

Vědecký výbor výživy zvířat

Vliv vápníku na kvalitu skořápky a bezpečnost produkce vajec v různých systémech ustájení

Prof. Ing. Eva Tůmová, CSc.
Prof. Ing. Věra Skřivanová, CSc.
Ing. Darina Chodová, Ph.D.
Ing. Jana Vlčková, Ph.D.

Praha, listopad 2017



Obsah

1	Úvod.....	3
2	Teoretická část studie.....	5
2.1	Ustájení slepic nosného typu	5
2.1.1	Klecové systémy	6
2.1.2	Podlahové (alternativní) systémy	7
2.1.3	Vliv systému ustájení na užítkovost slepic a kvalitu vajec	14
2.2	Vaječná skořápka.....	21
2.2.1	Stavba skořápky	21
2.2.2	Význam skořápky z hlediska bezpečnosti produkce vajec	23
2.2.3	Vliv systému ustájení na kvalitu skořápky.....	25
2.3	Minerální výživa slepic nosného typu	26
2.3.1	Vápník	26
2.3.2	Fosfor a hořčík	29
2.3.3	Zinek, selen a mangan	32
2.3.4	Vliv obsahu vápníku na kvalitu skořápky	34
2.4	Skladovatelnost vajec a faktory, které ji ovlivňují	37
3	Experimentální část.....	49
3.1	Materiál a metodika	49
3.2	Výsledky a diskuse	54
4	Závěr.....	67
5	Seznam použité literatury	69

1 Úvod

Vejce jsou zejména ceněna z hlediska jejich vysoké nutriční a biologické hodnoty. Patří tudíž mezi výživově nejhodnotnější potraviny. Obsahují téměř všechny složky potřebné pro výživu člověka. Největší význam zde zaujímají vaječné bílkoviny. Jedná se o plnohodnotné bílkoviny, které obsahují všechny esenciální aminokyseliny v ideálním poměru. Dále je slepičí vejce zdrojem mastných kyselin, vitaminů a minerálních látek. Vysoce kladně se také hodnotí jejich široká možnost využití, chuť a dobrá stravitelnost.

Kvalita vajec je ovlivňována řadou vnitřních i vnějších faktorů. Mezi vnější činitele řadíme hlavně vlivy prostředí (uplatňuje se teplota, světelný režim, vlhkost), úroveň výživy, systém ustájení a s ním související stresové faktory. Dále pak má nezanedbatelný vliv i skladování vajec. Z řady vnitřních faktorů nejvíce ovlivňují kvalitu slepičích vajec období, intenzita a perzistence snášky, genotyp, hmotnost, věk, pohlavní dospělost a zdravotní stav nosnice, délka tvorby vejce a barva skořápky.

Současné intenzivní chovy drůbeže, nabízejí stále nová technologická řešení, která usnadňují práci a zvyšují produktivitu. Nicméně, tyto systémy ne vždy odpovídají přirozeným potřebám ptáků. Ignorování vhodných životních podmínek zvířat není jen etický problém, ale i praktický, neboť pohoda a komfort ustájení se promítají do vyšších přírůstků, zdraví a produkce zvířat. V Evropské unii a ve světě jsou v současnosti vejce produkována v intenzivních systémech, zejména v obohacených klecích, donedávna to byly ještě také klece konvenční, a na podestýlce. Každý způsob systému ustájení a technologického řešení je spojen s určitými výhodami, ale i problémy. Klecové systémy jsou v současné době ekonomicky nejvýhodnějším systémem ustájení. Jejich předností je zejména vysoká produkce vajec na m² podlahové plochy, vysoká produktivita práce, lepší zdravotní stav nosnic, nízké procento znečištěných vajec a vysoká hygiena chovu. Na druhou stranu v neobohacených klecích však nosnice mají pouze omezenou možnost projevit své přirozené a komfortní chování a je zde vyšší podíl vajec s porušenou skořápkou. Obohacené klece představují spojení výhod konvenčních klecí, jako je chov v menších skupinách, díky kterým je předcházeno stresu ze sociální hierarchie a navíc je zde nosnicím umožněno projevit své přirozené vzorce chování díky hřadům, snáškovým hnízdům, popelišti a zařízením na obrus drápů, kterými jsou tyto klece vybaveny. Výhodou alternativních systémů ustájení je především v možnosti volného pohybu a projevu svých vrozených instinktů, ale i možnosti úniku při napadení jiným jedincem. Naproti tomu jsou zde slepice v přímém kontaktu s trusem, v halách je vyšší prašnost a produkce amoniaku. V těchto systémech také není

možné, aby nosnice vytvořily skupiny se stabilním sociálním pořádkem, a tak dochází k častým střetům. Pohyb slepic a nižší teplota rovněž zvyšují spotřebu krmiva. Proto zajištění optimálních podmínek v chovu vyžaduje vysokou odbornou úroveň ošetřovatelů.

Se zvyšujícím se povědomím spotřebitelů o otázkách bezpečnosti potravin se změnilo i vnímání kvalitního vejce, a to od čistoty skořápky, fyzikálních vlastností až po bakteriální kontaminaci. Rovněž převažuje zájem o vejce produkovaná v systémech, které jsou ke slepicím šetrnější. S příchodem nové směrnice EK 74/1999, která vešla v platnost v roce 2012 a nařizuje nahrazení konvenčních klecí klecemi obohacenými, nebo alternativním typem ustájení, se objevilo mnoho prací, které sledovaly vliv různých systémů ustájení na kvalitu vajec.

Kritéria pro kvalitní vejce zahrnují takové různorodé a důležité aspekty jakými jsou bezpečnost, nutriční a organoleptické vlastnosti, z nichž všechny musí být kontrolovány od výrobce až ke spotřebiteli. Pro chovatele slepic, zemědělce, potravinářský průmysl, třídírny vajec a marketingové společnosti je hlavní prioritou dodávat bezpečný a kvalitní produkt, který je akceptován spotřebiteli.

Kvalita vaječné skořápky je jeden z důležitých parametrů kvality vajec a má velmi významný vliv na skladování a manipulaci. Porušená a znečištěná skořápka také představuje vysoké riziko mikrobiální kontaminace vaječného obsahu. Vejce kontaminována mikroorganismy pak hrají v chovech drůbeže důležitou roli jak v patologii, tak i v šíření chorob. Mikroorganismy mohou zapříčinit zvýšení embryonální mortality, snížení líhivosti, zvýšení mortality u čerstvě vylíhlých kuřat a ani infekce u lidí způsobené např. salmonelami nejsou neobvyklé.

2 Teoretická část studie

2.1 Ustájení slepic nosného typu

Chov slepic se ve vyspělých zemích realizuje převážně v intenzivních podmínkách. Z hlediska ustájení se v řadě zemí uplatňuje tzv. welfare, který respektuje životní pohodu zvířat a vychází z přirozeného druhového chování zvířat. V souvislosti s ustájením drůbeže se aktivizují různé skupiny ochránců zvířat, kteří vyžadují, aby se v chovech zajišťovaly „optimální podmínky“. Tyto požadavky jsou v chovu nosnic legalizovány Směrnicí Rady Evropské Unie 1999/74EC, která stanoví minimální standardy pro ochranu nosnic. Dá se říci, že tato rozhodnutí jsou spíše politická, protože nerespektují základní faktor, tj. že domestikací divokých zvířat, která se pak dlouhodobě šlechtila, se podstatně ovlivnily jejich vlastnosti a návyky. Rovněž není možné objektivně posoudit jaké kombinace různých negativních podmínek, kterým jsou zvířata v průběhu chovu vystavována, jsou pro ně větší nebo menší zátěží. Je samozřejmé, že ani jeden ze současných ani výhledově uvažovaných systémů ustájení nespĺňuje a ani nemůžeme splňovat všechny podmínky, které si pro dosažení „pohody zvířat“ vymyslel člověk. Proto je třeba při posuzování systémů ustájení hledat určité kompromisy, které budou přijatelné jak pro zvíře, tak i pro chovatele.

Na počátku 80. let se v Evropě projevil zvýšený zájem o welfare slepic nosného typu. Přesto, že chov slepic v klecích je ekonomicky nejvýhodnější, začaly se v Evropě v souvislosti s welfare diskutovat i jiné systémy ustájení. Konvenční klece byly zakázány ve Švýcarsku v roce 1991. V roce 1999 vešlo v Evropě v platnost nařízení EK 74/99, kdy konvenční klece v členských zemích nesměly být uváděny do provozu od roku 2003 a v roce 2012 byly zakázány. Od roku 2012 jsou povoleny pouze obohacené klece se 750 cm² podlahové plochy na slepici, snáškovým hnízdem, podestýlkou, hřadem a obrušováním drápů.

V USA v tomto směru se o podobných předpisech neuvažuje, ale některé firmy mají požadavky na farmy, od kterých odebírají vejce, aby pro slepice v klecích byl prostor v kleci min. 464 cm². Do roku 2008 bylo v USA možné chovat slepice v kleci při 432 cm², v Kanadě byl od roku 2003 zvýšen minimální prostor na slepici na 484 cm² podlahové plochy (Farrant, 2004).

2.1.1 Klecové systémy

Chov slepic v klecích je v současné době ekonomicky nejvýhodnější systém ustájení. Předností je vysoká výroba vajec z m^2 podlahové plochy, vysoká produktivita práce, lepší zdravotní stav slepic, vyšší hmotnost vajec. Určitým nedostatkem je vyšší výskyt vajec s porušenou skořápkou. V klecových systémech je produkováno nízké procento znečištěných vajec s malou bakteriální kontaminací skořápky a nemožnost příjmu trusu s rezidui metabolismu výměny látkové a zajištění čerstvosti všech sebraných vajec – slepice nemohou nikam zanášet. Udržují jejich kvalitu na standardní úrovni. V důsledku vysokého stupně automatizace a hustot osazení haly, dobrého využití krmiva bez výkyvů ve snášce a nízkého úhynu jsou výrobní náklady na jedno vejce ve srovnání s ostatními systémy chovu nejnižší. Při vysokém počtu A vajec se jedná o systém zajišťující při stejných prodejních cenách vajec nejvyšší rentabilitu jejich výroby (Košar et al., 2004).

Klece se rozdělují na obohacené a neobohacené. Neobohacené klece mají krmítko, napáječky, odklíz trusu a sběr vajec. V zemích EU se nesmějí dle směrnice EK používat od 1. 1. 2012. Obohacené klece mají kromě krmení, napájení, odklizu výkalů a sběru vajec také snáškové hnízdo, popeliště, zařízení na obrušování drápů a další.

Konvenční klece

Konvenční klece pro slepice nosného typu jsou obvykle malé, sestavené z bodově svařovaného pletiva. Jsou vybavené pouze krmítkem, napáječkami, systémem sběru vajec a odklizu trusu. Slepícím poskytují malý prostor, ve kterém mohou projevit pouze omezené možnosti přirozeného repertoáru chování. Díky velkému zájmu laické veřejnosti se prostor klece v posledních letech zvýšil. V rámci EU, kde platí směrnice 74/1999 EK bylo na slepici 550 cm^2 podlahové plochy, v řadě evropských zemí $600 - 700 \text{ cm}^2$. Naproti tomu v USA je to kolem 450 cm^2 a v řadě případů i 350 cm^2 . Takto stísněný prostor sice umožňuje lepší ekonomiku produkce, ale pro zvířata je omezující ve všech životních projevech, zvyšuje riziko zranění a oděru peří. Předpisy pro neobohacené klecové systémy dále stanovují 10 cm délky krmítka, z klece musí být přístupné 2 kapátkové nebo kalíškové napáječky. Sklon podlahy klecí nesmí být větší než 14 %. Dále 65 % plochy klece musí mít výšku minimálně 40 cm a v žádném místě nesmí klesnout pod 35 cm. Hlavní výhodou klecí jsou nízké náklady na produkci, vysoký stupeň mechanizace, dobrá kontrola zdravotního stavu a kvalita vajec (Tauson, 2005).

Obohacené klece

Obohacené klece se začaly budovat po přijetí směrnice 74/1999 EK s cílem spojit výhody konvenčních klecí a současně poskytnout slepicím možnost přirozeného druhového chování. Součástí obohacených klecí jsou hřady, snášková hnízda, popeliště a zařízení na obrousování drápů. V kleci je větší prostor, 750 cm² na slepici. V současné době je využití obohacených klecí předmětem rozsáhlého výzkumu. Klec nemá mít menší plochu než 2000 cm², výška klece má být minimálně 45 cm. Sklon podlahy nemá přesáhnout 14% a na jednu slepici má být krmný prostor minimálně 12 cm. Při napájení kapátkovými nebo kalíškovými napáječkami musí mít každá nosnice v dosahu nejméně 2 napáječky. Součástí těchto klecí mají být zařízení, která umožňují obrousování drápů, hřady v délce 15 cm na slepici.

Typů obohacených klecí je poměrně velké množství, ale na druhou stranu jsou malé zkušenosti jak velké a pro kolik slepic by klece měly být. Appleby et al. (2002) uvádějí, že v Německu jsou využívány klece pro skupiny o 60 kusech, zatímco v UK a Švédsku jsou klece konstruovány pro 6 – 10 slepic. Ukazuje se, že malé skupiny jsou vhodné jak z hlediska užitečnosti, tak i z pohledu welfare. Pokud jsou obohacené klece dobře konstruovány a jsou v nich chovány menší skupiny slepic pak je možné dosáhnout podobné užitečnosti jako u konvenčních klecí (Tauson, 2005). Na druhou stranu můžeme právě v obohacených klecích zaznamenat velké rozdíly v užitečnosti mezi modely (Wall a Tauson, 2002).

2.1.2 Podlahové (alternativní) systémy

Termín alternativní ustájení je spojen se směrnicí EK 74/1999 a zahrnuje všechny systémy mimo klecí. V současné době jsou tyto chovy častěji označovány jako podlahové. Některé alternativní systémy byly využívány ještě před zavedením klecí a jsou považovány za méně intenzivní. Některé intenzivnější alternativní systémy byly vyvinuty v průběhu posledních 25 let, zejména aviary. Také alternativní způsoby ustájení mají poskytovat zvířatům vhodné podmínky a pro přirozené chování zvířat by měly zahrnovat snášková hnízda, podestýlku, hřady a odpovídající krmítka a napáječky. Požadavky, které by měly alternativní systémy splňovat, jsou rovněž uvedeny ve směrnici 74/1999 EK.

Alternativní systémy ustájení slepic respektují volný pohyb nosnic, umožňují popelení, běhání a létání. Zajišťují možnosti hrabání, hřadování, snášky vajec v hnízdech, dostatek krmného a napájecího prostoru. Na druhou stranu jsou nosnice více stresovány sociálním složením hejna, přístupem ke krmivu, vodě.

Dle ochránců zvířat je nejvhodnější způsob chovu slepic výběhový s velikostí skupin 200 - 2000 kusů. Při těchto systémech ustájení se zapomíná na to, že slepice vznikly z kura bankivského, který žije v asijských džunglích v sociálních skupinách sestávajících z 10-20 slepic a 1 kohouta. V chovu ve velkých skupinách je slepice schopna poznat pouze 20 zvířat, se kterými vytváří sociální skupiny a synchronizuje s nimi svoje aktivity. Při volném pohybu dochází k neustálému narušování složení těchto skupin a je jednou z příčin kanibalismu. Dále dochází ke zvýšení počtu zevních i vnitřních parazitů, zvýšení počtu onemocnění zažívacího a dýchacího aparátu. V tomto systému je nejhorší kvalita vajec, vejce mají znečištěnou skořápku (53% proti 11% v kleci), možnost většího výskytu reziduí z prostředků na odčervení a léčení, vyšší nebezpečí přenosu salmonelózy a koli-infekcí.

Ve srovnání s klecovými systémy je nižší snáška, vyšší spotřeba krmiva, vyšší úhyn. Tyto systémy vyžadují větší chovatelské zkušenosti. Náklady na produkci 1 vejce jsou v alternativních chovech o 30 - 40% vyšší v porovnání s klecemi.

Pro alternativní chovy slepic jsou v Evropské unii stanoveny požadavky s platností od 1. 1. 2002. Hustota osazení nemá přesáhnout 9 ks na m² podlahové plochy, při použití řetězových krmítek musí na 1 slepici připadat krmný prostor minimálně 10 cm a u talířových krmítek minimálně 4 cm. Na 1 kapátkovou nebo kalíškovou napáječku může připadat maximálně 10 nosnic. Snáškové hnízdo se počítá minimálně pro 7 slepic. V hale musí být hřady, 15 cm na slepici, se vzdáleností řad 20 cm.

Aviary = voliéry

Aviary byly vyvinuty v 70. letech minulého století ve Velké Británii jako systém vycházející z klecí, ale umožňující slepicím volný pohyb. Umístění krmítek a napáječek v několika úrovních umožnilo udržovat koncentraci slepic mezi 15 – 20 kusy na m² v závislosti na počtu etáží. Tato zařízení umožňují nosnicím pohybovat se v celém prostoru haly, a to i mezi různými patry, které mohou být maximálně čtyři. Tento systém představuje kombinaci volného pohybu a několika etáží s chovem na hluboké podestýlce a umožňuje zvýšit hustotu obsazení haly. Jedná se zpravidla o více podlažní „baterie“, různě řešených konstrukcí bez dělicích přepážek a dveří. V uličkách mezi dvěma řadami konstrukcí je nastlaný různý materiál, sloužící nosnicím k hrabání. Prostor na hrabání může být umístěn i v krytých přístavbách po stranách haly. Podlaha voliér bývá tvořena nejčastěji z plastu nebo z drátěného roštu. V každém podlaží jsou zpravidla instalována krmítka, napáječka a hřady. V některém podlaží mohou být umístěna i snášková hnízda. U některých typů jsou hnízda umístěna mezi dvěma řadami jejich konstrukcí, případně i na bočních stěnách haly. Šikmá

podlaha hnízda snižuje nebezpečí styku sneseného vejce s trusem a umožňuje vykulení vajec na sběrný pás, kterým jsou dopravována na sběrný stůl nebo třídičku vajec. Trus propadává roštovou podlahou na pásový dopravník umístěný pod každým podlažím. U některých typů voliér je řešené provzdušňování a tím i vysušování trusu. V horním podlaží voliér, které často představuje odpočinkovou zónu, jsou většinou umístěny jen hřady, zřídka i napáječky.

Výzkum spojený s tímto systémem ustájení byl realizován především v Nizozemsku v 80. letech a vedl ke sjednocení konstrukce (Blokhuis a Metz, 1995). V tomto systému mají slepice přístup na podestýlku ze 3 etáží s drátěnou podlahou. Krmítka jsou umístěna ve 2 spodních patrech, napáječky ve všech třech. Hřady jsou umístěny přes horní etáž. Pod každou drátěnou etáží je umístěn nekonečný pás na odkliz trusu. Snášková hnízda jsou mezi jednotlivými řadami. Koncentrace v tomto systému dosahuje 20 ks/m² podlahové plochy. Současně s výzkumem v Nizozemsku probíhalo ověřování aviarů také v Německu, ve Švýcarsku a Švédsku (Abrahamsson a Tauson, 1995). Podle současných požadavků má v aviarech být 18 ks/m² podlahové plochy haly, tj. pod 9 ks/m² v každé etáži (směrnice 74/1999 EK).

Ustájení na podestýlce

Ustájení na podestýlce je tradičním způsobem chovu slepic, na kterém je v současné době povoleno umístit 9 ks/m² podlahové plochy (směrnice 74/1999 EK). Tato nízká koncentrace způsobuje problémy s vytvořením optimálních podmínek prostředí, zejména v zimě, kdy je velmi obtížné udržet požadovanou teplotu, což vyžaduje používat vytápění. Hřady jsou v hale rovnoměrně rozmístěné, aby nedocházelo ke koncentraci trusu v některých částech. Snášková hnízda jsou obvykle podél stěn haly, popřípadě uprostřed. Podestýlkový systém bez hřadů nesmí být používán v EU od roku 2006. Ustájení na podestýlce poskytuje zvířatům dostatečný prostor pro projev celé šíře repertoáru chování. Je zde poměrně snadná kontrola zdravotního stavu, a pokud se podaří snížit počet vajec snesených mimo snáškové hnízdo pod 1 % zlepšuje se i kvalita vajec (Tauson, 2005).

Mezi výhody patří volný pohyb nosnic, mávání křídly, poskakování, popelení, tedy možnost vykonávat přirozené instinkty, zpevňování kostry a hrabání řeší obrušování drápů. Velký prostor nezpůsobuje mechanický oděr peří. Při velkém podílu roštové podlahy, na které si nosnice očistí běháky, při uzavíratelných hnízdech s pečlivou kontrolou jejich čistoty a mechanizovaném sběru vajec v průběhu dne je kvalita vajec lepší než z výběhových chovů. V halách s dřevěnou konstrukcí, s rošty a obtížně čistitelnými hnízdy dochází k výskytům vnějších parazitů. Velké skupiny nosnic, zvýšená prašnost s vyšší produkcí amoniaku a přímý

kontakt s trusem zvyšují riziko rychlého rozšíření infekčních nemocí, postihujících hlavně zažívací a dýchací aparát, rozmnožení střevních cizopasníků, a tím i nutnost častějšího podávání léků. Dochází k ozobávání peří a ke kanibalismu. Kvalita vajec může být ovlivněna i počtem vajec snesených mimo hnízdo. Vejce snesená do podestýlky v ní mohou být zahrabaná i několik dní. Pronikání plísni a bakterií do vnitřního obsahu vejce zvyšuje riziko vzniku onemocnění u lidí. V porovnání s vejci vyrobenými v klecových chovech jsou výrobní náklady z podestýlkových systémů vyšší v důsledku vyšší spotřeby krmiva na produkci vajec (Lay et al., 2011). Hulzebosch (2006) uvádí ve svém pokusu, kde porovnával užitek v klecích, na podestýlce, v aviarech a v ekochovu, užitek 316 vajec v ustájení na podestýlce. Nižší užitek je ovlivněna zvýšeným počtem naklovaných a nestandardních vajec, vyšším podílem hůře zpeněžitelných vajec, zvýšeným úhynem, nižší produktivitou práce apod.

Výběhové systémy

Výběhové systémy umožňují přístup slepicím mimo halu. V hale jsou umístěna krmítka, napáječky a snášková hnízda, současně haly poskytují i úkryt. Ve výběhu je třeba zajistit úkryty a ochranu proti slunci a také vlastní výběh, ve kterém by nemělo docházet k přenosu parazitů. Oplocení by mělo zajišťovat ochranu proti predátorům. Jako stín lze využít vysazený strom nebo keř. Výhodou je možnost vyhledávání potravy (semínka, žížaly, kamínky), mohou se popelit venku (Lay et al., 2011). Výběhové chovy jsou z alternativních systémů ustájení nejnáročnější. Jsou zde vysoké investiční náklady, nízká snáška, vyšší spotřeba krmiva, horší hygienické podmínky. Koncentrace do sedmi ks na m² podlahové plochy. Vybavení haly je stejné jako při ustájení slepic na podestýlce. V případě, že se nedaří udržet dobrou čistotu vaječné skořápky, zvyšuje se ve vaječném obsahu podíl reziduí po léčivech z látek obsažených v trusu, i zvýšené množství těžkých kovů, které ulpěly na povrchu zelených rostlin, jež nosnice konzumují. Náklady na výrobu vajec jsou nejvyšší ze všech dříve uvedených systémů chovu (Košář et al., 2004). Zhoršený zdravotní stav a zhoršení pohody nosnic v důsledku zvýšených stresů při neustálém obnovování sociálních vztahů je obdobné jako při jejich chovu na podestýlce nebo ve voliérách. Riziko výskytu kanibalismu se u tohoto systému chovu ještě zvětšuje zejména při intenzivním slunečním osvětlení. Výrazně se zvyšuje riziko výskytu infekčních a parazitárních onemocnění v důsledku zatrudění výběhu exkrementy nosnic i volně žijících ptáků. Výběhy se velmi obtížně čistí a desinfikují. (Košář et al., 2004).

