžné biogenní aminy vznikající dekarboxylací v produktech živočišného původu patří kadaverin (vzniká z lyzinu), tryptamin (vzniká z tryptofanu), agmatin (z argininu), taramin (z tyroxinu), fenyletylamin (z fenylalaninu), histamin (z histidinu) nebo putrescin (z ornitinu). Putrescin je prekurzorem dalších dvou biogenních aminů, sperminu a spermidinu. Tyto tři biogenní aminy jsou známy jako polyamidy. Současně jsou důležité pro stavbu DNA a RNA, syntézu bílkovin, dělení buněk a růst tkání.

Biogenní aminy jsou běžně považovány za toxické zejména pro drůbež. V poslední době se však ukazuje, že například slepice nejsou vůči biogenním aminům tak vnímavé. Bermudez a Firman (1998) sledovali vliv fenyletylaminu (4,8 ppm), putrescinu (49 ppm), kadaverinu (107 ppm) a histaminu (131 ppm) nebo jejich kombinace na užiteklost a zdravotní stav brojlerových kuřat. Použitá množství jednotlivých biogenních aminů odpovídala maximálním

koncentracím, které mohou být v běžných krmných směsích. Nebyl zjištěn negativní vliv na užitkovost kuřat a ani nenašli výrazné změny na vnitřních orgánech. Autoři uvádějí, že výše uvedené biogenní aminy, které se mohou objevit v krmivech živočišného původu, významně neovlivňují užitkovost či zdravotní stav drůbeže.

Výsledky studie Bermudéze a Firmana (1998) potvrdily předchozí údaje, že nízké koncentrace histaminu a putrescinu neovlivňují užitkovost kuřat. Na druhou stranu v závislosti na množství, putrescin může mít i příznivý vliv na užitkovost. Smith (1990) zjistil příznivý vliv putrescinu na růst. Domnívá se, že putrescin svým příznivým vlivem na růst brojlerových kuřat může být esenciální živinou. Doplněk putrescinu v množství 2000 a 4000 ppm signifikantně zvýšil živou hmotnost. Naproti tomu množství 8 000 a 10 000 ppm průkazně snížilo živou hmotnost kuřat ve srovnání s kontrolou.

Harry et al. (1975) uvádějí, že histamin u brojlerových kuřat může způsobit narušení sliznice svalnatého žaludku a vytvoření vředů podobnou jako vyvolává gizerozin. Tento efekt však mají až velmi vysoké koncentrace histaminu jako 1000 – 10 000 ppm, zatímco hladiny pod 500 ppm nepůsobí negativně. V této souvislosti je nezbytné doplnit, že gizerozin není biogenním aminem a nevzniká dekarboxylací aminokyselin. Gizerozin vzniká z nepeptidové části histidinu nebo histaminu popřípadě lyzinu při extrémně vysokých teplotách při zpracování rybí moučky.

Smith et al. (1996) se domnívají, že toxicita polyamidů se zvyšuje s jejich molekulovou hmotností. Spermidin má poměrně málo zlepšuje růst kuřat, zatímco spermin je pro kuřata vysoce toxický.

2. 9. 3 Toxická myopatie

Luskoviny rodu *Senna* (Kasie) zahrnují velké množství jednoletých i víceletých bylin, křovin, popínavých rostlin a stromů, které se vyskytují zejména v oblasti tropů a subtropů, především v Americe. Řada druhů rostlin rodu *Senna* je známá tím, že způsobuje po spasení či kontaminací jadrného krmiva myopatii u skotu. Mezi toxické druhy patří *Senna occidentalis*, *S. obtusifolia*, *S. reticulata*, *S. tora* a *S. roemeriana*. *S. occidentalis* je hodně rozšířeným plevelem v kukuřici, čiroku a sóji a jeho semena se stávají příměsí těchto krmiv. Nejobtížnější je rozlišení semen kasií a čiroku, protože jsou si tvarem, velikostí a barvou velmi podobné. Simpson et al. (1971) zkrmovali kuřatům směsi s 0,5 %, 1 %, 2 % nebo 4 %

