

Vědecký výbor výživy zvířat

Vliv diety, zejména obsahu dusíkatých látek, na množství a kvalitu mléčné bílkoviny a zdraví dojnic

Ing. Václav Kudrna, CSc.
Ing. Petr Homolka, Ph.D.

Praha, září 2009



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

OBSAH

1. ÚVOD	3
2 . VÝZNAM DUSÍKATÝCH LÁTEK	3
2.1. Rozdělení dusíkatých látek	4
3. HODNOCENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK	5
3.1. Požadavky dojnic na degradovatelné a nedegradovatelné NL	12
4. POTŘEBA ESENCIÁLNÍCH AMINOKYSELIN PRO DOJNICE	16
4.1. Aminokyseliny a jejich vliv na mléčnou užitkovost dojnic	17
4.1.1. <i>Esenciální aminokyseliny ve výživě dojnic</i>	17
4.1.2. <i>Chráněné aminokyseliny</i>	20
4.1.3. <i>Působení chráněného methioninu</i>	23
5. PŮSOBENÍ CHRÁNĚNÝCH AMINOKYSELIN V TRANZITNÍM OBDOBÍ	25
6. VLIV KONCENTRACE DISÍKATÝCH LÁTEK NA PLODNOST	35
7. VLIV KONCENTRACE DUSÍKATÝCH LÁTEK NA ZDRAVOTNÍ STAV KRAV	36
8. SEZNAM LITERATURY	38

1. ÚVOD

Dusík je v zemědělské praxi limitující produkční faktor. Není-li možné jeho plnohodnotné využití v praxi, může docházet k ekologicky nepříznivému úniku dusíku ze zemědělských systémů. Dojnice přispívají v Evropě k tomuto úniku z 27,4 %, především emisemi amoniaku (POTTHAST, 1993). Potřeba zvyšovat ekonomickou výkonnost živočišné produkce vede k intenzifikaci faremních systémů. Výrazný růst genetického potenciálu pro mléčnou produkci dojníc si vyžádal mj. i zvyšování koncentrace dusíkatých látek (NL) v krmné dávce, která by zajistila dosažení maximální mléčné produkce. V současné době je pro vysokoužitkové dojnice běžně užívána v komerčních dietách koncentrace NL 180 g/kg sušiny, i více.

Krytí požadavků na NL u vysokoužitkových dojníc vyžaduje velké množství poznatků o složení proteinů v krmivech a o tom, jak se chovají v prostředí bacheru. Je důležité znát vlivy složení diety na aktivitu bacherových mikroorganismů, zvláště pak na syntézu proteinu. Poměrně dlouhou dobu byly požadavky krav na bílkoviny uváděny pouze v podobě dusíkatých látek. Minimální pozornost byla věnována zdroji dusíkatých látek s výjimkou, že bylo kladeno omezení na množství používaných syntetických nebílkovinných dusíkatých látek. Tento stav vyplýval hlavně z důvodu relativně nízké mléčné užitkovosti. V posledních 20 letech se začalo používat mnoho nových termínů souvisejících se zásobováním dojníc dusíkatými látkami. Jedná se např. o parametry degradovatelné a nedegradovatelné NL, rozpustné a nerozpustné NL atd.

Problematika dusíkatých látek ve výživě dojníc je dlouhodobě a podrobně sledovanou oblastí. Přesto, že byly učiněny velké pokroky, existuje pravděpodobně ještě dlouhá cesta, než budeme schopni přesně definovat potřeby jednotlivých aminokyselin tak, aby byly zajištěny nutriční potřeby dojníc, zabezpečena kvantita i kvalita mléčné produkce a současně minimálně ohroženo zdraví dojníc a aby nedocházelo ke znečišťování životního prostředí.

2. VÝZNAM DUSÍKATÝCH LÁTEK

Jedním z limitujících faktorů v zemědělství – a to jak v rostlinné, tak i v živočišné výrobě – je dusík. Pokud není zajištěno jeho plnohodnotné využití rostlinami a zvířaty, dochází k jeho ekologicky nepříznivému úniku do prostředí. Dojnice přispívají k tomuto

zatížení životního prostředí emisemi amoniaku, a to hlavně z dusíkaté frakce močoviny z moči. Dusíkaté látky, které jsou přijaté nad optimální potřebu, jsou bez racionálního využití vylučovány. Stoupající mléčná užitkovost a zvyšující se – často nadměrný – příjem dusíkatých látek v krmivech vedou ke zvýšené fyziologické zátěži organismu. Krmné dávky i pro vysokoužitkové dojnice by měly obsahovat jen tolik NL, které jsou nezbytně potřeba pro záchovu a růst plodu, pro optimální růst mikroorganismů v jejich předžaludcích a pro produkci odpovídajícího množství mléčné bílkoviny. Důležitou roli tedy hraje nejen celkové množství proteinu, ale i kvalita zkrmovaných dusíkatých látek, která je dána hlavně obsahem esenciálních aminokyselin. V řadě experimentů bylo prokázáno, že postbachelorové podávání aminokyselin zvyšuje koncentraci mléčné bílkoviny a v některých případech i mléčnou užitkovost. Z výše uvedených důvodů existuje v současné době zájem na vytvoření takové diety, která by dodala tenkému střevu dojnice potřebné množství konkrétních esenciálních aminokyselin. Absorbované aminokyseliny jsou základem pro stavbu tkání a u dojnic nezbytné pro syntézu mléčných bílkovin a dalších tělesných metabolitů. Slouží jako prekurzory pro glukoneogenezi, mohou být konvertovány na mastné kyseliny a nebo využity jako okamžitý zdroj metabolizovatelné energie, což není zcela ideální. Jednou z výhod krmných dávek s vhodnou strukturou aminokyselin je teoretická možnost významného snížení koncentrace finančně náročných dusíkatých látek (např. sójový extrahovaný šrot), což by mělo značný hospodářský dopad. Vlivem sníženého příjmu sušiny v tranzitním období nemají dojnice k dispozici dostatek energie, což redukuje tvorbu mikrobiálního proteinu a tady i přívod aminokyselin.

2.1. Rozdělení dusíkatých látek

Dusíkaté látky:

- degradovatelné dusíkaté látky – jedná se o látky, které jsou degradovány mikroorganismy v bacheru. Většina degradovatelných dusíkatých látek se přeměňuje na amoniak, přičemž část je využita pro tvorbu mikrobiálního proteinu
- nedegradovatelné dusíkaté látky jsou dusíkaté látky, které nejsou degradovány v bacheru a procházejí v nezměněné podobě do tenkého střeva, kde jsou enzymaticky tráveny. Synonymem pro nedegradovatelné dusíkaté látky jsou tzv. „*by pass*“ NL a z bacheru „unikající“ NL

- rozpustné dusíkaté látky – jedná se o frakci NL rozpustnou v bachorové tekutině (např. nebílkovinné NL)
- nerozpustné dusíkaté látky jsou dusíkaté látky, které nejsou rozpustné v bachorové tekutině
- bakteriální dusíkaté látky – jde o dusíkaté látky, sdružené s mikrobiálními buňkami (bakterie a prvoci)
- stravitelné (vstřebatelné, metabolizovatelné) NL jsou dusíkaté látky, vstřebávané v tenkém stěvě (většinou to jsou volné aminokyseliny)

3. HODNOCENÍ DUSÍKATÝCH LÁTEK

Objektivní hodnocení kvality krmiv je předpokladem jejich efektivního využití v sestavovaných krmných dávkách. Dostatečný příjem živin, odpovídající nutričním požadavkům zvířat, je zárukou nejen vysoké užitkovosti naplňující genetický potenciál zvířete a snížení ekonomických nákladů, ale i dobrého zdravotního stavu zvířete. V posledních letech došlo k velkému zvýšení mléčné užitkovosti ze 4 tisíc litrů mléka v roce 1990 na 6776 litrů (KVAPILÍK et al., 2009) v roce 2008. Tento nárůst je podmíněn jednak genetickým pokrokem, jednak změnou a zkvalitněním výživy zvířat. Nutriční hodnota krmiva zahrnuje obsah živin, NL a energie, jejich stravitelnost, dietetické vlastnosti a vhodnost pro metabolické funkce a také množství přijatého krmiva. Příjem sušiny, který je výsledkem souboru fyziologických vlastností zvířete a kvality krmiva, významně determinuje krytí živinových požadavků zvířete.

Nově získané poznatky ve výživě přežvýkavců přispěly k vyvinutí dokonalejších systémů hodnocení energie a dusíkatých látek krmiv pro přežvýkavce. Každý systém hodnocení NL přitom zahrnuje dvě hlavní oblasti:

- stanovení nutriční hodnoty krmiv
- stanovení požadavků zvířat na příjem NL

Nutriční (výživná hodnota) je maximální biologický účinek v těle hospodářského zvířete po příjmu krmiva. Potřeba živin a energie je množství krmiva, které musí hospodářské zvíře přijmout k zajištění definovaného biologického účinku.

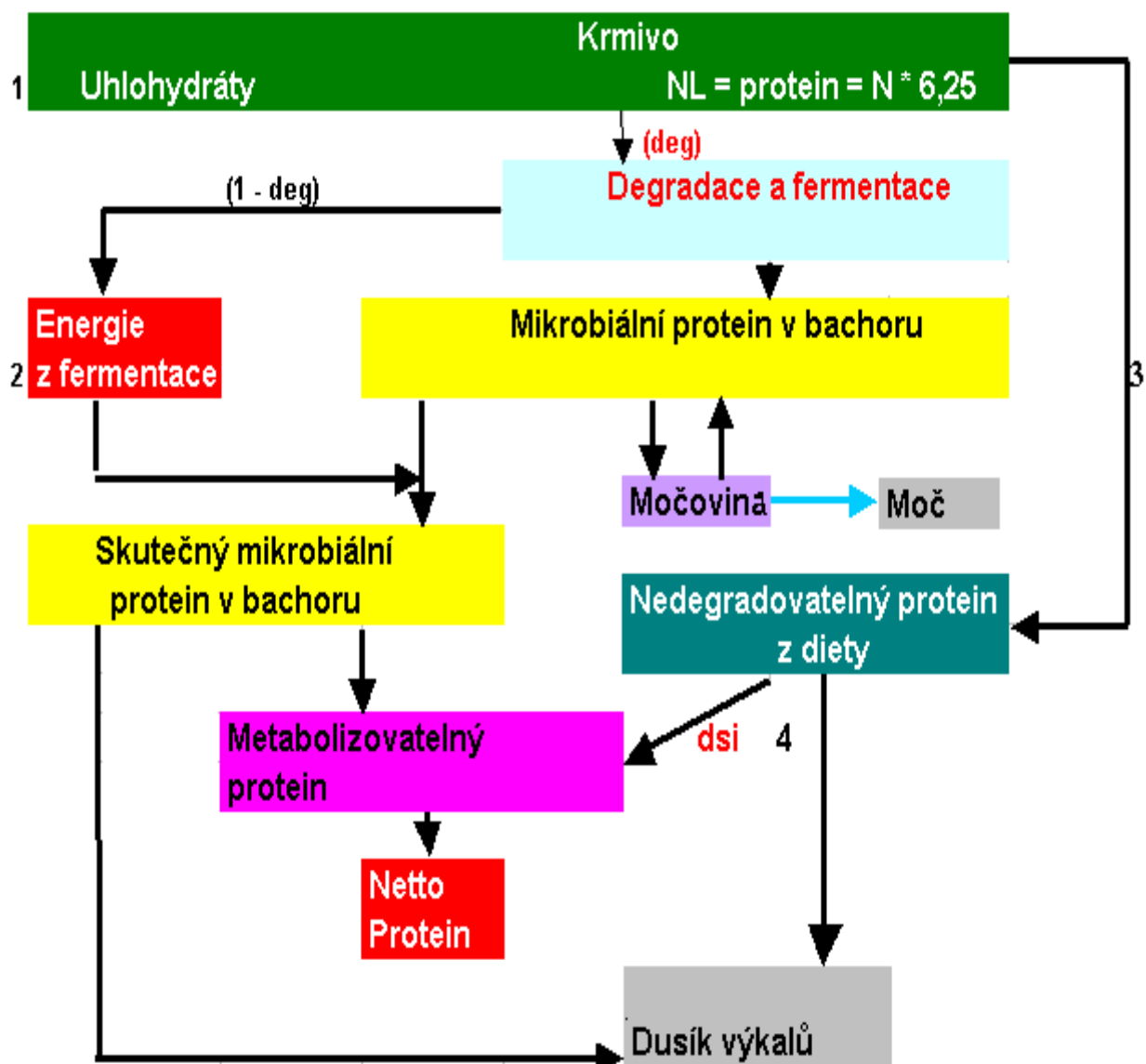
Každý systém určený k hodnocení krmiv by měl splňovat následující požadavky:

- 1) Schopnost formulovat krmnou dávku pro zvolenou užitkovost
- 2) Predikovat užitkovost z dané krmné dávky
- 3) Definovat kvalitu krmiv
- 4) Jednoduchost a přesnost stanovení jednotek a potřeby živin pro zvíře
- 5) Mezinárodní srovnatelnost a možnost zahrnutí nových poznatků

Systém používaný v České republice je podrobně popsán v publikaci: „Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce“ (SOMMER et al., 1994). Nutriční hodnota krmiv je pak uvedena v „Katalogu krmiv“ (ZEMAN et al., 1995).

