

# Vědecký výbor výživy zvířat

## Siláž a zdraví zvířat

**Prof. Ing. Vojtěch Rada, CSc.**

Praha, září 2009



**Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.**  
Přátelství 815, Praha - Uhřetěves,  
PSČ: 104 01, [www.vuzv.cz](http://www.vuzv.cz)

## OBSAH

<b>1. Seznam zkratk</b>	<b>3</b>
<b>2. Úvod</b>	<b>4</b>
<b>3. Siláž</b>	<b>4</b>
<b>3.1. Mikroorganismy v siláži</b>	<b>6</b>
<b>3.2. Přirozená mikroflóra siláže</b>	<b>6</b>
<b>3.3. Silážní přísady</b>	<b>12</b>
<b>3.4. Hodnocení siláže</b>	<b>12</b>
<b>4. Siláž a zdraví zvířat</b>	<b>14</b>
<b>4.1. Nežádoucí mikroorganismy v siláži</b>	<b>14</b>
<b>4.1.1. <i>Listeria monocytogenes</i></b>	<b>15</b>
<b>4.1.2. Klostridie</b>	<b>17</b>
<b>4.1.3. Patogenní <i>Escherichia coli</i></b>	<b>18</b>
<b>4.1.4. Plísně</b>	<b>20</b>
<b>4.1.5. Ostatní patogenní a nežádoucí mikroorganismy v siláži</b>	<b>20</b>
<b>4.2. Toxické látky v siláži</b>	<b>21</b>
<b>4.2.1. Mykotoxiny</b>	<b>21</b>
<b>4.2.1.1. Mykotoxiny v siláži</b>	<b>22</b>
<b>4.2.2. Ostatní toxické látky v siláži</b>	<b>24</b>
<b>4.3. Faktory působící metabolické choroby hospodářských zvířat</b>	<b>26</b>
<b>4.4. Siláž jako zdroj probiotických bakterií</b>	<b>27</b>
<b>5. Souhrn</b>	<b>28</b>
<b>6. Summary</b>	<b>29</b>
<b>7. Literatura</b>	<b>30</b>
<b>8. Přílohy</b>	<b>36</b>

## **1. Seznam zkratek**

**ADP** – adenosin difosfát

**AFB1** – aflatoxin B1

**AFM1** – aflatoxin M1

**ATP** – adenosin trifosfát

**a<sub>w</sub>** – vodní aktivita

**BMK** – bakterie mléčného kvašení

**CFU** – kolonie tvořící jednotka (pro vyjadřování počtu mikroorganismů), „colony forming units“

**EHEC** – Enterohemorhagické *E. coli*

**ME** – metabolizovatelná energie

**P** – fosfát

## 2. Úvod

První zmínky o silážování jsou přibližně 3000 let staré a pocházejí ze starého Řecka. Slovo „siláž“ pravděpodobně pochází z řeckého „siros“, z kterého pravděpodobně vzniklo „silo“ a následně „silage“, „siláž“ atd. Prvotně vyráběné siláže měly nepochybně řadu vad, problémy musely být zejména s adekvátním utěsněním, a proto bylo hlavním konzervačním postupem pro krmiva po dlouhou dobu, prakticky donedávna, sušení. Popularita siláže prudce vzrostla v posledních 50-60 letech.

Silážovaná a senážovaná zelená píce je dnes hlavním krmivem pro přežvýkavce jak v Evropě, tak v Severní Americe. Hlavním cílem silážování je konzervace zelené píce při současném udržení poměrně vysoké vlhkosti. Siláže jsou používány především jako náhrada pastvy v zimních měsících, avšak je možné i celoroční podávání.

Siláž a senáž je zdrojem živin, zejména vlákniny, vitamínů, organických kyselin a dalších mikrobiálních metabolitů a také minerálních látek. Na druhé straně, tak jako prakticky každé krmivo, může být zdrojem zdraví nebezpečných a technologicky nežádoucích mikroorganismů, toxických látek a faktorů působících metabolické poruchy hospodářských zvířat.

## 3. Siláž

Silážování a senážování je konzervace zelené píce pomocí bakterií mléčného kvašení za anaerobních podmínek. Pro úspěšné silážování je třeba splnit tři základní podmínky:

- a) Musí být přítomen **dostatek zkvasitelných cukrů**, tak aby konečné pH výrobku pokleslo na 4,0 – 4,2. Což je ovlivněno hlavně použitou surovinou. Nejlepší je kukuřice v mléčně-voskové zralosti. U některých surovin (vojtěška, luskoviny) jsou překážkou látky s pufrujícím účinkem (hlavně bílkoviny). Pokud je použita surovina na zkvasitelné cukry chudá (patevní porosty) je možno tyto látky dodat (např. ve formě melasy), nebo zvýšit jejich obsah přidáním hydrolytických enzymů (amylázy, hemicelulázy, celulózy).
- b) **Přítomnost bakterií mléčného kvašení (BMK)**, laktokoky, streptokoky, leukonostokoky, pediokoky, laktobacily, zejména *Lactobacillus plantarum*. BMK za anaerobních podmínek pomocí homo a heterofermentativního mléčného kvašení vytvoří kyselinu mléčnou, která prostoupí a konzervuje rostlinnou hmotu.

c) **Anaerobní podmínky** jsou zajištěny tím, že rostlinná hmota je nařezána na drobné kousky (5-10 cm) a je důkladně utlačena v silážním žlabu – ideálně na hodnotu cca 600 kg/m<sup>3</sup>. Silážní žlab je po stranách částečně zakryt nejprve stranovými fóliemi (tloušťka 120-160 µm), na celý povrch se následně rozprostře podkladová folie (tloušťka 40 µm), která dokonale přilne k povrchu a nakonec se aplikuje vlastní silážní fólie o tloušťce 125-200 µm. Na povrch je možno ještě umístit ochrannou síť proti divokým zvířatům. Nakonec se povrch rovnoměrně zatíží, přičemž místo „klasických“ ojetých pneumatik jsou vhodnější zátěžové rašlové pytle naplněné štěrkem (Anonym 1).

**Siláž** můžeme dále rozdělit podle mnoha kritérií. Podle použité suroviny je nejčastější siláž kukuřičná, silážovat lze také travní a pastervní porosty, cukrovarské řízky, luskovinoobilné směsky a pařené brambory. Určitou kuriozitou je silážování méně kvalitních ryb („fish silage“) jako krmivo pro prasata (Raa a Gilberg, 1982). Shih (1993) popsal dokonce anaerobní fermentaci uhynulých kuřat, při níž došlo k eliminaci patogenů včetně spor, navíc údajně došlo k přeměně peří na protein stravitelný zvířaty.

Silážování zavadlé píče vede k vyšší výsledné sušině, což má za následek na jedné straně horší růst nežádoucích bakterií, ale na druhé straně také menší produkce kyseliny mléčné. Pokud se sušina blíží 40 % a pH 5,0, mluvíme o **senáži**, kde je konzervace zajištěna kombinací kyseliny mléčné (pH), osmotického tlaku a také přítomností CO<sub>2</sub>. Vztah mezi sušinou a chemickým složením siláže je uveden v tabulce 1.

**Tabulka 1:** Vztah mezi sušinou a chemickým složením siláže (podle Wilkinson, 2005, upraveno).

	Čerstvá píče	Zavadlá píče	
		1 den	2 dny
Sušina (g/kg čerstvé hmoty)	159	336	469
pH	3,7	4,1	4,9
Dusík (g/kg)	69	59	43
Vodorozpustné cukry (g/kg sušiny)	17	117	164
Kyselina mléčná (g/kg sušiny)	121	54	17
Kyselina octová (g/kg sušiny)	36	21	12
Kyselina máselná (g/kg sušiny)	0	0	0
Kyselina mléčná (g/kg z celkové kyseliny)	770	720	590

Siláž můžeme také dělit podle použité technologie, nejčastěji se používají silážní žlaby, což jsou betonové stavby o rozměrech např. 10 x 50 x 4 m (šířka x výška x délka), senáže se vyrábějí v úzkých a vysokých senážních věžích. Silážovat (senážovat) lze také v balících, kde je konzervovaná hmota zpravidla nejprve okyselená a poté zabalena strečovou fólií (Anonym 1).

### 3.1. Mikroorganismy v siláži

Mikroorganismy hrají v konzervačním procesu silážování klíčovou roli. Mikroflóra siláže se tradičně dělí na dvě skupiny: **žádoucí** (prospěšná) a **nežádoucí** mikroflóra. Stručně řečeno první skupinu zahrnují BMK. Do druhé pak patří bakterie účastnící se kažení siláže za anaerobních podmínek (klostridie a enterobakterie), nebo aerobních podmínek jako jsou kvasinky, plísně a listerie (Driehuis a Elferink, 2000). Nežádoucí mikroorganismy mohou buď snižovat kvalitu (obsah živin, chutnost) siláže, často však představují zdravotní riziko pro zvířata a potažmo i pro člověka, a/nebo mají negativní vliv na kvalitu mléka a mléčných produktů (Wilkinson, 1999).

### 3.2. Přirozená mikroflóra siláže

Mikroflóra siláže závisí především na složení tzv. epifytní mikroflóry na povrchu, rostlin (Tabulka 2). Jak vyplývá z údajů, počty bakterií mléčného kvašení jsou nejvíce variabilní, což ospravedlňuje použití silážních inokulantů, počty koliformních bakterií kolísají také dramaticky v závislosti na intenzitě a způsobu hnojení. Přirozená mikroflóra siláže zahrnuje jak mikroflóru žádoucí (prospěšnou), tak i část mikroflóry nežádoucí. Společným znakem těchto mikroorganismů je to, že jsou zpravidla vždy (v různé míře) přítomni a je tedy nutno počítat s jejich pozitivní i negativní metabolickou aktivitou. Hlavní skupiny přirozené mikroflóry siláže uvádí tabulka č. 3.

Pokud proběhne celý proces silážování optimálním způsobem uskuteční se pouze tzv. **primární kvašení**, pH poklesne na hodnotu 4,0-4,2, vytvoří se cca 1,7 % kyseliny mléčné, 0,7 % kyseliny octové a kyseliny máselné je přítomno do 0,3 % (Wilkinson, 2005). Takto vyrobená siláž je při správném skladování dlouhodobě stabilní a bez větších chemických změn vydrží nejméně 3-4 měsíce. Pokud z různých příčin (nedostatečná mikroflóra, obsah pufrujících látek, ale hlavně nedostatek zkvasitelných cukrů) neproběhně důkladně primární kvašení, zpravidla následuje tzv. **sekundární kvašení**, kterého se účastní hlavně klostridie a

někdy také koliformní bakterie. Při sekundárním kvašení dochází ke zvýšení pH následkem fermentace dvou molekul relativně silné kyseliny mléčné či octové na jednu molekulu slabší kyseliny máselné a také proto, že kvašením aminokyselin a rozkladem bílkovin vzniká amoniak. Průběh primárního a sekundárního kvašení je graficky znázorněn v obrázku 1 a 2.

**Tabulka 2:** Složení epifitní mikroflóry (podle Mitrík, 2006, upraveno)

Skupina	Počet v logCFU/g
Aerobní bakterie	> 7
Bakterie mléčného kvašení	1 – 6
Koliformní bakterie	3 – 6
Kvasinky	3 – 5
Plísně	3 – 4
Klostridie (spory)	2 – 3
Bacily (spory)	2 – 3

**Tabulka 3:** Hlavní skupiny mikroorganismů účastnících se fermentačních pochodů v siláži (podle McDonald et al., 1991).