S. occidentalis po dobu 3 týdnů. Živá hmotnost kuřat se snižovala v závislosti na množství rostliny v krmivu. Kuřata, která dostávala krmnou směs se 2 % a 4 % *S. occidentalis* měla nižší živou hmotnost o 53 % a 63 % proti kontrole. Také spotřeba krmiva byla ovlivněna koncentrací *S. occidentalis* v krmivu. Úhyn kuřat byl 2,5 %, 2,5 %, 5 % a 65 % při zkrmování 0,5 %, 1 %, 2 % a 4 % *S. occidentalis*. Většina kuřat, která dostávala 2 % nebo 4 % *S. occidentalis* byla ataktická a částečně před úhynem paralyzovaná. Byly nalezené rozsáhlé léze u skupin se 2 a 4 % semen v krmivu a vyskytovaly se zejména u stehenního svalstva, které bylo světlé a edematózní. Mikroskopickým vyšetřením byla zjištěna nekróza svalových vláken doprovázená otokem a proliferací sarkolemy. Léze vypadaly podobně jako při nedostatku vitamínu E a selenu. Podobné výsledky jsou uváděné i u slepic.

Haraguchi et al. (1998) se pokusili charakterizovat svalovou degeneraci u kuřat způsobenou *S. occidentalis* při zkrmování 4 % semen. Po 15 dnech zkrmování zjistili, že svalová atrofie a aktivita kyseliny fosforečné odpovídaly silné svalové degeneraci. Současně bylo zjištěno velké ukládání tuku okolo sarkoplazmatického retikula a abnormálně zvětšilo mitochondrie. Původ mytoxinů v rostlinách rodu *Senna* stále není znám.

Page et al. (1977) zkrmovali bělovaječným slepicím semena *S. obtusifolia* v množství 2 %, 5 % nebo 10 %. Všechny obsahy snížily spotřebu krmiva, snášku a hmotnost vajec. Vaječné žloutky měly platinovou barvu. Stehenní i prsní svalstvo bylo světlé a vodnaté. V dalším pokusu Flunder et al. (1989) zkrmovali bělovaječným slepicím semena *S. obtusifolia* v množství 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 % a 7 %. Snáška i spotřeba krmiva se významně snížily již při 2 % semen v krmivu. U nejvyšší koncentrace se během prvních 24 h snížila spotřeba krmiva o 37 % proti kontrole. Kvalita vajec vyjádřená specifickou hmotností se průkazně snížila při koncentraci 5 % a více. Bylo zjištěno, že již obsah 2 % semene *S. obtusifolia* má negativní vliv na užitkovost slepic.

3 Závěr

Použití krmiv obsahujících přírodní toxiny předpokládá určitou úpravu ještě před zařazením těchto krmiv do krmných směsí. To se týká zejména netradičních krmiv, kde je také nutné vyvinout vhodné způsoby odstranění toxických látek. Teprve pak bude možné využít řadu netradičních zdrojů krmiv ve výživě zvířat při plném uplatnění jejich nutriční

hodnoty. Je zřejmé, že škodlivé látky se vyskytují v řadě krmiv a je nezbytné jim věnovat dostatečnou pozornost.

4 Příloha

Tabulka 5 Přehled krmiv a jejich antinutričních faktorů

Krmivo	Antinutriční látka
Neupravená sója a její moučky	Trypsin inhibitor, phytohaemagglutinin, lipoxygenaza, goiterogen, saponin, estrogen, kyselina fytová a oligosacharidy (NSPs – 30.3%)
Podzemnice olejná a její moučky	Trypsin inhibitor, goiterogen, taniny, oligosacharidy and lektiny
Hořčice, řepka a jejich moučky	Goiterogeny (thioglukosidy nebo glukosinolaty, kyselina eruková, sinapin (cholinester), pektiny a oligosacharidy (NSPs - 46.1 %)
Slunečnice a její moučky	Estrogenní faktor, dva fenolové glukosidy (hořká chuť) a vláknina, taniny
Sezamová semena	Fytát (5g/100g) a oxaláty (35 mg/100g)
Lněné semeno	Linamarin (kyanogenní glukosid), antipyridoxin (linatin) (HCN → 10-300 mg)
Kapok	Taniny, tyrosin a mastné kyseliny s cyclopropanovým jádrem
Kokosová moučka	Vláknina (manany) a estrogenní faktor
Bavlník a jeho moučky	Gosypol, cyklopropanové mastné kyseliny, taniny
Skočec	Ricin - Fytohemoagglutinin, ricinin (toxický alkaloid) Ricinus alergen (proteinpolysacharid)
<i>Azadirachta indica</i>	Hořká chuť → triterpenoidy azadirone, gedunin, vilasinin a sekomeliaciny taniny a kumarin