Část dusíkatých látek krmiva přicházející do bachoru je přítomnými mikroorganismy (bakterie a prvoci) degradována na peptidy, aminokyseliny a amoniak. Tyto produkty jsou pak přeměněny za využití přítomné energie na mikrobiální protein. Tato část dusíkatých látek krmiva, která je zhruba s 90 % účinností přeměněna na mikrobiální protein se nazývá degradovatelné NL. Množství vytvořeného mikrobiálního proteinu je u vysokoužitkových zvířat limitováno a je zde také důležitá postupná degradace NL a dalších živin, sloužících jako zdroj energie pro mikroorganismy. Část NL krmiva není odbourána v bachoru a odchází přirozenou cestou přes slez do tenkého střeva. Tuto část NL nazýváme nedegradované NL, které pak jsou s různou intenzitou tráveny v tenkém střevě. Z hlediska výživy vysokoužitkových dojnic je pak vhodné v krmné dávce zastoupení krmiv se střední a nižší degradovatelností a vysokou střevní stravitelností.

Schéma degradovatelnosti proteinu v trávicím traktu přežvýkavce (ZEMAN et al., 2000; in: HARAZIM & HOMOLKA, 2002).



Dříve používaný systém hodnocení - stravitelné dusíkaté látky (SNL) neodrážel fyziologické pochody trávení NL u přežvýkavců. Jeho hlavním nedostatkem bylo nerespektování mikrobiální fermentace v batoru, nepostihnutí degradace proteinu krmiva v batoru a nerespektování rozdílů ve využití NL vstupujících do tenkého střeva.

Systémy hodnocení navržené a přijaté v posledních desetiletích ve Velké Británii, (systém RDP/UDP), Francii (PDI), USA (NRC), skandinávských zemích (AAT/PBV), Švýcarsku (APD), Nizozemí (DVE), Německu (RPD) a dalších zemích přitom vycházejí ze stejných principů:

- odděleně hodnotí NL pro výživu bachorových mikroorganismů a pro výživu hostitelského zvířete
- zavádějí hodnotu degradovatelnosti NL krmiv jako nejdůležitější kritérium.

Odlišují se pak v detailech hodnocení syntézy mikrobiálních NL z dostupné energie, metodě stanovení degradovatelnosti a výtokové rychlosti částic, hodnotách střevní stravitelnosti nedegradovaného proteinu, účinnosti využití degradovatelných NL a neproteinového dusíku bachorovými mikroorganismy, složení a stravitelnosti mikrobiálních NL a účinnosti využití absorbovaných aminokyselin. Využívají také vlastní databáze nutriční hodnoty krmiv.

V naší republice používaný systém SNL byl na doporučení Komise výživy ČAZV počátkem 90. let nahrazen systémem PDI. Tento, u nás v současné době jeden z rozšířených způsobů hodnocení NL, byl převzat z francouzského systému PDI - Protéines vraies récrement digestibles dans l'Intestin grêle (protein skutečně stravitelný v tenkém střevě). Systém PDI (stejně jako systém SNL) je založen na porovnání příjmu živin s normou potřeby pro daný druh a užítkovost. Zásadní rozdíl je v tom, že systém PDI posuzuje požadavky organismu na zásobení proteinem podle jeho množství skutečně vstupujícího do tenkého střeva. Systém SNL naproti tomu odvozoval požadavky organismu z rozdílu mezi přijatými NL krmiva a NL vyloučenými výkaly.

Systém PDI zohledňuje mikrobiální fermentaci v bachoru, degradaci NL krmiva i rozdílné využití NL vstupujících do tenkého střeva. Tím respektuje rozdílný původ proteinu vstupujícího do tenkého střeva. Větší část tvoří mikrobiální protein, menší část nedegradovaný protein krmiva, zbytek proteinu je endogenního původu. Vzájemný poměr proteinu z obou exogenních zdrojů je ovlivňován degradovatelností NL krmiva. Degradovatelné NL jsou zdrojem dusíku pro bachorovou mikroflóru.

Podle stupně degradovatelnosti NL krmiva rozdělujeme do tří skupin:

- nízká s degradovatelností v průměru 60 % (45 – 70 %) – seno, sláma, sójový extrahovaný šrot, extrudovaná sója, zrno kukuřice

- střední s degradovatelností v průměru 75 % (70 – 80 %) – většina zelené píce a siláží, oves, ječmen
- vysoká s degradovatelností v průměru 85 % (80 – 95 %) – cukrovka, pšenice, bob, hrách.

Nedegradované NL, které nejsou odbourány mikrobiální činností v bachoru a přecházejí dále do slezu, resp. tenkého střeva, jsou přímým zdrojem aminokyselin pro zvíře. Nedegradované NL různých krmiv jsou tráveny rozdílně a tak se střevní stravitelnost nedegradovaných NL krmiva podle druhu krmiva pohybuje v rozsahu od 55 do 95 % (HOMOLKA et al., 1996).

Základní metodou pro stanovení hodnoty degradovatelnosti NL je metoda in situ (in sacco). Pro náročnost metody (kanylovaná zvířata) je používána ve výzkumných pracovištích a specializovaných zemědělských laboratořích. Tato metoda je založena na inkubaci polyesterových nebo polyamidových sáčků se vzorky krmiv v určitých časových intervalech v bachoru přežvýkavců s velkou bachorovou kanylou. Další metoda nevyžadující kanylovaná zvířata a umožňující provádět stanovení v laboratoři je enzymatické stanovení bromelainem s využitím regresních rovnic (TOMÁNKOVÁ & KOPEČNÝ, 1995).

Střevní stravitelnost NL nedegradovaných v bachoru se stanovuje metodou mobile bag (FRYDRYCH, 1992; HOMOLKA et al., 1996). Postup sestává z inkubace krmiva v bachoru, pak v umělém slezu a nakonec vložení sáčků s krmivem do duodenální kanyly s pasáží trávícím traktem. Další možností je stanovení této hodnoty enzymaticky pankreatinem s využitím regresních rovnic (TOMÁNKOVÁ & HOMOLKA, 1997).

DEFINICE PDI (SOMMER et al., 1994)

<i>Obsah PDI v krmivu se skládá z:</i>
PDIA - v bachoru nedegradovaný protein krmiva skutečně stravitelný v tenkém střevě PDIM - mikrobiální protein skutečně stravitelný v tenkém střevě
<i>Protože každé krmivo zajišťuje bachorovým mikroorganismům degradovatelný protein a zdroj energie, má PDIM dvě složky:</i>
PDIMN - množství mikrobiálního proteinu syntetizovatelného z degradovaného proteinu, pokud není obsah využitelné energie a dalších živin limitující PDIME - množství mikrobiálního proteinu krmiva syntetizovatelného z využitelné energie, pokud není obsah degradovatelného proteinu a dalších živin limitující
<i>Každé krmivo má proto dvě hodnoty PDI a to PDIN a PDIE:</i>
PDIN = PDIA + PDIMN PDIE = PDIA + PDIME

Při výpočtu krmné dávky se hodnoty PDIN a PDIE počítají zvlášť s tím, že nižší hodnota vyjadřuje skutečnou výživnou hodnotu krmiva PDI, zatímco vyšší představuje hodnotu potenciální, které lze dosáhnout kombinací s vhodným krmivem. Z porovnání hodnot zjistíme vyváženost krmné dávky. Vyšší hodnota PDIN vyžaduje snížení příjmu snadno degradovatelných krmiv v krmné dávce. Je-li naopak vyšší hodnota PDIE, je nutné zařadit do krmné dávky lehce degradovatelné krmivo.

Z počtu charakteristik, které zahrnuje hodnocení NL podle systému PDI je zřejmé, že nároky na rozsah vstupních dat jsou podstatně větší, než tomu bylo u dříve používaného systému SNL.

K výpočtu hodnoty PDI je třeba znát u krmiva:

- 1) obsah NL
- 2) degradovatelnost NL (DEG)
- 3) obsah fermentovatelné organické hmoty (FOH)
- 4) střevní stravitelnost proteinu nedegradovaného v bachoru (DSI)

ad 1) Obsah NL se stanoví klasickými laboratorními metodami (nejčastěji metodou podle Kjeldahla) jako dusík a vynásobí 6,25. Toto stanovení je součástí základního rozboru krmiv a provádí je zemědělské laboratoře.

ad 2) Stanovení se provádí na zvířatech s bachorovou kanylou metodou *in sacco*, nebo laboratorně enzymatickou metodou, popř. stanovením obsahu rozpustné frakce NL. Toto a následující stanovení provádí většinou jen specializované vědecké instituce a zemědělské laboratoře pro tvorbu databank krmiv.

ad 3) K výpočtu FOH je nutné znát koeficient stravitelnosti organické hmoty. Stanoví se bilančně, laboratorně, či se převezmou tabulkové hodnoty.

ad 4) DSI se stanoví na zvířatech opatřených bachorovou a duodenální kanylou metodou mobile bag, nebo enzymatickou metodou.

Pokud příslušná data nemáme přímo stanovená, vyhledáme je v tabulkách krmiv (nejčastěji se jedná o DEG a DSI). Potřebu PDI pro jednotlivé kategorie skotu, rovnice pro výpočet i obsahy jednotek PDI u reprezentativního souboru krmiv jsou uvedeny v doporučení pro praxi Komise výživy hospodářských zvířat ČAZV: „Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce“ (SOMMER et al., 1994). Přehled krmiv s vypočítanými hodnotami PDI, DEG a DSI je uveden v publikaci „Katalog krmiv“ (ZEMAN et al., 1995). Výsledky hodnot DEG a DSI stanovených v experimentech na zvířatech a na jejich základě odvozených hodnot PDI u rozsáhlého souboru krmiv poskytuje studijní informace ÚZPI „Hodnocení dusíkatých látek krmiv pro přežvýkavce podle systému PDI (HOMOLKA et al., 1996).

Rovněž *Společnost pro fyziologii* v SRN v novém doporučení vychází z toho, že každé krmivo je zdrojem energie pro mikrobiální proteosyntézu v bachoru a současně je zdrojem nedegradovatelných NL, procházejících do tenkého střeva. Mikrobiální bílkoviny a nedegradovatelné NL krmiv, přicházející do tenkého střeva, představují využitelné NL (n XP) krmiva. Kromě hodnoty n XP je v tabulkách DLG uveden i přínos k bachorové bilanci dusíku (RNB), který informuje o tom, je-li v krmivu dostatek dusíku pro zásobování bachorové mikroflóry. V USA využívají doporučení (NRC, 2001), vycházející z obdobného dělení a využití dusíkatých látek. Tak je např. v USA doporučováno pro 1. fázi laktace až 38% (i 40%) zastoupení nedegradovatelných NL z celkových NL.

3.1. Požadavky dojnic na degradovatelné a nedegradovatelné NL

V krmné dávce dojnic by měly být zastoupeny tři druhy degradovatelných dusíkatých látek: rychle, středně a pomalu degradovatelné. K rychle degradovatelným NL patří např. močovina, jejíž molekula dusíku je mikroorganismům dostupná vzápětí po nakrmení. Je-li množství dusíku, pocházející z rychle degradovatelných dusíkatých látek, větší než mohou bachorové mikroorganismy využít, pak se přebytek amoniaku vstřebává do krve a je organismem dojnice vylučován bez užitku a navíc jeho odbourávání organismus zatěžuje. Nasazení močoviny je považováno za cenově zajímavé a efektivní při užitkovosti 18 – 26 kg mléka/ks/den, v kombinaci se sójovým a řepkovým šrotem. Autor tohoto závěru (ACKERMANN, 1998) doporučuje jako denní maximum 200 g močoviny za předpokladu, že je v dávce k dispozici nejméně 2000 g škrobu, krmná dávka obsahuje všechny další nutné živiny a je dodržována technika zkrmování močoviny. Zkrmování několika zdrojů různě degradovatelných NL rozšiřuje dobu pro degradaci NL, takže stálá dostupnost dusíku z degradovatelných NL, doplněná přítomností různě pohotových energetických zdrojů, je zárukou rozvoje bachorových mikroorganismů.