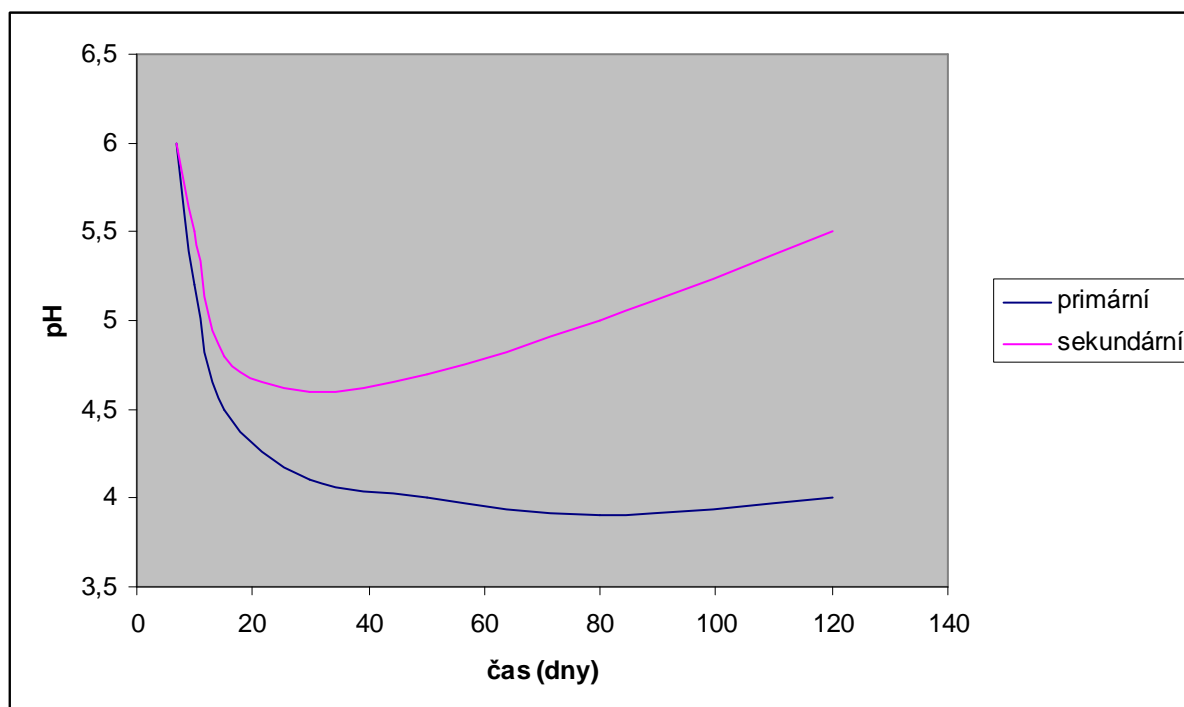
Druh	Zdroj	Substrát	Metabolity
Enterobakterie (koliformní bakterie)	Splašky, chlévská mrva, půda	Vodorozpustné cukry	Kyselina octová, etanol, CO <sub>2</sub> , amoniak
Kvasinky	Povrch rostlin, obiloviny	Vodorozpustné cukry	Etanol, CO <sub>2</sub>
Homofermentativní BMK	Povrch rostlin, obiloviny	Vodorozpustné cukry	Kyselina mléčná
Heterofermentativní BMK	Povrch rostlin, obiloviny	Vodorozpustné cukry	Kyselina mléčná, kyselina octová, etanol, manitol, CO <sub>2</sub>
Klostridie	Půda	Kyselina mléčná, bílkoviny, aminokyseliny	Kyselina máselná, kyselina octová, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , aceton, butandiol, aminy, amoniak

V průběhu silážování se také mění složení dusíkatých látek a to nejenom činností klostridií jak je uvedeno v tabulce č. 2, ale omezenou proteolytickou aktivitu mají také laktobacily a v menší míře i ostatní BMK (Thomas a Thomas, 1985). Obsah bílkovin z celkového dusíku klesá ze zhruba 90 % v surovině na méně než 60 % v siláži. Obsah aminokyselin naopak stoupá z cca 10 % na téměř 40 %. Následkem silážování také stoupá obsah amoniaku (z 0 na cca 5%). K větším biochemickým změnám dochází nutně po otevření sila. Nejvíce aktivní jsou enterobakterie (koliformní bakterie) a BMK. Také může dojít k pomnožení kvasinek a plísní (Wilkinson, 2005).

**Koliformní bakterie**, nebo enterobakterie jsou zastoupeny *Escherichia coli* a příbuznými rody jako je *Enterobacter*, *Erwinia*, *Rahnella*, *Hafnia* a *Serratia* (Heron et al., 1993). Hlavní metabolickou činností v siláži je konverze glukosy na acetát a etanol podle rovnice (McDonald et al., 1991):

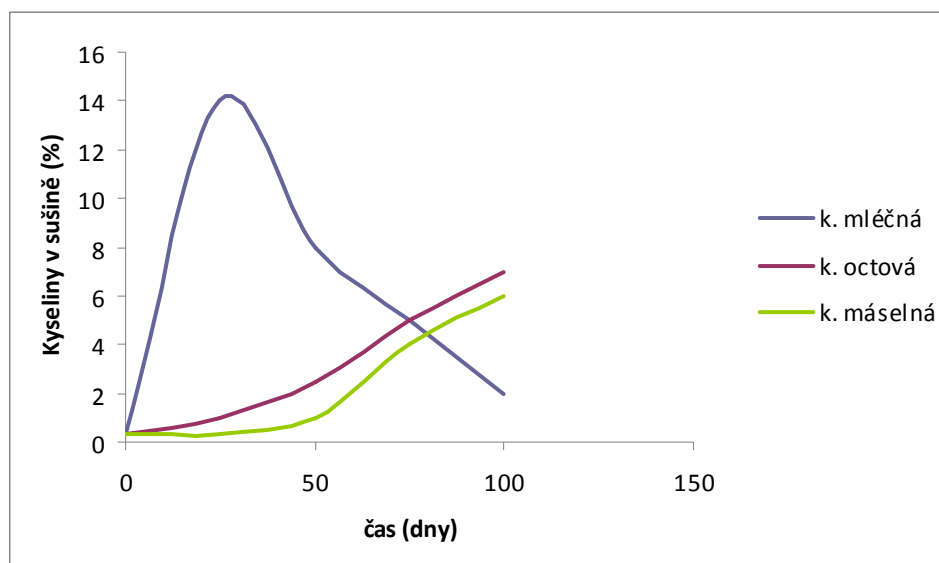


**Obr. 1:** Charakteristické změny pH siláže v průběhu primárního a sekundárního kvašení (podle Wilkinson, 2005)





**Obr. 2:** Změny v koncentracích organických kyselin v průběhu sekundárního kvašení (podle Wilkinson, 2005)



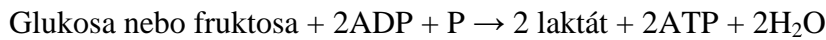
Jak vyplývá z rovnice v důsledku této fermentace dochází ke ztrátám uhlíku (ve formě plynu) a protože z jednoho molu glukosy vzniká pouze jeden mol acetátu, je proces okyselení nedostatečný. K dalším metabolickým aktivitám koliformních bakterií patří produkce biogenních aminů a redukce dusičnanů přes dusitany až na oxidy dusíku, které mohou ze sila unikat v podobě žlutohnědých plynů (Driehuis a Elferink, 2000). Koliformní bakterie se nemnoží při  $\text{pH} < 5$ , a proto je důležité rychlé okyselení při silážování (Heron et al., 1993).

**Bakterie mléčného kvašení**, které se uplatňují při silážování, patří hlavně mezi epifytní mikroflóru, což znamená, že se vyskytují na povrchu zelených rostlin. Jinak se BMK vyskytují také v trávicím traktu, ale v siláži dominují epifytní BMK a to vzhledem k použité surovině a konkurenčním výhodám - tolerance na osmotický tlak a ke kyslíku, acidotolerance, schopnost využívat určité substráty (McDonald et al., 1991). Při silážování se uplatňují tři skupiny BMK:

- Obligátně homofermentativní BMK
- Fakultativně heterofermentativní BMK
- Obligátně heterofermentativní BMK

Mezi **obligátně homofermentativní BMK** patří např. *Lactobacillus acidophilus*, *Pediococcus damnosus* a *Lactococcus lactis*. Tyto bakterie jsou žádoucí mikroflórou siláže, a

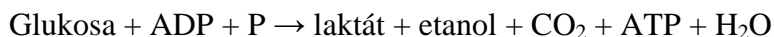
tudíž jsou často součástí silážních inokulantů. Jeden mol glukosy nebo fruktosy fermentují vždy na dva moly kyseliny mléčné podle rovnice:



Jak vyplývá z rovnice, nedochází ke ztrátám uhlíku, samozřejmě pokud nepočítáme možný únik silážních šťáv. Určitou nevýhodou obligátně homofermentativních BMK je, že většinou nejsou schopny využívat pentosy, např. xylosu.

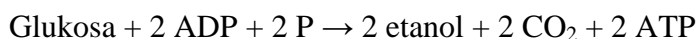
**Fakultativně heterofermentativní BMK** jako *Lactobacillus plantarum* a *L. casei* patří mezi nejvíce žádané a nejdůležitější bakterie siláže, proto se rovněž používají jako silážní inokulanty. Poněkud menší význam (např. vzhledem k menší acidorezistenci) mají další fakultativně heterofermentativní BMK, jako je *Pediococcus acidilactici* a *P. pentosaceus*. Fakultativně heterofermentativní BMK fermentují hexosy (glukosa, fruktosa) stejně jako homofermentativní mléčné bakterie, ale pentosy (xylosa, arabinosa) na laktát, acetát a někdy i etanol (Kandler a Weiss, 1986).

Poslední skupinou mléčných bakterií jsou **obligátně heterofermentativní BMK** jako je *Lactobacillus brevis*, *L. buchneri* a *Leuconostoc mesenteroides*. Tyto bakterie tvoří kromě kyseliny mléčné i další metabolity podle rovnic (Wilkinson, 2005):



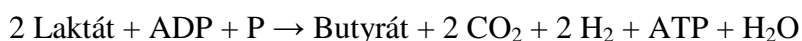
Heterofermentativní mléčné bakterie jsou v siláži méně žádané, vzhledem k menší produkci kyselin. V poslední době je ale zdůrazňován pozitivní vliv kyseliny octové na aerobní stabilitu siláže, a proto je např. *L. buchneri* také používán jako silážní inokulant (Kung et al., 2007).

**Kvasinky** jsou eukaryotní, fakultativně anaerobní mikroorganismy. V siláži se vyskytují především rody *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* a *Torulopsis* (Jonsson a Pahlow, 1984; Middelhoven a Baalen, 1988). Za anaerobních podmínek provádějí alkoholové kvašení podle rovnice (Wilkinson, 2005):



Alkoholové kvašení není pro silážování vhodné, protože nevzniká žádná kyselina a navíc dochází ke ztrátám uhlíku, navíc některé acidotolerantní kvasinky jako jsou kandidy mohou sekundárně fermentovat i kyselinu mléčnou. Po otevření sila kvasinky oxidují kyselinu mléčnou na vodu a oxid uhličitý a tak v důsledku stoupajícího pH připravují půdu pro kažení siláže dalšími mikroorganismy (Driehuis a Elferink, 2000).

**Klostridie** jsou sice v siláži považovány za nežádoucí, ale jsou prakticky vždy přítomné, účastní se v různé míře anaerobních pochodů, a proto je nutno je považovat za přirozenou mikroflóru. Protože však jejich extrémní výskyt znamená vadu až znehodnocení siláže a výskyt některých zvláště patogenních druhů (*Clostridium botulinum*) je spíše vzácný, je o tomto rodu také dále pojednáno ve zvláštní kapitole. Klostridie jsou téměř univerzálními obyvateli různých anaerobních prostředí jako je dno stojatých vod, kvašení odpadků na skládkách, zamokřené půdy, trávicí trakt zvířat a člověka, chlévská mrva, vyhnívací komory čistíren odpadních vod a také v různé míře siláž. Příčinou širokého rozšíření je široká škála metabolických aktivit klostridií (amylolytická, celulólytická, proteolytická, lipolytická a další) a také fakt, že rod *Clostridium* je rozmanitý, zahrnující mnoho desítek druhů (Cato et al., 1986). V siláži jsou hlavními druhy *Clostridium tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. sporogenes* a *C. bifermentans* (Driehuis a Elferink, 2000). V siláži se klostridie uplatňují zejména při sekundárním kvašení, když nedojde k rychlé tvorbě kyselin pH (pH > 4,6), kde jako substrát používají kyselinu mléčnou podle následující rovnice (Wilkinson, 2005):



Tato činnost je z hlediska kvality siláže vesměs negativní, protože dochází ke ztrátě uhlíku a ze dvou molekul poměrně silné kyseliny mléčné, vzniká jedna molekula slabší kyseliny máselné. Kromě této činnosti jsou klostridie schopné rozkládat také jednoduché cukry a polysacharidy. Metabolity jsou nejčastěji kyselina máselná, kyselina octová, CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub> (Cato et al., 1986). Méně často se v siláži a kyselém zelí může vyskytnout i druh *C. acetobutylicum*, který kromě plynů a kyselin produkuje i značné množství alkoholů (butanol, etanol) a hlavně rozpouštědel (aceton, acetoin), výrobek může potom páchnout po acetonu (Cato et al., 1986; Kaprálek, 1986). Pokud v siláži převládají druhy *C. tyrobutyricum* a *C. butyricum*, je metabolizována hlavně kyselina mléčná a sacharidy, pokud se pomnoží *C. sporogenes* a *C. bifermentans*, dojde také k silné proteolýze, hromadí se amoniak a dojde k tvorbě biogenních aminů (Driehuis a Elferink, 2000).

**Ostatní mikroorganismy**, které se v různé míře vyskytují v siláži, jsou octové bakterie, plísně, bacily a listerie. Všechny tyto mikroorganismy vesměs do anaerobních pochodů v siláži nezasahují, jsou to typičtí aerobové a v siláži se pomnožují v případě, že není dostatečně utěsněna, nebo po jejím otevření. Růst je většinou omezen na povrchovou vrstvu (10-20 cm), přičemž často může dojít k tvorbě toxických látek (Driehuis a Elferink, 2000).