Lupina	Chinolizidinové alkaloidy, pektiny, oligosacharidy, saponin.
Hrách	Inhibitory proteáz, taniny, lektiny
Kukuřice	Aminokyseliny obsahující selen Estrogen , trypsin inhibitor
Pšenice	Tyramin, trypsin inhibitor, NSPs (11.4%)
Rýže	Estrogen a hemoaglutininy Inhibitor amylázy a protázy a NSPs (13.2%)
Oves	Inhibitor amylázy a estrogeny
Tritikále	Trypsin a chymotrypsin inhibitor (NSPs)
Ječmen	β - glucany (NSPs – 16.7%)
Čirok	Taniny
Maniok	Kyanogenní glucosidy (HCN – 1000 – 3000 mg/kg DM)
Rybí moučky	Gizerozin a histamin (biogenní aminy)

5 Seznam použité literatury

Acamovic, T. C. S., Pennycott, T. W., 2003. Poisonous plants and related toxins. Cabi Publishing, 223-226

Allen, J. R., Childs, G. R., Cravens, W. W., 1960. *Crotalaria spectabilis* toxicity in chickens. Proceedings for the Society of Experimental Biology and Medicine, 104:434-436.

Aminlari, M., Shahbazi, M. 1994. Rhodanese (thiosulfate:cyanide sulfurtransferase) distribution in the digestive tract of chicken. Poultry Science, 73:1465-1469.

Annison, G., Choct, M. 1991. Anti-nutritive activities of cereal non starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. World's Poultry Science Journal, 47:232-242.

Arnold, R. L., Olson, O. E., Carlson, C. W. 1972. Dietary selenium and arsenic additions and their effects on tissue and egg selenium. Poultry Science, 52:847-854.

- Barbieri, L., Battelli, M. G., Stirpe, F. 1993. Ribosome-inactivating proteins from plants. *Biochimica et Biohysica Acta*, 1154:237-282.
- Belmar, R., Morris, T. R. 1994. Effects of the inclusion of treated jacks beans *Canavalia ensiformis* and the amino acid canavanine in chick diets. *Journal of Agricultural Science*, 123:393-405.
- Bermudez, A. J., Firman, J. D. 1998. Effects of biogenic amines in broiler chickens. *Avian Diseases*, 42:199-203.
- Boren B., Waniska, R. D. 1992. Sorghum seed color as an indicator of tannin content. *Journal of Applied Poultry Research*, 1:117-121.
- Campbell, G. L., Bedford, M. R. 1992. Enzyme applications for monogastric feeds: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, 72:449-466.
- Cao, J., Blond, J. P., Bezard, J. 1993. Inhibition of fatty acid Δ^6 and Δ^5 desaturation by cyclopropene fatty acids in rat liver microsomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1210:27-34.
- Chowdhury, S. D., Davis, R. H. 1995. Influence of dietary osteolathrogens on the ultrastructure of shell and membranes of eggs from laying hens. *British Poultry Science*, 36:575-583.
- Day, E. J., Dilworth, B .C. 1984. Toxicity of jimson weed seed and cocoa shell meal to broilers. *Poultry Science*, 63:466-468.
- Diaz, G. J., Julian, R. J., Squires, E. J. 1995. Effect of graded levels of dietary nitrite on pulmonary hypertension in broiler chickens and dilatory cardiomyopathy in turkey poult. *Avian Pathology*, 24:109-120.
- Diaz, G. J., Squires, E. J., Julian, R. J., Boermans, H .J. 1994. Individual and combined effects of T-2 toxins and DAS in laying hens. *British Poultry Science*, 35:393-405.
- D'Mello, J. P. F. 1995. Anti-nutritional substances in legume seeds. In: D'Mello, J. P. F., and Devendra, C. (Eds). *Tropical legumes in animal nutrition*. CAB International, Wallingford.
- D'Mello, J. P. F., Acamovic, T. 1989. *Leucaena leucocephala* in poultry nutrition-A review. *Animal Feed Science and Technology*, 26:1-28.
- Elkin, R. G., Featherston, W. R., Rogler, J. C. 1978. Investigation of leg abnormalities in chicks consuming high tannin sorghum grain diets. *Poultry Science*, 57:757-765.
- Farran, M.T., Uwayjan, M.G., Miski, A. M. A., Sleiman, F.T., Adada, F.S., Ashkarian, V. M. 1995. Effect of feeding raw and treated common vetch seed (*Vicia sativa*) on performance and egg quality parameters of laying hens. *Poultry Science*, 74:1630-1635.
- Farrel, D. J. 2005. Matching poultry production with available feed resources: issues and constraints. *World Poultry Science Journal*, 61: 298-307