Nejvyšší obsah kvalitních nedegradovatelných NL měla dnes již většinou zakázaná krmiva živočišného původu, včetně rybí moučky. Jejich náhrada je u vysokoužitkových stád problémem a lze ji alespoň částečně řešit např. extrahovanými šroty, extrudovanou sójou, kukuřičným glutenem, pivovarským mlátem, případně i speciálně chráněnými aminokyselinami.

Kromě degradovatelných NL je nutné, aby dojnice měly ve své krmné dávce i NL nedegradovatelné, které nejsou narušeny činností bachorových mikroorganismů, a jež jsou tráveny až v tenkém střevě. Jejich množství je nutné zohlednit již v posledních třech týdnech stání na sucho, kdy by měl obsah dusíkatých látek představovat 14 – 15 % sušiny krmné dávky (tab. 1), přičemž nedegradovatelné NL by z toho měly tvořit 32 – 38 %, a po otelení by měly mít zastoupení až 40 % (McCULLOUGH, 1994). Celkový doporučený obsah dusíkatých látek u krav podle dosahované užitkovosti v průběhu mezidobí je uveden v tabulce 2.

Tabulka 1: Optimální úroveň živin v krmné dávce (McCULLOUGH, 1994) v %

Živiny	Laktace			Zaprahlé	
	ranná	střední	pozdní	počátek	před otelením
Dusíkaté látky	17-20	15-17	14-15	12	14-15
Degradovatelné NL	60-65	62-67	65-78	65-70	62-68
Nedegradovatelné NL	22-40	33-37	30-36	30-35	32-38
Rozpustné NL (% z NL)	30-35	30-37	30-50	32-35	31-34

Podle současných poznatků způsobují krmné dávky, obsahující více než 200 g dusíkatých látek na 1 kg sušiny krmné dávky, snížení plodnosti. I dojnice s užitkovostí nad 50 kg mléka by neměly mít více, než 190 g dusíkatých látek na 1 kg sušiny KD.

Jedním z ukazatelů výše příjmu dusíkatých látek v krmné dávce je stanovení močoviny v krvi. Konečnými produkty odbouraných NL u přežvýkavců je amoniak, oxid uhličitý a voda. Znalost obsahu močoviny, která je konečným produktem metabolismu bílkovin je významným ukazatelem správně sestavené krmné dávky a garantem zajištění optimálního zdravotního stavu dojnice. Do bacheru se dostává močovina jak s krmivem tak i pomocí hepatoruminálního cyklu. Za koncentraci močoviny v krvi je odpovědný přebytek amoniaku v bacheru. K jejímu vylučování z těla dochází močí i mlékem.

IDE et al. (1966) zjistili, že koncentrace močoviny v krvi je závislá na příjmu proteinu a energie. Se zvýšením příjmů NL nebo zvýšeným katabolismem proteinu se zvyšuje i koncentrace močoviny v krevní plazmě. Naopak při zkrmování krmných dávek s nízkým obsahem dusíkatých látek se její koncentrace v krevní plazmě snižuje (ECKART, 1980). Podle literárních údajů existuje závislost mezi koncentrací močoviny v krvi a v mléce. REFSDAL (1983) zjistil závislost mezi koncentrací močoviny v mléce a krvi vyjádřenou hodnotou korelačního koeficientu $r = 0,77$ ($P = 0,99$). OLTNER a WIKTORSSON (1983) uvádějí vysokou hodnotu korelačního koeficientu mezi koncentrací močoviny v plazmě a v mléce ($r = 0,98$), přitom koncentrace v krevní plazmě byla vždy vyšší než v mléce. Podobně těsnou závislost uvádějí IDE et al. (1966), ECKART (1980) a PIATKOWSKI et al. (1981). OLTNER a WIKTORSSON (1983) uvádějí, že změny v množství strávených dusíkatých látek ovlivňovaly koncentraci močoviny v mléce málo v případě, že poměr mezi NL a energií byl udržován konstantní. Avšak změny v zastoupení krmiv, ovlivňující poměr proteinu a energie v krmné dávce, byly doprovázeny rychlou změnou koncentrace

močoviny v mléce. OLTNER a WIKTORSSON (1983) nezjistili významné rozdíly v koncentraci močoviny v mléce mezi ranním a večerním dojením a dále mezi dny v časovém úseku odběru vzorků.

Z vyhodnocení našich experimentů vyplývá, že koncentrace močoviny mléka v intervalu 3,691 až 4,109 mmol/l indikuje vyrovnanou krmnou dávku, koncentrace močoviny nad 4,109 mmol/l souvisí s přebytkem NL v krmné dávce a naopak koncentrace močoviny pod 3,691 mmol/l poukazuje na přebytek energie v krmné dávce a nedostatek NL (HOMOLKA & VENCL, 1993).

Ve shodě s našimi výsledky uvádějí OLTNER a WIKTORSSON (1983), že hlavním činitelem ovlivňujícím koncentraci močoviny v mléce nebylo množství přijatých NL, ale poměr proteinu a energie v krmné dávce. Rozpětí obsahu močoviny v mléce (3,8 až 7,6 mmol/l) bylo vyšší ve srovnání s našimi údaji. MÜLLER et al. (1989) uvádějí závislost koncentrace močoviny mléka na poměru proteinu a energie v krmné dávce, přičemž u vyrovnané krmné dávky udávají hodnotu 4,0 mmol/l. PIATKOWSKI et al. (1981) udávají obsah močoviny v mléce, při testování krmných dávek s rozdílným obsahem NL, ve výši 16,8 mg/100 ml a 33,8 mg/100 ml (tj. 2,797 mmol/l a 5,627 mmol/l).

ZELENÝ & ZELENÝ (1998) doporučují referenční hodnoty močoviny v mléce zvýšit o 0,06 mmol/l při nárůstu denního nádoje o 1 kg tzn., že při vyrovnané výživě odpovídají referenční hodnoty následujícímu rozsahu:

Denní nádoj	Močovina v mléce
kg	mmol/l
10	2,2 – 3,3
20	2,6 – 4,0
30	3,2 – 4,5

V případě hodnoty vyšší, než 4,5 mmol/l se jedná o nadbytek stravitelných dusíkatých látek a nedostatek energie dodané v krmné dávce. Je-li hodnota močoviny pod 3,0 mmol/l mléka, svědčí to o nedostatku stravitelných dusíkatých látek a nadbytku energie v krmné dávce.

HERING et al. (2007, 2008) porovnávali metody stanovení koncentrace močoviny používané v České republice. U vzorků mléka analyzovaných v rámci kontrol užitkovosti je močovina stanovována metodou enzymaticko-konduktometrickou na přístroji Urekvant. Druhou metodou je analýza pomocí infračerveného spektra. Tyto přístroje využívají měření interferometru za podpory tzv. Fourierových transformací. Zjistili, že měření jednotlivými metodami může vykazovat určité diference v závislosti na principu i

lokálním provedením. Tyto možné rozdíly jsou zohledněny vyjádřením nejistot výsledku měření, které laboratoře deklarují.

Podle řady experimentů, ve kterých byl nahrazen sójový extrahovaný šrot vysokým množstvím nedegradovatelného proteinu v krmivech, jako jsou tepelně a chemicky ošetřený sójový extrahovaný šrot, kukuřičný gluten, lihovarské výpalky, pivovarské mláto, rybí moučka, pševá moučka a jejich směsi, lze usuzovat, že ani nedegradovatelné dusíkaté látky nepřinesly, zejména v souvislosti s jejich cenou, odpovídající odezvu v mléčné užitkovosti. Pozitivní vliv na mléčnou užitkovost byl prokázán většinou pouze u ošetřeného sójového šrotu a rybí moučky. V 76 % ostatních srovnání (SANTOS et al., 1998) bylo prokázáno snížení syntézy mikrobiálního proteinu a v důsledku toho i pravděpodobně snížení obsahu mléčného proteinu. Ukázalo se, že spíše než nedegradovatelné dusíkaté látky je nutné zaměřit pozornost na dostatečnou dotaci krmné dávky esenciálními aminokyselinami, speciálně methioninem a lysinem, považovanými v současnosti, z hlediska produkce mléka, za limitující. Má-li nedegradovatelný protein vést ke zlepšení užitkovosti, je účinný jedině tehdy, doplňuje-li vhodným způsobem mikrobiální protein i z hlediska potřeby aminokyselin. Doplněk nedegradovatelného proteinu s nízkým nebo nevyrovnaným obsahem lysinu a methioninu mléčnou produkci spíše sníží než zvýší.

**Tabulka 2: Doporučený obsah NL v krmné dávce pro krávy
(CHAMBERLAIN & WILKINSON, 1996)**

Produkce mléka	Dusíkaté látky (g/kg sušiny)
0	135-145
10	145-155
20	155-165
30	165-175
40	175-180
50	180-190

4. POTŘEBA ESENCIÁLNÍCH AMINOKYSELIN PRO DOJNICE

V poslední době je velmi intenzivně zkoumána aminokyselinová výživa, neboť aminokyseliny jsou základním kamenem pro stavbu tkání a vznik mléčných bílkovin. Jako limitující jsou ve výživě dojnic uznávány především methionin a lysin. Po zjištění, že množství a profil aminokyselin ve střevě jsou velmi důležité pro dosažení maximální mléčné užitkovosti, je jejich obsah zařazen do některých systémů hodnocení NL. Normování potřeby NL se tak rozšířilo o methionin a lysin, stravitelný v tenkém střevě (MetDI a LysDI).

HOMOLKA (1998) uvádí, že v roce 1993 byly ve Francii vydány tabulky, zohledňující množství lysinu a methioninu v krmné dávce pro dojnice (systém LysDI-MetDI, který dále rozvíjí systém PDI). Po výpočtu PDI se stanoví množství limitujících aminokyselin lysinu a methioninu. Pro dojnice byla stanovena potřeba 7,3 % PDIE pro LysDI a 2,5 % PDIE pro MetDI. Minimální (prahové) hodnoty jsou 6,7 % PDIE pro lysin a 2 % PDIE pro methionin. U objemných krmiv se pohybuje obsah MetDI mezi 1,5 až 2,0 % PDIE a 6,5 až 8,0 % PDIE pro LysDI. U koncentrovaných krmiv je to 0,5 až 2,5 % PDIE pro MetDI a 3,0 až 8,2 % PDIE pro LysDI.

Dá se předpokládat, že tyto systémy budou dále zdokonalovány, včetně kvantifikace dalších esenciálních aminokyselin (histidin, treonin). Požadavky dojnic na esenciální aminokyseliny nejsou zatím příliš jasné a jsou stálým předmětem výzkumu. Významným zdrojem aminokyselin se tak mohou stát speciálním způsobem chráněné aminokyseliny, jejichž obal téměř nepodléhá rozkladu v bachoru (pH kolem 7), ale teprve působením velmi nízkého pH ve slezu se obsah stává přístupným. Reakce krav na dotaci methioninem, případně lysinem, je častější v průběhu časně laktace, když je v krmné dávce doporučovaný obsah NL. Krávy za vrcholem laktace reagují nejčastěji zvýšením procenta obsahu mléčné bílkoviny.

Za nejdůležitější způsoby zlepšeného zásobování bílkovinami v tenkém střevě považují HEIMBECK & DVOŘÁKOVÁ (2000) následující způsoby:

- zvýšení obsahu hrubého proteinu v krmné dávce
- zlepšení účinnosti mikrobiální proteosyntézy
- ovlivnění bachorové mikroflóry
- krmení bílkovinami, které vykazují vyšší stabilitu v bachoru
- doplnění dávek o v bachoru stabilní aminokyseliny.

Současně popisují kalkulační model potřeby aminokyselin pro dojnice. V posledních letech se podařilo několika firmám vyvinout metodu účinné ochrany syntetického DL-methioninu před jeho degradací v bachoru a tím umožnit jeho maximální využití a zpřístupnění v tenkém střevě. SLOAN (1995) uvádí výsledky pokusu, v němž došlo při zkrmování TMR, obohacené o 13 g *Smartamine^{MT} M* na kus a den (přípravek, obsahující chráněný methionin), ke zvýšení obsahu mléčné bílkoviny o 0,12 %. PIVA et al. (1996) zjistili, že přidavek *Smartamine^{MT} M* do nízkoproteinové diety mléčnou produkci a obsah i produkci mléčných bílkovin zvýšil na stejnou úroveň, jako při zkrmování vysokoprodukční dávky. KUDRNA et al. (1998) při experimentování se stejným přípravkem zjistili statisticky průkazné zvýšení mléčné užitkovosti o 0,82 kg/ks/den a zvýšení obsahu mléčné bílkoviny o 0,07 %. PIEPENBRINK et al. (1998) považují ze tří zkoumaných systémů hodnocení dusíkaté výživy dojnic za nejúčinnější zvýšení množství lysinu a methioninu tak, aby dosáhly 15 % (lysin) a 5 % (methionin) z předpověděného množství esenciálních aminokyselin v trávenině v dvanácterníku. Svoji platnost v jejich pokuse prokázal i Cornellův systém netto sacharidů a proteinů. O bílkovinách a požadavcích na energii je nutné (GARNSWORTHY & COLE, 1996) uvažovat společně, ne odděleně. Nejen příjem energie ovlivňuje utilizaci proteinů v bachoru, ale k ovlivnění využití energie produkčních živin je důležitá dodávka proteinů do těla zvířat.