Aktuální intenzivní produkce vajec má za cíl maximalizovat zisk a tak nabízejí stále nová technologická řešení, která usnadňují práci a zvýšení produktivity. Tyto systémy však ne vždy odpovídají přirozeným potřebám nosnic. Ignorování dobrých životních podmínek zvířat není jen etický problém, ale i praktický problém, protože pohoda a komfort systémů ustájení zlepšují přírůstky hmotnosti, zdraví a produktivitu nosnic. V současné době je široká možnost systému ustájení a každý systém má své technické řešení a je spojen s určitými problémy, jako je sociální stres, vliv nepříznivých teplotních a vlhkostních podmínek, neschopnost vyjádřit přirozené chování (Sosnowka-Czajka et al., 2010). V práci Lay et al. (2011) je shrnuté předpokládané chování v různých systémech ustájení. Za zmínku stojí krmení, které se téměř nemění, z čehož vyplývá, že různé systémy ustájení nemají tak velký vliv na příjem potravy jak by se dalo očekávat. Na rozdíl od krmení se značně mění míra kanibalismu, který přímo ovlivňuje pohodu nosnic ve skupině a čím „alternativnější“ systém chovu, tím větší kanibalismus. V klecích je relativně nízký projev tohoto chování, zatímco např. u aviáru je projev vysoký. A i takto způsobená nepohoda nosnic se projevuje nepříznivě v kvalitě vajec.

Náročnost chovu souvisí s přístupem slepic do venkovního výběhu, jeho velikostí a udržováním. Velký problém ve výběhových chovech může být výskyt závažných onemocnění, jako je ptačí chřipka, proto je důležité zastřešení výběhů, respektive ochrana slepic před volně žijícími zvířaty, která mohou být zdrojem nákazy. V rámci nových výběhových chovů jsou významné především tzv. wintergarden a systém Rondeel.

Specifikou výběhových chovů jsou wintergarden, ve kterých je omezený výběh přímo navazující na halu. Tento výběh je krytý, s pevným povrchem, na který navazuje pak výběh nekrytý. U kryté části výběhů se doporučuje dát podestýlku, která zlepšuje podmínky pro potravní chování, především hrabání. Rozšíření hrabání může být jedním z faktorů, které omezují výskyt kanibalismu. Podestýlka je slepicemi využívána i pro popelení. Výhodou jsou lepší podmínky pro slepice v porovnání s klasickým výběhovým systémem. Do krytého výběhu, který je omezený a má plochu do 0,5 m² jsou nosnice pouštěny při nepříznivém počasí, v období chladných dnů podzimu, zimy a jara. Přístup do krytého výběhu omezuje nepříznivý vliv klimatických podmínek a v případě, že navazující výběh je travnatý, umožňuje regeneraci tohoto výběhu. Do krytého výběhu se umísťují napáječky. Přístup slepic do výběhu v průběhu dne by měl být co nejpozději, kolem 10. h dopolední pro eliminaci zanášení vajec a pronikání chladného vzduchu do haly. O tomto systému ustájení a jeho vlivu na slepice je velmi málo informací. Jednou ze studií, která se zabývala využíváním výběhů je práce Icken et al. (2011). Ve studii bylo použito několik hejn mladých a starších nosnic různých užitkových hybridů. Výběhy byly otevírány v 10,00 h a zavírány v 15,00 h. Nosnice

strávily ve výběhu v průměru 1,5 – 2,5 h. kratší dobu ve výběhu pobývaly mladé nosnice ve srovnání se staršími. Starší nosnice si postupně na výběh zvykají a tak prodlužují dobu pobytu. Při celodenním přístupu do výběhu bez omezení je doba pobytu slepic ve výběhu je ovlivněna ročním obdobím, v letním období slepice pobývají ve výběhu 5 h a více hodin, v zimním období se doba pobytu zvířat významně zkracuje.

Dalším z výběhových systémů, které patří mezi nejnovější a také nejvíce omezující nepříznivé faktory na slepice je Rondeel. Tento systém byl vyvinutý v Nizozemí v roce 2010 a v této době uveden do provozu. Hlavním cílem tohoto systému je vytvoření výběhového systému vstřícného ke slepicím z hlediska specifického druhového chování, minimalizace klimatických vlivů a příznivých nákladů na produkci. Van Niekerk a Reuvekamp (2011) uvádějí, tento systém je možné budovat až pro 30 000 slepic, je rozdělen do šesti sekcí umístěných v kruhu kolem centrální části. V centrální části probíhá sběr vajec. Budovy šesti částí umožňují i rozdílnou kapacitu pro slepice v počtu 3 – 6 tis. ks slepic. Celý komplex není úplně uzavřený a jednotlivé části jsou oddělené výběhy. Tím je každá sekce rozdělena na denní a noční část. Noční část je vybavena technologií, především aviary. Denní část zahrnuje omezené výběhy, ve kterých je podlaha pokryta „umělou trávou“. Část je také pokryta podestýlkou pro popelení slepic. Uprostřed každého výběhu jsou umístěny napáječky. Střecha denní části je z průhledného materiálu, který umožňuje přístup denního světla, ale chrání proti větru a dešti. Celý systém umožňuje i přístup návštěvníků po obvodu stavby, kdy je možné vidět zvířata a podmínky, ve kterých jsou chována. Z první studie zaměřené na porovnání chování v systému Rondeel a běžných výběhových chovech v Nizozemí vyplynulo, že slepice v novém systému projevovaly méně stresu prostřednictvím ozobávání a kanibalismu. Kanibalismus byl zaznamenán především v denní části systému. Rondeel umožnil zlepšení hygieny v chovu, i když je nezbytné věnovat více pozornosti čištění „umělé trávy“ ve výbězích.

Systémy ustájení pro slepice nosného typu se neustále vyvíjejí a objevuje se řada nových modifikací v rámci již používaných systémů. Při hodnocení nových systémů ustájení je posuzován zejména welfare, ale při jiných kritériích jsou tyto aspekty spíše negativní. Typickým příkladem jsou výběhové systémy, které umožňují slepicím svobodu pohybu s plným využitím celého repertoáru přirozeného druhového chování. Na druhou stranu je nevýhodou to, že není možné optimalizovat podmínky prostředí, které jsou důležité pro plné využití genetického potenciálu slepic a slepice jsou vystaveny extrémním klimatickým podmínkám. Dalším negativem těchto výběhových systémů je velké zatížení zvířat parazitárními a infekčními nemocemi, které vyžadují použití léčiv. Negativem je i zvýšený

stres způsobený sociálním chováním v důsledku chovu slepic ve velkých skupinách po několika tisících zvířat. V souvislosti s vývojem systémů ustájení se také hodnotí i kritéria, podle kterých se welfare zvířat posuzuje. V současné době jsou nejvýznamnějšími kritérii morbidita a mortalita slepic. Dobrá životnost hejna je indikátorem dobrého zdraví zvířat a také i pohody v daném systému ustájení. Naproti tomu vysoký úhyn značí zdravotní problémy. Při zdravotních problémech zvířata obecně trpí a toto utrpení vede k úhynu, a tudíž vyšší úhyn obecně představuje utrpení zvířat a špatný welfare. Zvýšený úhyn rovněž způsobuje další stresovou zátěž způsobenou adaptací zvířat na změnu hierarchie ve skupině, která se projevuje agresí. Významným projevem agrese u slepic je netypické ozobávání a kanibalismus. Dalším problémem jsou i vzájemná zranění a fraktury kostí (Holt et al., 2011). Nosnice ustájené v klecích mají slabší kosti, zejména tibie (Abrahamson a Tauson, 1997, Lichovnicková a Zeman, 2008). Nižší pevnost tibie v klecích jak u bělovaječného hybrida, tak i u čistokrevného plemene česká slepice zjistili Tůmová et al. (2016). Autoři uvádějí, že u obou genotypů z klecí měly tibie také průkazně nižší hmotnost, ale vyšší obsah Ca než tibie slepic z podestýlky.

Elson (2014) ve své studii porovnával výběhový chov, aviary s různým počtem etáží a obohacené klece v chovech slepic v Německu, Nizozemí, Spojeném království. Z výsledků vyplynulo, že průměrný úhyn ve výběhových chovech byl 14 %, zatímco v chovech s obohacenými klecemi pouhá 3 % za celý snáškový cyklus. Přestože ve sledování byly zahrnuty různé genotypy, variabilita mezi hybridy byla mezi 4 – 5 %. Vysoký úhyn ve výběhových chovech souvisel se zvýšeným výskytem endoparazitů a infekčních nemocí, protože slepice v chovu byly v kontaktu s volně žijícími zvířaty, od kterých řadu nemocí získaly. Dalším faktorem, který se na zvýšených ztrátách podílel, byli i predátoři, kteří ulovili řadu zvířat, která nebyla dohledatelná. Autor dále uvádí, že výběhové chovy sice přinášejí určité zlepšení v životě zvířat, ale vysoký úhyn naznačuje velmi negativní vliv na pohodu slepic. Na základě sledování pak tato studie uvádí, sledované faktory, které indikují pohodu zvířat a stres, že obohacené klece jsou nejlepším systémem ustájení pro slepice ve srovnání se všemi ostatními. Někdy uváděný zvýšený výskyt fraktur kostí v klecových systémech je podle studie srovnatelný ve výběhovém chovu i obohacených klecích.

Dalším problémem výběhových chovů je bezpečnost produkce vajec. Holt et al. (2011) uvádějí, že vejce z výběhových chovů jsou poměrně více špinavá a kontaminována mikroorganismy včetně salmonelózy, ale také chemickými kontaminanty jako jsou čpavek, skleníkové plyny, nitráty a fosfor. Z prostředových kontaminantů se často setkáváme dioxiny, polychlorovanými bifenoly, pesticidy a těžkými kovy. Problémem je především kontaminace

mikroorganismy, které mohou penetrovat do vejce přes póry nebo porušenou skořápku. Podíl vajec s porušenou skořápkou je vyšší u vajec z výběhových chovů ve srovnání s obohacenými klecemi, což souvisí především s lepší konstrukcí snáškových hnízd v klecích ve srovnání s výběhovým systémem. Vyšší podíl prasklin skořápky u vajec z výběhových chovů souvisí především s odlišnou strukturou skořápky. Vejce z klecí mají sice tenčí skořápku, ale pevnější, což je pravděpodobně dáno velikostí a sklonem krystalů uhličitanu vápenatého, které tvoří skořápku. V závěru je podobně jako v práci předchozí uvedeno, že je třeba věnovat zvýšenou pozornost vývoji nových výběhových systémů.

2.1.3 Vliv systému ustájení na užitkovost slepic a kvalitu vajec

Hlavním ukazatelem užitkovosti slepic je produkce vajec. Většina prací zaměřených na porovnání snášky v konvenčních klecích a v alternativních systémech uvádí vyšší produkci v klecích. Například Hughes a Dun (1986) udávají u slepic ISA Brown mezi 20. a 68. týdnem věku snášku 251 vajec v klecích, zatímco ve výběhovém systému 245 vajec. Podobně i Appleby et al. (1988) zjistili snášku 242 vajec v klecích a 224 při ustájení na podestýlce. Voslářová et al. (2006) poukazují na signifikantně vyšší snášku v klecích v porovnání s podestýlkou, současně však v klecích byl i vyšší výskyt vajec s porušenou skořápkou. Také Mostert et al. (1995) konstatují, že v klecích byla vyšší snáška než na podestýlce nebo ve výběhovém systému. Tyto výsledky jsou v souladu s údaji Tausona (1995), který poukazuje na nižší užitkovost o 3 – 5% v aviarech než v klecích. Dále Tiller (2001) ve své studii vycházející z výsledků farem poukazuje, že alternativní systémy jsou z hlediska snášky nesrovnatelné s klecovými bateriemi. Snáška v klecích v jím zjišťovaných chovech byla 332 vajec, zatímco ve výběhových chovech 257. V literatuře se můžeme setkat i s jinými výsledky, kdy například Abrahamsson et al. (1996) neuvádějí vliv ustájení (klecí a aviarů) na snášku slepic.

Poměrně komplexní studie o vlivu ustájení na užitkovost slepic je v práci Hulzebosche (2006), ze které jsou patrné nejhorší výsledky užitkovosti v ekologickém chovu (tabulka 1).

Tabulka 1 Rozdíly v užitkovosti slepic v závislosti na systému ustájení (Hulzebosch, 2006)

Ukazatel	Klece	Výběh	Podestýlka	Aviary	Ekologický chov
Délka snášky (dny)	370	367	375	391	347
Intenzita snášky (%)	89,3	87,7	88,2	88,1	87,5
Snáška (ks)	319	302	316	325	294
Hmotnost vajec (g)	62,2	61,6	62,5	62,6	63,7
Produkce vaječné hmoty (kg)	19,0	18,6	19,8	20,0	18,6
Konverze krmiva (kg)	2,07	2,26	2,28	2,24	2,27
Úhyn (%)	6,3	9,4	9,2	10,7	6,7

V České republice je rovněž realizován výzkum zaměřený na porovnání různých způsobů ustájení. První výsledky byly publikovány Kleckerem et al. (2003), který zjistil, že průměrná snáška byla dosažena nejvyšší u slepic chovaných v klasické klecové technologii 349,7 ks vajec, dále v obohacené kleci 338,2 ks vajec. Nejnižší snášku vykázaly slepice na podestýlce 254,5 ks vajec. Dále uvádějí, že průměrná intenzita snášky byla nejvyšší u klasických klecí 86 %, u obohacených klecí 83,2 % a na podestýlce jen 61,7 %. Toto snížení bylo podle autora způsobeno požíváním vajec a následné nemožnosti podchycení všech vajec. Další dlouhodobý výzkum byl realizován na ČZU v Praze. Ledvinka et al. (2008) ve třech pokusech porovnávali neobohacené klece, obohacené klece, aviary a podestýlka (tabulka 2). Výsledky tří sledování ukázaly, že v souladu s údaji v literatuře průkazně vyšší užitkovosti dosahují nosnice z klecových systémů ustájení, a to jak z konvenčních klecí, tak i z obohacených klecí oproti nosnicím ustájeným ve voliérách a podestýlkových chovech. V klecových systémech je dosahováno nejvyšší snášky, nejnižší spotřeby krmiva na jednotku produkce a nejnižších úhynů. Sledování též ukázala, že na užitkovost má významný vliv i volba vhodného hybridu do zvoleného systému ustájení.

Tabulka 2 Užítkovost nosnic (Ledvinka et al., 2008)

Ukazatel	Systém ustájení			
	Konvenční klece	Obohacené klece	Voliéra	Podestýlka
Počet snesených vajec (ks)	272	287	268	198
Spotřeba krmiva na 1 vejce (g)	143 ^b	140 ^b	172 ^{ab}	195 ^a
Spotřeba krmiva na 1 kg vaječné hmoty (kg)	2,34	2,22	2,76	3,28

^{a,b} Průkazné difference mezi průměry $P \leq 0,05$

Systémem ustájení může být ovlivněna kvalita vajec. Vyšší hmotnost vejce v klecovém systému zaznamenalo ve svých studiích několik autorů (Leydecker et al., 2001; Jenderal et al., 2004; Lewko a Gornowicz, 2011). Guesdon a Faure (2004) porovnávali hmotnost vajec z obohacených a konvenčních klecí. Z výsledků je patrné, že nenašli mezi těmito dvěma typy žádný významný rozdíl. Podobně také další autoři neshledali rozdíly v hmotnosti vejce mezi voliérou a konvenční klecí. Avšak Abrahamsson et al. (1996) zaznamenali vyšší hmotnost vejce z klecových systémů oproti vejcím z voliéry. U vajec z volného výběhu byla detekována v průměru vyšší hmotnost oproti obohaceným a konvenčním klecím (Hidalgo et al., 2008). Dukić-Stojčić et al. (2009) srovnávali kvalitu vajec v klecových systémech a ve volném výběhu a zjistili, že těžší vejce (66,74 g) byla snesena od nosnic ustájených v klecích. Tyto výsledky korespondují s výsledky Lewka a Gornowicze (2011), kteří zaznamenali v průměru o 4,71 g těžší vejce v klecích oproti podestýlce a o 3,13 g v porovnání s volným výběhem. Výsledky Pištěkové et al. (2006) však ukázaly, že těžší vejce s vyšší hmotností bílku a žloutku byla od nosnic z podestýlky. Van den Brand et al. (2004) uvádějí, že nosnice ve volném výběhu snášejí těžší vejce v porovnání s těmi z neobohacených klecí.

S hmotností korespondují i podíly jednotlivých komponent vejce. Ledvinka et al. (2004) uvádějí vyšší podíl žloutku a skořápky u vajec slepic ustájených na podestýlce. Průkazně ($P \leq 0,05$) nižší procentuální zastoupení bílku bylo zjištěno v klecích (64,2 %) než při ustájení ve výběhu (65,4 %) nebo v ekologickém chovu (Hidalgo et al., 2008). Pištěková et al. (2006) shodně uvádějí vyšší podíl a hmotnost bílku u vajec z podestýlky v porovnání s klecemi (62,32 % a 38,62 g *versus* 61,59 % a 37,31 g). To je v souladu se zjištěním dalších autorů, kteří naměřili průkazně vyšší hodnoty podílu bílku u vajec z podestýlky než z klecí.

Z řady studií (Pavlovski et al., 1994; Ledvinka et al., 2004) je zřejmé, že vyšší kvalita vaječného obsahu byla zaznamenána u vajec od slepic z klecí. Vejce z tohoto systému ustájení dosahovala vyšších hodnot u Haughových jednotek, indexu bílku a žloutku. Pavlovski et al.

(1994) a Hidalgo et al. (2008) uvádějí nejvyšší naměřené hodnoty Haughových jednotek u vajec z klecí. Mimoto vyšší hodnota výšky bílku byla naměřena také u vajec z klecí ve srovnání s výběhem a ekologickým chovem (Hidalgo et al., 2008) nebo podestýlkou (Singh et al., 2009). Na druhou stranu Leyendecker et al. (2001) stanovili vyšší kvalitu bílku vyjádřenou Haughovými jednotkami u vajec z voliér než z klecí. Dále vysledovali průkazně vyšší index žloutku u vajec snesených na podestýlce oproti klecím. V pokusu Van den Branda *et al.* (2004) nebyl zjištěn průkazný vliv systému ustájení na ukazatele kvality vaječného obsahu. Pouze barva žloutku byla prokazatelně ($P < 0,001$) tmavší u vajec z alternativního systému ustájení (11,0) než z klecí (9,3).

V některých studiích, byl sledován rozdíl v bakteriální kontaminaci mezi různými systémy ustájení a to zejména mezi podestýlkou a klecovým systémem. Harry (1963) zjistil, že skořápka vajec z hluboké podestýlky měla 15 krát více bakterií a vyšší podíl potencionálních organismů způsobujících zkažení vejce než skořápka vajec z klecí. Podobně také Quarles et al. (1970) zaznamenali, že na podestýlce bylo v průměru 9 krát více bakterií ve vzduchu a 20 až 30 krát více aerobních bakterií na skořápce, než v klecovém systému ustájení. Počínaje rokem 2012 jsou v EU povoleny pouze obohacené klece a neklecové alternativní systémy jako jsou voliéry, podestýlka nebo výběhové systémy. V současnosti je proto věnována větší pozornost vlivu systému ustájení na hygienu vajec. Vývoj směrem k obohaceným klecím a alternativním systémům ustájení může mít důsledky na kvalitu vajec a to zvýšeným výskytem popraskaných a špinavých vajec (Wall a Tauson, 2002) nebo bakteriální kontaminace skořápky (De Reu et al., 2005a). Fiks – van Niekerk (2005) poukázal na vyšší kontaminaci vaječné skořápky v alternativním ustájení stejně jako na pozitivní korelaci mezi celkovým množstvím aerobních bakterií v hale a počáteční kontaminací skořápky. De Reu et al. (2006a) uvádějí výrazně vyšší průměrnou kontaminaci skořápky ($P < 0,001$) aerobními bakteriemi u vajec pocházejících z alternativního systému ustájení ve srovnání s těmi z konvenčních klecí (5,46 versus 5,08 log (KTJ)/na skořápku). Také De Reu et al. (2005b) zaznamenali pozitivní korelaci mezi koncentrací bakterií ve vzduchu hal a počáteční kontaminací skořápky. Tato studie také prokázala, že vejce z podlahy mají mnohem větší bakteriální zátěž ve srovnání s vejci snesenými v hnízdech, a že pásový dopravník je klíčovým bodem pro kontaminaci zde nahromaděných vajec. De Reu et al. (2006b) zaznamenali, že vyšší kontaminace vaječné skořápky vede k možné větší penetraci mikroorganismů a následné kontaminaci vaječného obsahu. Jednou z výhod konvenčních klecí bylo, že nosnice byly odděleny od trusu, a to velmi efektivním způsobem. V obohacených klecích může přítomnost hřad zhoršit účinné propadávání trusu přes drátěné dno.

Kromě toho hřady, podlahová plocha a hnízda společně ovlivňují hygienu prostředí klece a vajec. Ve studii Wall et al. (2008) zaznamenávali koncentrace špinavých vajec v obohacených (4,2 %) a konvenčních klecích (5,4 %). Jejich výsledky a další publikované studie v poslední době ukazují na to, že u dobře navržených obohacených klecí lze dosáhnout podobných výsledků v podílech špinavých vajec jako v konvenčních klecích (Wall a Tauson, 2007).

V dalších experimentech bylo zjištěno, že vejce z voliéry byla kontaminována vyšším počtem aerobních bakterií než vejce z klecí (De Reu et al., 2005a). Rozdíly byly více než 1 log (a to od 5,1 až do 6,0 log KTJ/na skořápku), s mnohem vyšším počtem bakterií u vajec snesených na podlaze voliér (až 7 log KTJ/na skořápku). Co se týká gram-negativních bakterií, nebyly nalezeny žádné průkazné rozdíly mezi klecemi a alternativními typy ustájení (De Reu et al., 2005a). Ve studii našli značné rozdíly mezi kontaminací celkovým množstvím aerobních bakterií u vajec z obohacených klecí (v rozmezí od 4,24 do 5,22 log KTJ/na skořápku) a z neklecových systémů (v rozmezí od 4,35 do 5,51 log KTJ/na skořápku). Byly zde dále sledovány i rozdíly v rámci neklecového systému ustájení, kde průměrná kontaminace skořápky aerobními bakteriemi ve čtyřech podlahových systémech byla 5 log KTJ/na skořápku a velikost kontaminace ve třech voliérových systémech se od ní nijak významně nelišila (4,95 log KTJ/na skořápku). Huneau - Salaün et al. (2010) nezaznamenali významné rozdíly mezi kontaminací vajec z volného výběhu a z ekologického chovu. De Reu et al. (2007), kteří sledovali velikost penetrace do vaječného obsahu, konstatují, že kontaminace vaječného obsahu byla u vajec z obohacené klece 1,9 % (5/269 vajec) a 2,3 % (10/432 vajec) z neklecových chovů.