### 3.3. Silážní přísady

Do silážované suroviny je za určitých okolností vhodné vložit specifické přísady, které se v podstatě snaží vyrovnat chybějící faktory pro silážování (BMK, zkvasitelné cukry), nebo se snaží zabránit zkažení siláže (konzervační látky). I když siláž z kukuřice v mléčně voskové zralosti prakticky nepotřebuje žádné doplňky, i takovýto materiál může za určitých okolností podlehnout sekundárnímu kvašení. Např. během prudkého ochlazení (Wilkinson, 2005). Jako silážní přísady se používají (Spoelstra, 1991):

- **Aditiva redukující kvašení siláže** (kyselina propionová, octová, mravenčí a sorbová, allicin)
- **Aditiva zvyšující obsah dusíku** (močovina)
- **Aditiva zvyšující obsah zkvasitelných cukrů** (melasa, hydrolytické enzymy)
- **Aditiva BMK** (*Lactobacillus plantarum*, *L. buchneri*, *Enterococcus faecium*, ostatní BMK)

Jak bylo výše uvedeno, nejsou silážní přídavky absolutně nezbytné. Rozsah použití těchto preparátů se mění od země k zemi, přičemž závisí na různých silážních technologiích, zeměpisných a klimatických podmínkách, ekonomické situaci a také tradici. Např. podle Wilkins et al. (1996) byl rozsah použití silážních aditiv ve Finsku 100%, ve Velké Británii 25-65% a pouze 10% v Nizozemí.

### 3.4. Hodnocení siláže

Zcela jistě nejlepším znakem kvalitní siláže je následná efektivní produkce mléka a dobré přírůstky živé váhy krmených zvířat. Protože však produkční užitkovost hospodářských zvířat je výsledkem mnoha dalších faktorů, je třeba kvalitu siláže hodnotit pomocí buď

organoleptických, nebo lépe rutinních laboratorních testů. Podle Wilkinson (2005) mezi doporučené laboratorní analýzy patří:

- **Stanovení sušiny** – kde platí, že nižší obsah vede častěji k sekundárnímu kvašení, zatímco příliš vysoký obsah sušiny bývá spojován k náchylnosti k plesnivění.
- **pH** – obecně dobře fermentovaná siláž má pH okolo 4. Obecně u dobře konzervované siláže platí, že čím vyšší sušina, tím vyšší pH.
- **Stanovení kyselin a alkoholu** – hlavní je vysoký obsah laktátu, vysoký obsah etanolu má za následek horší aerobní stabilitu.
- **Stanovení stravitelnosti a energetické hodnoty** – stravitelnost lze odvodit ze stanovení ligninu a vlákniny. Energetickou hodnotu vyjadřujeme jako metabolizovatelnou energii (ME). Obecně jsou hodnoty ME siláže nižší než u obilovin, ale vyšší než u čerstvé píče a sena.
- **Stanovení proteinů** – používáme hrubý protein (dusík  $\times$  6,25) a dále různé formy stravitelného dusíku.
- **Organoleptické hodnocení** – subjektivní stanovení barvy, textury, vůně a chuti (viz. tabulka 1 v příloze).

Z dalších postupů je navrhován potencionální příjem siláže (když je siláž použita jako jediné krmivo). Složení ideální siláže uvádí tabulka č. 4.

**Tabulka 4:** Laboratorní analýza ideální siláže (Wilkinson, 2005)

<b>Parametr</b>	<b>Ideální hodnota</b>
Sušina (g/kg)	300 – 350
pH	4,0 – 4,2
Popeloviny (g/kg sušiny)	< 80
Hrubý protein (g/kg sušiny)	150 – 170
Kyselina mléčná (g/kg sušiny)	100 – 150
Kyselina octová (g/kg sušiny)	20 – 30
Kyselina máselná (g/kg sušiny)	0
Etanol (g/kg sušiny)	< 10
ME (MJ/kg sušiny)	> 11
Amonný dusík (g/kg celkového dusíku)	< 50
Aminokyselinový dusík (g/kg celkového rozpustného dusíku)	> 700

## 4. Siláž a zdraví zvířat

Zdravotní rizika pro zvířata spojená se zkrmováním siláže lze shrnout do tří oblastí:

**A) Výskyt nežádoucích mikroorganismů** – z hlediska zdraví zvířat, bezpečnosti potravního řetězce a z hlediska technologie výroby potravin živočišného původu.

**B) Nežádoucí chemické látky** – jsou hlavně mykotoxiny, dále bakteriální toxiny a také jedovaté látky rostlinného původu.

**C) Faktory způsobující metabolické choroby hospodářských zvířat** – na prvním místě je nadměrná kyselost siláže.

### 4.1. Nežádoucí mikroorganismy v siláži

Mikroorganismy v siláži nežádoucí jsou v širším slova smyslu mikroorganismy patogenní (bakterie, paraziti), mikroorganismy působící sekundární kvašení (klostridie, koliformní bakterie), mikroorganismy odpovědné za aerobní kažení (kvasinky, plísně, bacily), producenti toxinů (plísně, bakterie) a organismy působící potíže při zpracování mléka (klostridie). V této kapitole se budeme zabývat hlavně první a poslední skupinou nežádoucích mikroorganismů.

Krmiva pro hospodářská zvířata tj. zelená píče, siláže, senáže, kompletní krmné směsi a krmné doplňky mohou být buď přímo zdrojem rozmanitých infekcí, nebo mohou být v průběhu zrání na poli, sklizně, zpracování, distribuce a skladování kontaminovány mikroorganismy. Mikrobiální nebezpečí v krmivech představují rizika pro zdraví jak zvířat tak člověka. Jednotlivá rizika vyplývající z určitých mikrobiálních nebezpečí se liší svým významem a pravděpodobným výskytem, některá jsou skutečně reálná, jiná menší a další pouze teoretická či zanedbatelná. Největší mikrobiální riziko v krmivech představuje výskyt *Salmonella* spp. a *Campylobacter* spp. (tabulka 5). Tyto bakterie jsou nebezpečné jak pro člověka tak pro zvířata. Zvláště pro salmonely je typický přenos krmivem, kde tyto bakterie mohou i dlouhou dobu přežívat. Fermentované krmivo jako je siláž, která je-li vyrobena kvalitně, obsahuje cca 1,7 % kyseliny mléčné a necelé 1 % kyseliny octové. Taková koncentrace je v podstatě baktericidní pro gramnegativní patogenní bakterie (salmonely) a bakteriostatická i pro klostridie.

**Tabulka 5:** Výskyt patogenních mikroorganismů v krmivech. Podle Hinton (2000).

Kategorie	Krmiva a komponenty krmiv	Sušená nebo fermentovaná píče	Pastva	Krmiva ze zbytků potravin a odpadků
(a) Infekční agens přenosná na člověka z hospodářských zvířat, tj. zoonózy	Spory <i>Bacillus anthracis</i> Priony BSE <sup>a</sup> <i>Salmonella enteritidis</i> Virus pseudomoru drůbeže <sup>b</sup>	<i>Toxoplasma gondii</i>	Spory <i>Bacillus anthracis</i> <i>Mycobacterium</i> spp. Vajíčka tasemnic např. <i>Cysticercus bovis</i>	<i>Trichinella spiralis</i>
(b) Nezoonotické infekční agens nebo jejich produkty (metabolity), které působí onemocnění hospodářských zvířat a lidí		Toxin <i>Clostridium botulinum</i> <i>Listeria monocytogenes</i>		
(c) Infekční agens, které působí epidemie hospodářských zvířat u lidí může způsobit pouze lehká onemocnění nikoliv vážná onemocnění <sup>c</sup>	Virus afrického moru prasat Kulhavka a slintavka Mor prasat			Virus afrického moru prasat Kulhavka a slintavka Mor prasat
(d) Neinfekční agens, které působí nemoci hospodářských zvířat a lidí	Spory a hyfy plísní působící alergická onemocnění	Spory a hyfy plísní působící alergická onemocnění		
(e) Produkty neinfekčních agens, které působí onemocnění hospodářských zvířat a lidí	Mykotoxiny	Mykotoxiny	Mykotoxiny	

<sup>a</sup>Předpokládáno, ale ještě stále ne zcela prokázáno

<sup>b</sup>Virus pseudomoru drůbeže se může přenášet na drůbež přes krmivo a ze zvířat na člověka prostřednictvím aerosolu. Riziko infekce je velmi malé, u člověka může dojít k lehkému zánětu spojivek.

Ayanwale et al., (1980) nenašli žádné kultivovatelné salmonely ve vzorcích kukuřičné siláže, která byla hnojena odpadními vodami a splašky pocházejícími od lidí, přičemž nenašel žádné kultivovatelné salmonely.

Z tohoto pohledu nepatří siláž mezi nejrizikovější krmiva, přesto je třeba věnovat pozornost výskytu *Listeria monocytogenes*, patogenních *Escherichia coli* a možný je i výskyt *Clostridium botulinum*. Z hlediska technologie výroby mléčných výrobků je potom siláž častým vektorem spor *Clostridium butyricum* a *C. tyrobutyricum*, které působí pozdní nadouvání tvrdých a polotvrdých sýrů. Také spory *Bacillus cereus* mohou působit potíže, zejména v pasterovaném mléku (Driehuis a Elferink, 2000; Wilkinson, 2005).

#### 4.1.1. *Listeria monocytogenes*

Bakterie rodu *Listeria* jsou grampozitivní fakultativně anaerobní pravidelné tyčinky. Jsou hojně rozšířené v přírodě, např. v kazícím se ovoci a zelenině, ale také v potravinách živočišného původu (syrové maso a mléko, tavené sýry a sýry vyrobené z nepasterovaného mléka) a lahůdkách (majonézové saláty, zrající sýry). Typovým druhem, je *Listeria monocytogenes*, která může vyvolávat infekční onemocnění jak u lidí, tak u hospodářských zvířat. U člověka jsou vnímaví k infekci zejména imunitně oslabení jedinci, u kterých se může onemocnění projevit až celkovou sepsí, která je doprovázená pomnožením monocytů v krvi (Seeliger a Jones, 1986).

Listérie napadají spíše siláže (senáže) uzavřené v balících, než klasické siláže vyráběné v silážních jámách. Porušením obalů dochází k pronikání kyslíku, což usnadňuje pronikání a množení listérií, které lépe rostou za aerobních podmínek (Fenlon et al., 1989). Listerioza se proto nejvíce vyskytuje u zvířat krměných siláží z balíků. Z tohoto důvodu by neměly být zkrmovány balíky, které mají evidentně porušený obal (trhliny), nebo které jsou deformovány, minimálně je nutné odstranit vrchní vrstvu (Wilkinson, 2005). Listérie, hlavně druh *L. monocytogenes*, jsou univerzálně nežádoucími mikroorganismy v siláži. Jsou totiž původci onemocnění zvířat (Wiedmann et al., 1994; Wilesmith a Gitter, 1986). Navíc existují informace, že listérie jsou prostřednictvím siláží horší kvality zdrojem kontaminace syrového kravského mléka (Sanaa, et al., 1993). Výskyt listérií v syrovém kravském mléce kolísá od 1 do 45 % (Farber et al., 1988; Fenlon a Wilson, 1989; Fernandez-Garayzabal et al., 1987). Ueno et al. (1996) sledovali výskyt *L. monocytogenes* v prostředí mléčných farem, přičemž pozitivní byly tři z pěti sledovaných farem. Jeden sérovar (4b) byl identifikován jako původce klinických příznaků listeriosy, přičemž byl také izolován z rektálních výtěrů zdravých krav, ze slámy a ze zbytků siláže v okolí silážních žlabů.

Růst a přežívání listérií v siláži ovlivňuje kromě stupně anaerobiózy také pH prostředí. V pokusech, kdy *L. monocytogenes* byla přidána do siláže, se její počty rapidně snižovaly, když byly dodrženy striktně anaerobní podmínky a pH bylo nižší než 4,4. Avšak jestliže parciální tlak kyslíku dosáhl 0,5 % (V/V), přežívání listérií bylo prodlouženo až do hodnoty pH 4,2. Ještě vyšší koncentrace kyslíku dále stimulovala růst a přežívání listérií v siláži (Donald et al., 1995).

Akutní klinická listerióza u skotu je spíše sporadické onemocnění (Woo-Sam, 1999), které se projevuje u dospělých zvířat jako encefalitida, nebo meningoencefalitida. Pokud však



onemocnění propukne, je nutná okamžitá antibiotická terapie, tak aby nedošlo k vysoké mortalitě. Méně obvyklou formou listeriosy je mastitida (Blenden et al., 1987).

#### 4.1.2. Klostridie

O účasti klostridií na fermentačních pochodech v siláži bylo pojednáno v předchozí kapitole, zde se zaměříme na výskyt patogenních klostridií v siláži a na kontaminaci mléka sporami klostridií.

Jako patogenní klostridie byl v siláži nalezen druh *Clostridium botulinum*. Tento druh produkuje nebezpečný toxin – botulotoxin, který je snad nejjedovatějším bakteriálním exotoxinem. Naštěstí je *C. botulinum* poměrně málo konkurenceschopné, je poměrně citlivé na snížení vodní aktivity ( $a_w$ ) a nízkému pH. V dobře konzervované siláži proto zpravidla nevyroste. Občas je spojován výskyt botulotoxinu s přítomností kadáverů (ptáci, hlodavci) v siláži (Kehler a Scholz, 1996).