Zkrmování několika zdrojů různě degradovatelných NL rozšiřuje dobu pro degradaci NL, takže stálá dostupnost dusíku z degradovatelných NL, doplněná přítomností různě pohotových energetických zdrojů, je zárukou rozvoje bachorových mikroorganismů. V praxi se osvědčila kombinace několika krmiv mezi sebou, jako např. sója, řepkový extrahovaný šrot, mláto, příp. další, což zajišťuje plynulé odbourávání dusíkatých látek v bachoru.

4.1. Aminokyseliny a jejich vliv na mléčnou užitkovost dojnic

4.1.1. Esenciální aminokyseliny ve výživě dojnic

Pro vysokou užitkovost dojnic v první části laktace je nutné zabezpečit nejen vysokou koncentraci energie, ale i odpovídající obsah kvalitních dusíkatých látek. Mikrobiální činností v bachoru a dotací krmné dávky běžnými dusíkatými komponenty nelze v podstatě pokrýt proteinovou potřebu těchto dojnic, respektive potřebu dojnic na aminokyseliny.

Snížený příjem sušiny v tranzitním období redukuje vlivem nedostatku energie tvorbu mikrobiálního proteinu a současně omezuje i příjem dusíkatých látek z krmiva. Klasické diety většinou nekryjí požadavky dojníc na esenciální aminokyseliny, které jsou základním kamenem pro stavbu tkání a vznik mléčných bílkovin. Jako esenciální, čili nepostradatelné, je klasifikováno 10 aminokyselin. Jedná se – podobně jako u monogastrických zvířat – o arginin, histidin, isoleucin, leucin, lysin, methionin, fenylalanin, threonin, tryptofan a valin. Tyto aminokyseliny buď v podstatě nejsou tělními tkáněmi syntetizovány a nebo jsou tvořeny v množství nedostatečném pro požadovanou úroveň užítkovosti. Z neesenciálních aminokyselin bylo zkoumáno – v souvislosti s mléčnou produkcí – působení prolinu a glutaminu. Prolin při infúzi do duodena zvyšoval obsah a produkci tuku v mléce ve střední fázi laktace.

Jako první limitující aminokyseliny pro syntézu mléčného proteinu u dojníc byly nejčastěji určeny lysin a methionin. Jejich limitace byly pozorovány při infuzi jednotlivých aminokyselin nebo jejich kombinací do batoru nebo tenkého střeva a následným měřením vlivu této infuze na retenci dusíku a produkci mléčných bílkovin. Infuzní studie byly potvrzeny při zkrmování v batoru chráněného methioninu a lysinu. Lysin byl identifikován jako nejdříve limitující u mladých telat po odstavu, rostoucího skotu a krav v laktaci, jestliže kukuřice nebo krmiva původem z kukuřice poskytovala většinu nebo veškerý dietetární, v batoru nedegradovatelný protein. Naopak methionin byl identifikován jako nejdříve limitující pro mladá telata po odstavu, rostoucí skot a krávy v laktaci při zkrmování menšího množství kukuřičných krmiv, v dietách s vysokým podílem píce, nebo když většina v batoru nedegradovatelného proteinu pocházela ze sójových produktů, bílkovin živočišného původu nebo kombinací obou. Lysin a methionin byly určeny jako spolulimitující, jestliže krávy v laktaci byly krmeny bez nebo s minimálním množstvím bílkovinného doplňku.

Vedle lysinu a methioninu vyšly v některých pokusech jako limitující ještě fenylalanin, histidin, isoleucin a arginin.

S kvantifikací nároků dojníc na aminokyseliny to není jednoduché. Jsou k tomu využívány jednak faktoriální metody, které jsou matematickým přístupem k výpočtu jednotlivých požadavků a jednotlivých nároků (na zachování života, růst, březost, laktaci, aminokyselinové složení produktů a účinnost využití absorbovaných aminokyselin), tak i další metody, jako je sledování reakcí na dávkování aminokyselin do krmné dávky. V tabulce 3 jsou uvedeny hodnoty stravitelného methioninu a lysinu v krmivech.

Tabulka 3: Hodnoty LysDI a MetDI v krmivech pro přežvýkavce (BAUDET, 1995)

KRMIVO	LysDI (% PDIE)	MetDI (% PDIE)
<i>Pastevní porost - začátek metání</i>	6,98	1,95
<i>Jílek anglický – začátek metání</i>	6,94	1,95
<i>Vojtěška mladá</i>	6,8	1,69
<i>Vojtěška v butonizaci</i>	6,85	1,71
<i>Jetel bílý – počátek květu</i>	7,02	1,74
<i>Kukuřičná siláž</i>	6,94	1,75
<i>Travní siláž</i>	6,99	1,89
<i>Vojtěšková siláž</i>	6,94	1,75
<i>Jetelová siláž</i>	7,05	1,73
<i>Vojtěškové seno</i>	6,76	1,67
<i>Luční seno</i>	7,16	1,93
<i>Vojtěškové úsušky</i>	6,65	1,62
<i>Pšenice zrno</i>	6,58	1,93
<i>Ječmen zrno</i>	6,83	1,88
<i>Oves zrno</i>	6,9	1,94
<i>Kukuřice zrno</i>	5,87	2,01
<i>Podzemnicový extrahovaný šrot</i>	5,52	1,44
<i>Sójový extrahovaný šrot</i>	7,04	1,52
<i>Pěřová moučka</i>	3,08	0,75
<i>Krevní moučka</i>	7,82	1,01
<i>Rybí moučka</i>	8,15	1,74

Optimální užitkovost a minimální zdravotní problémy nutričního charakteru lze u dojníc docílit za situace, kdy krmnou dávkou uspokojíme jak požadavky dojníc tak i

bachorových mikroorganismů, které svými enzymy štěpí strukturální složky krmiv a vytváří značný podíl těkavých mastných kyselin a vysoce kvalitních bílkovin, vstřebávaných v tenkém střevě. O kvalitě mikrobiální bílkoviny blížící se úrovni bílkoviny mléčné, svědčí údaje v tabulce 4.

Tabulka 4: Profily esenciálních aminokyselin (g/100 NL; van SOEST, 1994)

	Svalovi- na skotu	Krav- ské mléko	Bacho- rové bakterie	Bacho- roví prvoci	Kukuři- čný gluten	Pivovar- ské mláto	Sójový šrot
<i>Arginin</i>	7,7	3,7	9,1	9,0	3,2	2,6	8,4
<i>Histidin</i>	3,3	2,7	2,3	2,0	2,4	1,5	2,4
<i>Isoleucin</i>	6,0	6,0	6,4	7,0	4,3	3,5	4,2
<i>Leucin</i>	8,0	9,8	7,3	8,2	16,2	8,5	6,7
<i>Lysin</i>	10,0	8,2	9,3	9,9	1,2	2,1	5,7
<i>Methionin</i>	3,2	2,6	2,6	2,1	2,1	1,3	0,8
<i>Fenylalanin</i>	5,0	5,1	5,1	6,1	6,5	4,8	4,4
<i>Threonin</i>	5,0	4,6	5,5	4,9	2,9	2,8	3,3
<i>Tryptofan</i>	1,4	1,4	N/A	N/A	N/A	N/A	1,3
<i>Valin</i>	5,3	6,7	6,6	5,3	N/A	3,9	3,8

Poměr jednotlivých druhů mikroorganismů, tvořených zejména bakteriemi (10^9 až 10^{11} /ml), prvoky (10^4 až 10^7 /ml) a houbami, je ovlivňován použitou dietou. Při postupu zažívání do velmi kyselého prostředí slezu je mikrobiální protein – mimochodem z hlediska obsahu esenciálních aminokyselin vysoce kvalitní – schopen krýt potřebu proteinu z 50 – 90 %. Dosáhnout maxima produkce jak energie (v podobě těkavých mastných kyselin), tak i mikrobiální bílkoviny vyžaduje zajištění optimálních podmínek v bachoru a jejich stabilitu.

4.1.2. Chráněné aminokyseliny

Významným zdrojem aminokyselin se tak mohou stát speciálním způsobem chráněné aminokyseliny, jejichž obal téměř nepodléhá rozkladu v bachoru (pH kolem 7), ale teprve působením velmi nízkého pH ve slezu se obsah stává přístupným. Reakce krav

na dotaci methioninem, případně lysinem, je častější v průběhu časně laktace, když je v krmné dávce doporučovaný obsah NL. Krávy za vrcholem laktace reagují nejčastěji pouze zvýšením procenta obsahu mléčné bílkoviny.

V pokusech jsme se zabývali přidavky chráněného methioninu do krmných dávek dojnic. V prvním pokusu, který byl uspořádán jako křížový periodický pokus (tab. 5), jsme dojnicím podávali *Smartamine^{MT}M* v množství 12 g/ks/den. Krmná dávka, podobně jako v dalších pokusech, byla tvořena hlavně kukuřičnou a vojtěškovou siláží, vojtěškovým senem a koncentráty.

Tabulka 5: Schéma provedení pokusu

Skupina dojnic	PERIODA		
<i>I.</i>	K ₁	P	K ₂
<i>II.</i>	P ₁	K	P ₂

P - pokusné periody, během nichž **byl** podáván *Smartamine^{MT}M*

K - kontrolní periody, během nichž **nebyl** podáván *Smartamine^{MT}M*

Před zahájením pokusu byla průměrná denní mléčná užitkovost dojnic obou skupin 36,4 kg. Mléčná užitkovost dojnic skupiny I., která začínala experiment kontrolní periodou (K₁), v průběhu tohoto období zůstala v podstatě na stejné úrovni (36,24 kg), zatímco průměrný denní nádoj skupiny II., kde byl v první periodě (P₁) zařazen přídatek 12 g chráněného methioninu, stoupl o 2,86 kg a dosáhl 39,26 kg. Dosažené výsledky mléčné užitkovosti jsou uvedeny v tabulce 6. Výrobce *Smartamine^{MT}M* doporučuje jeho použití zejména v prvních sto dnech laktace, kterými v našem případě v průměru právě končily první periody (K₁,P₁). Rozdíl v mléčné užitkovosti těchto period, 3,02 kg ve prospěch zařazení *Smartamine^{MT}M*, byl statisticky vysoce průkazný (P > 0,01). U první skupiny dojnic došlo mezi první kontrolní (K₁) a pokusnou (P) periodou k poklesu průměrného denního nádoje pouze o 0,16 kg na čemž se mohlo příznivě podílet právě zařazení chráněného methioninu do krmné dávky. Naopak vyřazení *Smartamine^{MT}M* z krmné dávky u II. skupiny (K) znamenalo ve srovnání s první periodou pokles o 1,02 kg, přičemž její užitkovost - pravděpodobně i díky vyššímu nasazení denního nádoje v 1. periodě - zůstala vyšší až do konce pokusu, což může znamenat zvýšení užitkovosti i za normovanou laktaci. Přes opětovné zařazení přípravku do dávky v periodě P₂ došlo k dalšímu poklesu užitkovosti a to o 3,00 kg/ks/den. Nádoj mléka u první skupiny dojnic za třetí periodu (K₂) byl nižší o 2,38 kg, než za periodu druhou. Celkově

za všechna tři období, při nichž byl zkrmován *Smartamine^{MT}M*, byla dosažena průměrná denní užitkovost 36,86 kg, zatímco za všechna období kontrolní 36,06 kg, což je rozdíl 0,80 kg, který byl statisticky průkazný ($P > 0,05$).

Krmná dávka dojnic doplněná methioninem má zvyšovat hlavně hladinu mléčných proteinů. Ze zjištěných údajů je patrné, že u I. skupiny došlo v P periodě, po přidání *Smartamine^{MT}M*, ke vzestupu koncentrace bílkovin o 0,11 %, a to ze 3,10 na 3,21 %, a tato úroveň se udržela i v periodě K₂, která následovala a kde přídavek *Smartamine^{MT}M* použit nebyl, ale došlo k poklesu mléčné užitkovosti. Naopak u skupiny II., která přídávkem *Smartamine^{MT}M* v P₁ pokus začínala, došlo v II. periodě (K) při jeho vyřazení k poklesu obsahu mléčné bílkoviny ze 3,11 na 3,04 %, tj. o 0,07 %. Opětovný vzestup (o 0,17) na 3,21 % následoval ve druhé pokusné periodě, v níž byl opět zařazen *Smartamine^{MT}M*.