V našich podmínkách byla zjišťována kontaminace vajec a penetrace mikroorganismů v pokusu, který navazuje na předešlé výsledky, které byly zveřejněny mimo jiné i v metodice pro praxi (Ledvinka et al., 2008). Pro názornost je v následující tabulce 3 uvedena kontaminace vaječné skořápky v absolutních hodnotách. Je zřejmé, že kontaminace je několikanásobně větší u vajec z podlahových chovů ve srovnání s klecemi.

Tabulka 3 Vliv systému ustájení nosnic na mikrobiální kontaminaci vajec (Ledvinka et al., 2008)

Charakteristiky kontaminace vaječné skořápky	Systém ustájení				Průkaznost
	Konvenční klece	Obohacené klece	Voliéra	Podestýlka	
Escherichia coli (KTJ/vejce)	5 881	12 831	2 344 443	2 011 737	NS
Enterococcus (KTJ/vejce)	295 ^b	324 ^b	13 819 ^{ab}	46 037 ^a	$P \leq 0,05$
Celkový počet mikroorganismů (KTJ/vejce)	22 213 ^b	30 895 ^b	3 172 167 ^b	8 472 860 ^a	$P \leq 0,05$

^{a,b} Průkazné difference mezi průměry $P \leq 0,05$

V dalším pokusu (Vlčková, 2016) byly porovnávány dva kontrastní systémy ustájení, obohacené klece a výběh. Z výsledků v Tabulce 4 je patrné, že vejce ve výběhu byly signifikantně více kontaminovaná než vejce v klecích.

Tabulka 4 Kontaminace vajec v obohacených klecích a ve výběhu (Vlčková, 2016)

Charakteristiky kontaminace vaječné skořápky	Systém ustájení		Průkaznost
	Obohacená klec	Výběh	
Escherichia coli (KTJ/vejce)	2,83 ^b	4,49 ^a	0,001
Enterococcus (KTJ/vejce)	1,04 ^b	2,88 ^a	0,05
Celkový počet mikroorganismů (KTJ/vejce)	3,64 ^b	5,07 ^a	0,001

^{a,b} Průkazné difference mezi průměry $P \leq 0,05$

Bakteriální kontaminace vaječné skořápky může být ovlivněna několika faktory, jako jsou koncentrace bakterií ve vzduchu haly (De Reu et al., 2005a) či krmivo. Díky krmivu může docházet ke zvyšování vlhkost trusu a následně k vyšší míře trusem kontaminovaných vajec, ale také ke zvýšené mikrobiální kontaminaci zdánlivě čistých vajec. V některých studiích byl celkový počet aerobních bakterií ve vzduchu hal v pozitivní korelaci s počáteční kontaminací vaječné skořápky (De Reu et al., 2005a). V průměru 4 log KTJ/m³ vzduchu bylo zaznamenáno v obohacených i konvenčních klecích ve srovnání se 100krát vyššími hodnotami (> 6 log KTJ/m³) z voliérovaných systémů. Monitoring poletujícího prachu ukázal, že koncentrace prachu byla vyšší u podestýlkových systémů oproti konvenčním klecím (Huneau

- Salaün et al., 2010). Stejně tak i v dalších studiích autoři pozorovali vyšší koncentraci prachu jak na podestýlce, tak i ve voliérách ve srovnání s klecovým systémem ustájení. Vzhledem k tomu, že prach obsahuje bakterie, je pravděpodobné, že v podlahových systémech bude zaznamenána výrazněji vyšší koncentrace oproti konvenčním klecím (De Reu et al., 2005a). Tato nižší mikrobiální kvalita vzduchu v alternativních systémech může ovlivnit množství bakterií na vejci (Quarles et al., 1970). Huneau - Salaün et al. (2010) uvádějí, že hlavním faktorem ovlivňujícím množství polétavého prachu v podlahových typech ustájení bylo přidání slámy nebo písku na podestýlkovou plochu na začátku snáškového období. Také přidání substrátu pro popelení vedlo ke zvýšenému množství polétavého prachu ulpívajícího na vejcích. Některé výsledky Quarlese et al. (1970) poukazují na to, že vyšší teploty mohou mít vliv na zvýšení bakteriální kontaminace vaječné skořápky. V provozním sledování při ustájení v obohacených klecích sledovali Svobodová et al. (2015) rozdíly v kontaminaci vzduchu při bílém, modrém, červeném a zeleném světle v jednotlivých etážích. Barva světla neměla na kontaminaci vzduch v hale vliv. Zjistili však signifikantní interakci etáže a barvy světla na kontaminaci vajec *Escherichia coli* a *Enterococcus*. Nejvyšší hodnoty *Escherichia coli* byla ve střední etáži při žlutém světle (6,06 log KTJ/vejce) a nejnižší v horní etáži rovněž při žlutém světle (3,03 log KTJ/vejce). Také u enterokoků byly nejvyšší kontaminace vajec při žlutém světle ve střední etáži (5,26 log KTJ/vejce), ale nejnižší horní etáži při modrém světle (2,45 log KTJ/vejce).

Mezi další vnější faktory, které ovlivňují velikost kontaminace a mikrobiální penetrace do vejce, je také způsob a doba skladování. Teplota je důležitým činitelem, který ovlivňuje penetraci. Při vytvoření teplotního rozdílu mezi teplým vejcem a chladnou bakteriální suspenzí je pozorována rychlejší penetrace. Předpokládá se, že teplotní rozdíl v kombinaci s vlhkostí poskytují bakteriím ideální podmínky pro penetraci přes vaječnou skořápku (Berrang, 1999). Z toho důvodu je velice riskantní, jsou-li vejce přemístěna z chladného skladu do prostoru s pokojovou teplotou, kde může následně dojít ke kondenzaci vodních kapek na povrchu skořápky. De Reu et al. (2006b) studovali vliv doby skladování na penetraci různých druhů bakterií. Nezávisle na sledovaném druhu, penetrace přes vaječnou skořápku byla nejčastěji zaznamenána po 4. až 5. dnu. Po 6 dnech dosáhla penetrace 80 % a po 14 dnech 95 %. Braun et al. (1999) sledovali *Salmonella enteritidis* během skladování při různých teplotách a vlhkostí vzduchu. Ta byla zjištěna ve vaječném obsahu již po 3 dnech skladování při teplotách vyšší jak 15 °C, avšak v jiné studii se vliv teploty skladování na *Salmonella enteritidis* nepodařilo prokázat. Při teplotě 10 °C byla první penetrace zaznamenána po 15 dnech skladování. Avšak ve studii Radkowski (2002) nebyla *Salmonella enteritidis* ve

vaječném obsahu nalezena ani po 21 dnech skladování bez ohledu na skladovací teplotu (2 - 30 °C) a relativní vlhkost (normální nebo zvýšená).

2.2 Vaječná skořápka

2.2.1 Stavba skořápky

Kvalita skořápky je předmětem velkého zájmu, neboť souvisí s ekonomickými ztrátami způsobenými poškozenou skořápkou vajec, které tvoří 6 - 8 % celkové produkce vajec (Hamilton et al., 1979; Dunn et al., 2011). Hlavní funkcí skořápky je mechanická a mikrobiální ochrana vnitřního obsahu vajec a také kontrola výměny vody a plynů mezi vejcem a prostředím (Nys et al., 1999; Rodriguez-Navarro et al., 2002).

Co se týká samotné stavby, vaječná skořápka zahrnuje podskořápečné blány, skořápku tvořenou z mamilární (vnitřní) a palisádové vrstvy (vnější, houbové, spongiózní), a povrchové vrstvy zvané kutikula (Gautron et al., 2014). Její celková tloušťka je 300 - 400 μm (Dunn et al., 2011). Rilley et al. (2014) uvádějí tloušťku skořápky větší na ostrém pólu a tenčí skořápku na tupém pólu. Celková tvorba skořápky trvá přibližně 17 hodin a je považována za nejdelší fázi tvorby vejce (Nys et al., 2004). První fáze o délce cca 5 hodin souvisí se začátkem mineralizace, kdy jsou první krystaly vápníku ukládány do organické hmoty na povrchu vnější podskořápečné blány (Hincke et al., 2012). Tato fáze je ovlivněna geneticky. Druhou fází je fáze růstu, neboli aktivní kalcifikační fáze, kdy se vytváří palisádová vrstva skořápky (2/3 celkové tloušťky skořápky) a trvá 12 hodin (Gautron et al., 2014). Poslední fází je závěrečná fáze kalcifikace s koncem mineralizace a ukládáním kutikuly, která trvá 1,5 až 2 hodiny (Hincke et al., 2012; Gautron et al., 2014). Během finálního stádia tvorby, skořápka získává kompletní pigmentaci.

Z hlediska struktury, podskořápečné blány jsou tvořeny z pletivové sítě vláken kolagenu (10 %) a 70 - 75 % proteinů a glykoproteinů zahrnujících deriváty lysinu, které jsou organizovány do morfologicky odlišné vnitřní a vnější blány obklopující bílek (Hincke et al., 2012). Formování obou podskořápečných blan trvá přibližně jednu hodinu a jejich celková tloušťka je okolo 100 μm . Pro tvorbu skořápky je nezbytná vnější podskořápečná blána, která obsahuje krystalizační centra (Nys et al., 2004). Struktura vnější blány je primárním faktorem úspěšné vazby iontů vápníku a krystalizace uhličitanu vápenatého (Jelínek a Lhotecký, 1996). Počátkem tvorby skořápky je, že krystalizační centra na vnější podskořápečné bláně přitahují vápenaté soli, které začínají formovat vnitřní mamilární vrstvu skořápky (Solomon, 2010),

kteřá se skládá z kónických výběžků organického původu, jejichž vrcholy směřují k vnější podskořápečné bláně, s kterou jsou spojené. Na širší části výběžků, které směřují k vnějšku, začíná kalcifikace skořápky. Mamilární vrstva skořápky je hlavním zdrojem vápníku pro vyvíjející se embryo (Abdel-Salam et al., 2006).

Na mamilární vrstvu navazuje zevně bez ostré hranice palisádová vrstva s největší tloušťkou, tvořená sloupci krystalitů vápníku, které místy k povrchu vzájemně splývají. Každá část palisádové vrstvy skořápky vyrůstá pomocí kalcifikace z jednoho krystalizačního centra (Solomon, 2010) a končí ve vertikální krystalové vrstvě (Nys et al., 1991). Tloušťka palisádové vrstvy je 200 μm a je nositelem kvality a pevnosti skořápky (Jelínek a Lhotecký, 1996). Průměr sloupců kalcitových krystalitů podmiňuje průběh, tvar a počet pórů. Skořápka obsahuje 10 000 - 20 000 pórů (Solomon, 2009). Póry zajišťují výměnu plynů mezi vejcem a prostředím a ovlivňují výpar vody. Tvorba pórů začíná na úrovni mamilární vrstvy, vždy ve skupině 4-5 krystalizačních center. V době jejich vertikálního a laterálního růstu se vytváří centrální prostor, který vede přes celou tloušťku skořápky (Solomon, 2010). Koncentrace pórů se liší mezi částmi skořápky, kdy 2 krát vyšší počet pórů je na tupém pólu vejce ve srovnání s ostrým pólem (Rilley et al., 2014).

Před vytvořením kutikuly je skořápka překryta tenkou krystalickou vrstvou, ve které je proteinová část orientována vertikálně. Přibližně 1,5 až 2 hodiny před vlastním snesením vejce se vytváří v pochvě vejcovodu organická vrstva z proteinů zvaná kutikula (Hincke et al., 2011). Ta obsahuje vysoké množství cysteinu, glycinu, kyseliny glutamové, lysinu a tyrosinu (Kusuda et al., 2011). Kutikula tvoří povrchovou zevní vrstvu skořápky o tloušťce přibližně 8 μm (Jelínek a Lhotecký, 1996). Kutikula má dvouvrstvou strukturu. Vnitřní vrstva je ukládána přímo na vertikální vrstvu vaječné skořápky (Kusuda et al., 2011) a překrývá většinu pórů (Jelínek a Lhotecký, 1996). Vnitřní vrstva kutikuly má vezikulární (váčkovitý) vzhled. Vezikuly obsahují hydroxyapatit. Vnější vrstva kutikuly je více kompaktní a homogenní. Po snesení se kutikula, která je do té doby ve formě hlenu, postupně vysušuje. Kutikula funguje jako bariéra pro penetraci mikroorganismů (De Reu, 2006a; Messens et al., 2007; Solomon, 2010) a navíc vytváří vrstvu, která brání vysychání vejce (Rose-Martel et al., 2012).

Funkce skořápky souvisí s její strukturou. Vaječná skořápka je tvořena z uhličitanu vápenatého (96 %), organické hmoty (2%), hořčíku, fosforu a dalších stopových prvků (Nys et al., 2004; Abdel-Salam et al., 2006). Organická hmota spojuje minerály vaječné skořápky a je tvořena proteiny, proteoglykany a glykoproteiny. Složky organické hmoty lze rozdělit podle jejich původu do tří skupin. První skupina je tvořena vaječnými proteiny původem z vaječného bílku (ovoalbumin, lysozym a ovotransferin), které jsou obsaženy především v

základních částech skořápky, jako např. podskořápečných blanách, mamilární vrstvě, ale také v kutikule (Hicke et al. 2000; Gautron et al., 2014). Druhá skupina je tvořena proteiny obsaženými v různých orgánech a biologických tekutinách a zahrnuje osteopontin, který je přítomný v nemineralizovaných vláknech podskořápečných blan a nejvzdálenějších částech palisádové vrstvy vaječné skořápky (Gautron et al., 2014). Třetí skupina je z proteinů identifikovaných v děloze vejcovodu či vaječné skořápce nazývaných ovokleidin a ovokalixin (Hincke et al., 2012; Gautron et al., 2014).

Chemické složení skořápky je většinou stabilní, vlastnosti skořápky ale závisejí hlavně na její mikrostrukturu. Mikrostruktura je dána velikostí krystalů, jejich tvarem a orientací. Mikrostrukturální parametry vaječné skořápky ovlivňuje několik proměnných prostřednictvím změn při procesu mineralizace, jako například genetika, věk, výživa, či zdravotní stav. Tyto faktory ovlivňují množství a stavbu organické matrix, která kontroluje růst krystalů (Rodriguez-Navarro et al., 2007). Velikost a orientace kalcitových krystalů se mění v závislosti na jejich hloubce uvnitř palisádové vrstvy a ovlivňuje mechanické vlastnosti skořápky, zejména pevnost (Ahmed et al., 2005). Menší a méně pravidelně rozmístěné krystaly jsou více celistvé a mají vyšší pevnost skořápky ve srovnání s většími a pravidelně rozmístěnými krystaly. U vajec s malou pevností skořápky má základ skořápky vyšší hustotu mamilárních krystalizačních center (van Toledo et al., 1982). Vlastnosti krystalů závisí na věku nosnice, výživě a genetickém původu. Mikrostruktura skořápky určuje produkční, reprodukční a zdravotní vlastnosti vajec (Rossi et al., 2013).

Změny ve fyzikálních vlastnostech skořápky jako např. její hmotnosti a tloušťce mohou vysvětlit 60 % variací v pevnosti skořápky (Frank et al., 1965). Pevnost skořápky roste s její tloušťkou (Rodriguez-Navarro et al., 2002). Pevnost skořápky klesá na konci snáškového cyklu (Rodriguez-Navarro et al., 2002). Na povrchu skořápek s nízkou pevností se objevují trhliny, které mohou sehrát roli při vzniku křapů vajec (Bunk a Balloun, 1978).

2.2.2 Význam skořápky z hlediska bezpečnosti produkce vajec

Vaječná skořápka je hlavní ochrannou bariérou proti mikroorganismům. Ke kontaminaci skořápky nejčastěji dochází až po snesení vejce mikroorganismy z prostředí (Kerihara et al., 1996). Penetrace mikroorganismů do vejce závisí na neporušenosti a kvalitě skořápky a celistvosti kutikuly. Vejce s nízkou kvalitou vaječné skořápky nejsou jen ekonomickou ztrátou, ale jsou přímou cestou pro kontaminaci vaječného obsahu patogenními organismy, a v konečném důsledku i ohrožením bezpečnosti potravin (Bain et al., 2006). U

vajec, která nemají celistvou kutikulu, dochází k vyššímu průniku mikroorganismů do vnitřního obsahu vejce.

Mezi hlavní faktory charakterizující kvalitu skořápky patří její tloušťka a pevnost. Tyto vlastnosti závisí na její mikrostrukturu. V souvislosti s mikrostrukturou (velikostí krystalů, jejich tvarem a orientací) mají křehčí skořápky vyšší počet defektů. V křehčích skořápkách je vyšší počet krystalů abnormální velikosti (obecně větších), které negativně ovlivňují mechanické vlastnosti skořápky (Ahmed et al., 2005; Rodriguez-Navarro, 2007). Velikost kalcitových krystalů ovlivňuje organická matrix. Se zvyšujícím se množstvím organické matrix se zmenšuje velikost kalcitových krystalů (Ahmed et al., 2005). Skořápky s menší velikostí krystalů jsou pak pevnější. Produkce vajec a kvalita skořápky klesají během prvního roku snášky, částečně kvůli poklesu podílu skořápky z vejce, ale existují také výsledky, že snížené mechanické vlastnosti nemohou být vysvětleny výhradně sníženou tloušťkou skořápky (Nys et al., 1999). Navarro et al. (2002) uvádějí, že starší slepice snášejí vejce se skořápkou obsahující větší krystaly než mladší nosnice.

Velikost krystalů, jejich orientace a stavba palisádové vrstvy jsou hlavní složkou tloušťky a pevnosti skořápky. Variabilita v tloušťce skořápky může být velká. Tyler a Geake (1964) uvádějí, že vejce snadněji praskají podél podélné osy než podél šířkové linie. Tupý pól vejce má větší pevnost než ostrý pól. Také tvar vajec je pro vznik trhlin důležitý. Větší kulovitá vejce mají vyšší odolnost vůči křapům (Anderson et al., 2004; Blanco et al., 2014; Ketta a Tůmová, 2017).

Yan et al. (2014) studovali vliv uniformity tloušťky skořápky (tloušťka skořápky na různých místech) na kvalitu skořápky a zjistili pozitivní korelaci mezi tloušťkou skořápky a její pevností. Tito autoři také uvádějí, že vejce s tenkou, ale více uniformní skořápkou měla pevnější skořápkou než ta se silnější a méně uniformní skořápkou. Navíc i Kibala et al. (2015) uvádějí pozitivní korelaci mezi tloušťkou skořápky a její pevností.

Pevnost skořápky není dána jen její tloušťkou, ale také její strukturou, zejména koncentrací palisádové vrstvy a jejího propojení s vrstvou mamilární (Kříž, 1997). Současně, změny v tloušťce palisádové vrstvy nezávislé na její struktuře mohou ovlivnit pevnost skořápky (Bain, 1991). Bain (1992) poukazuje na to, že není žádná souvislost mezi tloušťkou skořápky a její schopností odolávat tlaku. Naproti tomu, v dřívější práci Romanoff (1929) uvádí, že mezi pevností a tloušťkou vaječné skořápky pozitivní vztah existuje. Ke změnám pevnosti a tloušťky skořápky mezi jednotlivci dochází nejméně v době nejvyšší snáškové produkce vajec. Rodriguez-Navarro et al. (2002) objevili korelace mezi pevností skořápky a

krystalickou stavbou skořápky. Tito autoři uvádějí, že 40 % odlišností v pevnosti skořápky může být vysvětleno rozdílem ve stupni orientace krystalů.

Kutikula slouží jako chemická bariéra, která zvyšuje fyzikální odolnost vaječného obsahu, ovšem sama o sobě zřídka rovnoměrně pokrývá vejce, a proto zodpovědnost za chemickou obranu přebírá vnější kalcifikovaná vrstva skořápky. Welleman-Labadie et al. (2008) extrahovali řadu proteinů z vnější vrstvy skořápky včetně kutikuly. Skořápky vajec slepic, kachen a hus prokázaly lyozymovou antibakteriální aktivitu a odolnost vůči bakteriím rodu *Pseudomonas*, *Stafylokokus* a *Bacillus* a naznačují působení antimikrobiálních proteinů. Ketta a Tůmová (v tisku) uvádějí rozdíl v pokrytí vajec kutikulou v závislosti na genotypu slepic. Autoři dále zjistili nevýznamně lepší pokrytí vajec kutikulou u vajec z obohacených klecí ve srovnání s vejci z podestýlky.

Póry ve skořápce se podílejí na přenosu bakterií. Pórovitost se liší podle pevnosti a tloušťky vaječné skořápky. Riziko mikrobiální invaze závisí na velikosti pórů (Solomon et al., 1994). Póry u kvalitní skořápky jsou malé a početné, zatímco u tenké je jejich výskyt nízký a velikost větší. Messens et al. (2005) zjišťovali korelaci mezi některými fyzikálními vlastnostmi vaječné skořápky a průnikem *Salmonella enteritidis* a uvádějí negativní korelaci mezi počtem pórů a penetrací bakterií přes skořápku. Naopak údaje, které uvádějí Nascimento et al. (1992) ukázaly, že bakteriální penetrace není závislá na pórech. Počet pórů ve skořápce může být ovlivněn i systémem ustájení. Tůmová et al. (2011) uvádějí vyšší počet pórů u vajec z klecí ve srovnání s podestýlkou a Vlčková et al. (v tisku) zaznamenali vyšší počet pórů u vajec z výběhu proti vejcům z obohacených klecí. I tento fakt spolu s pokrytím vejce kutikulou může být důležitý z hlediska bezpečnosti produkce vajec.

2.2.3 Vliv systému ustájení na kvalitu skořápky

Kvalita skořápky je důležitým ekonomickým faktorem pro producenty a je ovlivněna dobou snesení vejce, věkem nosnice, genotypem a podmínkami prostředí (Tůmová et al., 2014). Z vnějších podmínek je systém ustájení hlavním faktorem, který ovlivňuje kvalitu skořápky. Z literatury je známo několik studií, které se zabývaly vlivem systému ustájení na kvalitu skořápky. Nižší počet křapů bylo zjištěno u nosnic z klecových chovů (Tůmová a Ebeid, 2005; Englamaierová a Tůmová, 2008; Holt et al., 2011). Počet křapů souvisí ale také s designem klecí a přítomností součástí jako např. hřadů (Duncan et al., 1992; Abrahamson a Tauson, 1998). Systém ustájení měl vliv také na hmotnost skořápky. Ketta a Tůmová (2017) zjistili pozitivní korelaci mezi hmotností vejce a hmotností skořápky. Pištěková et al. (2006)

zaznamenali těžší skořápku u vajec z klecí (8,11 g) v porovnání s podestýlkovým chovem (7,71 g). Lichovnicková a Zeman (2008) uvádějí těžší skořápku u vajec z neobohacených klecí v porovnání s podlahovým systémem či obohacenou klecí. Naproti tomu, Tůmová et al. (2011) zjistili těžší skořápky u vajec z podestýlky než z konvenčních či obohacených klecí.