Spory klostridií jsou vážným problémem při výrobě tvrdých a polotvrdých sýrů jako jsou gouda, ementál, výjimečně parmazán. V literatuře se často místo o klostridiích hovoří o bakteriích máselného kvašení (Vissers et al., 2007a), v podstatě jsou však oba termíny totožné. V sýrech působí klostridie zhoršováním chuti (hlavně v důsledku produkce kyseliny máselné) a v důsledku výrazné tvorby plynů (směs  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2$ ) dochází k tzv. pozdnímu duření charakterizovanému bublinkami a trhlinami. Jako hlavní druh je uváděn *C. tyrobutyricum* (Klijn et al., 1995). Pokud nejsou použity konzervační látky, hrozí pozdní duření pokud klostridie přesáhnou koncentraci 10 spor/l pasterizovaného mléka (Stadhouders, 1990). Spory klostridií se do mléka dostávají ze stájového prostředí, jejich počty lze snížit pomocí baktofugace (odstředivou silou) a přídatky inhibičních látek jako jsou nitráty, lysozym a nisin (Stadhouders, 1990; Waes et al., 1990; Delves-Broughton et al., 1996). Experimentálně se zkoušely také laktobacily produkující bakteriociny (Tůma et al., 2006). V Nizozemí bylo nedávno zahrnuto sledování spor klostridií jako parciální podklad pro výkupní cenu mléka. Cílem je produkovat syrové kravské mléko s méně než 1000 spor klostridií/l (Vissers et al., 2007b). Siláž je považována jako hlavní zdroj spor klostridií, které po pozření přežijí pasáž v trávicím traktu a jsou vylučovány ve výkalech. Přenos do mléka se tak nejčastěji děje přes struky kontaminované výkaly (Bergere et al., 1968). Ostatní faktory pro výskyt klostridií v syrovém kravském mléce jako je zlepšování stájové hygieny, kontaminace z půdy a ostatních krmiv se ukázala jako okrajová a nevýznamná (Vissers, 2006). Tradičně se nejvíce spory klostridií vyskytují v anaerobně nestabilních silážích a senážích (travní, vojtěšková)

s vysokou pufrovací aktivitou (Stadhouders a Spoelstra, 1990; Wessbach, 1996). Pro anaerobně nestabilní siláže je charakteristické vyšší pH, vysoký obsah kyseliny máselné a amoniaku. Výskyt spor klostridií v kukuřičné siláži byl dlouhou dobu považován za nízký (Stadhouders a Spoelstra, 1990). V poslední době se ale ukazuje, že klostridie v kukuřičné siláži jsou sice na velmi nízké úrovni, ale dokáží se rozmnožovat po otevření sila, paradoxně v souvislosti s aerobním kažením siláže. Počet spor klostridií v povrchové vrstvě pak přesahuje 5 log CFU/g (Driehuis a Te Giffel, 2005). Vissers et al. (2007c) sledovali výskyt klostridií v travních senážích a kukuřičných silážích v Nizozemí. Kukuřičné siláže byly identifikovány jako hlavní zdroj klostridií, přičemž spory byly nalézány hlavně v povrchové vrstvě (do 50 cm). Autoři uzavírají, že počet spor klostridií stoupá jako následek aerobního kažení, kdy nejprve dojde ke vzrůstu pH, pomnoží se fakultativně anaerobní (kvasinky, koliformní bakterie) a aerobní mikroorganismy (plísně) a následně se opět vytvoří anaerobní prostředí. Důležitá pro rozvoj klostridií je zejména kyselost, kritická hodnota pH je přibližně 4,4, což je minimální pH, které umožňuje růst *Clostridium tyrobutyricum* (Thylin et al., 1995). Přesná mezní hodnota růstu klostridií v siláži také závisí na použité surovině a sušině (viz. Tabulka 4 v příloze). Vissers et al. (2006) doporučují, že siláže s obsahem spor klostridií nad 5 log CFU/g by neměly být krmeny, protože potom nelze zabezpečit méně než 1 sporu v 1 ml syrového kravského mléka. V jiné studii Vissers et al. (2007a) testovali výskyt spor klostridií v syrovém kravském mléce, podestýlce, půdě a v siláži. Opět byla identifikována jasná souvislost pouze mezi koncentrací spor v siláži a v mléce. Farma s nejnižším výskytem (celkem bylo sledováno 24 farem) klostridií v krmené siláži (3,4 log CFU/g), měla také nejnižší výskyt (2,1 log CFU/L) v bazénových vzorcích syrového kravského mléka.

#### **4.1.3. Patogenní *Escherichia coli***

*E. coli* je za normálních okolností běžnou součástí mikroflóry trávicího traktu. Působí jako neškodný komenzál, nebo je dokonce prospěšná tvorbou vitamínu K (Krieg, 1984). Existují však kmeny, které za určitých okolností mohou být patogenní pro zvířata a člověka (Sherris, 1990; Vařejka et al., 1989; Hejlíček a Vrtiak, 1982). U hospodářských zvířat je aktuální výskyt enterohemoragických *E. coli* (EHEC), které se mohou přenést jako zoonóza na člověka. Častý výskyt je zejména u skotu, člověk se infikuje nedostatečně tepelně opracovaným většinou mletým hovězím masem (Murray et al., 1995). EHEC produkují dva odlišné toxiny, které působí proti kulturám tkáňových buněk Vero a HeLa a jsou označovány jako: Shiga-like toxin 1 (verotoxin 1) a Shiga-like toxin 2 (verotoxin 2). Svými účinky

připomínají infekce krvavé průjmy způsobené shigely. Existuje více než 50 různých sérotypů EHEC, ale prakticky všechna lidská onemocnění jsou způsobena sérotypem O157:H7, někdy označovaným též verotoxin-produkující *E. coli* O157:H7, nebo jen VTEC.

Sérotyp O157:H7 je patogenní pro člověka a neškodný pro skot, který je jeho hostitelem.

Podle zprávy EK (Anonym 2) se procento nakažených zvířat pohybuje v rozpětí 1 až 15 %. V Dánsku byly VTEC *E. coli* O157:H7 nalezeny u 5,5 % zvířat. V Belgii bylo pozitivních 1,1 % poražených kusů hovězího dobytka. Velké procento nakažených mléčných krav (14,1 %) bylo nalezeno v Holandsku, stejně jako v Německu (12,2 %). Podobná situace je i v USA (Rasmussen a Casey, 2001). Možným zdrojem infekčního agens může být také vnější prostředí, krmivo pro skot, voda a napáječky (Meyer-Broseta et al., 2001). Kudva et al. (1997) testovali vliv diety, změny diety a hladovění na výskyt *E. coli* O157:H7 u ovcí. Zvířata byla krmena buď dietou s vysokým obsahem vlákniny a nízkým obsahem bílkovin (zelená píce, seno, „grass“ G skupina), nebo krmivem na bázi kukuřice a granulovanou vojtěškou („corn“ C skupina), které bylo bohaté na proteiny a energii. Po jednorázové experimentální infekci byla všechna zvířata kultivačně pozitivní na *E. coli* O157:H7, avšak skupina G měla vyšší koncentraci *E. coli* O157:H7 a navíc tyto bakterie přežívaly dvakrát delší dobu než tomu bylo u skupiny C. Počet kultivačně pozitivních zvířat vzrostl, když došlo ke změně krmiva z C na G a naopak došlo k poklesu po změně z G na C. Výsledky ukazují, že úprava krmné dávky může redukovat riziko zavlečení *E. coli* O157:H7 do potravního řetězce. Další dvě studie (O'Kiely et al., 1999; Reinders et al., 1999) se zabývají přežíváním *E. coli* O157 v senáži a kukuřičné siláži. Jak se ukázalo v obou případech, když byla *E. coli* O157 přidána k píci před silážováním, její počty klesly pod detekovatelnou mez během jednoho týdne. Avšak když byla siláž rekontaminována, přežívala *E. coli* O157 v siláži o pH 4,0-4,6, za semianaerobních podmínek po dobu tří týdnů. Z výsledků plynou obavy, že patogenní *E. coli* mohou přežívat ve špatně konzervovaných silážích a prudce se množit během procesu aerobního kažení. S těmito výsledky souhlasí i další studie (Herriot et al., 1998) při níž se prokázalo, že dojnice krmené kukuřičnou siláží měly signifikantně větší incidenci *E. coli* O157, než dojnice, které siláží krmeny nebyly. Berard et al., (2009) navrhuje zkrmování vičence ligrus (*Onobrychis viciifolia*) jako možného prostředku ke snížení výskytu *E. coli* O157 u skotu. Seno a senáž z vičence měly vliv i na snížení celkového počtu koliformních bakterií ve výkalech pokusných zvířat v porovnání s kontrolními zvířaty, která byla krmena senem a senáží z vojtěšky.

#### 4.1.4. Plísně

Plísně, neboli mikromycety jsou obligátně aerobní, eukaryotní organismy. Růst plísní je proto omezen na povrchovou vrstvu, zejména pokud není siláž dokonale přikryta fóliemi. Mikromycety se také množí během aerobního kažení, hlavní rody jsou *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssosclama*, *Absidia*, *Artrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* a *Trichoderma* (McDonald et al., 1991; Nout et al., 1993; Pelhate, 1977). Kromě plísní, které se rozvíjejí až v průběhu výroby a skladování, je třeba počítat s tzv. „polními houbami“, které se rozvíjejí na povrchu rostlin během růstu, některé pronikají i do rostlinných pletiv a jsou fyziologicky odlišné od „silážních hub“. K polním houbám náležejí rody *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* a *Claviceps* (Scudamore a Livesey, 1998). Plísně metabolizují cukry a kyselinu mléčnou za tvorby oxidu uhličitého a vody, působí tak v siláži ztrátu živin, ale také zhoršují její chuť a v neposlední řadě jsou producenty mykotoxinů (Driehuis a Elfering, 2000).

#### 4.1.5. Ostatní patogenní a nežádoucí mikroorganismy v siláži

V syrovém kravském mléce se často vyskytují spory *Bacillus cereus*. Tyto bakterie snadno ve formě spor přežívají pasterizaci a psychrofilní kmeny mohou vytvářet nebezpečné toxiny. Vissers et al (2007d) testovali přítomnost spor ve stájovém prostředí. Spory *Bacillus cereus* byly nalezeny také v siláži, ale v koncentraci (2,4 log CFU/g) daleko nižší, než v půdě (4,9 logCFU/g). Siláž proto není hlavním zdrojem těchto bakterií.

V siláži se také v průběhu aerobního kažení pomnožují **octové bakterie**. Jsou to obligátně aerobní, acidotolerantní bakterie zastoupené hlavně rodem *Acetobacter*. V siláži se podílejí na iniciaci aerobního kažení, ale pouze jako minoritní mikroorganismy (Spoelstra et al., 1988).

Kromě patogenních bakterií je v siláži dokumentován také výskyt **kokcidií**, hlavně kryptosporidií. Dijkstra et al. (2002) sledovali stáda skotu, která jevila znaky postnatální infekce *Neospora caninum*. Jak bylo demonstrováno, docházelo zde ke kyvadlovému přenosu kokcidií mezi psy a hovězím dobytkem. K přenosu přispíval vzájemný kontakt, kdy psi měli možnost pojídat placenty, nebo zmetané plody a naopak psi defekovaly do siláže. V kontrolních stádech bez příznaků kokcidiosy k podobným praktikám docházelo buď zřídka, nebo vůbec. Sledování proběhlo na celkem 41 farmách v Nizozemí. K jinému přenosu kryptosporidií, tentokrát ze skotu na člověka došlo ve Velké Británii (Shield, 1990).

Nakazilo se několik školních dětí ve stáří 7-8 let, které při exkurzi na farmě ochutnaly jadrná krmiva a siláž určenou pro skot. Merry et al., (1997) testovali přežívání oocyst *Cryptosporidium parvum* v siláži. Ve třech různých variantách siláže (bez přídavku, s kyselinou mravenčí, inokulace *Lactobacillus plantarum*) přežívaly oocysty podobným způsobem, přičemž po 14 dnech silážování zůstalo životaschopných 32-46 procent. I když rozdíly mezi skupinami nebyly statisticky významné, je zajímavé, že nejméně oocyst přežilo v neošetřené siláži, nejvíce potom v siláži s kyselinou mravenčí.

## **4.2.Toxické látky v siláži**

Nejčastěji bývají v siláži testovány a nalézány mykotoxiny. Existují také údaje o přítomnosti bakteriálních toxinů, rostlinných jedů a dalších látek.

### **4.2.1.Mykotoxiny**

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity plísní, mohou se vyskytovat v různých krmivech, jako jsou pícniny, siláž a hlavně v různých obilovinách. Mezi hlavní mykotoxiny nalézané v krmivech patří aflatoxin B1 (produkovaný *Aspergillus flavus*), citrinin (*Penicillium citrinum*, *P. viridicatum*), fumonisin (*Fusarium* spp.), ochratoxin (*Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum*) a *Fusarium* spp. produkovaný vomitoxin (Meronuck a Cincibido, 1996).