Celkově u skupiny I. zařazení *Smartamine^{MT}M* do krmné dávky přineslo zvýšení procentického obsahu bílkovin proti průměru kontrolních period o 0,06 %. U skupiny II. byl průměrný obsah bílkovin z obou pokusných period (P₁, P₂) o 0,12 % vyšší než za období kontrolní ($P > 0,05$). Souhrnně ve všech třech periodách dotovaných *Smartamine^{MT}M* byl obsah mléčné bílkoviny v průměru (3,19 %) o 0,07 vyšší než ve všech periodách kontrolních (3,12 %) ($P > 0,05$).

Tabulka 6: Průměrné ukazatele mléčné užitkovosti

Perioda		1		2		3	
Skupina		I. (K ₁)	II. (P ₁)	I. (P)	II. (K)	I. (K ₂)	II. (P ₂)
Ukazatel	Jednotky						
<i>Mléko</i>	<i>kg/ks/den</i>	36,24	39,26	36,08	38,24	33,70	35,24
<i>FCM</i>	<i>kg/ks/den</i>	30,48	32,31	34,98	34,00	31,48	32,81
<i>Bílkovina</i>	%	3,10	3,11	3,21	3,04	3,21	3,22
<i>Tuk</i>	%	2,94	2,82	3,30	3,26	3,56	3,54
<i>Laktóza</i>	%	4,90	4,91	4,82	4,85	4,78	4,82
<i>Tukuprostá sušina</i>	%	8,75	8,77	8,8	8,68	8,76	8,82
<i>Produkce bílkovin</i>	<i>kg/ks/den</i>	1,12	1,21	1,16	1,17	1,13	1,19

Kromě množství lysinu a methioninu, které je stravitelné ve střevě, je velmi důležitý i jejich vzájemný poměr. Za optimální je považován poměr lysin/methionin 3,0-3,1:1,0. Neodpovídající poměr zhoršuje výsledky mléčné užitkovosti. Případné předávkování methioninem a široký poměr k lysinu vedou ke snížení příjmu sušiny a nevyužití genotypu dojnice. Dorovnání poměru LYS/MET se jeví podle některých výzkumných prací cestou ke snížení množství dusíkatých látek v dietě vysokoužitkových dojnic po otelení, a to z obvyklých 18 – 19 % údajně až na 15 – 16 % sušiny krmné dávky (KD). Důsledkem by měly být i lepší reprodukční ukazatele a zkrácení mezidobí, což je z hlediska ekonomiky chovu dojnic velmi významné, neboť Evropa oceňuje 1 den mezidobí 3,- EUR.

4.1.3. Působení chráněného methioninu

Jak je z tabulky 3 zřejmé, značná část krmiv je schopna zabezpečit dotaci krmné dávky dojnic lysinem, neboť jeho úroveň je většinou na požadované minimální hodnotě 6,7 % PDIE. Podstatně horší situace je v případě methioninu, kde minimální úrovní se přibližuje jen několik krmiv. Z toho jasně vyplývá, že v dietách vysokoužitkových dojnic je většinou nedostatek methioninu, který pak limituje koncentraci mléčné bílkoviny, případně i výši mléčné produkce. Na našem trhu je nyní nabízeno několik přípravků s chráněným („*by pass*“) methioninem, který přechází díky ochraně až do tenkého střeva, kde je absorbován. V pokusech jsme testovali přípravky „*Smartamine*TM“, „*Mepron*® M85“ a „*Metasmart*TM“.

Pro zjištění účinku přípravku *Metasmart* a jeho porovnání se *Smartamine* byl proveden pokus organizovaný jako 3x3 latinský čtverec. Pokus byl uspořádán podle následujícího schématu:

Perioda	Dieta			
I.	K	S	M	K – kontrolní dieta
II.	S	M	K	S – <i>Smartamine</i> TM
III.	M	K	S	M – <i>Metasmart</i> TM

Složení jednotlivých diet je uvedeno v tabulce 7.

Tabulka 7: Složení krmných dávek

Krmivo	Dieta		
	K	S	M
Kukuřičná siláž	20,0	20,0	20,0
Vojtěšková siláž	9,0	9,0	9,0
LKS	4,5	4,5	4,5
Vojtěškové seno	1,5	1,5	1,5
Mláto čerstvé	6,0	6,0	6,0
DO1	8,5	8,5	8,5
Smartamine	---	0,019	---
Metasmart	---	---	0,0425

V případě *Metasmartu* se jedná o nově vyvinutou formu methioninu – isopropylester 2-hydroxyl-4-(methylthio) kyseliny butanové (HMBi). Polovina HMBi, zůstávající v bachoru, je hydrolyzována na HMB a isopropanol. HMB se stává substrátem pro bachorové mikroorganismy, což by mělo pozitivně působit na množství mléka a mléčného tuku, ale pochopitelně to neovlivňuje množství mléčné bílkoviny. Vlivem isopropylesteru je zbývajících 50 % účinné látky absorbováno přes stěnu bachoru, přičemž dochází k hydrolyze a uvolnění methioninu pro dojnici. Tato část hraje roli donoru metabolizovatelného methioninu, poskytujícího dojnici zdroj pro zvýšení obsahu mléčné bílkoviny, nadoje a zlepšujícího zdravotní stav krávy. Velkou výhodou *Metasmartu* je, že je – na rozdíl od *Smartaminu* - odolný vůči technologickému narušení, takže jej lze zapracovat do premixů, směsí a TMR. Množství methioninu a lysinu a jejich vzájemný poměr v našich pokusných dietách uvádí tabulka 8.

Tabulka 8: Průměrný obsah lysinu a methioninu

Krmivo	Dieta		
	K	S	M
Lysin %PDIE	6,72	6,70	6,72
Methionin %PDIE	1,75	2,23	2,23
Lysin/methionin	3,84	3,00	3,01

Zatímco úroveň lysinu se pohybovala na minimální doporučené úrovni u všech diet, tak koncentrace methioninu u dávky kontrolní byla pod doporučenou hladinou a nevyhovující byl i poměr LYS/MET. U diet pokusných („S“ a „M“) byl obsah methioninu upraven na požadovaných 2,2 % PDIE a tím i relace LYS/MET byla na doporučené úrovni 3:1. Nejvyšší průměrná denní užitkovost byla zjištěna právě při zkrmování *Metasmartu*, a to 31,34 kg/ks (tab. 9), což bylo o 1,41 kg více, než u diety „K“, kde nebyl methionin přidáván. Rozdíl v mléčné užitkovosti mezi dietou „M“ a „S“ byl 0,93 kg ve prospěch „M“. Rovněž dávka se *Smartamine*, který nebyl přidáván do jaderné směsi, ale až do vertikálního míchacího vozu (možnost porušení ochrany), byla úspěšnější o 0,48 kg/ks/den než dieta „K“. U obou pokusných dávek („S“ a „M“) došlo k navýšení koncentrace mléčné bílkoviny, a to u *Smartamine* o 0,11 a v případě *Metasmartu* o 0,07 %.

Tabulka 9: Průměrná mléčná užitkovost

Krmivo	Dieta		
	K	S	M
Průměrný nádoj (kg/ks/den)	29,93	30,41	31,34
Bílkoviny (%)	3,34	3,45	3,41
Tučnost (%)	3,80	3,78	3,77
Laktóza (%)	4,78	4,76	4,79
Celkový kasein (%)	2,60	2,65	2,64
Močovina (mg/l)	416,59	434,34	431,62

HAYIRLI et al. (2002) uvádějí faktory ovlivňující příjem živin v době stání na sucho, přičemž mezi ně mj. řadí dietetární faktory, krmivové a živinové složení krmné dávky, fyzikální a agronomické vlastnosti krmiv. Uvádějí, že příjem sušiny nebyl ovlivněn obsahem dusíkatých látek. Nižší příjem sušiny byl způsoben hlavně zvýšením obsahu NDF.

5. PŮSOBENÍ CHRÁNĚNÝCH AMINOKYSELIN V TRANZITNÍM OBDOBÍ

Mikrobiální činností v bachoru a zastoupením dusíkatých látek s nízkou degradovatelností v krmné dávce není kryta proteinová potřeba vysokoužitkových dojnic,

resp. potřeba dojnic na aminokyseliny. Snížený příjem sušiny v době stání na sucho redukuje množství proteinu procházejícího střevy z obou zdrojů, z krmiva i z mikroorganismů. Klasické diety většinou nekryjí požadavky dojnic na esenciální aminokyseliny. RULQUIN (1994) uvádí, že podíl aminokyselin ve střevech dojnic se mění více, než se dříve předpokládalo. SULU et al. (1989) podávali jednotlivě stupňované dávky lysinu, tyrosinu, izoleucinu a methioninu kravám, stojícím na sucho a zjistili u těchto aminokyselin bachorové ztráty 25, 18, 37 a 31 %. VOLDEN et al. (1998) zjistili relativní rychlost degradace methioninu významně nižší při vysoké úrovni krmení než u lysinu, významně nižší však byla při nízké úrovni krmení. Průměrné hodnoty bachorových ztrát byly při všech dávkách a úrovních krmení 16,7 % u threoninu, 22,1 % u methioninu a 20,5% u lysinu. BACH et al. (2000) zjistili, že produkce mléčných bílkovin během časně laktace je méně citlivá na výkyvy koncentrace dusíkatých látek v krmné dávce, než na výkyvy v profilu aminokyselin proteinu krmiva. Podle pokusu, který provedli RULQUIN & DELABY (1997), v bachoru chráněný methionin může být využit ke zvýšení obsahu bílkovin v mléce a to dokonce u dojnic, které jsou v negativní energetické bilanci. XU et al. (1998) zjistili, že vysoké koncentrace chráněného lysinu a methioninu v dávkách během časně laktace (1. až 8. týden) mohou redukovat riziko metabolických poruch a současně zvýšit procento mléčné bílkoviny a to zejména zvýšením frakce kaseinového N₂ a nezvýšením koncentrace mléčného močovinového dusíku.

MURPHY (1999) v pokusu na holštýnsko-fríských kravách při krmení travní siláží nezjistil vliv doplňku proteinů zkrmovaných během stání na sucho na produkci a složení mléka. Naproti tomu zkrmování omezeného množství směsi travní siláže se slámou mělo za následek nižší koncentraci mléčných bílkovin. GREENFIELD et al. (2000) uvádějí, že koncentrace dusíkatých látek v dietě u dojnic v přechodném (tranzitním) období nezlepšuje mléčnou užitkovost v následné laktaci. Jejich výsledky naznačují škodlivé účinky krmení dietami obsahujícími více než 16 % dusíkatých látek. Naproti tomu výsledky pokusu MOORBYHO et al. (2000) ukázaly, že krávy přijímající krmnou dávku chudou na dusíkaté látky akumulovaly méně N na den než je požadováno pro vývoj plodu, což naznačuje, že protein musí být znovu rozdělen z mateřských tkání. V pokusu ROBINSONA et al. (2001) u prvotetek vzrostla, v reakci na proteinový doplněk podávaný v závěru stání na sucho, produkce mléka, zatímco u krav na vyšší laktacích k ovlivnění nedošlo.

Doplněk kyseliny 2-hydroxy-4-methylthiobutanové v krmné dávce s nízkým obsahem methioninu byl účinný pro zvýšení mléčné užitkovosti, ale ne pro energetický metabolismus v játrech (PIEPENBRINK et al., 2004). Experimenty THOMASE et al. (1995)

ukázaly, že produkce bílkovin v mléce může být zvýšena průměrně o 11 % zvýšením poměru metabolický protein vs. metabolizovaná energie v krmných dávkách, podávaných před porodem. Zvýšení podílu nedegradovatelného proteinu z 34 na 41 % v krmné dávce se 14 % hrubého proteinu 30 dnů před otelením neovlivnilo následnou laktaci u multiparních krav (WU et al., 1997). Stejní autoři zjistili, že postruminální doplněk 10,6 g/den methioninu a 15,2 g/den lysinu měl tendenci zvýšit dojivost na počátku laktace.

KUDRNA et al. (2009) provedli skupinový pokus s 36 kusy vysokoužitkových dojnic holštýnského a českého strakatého plemene. Pokus byl zahájen 21 dnů před otelením na dvou vyrovnaných skupinách zvířat po 18 kusech, jejichž krmná dávka se lišila přídatkem 18,2 g chráněného methioninu (*Mepron[®] M85*). Skupina „M“ tento přídatek dostávala, zatímco krmná dávka skupiny „0“ jej neobsahovala. Po otelení byla každá z těchto skupin rozdělena na 2 podskupiny po 9 kusech a to tak, že vždy jedna podskupina dostávala chráněný methionin (M/M, 0/M), zatímco druhá jej nedostávala (M/0, 0/0).