Kromě hmotnosti skořápky, může být systémem ustájení ovlivněna také tloušťka skořápky. Při porovnání podestýlkového, výběhového a klecového systému ustájení, Pavlovski et al. (2001) zaznamenali skořápku s větší tloušťkou u vajec z podestýlky a tenčí u volného výběhu. Leyendecker et al. (2001b) a Hidalgo et al. (2008) uvádějí výrazné rozdíly v tloušťce skořápky mezi klecovým a výběhovým systémem s menší tloušťkou u vajec z klecí. Rovněž Hughes et al. (1985) a Mostert et al. (1995) uvádějí větší tloušťku u vajec z neklecových systémů ustájení. Tyto výsledky souhlasí se studií Ledvinky et al. (2012), kteří pozorovali tenčí skořápku u vajec z klecí v porovnání s podestýlkou. Někteří autoři uvádějí, že s rostoucí tloušťkou skořápky se zvyšuje i její pevnost (Kibala et al., 2015; Ketta a Tůmová, 2017). Na druhou stranu, Bain (2005) má opačný názor, který byl podpořen studiemi Tůmové et al. (2011) a Ledvinky et al. (2012), kteří uvádějí, že přestože byla tloušťka skořápky u vajec z klecí menší, její pevnost byla vyšší a může to být odrazem jiné ultrastruktury skořápky, která ovlivňuje její pevnost. Naproti tomu Tatara et al. (2016) zaznamenali mezi pevností a tloušťkou skořápky negativní korelaci a mechanickou odolnost skořápky vysvětlují ne tloušťkou, ale faktory jako např. hustotou minerálů, jejich obsahem a mikrostrukturou skořápky. Na velikosti krystalů závisí index skořápky. Nižší hodnoty indexu indukují větší krystaly, které způsobují nižší pevnost skořápky (Ahmed et al., 2005).

Hlavní ekonomické ztráty producentů vajec souvisejí s pevností skořápky. Messens et al. (2006) porovnávali různé systémy ustájení (konvenční klece, obohacené klece, aviary a volné výběhy) a jejich vliv na kvalitu skořápky a zaznamenali největší pevnost u vajec z voliér, zatímco nejmenší pevnost měla vejce z výběhů. Tůmová et al. (2011) uvádějí nejpevnější skořápku u vajec z klecí v porovnání s podestýlkou. Podobně i Ledvinka et al. (2012) a Englmaierová et al. (2014) zjistili nejpevnější skořápku u vajec z klecí.

2.3 Minerální výživa slepic nosného typu

2.3.1 Vápník

Funkční ale i ekonomicky nejdůležitější minerální látkou ve výživě nosnic je vápník, primárně proto, že jde o produkci vajec, tedy o formování skořápky. Vápník ve skořápce tvoří

základ její křehkosti a lámavosti. To koresponduje s obsahem vápníku v různých vrstvách vaječné skořápky. Vápník se koncentruje v palisádové vrstvě (Arpášová et al., 2010). Vaječná skořápka obsahuje v průměru cca 2,3 g (2,0 - 2,5 g) vápníku. Toto množství představuje přibližně 10 % z celkového obsahu vápníku v kostře nosnic s ohledem na odhadované množství tohoto makro prvku, které je přibližně 20 g. Vezmeme-li v úvahu, že v průběhu snáškového cyklu nosnice snese vejce v průměru každých 24 - 28 hodin, je zřejmé, jak významný, účinný a komplexní je tento systém metabolismu vápníku, poněvadž umožňuje nosnicím, aby reagovaly na konstantní udržení rovnováhy vápníku v organismu. Homeostáze vápníku u domestikovaných slepic je dosaženo především vyvažovací schopností a účinnou intestinální absorpcí, renální reabsorpcí a kostní resorpcí vápníku pro potřeby zvířat a potřeby pro tento prvek (Etches, 1987). V případě nosnic je proces, který se uskutečňuje v kostech obzvláště zajímavý a složitý, vzhledem k mimořádné dynamice a rozsahu cirkulace vápníku v organismu a jedinečnou přítomností medulárních kostí, které jsou odpovědné za poskytnutí vápníku v době, kdy se kalcifikuje vaječná skořápka, a obzvláště tehdy, kdy krmivo jako primární zdroj není přítomno v zaživacím traktu (Leach, 2000; Whitehead, 2004). Na druhou stranu tyto dynamické procesy v kostře, jako uložisti vápníku, může během snáškového období oslabit pevnost některých kostí v důsledku zeslabení struktury. Rozsah a trvání těchto změn v kvalitě kostí závisí na mnoha faktorech. Výskyt osteoporózy u nosnic na konci snáškové periody, které pak vedou až ke zlomenině kostí, je vážným problémem bez snadného řešení především u nosnic ustájených v klecových systémech (Whitehead a Fleming, 2000).

Vápník a jeho obsah je jedním z nejdůležitějších faktorů, které ovlivňují kvalitu vajec a kostí a musí být do krmení pro nosnice přidáván. Podle literatury se má za to, že již koncem 19. století bylo běžnou praxí přidávat koncentrovaný zdroj vápníku do výživy nosnic, aby byla zajištěna vyšší kvalita skořápky. Nicméně, požadavky nosnic na obsah vápníku v zájmu dosažení vysoké produkce vajec, dobré kvality vaječné skořápky a zdraví zvířat, jsou stálým předmětem výzkumu. Ten se snaží přesně uspokojit potřeby nových hybridů s větším genetickým potenciálem pro produkci, stejně tak řeší současné problémy s kvalitou skořápky a kostí nosnic během produkčního období (Whitehead and Fleming, 2000; Lukić et al., 2009). Roland (1986) shrnuje ve své práci všechny předchozí výzkumy zabývající se požadavky nosnic na obsah vápníku a fosforu za účelem realizace maximální produkce a kvality skořápky a to v období mezi rokem 1942 - 1984. Autor poukazuje na velkou variaci získaných výsledků, kdy je obtížné stanovit požadavky vápníku u nosnic. Hlavními faktory, které mohou ovlivnit a bránit stanovení potřeby a požadavků nosnic na vápník jsou:

konstantní genetický pokrok nosnic, rozdíly v potřebách nosnic stejné nebo odlišné provenience, vzájemného vztahu mezi vápníkem a dalšími živinami, vliv velikosti částic zdroje vápníku, schopnost nosnic se částečně přizpůsobit spotřebu krmiva na jejich potřebě vápníku, strach výrobců či nutričních expertů ze škodlivých vlivů z předávkování nebo nedostatečná spotřeba vápníku, stejně tak i fakt, že mnoho výzkumů vyjádřilo potřebu vápníku ve formě % v dietě bez ohledu na změny ve spotřebě krmiva způsobenou úrovní energie, teplotou prostředí, odlišnou proveniencí a nebo věkem drůbeže. Autor uvádí, že na základě průměrných výsledků získaných z různých studií v desetiletém sledovaném období je zřejmé, že se neustále zvyšovaly požadavky na obsah vápníku (v sedmdesátých letech to bylo o 0,29 g/nosnici/den a v osmdesátých letech 0,53 g/nosnici/den), zatímco požadavky na fosfor zaznamenaly spíš tendenci mírného poklesu.

Požadavky na obsah vápníku jsou u nosnic relativně nízké s výjimkou doby, kdy se v děloze tvoří vaječná skořápka. Nejintenzivněji tvorba skořápky nastává během temné fáze nebo v noci, kdy nosnice nepřijímají krmivo. V prvních 6 hodinách 24 hodinového tvorby vejce se v podstatě neukládá žádná skořápka. Během této doby je tvořen pouze bílek a podskořápečné blány. Hlavní ukládání vápníku nastává mezi 12 ti - 18 ti hodinami, pomalejší ukládání je pak v posledních 6 hodinách před snesením. Vápník potřebný pro tvorbu vejce je z 60 - 70 % uhrazen přímo z přijatého krmiva a z 30 - 40 % je čerpán, převážně ve druhé polovině noci, z pohotovostní rezervy v medulárních kostech. V této funkčně specializované kostní tkáni, lokalizované na vnitřních plochách dutých kostí, se ve zvýšené míře ukládá vápník, který se v době potřeby snadno uvolňuje a krví je transportován do vejcovodu. Množství odčerpaného vápníku se pak během dne opět v kostech uloží. Ke konci snáškového období se využití vápníku z přijatého krmiva snižuje. Vejce jsou větší (roste hmotnost bílku a žloutku) a podíl skořápky na jejich hmotnosti klesá (její hmotnost zůstává téměř stejná). S nedostačující výkonností žláz, jejichž sekretem je skořápka v distální části vejcovodu formována, se zhoršuje její pevnost. Ve vejci jsou asi 4 % Ca. Např. při 90 % snášce a hmotnosti vajec 60 g se denně vydává 2,16 g Ca. Má-li se toto množství zvířeti uhradit, je třeba v krmné dávce zajistit při padesátiprocentním využití přijatého prvku 4,32 g Ca (Zelenka, 2005). Jak uvádí Tůmová (2005) na počátku snášky je využitelnost vápníku 80 %, na konci snášky 50 % a mimo snášku 35 %. Před začátkem snášky je důležité, aby se organismus nosnice předzásobil vápníkem a 2 - 3 týdny před začátkem snášky by se hladina vápníku měla v krmné směsi zvýšit na 2,5 %. V požadavcích na obsah vápníku jsou rozdíly, jak již bylo řečeno, i v závislosti na genotypu. Hnědovaječné nosnice mají vyšší požadavky,

proto při doporučení obsahu vápníku v krmných směsích 3 - 4 % je optimum, u hnědovaječných 3,5 %, na konci snášky 3,8 %.

Základní komponenty krmných směsí obsahují vápníku velmi málo (obilniny 0,04 - 0,07 %, extrahované šroty 0,33 - 0,72 %). Vyšší obsah mají některé fosforečné soli (monokalciumfosfát 15,9 %, dikalciumfosfát 25,8 %), hlavním zdrojem je však krmný vápenec, který obsahuje 38 % vápníku. Chybí-li např. v krmné dávce po započtení Ca z ostatních komponent 4,2 g Ca, musíme přidat 11 g vápence. Pokud používáme pouze mletý vápenec, znamená to, že ho při denní spotřebě 110 g krmiva před vrcholem snášky musí být zařazeno do krmné směsi 10 %. Vápenec neobsahuje žádné organické živiny, a tedy ani energii. Zbytečně ubírá ve směsi prostor pro ostatní komponenty a zároveň snižuje chutnost krmiva. Přitom v tomto období potřebujeme, aby slepice přijaly energie co nejvíc, abychom předešli dvouvrcholové snášce (Zelenka, 2005). Pro tvorbu CaCO_3 uloženého ve skořápce vajec je potřebný nejen kationt vápníku Ca^{2+} , ale také aniont CO_3^{2-} . Při vysokých letních teplotách se zvyšuje intenzita dýchání a v krvi proto klesá obsah hydrogenuhličitanu (HCO_3^-), ze kterého se uvolňuje iont CO_3^{2-} . Tloušťka skořápek se pak zmenšuje o 12 - 15 % (Nir, 2000). Zlepšení lze docílit zařazením 0,1 % hydrogenuhličitanu sodného do krmné směsi a omezením obsahu chloridu sodného na 0,2 %. Sníží se tak hladina chloru, jehož přebytek má na kvalitu skořápky nepříznivý vliv (Zelenka, 2005).

2.3.2 Fosfor a hořčík

Fosfor je velmi důležitou živinou ve výživě slepic a je zapojen do mnoha funkcí, jako je tvorba kostí, energetický metabolismus, buněčná struktura a tvorba vajec. Jeho metabolismus je úzce spojen s metabolismem vápníku a je to druhý nejvíce zastoupený prvek v těle zvířat (Ahmadi a Rodehutsord, 2012). V kostech je fosforu uloženo přibližně 80 - 90 %, zbylých 10 - 20 % v měkkých tkáních a tělních tekutinách. Podle Georgievského et al. (1982) obsahuje tělo slepice přibližně 13 g fosforu. Obsah fosforu ve skořápce je 0,102 %. Fosfor ovlivňuje pružnost a elasticitu skořápky, je součástí fosfoproteinů, které tvoří síť organické matrix v mamilární vrstvě skládající se z kolagenních vláken, které vedou k povrchu skořápky (Nys et al., 2001).

Věk zvířat, intenzita růstu, užitkovost či obsah vápníku v krmné dávce ovlivňují potřebu fosforu. Během snášky mají nosnice zvýšenou potřebu fosforu, avšak jeho přebytek snižuje hmotnost skořápek (Fritsch a Gerriets, 1962). Hlavním zdrojem fosforu je fosforečan vápenatý (20 % P). Na fosfor jsou dále bohaté také výlisky, extrahované šroty, pšeničné

otruby a krmiva živočišného původu (Georgievsky et al. 1982). Nicméně 50 až 80 % fosforu přítomného v zrnech obilnin a olejnatých semenech je vázáno na kyselinu fytovou, organickou formu fosforu (Abudabos, 2012), z které je fosfor vysoce nedostupný pro nepřežvýkavce, protože neobsahují dostatečné množství endogenní fytázy pro hydrolyzu komplexů kyseliny fytové (Nelson, 1976). Podle Fleminga (2008) může mít 5 až 15 % hejn nedostatečný příjem fosforu kvůli změnám jeho obsahu a dostupnosti v krmivu. Z toho důvodu musí být anorganická forma fosforu přidávána do krmiva tak, aby vyhovovala požadavkům nosnic (Boling et al., 2000a; Ahmadi a Rodehutsord, 2012). Navíc může být přidána také mikrobiální fytáza, pro zlepšení jeho dostupnosti (Carlos a Edwards, 1998). Podle Rose (1997) 70 % výrobních nákladů ve vaječné produkci představuje krmivo a fosfor je v něm třetí nejdražší složkou hned po energii a bílkovině (Boling et al., 2000a). Nicméně díky doplnění fytázy, náklady na fosfor poklesly.

Více než jen otázka nákladů, je na fosfor poukázáno jako na jednu z hlavních příčin problémů s životním prostředím. Množství fosforu, který je v krmivu v nadbytku se přímo vylučuje stolicí a močí (Boling et al., 2000a; Abudabos, 2012). V drůbežářských odpadech je proto jeho vysoká koncentrace, která představuje limitující živinu pro řasy a další růst vodních rostlin a vede k eutrofizaci (Sharpley, 1999). V důsledku toho je třeba uvažovat o snížení anorganického fosforu, tak aby se minimalizovaly náklady na krmiva a jeho vylučování v drůbežím hnojivu. Snow et al. (2004) podotýká, že řešením tohoto problému je jednak krmení drůbeže pouze požadovaným obsahem fosforu, doplňováním krmiva enzymy nebo jinými krmnými přísadami ke zlepšení dostupnosti fosforu v rostlinných zdrojích a nakonec přísadami rostlin, které obsahují nižší hladinu fytátového fosforu. Ze všech druhů drůbeže, krmivo pro nosnice obsahuje mnohem více fosforu vzhledem k potřebě, a to především kvůli obavám z nedostatečné mineralizace vaječných skořápek a kosterních abnormalit, které vedou k horší produkci vajec, morbiditě a mortalitě. Vzhledem k selekci určitých genotypů na časně dospívání a větší velikost vajec, se do krmných směsí obvykle přidává 350 až 450 mg nefytátového fosforu/slepice/den, což je podle posledních výzkumů bráno za dvojnásobné množství. Van Den Klis et al. (1997) doporučuje 165 mg/slepici/den, Boling et al. (2000a) 159 mg/slepici/den a Boling et al. (2000b) 155 mg/slepici/den.

Fosfor přímo souvisí s dynamikou vápníku, protože vápník je uložen v kostech většinou v podobě hydroxyapatitu a je vázán na fosfát v konstantním poměru 2,1 na 1. Proto, když dochází k mobilizaci vápníku z kostí během tvorby vaječné skořápky, hladina fosforu se v plazmě zvyšuje a fosfor se okamžitě vylučuje močí, neboť nemůže být v tuto chvíli využit (De Vries et al., 2010). Podle Keshavarze (1998) je dobrovolný příjem fosforu v dopoledních

hodinách vyšší. To je dáno potřebou obnovit zásoby fosforu spolu s vápníkem v kostech před tvorbou skořápky (Tolboom and Kwakkel, 1998). To potvrzují také Holcombe et al. (1976), kteří prokázali, že nosnice vstřebávají více fosforu ráno mezi 6. a 14. hodinou než během odpoledne, mezi 14. a 20. hodinou. Keshavarz (1998) provedl experiment na příjem fosforu nosnicemi a analyzoval vliv krmiva s konstantní hladinou fosforu (0,4 g/kg) v průběhu celého dne ve srovnání s dietou s omezeným obsahem fosforu (0,2 g/kg) v odpoledních hodinách. Z výsledků vyplývá, že snížený příjem fosforu v odpoledních hodinách nezhoršuje produkci nosnic, což potvrzuje fakt, že požadavky fosforu jsou odpoledne nižší. Toto zjištění ukazuje, že současná hladina fosforu je vyšší než jeho požadavky v odpoledních hodinách, a že jeho adekvátní příjem během dne, může adekvátně snížit vylučování fosforu. Podle studie Cusacka et al. (2003), je fosfor uložen v nízkých koncentracích na vnější části skořápky. Tato koncentrace fosforu se postupně zvyšuje až do konce kalcifikace, což naznačuje, že fosfor má úlohu pouze při ukončení kalcifikace.

Obsah vápníku a fosforu spolu úzce souvisejí, z čehož nejdůležitější je jejich vzájemný poměr. Z přemíry jednoho prvku bude plynout nedostatek prvku druhého (Zelenka a Zeman, 2006). Potřeba vápníku je oproti potřebě fosforu vyšší. Dle Robinsona (1957) a Fritzsche a Gerriete (1962) je poměr Ca : P pro praktické účely v krmné dávce drůbeže 1,6 : 1. Optimální poměr Ca : P dle Podhradského et al. (1960) je 2,5 : 1, může kolísat 3 : 1 do 2 : 1. Nadbytek vápníku a hořčíku způsobuje změny poměru Ca : P. Přebytek vápníku zvyšuje také požadavky na hořčík, jód, mangan, zinek a měď (Zelenka, 2005).

Hořčík je esenciální minerální látka s širokým spektrem fyziologických funkcí jak u lidí, tak u zvířat (Gaal et al., 2004). Je velmi důležitou živinou pro nosnice, a to zejména v období tvorby skořápky a kvůli její kvalitě, protože hořčík je v ní významně zastoupen (Romanoff a Romanoff, 1949). Hořčík je důležitý zejména pro tvorbu podskořápečných blan, v kterých je obsah vyšší než ve skořápce. Je spojen s hospodařením s vápníkem a podporuje jeho ukládání ve vnější vrstvě skořápky, kde se rovněž ukládá. Nejvíce hořčíku je těsně pod povrchem skořápky. Potřeba je závislá na obsahu vápníku a fosforu v krmivu. Jejich zvýšení zvyšuje potřebu hořčíku. Jeho nedostatek snižuje tloušťku skořápky. Ovlivňuje délku pobytu vejce v děloze a tím i tloušťku skořápky. Množství hořčíku ve skořápce má přímou souvislost s tloušťkou. Znamená to, že více hořčíku ve skořápce vede k silnější skořápce a naopak.

Aktuální požadavky hořčíku pro nosnice se udávají jako 0,4 g/kg krmiva. Podle Kima et al. (2013) je doporučená dávka u bělovaječných hybridů v prvních 6 týdnech 600 mg/kg, mezi 6 a 12 týdnem 500 mg/kg a od 12 týdne 400 mg/kg. Pro hnědovaječné hybridy 570, 470

a 370 mg/kg (Kim et al., 2013). Avšak, doplnění vyššího množství hořčíku do krmiva nad požadavky často zlepšuje kvalitu vaječné skořápky. Tito autoři také zaznamenali, že zvýšení koncentrace hořčíku v krmné směsi ze 1,6 na 2,3 či 3 g/kg vedlo ke zlepšení kvality vaječné skořápky bez negativního vlivu na produkci vajec. Mehring a Johnson (1965) uvádějí, že zkrmování krmiva nosnicím obsahující 0,5 g/kg zvýšilo pevnost a tloušťku skořápky. Podobné zlepšení kvality skořápky bylo zaznamenáno také Seo et al. (2010) a Kimem et al. (2013), kteří nosnice krmili dietou obsahující 3 – 4,7 g/kg Mg. Nicméně příliš velký přebytek hořčíku v krmivu má u nosnic naopak negativní dopad na kvalitu skořápky a na jejich produkci. Mehring a Johnson (1965) uvádějí, že krmení dietou obsahující více jak 8,7 g/kg hořčíku způsobuje u nosnic snížení pevnosti skořápky. McWard (1967) zaznamenal snížení vaječné produkce a účinnost krmiva, když dieta obsahuje 12 g/kg Mg. Nedostatečná informace souvisejí s vlivem koncentrace hořčíku v krmivu na produkci nosnic a kvalitu vajec, vede k obtížnému odhadu správné koncentrace hořčíku v krmivech pro nosnice.

2.3.3 Zinek, selen a mangan

Zinek se podílí na více než 300 různých enzymatických systémech (Tabatabaie et al., 2007). U nosnic je nezbytnou složkou důležitého děložního enzymu uhličitanu anhydrázy. Karbonová anhydráza podporuje tvorbu skořápky skrze zásobu uhličitanových iontů (Nys et al., 2011). Když je tento enzym inhibován, sekrece bikarbonátových iontů se snižuje, což vede k nižší hmotnosti skořápek. Uvádí se, že stopové minerály mohou ovlivnit morfologii krystalů vápence ve skořápce vajec a její mechanické vlastnosti (Zamani et al., 2005). Z toho důvodu se zinek přidává do komerčních krmiv pro drůbež. Hlavními zdroji zinku jsou oxid zinečnatý a síran zinečnatý. Již v dřívější studii Stahl et al. (1986) zaznamenali, že dávka zinku 30 mg/kg krmiva dostačuje pro zachování kvality vajec, zatímco Zamani et al. (2005) uvádějí, že doplnění bazální diety obsahující 50 mg/kg zinku o další zinek mělo pozitivní vliv na tloušťku skořápky. Guo et al. (2002) zjistili, že množství 80 mg/kg zinku je potřebné ke zlepšení pevnosti skořápky u starších slepic, a to ve věku 55 až 59 týdnů.