- Fenwick, G R., Heaney, R. K., Mawson, R. 1989. Glucosinolates. In: Cheeke, P. R. (Ed.) Toxicants of plant Origin, Vol. II. Glycosides. CRC press, Boca Raton, pp. 1-41.
- Flunker, L. K., Damron, B L, Sundorf, S. F. 1989. Response of white leghorn hens to various dietary levels of *Cassia obtusifolia* and nutrient fortification as means of alleviating depressed performance. Poultry Science, 68:909-913.
- Frank, A. A., Reed, W. M. 1986. *Conium maculatum* (poison hemlock) toxicosis in a flock of range turkeys. Avian Diseases, 31:386-388.
- Frank, A. A., Reed, W. M. 1990. Comparative toxicity of coniine, an alkaloid of *Conium maculatum* (poison hemlock), in chicken, quails, and turkeys. Avians Diseases, 34:433-437.
- Fritz, J. C., Mislivec, P. B. , Pla, G. W., Harrison, B. N., Weeks, C. E., Dantzman, J. G. 1973. Toxicogenicity of moldy feed for young chicks. Poultry Science, 52:1523-1530.
- Guinotte, F., Gautron, J., Soumarmon, A., Robert, J. C., Peranzi, G., Nys, Y. 1993. Gastric acid secretion in the chicken: effect of histamine H₂ antagonists and H⁺/K⁺-ATPase inhibitors on gastro-intestinal pH and of sexual maturity calcium carbonate level and particle size on proventricular H⁺/K⁺-ATPase activity. Comparative Biochemistry and Physiology, 160A:319-327.
- Goh, Y. K., Shires, A., Robblee, A. R., Clandinin, D. R. 1983. The effect of ammoniation on the sinapine content of Canola meal. Proceedings of 7th Congress Rept. Research of Canola seed, oil, meal and meal fractions, 143-148.
- Haraguchi, M., Gorniak, S. L., Calore, E. E., Cavaliere, M. J., Raspantini, P. C., Calore N. M. P., Dagli, M. L. Z. 1998. Muscle degeneration in chicks caused by *Senna occidentalis* seeds. Avian Pathology, 27:346-351.
- Harper, J. A., Arscott, G. H. 1962. Toxicity of common and hairy vetch seed for poults and chicks. Poultry Science, 41:1968-1974.
- Harry, E. G., Tucker, J. F., Laursen-Jones, A. P. 1975. The role of histamine and fish meal in the incidence of gizzard erosion and proventricular abnormalities in the fowl. British Poultry Science, 16:69-78.
- Jansman, A. J. M. 1993. Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. Nutrition Research Reviews, 6:209-236.
- Jenkins, K. J., Atwal, A. S. 1994. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, and availability of vitamins A and E in the chick. Journal of Nutritional Biochemistry, 5:134-137.
- Kakade, M. L., Rackis, J. J., McGhee, J. E., Puski, G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: collaborative analysis of an improved procedure. Cereal Chemistry, 51:376-382.