Schéma pokusu bylo následující:

Skupiny před porodem:		M		0	
Skupiny po porodu:	MM		M0		0M 00

Krmné dávky před porodem i po porodu byly podávány *ad libitum* jako TMR. Krmnou dávku v době stání na sucho uvádí tabulka 10. Chráněný methionin (18,2 g) byl obsažen v tranzitní jaderné směsi (tab. 11) zkrmované před porodem i po porodu v množství 2,6 kg/ks/den. V tranzitní směsi „0“ byl jeho podíl nahrazen stejným množstvím řepkového extrahovaného šrotu.

Tabulka 10: Složení krmné dávky před porodem (% ze sušiny KD)

Komponent	Skupina	
	M	0
<i>Kukuřičná siláž</i>	20,0	20,1
<i>Vojtěšková siláž</i>	6,5	6,5
<i>Vojtěškové seno</i>	13,8	13,8
<i>Senáž luskoobilní směsky</i>	41,5	41,5
<i>Tranzitní jaderná směs</i>	18,2	18,1
Obsah živin (ks/den)	M	0
<i>Sušina (kg)</i>	12,65	12,65
<i>Dusíkaté látky</i>	14,54	14,50
<i>PDI-E</i>	9,08	9,08
<i>NEL (MJ)</i>	79,43	79,38
<i>Hrubá vláknina</i>	25,77	25,85
<i>ADF</i>	18,56	18,56
<i>NDF</i>	27,19	27,19
<i>Ca</i>	0,86	0,86
<i>P</i>	0,37	0,37
<i>Na</i>	0,20	0,20
<i>K</i>	1,66	1,66
<i>Mg</i>	0,31	0,31

Tabulka 11: Složení tranzitní jadrné směsi (%)

Komponent	Skupina	
	M	0
<i>Pšenice</i>	23,8	23,8
<i>Ječmen</i>	10,3	10,3
<i>Kukuřice</i>	14,0	14,0
<i>Sójový extrahovaný šrot</i>	32,0	32,0
<i>Řepkový extrahovaný šrot</i>	10,0	10,7
<i>Vitamix S-CH****</i>	4,5	4,5
<i>Mepron*</i>	0,7	----
<i>Sůl krmná</i>	1,0	1,0
<i>Propylenglykol 65</i>	3,0	3,0
<i>Premín porod**</i>	0,7	0,7

* podle výrobce přípravek Mepron obsahuje: D,L methionine min. 85 %, 50 % NL, 2 % tuk, 3 % vláknina, 1.5 % popel, energie 5.2 MJ NEL/kg

** minerálně-vitaminózní směs měla následujícího složení: Ca 15g, P 55 g, Na 40 g. Mg 15 g, vitamin A 500 tis. m.j., vitamin D₃ 120 tis. m.j., vitamin E 1 300 mg, vitamin E (jako alfatokoferol) 1 170 mg, síran měďnatý (pentahydrát CuSO₄ x 5 H₂O jako Cu) 1 200 mg, MnO (jako Mn), 3 500 mg, ZnO (jako Zn 5 500 mg).

*** minerálně-vitaminový doplněk

Průměrný příjem sušiny před otelením byl u dojnic skupiny „0“ 12,518 kg, zatímco u dojnic skupiny s Mepronem to bylo 10,687 kg (tab. 12)

Tabulka 12: Průměrný denní příjem sušiny (kg)

SKUPINA	OBDOBÍ
	Před otelením
M	10,687
0	12,518
	Po otelení
MM	17,293 ^{bc}
M0	17,766 ^a
0M	18,839 ^c
00	19,038 ^{ab}

Skupina dojnic s přidavkem methioninu sežrala před otelením v průměru denně o 1,831 kg sušiny méně, než dojnice bez *Mepronu* v krmné dávce. Podobně byl nižší i příjem všech ostatních živin. Příjem krmiva závisí mj. i na obsahu aminokyselin, zejména methioninu, v krmné dávce. Jak jeho nedostatek, tak i jeho nadbytek (což byl náš případ) snižují příjem krmiva (JELÍNEK & KOUDELA, 2003). HOLCOMB et al. (2001) uvádějí, že mírný pokles příjmu sušiny před otelením nemusí mít negativní dopad na následnou užitkovost. GRUMMER (1993) se domnívá, že pokles příjmu sušiny může mít původ v metabolických nesrovnalostech činnosti jater. Pokles příjmu sušiny 3 týdny před porodem se různí, ale nejčastější bývá kolem 30 % (BERTICS et al., 1992; GRUMMER et al., 1995). Příčiny sníženého příjmu sušiny před porodem nejsou zcela známy, ale mohou souviset s hladinou hormonů (GRUMMER et al., 1990).

Tendence v příjmu sušiny před otelením byly v souladu s následnou spotřebou po otelení. Nejvyšší příjmy sušiny byly opět zaznamenány u dojnic ze skupin, kterým nebyl před porodem přidáván chráněný methionin (0/0 a 0/M). GRUMMER (1995) uvádí, že příjem potravy před porodem je v pozitivní korelaci s příjmem po porodu.

Tabulka 13: Průměrná denní mléčná užitkovost

<i>Ukazatel</i>	<i>Jednotky</i>	Skupina				SEM
		M/M	M/0	0/0	0/M	
<i>Užitkovost</i>	kg/ks/den	34,84	32,32	33,55	33,62	7,315
<i>*Obsah bílkovin</i>	%	3,11	3,22^a	3,04^a	3,12	0,369
<i>Produkce bílkovin</i>	kg/ks/den	1,08	1,04	1,02	1,05	
<i>*Obsah tuku</i>	%	3,54	3,70^a	3,32^a	3,54	0,756
<i>Produkce tuku</i>	kg/ks/den	1,23	1,20	1,11	1,19	
<i>Produkce FCM</i>	kg/ks/den	32,42	30,89	30,14	31,29	6,540
<i>Obsah laktózy</i>	%	4,90	4,95	4,93	4,97	0,184
<i>Produkce laktózy</i>	kg/ks/den	1,71	1,60	1,66	1,67	
<i>*Obsah močoviny</i>	mmol/l	4,8^c	4,4^{bc}	4,6^a	4,9^{ab}	0,893

Nejvyšší denní průměrná mléčná užitkovost 34,84 kg (tab. 13) byla zjištěna u skupiny dojnic M/M, které chráněný methionin dostávaly jak před otelením, tak i po otelení. Následovaly skupiny 0/M (33,62 kg), 0/0 (33,55 kg) a nejnižší nádoj 32,32 kg byl u skupiny M/0. Rozdíly v průměrné denní užitkovosti byly statisticky nevýznamné

($P > 0,05$). Obsah mléčných bílkovin byl nejnižší (3,04 %) u skupiny dojnic 0/0, které methionin nikdy nedostávaly a nejvyšší u skupiny M/0 (3,22 %). U ostatních dvou skupin (0/M a M/M) byla jejich koncentrace téměř shodná (3,13, resp. 3,11 %). Přídavek chráněného methioninu v kterékoli fázi pokusu se projevil zvýšenou koncentrací mléčné bílkoviny. Řada studií naznačuje, že reakce produkce mléka na dotaci methioninem a lysinem je běžnější u krav na začátku laktace než u krav, v pozdní laktaci, přičemž obsah bílkovin je citlivější než produkce mléka (NRC, 2001). Skupiny, které v některé fázi našeho pokusu chráněný methionin dostávaly, měly vyšší koncentraci mléčného tuku. Rozdíly mezi skupinou bez methioninu (0/0) a s methioninem pouze před porodem (M/0) byly 0,38 %, mezi 0/0 a M/M i 0/M byly 0,22 %. SLOAN (1995) zjistil při podávání TMR, obohacené o 13 g/ks/den přípravkem *Smartamine M* zvýšení tučnosti mléka o 0,12 %. Současně s ovlivněním koncentrace bílkovin v mléce byla pozorována, podobně jako v našem pokusu, zvýšená koncentrace mléčného tuku i v dalších experimentech (YANG et al., 1986; BRUNSCHWIG & AUGENARD, 1994; BRUNSCHWIG et al., 1995 a další). Tato skutečnost není ještě dostatečně vyjasněna. Jako jeden z možných důvodů je uváděn možný vliv methioninu do „*de novo*“ syntézy mastných kyselin s krátkými a středně dlouhými řetězci v mléčné žláze (NRC, 2001). Vliv infuze methioninu do dvanácterníku na profil mastných kyselin zjistili např. PISULEWSKI et al. (1996) a CHRISTENSEN et al. (1994). Naproti tomu řada autorů (RULQUIN & DELABY, 1997; KOWALSKI et al., 1999; VARVIKKO et al., 1999 a další) podobný efekt nezjistili. Rovněž je prokázáno, že methionin je donorem metylové skupiny pro syntézu aminokyseliny cholinu (SHARMA & ERDMAN, 1988), přičemž někteří autoři uvádějí, že právě cholin může být limitujícím faktorem pro syntézu mléčného tuku (SHARMA & ERDMAN, 1988; ERDMAN, 1994). V našem pokuse byly jak z hlediska absolutní průměrné denní produkce tuku tak i bílkoviny lepší výsledky u dojnic ze skupin s dotací methioninu s tím, že v obou případech byla nejvyšší produkce u skupiny M/M. Obdobná tendence byla i po přepočtu produkce mléka na produkci FCM. Koncentrace močoviny v mléce mírně nad referenčními hodnotami (JAGOŠ et al., 1985) byly zjištěny u skupin M/M a 0/M.

Z hlediska obsahu methioninu v mléce (tab. 14) byl nejvyšší podíl (0,71) zjištěn opět při zkrmování *Meprou* před otelením i po něm (skupina M/M). Následovaly dojnice, které dostávaly methionin po otelení (0/M – 0,55), po nich skupina s methioninem pouze před otelením (M/0) a nejméně methioninu mléce bylo nalezeno u skupiny bez doplňku methioninu (0/0). Skupina dojnic, která dostávala methionin jak před otelením tak i po něm (M/M), měla nejvyšší podíl všech aminokyselin s výjimkou valinu, fenylalaninu a

histidinu. Nejnižší zastoupení v jejich mléce měly fenylalanin a histidin, jejichž koncentrace nebyly přidavkem chráněného methioninu ovlivněny. Naopak nejnižší podíl většiny aminokyselin byl zjištěn u skupiny bez methioninu, která měla i nejnižší koncentraci mléčné bílkoviny.

Tabulka 14: Průměrný obsah aminokyselin v mléce

Aminokyseliny	Skupiny				SEM
	0/0	0/M	M/0	M/M	
<i>MESSU</i>	0,457	0,550	0,482	0,710	0,2690
<i>*THR</i>	1,213	1,271	1,288	1,383	0,1526
<i>*ALA</i>	0,851	0,918	0,919	1,005	0,0893
<i>*VAL</i>	1,651	1,889	1,777	1,867	0,1865
<i>*ILE</i>	1,313	1,390	1,418	1,506	0,1296
<i>*LEU</i>	2,688	2,825	2,808	3,028	0,2499
<i>*TYR</i>	0,372	0,323	0,359	0,460	0,0834
<i>PHE</i>	0,503	0,473	0,612	0,311	0,3115
<i>HIS</i>	0,656	0,706	0,744	0,642	0,2665
<i>*LYS</i>	2,258^a	2,321^b	2,406^c	2,577^{abc}	0,2293
<i>ARG</i>	1,168	1,175	1,325	1,638	0,5961

O tom, že přidavek chráněného methioninu byl absorbován a zapojil se do metabolismu svědčí jeho hodnoty, zjištěné v krevním séru (tabulka 15).

Tabulka 15: Hodnoty obsahu methioninu v krevní plazmě (mmol/l)

Skupina	Před otelením			Po otelení			
	3 týdny	*2 týdny	*1 týden	*1.týden	*2.týden	*3.týden	*4.týden
<i>M</i>	20,83	24,26	28,17				
<i>0</i>	19,33	19,55	18,55				
<i>MM</i>	21,180	25,217 ^{ab}	29,567 ^{ab}	28,467 ^{ab}	28,417 ^{ab}	25,067	28,100 ^{ab}
<i>MO</i>	20,400	22,825 ^a	26,767 ^{ac}	21,272 ^{ac}	21,933 ^{ac}	22,500	22,200 ^a
<i>OM</i>	19,750	19,133	17,950	27,200 ^{cd}	29,367 ^{cd}	25,083 ^a	27,950 ^c
<i>OO</i>	19,050	20,040 ^b	18,950 ^{bc}	20,583 ^{bd}	19,583 ^{bd}	19,017 ^a	19,020 ^{bc}
<i>SEM</i>	2,1415	2,0896	3,6185	4,524	2,850	3,895	3,676

Pozn.: * a kurzívou jsou označeny ukazatele, u kterých byly zjištěny statisticky významné odchylky. Stejně indexy ve sloupci značí statisticky významný rozdíl ($P \geq 0,05$)

Živá hmotnost dojnic (tab. 16) bez přídatku methioninu v krmné dávce se zvýšila za poslední 3 týdny březosti o 16,2 kg. Obdobně za toto období přibraly dojnice s doplňkem methioninu k krmné dávce 16,4 kg.