Obiloviny a zelenina sklízená ke krmným účelům vždy obsahuje spory toxikogenních plísní. Naštěstí nízká vodní aktivita zabraňuje růstu plísní. Růst plísní může být redukován také přídavky organických kyselin, hlavně k. propionové (Lacey, 1989). Pro eliminaci již vytvořených mykotoxinů v krmivech neexistuje spolehlivý postup. Určité výsledky mělo ošetření amoniakem spolu se zahřátím pod tlakem (Park a Laing, 1993). Obsah aflatoxinů přijatých zvířaty s krmivem lze snížit pomocí přídavků sorbentů jako je aktivované uhlí, aluminosilikáty a esterifikovaný glukomanan (Ramos et al., 1996). Velmi kontaminované krmivo by v žádném případě nemělo být podáváno zvířatům, kontaminované obiloviny však lze využít pro produkci etanolu (Hinton, 2000). Lidem hrozí pravděpodobně největší riziko otrav mykotoxiny z přímé konzumace kontaminovaných obilovin, luštěnin a zeleniny. Z potravin živočišného původu je riziko pravděpodobně menší, i když mykotoxiny byly nalezeny v mase, mléku, vejcích a také ve zpracovaných surovinách např. v párcích (Park a Laing, 1993; Luskey et al., 1995).

#### 4.2.2.1. Mykotoxiny v siláži

V siláži jsou hlavními producenty mykotoxinů plísně rodů *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium roqueforti* a *Byssochlamys nivea* (Auerbach et al., 1998; Nout et al., 1993). Produkce mykotoxinů v siláži je složitý proces ovlivňovaný mnoha faktory. V siláži ještě více než v ostatních krmivech a potravinách platí, že výskyt produkčního organismu neznamena automaticky přítomnost příslušného mykotoxinu. Výskyt mykotoxinů v silážích a senážích je tak velmi variabilní (Nout et al., 1993). Toxiny plísní jsou sekundární metabolity, a proto jejich produkce je obvykle vázána na stresové podmínky, jako jsou hlavně chladové šoky a nedostatek kyslíku, případně nedostatek živin (v siláži však málo pravděpodobný). Proto je častým producentem mykotoxinů v siláži *Penicillium roqueforti*, což je plíseň relativně odolná vůči nižší koncentraci kyslíku. K rozvoji plísní dochází hlavně po otevření sila, na siláži jsou někdy patrné tmavší oblasti (připomínající tabák) někdy až povrchová vrstva téměř zčerná. Nejpříznivější podmínky pro tvorbu mykotoxinů je chladné počasí po otevření sila, během období zkrmování. Náchylnější jsou zejména suché siláže a senáže (Wilkinson, 2005). Menší množství mykotoxinů, je obtížně zjistitelné, siláž nemusí být viditelně zaplesnivělá, některé mykotoxiny (např. fusariové toxiny) se mohou vytvořit již na poli a menší přijaté dávky nemají jednotnou klinickou manifestaci. Zdravotní problémy u zvířat zahrnují drobné střevní obtíže, menší reprodukční poruchy, snížení imunity, vysoké dávky se projeví vážným poškozením ledvin a jater (Scudamore a Livesey, 1998).

**Aflatoxin B1 (AB1)** může být často přítomen v jaderných krmných směsích, ale i v siláži, zejména kukuřičné (Scudamore a Livesey, 1998; Garon et al., 2006). Po pozření je AFB1 metabolizován v těle dojnice a v mléku vylučován jako stejně toxický aflatoxin M1 (AFM1). Příпустné koncentrace AB1 jsou uvedeny v tabulce 6. AFB1 je první mykotoxin, který byl rutinně sledován jak v krmivech, tak v potravinách, příčinou je jeho velmi vysoká toxicita. Na druhé straně, výskyt tohoto toxinu není tak velký (a pravidelný) jako je tomu např. u fusariových toxinů. Výskyt AFB1 také klesá se stoupajícími znalostmi prevence. Zatímco při objevení AFB1, kdy následkem akutní otravy uhynulo v Anglii v 60. letech minulého století 100 000 krutích brojlerů po zkrmování kontaminované moučky z podzemnice olejné (Jay, 1997) a dávka toxinů musela být extrémně vysoká, dnes jsou nalézány hodnoty na hranici povoleného množství. Dutton a Westlake (1985) sledovali množství aflatoxinů v 800 vzorcích jaderných krmiv, sena a siláže. Zatímco AFB1 byl nalezen v 27 %, *Aspergillus flavus* se podařilo kultivovat jen ve 22 % vzorcích. Na druhé straně (González-Pereyra et al., 2007) našli *Aspergillus flavus* v 90 % vzorků siláží, ale jen 17 %

z nich obsahovalo AFB1 jehož hodnoty kolísaly v rozmezí od 1,43 do 155,78 µg/kg. Naproti tomu Reyes-Velázquez et al. (2008) našli aflatoxiny ve 100 % z 36 testovaných vzorků kukuřičné siláže. Nutno však poznamenat, že v tomto případě byla sledována suma aflatoxinů a všechny hodnoty byly nižší než limity FDA (100 ppb). Množství aflatoxinů v siláži kolísá v závislosti na mnoha faktorech (Prandini et al., 2009): doba sklizně, hnojení, zavlažování, kontrole plevelů, vlhkosti a způsobu skladování. Podle autorů, kukuřičná siláž o nižší vlhkosti bývá více kontaminována aspergily. Obsah AFM1 jako důsledek přítomnosti AFB1 v krmivu bývá v současné době nízký. Boudra et al., našli AFM1 jen ve 3 z 264 testovaných vzorků mléka, přičemž zjištěné hodnoty (26 a méně ng/L) byly pod limitem EU (50 ng/L).

**Tabulka 6:** maximální přípustné koncentrace aflatoxinu B1 v krmivech. Podle (Anonym 3).

Typ krmiva	Maximální obsah v mg/kg (ppm) krmiva o vlhkosti 12 %
Všechny krmné suroviny	0,02
Kompletní krmiva pro skot, ovce a kozy s výjimkou:	0,02
- kompletních krmiv pro zvířata chovaná pro mléko	0,005
- kompletních krmiv pro telata a jehňata	0,01
Kompletní krmiva pro selata a drůbež (kromě mladých zvířat)	0,02
Ostatní kompletní krmiva	0,01
Doplňková krmiva pro skot ovce a kozy (kromě doplňkových krmiv pro zvířata chovaná pro mléko, telata a jehňata)	0,02
Ostatní doplňková krmiva	0,005

Význam a výskyt ostatních mykotoxinů v siláži je podstatně méně prozkoumán. V silážích a senážích bývají často nalézány **deoxynivalenol, zearalenon, ochratoxin A a fumonisiny** (Reyes-Velázquez, 2008; Miller, 2008; Driehuis a Elferink, 2000; Gonzáles-Pereyra, et al., 2007). Je známo, že transfer deoxynivalenolu, ochratoxinu A a zearalenolu do mléka je malý až nulový. U ostatních mykotoxinů však informace chybí (Driehuis a Elferink, 2000). Práce Gonzáles-Pereyra et al. (2007) dává částečnou odpověď na otázku, do jaké míry se mykotoxiny do siláže dostávají se surovinou. Z tabulky č. 7 je patrné, že množství koncentrace mykotoxinů v siláži mírně stoupá, přičemž u všech sledovaných látek

(Zearalenon, Deoxynivalenol, Fumonisin) nebyly překročeny doporučené limity (viz. Tabulka 3 v příloze).

**Tabulka 7:** Výskyt mykotoxinů v siláži před a po fermentaci (González-Pereyra et al., 2007)

Vzorek siláže	Zearalenon	Deoxynivalenol	Fumonisin B1
Před silážováním	18 ± 7 <sup>a</sup>	150 ± 60 <sup>a</sup>	600 ± 440 <sup>a</sup>
Po silážování	50 ± 60 <sup>a</sup>	276 ± 130 <sup>b</sup>	1100 ± 500 <sup>b</sup>

Výsledky jsou uvedeny v ng/g siláže. Hodnoty ve sloupcích s různými indexy se statisticky významně liší (P<0,05).

Podle výsledků zjištěných ve Výzkumném ústavu pícninářském (Troubsko) a Státním veterinárním ústavu v Jihlavě, jsou v ČR hladiny mykotoxinů v silážích a senážích bezpečné, výjimkou je mírné překročení zearalenonu v kukuřičné siláži (Tabulka 8).

**Tabulka 8:** Průměrná koncentrace mykotoxinů (ppm) v silážích v ČR v letech 2002-2003 (65 vzorků; Anonym 5)

	Vojtěšková siláž	Kukuřičná siláž	Jetelotravní siláž
Aflatoxin B1	0,0035	0,0014	0,0028
T2 – toxin	0,176	0,260	0,242
Fumonisin B1	0,050	1,870	0,470
Deoxynivalenol	0,500	0,960	0,630
Zearalenon	0,577	1,377	0,179
% pozitivních vzorků	100	96	100

#### 4.2.2. Ostatní toxické látky v siláži

V siláži se mohou vyskytnout **bakteriální toxiny** jako je botulotoxin, který je snad častější v silážích pro koně (Wilkinson, 2005), celkově je však i v tomto případě reálné nebezpečí malé. Stejně tak malé je riziko přítomnosti enterotoxinů produkovaných patogenními *E. coli* (Wilkinson, 2005). Na druhé straně je v siláži údajně často nalézáno poměrně velké množství endotoxinu produkovaného gramnegativními bakteriemi rodů *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Escherichia* a *Enterobacter*. Reálné zdravotní riziko v tomto případě hrozí spíše než zvířatům, lidem pracujícím v živočišné výrobě v podobě tzv. „nemoci farmářských plic“ (Dutkiewicz et al., 1989).



V siláži se také nutně v různé míře vyskytují **toxické látky rostlinného původu**. Do siláží a senází se může celkem snadno dostat komonice bílá (*Melilotus alba*) a komonice lékařská (*Melilotus officinalis*), které jsou celosvětově rozšířené rostliny. Rostliny jsou vzhledem podobné vojtěšce a občas se využívají i jako pícniny (Yamini et al., 1995). Nadměrné zkrmování vede k toxikóze známé jako „Moldy sweet clover toxicosis“ (Osweiler a Lawrence, 1981). Obě rostliny obsahují **kumarin**, který se v siláži, ale i v nedostatečně usušeném a špatně skladovaném seně přemění na 4-hydroxykumarin, který následně kondenzuje na dikumarol, látky s protisrážlivými účinky (antivitamin K). Uvedenou reakci uskutečňují zejména plísňe rodů *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* a *Mucor* (Edwards et al., 1984). Příznaky této toxikózy jsou poruchy srážlivosti krve, klinickými projevy jsou spontánní tvorba hematomů, slabost, tachykardie a krvácivost. Zvířata mohou zemřít i bez zjevných příčin, citlivější je skot, ovce jsou odolnější (Sheel, 1978). K projevům onemocnění dojde až po několikátýdenním zkrmování (Benson ME et al., 1981). Jako prevence se doporučuje pravidelně (cca po 10 dnech) zařazovat do krmné dávky vojtěšku (Yamini et al., 1995). V Indii se údajně do siláží dostávají semena *Parthenium hysterophorus*, rostliny z čeledi hvězdnicovitých, které obsahují jedovatý **parthenin**. Narasimhan et al. (1993), detekovaly tento toxin i po 5 týdnech silážování, které však zabránilo vyklíčení semen a k akutní toxikóze tak podle autorů v dobře připravené siláži nedochází. Proces silážování přežívají také **fytoestrogeny**, které se vyskytují v jetelovinách, hlavně v jeteli lučním (*Trifolium pratense*). Tyto látky mohou ovlivnit reprodukční schopnosti u samců, proto nejsou jetelové senáže vhodné ve velkém zkrmovat hřebcům (Wilkinson, 2005). U skotu fytoestrogeny přecházejí do mléka, přičemž jsou zde spíše žádoucí (Steinshamn et al., 2008). U lidí mohou totiž tyto látky působit jako prevence kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny prsu a prostaty, osteoporózy a symptomů menopauzy (Adlercreutz et al., 1991; Cornwell et al., 2004). Dalšími látkami, které přežívají silážování jsou rostlinné **alkaloidy**. Nebezpečím pro koně jsou pyrolizidinové alkaloidy obsažené ve starčeku (*Senecio jacobea* a *Senecio vulgaris*), které mohou vyvolat poruchy jaterních funkcí (Wilkinson, 2005). Tyto otravy jsou většinou chronické, protože zvířata málokdy pozřou najednou velké množství jedovaté rostliny. Častěji než siláží se zvířata nakazí na pastvě, většinou více na začátku sezony, kdy zvířata nejsou na pastvu ještě zvyklá. Ve stájových podmínkách opět spíše než siláží (senází) se zvířata mohou intoxikovat při podávání čerstvé řezané, smíšené a zchutněné píce, ve které mají zvířata sníženou schopnost jedovaté rostliny rozpoznat. Na druhé straně v senážích a silážích si řada rostlin svou jedovatost ponechává (Piskač, 1985).

Ke kuriózní intoxikaci předávkováním **vitamínem A** došlo u prasat při zkrmování vysokých dávek (40-50 %) siláže z ryb (Coates et al., 1998).

Konečně, výskyt **radioizotopů césia** v zeleném krmení, siláži a následně kravském mléku popisují Belli et al. (1989) jako následek katastrofy v Černobylu.