Selen je stopový prvek důležitý jako antioxidant, který se účastní ochranných metabolických procesů proti oxidaci lipidů a proteinů. Selen je nezbytný v metabolismu prostaglandinů, reprodukci a aktivitě mozku a štítné žlázy. Ve výživě zvířat má pozitivní vliv na konverzi krmiv, užitkovost a zdravotní stav. I přesto, že byl selen znám již po dvě století, a jeho biologické aktivity byly studovány téměř sto let, problém deficitu jak u lidí, tak i u zvířat

stále přetrvává, i když u drůbeže je riziko deficitu nižší. Právě z těchto důvodů se zvýšil zájem o využití selenu. Do krmiva může být doplněn jak v organické tak i anorganické formě. Nejčastější výživový doplněk je seleničitan sodný (Skřivan et al., 2010). Několik studií naznačilo, že organický selen má větší biologickou dostupnost než anorganický (Surai a Fisinin, 2014). Selen v organické formě je aktivně absorbován a může být přímo začleněn do bílkovin, zatímco anorganický je tělem vstřebáván pasivně (Mohiti-Asli et al., 2008). Kromě toho se selenomethionin absorbuje podobným způsobem jako metionin, který umožňuje jejich vzájemnou substituci při syntéze bílkovin a tvorbu zásob selenu v těle (Arpášová et al., 2012).

V EU a USA byly schváleny anorganické a organické formy doplňování selenu až do maximální úrovně 0,5 mg selenu/kg a 0,3 ppm. Anorganický zdroj selenu, seleničitan sodný je stále používán jako hlavní doplněk selenu v krmivech pro zvířata. Avšak zvýšení použití hlavního organického zdroje selenu, selenem obohacené kvasnice se stává zřejmým.

Některé účinky množství a zdroje selenu v krmivech pro slepice na vaječnou produkci a na obsah selenu ve vejcích a ve slepičích tkáních jsou dobře zdokumentovány. Jako např. práce Skřivana et al. (2010), kde sledovali vliv úrovně selenu a α -tokoferolu ve vejcích nosnic krmných směsí obohacenou o Se-Met, seleničitan sodný a vitamín E. Zjistili, že doplnění každé z těchto forem se zvýšila koncentrace selenu ve žloutkách a bílcích, s výraznějšími účinky Se-Met. Avšak existuje jen omezené množství údajů o účincích doplnění selenu na kvalitu skořápky. Navíc dostupné údaje týkající se vlivu doplnění selenu do krmiva slepic na kvalitu skořápky nejsou shodné. Existují tedy obavy výrobců vajec o vlivu přidaného selenu ve slepičích krmivech na vaječnou skořápku.

Během skladování dochází ve vejcích k mnoha chemickým změnám. Žloutek obsahuje mnoho polynenasycených mastných kyselin, které jsou náchylné k oxidaci (Pappas et al., 2005). Navíc membrána vaječného žloutku ztrácí svou elasticitu, mizí pigmentace a proteinové bílkoviny jsou oxidovány, čímž ztrácejí své funkční vlastnosti (Wang et al., 2010). Fragmentace lipidů a bílkovin vede k tvorbě oxidačních produktů, které zhoršují nutriční a sensorické vlastnosti vajec. Proto je nutná přítomnost antioxidantů, jako je selen, který může být do vajec přidán prostřednictvím krmiva nosnic. Zvýšení selenu ve vejcích komerčních nosnic se projevuje ve výraznější antioxidační ochraně žloutku, v prodloužené trvanlivosti a zvýšené nutriční hodnotě vajec. Jako zajímavé se jeví možnost doplnění tohoto esenciálního mikroprvku do lidské populace pomocí tzv. funkčních potravin, mezi něž patří například selenem obohacené vejce. Jedno až dvě takto obohacená vejce jsou vhodná k doplnění denní potřeby člověka. Dostatečné množství selenu v krmivech pro drůbež nabylo v minulých letech na vážnosti, protože došlo ke snížení tohoto prvku jak v půdách tak i surovinách rostlinného

původu. Nedostatek selenu se projevuje nemocemi degenerativního charakteru, jako je nekróza jater a pankreatu. Selen dále ovlivňuje plodnost, odolnost vůči nemocem a činnosti štítné žlázy.

Mangan má ve výživě drůbeže důležitou roli při tvorbě kostí a v mnoha biochemických procesech aktivací enzymů, jako je pyruvátcarboxyláza, superoxid dismutáza a glykosyltransferáza (Suttle, 2010). Mangan je nezbytný pro vývoj embrya, normální růst těla a kostí, reprodukci a metabolismus sacharidů a lipidů. Kromě toho má mangan významnou funkci při prevenci perózy a udržování kvality vajec (Suttle, 2010). Ve většině studií prováděných za účelem stanovení požadavku manganu pro nosnice do krmné dávky se přidává mezi 15 - 200 mg/kg Mn. Tento požadavek však nemusí být dostatečný k udržení optimální produkce a kvality vajec v důsledku značné zlepšení jejich produkce. Zejména pro nosnice může být množství vyšší. Mangan se přidává do krmiva jako anorganický nebo organický. Organický zdroj manganu má pozitivní vliv na kvalitu vaječné skořápky ve srovnání s anorganickými zdroji. Nedostatek manganu u nosnic vede ke snížení produkce a ztenčení skořápky. Byl zjištěn také pozitivní vliv přidání manganu na některé parametry vajec. 25 mg/kg je dostatečné množství pro maximální produkci vajec, hmotnost vajec a přeměnu krmiva, ale pro optimální kvalitu skořápky je požadavek mnohem vyšší. U nosnic byla pozorována nejvyšší tloušťka skořápky po přidání 200 mg Mn/kg. Skořápky vajec slepic, které jsou krmeny krmivem s nedostatkem manganu, jsou tenčí a vykazují změny v ultrastruktuře vaječné skořápky v mamilární vrstvě a snížený obsah hexosaminu a kyseliny hexuronové v organické matrix.

2.3.4 Vliv obsahu vápníku na kvalitu skořápky

Snáška vajec, hmotnost vajec a především tloušťka skořápky jsou nejcitlivějšími ukazateli nedostatečného zásobování vápníkem. Největší ztráty v chovu nosnic jsou způsobeny právě špatnou kvalitou skořápek. Pokles kvality vaječné skořápky způsobuje zvýšené poškození vajec a tím značné ekonomické ztráty. Z celé vaječné produkce má 6 - 10 % poškozenou skořápkou (Roland, 1988; Bain, 1997). Vybalancování minerální výživy je jeden z nejdůležitějších způsobů zlepšení kvality vaječné skořápky.

Mnoho prací se zabývalo vlivem obsahu vápníku v krmivu na kvalitu vaječné skořápky. Ve studii Cufadara et al. (2011) sledovali vliv různé hladiny vápníku (3 a 4,2 %) na kvalitu skořápky, jako je její pevnost, hmotnost a tloušťka. Avšak vliv dvou odlišných hladin vápníku

na kvalitu skořápky nenašli. Naopak Jiang et al. (2013) zaznamenali, že nosnice krmeny směsí se 4,4 % Ca měly slabší vaječnou skořápkou ve srovnání s kontrolní skupinou, kde bylo podáváno 3,7 % Ca. Také v práci Vlčkové (2016) byl sledován vliv dvou různých obsahů vápníku v krmné směsi (3 a 3,5 %) a navíc ve třech různých systémech ustájení (konvenční klec, voliéra a podestýlka). Z výsledků je patrné, že byla zaznamenána průkazná interakce mezi systémem ustájení a obsahem vápníku u pevnosti skořápky, podílu skořápky a hmotnosti skořápky. Nejpevnější skořápkou měla vejce z klece, a to při 3,5 % vápníku v krmné směsi (4893 g/cm^2) a při stejné hladině vápníku také vejce z voliéry (4799 g/cm^2). Podobně byl podíl skořápky průkazně nejvyšší u vajec z klece při 3,5 % vápníku v krmivu (12,3 %). Hmotnost skořápky byla ve všech systémech ustájení relativně vyrovnaná, avšak signifikantně nejlehčí skořápka byla v kleci ve skupině se 3 % vápníku v krmivu (6 g), což odhalila průkazná interakce systému ustájení a vápníku. Na pevnost a podíl skořápky měl průkazný vliv také obsah vápníku v krmivu s vyššími hodnotami ve 3,5 % vápníku v kleci a ve voliére a korespondují s prací Safaa et al. (2008), kteří ve své studii uvádějí, že při zvýšené dávce vápníku (3 % vs. 4 %) byl detekován průkazně vyšší podíl skořápky (9,98 % vs. 10,20 %). Podle výsledků studie Lichovnickové a Zemana (2008) byl vápník v klecových systémech ustájení efektivněji využit pro produkci skořápky a její kvalitu ve srovnání s podlahovými systémy. Autoři uvádějí, že nejvyšší požadavky na obsah vápníku v krmné směsi byly u slepic z neobohacených klecí. To bylo zapříčiněno vyšší produkcí skořápky v tomto typu ustájení, a také proto, že kvalita skořápky zde byla nejvyšší. Lichovnicková a Zeman (2008) se domnívají, že při stanovení správného množství vápníku v krmné směsi pro nosnice je důležité brát v úvahu i systém ustájení, a že i přes podobný příjem vápníku u slepic v obohacených klecích a podlahových systémech, byl do vaječných skořápek vajec z podlahového systému uložen nižší podíl vápníku. Naproti tomu dále uvádějí, že byla u těchto nosnic detekována vyšší pevnost holenní kosti, což může pravděpodobně souviset s nižší produkcí skořápky. To koresponduje s Leyendecker et al. (2001), kteří uvádějí, že mezi pevností skořápky a pevností kostí je negativní korelace.

Podle mnoha autorů je využitelnost vápníku ovlivněna zejména velikostí částic a dobou strávenou v zažívacím traktu nosnice (Roland, 1986; Zhang and Coon, 1997; Lukić, 2009). V mnoha studiích byly porovnávány různé zdroje a velikosti částic, podíl menších a větších částic v krmivu, stejně jako čas a způsob dodání za účelem zjištění optimálního řešení. Lukić et al. (2009) uvádí, že použití 40 - 60 % hrubě mletého vápence ve výživě mladých nosnic je vhodný, neboť bylo zjištěno, že kladou vejce se silnější skořápkou, které jsou pak méně náchylné k rozbití, zatímco Scheideler et al. (2005) navrhl kombinaci 50 % jemně mletých a

50 % hrubě mletých částic vápence, které mohou uspokojit požadavky nosnic pro optimální produkci vajec a kvality skořápky až do 40. týdne věku. Pavlovski et al. (2003) poukázal na to, že náhradou za 60 - 80 % vápence s velkými částicemi ve směsi pro starší nosnice může pozitivně ovlivnit jejich kvalitu vaječné skořápky. Podle Zelenky (2005) je vhodné, aby 30 - 50 % částic uhličitanu vápenatého mělo velikost 3 - 5 mm. Rao et al. (1992) uvádějí, že u vajec nosnic krmených dietou obsahující velké částice vápníku (jemný a hrubý vápenec 50:50 nebo 75:25 vápenec a skořápky v krmivu) byla zjištěna vyšší specifická hmotnost ve srovnání se slepicemi krmenými dietou obsahující 100 % jemného vápence nebo 100 % skořápek. Lichovníková (2007) uvádí, že dobrá kvalita skořápky při spotřebě krmiva 110 g je při příjmu 4,1 g Ca v případě, že 2/3 vápence jsou hrubě mleté nebo jsou použity skořápky v poslední třetině snášky. V práci Swiatkiewicz et al. (2015) nezaznamenali žádný vliv velikosti částic na kvalitu vaječné skořápky a to ve věku 30 a 43 týdnů. Nicméně, náhradou jemně mletého vápence (0,2 - 0,6 mm) za vápenec s větší frakcí (1 - 1,4 mm) zvýšilo procento skořápky a její tloušťku u nosnic v 56 týdnech věku, stejně tak procento skořápky, tloušťku, hustotu a pevnost v 69. týdnu věku. Tyto výsledky naznačují, že použití vápence s velkými částicemi se může zlepšit vaječná skořápka u starších nosnic bez ohledu na hladinu vápníku v krmivu. Mechanismus tohoto účinku pravděpodobně souvisí s tím, že pomalejší rozpustnost vápence s velkými částicemi a jeho prodlouženého retenčního času v žaludku zpřístupňuje vápník v noci, kdy není nosnicemi přijímáno krmivo a proces kalcifikace probíhá nejintenzivněji (Roland a Harms, 1973). Tím by se zabránilo mobilizaci rezerv vápníku a fosforu z kostí, který by mohl ovlivnit kvalitu vajec (Farmer et al., 1986). Výsledky studie Zhanga a Coona (1997) ukázaly, že vápenec s velkými částicemi (> 0,8 mm) a nižší rozpustností, byl uchován v žaludku delší dobu, což významně zvýšilo rozpustnost a vedlo tak ke zlepšení retence vápníku u nosnic. Velmi velké částice (> 5 mm) vápence mají příznivý vliv na pevnost skořápky, avšak byla zaznamenána interakce mezi hladinou vápníku v krmivu a velikostí částic, kde byl pozitivní účinek vápence s velkými částicemi sledován pouze tehdy, když bylo podáváno krmivo s nízkým obsahem Ca. Výsledky experimentu Skřivana et al. (2010) ukázaly, že nahrazením jemně mletého vápence hrubým vápencem (0,8 – 2,0 mm) může zvýšit hmotnost skořápky, tloušťku skořápky a obsah Ca ve skořápce, a to jak u mladších (24 až 36 týdnů) tak i u starších nosnic (56 až 68 týdnů) bez vlivu na pevnost skořápky. Zelenka (2005) poukazuje na to, že dá-li se vápence zbytečně mnoho, vyvolá přebytek Ca v trávenině především poruchy v hospodaření s fosforem. Při zvýšené hladině Ca v krvi, spojené s předávkováním vápníku a s nižší potřebou tohoto prvku, se v příštítné žláze omezí produkce parathormonu. Ten je nutný k přeměně cholekalciferolu (vitamínu D3) na účinný 1,25-

dihydroxycholekalciferol, podporující tvorbu specifické transportní bílkoviny pro vápník. Transportní bílkovina má poměrně krátký poločas života, a při nedostatku parathormonu se její množství v krvi nestačí doplňovat. Místo vstřebávání cca 50 % vápníku se proto jeho retence dramaticky sníží a zvíře pak z krmiva využívá jen tolik, kolik potřebuje. Přebytečný vápník je vyloučen v trusu. Kolísání obsahu vápníku v krmné směsi vede v praxi k poruchám skořápky častěji než nedostatek tohoto prvku.

2.4 Skladovatelnost vajec a faktory, které ji ovlivňují

Slepičí vejce má vynikající nutriční hodnotu pro lidskou potřebu a je jedinou potravinou živočišného původu, která může být uchovávána po několik týdnů v přirozeném stavu bez ztráty specifických vlastností. Tato schopnost vajec se vyvíjela z jejich funkce jako zdroj živin pro vyvíjející se embryo. V přirozených podmínkách slepice nejprve shromáždí asi deset vajec před tím, než začne na vejcích sedět. Z toho vyplývá skutečnost, že obsah vajec je chráněn proti znehodnocení více než týden před začátkem zasednutí slepice a ještě dalšími třemi týdny než se z nich vylíhnou kuřata. Většina živin pro embryo se nachází ve žloutku. Hlavní funkcí bílku je dodávat embryu vodu a zabránit vniknutí mikroorganismů do vajíčka a jejich množení. Kromě toho chrání embryo před mechanickým poškozením. Žloutek a bílek jsou uzavřeny vaječnou skořápkou, která umožňuje výměnu oxidu uhličitého, kyslíku a vody prostřednictvím pórů. Vaječná skořápka obsahuje přibližně 10 000 – 20 000 pórů s kuželovitým tvarem s menším průměrem na vnitřní straně. Kutikula na povrchu skořápky obsahuje bílkoviny, polysacharidy a lipidy. Na pórech pak kutikula tvoří bariéru, která uzavírá otvor. Toto uspořádání umožňuje výměnu plynů a zároveň zabraňuje vniknutí mikrobů. Neporušená kutikula je proto pro trvanlivost vajec mimořádně důležitá.

Dle ČSN 57 2109 se vejce musí skladovat ve vzdušných, čistých skladech s nekolísavou teplotou. Teplota nesmí překročit 18 °C a nesmí klesnout pod 5 °C. Teplota 18 °C je však teplota, při které již může docházet k rychlému rozmnožování bakterií včetně salmonel, proto je vhodné uchovávat i prodávat vejce při nižších teplotách. Avšak v chladírenském prostředí nesmí vejce zmrznout. Hlavním kritériem z hlediska relativní vlhkosti vzduchu při uchování vajec je nižší než 80 %. Vyšší relativní vlhkost má výrazný vliv na pronikání bakterií vaječnými strukturami. Důležité je také omezit přenášení vajec s teplotou do 18 °C do prostředí s chladírenskou teplotou nebo teplotou kolem 0 °C. Teplotou pod 0°C je ovlivněna negativně jakost vajec. Podle předpisů EU musí mít vejce třídy A neporušenou kutikulu a vzduchová komůrka nesmí být větší než 6 mm. Předpokládá se, že vejce skladované do čtyř

týdnů stále splňuje tuto normu a doba skladování vytištěná na maloobchodním balení je tedy 28 dní po zabalení. Nadměrná ztráta vody z vejce zapříčiněná rychlým odpařováním, které je ovlivněno teplotou a relativní vlhkostí během dlouhodobého skladování je obecně nevhodné, a to jak pro stolní tak násadová vejce. Pro minimalizaci zvětšení vzduchové komůrky lze použít nízké teploty a vysokou koncentraci oxidu uhličitého. Avšak výška bílku se bude plynule snižovat i při těchto opatření avšak ne tak rychle.

Jak již bylo naznačeno, faktory prostředí, jako je teplota, vlhkost, přítomnost oxidu uhličitého a celková doba skladování mají významný vliv z hlediska udržení kvality vajec.

Skladování má významný vliv zejména na hmotnost vejce, kterou snižuje. Ztráta hmotnosti během skladování je zapříčiněna plynulým odpařováním obsahu vejce přes vaječné obaly. Její rozsah je pak ovlivněn podmínkami během skladování, a to zejména teplotou a relativní vlhkostí. Vliv doby skladování popisuje studie Samliho et al. (2005), kteří zaznamenali průkaznou ztrátu hmotnosti vejce po 10 denním skladování. Podobně tento vliv pozorovali také Nedomová a Simeonovová (2007). Naproti tomu Jin et al. (2011) průkazné snížení hmotnosti vejce nenašli, a to během stejné doby skladování při pokojové teplotě. Akyurek a Okur (2009) uvádějí, že ztráta hmotnosti vejce se při 4 °C průkazně zvýšila z 0,15 po třech dnech na 0,56 g po 14 dnech skladování, a to ve věku 22 týdnů, avšak v 50 týdnech věku nosnic byla ztráta 0,16 g po třech dnech a 0,70 g po 14 dnech skladování. Pokud se zvýšila teplota skladování na 20 °C, ztráta hmotnosti vajec dramaticky vzrostla, a to na 0,31 a 1,37 g ve věku 22 týdnů a 0,50 a 1,97 g v 50 týdnech věku.

Kvalita bílku je jeden z nejdůležitějších ukazatelů čerstvosti vajec, ale je také velmi důležitá při jeho zpracování. V současné době jsou Haughovy jednotky jedním z nejpoužívanějších ukazatelů. Jedná se o logaritmus výšky vnitřního tuhého bílku a hmotnosti vejce. Výška této jednotky koresponduje s lepší kvalitou vajec, jestliže jsou i ostatní charakteristiky dobré. Výška bílku je ovlivněn jednak dobou skladování, jejími podmínkami, ale i genotypem a věkem nosnice. Za čerstvá vejce nejvyšší jakosti se považují vejce s hodnotou Haughových jednotek kolem 80, u starších vajec se kvalita snižuje (Caner, 2005; Yüceer a Caner, 2014). Haughovy jednotky jako kritérium vnitřní kvality vejce a čerstvosti jsou určeny stabilitou bílkovinných řetězců albuminu (Acker a Ternes, 1994). Jones et al. (2014) zjistili průkazné snížení Haughových jednotek během 12 týdnů z 84,6 na 66,2. Tento pokles jednotek je dále ve shodě i s dalšími studiemi (Caner, 2005; Jones a Musgrove, 2005; Yüceer a Caner, 2014). Stejně tak i Akyurek a Okur (2009) detekovali průkazné snížení Haughových jednotek během tří až 14 dnů skladování při teplotě 20 °C (61,9 - 32,6), avšak během skladování při 4 °C nebyl zaznamenán u tohoto ukazatele tak významný pokles (78,2 -

66,8). Ve studii Grashorna (2016), kdy vejce byla skladována při teplotě 6 °C, zůstaly Haughovy jednotky téměř stále 70. Tato hodnota je považována za přijatelnou, ale poměrně nízkou pro vejce čerstvá. Při teplotě 15 a 22 °C Haughovy jednotky během skladování klesaly výrazně rychleji. Pokles Haughových jednotek může být také považován za indikátor aktivity lysozymu, který je známý pro svou důležitou roli při ochraně vejce před mikrobiální kontaminací.

Podobně i další z ukazatelů kvality bílku, jako je třeba index bílku, během skladování klesá. Stevens (1996) uvádí, že pokles výšky bílku během postupující doby skladování je zapříčiněn proteolýzou ovomucinu (který má tvar vláken), štěpením disulfidových můstků, interakcí s lysozymem a změnami v interakci mezi α a β ovomucinem. U čerstvých vajec je velká část ovomucinu v bílkovinném vaku. Stářím vejce se z tuhého bílku obsah mucinu ztrácí, což způsobuje zvětšování části řídkého bílku. Rozklad bílkovinného vaku je spojen s rostoucími hodnotami pH a vyvolané zvýšené alkalitě bílku. Při nedostatku oxidu uhličitého je struktura sítí ovomucinových vláken narušená a rozpadá se. Akyurek a Okur (2009) sledovali snižování hodnot indexu bílku během 14 denního skladování při pokojové teplotě, což je ukazatel, který vyjadřuje změnu tvaru bílku především pak jeho výšky. V této studii zjistili významný pokles indexu bílku, a to z 9,19 na 1,60 %.

Také podíl bílku se s dobou skladování mění, což naznačují výsledky Scotta a Silversidesa (2000), kteří pozorovali signifikantní snížení podílu bílku během 10 dnů. Jak uvádí Heath (1977), podíl jednotlivých částí, včetně bílku, úzce souvisí s hmotností vejce. Snížení hmotnosti bílku a tedy i jeho podílu je zapříčiněno přestupem vody a aminokyselin z bílku přes vitelinní membránu žloutku. Působením osmotického tlaku přechází z bílku do žloutku voda. Tento proces započne již při tvorbě vejce ve vejcovodu, pokračuje i po snášce a je tím rychlejší, čím vyšší je teplota prostředí, v němž je vejce uloženo. Tímto přechodem se mění podíl bílku a žloutku (Heath, 1977).