- Kamada, Y., Oshiro, N., Miyagi, M., Okum, H., Hongo, F., Chinen, I. 1988. Osteopathy in broiler chicks fed toxic mimosine in *Leucaena leucocephala*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62:34-38.
- Kovatsis, A., Flaskos, J., Nikolaidis, E., Kotsaki, Kovatsi, V. P., Papaioannou, N., Tsafairs, F. 1993. Toxicity study of the main alkaloids of *Datura ferox* in broilers. *Food and Chemical Toxicology*, 31:841-845.
- Kovatsis, A., Kotsaki-Kovatsi, V. P., Nikolaidis, E., Flaskos, J., Tzika, S., Tzotzas, G. 1994. The influence of *Datura ferox* alkaloids on egg-laying hens. *Veterinary and Human Toxicology*, 36:89-92.
- Kudrna, V., 2004. Zušlechtění krmiv, podmínky jejich bezpečnosti a produkční účinnosti. *Studie VVVZ*.
- Leeson, S., Diaz, G., Summers, J. D. 1995. *Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins*. University Books, Guelph, 190-332.
- Leeson, S., Summers, J. D. 2001. *Nutrition of the chickens*. University Books, Guelph, 4th edition, 544-591.
- Leslie, A.J., Pepper, W. F., Brown, R. G., Summers, J. D. 1973. Influence of rapeseed products on egg quality and laying hen performance. *Canadian Journal of Animal Science*, 53:747-752.
- Liener, I. E. 1994. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34:31-67.
- Marounek, M., 2004. Význam kyseliny fytové ve výživě zvířat a lidí a důsledky její přítomnosti v krmivech a potravinách. *Studie VVVZ*.
- Marquardt, R. R., Camphell, L. D., Stothers, S. C., McKirdy, J. A. 1974. Growth responses of chicks and rats fed diets containing four cultivars of raw and autoclaved faba beans. *Canadian Journal of Animal Science*, 54:177-182.
- Marsh, R. G., Gallin, W J. 1994. Toxic effects of aminopropionitrile treatment on developing chicken skin. *Journal of Experimental Zoology*, 268:381-389.
- Masumura, T., Sugahara, M., Noguchi, T., Mori, K., Natio, H. 1985. The effect of gizzerosine, a recently discovered compound in overheated fish meal, on the gastric secretion of the chicken. *Poultry Science*, 64:356-361.
- Muduuli, D. S., Marquard, R. R., Guenter, W. 1981. Effect of dietary vicine on the reproductive performance of laying hens. *Canadian Journal of Animal Science*, 61:757-764.
- Ohta, Y., Ohashi, H., Enomoto, S., Machida, Y. 1988. Simple measurement of gizzerosine in fish meals by high-performance liquid chromatography. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52:2817-2821.

Page, R. K., Vezey, S., Charles, O. W., Hollifield, T. 1997. Effects on feed consumption and egg production of coffee bean seed (*Cassia obtusifolia*) fed to White Leghorn hens. Avian Diseases, 21:90-96.

Panter, K. E., Keeler, R. F. 1989. Piperidine alkaloids of poison hemlock (*Conium maculatum*). In: Cheeke, P. R. (Ed.) Toxicants of plants Origin, Vol. I. Alkaloids. CRC Press, Boca Raton, pp. 109-132.

Pass, M. A., Arab, H., Pollitt, S., Hegarty, M. P. 1996. Effects of the naturally occurring arginine analogs indospicine and canavanine on nitric oxide mediated functions in aortic endothelium and peritoneal macrophages. Natural Toxins, 4:135-140.

Percy, R. G., Calhoun, M. C., Kim, H. L. 1996. Seed gossypol variation within *Gossypium barbadense* L. cotton. Crop Science, 36:193-197.

Perez-Maldonado, R. A., Blight, G. W., Pos, J., 2001. Upper limits of inclusion of canola meal and cotton seed meal in diets formulated on a digestible amino acid basis for broiler chickens. Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium, 156-159.

Perez-Maldonado, R. A., Mannoin, P. F., Mannion, P. F., 2003. Effect of heat treatment on the nutritional value of soybean selected for low trypsin inhibitor. British Poultry Science, 44, 299-308.

Perilla, N. S., Cruz, M. P., de Belalcazar, F., Diaz, G. J. 1997. Effect of temperature of wet extrusion on the nutritional value of full-fat soyabeans for broiler chickens. British Poultry Science, 38:412-416.