Tabulka 16: Průměrná živá hmotnost dojnic (kg)

SKUPINA	Před otelením			Po otelení		
	3. týden	2. týden	1. týden	1. týden	2. týden	3. týden
<i>0</i>	639,7	652,3	655,9	580,9	548	553,1
<i>M</i>	651,8	665,1	668,2	594,7	568,7	564,6
<i>0/0</i>	603,0	605,3	611,0	538,3	515,0	527,7
<i>0/M</i>	676,3	699,3	700,7	623,6	591,0	578,6
<i>M/M</i>	639,5	666,1	669,0	599,4	573,7	563,4
<i>M/0</i>	664,1	664,0	667,3	590,0	563,7	565,8

Úbytek hmotnosti mezi hodnotou v posledním týdnu před otelením a hodnotou v 1. týdnu po otelení byl mezi 69,6 kg (MM) a 85,9 kg (0M). Pokles živé hmotnosti mezi váženími v prvním a třetím týdnu po otelení byl nejnižší u skupiny 00 (10,6 kg), dále následovaly dojnice ze skupin M0 (22,3), MM (35,0 kg) a nejvyšší propad v živé hmotnosti byl zjištěn u 0M (44,9 kg). Změny živé hmotnosti mohly souviset mj. s mléčnou užitkovostí, která byla nejnižší při současně nejvyšší spotřebě sušiny u skupiny 00. Nejvyšší propad byl u skupin MM a 0M, které však měly nejvyšší produkci FCM, ECM a nižší příjem sušiny než krávy skupiny 00.

Reakce dojnic na přídatku chráněného methioninu je výraznější v průběhu časně laktace. Zvýšení koncentrace mléčné bílkovin představuje přibližně 0,1 %, přičemž dochází i ke zvýšení obsahu mléčného tuku.

Jak je patrné z tabulek 17 a 18, nedošlo k výraznému ovlivnění skladby mastných kyselin mléka. Skupiny s methioninem po otelení (M/M a 0/M) měly vyšší obsah kyseliny palmitové ($C_{16:0}$), a dále i kyseliny kapronové ($C_{6:0}$) a γ -linolenové ($C_{18:3} \omega-3$). U skupin, kde byl podáván methionin v jakékoli fázi sledování (0/M, M/0 a M/M), došlo ve srovnání se skupinou bez methioninu k nárůstu obsahu kyseliny laurové ($C_{12:0}$), myristové ($C_{14:0}$) a

arachidonové (C_{20:4} ω-6). U skupiny dojnic, které neměly vůbec přídavek methioninu (0/0) byla výrazně vyšší koncentrace kyseliny olejové (C_{18:1} ω-9). Určitý vliv methioninu na snížení jejich obsahu potvrzuje jejich druhou nejvyšší koncentrací skupina M/0, kde byl po otelení *Mepron* vypuštěn. Neprůkazně vyšší byl zjištěn obsah nasycených mastných kyselin u skupin s methioninem, přičemž nejvíce jich bylo zjištěno u skupiny M/M. Žádoucích, tedy nenasycených mastných kyselin bylo zjištěno nejvíce u dojnic skupiny 0/0. Tato skupina měla i užší poměr ω6/ω3 PUFA.

Tabulka 17: Průměrné hodnoty obsahu mastných kyselin v mléce

Kyselina	Označení	Skupiny				SEM
		0/0	0/M	M/0	M/M	
<i>Kapronová</i>	<i>C 6:0</i>	1,277	1,291	1,269	1,362	0,1987
<i>Kaprylová</i>	<i>C 8:0</i>	0,941	0,953	0,954	0,991	0,1129
<i>Kaprinová</i>	<i>C 10:0</i>	2,176	2,602	2,457	2,678	0,3803
<i>*Laurová</i>	<i>C 12:0</i>	2,772^{abc}	3,423^c	3,213^a	3,369^b	0,4584
<i>Myristová</i>	<i>C 14:0</i>	10,767	11,951	11,278	11,890	1,1378
<i>Myristolejová</i>	<i>C 14:1-n5</i>	1,127	1,178	0,965	0,786	0,3601
<i>Palmitová</i>	<i>C 16:0</i>	34,147	35,136	33,889	35,708	2,1974
<i>Stearová</i>	<i>C 18:0</i>	9,951	8,184	9,844	9,579	1,7679
<i>Elaidová</i>	<i>C 18:1-n9 t</i>	0,158	0,216	0,213	0,146	0,0770
<i>Olejová</i>	<i>C 18:1-n9</i>	24,422	22,135	23,858	22,179	2,4278
<i>γ – Linolenová</i>	<i>C 18:3-n6</i>	0,041	0,048	0,044	0,049	0,0107
<i>*α – Linolenová</i>	<i>C 18:3-n3</i>	0,396^a	0,413	0,462^{ab}	0,389^b	0,0532
<i>Konjugovaná linolová</i>	<i>C 18:2 (9,11)</i>	0,504	0,570	0,533	0,515	0,1166
<i>Arachidonová</i>	<i>C 20:4-n6</i>	0,179	0,203	0,203	0,196	0,0296
<i>*EPA</i>	<i>C 20:5-n3</i>	0,047^a	0,051	0,055^{ab}	0,046^b	0,0051
<i>DHA</i>	<i>C 22:6-n3</i>	0,014	0,011	0,011	0,010	0,0047

Tabulka 18: Hodnoty některých parametrů obsahu mastných kyselin v mléce

INDEX	Skupina				SEM
	0/0	0/M	M/0	M/M	
<i>SFA</i>	66,465	68,046	67,037	69,577	2,493
<i>MUFA</i>	28,669	26,727	27,584	25,014	2,298
<i>PUFA</i>	4,866	5,227	5,379	4,810	0,584
<i>UFA</i>	33,535	31,954	32,963	30,423	2,493
Ω -6	3,439	3,748	3,896	3,491	0,434
Ω -3	0,576^a	0,595	0,659^{ab}	0,561^b	0,064
<i>PUFA/SFA</i>	0,074	0,077	0,080	0,069	0,010
<i>UFA/SFA</i>	0,508	0,470	0,493	0,438	0,056
ω -6/ ω -3	5,984	6,295	5,903	6,231	0,387

6. VLIV KONCENTRACE DUSÍKATÝCH LÁTEK NA PLODNOST

Mnoho pokusů dokazuje, že vysoká koncentrace dusíkatých látek ve výživě snižuje plodnost krav, avšak pokud jde o hranici této koncentrace, jsou výsledky těchto pokusů velmi rozdílné. Např. v jedné americké studii se dokazuje, že počet inseminací na zabřeznutí stoupl, když se koncentrace NL v dietě zvýšila ze 127 na 193 g NL/kg sušiny (tab. 19), zatímco v jiných pokusech byly zjištěny výsledky odlišné.

Tabulka 19: Vliv koncentrace dusíkatých látek ve výživě na plodnost dojnic (ANON, 1984)

<i>Obsah NL (g NL/kg sušiny)</i>	127	163	193
<i>Service perioda (SP)</i>	69	96	106
<i>Dny po otelení do 1. říje</i>	36	45	27
<i>Inseminační index</i>	1,47	1,87	2,47

7. VLIV KONCENTRACE DUSÍKATÝCH LÁTEK NA ZDRAVOTNÍ STAV KRAV

Z praktického pohledu krmení vysokoprodukčních zvířat je nutné si uvědomit, že za optimálních podmínek je produkce mikrobiálního proteinu v batoru konstantní a rovněž obsah dusíku v něm je konstantní. Navíc, aby byla syntéza mikrobiálního proteinu optimální, musí být v batoru krmivem dodáno optimální množství energie. Krmíme-li krmiva s rychle degradovatelným proteinem, nemusí být dusík krmiva plně vyžit na produkci, a to zejména při nedostatku energie v krmné dávce.

Zařazením krmiv s nižším stupněm degradovatelnosti do krmné dávky, posouváme tyto NL krmiva do slezu a další části trávicího traktu, kde jsou následně tráveny na AK, resorbovány a využity na záchovu, nebo na produkci. Obdobného efektu dosahujeme podáváním obdukovaných AK, např. methioninu a lysinu. Obdukce má zabránit degradaci AK v batoru. Příkladem jsou komerční přípravky pod názvem např.: Mepron, Smartamin.

Překrmujeme-li NL, při současném nedostatku energie v krmné dávce, prohlubujeme energetický deficit v organismu, protože na detoxikaci zvýšeného příjmu dusíku (jako amoniaku) musí organismus vynaložit již tak deficitní energii.

Pokud ale mají být NL krmiva (krmné dávky) využity, a to jak jeho degradovaná, tak nedegradovaná složka, je bezpodmínečně nutný přísun optimálního množství energie. Toto není jednoduché splnit u vysokoprodukčních dojnic v první fázi laktace, kde dochází k disbalanci mezi příjmem živin v krmné dávce a jejich výdejem. Překročí-li tato disbalance kompenzační možnosti dojnice, dochází k subklinickým, nebo klinickým projevům onemocnění, jako je např. ketóza. Tento stav umí chovatel v praxi poměrně snadno diagnostikovat pomocí obsahu bílkoviny a močoviny v mléce, pomocí obsahu acetonu v mléce, pomocí rozboru moči, případně s provedením metabolického testu, včetně rozboru krve. Následná opatření zpravidla směřují do úpravy krmné dávky (HARAZIM & HOMOLKA, 2002).

Na základě současných poznatků lze konstatovat, že krmné dávky obsahující více než 20 % dusíkatých látek na 1 kg sušiny krmné dávky, způsobují snížení plodnosti. Vysokoužitkové dojnice s denní užitkovostí nad 50 kg mléka by neměly přijímat více než 190 g dusíkatých látek na 1 kg sušiny KD.

Dojnice, které jsou krmeny nadbytkem bílkovin, vykazují zvýšenou hladinu močoviny v krvi a snížené pH v děloze, což může mít za následek následné horší

zabřezávání (EROLD & BUTLER, 1993). BUTLER et al. (1996) uvádějí, že vysoká hladina močoviny v mléce nebo v krevní plazmě dojnic souvisí jasně s poklesem jejich plodnosti.

8. SEZNAM LITERATURY

ACKERMANN, R. (1998): *Harnstoff in der Milchveihfütterung*, Neuen Landwirtschaft 7

ANON (1984): *Dairy herd fertility*, Ref. Book 259, London, HM80

BACH, A., HUNTINGTON, G. B., CALSAMIGLIA, S., STERN, M. D. (2000): *Nitrogen metabolism of early lactation cows fed diets with two different levels of protein and different amino acid profiles*, J. Dairy Sci. 83, 2585–2595

BARBARO, D. M. (1994): *Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in the diet of dairy cows fed supplemental fat*. J. Dairy Sci. 77: 1618-1629.

BAUDET, H. M. (1995): *Nouvelles tables INRA*, Alimentation, 228, 119-121

BERTICS, S. J., GRUMMER, R. R., CODORNIGA-VALINO, C., STODDARD, E. E. (1992): *Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration in early lactation*. J. Dairy Sci. 75:1914–1923

BRUNSCHWIG, P., AUGEARD, L'. (1994): *Acide aminé protégé: effet sur la production et la composition du lait des vaches sur régime ensilage de maïs*. Journées de Recherches sur l'alimentation et la nutrition des Herbivores 16-17 INRA Thein

BRUNSCHWIG, P., AUGEARD, L'. , SLOAN, B. K., TARAN, K. (1995): *Feeding of protected methionine from 10d pre-calving and at the beginning of lactation to dairy cows fed a maize silage based ration*. Recontres Recherches Ruminants 2: 2

BUTLER, W. R., CALAMAN J. J., BEAM S. W. (1996): *Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle*. J. Anim. Sci., 74:858-865

CHAMBERLAIN, A. T., WILKINSON, J. L. (1996): *Feeding the dairy cow*. Chalcombe Publication

CHRISTENSEN, R. A., CAMERON, M. R., CLARK, J. H., DRACKLEY, J. K., LUNCH, J. M.,

ECKART, K. (1980): *Bestimmung des Harnstoffgehalt in der Milch. Ein Beitrag zur Beurteilung der Protein-und Energieversorgung bei Kühen.* (Inagural – Dissertation.) München, 1980

EROLD C. C., BUTLER W. R. (1993): *Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein.* J. Anim. Sci., 71: 694-701

ERDMAN, R. A. (1994): *Production responses in field study herds fed rumen protected choline.* J. Dairy Sci. 77 (Suppl. 1): 186

FRYDRYCH, Z. (1992): *Intestinal digestibility of rumen undegraded protein of various feeds as estimated by the mobile bag technique.* Anim. Feed Sci. Tech., 37, 161-172

GARNSWORTHY, P. C., COLE, D. J. A. (1996): *Recent Developments in ruminant nutrition* 3. Nottingham: Nottingham University Press.