Neméně důležitým ukazatelem kvality bílku jsou hodnoty pH, kterými lze dobře sledovat již malé změny kvality v průběhu skladování. Silversides a Villeneuve (1994) uvádějí, že pH je velmi užitečným prostředkem pro popis změn, které nastávají ve vaječném bílku v průběhu skladování. Hodnoty pH bílku se v době snesení vejce pohybují kolem 7,6 a je tak o něco více bazický než děložní tekutina. Během skladování stoupá až na 9,0 neboť difunduje ven rozpuštěný oxid uhličitý (Akyurek a Okur, 2009). Zvýšení hodnot pH během skladování potvrzují také Caner a Yüceer (2015), kde bílek vajec po snesení měl hodnotu pH 7,5 a po 5 týdnech skladování bylo pH na hodnotě 9,56. Akyurek a Okur (2009) dále zaznamenali zvýšení pH bílku se zvyšující se dobou skladování a teplotou. Vyšší zvýšení

hodnot bylo zaznamenáno při teplotě 20 °C oproti 4 °C. Zvýšení pH bílku během 14 denního skladování při 20 °C a ve 22. týdnu věku nosnic vzrostlo ze 7,95 na 9,22 a v 50. týdnu věku z 8,22 na 9,25. Avšak většina nárůstu těchto hodnot nastává v průběhu prvních tří dnů skladování. Po tomto rychlém počátečním nárůstu následoval po zbylou dobu skladování pomalejší nárůst hodnot. Vyšší hodnoty u vajec od starších nosnic autoři vysvětlují vyšší vodivostí skořápky, která dovoluje výraznější propouštění oxidu uhličitého z vejce (Brake et al., 1997). Při skladovací teplotě 4 °C se hodnoty během skladování pohybovaly v rozmezí od 8,88 - 8,97 u 22 týdnů starých nosnic a 8,65 - 8,98 u 50 týdnů starých nosnic. Samli et al. (2005) uvádějí, že pH bílku je nejcitlivějším ukazatelem při měření kvality vajec, protože zaznamenává rozdíly již během skladování při 5 °C.

Doba skladování má významný vliv také na pevnost vitelinní membrány, která se postupně snižuje. Navíc pevnost vitelinní membrány má významnou roli hlavně z hlediska bezpečnosti vejce. Hlavním důvodem je, že živiny obsažené ve žloutku se stávají dostupnější pro mikroorganismy, které jsou přítomny v bílku. Kirunda a McKee (2000) uvádějí, že pevnost vitelinní membrány průkazně souvisí s indexem žloutku a Haughovými jednotkami. Se stárnutím vajec vitelinní vrstva zeslabuje a stává se méně elasticou a některé složky jsou pozměněny nebo odstraněny. Změny v hmotnosti vitelinní vrstvy a v obsahu bílkovin a hexosaminu jsou spojené se zvyšujícím se pH bílku, které může být inhibováno olejováním vaječné skořápky nebo zvýšením rychlosti vzestupu pH bílku. pH žloutku je okolo 6,0 a neobsahuje oxid uhličitý, ale přidáním oxidu uhličitého do skladovacích prostor zpomaluje pohyb vody z bílku do žloutku. Podobný efekt má také snížení skladovací teploty. Teplota i pH ovlivňují kvalitu bílku. Zeslabení pevnosti vitelinní membrány pozorované během skladování je spojené s rozpuštěním chalázové vrstvy bílku, které nastává během dlouhodobého, nikoliv krátkodobého skladování.

Systém ustájení může ovlivnit i skladovatelnost vajec. Rychlost změn během skladování je v mnoha ohledech ovlivněna kvalitou vajec danou systémem ustájení. Nejvyšší průměrná hodnota Haughových jednotek (83,8) byla zaznamenána u čerstvě snesených vajec nosnic chovaných v ekologickém systému. Na druhé straně právě u těchto vajec byl zpozorován nejprudší pokles Haughových jednotek na 43,7 v 15. dni skladování při teplotě 20 °C. O poznání lépe na tom byla vejce nosnic z voliéry, u kterých byla vypočtena hodnota Haughových jednotek 82,3 na začátku skladování a 46,3 na konci skladovacího procesu. Naproti tomu nejpomalejší pokles Haughových jednotek byl vysledován u vajec nosnic z klecí – z 83,2 na 53,1.

Poměrně rozsáhlé sledování v našich podmínkách zaměřené na skladovatelnost vajec v různých systémech ustájení je uvedeno v metodice Tůmová et al. (2009). Ve dvou pokusech byla použita vejce od nosnic ISA Brown od 20. do 60. týdne věku. Nosnice byly ustájeny v konvenčních klecích, obohacených klecích a na podestýlce. Skladovatelnost vajec byla zjišťována při uskladnění za pokojové teploty (20 – 22 °C) a relativní vlhkosti 55 – 60 %. Část vajec byla analyzována během 4 hodin po snesení (čerstvá, 0. den), ostatní po 7, 14 a 21 dnech skladování.

Vliv délky skladování při pokojové teplotě a systému ustájení na hmotnost vajec a ukazatele kvality bílku je patrný z tabulky 5. Hmotnost vajec byla ovlivněna jak dobou skladování, tak i ustájením. Průkazně ($P \leq 0,001$) nejtěžší vejce byla snesena nosnicemi ustájenými na podestýlce (64,0 g) oproti konvenční (62,6 g) a obohacené (59,3 g) kleci. S dobou skladování se hmotnost vajec ($P \leq 0,001$) snižovala. Nejvyšší redukce hmotnosti byla zaznamenána u vajec z podestýlky (o 4,7 g, tj. o 7,3 %). U vajec z obohacené klece hmotnost poklesla o 3,7 g (tj. o 6,2 %). Hmotnost vajec z konvenční klece se během 21 dnů snížila nejméně a to pouze o 2,2 g (tj. o 3,5 %). Redukce hmotnosti vajec v průběhu skladování je zřejmá i z pokusu 2. Větší úbytek byl ale zjištěn u vajec z konvenční klece než z podestýlky, rozdíl mezi hodnotami byl nepatrný. Stanovené snižování hmotnosti vajec během skladování koresponduje s výsledky řady autorů (Scott a Silversides, 2000; Silversides a Scott, 2001; Samli et al., 2005; Nedomová a Simeonovová, 2007). Spolu s hmotností vajec klesaly ($P \leq 0,001$) s dobou skladování i hmotnost a podíl bílku. Největší rozdíl mezi hodnotami naměřenými u čerstvých a 21 dní skladovaných vajec byl zaznamenán u vajec z podestýlky (o 5,4 g a 3,9 %) ve srovnání s konvenční (o 2,8 g a 2,4 %) a obohacenou (o 3,7 g a 2,3 %) klecí. U podílu bílku byla zjištěna průkazná ($P \leq 0,020$) interakce délky skladování a systému ustájení. Nejvyšší hodnoty podílu bílku byly naměřeny u vajec z podestýlky (65,6 %), zatímco nejnižší procentuální zastoupení bílku měla vejce z podestýlky skladovaná 14 dní (61,1 %) a vejce z konvenční klece ve 21. dni skladování (61,1 %). Rovněž v pokusu 2 byla větší redukce hmotnosti stanovena u vajec z podestýlkového chovu oproti konvenční kleci. Scott a Silversides (2000) uvádějí úbytek hmotnosti bílku vlivem skladování za pokojové teploty. Zatímco poměr žloutku a bílku se s prodlužující se dobou skladování zvyšoval. Nejvyšší zvýšení poměru vykazovala vejce z podestýlky (o 7,1 %), následovala vejce z konvenční klece (o 4,9 %) a nejpomaleji rostl poměr žloutku a bílku u vajec z obohacené klece (o 4,1 %). Obdobných výsledků bylo dosaženo i v pokusu 2.

Skladováním byla zejména ovlivněna kvalita bílku. V průběhu 21 denního uchovávání vajec při pokojové teplotě bylo zhoršování kvality bílku vyjádřeno prokazatelným ($P \leq 0,001$)

snižováním hodnot ukazatelů kvality bílku jakými jsou index bílku, Haughovy jednotky a výška bílku a zvyšováním pH bílku. K největším změnám dochází v průběhu prvního týdne po snesení. Během skladování se Haughovy jednotky snížily přibližně o 40 jednotek. Na konci skladovacího procesu byly vyšší ($P \leq 0,001$) hodnoty Haughových jednotek zaznamenány u vajec z obohacené klece (46,3) ve srovnání s vejci z konvenční klece (40,9) a podestýlky (38,6). K většímu snížení Haughových jednotek během skladování a stanovení nižší hodnoty Haughových jednotek v 21. dni u vajec z podestýlky oproti konvenční kleci došlo také ve druhém pokusu. Větší pokles Haughových jednotek u vajec z podestýlky může být způsoben řidnutím bílku v důsledku vyšší koncentrace atmosferického amoniaku v halách při tomto systému. Snížování hodnot parametrů kvality bílku během skladování popisuje celá řada autorů (Scott a Silversides, 2000; Samli et al., 2005; Nedomová a Simeonovová, 2007). S nižší kvalitou bílku zjištěnou po 21 dnech skladování u vajec z podestýlky korespondují výsledky pH bílku. pH bílku bylo naměřeno neprůkazně vyšší také u vajec nosnic ustájených na podestýlce. Naopak v pokusu 2 bylo rychlejší zvýšení hodnot tohoto ukazatele zjištěno u vajec z konvenční klece oproti podestýlce. Nárůst pH způsobený skladováním vajec uvádějí Scott a Silversides (2000), Samli et al. (2005), Nedomová a Simeonovová (2007).

Tabulka 5 Změny v hmotnosti vajec a kvalitě bílku při skladování za pokojové teploty

Ukazatel	Systém ustájení	Skladování (dny)				SEM	Průkaznost		
		0	7	14	21		Ustájení	Skladování	Ustájení * Skladování
Hmotnost vejce (g)	KK	62,6	61,5	62,8	60,4	0,37	0,001	0,001	NS
	P	64,0	64,8	60,7	59,3				
	OK	59,3	58,6	57,4	55,6				
Poměr žloutku a bílku (%)	KK	42,0	43,8	44,7	46,9	0,38	0,021	0,001	NS
	P	37,9	39,9	46,7	45,0				
	OK	41,3	45,2	46,2	45,4				
Index bílku (%)	KK	8,7	3,8	2,7	2,6	0,18	NS	0,001	NS
	P	9,2	3,6	3,2	2,4				
	OK	9,6	3,5	3,3	2,8				
Haughovy jednotky	KK	81,1	48,9	40,3	40,9	1,18	0,001	0,001	NS
	P	82,6	49,5	47,0	38,6				
	OK	85,5	51,2	50,6	46,3				
Výška bílku (mm)	KK	6,94	3,42	2,85	2,76	0,124	NS	0,001	NS
	P	7,16	3,54	3,16	2,59				
	OK	7,43	3,39	3,29	2,92				
pH bílku	KK	8,54	9,34	9,50	9,45	0,025	NS	0,001	NS
	P	8,63	9,41	9,53	9,48				
	OK	8,64	9,36	9,48	9,46				
Hmotnost bílku (g)	KK	39,8	38,7	39,3	37,0	0,29	0,001	0,001	NS
	P	42,0	41,8	37,2	36,6				
	OK	38,1	36,6	35,2	34,4				
Podíl bílku (%)	KK	63,5 ^{abcd}	62,8 ^{cde}	62,3 ^{def}	61,1 ^f	0,17	0,054	0,001	0,020
	P	65,6 ^a	64,4 ^{ab}	61,1 ^f	61,7 ^{ef}				
	OK	64,1 ^{abc}	62,3 ^{def}	61,4 ^{ef}	61,8 ^{ef}				

^{abcd} číslo na stejném řádku označené jiným písmem než předchozí se průkazně liší
 NS neprůkazný; KK konvenční klec, P podestýlka, OK obohacená klec

Kvalitě žloutku během skladování není v odborné literatuře věnována taková pozornost jako bílku. Průběh snižování kvality žloutku při uchovávání vajec za pokojové teploty vyjadřuje tabulka 6. Hodnoty indexu žloutku signifikantně ($P \leq 0,001$) klesaly s dobou skladování. Nejméně (o 16,6 %) se index žloutku snížil u vajec z obohacených klecí, zatímco nejvyšší pokles (o 20,7 %) a současně nejnižší naměřená průměrná hodnota indexu žloutku byla zjištěna u vajec z podestýlky. Rozdíl ale nebyl statisticky průkazný. Výška žloutku prokazatelně ($P \leq 0,001$) klesala s prodlužující se dobou skladování. Neprůkazně vyšší pokles (o 6,31 %) výšky žloutku v důsledku 21 denního skladování byl vysledován u vajec nosnic z podestýlky, pomaleji (o 5,14 %) se snižovala výška žloutku vajec snesených v obohacené kleci. Naproti tomu v pokusu 2 byl stanoven nižší pokles indexu a výšky žloutku u vajec snesených na podestýlce ve srovnání s konvenční klecí. Snižování indexu žloutku nebo výšky žloutku vlivem stárnutí vajec popisují i Samli et al. (2005) a Keener et al. (2006). Shodně se zvyšováním pH bílku docházelo i k pozvolnému nárůstu pH žloutku. Tyto výsledky korespondují se zjištěním Samliho *et al.* (2005). Během skladování byly zaznamenány i změny v hmotnosti a podílu žloutku. Vlivem přestupu vody a aminokyselin z bílku do žloutku se průkazně zvyšovaly hodnoty hmotnosti i podílu. V souladu s pokusem 2 byl větší nárůst podílu žloutku zaznamenán u vajec podestýlky na rozdíl od klecových systémů ustájení. Samli et al. (2005) také uvádějí vyšší hmotnost žloutku u vajec skladovaných oproti čerstvým.

Tabulka 6 Změny v kvalitě žloutku při skladování za pokojové teploty

Ukazatel	Systém ustájení	Skladování (dny)				SEM	Průkaznost		
		0	7	14	21		Ustájení	Skladování	Ustájení * Skladování
Index žloutku (%)	KK	47,6	38,6	31,5	28,5	0,51	NS	0,001	NS
	P	47,0	39,8	32,3	26,3				
	OK	46,2	37,4	32,8	29,6				
Barva žloutku	KK	5,2	5,0	5,3	5,4	0,04	0,006	0,002	NS
	P	5,0	5,2	5,4	5,5				
	OK	4,8	4,8	5,1	5,2				
Výška žloutku (mm)	KK	18,66	15,79	13,72	12,65	0,156	NS	0,001	NS
	P	18,22	16,25	14,01	11,91				
	OK	17,68	15,89	13,85	12,54				
pH žloutku	KK	6,14	6,12	6,22	6,28	0,013	NS	0,001	NS
	P	6,15	6,10	6,16	6,26				
	OK	6,06	6,12	6,13	6,27				
Hmotnost žloutku (g)	KK	16,6	16,8	17,3	17,1	0,11	0,001	0,014	NS
	P	15,8	16,5	17,2	16,3				
	OK	15,6	16,4	16,2	15,4				
Podíl žloutku (%)	KK	26,6	27,3	27,7	28,5	0,17	0,010	0,001	NS
	P	24,8	25,6	28,4	27,6				
	OK	26,3	28,0	28,2	27,9				

NS neprůkazný

KK konvenční klec, P podestýlka, OK obohacená klec

Doba a podmínky skladování hrají významnou roli také při mikrobiální kontaminaci vaječné skořápky, která je důležitá především z hlediska kvality a bezpečnosti vejce jako potraviny. V rámci řešení problematiky mikrobiální kontaminace vaječné skořápky v průběhu skladování, použili Tůmová et al. (2010) nosnice ISA Brown ve věku od 20. do 60. týdne ustájeny v konvenčních klecích (72 kusů; 550 cm²/nosnici) a na podestýlce (60 kusů; 7 nosnic na m²). V průběhu pokusu byly zachovány standardní mikroklimatické a technologické podmínky pro daného hybrida dle technologického postupu a v souladu se směrnicí 74/1999 EK a vyhláškou MZe 208/2004. Vejce pro stanovení mikrobiální kontaminace skořápky a penetrace mikroorganismů do vaječného obsahu byla sbírána v intervalu 28 dnů vždy v 7 hodin. Mikrobiologická analýza povrchu skořápky, podskořápečných blan nebo řídkého bílku se uskutečnila u čerstvých a 2, 7 a 14 dní skladovaných vajec na čisté proložce při pokojové teplotě 20 – 22 °C a relativní vlhkosti 55 – 60 %. Stanovení množství životaschopných bakterií bylo prováděno standardními plotnovými metodami. Navíc bylo dopočítáno procentuální zastoupení vajec, do jejichž obsahu (podskořápečné blány a řídký bílek) penetrovaly mikroorganismy. Celkem bylo takto zanalyzováno 300 skořápek a 189 vaječných obsahů. Vyšetření obsahu vajec na přítomnost kyseliny jantarové se používá jako indikátor kontaminace vaječného obsahu mikroorganismy. Vejce byla sbírána ve 4 obdobích: 27., 39., 49. a 63. týdnů věku slepic. Po 14 dnech skladování při pokojové teplotě 20 – 22 °C a relativní vlhkosti 55 – 60 % následovala chemická analýza, tj. zjištění obsahu kyseliny jantarové ve vejcích metodou plynové chromatografie. Analýza byla provedena na 40 ks vajec. Výsledky studie ukazují, že na povrchu vajec z alternativních systémů ustájení bylo zjištěno 100krát více bakterií než na vejcích nosnic chovaných v klecích. Mikroflóra skořápek vajec z podestýlky dominoval *Enterococcus*, zatímco nejvíce *Escherichia coli* bylo na vejcích z voliéry. Tabulka 7 popisuje změny v mikrobiální kontaminaci povrchu skořápek vajec z konvenční klece a podestýlky v průběhu 14 denního skladování při pokojové teplotě. Vyšší ($P \leq 0,001$) kontaminace povrchu vajec *Escherichia coli*, enterokoky a celkovým počtem bakterií byla stanovena v případě ustájení na podestýlce než v kleci. Skořápky čerstvých vajec byly 1 000krát více kontaminovány než povrch vajec po 14 denním skladování.

Tabulka 7 Mikrobiální kontaminace vaječné skořápky během skladování při pokojové teplotě
Tůmová et al. (2010)

Ukazatel	SKL (dny)	Systém ustájení		SEM	Průkaznost		
		Konvenční klec	Podestýlka		SU	SKL	SU * SKL
<i>Escherichia coli</i> (KTJ/skořápka)	0	5 643 ^b	3 380 186 ^a	198 770	0,001	0,004	0,005
	2	3 115 ^b	1 278 741 ^b				
	7	746 ^b	336 393 ^b				
	14	440 ^b	292 673 ^b				
<i>Enterococcus</i> (KTJ/skořápka)	0	439	162 434	9 936	0,001	NS	NS
	2	665	85 426				
	7	53	46 267				
	14	19	82 767				
Celkový počet mikroorganismů (KTJ/skořápka)	0	63 491 ^b	11 414 528 ^a	642 569	0,001	0,003	0,003
	2	9 330 ^b	7 794 734 ^a				
	7	4 706 ^b	1 356 118 ^b				
	14	2 808 ^b	1 446 414 ^b				

^{ab} číslo na stejném řádku označené jiným písmem než předchozí se průkazně liší; NS = neprůkazný, SU = systém ustájení; SKL = skladování; KTJ = kolonie tvořící jednotku

S dobou skladování se počet bakterií na vejcích 10krát snížil. K významnému poklesu dochází během několika prvních dnů. Celkový počet mikroorganismů na povrchu vajec z konvenční klece se průkazně ($P \leq 0,003$) snížil z 63 491 na 2 808 KTJ a u vajec z podestýlkového chovu tomu bylo obdobně z 11 414 528 na 1 446 414 KTJ. Prokazatelné ($P \leq 0,004$) snížení bylo zaznamenáno i u *Escherichia coli*. U celkového počtu mikroorganismů ($P \leq 0,003$) a počtu *Escherichia coli* ($P \leq 0,005$) na skořápkách vajec byla zaznamenána průkazná interakce systému ustájení a doby skladování. Nejvyšší hodnota celkového počtu mikroorganismů byla zaznamenána na povrchu čerstvých (11 414 528 KTJ/skořápka) a 2 dny skladovaných (7 794 734 KTJ/skořápka) vajec z podestýlky oproti vejcům z podestýlky skladovaným 7 (1 356 118 KTJ/skořápka) a 14 (1 446 414 KTJ/skořápka) dnů nebo z konvenční klece (63 491, 9 330, 4 706 a 2 808 KTJ/skořápka). Kontaminace skořápek *Escherichia coli* byla nejvyšší u čerstvých vajec z podestýlky (3 380 186 KTJ) ve srovnání

s vejci z tohoto systému ustájení skladovanými 2 (1 278 741 KTJ), 7 (336 393 KTJ) a 14 (292 673 KTJ) dnů nebo z klece (5 643, 3 115, 746 a 440 KTJ).

Vyšší kontaminace skořápky mikroorganismy v alternativních systémech ustájení může zvýšit riziko průniku mikroorganismů do vejce. V tabulce 8 jsou uvedeny výsledky části pokusu zabývajícího se vlivem systému ustájení a délky skladování vajec při pokojové teplotě na penetraci mikroorganismů do vaječného obsahu. Systém ustájení ani doba skladování průkazně neovlivnily penetraci mikroorganismů do vejce. Průnik *Escherichia coli* do vejce přes podskořápečné blány nastal během 2 dnů skladování, zatímco vyšší výskyt enterokoků na blanách byl zaznamenán po 7 dnech skladování.

Tabulka 8 Penetrace mikroorganismů do vaječného obsahu Tůmová et al. (2010)

Skladování (dny)	Systém ustájení	Penetrace (%)					
		Podskořápečná blána			Bílek		
		<i>EC</i>	<i>E</i>	CPM	<i>EC</i>	<i>E</i>	CPM
2	Konvenční klec	3,23	-	1,61	2,42	-	3,23
	Podestýlka	5,65	0,81	10,49	2,42	-	-
7	Konvenční klec	-	1,39	1,39	0,70	-	1,39
	Podestýlka	0,70	3,48	4,17	1,39	-	0,70
14	Konvenční klec	0,91	-	4,55	1,82	-	1,82
	Podestýlka	2,73	0,91	6,37	0,91	-	0,91

EC Escherichia coli, *E Enterococcus*, CPM celkový počet mikroorganismů

Neprůkazně vyšší podíl vajec, která měla kontaminované podskořápečné blány mikroorganismy byl zjištěn při ustájení na podestýlce a to jak ve druhém, sedmém i čtrnáctém dni skladování. Vyšší podíl kontaminací na úrovni blan u vajec z podestýlky může souviset s nižší kvalitou skořápky a vyšším počtem mikroorganismů na povrchu vajec. Zatímco podíl vajec s detekovanou kontaminací bílku byl vyšší u klecového chovu oproti podestýlce.

Jako indikátor mikrobiální kontaminace vajec byla stanovována kyselina jantarová. V žádném ze vzorků vajec 14 dní skladovaných při pokojové teplotě nebyla kyselina jantarová detekována. Shodně Dušek (2004) naměřil nižší množství kyseliny jantarové ve vejcích než je limit stanovený vyhláškou 200/2003 *Sb.* a uvádí, že legislativní požadavek v případě kyseliny jantarové není optimálně nastaven.