Ravidran, V., Bryden, W. L., Kornegay, E. T., 1995. Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. Poultry and Avian Biology Reviews, 6:125-143.

Raharjo, Y. C., Cheeke, P. R., Arscott, G. H. 1988. Effects of butylated hydroxyanisole and cysteine on toxicity of *Lathyrus odoratus* to broiler and Japanese quail chicks. Poultry Science, 67:153-155.

Renner, R., Innis, S. M., Clandinin, M. T., 1979. Effects of high and low erucic acid rapeseed oils on energy metabolism and mitochondrial function in the chick. Journal of Nutrition, 109:378-387.

Rosselot, G., Polez-Astra, M., Mc. Mustry, J. P., 1996. Determination of gizzerozine activity in fish meal with a homologous radioimmunoassay. Poultry Science, 75, 873-880.

Samarasinghe, K., Rajaguru A. S. B. 1992. Raw and processed wild colocasia corm meal (*Colocasia esculenta* (L.) Schott, var. *esculenta*) as an energy source for broilers. Animal Feed Science and Technology, 36:143-151.

Squeir, A. A., Brown, D. L., Kalsing, K. C. 1989. Canavanine content and toxicity of sesbania leaf meal for growing chicks. Animal Feed Science and Technology, 25:137-147.

Sim, J. S., Toy, B., Crick, D. C., Bragg, D. B. 1985. Effect of dietary erucic acid on the utilization of oils or fats by growing chicks. Poultry Science, 64:2150-2154.

Simpson, C. F., Damron, B. L., Harms, R. H. 1971. Toxic myopathy in chicks fed *Cassia occidentalis* seeds. *Avian Diseases*, 15:284-290.

Smith, T. K. 1990. Effect of dietary putrescine on whole body growth and polyamine metabolism. *Proceedings for the Society of Experimental Biology and Medicine*, 190:332-336.

Smith, T. K., Mogridge, J. L., Sousadias, M. G. 1996. Growth promoting potential and toxicity of spermidine, a polyamine and biogenic amine found in foods and feedstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44:518-512.

Sosulski, F. W., Minja, L. A., Christensen, D. A. 1988. Trypsin inhibitors and nutritive value of cereals. *Plant Food for Human Nutrition*, 38:23-24.

Sugahara, M., Hattori, T., Nakajima, T. 1988. Effect of synthetic gizzerosine on growth, mortality, and gizzard erosion in broiler chickens. *Poultry Science*, 67:1580-1584.

Suchý, P., Herzig, I., 2005. Plísňe a mykotoxiny. Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech. *Studie VVVZ*.

Svršek, J., 1997. Rostlinné jedy. *Natura*, www.gymtc.cz

Torres, M., Manosalva, H., Carrasco, I., De Ioannes, A. E., Becker, M. I. 1999. Procedure for radiolabeling gizzerosine and basis for a radioimmunoassay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:4231-4236.

Tůmová, E. 1986. Užitécké vlastnosti brojlerových kuřat ve vztahu k metioninu, cystinu a řepkovému šrotu v krmných směsích. *Kandidátská disertační práce, VŠZ v Praze*, 26 – 31.

Viroben, G., and Michelangeli-Vargas, C. 1997. Determination of canavanine in raw and processed jackbean seeds. *Sciences des aliments*, 17:299-307.

Wessels, J. P. H., Post, B. J., 1991. Effect of heat treatment of fish meal, fines and addition of lysine as related to gizzard erosion in chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46: 393-406.

Wiley, R.G. 1991. Ricin and related plant toxins: Mechanism of action and neurobiological applications. In: Keeler, R.F., and Tu, A.T. (Eds). *Handbook of Natural Toxins. Volume 6. Toxicology of plant and fungi Compounds*. Marcel Dekker, New York, pp.243-268.

Williams, M. C., Olsen J. D. 1992. Toxicity to chicks of combinations of miserotoxin, nitrate, selenium, and soluble oxalate. In: James, L. F., Keller, R. F., Bailey, Jr., E.M., Cheeke, P. R., Hegarty, M. P. (Eds). *Poisonous plants. Proceedings of the Third International Symposium*. Iowa State University Press, Ames, pp.143-147.