### 4.3. Faktory působící metabolické choroby hospodářských zvířat

Siláž je bohatým zdrojem mikrobiálních metabolitů, které jsou buď zpracovávány bachorovými mikroorganismy, nebo jsou rumenohepatálním oběhem vstřebány do krve. V obou případech může být porušena homeostáza vnitřního prostředí, dochází tak k **metabolickým chorobám**. Mezi mikrobiálními metabolity v siláži za normálních podmínek převažují organické kyseliny, hlavně mléčná, octová a máselná.

Vysoký obsah kyseliny mléčné v siláži může mít za následek metabolickou **acidózu**. Optimální pH bachoru se pohybuje v rozmezí 6,2-7,0 a koncentrace kyseliny mléčné je od 2 do 5 mmol/l (Ilek, 2004). Při acidóze vlivem kyseliny mléčné klesá pH v bachoru, což má za následek zpomalení činnosti bakterií rozkládajících vlákninu, dochází k snížení příjmu krmiva a k poklesu užitkovosti. Nedostatečné trávení také snižuje produkci mléčného tuku (Henderson, 2004). Tolerované pH siláži a senáží je 3,5-5,5 (viz. Tabulka 1 v příloze), což je velmi široké rozmezí. Protože kyselost (pH) se vyjadřuje jako záporný logaritmus koncentrace vodíkových iontů, znamená to, že při pH=3,5 je koncentrace kyselin 10× vyšší než při pH=4,5 a dokonce 100× vyšší než při pH=5,5. Příliš kyselá siláže proto obsahují vysoká kvanta kyseliny mléčné, kterou nestačí metabolizovat bachorové bakterie a dochází k acidóze (Wilkinson, 2005). Nejčastěji však dochází k acidóze následkem zkrmování velkého množství jadrných krmiv, jehož následkem se v bachoru pomnoží amylolytické BMK (*Streptococcus bovis*), konzumace příliš kyselá siláže je méně častou příčinou (Krajcarski-Hunt, et al., 2002). Akutní acidóza, která se projeví klinickými příznaky, není tak častá jako subakutní acidóza, která se projeví snížením užitkovosti. Tuto druhou, mírnější formu onemocnění lze údajně monitorovat pomocí měření bachorové teploty. AlZahal et al. (2008) zjistili, že dojnice se subakutní acidózou měly bachorové pH pod 5,6 a současně teplotu v bachoru vyšší než 39,2°C.

Další metabolickou chorobou, která může mít vztah k siláži je **ketóza**. Toto onemocnění vzniká z nedostatku energie v krmné dávce a při zúženém poměru živin. Ketóza nejčastěji vzniká u vysokoprodukčních dojnic, u kterých je těžké pokrýt energetickou potřebu krmnou dávkou a může také vznikat z hladu. V obou případech se organismus snaží získávat

energii pomocí odbourávání tuků a bílkovin, což je provázeno tvorbou ketolátek a dalších toxických metabolitů (Jagoš et al., 1985). První zmínku o možném vlivu siláže při vzniku ketózy uvádí Adler (1956). Podobně Belyea et al., (1975) zjistili, že dojnice krmené kukuřičnou siláží trpěli více ketózou, než dojnice krmené senem. Jak ukázaly další výzkumy, nejvíce náchylné jsou dojnice bezprostředně po porodu, které jsou krmeny siláží s vysokým obsahem kyseliny máselné. Onemocnění většinou probíhá v subklinické formě, k odhalení je možno měřit obsah acetonu v mléce (Anderson, 1988). Podobný účinek jako siláž s kyselinou máselnou mělo zkrmování syrovátky s vysokým obsahem laktózy. Mléčný cukr se totiž v bachoru činností mikroorganismů metabolizuje na kyselinu máselnou opět s možným (i když malým) rizikem vzniku ketózy (DeFrain et al., 2004).

V siláži jsou také přítomny **alkoholy**. Kristensen et al. (2007) našli v krmné dávce (s obsahem 54 % kukuřičné siláže a 11,4 % travní senáže) následující množství alkoholů a jejich esterů (v g/ks sušiny): etanol (14,2), propanol (3,4), etylacetát (0,76) a propyl acetát (0,15). Uvedené hodnoty, které autoři považují za normální, nezatěžovaly játra, ale můžou ovlivnit bachorový metabolismus snížením produkce butyrátu a propionátu.

Zkrmování siláže (oproti pastvě) má také za následek nižší hladinu **konjugované kyseliny linolové** v mléčném tuku (Coakley et al., 2007).

Konečně Mouchili et al. (2004) tvrdí, že siláž v balících, pokud byla použita jako hlavní krmivo, měla negativní vliv na chuťové vlastnosti mléka.

#### 4.4. Siláž jako zdroj probiotických bakterií

Siláž je přirozeným zdrojem BMK, z nichž řada může mít kromě technologických vlastností pro výrobu (konzervační vlastnosti) také příznivé účinky na zdravotní stav hospodářských zvířat, čímž naplňují definici probiotických bakterií. V širším slova smyslu jsou za probiotické bakterie někdy považovány i silážní inokulanty, kde se klasicky používají homofermentativní BMK (hlavním cílem je rychlé a důkladné primární kvašení – produkce kyseliny mléčné), v poslední době se stále více používají také heterofermentativní BMK, které kromě kyseliny mléčné produkují také kyselinu octovou, která zvyšuje aerobní stabilitu siláže. Jako homofermentativní BMK se používají hlavně *L. plantarum*, *E. faecium*, jako heterofermentativní BMK hlavně *L. buchneri* a *L. fermentum* (Weinberg et al., 2004; Jalc et al., 2009a; 2009b). Celkový přehled používaných silážních inokulantů viz. tabulka 2 (v příloze). Hlavním cílem použití inokulantů je však konzervační činnost – produkce organických kyselin, zatímco pravé probiotické bakterie by měly být aktivní i v bachoru

a/nebo v dalších částech trávicího traktu. Nicméně u inokulantů byly prokázány další pozitivní účinky na zdraví zvířat. Hernandez-Mendoza et al., (2009) izolovali kmeny *Lactobacillus casei* ze sýra, lidské stolice, fermentovaných nápojů a také z kukuřičné siláže. Všechny kmeny byly schopny v podmínkách *in vitro* vázat aflatoxin B1. Tato schopnost byla ještě zvýšena po působení žluče, což dává určitou naději na probiotický účinek *in vivo*. Broberg et al. (2007) zase analyzovali téměř dvacet metabolitů laktobacilů izolovaných ze siláže a zjistili, že 3-fenylmléčná a 3-hydroxykaprinová kyselina mají antifugální aktivitu. Gollop et al. (2005) uvádějí, že siláže s přísadou inokulantů měly oproti kontrolním silážím vyšší antibakteriální aktivitu proti *Pseudomonas aeruginosa* a *Micrococcus luteus*. Nutno však podotknout, že se nejedná o hlavní bakterie kazící siláž, zajímavější by byl inhibiční účinek např. proti *C. tyrobutyricum*.

O přežívání a aktivitě silážních bakterií v trávicím traktu je velmi málo poznatků. Laktobacily a ostatní mléčné bakterie jsou sice pravidelně přítomny v batoru, ale jedná se o jiné druhy, než které se podílejí na silážování (Kandler a Weiss, 1986). Weinberg et al. (2003, 2004) testovali schopnost BMK, vesměs silážních inokulantů, přežít v batorové tekutině. BMK byly schopny v batorové tekutině přežít, což autoři považují za první krok ke studiu probiotického potenciálu BMK pro přežvýkavce. Na druhé straně některé práce poukazují na pozitivní účinek silážních inokulantů na zdraví a užitkovost zvířat (Keady a Steen, 1994, 1995). Tyto práce však nejsou podpořeny mikrobiologickými rozbory, a proto nelze přesvědčivě určit případný mechanismus účinku. Navíc výsledků je málo a nejsou jednoznačné, např. Sanderson (1993) nenašel žádný vliv inokulantů na stravitelnost vlákniny. Možné probiotické účinky silážních mikroorganismů je tedy třeba dále studovat.

## 5. Souhrn

Siláž je jako krmivo pro hospodářská zvířata připravována na celém světě více než 3000 let. Pro přežvýkavce je siláž hlavní složkou krmné dávky v zimních měsících. Produkce siláže a senáže v zemích Evropské unie vytrvale, i když mírně, stoupá. Zdravotní rizika pro zvířata spojená se zkrmováním siláže lze shrnout do tří oblastí: 1) Výskyt nežádoucích mikroorganismů; 2) Nežádoucí chemické látky; 3) Nadměrná kyselost.

Mezi nežádoucí mikroorganismy v siláži jsou nejčastěji uváděny klostridie, enterobakterie a mikromycety. Potenciálním problémem je také *Listeria monocytogenes*, zejména proto, že může působit onemocnění jak zvířat, tak člověka. Anaerobní sporulující tyčinky rodu *Clostridium* se prostřednictvím siláže mohou také dostat do mléka a působit tak

potíže při výrobě tvrdých sýrů. Na druhé straně je siláž přirozeným zdrojem bakterií mléčného kvašení, a proto je považována jako možný zdroj prospěšných, probiotických bakterií, např. *Lactobacillus plantarum*, pro hospodářská zvířata.

Z chemických látek jsou uváděny nejčastěji mykotoxiny. V literatuře je uváděn výskyt deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu, fumonisinů a dalších. V kukuřičné siláži je reálný i výskyt aflatoxinů. Nebezpečné je, že mykotoxiny, fytoestrogeny a rostlinné alkaloidy často vydrží beze změn proces silážování a představují tak riziko pro zdraví zvířat. Zmiňovány bývají také bakteriální toxiny produkované *Escherichia coli* a *Clostridium botulinum*.

Relativně nejméně informací je o metabolických poruchách způsobených nevhodným zastoupením kyselin v siláži. Obecně platí, že příliš kyselá siláž (pH ~ 3,5) může způsobit acidosu dojnic. Vysoký obsah kyseliny máselné zase zvyšuje riziko subklinické ketosy. Je třeba sledovat také možný vliv alkoholů (etanol, propanol) ze siláže na bachorový metabolismus.

## 6. Summary

Silage as an animal feed is made over 3000 year around the world. For ruminants, silage is the major part of feed during the winter time. The production of silage is permanently growing in the EU. Hazard to animals health associated with silage could be divided into three categories: 1) Presence of undesirable and/or pathogenic microorganisms; 2) Presence of undesirable chemical compounds; 3) excess acidity and presence of undesirable microbial metabolites.

Clostridia are most frequently presented undesirable bacteria, being harmful for the milk and cheese production. *Listeria monocytogenes* in aerobically spoiled silage form a serious risk to animal and human health. Pathogenic *E. coli* can also be presented. On the other hand, the silage is a source of potentially probiotic lactic acid bacteria (e.g. *Lactobacillus plantarum*).

Undesirable chemicals in silage include mainly mycotoxins like deoxynivalenol, zearalenon, ochratoxin and fumonisins. Also, corn silage sometimes contains aflatoxins. Phytoestrogens and plant alkaloides may survive ensiling process and constitute risk to animal health.

Relatively little is known about the mechanisms of metabolic diseases related to silage. Too acid silage (pH < 3.5) can cause acidosis in dairy cows. High content of butyric

acid in silage can result in subclinical ketosis. Other silage microbial metabolites (ethanol, propanol) should also be investigated.

## 7. Literatura

1. Adler J (1956): Cornell Vet. 46, 446-451.
2. Adlercreutz H, Honjo H, Higashi A, Fotsis T, Hamalainen E, Hasegawa T, Okada H (1991): Am. J. Clin. Nutr. 54, 1093-1100.
3. AlZahal O., Kebreab E, France J, Froetschel M, McBride BW (2008): J. Dairy Sci. 91, 202-207.
4. Andersson L (1988): Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 4, 233-251.
5. Anonym 1: [www.senazovani.cz](http://www.senazovani.cz)
6. Anonym 2: SANCO/29/2004, Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuff, food and man in the European Union and Norway in 2002. An evaluation of the trend reports provided for the years 2002 by the Member States and Norway to the EC in accordance with Article 5 of the Directive 92/117/EEC. Prepared by the Community Reference Laboratory on the Epidemiology of Zoonoses, BfR, Berlin, Germany, 441s.
7. Anonym 3: Vyhláška č. 451/2000 Sb., kterou se provádí zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů.
8. Anonym 4: [www.medipharm.cz](http://www.medipharm.cz)
9. Anonym 5: [www.vupt.cz/dokumenty/nedel\\_06\\_01.pdf](http://www.vupt.cz/dokumenty/nedel_06_01.pdf)
10. Auerbach H, Oldenburg F, Weissbach F (1998): J. Sci. Food AGR. 76, 565-572.
11. Belli M, Drigo A, Menegon S, Menin A, Nezzi P, Sansone U, Toppano M (1989): Sci. Total. Environ. 85, 169-177.
12. Belyea RL, Coppock CE, Lake GB (1975): J. Dairy Sci. 58, 1336-1346.
13. Benson ME, Casper HH, Johnson LJ (1981): Am. J. Vet. Res. 42, 2014-2015.
14. Berard NC, Holley RA, McAllister TA, Ominski KH, Wittemberg KM, Bouchard KS, Bouchard JJ, Krause DO (2009): Appl. Environ. Microbiol. 75, 1074-1079.
15. Bergere JL, Gouet P, Hermier J, Mocquot G (1968): Ann. Inst Pasteur (Paris) 19, 41-54.
16. Blendin DC, Kampelmacher EH, Tores-Anjel MJ (1987): J. Am. Vet. Med. Assoc. 191, 1546-1551.