3 Experimentální část

3.1 Materiál a metodika

Studie hodnotí dva pokusy s nosnicemi, ve kterých byl sledován vliv obsahu vápníku na kvalitu vajec, zejména skořápky, jejich skladovatelnost a bezpečnost produkce. V obou pokusech byla koncentrace vápníku modelová, nízká (3 % Ca) a běžná (3,5 % Ca) s cílem posoudit význam těchto hladin v různých systémech ustájení. Ze systémů ustájení byly posuzovány obohacené klece, podestýlka a voliéry. Většina sledování však proběhla u dvou kontrastních systémů, obohacených klecí a na podestýlce.

Pokus 1

Cílem pokusu bylo posoudit v rozdíly v kvalitě vajec, změny v kvalitě vajec v průběhu krátkodobého a dlouhodobého skladování od slepic tří genotypů (Isa hnědá, Bovans hnědý a Moravia BSL) ustájených v obohacené kleci a na podestýlce krmených směsmi s dvěma úrovněmi vápníku (3,0 a 3,5 %).

Pokus byl realizován se 120 nosnicemi mezi 20. a 60. týdnem věku. Polovina nosnic byla ustájena v obohacených klecích SKN-O 30-60 (Kovobel, Domažlice, Czech Republic 10 slepic v kleci, 750 cm² na slepici). Další 60 nosnic bylo chováno v 6 boxech na podestýlce (10 slepic v boxu, 7 ks / m²). V rámci každého ustájení byly nosnice rozděleny do dalších 3 skupin podle genotypu. Byly použity dva hnědovaječné genotypy, Isa hnědá a Bovans hnědý, a jeden genotyp s krémovou skořápkou, Moravia BSL. Moravia byla zvolena proto, že se jedná o genotyp vhodnější do podlahového chovu a současně má i odlišnou kvalitu skořápky. V rámci každého genotypu byly vytvořeny dvě skupiny, které se lišily obsahem vápníku v krmivu. Byla zvolena koncentrace 3,0 %, která měla navodit nedostatek Ca u hnědovaječných slepic a tím i nižší kvalitu skořápy, a běžná koncentrace 3,5 %. Podmínky pokusu odpovídaly běžným požadavkům slepic. Během pokusu byly nosnice krmeny dvěma typy krmných směsí, N1 od 20 do 40 týdnů věku a N2 od 41. do 60. týdne věku. Obsah živin v krmných směsích je uveden v tabulce 9. Po celou dobu pokusu měly nosnice přístup ke krmivu a vodě *ad libitum*. Během pokusu se používal 15 h světelný den s intenzitou 10 lx.

Tabulka 9 Obsah živin v použitých krmných směsích

Živina	N1 3 %	N1 3,5 %	N2 3 %	N2 3,5 %
Dusíkaté látky (%)	16,66	16,70	15,37	15,52
Metabolizovatelná energie (MJ)	11,4	11,5	11,5	11,5
Ca (%)	2,95	3,48	3,03	3,48
P celkový (%)	0,56	0,57	0,56	0,56

Kvalita vajec

Technologická hodnota

Pro zhodnocení vlivu systému ustájení, genotypu a vápníku na kvalitu vajec byla během pokusu posuzována technologická hodnota vajec, kde byla stanovena hmotnost vajec, index žloutku, podíl žloutku, podíl bílku, podíl skořápky, tloušťka skořápky, pevnost skořápky, Haughovy jednotky, barva žloutku. Vejce k rozborům byla sbírána ve 28 denním intervalu, vždy dva dny po sobě, všechna snesená vejce ze skupiny (celkem 900 vajec). Hmotnost vejce a jeho částí (g) se zjišťovala na běžných elektronických laboratorních váhách. Z hmotností pak byly vypočteny podíly jednotlivých částí vejce. Pevnost skořápky byla vyhodnocena přístrojem QC – SPA firmy TSS England. Tloušťka skořápky v ekvatoriální rovině byla hodnocena po odstranění podskořápečných blan na přístroji QCT (TSS England). Haughovy jednotky byly stanoveny pomocí přístrojů QCH a QCM+, které byly připojeny k počítači vybavenému programem k automatickému zaznamenávání hmotnosti vejce a výšky bílku (mm) a výpočtu Haughových jednotek (Haugh, 1937). Index žloutku (%) byl spočten pomocí vzorce $IZ = (VZ / ((\check{S}\check{Z} + \check{S}\check{Z}) / 2)) * 100$, ve kterém výška žloutku (VŽ, mm) byla změřena mikrometrickou hlavicí (Mitutoyo, 0,01 mm, Kawasaki, Japan) a rozměry šířky žloutku (ŠŽ, mm) byly měřeny kolmo na sebe posuvným měřítkem. Barva žloutku byla stanovena kolorimetrickou metodou na přístroji QCC (TSS England) a výsledky vyjádřeny jako standard DMS Roche.

Skladovatelnost vajec

Skladovatelnost vajec byla posuzována při krátkodobém a dlouhodobém skladování. Krátkodobé skladování po dobu 5 dnů bylo zvoleno především proto, že během prvních dnů po snesení probíhají ve vejci nejvýraznější změny v kvalitě. Dlouhodobé skladování trvalo 21 dnů a navozovalo podmínky u spotřebitelů.

Krátkodobé skladování

Vejce pro krátkodobé skladování byla sbírána z obohacených klecí a z podestýlky podle obsahu vápníku, ale bez ohledu na genotyp. Vejce byla sbírána uprostřed snáškového cyklu a k rozborům bylo použito vždy 30 vajec ze skupiny. Vejce byla skladována v pokojové teplotě 20 – 22 °C a relativní vlhkosti 55 – 60 %. Vejce byla analyzována během 4 hodin po snesení (čerstvá, 0. den) a pak každý následující den do 5 dnů po snesení. Jako hlavní indikátory změn byla hodnocena hmotnost vajec, Haughovy jednotky a pH bílku. pH bylo stanoveno přístrojem pH 330i od firmy WTW Germany. Ukazatele se běžně používají pro hodnocení skladovatelnosti a detekují nejvýznamnější změny.

Dlouhodobé skladování

Dlouhodobé skladování bylo posuzováno u vajec z klecí a podestýlky u všech tří genotypů při obou hladinách vápníku v krmivu. Vejce byla sbírána ve 28 denním intervalu, vždy 8 vajec ze skupiny, celkem 960 vajec. Vejce byla analyzována čerstvá a dále skladovaná 7, 14 a 21 dnů. Vejce byla skladována v chladničce při teplotě 5 – 6 °C a relativní vlhkosti 50±5 °C. Rozbory vajec byly shodné s krátkodobým skladováním.

Statistické hodnocení

Výsledky byly hodnoceny programem SAS (SAS Institute Inc., 2013), analýzou variance (Anova). Výsledky analýz čerstvých vajec a vajec dlouhodobě skladovaných byly zpracovány trojnásobnou analýzou variance s interakcí systému ustájení, genotypu a vápníku. Krátkodobé skladování bylo hodnoceno trojnásobnou analýzou variance s interakcí ustájení, vápníku a doby skladování. Za statisticky průkazné rozdíly jsou považovány výsledky na hladině významnosti $P \leq 0,05$.

Pokus 2

Cílem pokusu bylo zjistit vliv systému ustájení (obohacená klec, podestýlka a voliéra) a obsahu vápníku v krmivu (3,0 a 3,5 %) na kvalitu vajec, kontaminaci vaječné skořápky, penetraci mikroorganismů do vejce a skladovatelnost vajec.

Pokus se 172 nosnicemi Isa hnědá byl realizován mezi 20. a 69. týdnem věku slepic. Slepice byly rozděleny do 3 skupin podle systému ustájení. V první skupině byly nosnice ustájené v obohacených klecích (60 ks) SKN-O 30-60 (Kovobel, Domažlice, Czech Republic 10 slepic v kleci, 750 cm² na slepici) druhá skupina (60 nosnic) byla chována v 6 boxech na podestýlce (10 slepic v boxu, 7 ks / m²) a třetí skupina ve voliéře (Kovobel, Domažlice, Czech

Republic, 40 ks 15 ks / m²). V rámci každého systému ustájení byly 2 podskupiny, které se lišily obsahem vápníku v krmivu (3,0 resp. 3,5 %). Podmínky pokusu byly shodné s 1. Pokusem. Obsah živin v krmných směsích je uveden v tabulce 10.

Tabulka 10 Obsah živin v použitých krmných směsích

Živina	N1 3 %	N1 3,5 %	N2 3 %	N2 3,5 %
Dusíkaté látky (%)	17,06	16,93	15,59	15,64
Metabolizovatelná energie (MJ)	11,6	11,5	11,6	11,6
Ca (%)	3,01	3,52	3,10	3,61
P celkový (%)	0,56	0,57	0,57	0,58

Kvalita vajec

Technologická hodnota vajec

Vejde pro stanovení kvality čerstvých vajec byla sbírána ve 28 denním intervalu, 2 dny za sebou všechna snesená vejce v každé skupině, celkem 1584 vajec. Stanovení se shodovala s pokusem 1.

Mikrobiální kontaminace vajec a penetrace mikroorganismů do vejce

Mikrobiální kontaminace vajec a penetrace mikroorganismů byla posuzována u vajec z obohacené klece a podestýlky v závislosti na obsahu vápníku v krmivu. Vejce byla odebrána ve 28 denním intervalu, vždy 3 vejce (rozbor ve dni sběru) + 3 x 2 vejce (rozbor po 2, 7 a 14 dnech skladování na čisté proložce při pokojové teplotě 20 - 22 °C a relativní vlhkosti 55 - 60 %) z každé ze 4 skupin (obohacená klec + krmná směs se 3,5 % a 3 % vápníku, podestýlka + krmná směs se 3,5 % a 3 % vápníku). V jednom rozboru bylo pro stanovení mikrobiální kontaminace zhodnoceno 36 vajec a celkem 288 vajec za celé sledované období. Penetrace na podskořápečnou blánu a do bílku byla sledována u vajec, která byla skladována 2, 7 a 14 dní. Vejce pro tuto analýzu byla omyta pod tekoucí vodou, očištěna desinfekčním roztokem a znovu omyta. Vaječná skořápka byla narušena sterilním skalpelem a vaječný obsah byl vylit na sterilní Petriho misku. Podskořápečná blána byla odstraněna sterilní pinzetou a řídký bílek byl odebrán sterilní injekční stříkačkou. Poté byly podskořápečné blány umístěny do 10 ml sterilního peptonového roztoku (ředění 10⁰) a vaječný bílek do prázdné zkumavky (ředění 10⁰). Po vytvoření ředících řad bylo stanovení mikroorganismů provedeno standardními plotnovými metodami, jako tomu bylo při stanovení mikrobiální kontaminace vaječné skořápky a vypočítány kolonie tvořící jednotku (ktj). Dále

bylo dopočítáno procentuální zastoupení vajec, do jejichž obsahu penetrovaly mikroorganismy.

Vejde pro analýzu kontaminace vaječné skořápky byla umístěna (sterilními rukavicemi) do sterilních plastových sáčků s 10 ml sterilní peptonové vody (9 g chloridu sodného, 1 g peptonu, 1000 ml destilované vody), v kterých byla vejce důkladně promývána. Ředící řada pro každé vejce byla vytvořena přidáním 1 ml roztoku (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}). Mikrobiální analýza byla provedena pomocí standardních agarových metod. U vajec byl sledován celkový počet mikroorganismů, *Escherichia coli* a *Enterococcus*. Počet *Escherichia coli* byl monitorován pomocí Mac-Conkey agaru (Oxoid), počet *Enterococcus* pomocí Slanetz Bartley agaru (Oxoid) a celkový počet mikroorganismů Standard plate count agarem (Oxoid). Petriho misky s Mac-Conkey agarem a Slanetz Bartley agarem byly inkubovány 48 hodin při inkubační teplotě 37 °C. Standard plate count agar byl inkubován 120 hodin při teplotě 30 °C. Typické kolonie tvořící jednotku (ktj) byly na Petriho miskách spočítány a následně převedeny na logaritmus po inkubaci podle vzorce:

$$\text{ktj (vejce)} = \frac{N_1 + N_2}{2} * D * K$$

(N_1 - počet kolonií na 1. Petriho misce; N_2 - počet kolonií na 2. Petriho misce; D - stupeň ředění (10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 nebo 10^5); K - koeficient 10 (CPM) nebo 100 (*Escherichia coli* a *Enterococcus*))

Dlouhodobé skladování vajec

Skladovatelnost vajec byla posuzována u vajec z klecí a podestýlky v závislosti na obsahu vápníku po dobu 21 dnů, vejce byla skladována při pokojové teplotě (20 - 22 °C a relativní vlhkosti 55 - 60 %), která byla zvolena pro posouzení změn ve vejci, které jsou při této teplotě rychlejší. Vejce byla sbírána ve 28 denním intervalu, 20 vajec ze skupiny (celkem 960 vajec). Analýzy byly shodné s pokusem 1.

Statistické hodnocení

Získaná data byla statisticky zpracována programem SAS (SAS Institute Inc., 2003), metodou Anova. Kvalita čerstvých vajec byla hodnocena dvojnásobnou analýzou variace při posouzení interakce systému ustájení a obsahu vápníku v krmivu. Kontaminace čerstvých vajec a penetrace mikroorganismů byla analyzována dvojnásobnou analýzou bez interakcí. Trojnásobná analýza variance s interakcí systému ustájení, obsahu vápníku a doby skladování

byla použita u skladovatelnosti vajec. Průkaznost rozdílů byla posuzována na hladině významnosti $P \leq 0,05$.

3.2 Výsledky a diskuse

Pokus 1 Vliv systému ustájení, genotypu a vápníku na kvalitu vajec

Kvalita čerstvě snesených vajec

Hmotnost vajec je jedním z hlavních ukazatelů kvality, který současně ovlivňuje i ekonomiku produkce. Kromě toho působí i na podíl jednotlivých částí vejce a kvalitu skořápky. Hmotnost vajec (tabulka 11) byla ovlivněna interakcí systému ustájení ($P \leq 0,001$), genotypu a obsahu Ca. Nejvyšší hmotnost byla zjištěna na podestýlce u hybridu Bovans hnědý při obsahu Ca 3,0 % a nejnižší v klecích u Isy hnědé při 3,5 % Ca. Tyto výsledky naznačují význam Ca v různých systémech ustájení, které se liší i u jednotlivých hybridů. Význam těchto výsledků podtrhuje i to, že u skupiny chované na podestýlce, hybrid Bovans hnědý s 3,0 % Ca byl nejmenší podíl bílku a žloutku, ale nejvyšší podíl skořápky a její pevnost. Hmotnost vajec byla průkazně vyšší na podestýlce ($P \leq 0,001$) ve srovnání s klecemi. Vyšší hmotnost vajec na podestýlce mohla souviset i s nižší snáškou v tomto systému ustájení jak uvádí literatura (Voslářová et al., 2006 a Englmaierová et al., 2014). Také genotyp ovlivnil hmotnost vajec ($P \leq 0,001$), která byla nejvyšší u hybridu Moravia BSL, což je u tohoto hybridu uváděno i v jiných pokusech (Tůmová et al., 2009, Tůmová et al., 2017a). Z jednotlivých ukazatelů neměl na hmotnost vajec vliv obsah Ca v krmivu. Obecně v tomto pokusu byl vliv Ca malý na jednotlivé ukazatele, ze kterých ovlivnil Haughovy jednotky ($P \leq 0,05$) a barvu žloutku ($P \leq 0,001$). Podobně jako hmotnost vajec, tak i podíly jednotlivých částí vejce byly signifikantně ovlivněny interakcí systému ustájení, genotypu a obsahu Ca.

Z hlediska bezpečnosti produkce vajec je důležitá kvalita vaječné skořápky. Tloušťka skořápky byla ovlivněna pouze genotypem slepic ($P \leq 0,001$) s nižšími hodnotami u Moravie BSL. Moravia BSL je hybrid, u kterého je obecně nižší kvalita skořápky (Tůmová et al., 2009, Tůmová et al., 2017b). Pevnost vaječné skořápky, která je funkcí tloušťky skořápky a její struktury, byla ovlivněna interakcí všech sledovaných ukazatelů ($P \leq 0,001$). Jak již bylo zmíněno, nejvyšší pevnost byla na podestýlce u Bovanse hnědého při 3,0 % Ca a nejnižší také na podestýlce, ale i Isy hnědé také se 3,0 % Ca. Tyto výsledky naznačují rozdíly v požadavcích na Ca u jednotlivých hybridů. Na druhou stranu pokrytí požadavků na Ca také

závislé na spotřebě krmiva jednotlivých genotypů (Tůmová et al., 2016). Nejvyšší pevnost skořápky byla u Bovanse hnědého ($P \leq 0,001$).

Vnitřní kvalita vajec se posuzuje zejména kvalitou bílku, u kterého jsou nejpřesnějším ukazatelem výška bílku respektive Haughovy jednotky. Haughovy jednotky byly nejvyšší u Moravie BSL ($P \leq 0,001$) a při nižším obsahu Ca ($P \leq 0,05$). Důležitou roli ale hrála interakce všech sledovaných faktorů ($P \leq 0,001$), kde nejvyšší Haughovy jednotky byly u Moravie BSL v klecích při 3,0 % Ca a nejnižší na podestýlce u Isy hnědé také při 3,0 % Ca.

Výsledky kvality čerstvých vajec ukazují, že více než vliv jednotlivých faktorů na kvalitu vajec má interakce více faktorů, což potvrzuje údaje z literatury (van den Brand et al., 2004, Singh et al., 2009, Tůmová et al., 2009). Z jednotlivých faktorů měl největší vliv genotyp slepic. Je tedy zřejmé, že pro dosažení vysoké kvality vajec je nezbytné do každého systému ustájení zvolit vhodný genotyp.

Pokus 1 Tabulka 11 Kvalita vajec v závislosti na ustájení, genotypu a obsahu vápníku v krmivu

Ukazatel	Klec						Podestýlka						Průkaznost			
	ISA hnědá		Bovans hnědý		Moravia BSL		ISA hnědá		Bovans hnědý		Moravia BSL		U	G	Ca	UxGxCa
	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5				
Hmotnost vejce (g)	59,6 ^{de}	59,1 ^e	63,6 ^b	62,6 ^c	61,5 ^d	62,1 ^c	62,4 ^c	62,4 ^c	65,2 ^a	62,4 ^c	63,3 ^b	64,0 ^b	***	***	NS	***
Podíl bílku (%)	63,8 ^a	64,1 ^a	61,8 ^d	63,9 ^a	63,6 ^{ab}	63,9 ^a	63,9 ^a	64,0 ^a	63,1 ^b	62,9 ^a	63,6 ^{ab}	62,5 ^c	***	***	NS	***
Podíl žloutku (%)	24,3 ^d	24,1 ^e	25,6 ^b	23,9 ^{de}	25,3 ^{bc}	25,7 ^b	24,3 ^d	24,3 ^d	24,2 ^d	24,8 ^c	24,9 ^c	26,2 ^a	***	***	NS	***
Podíl skořápky (%)	11,9 ^b	11,8 ^b	12,6 ^a	12,1 ^{ab}	11,2 ^d	11,5 ^{cd}	11,7 ^{bc}	11,9 ^b	12,6 ^a	12,2 ^{ab}	11,4 ^{cd}	11,2 ^d	NS	***	NS	***
Tloušťka skořápky (mm)	0,423	0,347	0,381	0,359	0,330	0,330	0,348	0,359	0,382	0,366	0,324	0,325	NS	***	NS	NS
Pevnost skořápky (g/cm ²)	4744 ^{bc}	4633 ^c	4952 ^b	4574 ^{cd}	4518 ^{cd}	4431 ^d	3394 ^e	4780 ^{bc}	5100 ^a	4843 ^b	4202 ^d	4152 ^d	NS	***	NS	***
Haughovy jednotky	86,3 ^{cd}	84,4 ^d	84,6 ^d	89,2 ^b	91,7 ^a	87,3 ^c	83,5 ^e	86,7 ^c	89,7 ^b	89,2 ^b	89,3 ^b	84,6 ^d	NS	***	**	***
Index žloutku (%)	49,1	49,2	48,9	49,7	50,5	50,9	48,5	48,8	48,5	49,9	50,2	50,2	**	***	NS	NS
Barva žloutku	5,4	5,1	5,3	5,1	5,2	5,1	5,5	5,4	5,3	5,3	5,6	5,5	***	**	***	NS

^{a,b,c,d,e}, ** P ≤ 005, *** P ≤ 0.001, NS neprůkazné; U – ustájení, G – genotyp, Ca – vápník

Krátkodobé skladování vajec

Během krátkodobého skladování vajec v prvních pěti dnech po snesení se posuzoval vliv systému ustájení a obsahu Ca na změny v kvalitě vajec (tabulka 12). Hmotnost vajec nebyla ovlivněna žádným ze sledovaných faktorů. Sice došlo ke snížení hmotnosti o 4 až 10 %, ale tyto změny nebyly tak výrazné ve srovnání s dlouhodobým skladováním. Hlavní změny byly patné ve vnitřní kvalitě vajec, které postihují především kvalitu bílku. Běžně se k posuzování změn během skladování používá pH bílku, které rychleji stoupalo u vajec z podestýlky ($P \leq 0,001$) a největší nárůst byl zaznamenán během prvních dvou dnů po snesení ($P \leq 0,001$). Přesnější změny pak vyjadřují Haughovy jednotky. U tohoto ukazatele byla zaznamenána interakce systému ustájení a obsahu Ca v krmivu ($P \leq 0,05$). Největší pokles Haughových jednotek byl u vajec z podestýlky při 3,0 % Ca v krmivu a to o 25 % a nejnižší v kleci při 3,5 % Ca v krmivu o 13 %. U vajec z podestýlky docházelo nevýznamně k rychlejšímu poklesu Haughových jednotek než u vajec z klecí. Tyto rychlejší změny mohou souviset s vyšším obsahem amoniaku v halách s podestýlkou. V této souvislosti Benton a Brake (2000) uvádějí významný vliv vyšší koncentrace amoniaku ve vzduchu na řídnutí bílku. Změny mohou také souviset se složením bílku a také degradací jednotlivých bílkovin, protože Vlčková (2016) uvádí u vajec z výběhu ve srovnání s vejci z obohacených klecí průkazně vyšší obsah lysozymu, ale jeho rychlejší snižování během skladování.