GREENFIELD, R. B., CECAVA, M. J., JOHNSON, T. R., DONKIN, S. S. (2000): *Impact of dietary protein amount and rumen undegradability on intake peripartum liver triglyceride, plasma metabolites and milk production in transition dairy cattle,* J. Dairy Sci., 83, 703–710

GRUMMER, R. R., BERTICS, S. J., LACOUNT, D. W., SNOW, J. A., DENTINE, M. R., STAUFFACHER R. H., (1990): *Estrogen induction of fatty liver in dairy cows.* J. Dairy Sci. 73:1537–1543. **GRUMMER, R. R. (1993):** *Effect of Feed on the Composition of Milk Fat.* J. Dairy Sci. 74: 3244–3257

GRUMMER, R. R. (1995): *Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow,* J. Dairy Sci.73, 2820-2833

GRUMMER, R. R., HOFFMAN, P. C., LUCK, M. L., BERTICS, S. J. (1995): *Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows.* J. Dairy Sci., 78:172-180

HARAZIM, J., HOMOLKA, P. (2002): *Stanovení degradovatelnosti a střevní stravitelnost dusíkatých látek krmiv u přežvýkavců.* Farmář, č.9: 30-31

- HAYIRLI, A., GRUMMER, R. R., NORDHEIM, E. V., CRUMP, P. M. (2002):** *Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in holsteins*, J. Dairy Sci. 85, 3430–3443
- HEIMBECK, W., DVOŘÁKOVÁ, P. (2000):** *Metabolizovatelné aminokyseliny vo výžive dojníc – kalkulačný model*. Slovenský chov, roč. 5, č. 5, s. 36–37
- HERING, P. - PYTLOUN, J. - HANUŠ, O. – JEDELSKÁ, R. - KOPECKÝ, J.:** (2007) *Porovnání metod analýzy močoviny v mléce*. 4: 37-39
- HERING, P. - HANUŠ, O. - FRELICH, J. - PYTLOUN, J. - MACEK, A. - JANŮ, L. - KOPECKÝ, J. (2008):** *Relationships between the results of various methods of urea analysis in native and enriched milk*. Czech J. Anim. Sci., 53, (2): 64–76
- HOLCOMB, C. S., VAN HORN, H. H., HEAD, H. H., HALL, M. B., WILCOX, C. J. (2001):** *Effects of Prepartum Dry Matter Intake and Forage Percentage on Postpartum Performance of Lactating Dairy Cows*. J. Dairy Sci. 2001 84: 2051-2058
- HOMOLKA, P. (1998):** *Systémy hodnocení energie a dusíkatých látek krmiv*. In: Kudrna, V. et al.: *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj, s.172-180
- HOMOLKA, P., VENCL, B. (1993):** *Koncentrace močoviny v mléce a její vztah k poměru dusíkatých látek a energie v krmných dávkách. [Urea concentration in milk and their relationship to the crude protein and energy ratio in feed rations.]* Živočišná výroba, 38, 529-535
- HOMOLKA, P., TOMÁNKOVÁ, O., KOMPRDA, T., FRYDRYCH Z (1996):** *Hodnocení dusíkatých látek krmiv pro přežvýkavce podle systému PDI*. ÚZPI Praha. Studijní informace-živočišná výroba, 4:1-33
- IDE, Y., SHIMBAYASHI, K., YOSEMURA, T. (1966):** *Effect of dietary conditions upon serum- and milk urea-nitrogen in cows*. Jap. J. veter. Sci., 321-327

- JAGOŠ, P., BOUDA, J., HEJLÍČEK, K., HOJOVEC, J., KOZUMPLÍK, J., KUDLÁČ, E., ROZTOČIL, V., VESELÝ, Z. (1985):** *The diagnostic, therapy and prevention of cattle disease.* (Diagnostika, terapie a prevence nemocí skotu) 1-st ed. Praha, SZN, 472 p. [in Czech]
- KOWALSKI, Z. M., PISULEWSKI, P. M., SPANGHERO, M. (1999):** *Effects of calcium soaps of rapeseed fatty acids and protected methionine on milk yield and composition in dairy cows.* J. Dairy Res., 66: 475-487
- KUDRNA, V., LANG, P., MLÁZOVSKÁ, P. (1998)** *Působení chráněného methioninu na mléčnou užitkovost dojnic.* Czech Journal of Animal Science, 43, 181-186
- KUDRNA, V., ILLEK, J., MAROUNEK, M., NGUYEN NGOC, A. (2009):** *Feeding ruminally protected methionine to pre- nad postpartum dairy cos: efekt on milk performance, milk composition and blood parameters,* Czech J. Anim. Sci., 53, 2009 (9), 395-402
- KVAPILÍK, J., RŮŽIČKA, Z., BUCEK, P. a kol. (2009):** *Ročenka 2008 Chov skotu v České republice.* Českomoravská společnost chovatelů a.s. 95 s. ISBN 978-80-904131-2-2
- Mc CULLOUGH, M. E. (1994):** *Total mixed ration & supercows,* W. D. Howard & Sons Co., 2. vyd.
- MOORBY, J. M., DEWHURST, R. J., TWEED, J. K. S., DHANOA, M. S., BECK, N. F. G. (2000):** *Effects of altering the energy and protein supply to dairy cows during the dry period,* J. Dairy Sci., 83 (8), 1795–1805
- MURPHY, J. J. (1999):** *Effect of dry period protein feeding on post-partum milk production and composition,* Livestock Production Science 57, 169–179
- MÜLLER, S., SCHÜLER, D., HARTUNG, H., REICHARDT, W. (1989):** *Überprüfung des Protein-Energie-Quotienten in Milchkuhrationen mittels „Clausberger Harnstoff-Teststreifen“.* Tierzucht, 43, 34-36
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2001):** *Nutrient requirements of dairy cattle.* 7th Edition. Washington D. C. National Academy of Sciences, USA. 69-85

OLTNER, R., WIKTORSSON, H. (1983): *Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying of protein and energy to dairy cows.* Livestock Prod. Sci., 457-467

PIATKOWSKI, B., VOIGT, J., GIRSCHEWSKI, H. (1981): *Einfluss des Rohproteinniveaus auf die Fruchtbarkeit und den Harnstoffgehalt in Körperflüssigkeiten bei Hochleistungskühen.* Arch. Tiererenähr., 718, 497-504

PIEPENBRINK, M. S., MARR, A. L., WALDRON, M. R., BUTLER, W. R., OVERTON, T. R., SULU, N., BJØRNSTAD, K., GRØNSET, D., VELLE, W. (1989): *Ruminal degradation and outflow of amino acids in cows,* Journal Veterinary Medicine, Ser., A 36, 55-63

PIEPENBRINK, M. S., SCHINGOETHE, D. J. (1998): *Ruminal degradation, amino acid composition, and estimated intestinal digestibilities of four protein supplements.* J. Dairy Sci., 81: 454-461

PISULEWSKI, P. M., RULQUIN, H., PEYRAUD, J. L., (1996): *Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine,* J. Dairy Sci., 79, 1781

POTTHAST, V. (1993): *Richtige Fütterung hilft Umwelt schützen.* Der Tierzüchter, 45, 26-29

REFSDAL, A. O. (1983): *Urea in bulk milk as compared to the herd mean of urea im blood.* Acta veter. scand., 24, 518-520

ROBINSON, P. H., MOORBY, J. M., ARANA, M., HINDERS, R., GRAHAM, T., CASTELANELLI, L., BARNEY, N. (2001): *Influence of close-up dry period protein supplementation on productive and reproductive performance of holstein cows in their subsequent lactation,* , J. Dairy Sci. 84, 2273–2283

RULQUIN, H. (1994): *Protected lysine and methionine in dairy cows rations,* Feed Mix, Vol. 2, No.4: 24-27.

- RULQUIN, H., DELABY, L. (1997):** *Effects of energy balance of dairy cows on lactational responses to rumen-protected methionine.* J. Dairy Sci., 80: 2513-2522
- SANTOS, F. A. P., SANTOS, J. E., THEURER, R. S., HUBER, C. B., THEURER, J. T. (1998):** *Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review.* Journal of Dairy Science Vol. 81 No. 1 215-220
- SHARMA, B. K., ERDMAN, R. A. (1988):** *Abomasal infusion of choline and methionine with or without 2-amino-2-methyl-1-propanol for lactating dairy cows.* J. Dairy Sci., 71: 2406-2411
- SLOAN, B. (1995):** *Nutritional building blocks for profitable milk production, Feed Compounder, Oct.1995: 39-41.*
- SOMMER, A. et al. (1994):** *Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce.* ČAZV, Komise výživy hospodářských zvířat. Pohořelice, 1-196
- THOMAS, C., OFFER, N.W., MOORBY, J., HILL, J. (1995):** *Effect of dry cow feeding regime on milk protein yield, In: Sborník abstraktů, 46. výročí shromáždění Evropské asociace pro živočišnou výrobu, 89*
- TOMÁNKOVÁ, O., KOPEČNÝ, J. (1995):** *Prediction of feed protein degradation in the rumen with bromelain.* Anim. Feed Sci. Tech., 53: 71-80
- TOMÁNKOVÁ, O., HOMOLKA, P. (1997):** *Comparison of enzymatic technique and mobile bag technique for determination of intestinal digestibility of feedstuff undegradable protein. [Porovnání enzymtické metody mobile bag pro stanovení střevní stravitelnosti nedegradovaného proteinu krmiv.] Živočišná výroba, 42: 219-222*
- Van SOEST, P. J. (1994):** *Nutritional ecology of the ruminants, 2nd ed.* Cornell University Press, Ithaca, NY

- VARVIKKO, T., VANHATALO, A., MALAGA, T., HUHTANEN, P. (1999):** *Lactation and metabolic responses to graded abomasal doses of methionine and lysine in cows fed grass silage diets.* J. Dairy Sci., 82: 2659-2673.
- VÁZQUES-ÁÑÓN, M., HOLT, M. D. (2004):** *Feeding 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid to periparturient dairy cows improves milk production but not hepatic metabolism,* J. Dairy Sci., 87, 1071–1084
- VENCL, B. et al. (1991):** *Nové systémy hodnocení krmiv pro skot,* In: Sborník AZV ČSFR, 148: 134
- VOLDEN, H., VELIE, W., HARSTAD, O. M., AULIE, A., SJAASTAD, Ø. V. (1998):** *Apparent ruminal degradation and rumen escape of lysine, methionine, and threonine administered intraruminally in mixtures to high-yielding cows,* J. Anim. Sci., 76, 1232–1240
- WU, Z., FISHER, R. J., POLAN, C. E., SCHWAB, C. G. (1997):** *Lactational performance of cows fed low or high ruminally undegradable protein prepartum and supplemental methionine and lysine postpartum,* J. Dairy Sci., 80, 722–729
- XU, S., HARRISON, J. H., CHALUPA, W., SNIFFEN, C., JULIEN, W., SATO, H. FUJIEDA, T., WATANABE, K., UEDA, T., SUZUKI, H. (1998):** *The effect of ruminal bypass lysine and methionine on milk and composition of lactating cows,* J. Dairy Sci. 81, 1062–1077
49
- YANG, C. M. J., SCHINGOETHE, D. J., CASPER, D. P. (1986):** *Protected methionine and heat-treated soybean meal for high producing dairy cows.* J Dairy Sci, 69: 2348–2357
- ZELENÝ, T., ZELENÝ, J. (1998):** *Močovina v mléce jako ukazatel příjmu dusíkatých látek.* Sušice. Veterinární centru m MVDr. Jiří Zelený, 28 s.
- ZEMAN, L. et al., (1995):** *Katalogu krmiv.* VÚVZ Pohořelice, 466 s.
- ZEMAN, L., HOMOLKA, P., TRINÁCTÝ, J., HARAZIM, J., ŠIMEK, M. (2000):** *Potřeba živin pro skot-degradovatelnost dusíkatých látek.* Krmivářství 6: 18-19