17. Broberg A, Jacobsson K, Ström K, Schnürer J (2007): *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5547-5552.
18. Cato EP, George WL, Finegold SM (1986): Genus *Clostridium*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Baltimore, USA, s 1141-1200.
19. Coakley M, Barrett E, Murphy JJ, Ross RP, Devery R, Stanton C (2007): *J. Dairy Sci.* 90, 2919-2927.
20. Coates JW, Holbek NE, Beames RM, Puls R, O'Brien WP (1998): *Can. Vet. J.* 39, 167-170.
21. Cornwell T, Cohick W, Raskin I (2004): *Phytochemistry* 65, 995-1016.
22. DeFrain JM, Hippen AR, Kalscheur KF, Schingoethe DJ (2004): *J. Dairy Sci.* 87, 2486-2494.
23. Delves-Broughton J, Blackburn P, Evans RJ, Hugenholtz (1996): *Antonie Van Leeuwenhoek* 69, 193-202.
24. Dijkstra T, Barkema HW, Eysker M, Hesselink JW, Wouda W (2002): *Vet Parasitol.* 105, 99-104.
25. Donald AS, Fenlon DR, Seddon B (1995): *J. Appl. Bacteriol.* 79, 141-148.
26. Driehuis F, Elferink SJWH (2000): *Wet. Quart* 22, 212-217.
27. Driehuis F, Te Giffel MC (2005): *Proc. 14th Silage Conference*, Belfast, UK, s. 271.
28. Dutkiewicz J, Olenchock SA, Sorenson WG, Gerencser VF, May JJ, Pratt DS, Robinson VA (1989): *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1093-1099.
29. Dutton MF, Westlake K (1985): *J. Assoc. Anal Chem.* 68, 839-842.
30. Edwards WC, Burrows GE, Tyr RJ (1984): *Okla Vet. Med. Assoc.* 36, 30-32.
31. Farber JM, Sanders GW, Malcom SA (1988): *Can. J. Microbiol.* 34, 95-98
32. Fenlon DR, Wilson J, Weddell, JR (1989): *Grass Forage Sci.* 44, 97-100.
33. Fenlon DR, Wilson J (1989): *J. Appl. Bacteriol* 66, 191-196.
34. Fernandez-Garayzabal JF, Dominquez A, Vazquez E, Gomez-Lucia ER, Rodriguez-Ferri, Suarez G (1987): *Vet. Res.* 120, 258-262.
35. Garon D, Richard E, Sage L, Bouchard V, Pottier D, Lebailly P (2006): *J. Agric. Food Chem.* 54, 3479-3484.
36. Gollop N, Zakin V, Weinberg ZG (2005): *J. Appl. Microbiol.* 98, 662-666.
37. González-Pereyra ML, Alonso VA, Sager R, Morlaco MB, Magnoli CE, Astoreca AL, Rosa CAR, Chiacchiera SM, Dalcero AM, Cavaglieri LR (2007): *J. Appl. Microbiol.* 104, 1034-1041.

38. Hejlíček K, Vrtiak JO (1982): Speciální epizotologie 1. SZN Praha, 320s.
39. Henderson IR (2004): Sborník semináře firmy Nutratech, 23. listopad 2003, Brno, s. 1-11.
40. Hernandez-Mendoza A, Garcia HS, Steele JL (2009): Food Chem. Toxicol. 47, 1064-1068.
41. Herriot DE, Hancock DD, Ebel ED, Carpenter LV, Rice DH, Besser TE (1998): J. Food Prot. 61, 802-807.
42. Heron SJE, Wilkinson JF, Duffus CM (1993): J. Appl. Bacteriol. 75, 13-17.
43. Hinton MH (2000): Vet. J. 159, 124.
44. Holzer M, Mayrhuber E, Danner H, Braun R (2003): Trends Biotechnol. 21, 282-287.
45. Illek J (2004): Sborník semináře firmy Nutratech, 23. listopad 2003, Brno, s. 12-20.
46. Jagoš a kolektiv (1985): Diagnostika, terapie a prevence nemocí skotu. SZN Praha, 472 s.
47. Jay JM (1997) Modern Food Microbiology, Chapman and Hall, New York, 661s.
48. Jalc D, Laukova A, Simonova M, Varadyova Z, Homolka P (2009a): Czech J. Anim. Sci. 54, 84-91.
49. Jalc D, Laukova A, Simonova M, Varadyova Z, Homolka P (2009b): Asian-Australian Journal of Animal Sciences 22, 977-983.
50. Jonsson A, Pahlow G (1984): Anim. Res. Develop. 20, 7-22.
51. Kandler O, Weiss N (1986): Genus Lactobacillus. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore, USA, s 1208-1234.
52. Kaprálek F (1986): Fyziologie bakterií, SPN Praha.
53. Keady TWJ, Steen WJ (1994): Grass Forage Sci. 49, 438-446.
54. Keady TWJ, Steen WJ (1995): Grass Forage Sci. 50, 217\_226.
55. Kehler W, Scholz H (1996): Übersichten zur Tierernährung 24, 83-91.
56. Kleinschmit DH, Kung L (2006): J. Dairy Sci. 89, 4005-4013.
57. Klijn N, Nieuwenhof FFJ, Hoolwerf JD, Waals CB, Weerkamp AH (1995): Appl. Environ. Microbiol. 61, 2919-2924.
58. Krajcarski-Hunt H, Plaizier JC, Walton JP, Spratt R, McBride BW (2002): J. Dairy Sci. 85, 570-573.



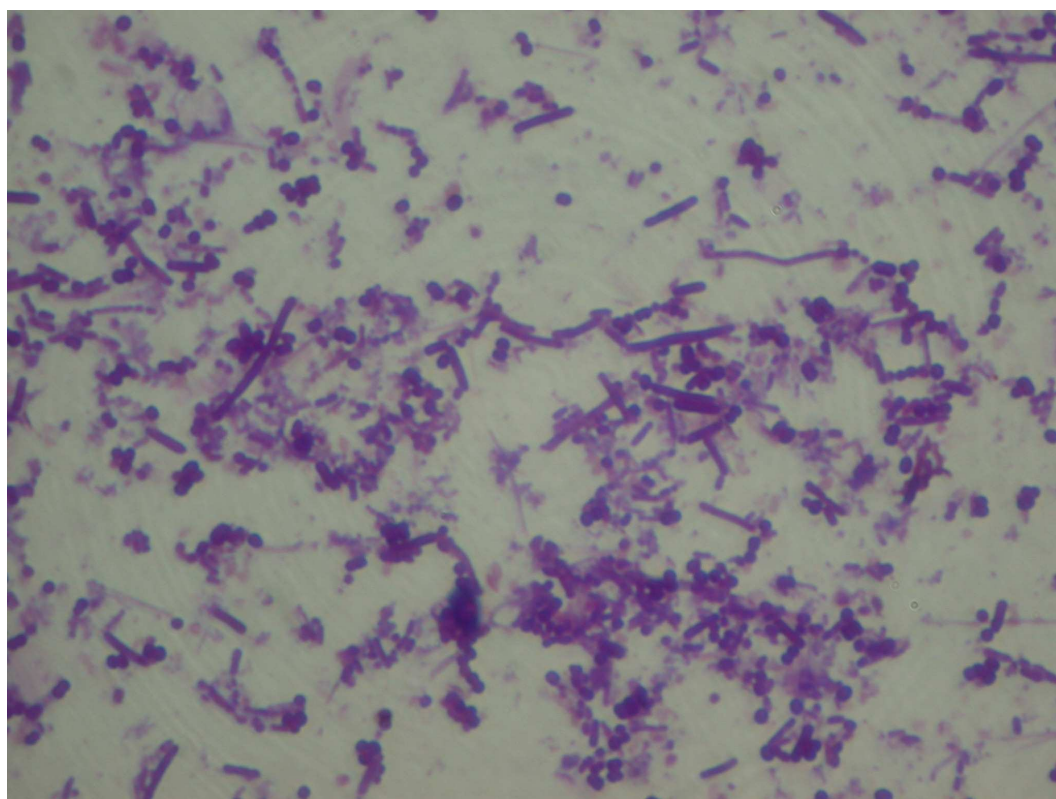
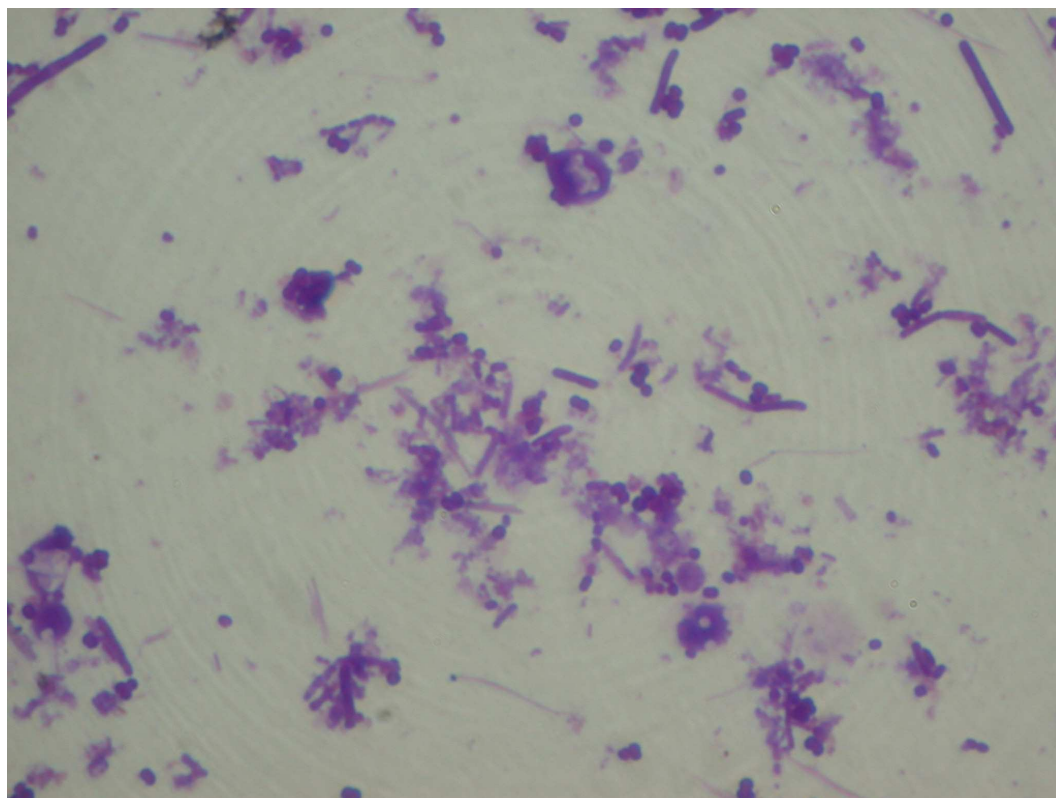
59. Krieg NG, ed. (1984): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1*, Williams and Wilkins, Baltimore, 964 s.
60. Kristensen NB, Storm A, Raun BML, Røjen BA, Harmon DL (2007): *J. Dairy Sci.* 90, 1364-1377.
61. Kudva IT, Hunt CW, Williams CJ, Nance UM, Hovde CJ (1997): *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3878.
62. Kung L, Schmidt RJ, Ebling TE, Hu W (2007): *J. Dairy Sci.* 90, 2309-2314.
63. Lacey J (1989): *Journal of Applied Bacteriology* 67, 11S
64. Luskey K, Tesch D, Gobel R (1995): *Archiv Für Lebensmittelhygiene* 46, 45.
65. McDonald P, Henderson AR, Heron SJE (1991): *The Biochemistry of Silage*, Second Edition, Chalcombe Publication, Lincoln, UK.
66. Meronuck R, Cincibido V (1996): *Feedingstuff.* 68, 139.
67. Merry RJ, Mawdsley JL, Brooks AE, Davies DR (1997): *J. Appl. Microbiol.* 82, 115-120
68. Meyer-Broseta S, Bastian SN, Arne PD, Cerf O, Sanaa M (2001): *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 203, 347.
69. Middelhoven WJ, Baalen AHM (1988): *J. Sci. Food Agric.* 42, 199-207.
70. Miller JD (2008): *Food Addit. Contam. Part A* 25, 219-230.
71. Mitrík T (2006): *Silážování*, FedLab s.r.o., Creative-Studio-Slovakia, s.r.o., 88 s.
72. Mouchili A, Wichtel JJ, Dohoo IR, Keefe GP, Halliday LJ (2004): *Prev. Vet. Med.* 16, 133-145.
73. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (1995): *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington, 1482s.
74. Narasimhan TR, Murthy BS, Rao PV (1993): *Food Chem. Toxicol.* 31, 509-515.
75. Nout MJR, Bouwmeester HM, Haaksma J, Dijk H (1993): *J. Agric. Sci.* 121, 323-326.
76. O'Kiely P, Byrne C, Bolton D (1999): *Proc. 12th Int. Silage Conf.*, Uppsala, Sweden, s. 311-312.
77. Osweiler GD, Lawrence PR (1981): *Plants affecting blood coagulation*. In: *Current veterinary therapy I* (ed. Howard JL), Philadelphia, USA, s. 449-451.
78. Park DL, Laing BL (1993): *Trends in Food Science and Technology* 4, 334.
79. Pelhate J (1977): *Folia Veterinaria Latina* 7, 1-16.
80. Piskač A (1985): *Veterinární toxikologie*. SZN, Praha, 256 s.

81. Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Fillipi L, Laporta M, Piva G (2009): *Food Chem. Toxicol.* 47, 984-991.
82. Raa J, Gilberg A (1982): *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 16, 383-419.
83. Ramos AJ, Finkgremmels J, Hernandez E (1996): *Journal of Food Protection* 59, 631.
84. Rasmussen MA, Casey TA (2001): *Crit. Rev. Microbiol.* 27, 57.
85. ReindersRD, Bijker PGH, Elfering SJWH (1999): *Proc. 2nd Verocytotoxigenic E. coli in Europe Meeting, Athens, 18-27.*
86. Reyes-Velázquez WP, Espinosa VHI, Rojo F, Jiménez-Plasencia C, de Lucas Palacios E, Hernández-Góborra J, Ramírez-Álvarez A (2008): *Rev. Iberoam. Micol.* 25, 182-185.
87. Sanaa M, Poutrel B, Menard JL, Serieys F (1993): *J. Dairy Sci.* 76, 2891-2898.
88. Sanderson MA (1993): *J. Anim Sci.* 71, 505-514.
89. Scudamore KA, Livesey CT (1998): *J. Sci. Food Agric.* 77, 1-7.
90. Seeliger HPR, Jones D (1986): *Genus Listeria. Genus Lactobacillus.* In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore, USA, s 1231-1245.*
91. Sheel LD (1978): *Mycotoxicosis in cattle.* In: *Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicosis: an encyclopedic handbook* (ed. Wyllie and Morehouse LB), New York, USA, s. 121-142.
92. Sherris JC (1990): *Medical Microbiology, Prentice-Hall International Inc., Toronto, 991 s.*
93. Shield J, Baumer JH, Dawson JA, Wilkinson PJ (1990): *J. Infect.* 21, 297-301.
94. Shih JCH (1993): *Poultry Science* 72, 1617.
95. Spoelstra SF, Courtin MG, Beers JAC (1988): *J. Agric. Sci.* 111, 127-132.
96. Spoelstra SF (1991): *Chemical and biological additives in forage conservation.* IN: *Forage Conservation Towards 2000* (Eds. G. Pahlow and H. Honig). *Landbauforschung Volkenrode, Sonderheft 123, Brauchweig, Germany, s. 48-70.*
97. Stadhouders J (1990): *Bull. Int. Dairy Fed.* 251, 40-46.
98. Stadhouders J, Spoelstra SF (1990): *Bull. Int. Dairy Fed.* 251, 24-31.
99. Steinshamn H, Purup S, Thuen E, Hansen-Møller J (2008): *J. Dairy Sci.* 91, 2715-2725.

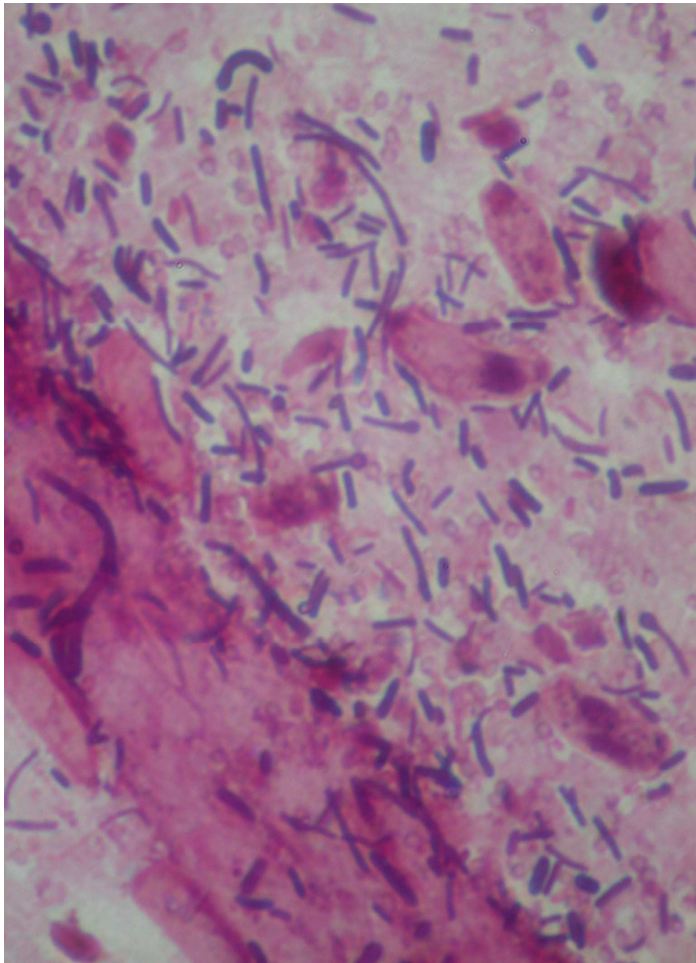
100. Thomas c, Thomas PC (1985): Factors affecting the nutritive value of grass silages. In: Recent advances in Animal Nutrition-1985. Eds. W. Haresingn and DJA. Cole Butterworths, London, s 223-256.
101. Thylin I, Schuisky P, Lingren S, Gottschal JC (1995): J. Appl. Bacteriol. 79, 663-670.
102. Tůma Š, Vogensen KF, Ardo Y, Plocková M, Chumchalová J (2006): Sborník přednášek semináře Mléko a sýry, VŠCHT Praha, leden 2006, 41-46.
103. Ueno H, Yokota K, Arai T, Muramatsu Y, Taniyama H, Iida T, Morita C (1996): Microbiol. Immunol. 40, 121-124.
104. Vařejka F, Mráz O, Smola J (1989): Speciální veterinární mikrobiologie, SZN, Praha, 264s.
105. Vissers MMM, Driehuis F, Te Giffel MC, De Jong P, Lankveld JMG (2007a): J. Dairy Sci. 89, 3278-3285.
106. Vissers MMM, Driehuis F, Te Giffel MC, De Jong P, Lankveld JMG (2007b): J. Dairy Sci. 90, 850-858.
107. Vissers MMM, Driehuis F, Te Giffel MC, De Jong P, Lankveld JMG (2007): J. Dairy Sci. 90, 928-936.
108. Vissers MMM, Te Giffel MC, Driehuis F, De Jong P, Lankveld JMG (2007): J. Dairy Sci. 90, 3286-3293.
109. Waes G, Van Heddeghem A, Van Heddegen A (1990): Bull. Int. Dairy Fed. 251, 47-5
110. Weinberg ZG, Muck RE, Weimer PJ, Chen Y, Gamburg M (2004): Appl. Biochem. Biotechnol. 118, 1-9.
111. Weinberg ZG, Muck RE, Weimer PJ (2003): J Appl. Microbiol. 94, 1066-1071.
112. Weissbach F (1996): Proc. XIth Int. Silage Conf, Aberystwych, UK, s. 11-25.
113. Wiedmann M, Czejka J, Bsat, N (1994): J. Clinic. Microbiol. 32, 991-996.
114. Wilesmith JW, Gitter M (1986): Vet. Res. 119, 467-470.
115. Wilkinson JM, Wadephul F, Hill J (1996):, Chalcombe Publication, Lincoln, UK.
116. Wilkinson JM (1999): Nat. Toxins 7, 221-232.
117. Wilkinson JM (2005): Silage. Chalcombe Publication, Lincol, UK.
118. Woo-Sam NH (1999): Can. Vet. J. 40, 506-508.
119. Yamini B, Poppenga RH, Braselton WE, Judge LJ (1995): J. Vet. Diagn. Invest. 7, 420-422.

## 8. Přílohy

**Obrázek 1:** Přírozená mikroflóra siláže (barveno krystalovou violetí  $\times 1000$ , foto Rada)



**Obrázek 2:** Zkažená siláž s přítomností klostridií (barveno podle Grama, ×1000, foto Rada)



**Tabulka 1:** Organoleptické hodnocení siláže (podle Wilkinson, 2005)

<b>Ukazatel</b>	<b>Možný důvod</b>
<b>Barva</b>	
Žlutá	Nízký obsah bílkovin, sekundární kvašení
Tmavě zelená	Vysoký obsah bílkovin
Hnědá	Přehřátá siláž, poškození bílkovin
Černá	Těžké přehřátí, kontaminace půdou, aerobní kažení
Šedobílá	Plesnivění
<b>Textura</b>	
Vlhká	Nízká sušina, nebezpečí sekundárního kvašení
Slizká	Sekundární kvašení
Suchá	Vysoká sušina
Listovitá	Hodně energie a bílkovin
Stonkovitá	Málo energie a bílkovin
Hrubá, drobkovitá	Malý příjem jestliže také stonkovitá
Měkká	Vysoký příjem jestliže také listovitá
Lepká	Zbytkové vodorozpustné cukry
<b>Chut'/vůně</b>	
Sladká	Dobře zkvašená, kyselina mléčná
Octovitá	Smíšené kvašení, kyselina mléčná a octová
Ovocná	Smíšené kvašení, činnost kvasinek
Dávivá	Sekundární kvašení, kyselina máselná
Ostrá	Překyselená siláž

**Tabulka 2:** Silážní inokulanty (podle Weinberg et al., 2003; Mitrík, 2006; Anonym 4)

<b>Inokulant</b>	<b>Zdroj</b>
Bonsilage: <i>E. faecium</i> , <i>L. rhamnosus</i>	Schaumann, Německo
Bonsilage Plus: <i>L. plantarum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. buchneri</i>	Schaumann, Německo
Bonsilage Mais: <i>L. plantarum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>L. buchneri</i>	Schaumann, Německo
Bonsilage CCM: <i>L. buchneri</i>	Schaumann, Německo
Bonsilage forte: <i>L. paracasei</i> DSM 16245, <i>L. lactis</i> NCIB 30160, <i>P. acidilactici</i> DSM 16243	Schaumann, Německo
Biomax5 <sup>TM</sup> : <i>L. plantarum</i>	Christian Hansen, Biosystems (Milwaukee, USA)
Biomate LP/PC <sup>TM</sup> : <i>L. plantarum</i> , <i>P. cerevisiae</i>	Christian Hansen, Biosystems (Milwaukee, USA)
Pioneer 1174 <sup>TM</sup> : <i>L. plantarum</i> , <i>E. faecium</i>	Pioneer Hi-Bred International Inc. (Des Moines, IA, USA)
Pioneer 11A44 <sup>TM</sup> : <i>L. buchneri</i>	Pioneer Hi-Bred International Inc. (Des Moines, IA, USA)
<i>Lactobacillus buchneri</i>	Biotal Canada Limited (Calgary, Canada)
<i>L. plantarum</i> MTD1	Ecosyl (Yorkshire, UK)
<i>P. pentosaceus</i>	Ecosyl (Yorkshire, UK)
<i>E. faecium</i> Q	Agri-king (Fulton, USA)
<i>E. faecium</i> C	Agri-king (Fulton, USA)
<i>P. pentosaceus</i>	Agri-king (Fulton, USA)
<i>L. pentosus</i>	Agri-king (Fulton, USA)
<i>L. plantarum</i>	Agri-king (Fulton, USA)
Lactisil 200NB: <i>L. plantarum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>La. lactis</i> , <i>E. faecium</i>	Medipharm CZ (Hustopeče, ČR)
Microsil: <i>E. faecium</i> M74, <i>L. casei</i> , <i>Pediococcus</i> spp.	Medipharm CZ (Hustopeče, ČR)
Microsil OSMO: <i>L. casei</i> OSMO, <i>E. faecium</i> , <i>L. casei</i> spp. <i>paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>La. lactis</i>	Medipharm CZ (Hustopeče, ČR)

*E.* – *Enterococcus*, *L.* – *Lactobacillus*, *La.* - *Lactococcus*, *P.* - *Pediococcus*

**Tabulka 3:** Příпустné limity mykotoxinů v krmivech pro přežvýkavce (návrh EU, Anonym 5)

<b>Mykotoxin</b>	<b>Přežvýkavci</b>	<b>Dojnice</b>	<b>Přežvýkavci - výkrm</b>
Aflatoxin B1	50 ppb	5 ppb	10 ppb
Deoxynivalenol	1 ppm	1 ppm	1 ppm
Zearalenon	0,5 ppm	0,5 ppm	0,5 ppm
T-2 toxin	0,5 ppm	0,5 ppm	0,5 ppm
Fumonisin B1	50 ppm	-	-
Ochratoxin A	0,5 ppm	0,5 ppm	0,5 ppm

**Tabulka 4:** Mezní pH pro růst klostridií v siláži (Mitrík, 2006)

<b>Sušina %</b>	<b>Kritické hodnoty pH</b>	
	<b>Trávy</b>	<b>Jeteloviny</b>
20	4,16	4,26
25	4,26	4,45
30	4,43	4,60
35	4,63	5,04
40	4,90	5,56
45	5,14	-
50	-	-