Pokus 1 Tabulka 12 Změny v kvalitě vajec v průběhu krátkodobého skladování

Ukazatel	Skladování (dny)	Klec		Podestýlka		Průkaznost			
		3,0 %	3,5 %	3,0 %	3,5 %	Ustájení	Ca	Skladování	UxCaxS
Hmotnost vejce (g)	0	63,4	64,1	65,7	66,6	NS	NS	NS	NS
	1	62,1	63,3	64,2	65,1				
	2	61,4	61,1	62,1	62,3				
	3	61,2	60,3	61,4	62,2				
	4	59,1	59,9	59,8	62,1				
	5	57,8	59,7	59,7	61,3				
Haughovy jednotky	0	83,3 ^a	84,4 ^a	82,4 ^a	82,2 ^a	NS	NS	***	**
	1	78,6 ^b	84,3 ^a	74,5 ^d	75,5 ^d				
	2	78,1 ^b	79,0 ^b	72,5 ^e	71,8 ^e				
	3	74,0 ^d	77,0 ^c	71,9 ^e	70,3 ^e				
	4	71,7 ^e	74,5 ^d	65,9 ^f	67,6 ^f				
	5	70,6 ^e	73,1 ^{de}	62,4 ^g	67,1 ^g				
pH bílku	0	8,7	8,9	8,6	8,6	***	NS	***	NS
	1	8,9	9,1	8,7	8,8				
	2	9,1	9,1	9,1	9,0				
	3	9,2	9,1	9,1	9,3				
	4	9,3	9,3	9,2	9,3				
	5	9,3	9,3	9,3	9,3				

^{a,b,c,d,e,f,g}; ** P ≤ 0,05, *** P ≤ 0,001, NS neprůkazné; U – ustájení, Ca – vápník, S - skladování

Dlouhodobé skladování

V tabulce 13 jsou uvedeny výsledky třítydenního skladování vajec z klecí a podestýlky u 3 hybridů v závislosti na obsahu Ca v krmivu. Hmotnost čerstvých vajec byla poměrně vyrovnaná a nebyly rozdíly v závislosti na jednotlivých faktorech. Hmotnost vajec během skladování byla ovlivněna zejména systémem ustájení, u vajec z klecí poklesla cca o 7 % a u podestýlky o 6 %. Významnější pokles hmotnosti vajec byl u Moravie BSL 7. a 14. den skladování, která má tenčí skořápku než ostatní hybridy. Význam kvality skořápky pro snižování hmotnosti během skladování dokládá i vyšší pokles u vajec ze skupiny s nižším obsahem Ca v krmivu, který byl průkazný 7. den skladování ($P \leq 0,05$). Pokles hmotnosti vajec v průběhu skladování souvisí zejména s odpařováním vody a je zřejmé, že přináší kvalitě skořápky je odpařování vody z vejce vyšší než u vajec s dobrou kvalitou.

Přesnějším ukazatelem změn kvality vajec během skladování jsou Haughovy jednotky. Ve vztahu k ustájení je pokles Haughových jednotek zejména během prvních 7 dnů skladování, kdy byly Haughovy jednotky nižší u podestýlky ($P \leq 0,05$) ve srovnání s klecemi. Podobné výsledky uvádí i literatura (Keener et al., 2006; Nedomová a Simeonovová et al., 2007). Vyšší pokles Haughových jednotek u vajec z podestýlky pravděpodobně souvisí s větším řidnutím bílku v důsledku vyšší koncentrace amoniaku v halách s tímto systémem ustájení (Benton a Brake, 2000). Také genotyp měl vliv na pokles Haughových jednotek. Větší pokles byl zaznamenán u vajec Moravie BSL a to zejména u skupin s nižším obsahem Ca v krmivu. Tyto výsledky naznačují, že u vajec s nižší kvalitou skořápky probíhá stárnutí vejce během skladování rychleji ve srovnání s vejci s dobrou skořápkou. Tento trend potvrzuje i nárůst pH bílku, když změny nejsou tak rychlé jako u Haughových jednotek.

Pokus 1 Tabulka 13 Výsledky dlouhodobého skladování v chladničce

Ukazatel	Sklad	Klec						Podestýlka						Průkaznost			
		ISA hnědá		Bovans hnědý		Moravia BSL		ISA hnědá		Bovans hnědý		Moravia BSL					
		3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	3,0	3,5	U	G
Hmotnost vejce (g)	0	62,1	62,0	63,9	64,5	64,0	65,3	65,8	65,3	66,2	65,6	68,3	66,8	NS	NS	NS	NS
	7	59,9	60,9	62,7	63,5	62,1	63,8	64,3	64,5	65,1	64,5	66,2	65,5	***	**	**	NS
	14	59,6	60,0	61,3	61,0	61,7	61,8	62,1	63,1	64,8	63,2	64,4	63,0	***	**	NS	NS
	21	57,9	58,4	59,7	60,8	59,2	60,9	61,3	62,5	63,4	63,4	63,3	62,5	***	NS	NS	NS
Haughovy jednotky	0	86,4	84,5	84,4	84,2	89,9	87,9	82,9	83,9	84,6	83,9	86,3	85,2	***	***	**	NS
	7	81,3	78,7	79,9	80,3	80,2	83,3	77,6	79,1	78,3	77,4	77,9	78,3	**	***	NS	**
	14	79,3	77,2	77,6	78,3	77,7	80,0	73,5	76,5	71,2	72,3	71,3	73,2	NS	NS	NS	NS
	21	68,8	69,8	67,3	68,9	69,9	72,9	65,4	68,5	66,9	69,9	68,7	69,9	NS	***	NS	**
pH bílku	0	8,8	8,7	8,7	8,7	8,8	8,9	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,7	***	***	NS	NS
	7	9,0	9,0	9,0	9,0	9,1	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,1	NS	***	**	NS
	14	9,0	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,0	9,0	9,1	9,1	NS	NS	NS	NS
	21	9,1	9,1	9,2	9,1	9,2	9,1	9,1	9,1	9,1	9,0	9,2	9,1	NS	NS	NS	NS

** P ≤ 0,05, *** P ≤ 0,001, NS neprůkazné; U – ustájení, G – genotyp, Ca - vápník

Pokus 2 Vliv systému ustájení na kvalitu vajec, mikrobiální kontaminaci skořápky, penetraci mikroorganismů do vejce a skladovatelnost vajec při dvou úrovních Ca v krmivu.

Kvalita čerstvě snesených vajec

V pokusu se porovnávaly tři nejrozšířenější systémy ustájení, obohacené klece, podestýlka a voliéry. Ve všech systémech ustájení byly nosnice krmeny směsmi s dvěma koncentracemi Ca v krmivu. Ve vztahu k systému ustájení byla průkazně vyšší hmotnost ($P \leq 0,001$) u vajec z podestýlky a nejnižší z klecí (tabulka 14). Podobně jako v předchozím pokusu nižší hmotnost vajec z klecí pravděpodobně souvisela s vyšší snáškou v tomto systému. Mezi snáškou a hmotností vajec existují negativní korelace. Vápník v krmivu hmotnost vajec neovlivnil, ale významná byla interakce systému ustájení a vápníku ($P \leq 0,001$). Tato interakce ukazuje nejvyšší hmotnost vajec ve voliére při 3,0 % Ca v krmivu a nejnižší při stejné koncentraci Ca, ale v klecích.

Z podílů jednotlivých částí vejce byl sledovanými faktory nejvíce ovlivněn podíl skořápky. Signifikantní interakce systému ustájení a Ca v krmivu ($P \leq 0,001$) ukazuje nejvyšší podíl skořápky u vajec z klecí při vyšším obsahu Ca v krmivu a nejnižší ve voliére při 3,0 % Ca. Z interakce je také zřejmé, že Ca v krmivu měl průkazný vliv na podíl skořápky zejména u podestýlky a voliéry. Předpokládáme, že tyto rozdíly souvisely zejména se spotřebou krmiva, respektive Ca. Podíl skořápky byl vyšší u vajec z klecí ($P \leq 0,001$) a při vyšším obsahu Ca v krmivu ($P \leq 0,05$). Podobně jako podíl skořápky, tak i pevnost skořápky byla ovlivněna interakcí systému ustájení a obsahem Ca v krmivu ($P \leq 0,001$). Nejvyšší pevnost byla v klecích při 3,5 % Ca a nejnižší při stejném obsahu Ca v krmivu na podestýlce. Průkazný vliv obsahu Ca ($P \leq 0,001$) na pevnost skořápky byl patrný zejména v klecích, kde byla pevnější skořápka při vyšším obsahu Ca v krmivu. Vzhledem k tomu, že tloušťka skořápky se mezi jednotlivými skupinami nelišila, lze předpokládat, že systém ustájení ovlivňuje i vnitřní strukturu skořápky, která má vliv na pevnost, což se ukazuje i v našich předchozích studiích (Tůmová et al., 2009, Ledvinka et al., 2012). Současně je důležité upravit obsah Ca v krmivu v jednotlivých systémech ustájení dle spotřeby krmiva příjmu Ca (Tůmová et al., 2016).

Haughovy jednotky jako hlavní ukazatel vnitřní kvality vajec byly nejvyšší v klecích ($P \leq 0,001$) a nejnižší ve voliére. Důležitou roli hrála interakce systému ustájení a obsahu Ca v krmivu ($P \leq 0,001$). Nejvyšší Haughovy jednotky byly v klecích a nejnižší ve voliére při 3,0 % Ca. Kromě toho v klecích a na podestýlce byly zjištěny průkazné rozdíly mezi skupinami s odlišným obsahem Ca v krmivu. Tyto faktory pak následně mohou mít vliv na skladovatelnost vajec.

Pokus 2 Tabulka 14 Kvalita vajec v závislosti na systému ustájení a obsahu vápníku v krmivu

Ukazatel	Klec		Podestýlka		Voliera		Průkaznost		
	3,0 %	3,5 %	3,0 %	3,5 %	3,0 %	3,5 %	Ustájení	Ca	Ustájení x Ca
Hmotnost vejce (g)	60,4 ^d	60,7 ^{cd}	61,1 ^{bcd}	62,1 ^{ab}	62,2 ^a	60,6 ^{cd}	***	NS	***
Podíl bílku (%)	62,4	62,3	62,6	62,7	62,3	62,6	NS	NS	NS
Podíl žloutku (%)	25,4 ^{cd}	25,5 ^c	25,4 ^{cd}	25,5 ^b	26,1 ^a	25,3 ^{cd}	NS	NS	***
Podíl skořápky (%)	12,2 ^{ab}	12,3 ^a	12,1 ^b	11,8 ^c	11,6 ^d	12,2 ^{ab}	***	**	***
Tloušťka skořápky (mm)	0,370	0,431	0,363	0,359	0,365	0,367	NS	NS	NS
Pevnost skořápky (g/cm ²)	4651 ^b	4893 ^a	4637 ^b	4563 ^b	4606 ^b	4798 ^{ab}	***	***	***
Haughovy jednotky	90,9 ^a	88,9 ^b	87,4 ^c	89,0 ^b	86,0 ^c	86,1 ^c	***	NS	***
Index žloutku (%)	45,7 ^a	45,2 ^a	45,0 ^b	45,0 ^b	43,1 ^c	45,1 ^{ab}	***	**	***
Barva žloutku	5,5 ^{bc}	5,4 ^c	5,5 ^b	5,5 ^b	6,0 ^a	5,2 ^d	**	***	***

^{a,b,c,d}; ** P ≤ 0,05, *** P ≤ 0,001, NS neprůkazné; Ca - vápník

Kontaminace vajec a penetrace mikroorganismů

Při kontaminaci vaječné skořápky (tabulka 15) byl hodnocen výskyt *Escherichia coli*, enterokoků a celkový počet mikroorganismů. Je patrné, že kontaminace vaječné skořápky byla průkazně vyšší u vajec z podestýlky ve srovnání s obohacenými klecemi. Obsah Ca v krmivu nebyl významný. Kontaminace skořápky byla u podestýlky a *E. coli* cca 130krát větší, u enterokoků a celkového počtu mikroorganismů přibližně 200krát vyšší ve srovnání s klecemi. Tyto výsledky korespondují s literaturou (De Reu et al., 2005b, 2006b, Englmaierová et al., 2014). Pokud bychom porovnali i výběhové chovy, Vlčková (2016), zjistila více než 1000 násobnou kontaminaci vajec z výběhu ve srovnání s obohacenými klecemi. Vysoká kontaminace vajec z podlahových chovů (podestýlka, voliéra, výběh) souvisí zejména s čistotou prostředí ve kterém jsou nosnice chovány což například uvádějí De Reu et al. (2005b), Svobodová et al. (2015). Vysoká kontaminace vajec může být nebezpečná především proto, že pokud je vejce nedostatečně pokryté kutikulou a je horší kvalita skořápky, mikroorganismy ve větší míře mohou penetrovat do vejce. Penetraci mikroorganismů do vejce v přirozených podmínkách brání především skořápka, která svoji strukturou představuje několik ochranných bariér. Na povrchu je to kutikula, která obsahuje antimikrobiální látky a překrývá i póry, hlavní místo penetrace mikroorganismů. Tůmová et al. (2011) zjistili vyšší počet pórů u vajec z podestýlky ve srovnání s konvenční klecí. Studie Ketty a Tůmové (2017 v tisku) uvádí rozdíly v pokrytí vejce kutikulou v závislosti na systému ustájení, věku nosnic i jejich genotypu. Další významnou bariérou je vlastní skořápka, zejména její stavba a celistvost. Důležitou roli pak hrají podskořápečné blány, kde především vnitřní podskořápečná blána je tvořena velmi hustou sítí vláken, které mají bránit pronikání mikroorganismů. V neposlední řadě ochranu vejce tvoří některé bílkoviny bílku, zejména lysozym. Penetrace mikroorganismů na podskořápečnou blánu (tabulka 16) byla průkazně vyšší u vajec z podestýlky, což souvisí s její větší kontaminací. Vliv obsahu Ca v krmivu a tedy i kvality skořápky nebyl tak jednoznačný a pravděpodobně tak penetrace závisí i na druhu mikroorganismů, což uvádějí De Reu et al. (2006b). Vyšší penetrace u vajec z podestýlky byla u skupiny s vyšším obsahem Ca v krmivu, kde byla zjištěna nižší kvalita skořápky. U klecí to bylo naopak při nižším obsahu Ca v krmivu, který také nepříznivě ovlivnil kvalitu skořápky. Tyto výsledky tedy naznačují, že kvalita skořápky je důležitá v ochraně vejce proti penetraci mikroorganismů. Podobné výsledky jsou patrné i z tabulky 17, která uvádí penetraci do bílku, která byla opět vyšší na podestýlce a ve skupinách s nižší kvalitou skořápky. Jak bylo zmíněno výše, i bílek má své ochranné složky proti mikroorganismům, jejichž obsah je rovněž ovlivněn systémem ustájení. Vlčková (2016)

zjistila, že vejce z výběhu obsahovaly signifikantně více lysozymu, jedné z nejvýznamnějších antibakteriálních bílkovin bílku, což by naznačovalo, že pokud nosnice snáší vejce do nepříznivých podmínek, zvyšuje obsah ochranných látek ve vejci. Na druhou stranu ale Vlčková (2016) uvádí, že degradace lysozymu u těchto vajec byla výrazně rychlejší než u vajec z klecí. Na základě těchto údajů se lze tedy domnívat, že rychlejší degradace lysozymu může souviset i s vyšší kontaminací vajec a vejce z podlahových chovů mohou být problematická z hlediska bezpečnosti produkce konzumních vajec.

Pokus 2 Tabulka 15 Kontaminace vaječné skořápky čerstvě snesených vajec

Ukazatel	Klec		Podestýlka		Průkaznost	
	3,0 %	3,5 %	3,0 %	3,5 %	Ustájení	Ca
Escherichia coli (KTJ/vejce)	8 039 ^b	8 156 ^b	11 095 367 ^a	10 842 139 ^a	***	NS
Enterococcus (KTJ/vejce)	969 ^b	865 ^b	219 215 ^a	307 481 ^a	***	NS
Celkový počet mikroorganismů (KTJ/vejce)	76 482 ^b	77 001 ^b	14 129 074 ^a	14 578 264 ^a	***	NS

^{a,b}; ** P≤0,05, *** P≤0,001, NS neprůkazné

Pokus 2 Tabulka 16 Penetrace mikroorganismů na podskořápečnou blánu během čtrnáctidenního skladování

Ukazatel	Skladování (dny)	Klec		Podestýlka		Průkaznost	
		3,0 %	3,5 %	3,0 %	3,5 %	Ustájení	Ca
Escherichia coli (%)	2	4,84	1,61	4,84	6,45	**	NS
	7			1,10	1,39	**	NS
	14	1,82		2,56	1,82	**	NS
Enterococcus (%)	2				1,61	NS	NS
	7	1,39	1,39	2,78	4,17	**	**
	14			1,10	1,82	**	NS
Celkový počet mikroorganismů (%)	2	1,61	1,61	9,68	11,29	**	**
	7	1,39	1,39	2,78	6,94	***	**
	14	3,64	5,45	10,91	17,26	**	**

** P≤0,05, *** P≤0,001, NS neprůkazné; Ca - vápník

Pokus 2 Tabulka 17 Penetrace mikroorganismů do bílku během čtrnáctidenního skladování

Ukazatel	Skladování (dny)	Klec		Podestýlka		Průkaznost	
		3,0 %	3,5 %	3,0 %	3,5 %	Ustájení	Ca
Escherichia coli (%)	2	3,23	1,61	4,84	5,45	**	NS
	7	1,39		2,78	4,45	**	NS
	14	1,82		2,78	3,64	**	NS
Enterococcus (%)	2					NS	NS
	7					NS	NS
	14					NS	NS
Celkový počet mikroorganismů (%)	2			1,61	4,84	**	NS
	7	1,39		1,39	2,78	NS	NS
	14	2,78	1,39	4,45	6,94	**	**

** $P \leq 0,05$, *** $P \leq 0,001$, NS neprůkazné; Ca – vápník

Skladovatelnost vajec při pokojové teplotě

Při testování změn ve vejcích během skladování se nejčastěji používá skladování při pokojové teplotě, která urychluje a zvyšuje tyto změny. Z tabulky 18 je patné, že hmotnost vajec rychleji ($P \leq 0,001$) klesala u vajec z podestýlky (cca 6 %) ve srovnání s klecemi (cca 7 %). Obsah Ca v krmivu neměl významný vliv na snížení hmotnosti, ale v klecích při 3,0 % a na podestýlce při 3,5 % Ca v krmivu byl pokles nepatně rychlejší. U Haughových jednotek byla zaznamenána interakce ustájení, Ca a doby skladování ($P \leq 0,05$) ze které je patné, že u vajec z klecí s 3,5 % Ca v krmivu se Haughovy jednotky snížily nejméně, přibližně o 45 % a nejvíce na podestýlce také se 3,5 % Ca v krmivu o 54 %. Je tedy zřejmé, že v tomto pokusu obsah Ca v krmivu, respektive kvalita skořápky měla význam ve změnách kvality během skladování, kdy u vajec s nižší kvalitou skořápky se rychleji zhoršovala vnitřní kvalita vajec. Větší pokles Haughových jednotek u vajec z podestýlky zaznamenaný i v literatuře (Keener et al., 2006, Vlčková, 2016) pravděpodobně souvisí s rychlejšími změnami v bílku v důsledku delšího vystavení vyšší koncentraci amoniaku (Benton a Brake, 2000), rychlejší degradaci bílkovin bílku a i vyšší kontaminaci bílku.

Pokus 2 Tabulka 18 Změny v kvalitě vajec v průběhu dlouhodobého skladování při pokojové teplotě

Ukazatel	Skladování (dny)	Klec		Podestýlka		Průkaznost			
		3,0 %	3,5 %	3,0 %	3,5 %	Ustájení	Ca	Skladování	UxCaxS
Hmotnost vejce (g)	0	63,7	62,8	64,3	64,7	***	NS	***	NS
	7	61,5	61,7	63,1	63,0				
	14	61,4	60,9	62,9	62,3				
	21	60,8	59,3	61,0	60,4				
Haughovy jednotky	0	89,5 ^a	88,5 ^a	87,2 ^a	87,1 ^a	NS	NS	***	**
	7	61,4 ^b	64,2 ^b	59,5 ^c	56,7 ^c				
	14	47,5 ^e	57,7 ^c	50,4 ^d	45,5 ^e				
	21	46,4 ^e	48,3 ^{de}	41,9 ^f	40,3 ^f				
pH bílku	0	8,36	8,34	8,39	8,37	NS	NS	***	NS
	7	9,24	9,28	9,29	9,29				
	14	9,32	9,20	9,32	9,31				
	21	9,29	9,29	9,36	9,33				

^{a,b,c,d,e,f}; ** P ≤ 0,05, *** P ≤ 0,001, NS neprůkazné; U – ustájení, Ca – vápník, S - skladování

4 Závěr

Produkce konzumních vajec prošla v posledních letech velkými změnami. V roce 2012 začala platit směrnice EU 74/1999, podle které byl zakázán chov slepic v tzv. neobohacených klecích. Je to zejména z toho důvodu, že laická veřejnost věnuje velkou pozornost welfare zvířat a současně se domnívá, že „šetrnější“ systémy ustájení vedou i k produkci kvalitnějších vajec. Se změnou systémů ustájení byl realizován poměrně rozsáhlý výzkum zaměřený na kvalitu vajec. Výsledky tohoto výzkumu nejsou vždy jednotné především proto, že se liší podmínky pokusů, zvolení hybridů, výživa apod. Kromě působení jednotlivých faktorů kvalitu vajec ovlivňují i jejich interakce. Z tohoto důvodu si předložená studie si dala za cíl komplexně posoudit tuto problematiku jednak na teoretické bázi vycházející z literatury, ale také na základě realizace pokusů, ve kterých je posouzen vliv systému ustájení na kvalitu čerstvých vajec, jejich bezpečnost, ale i na změny v průběhu skladování. Ve studii bylo zahrnuto i několik významných faktorů, které výsledky mohou ovlivnit, byl to vliv hybridu a obsah vápníku v krmivu.

Kvalitu vajec lze vyjádřit různými způsoby, ale nejdůležitější je hmotnost vejce, z vnějších ukazatelů je to kvalita skořápky a z vnitřních kvalita bílku vyjádřená jeho výškou respektive v pokusných podmínkách tzv. Haughovými jednotkami. Vnitřní kvalitu vejce nevyjadřuje, jak se většina lidí domnívá, barva žloutku, která je závislá na přítomnosti barviv v krmivu. Z výsledků studie vyplynulo, že spíše než jednotlivé faktory, kvalitu vajec ovlivňují především interakce. V případě předložené studie to byly interakce systému ustájení, genotypu a obsahu vápníku v krmivu. Hmotnost vajec byla vyšší v podlahových chovech, zejména na podestýlce, což pravděpodobně souviselo s nižší snáškou v tomto systému ve srovnání s obohacenými klecemi. Rozdíly byly i mezi hybridy, což je dáno jejich prošlechtěností. Dále má systém ustájení vliv na kvalitu vaječné skořápky, která je rozhodující pro bezpečnost produkce konzumních vajec. V klecových chovech je sice skořápka tenčí, ale pevnější, což naznačuje, že je ovlivněna i vnitřní struktura skořápky. Naopak u podlahových chovů je skořápka silnější, ale má nižší pevnost, což je nevýhodné pro balení a transport vajec. Také vnitřní kvalita vajec vyjádřená Haughovými jednotkami byla vyšší v obohacených klecích. Důležitou součástí je pak vztah mezi systémem ustájení a potřebou vápníku v krmivu. V klecových systémech byly lepší výsledky s obsahem Ca 3,5 %, zatímco v podlahových chovech s 3,0 %, protože nosnice v těchto systémech mají větší

spotřebu krmiva a tedy i vápníku. Není možné tedy používat stejné krmné směsi pro obohacené klece a podlahové chovy, zejména chovy výběhové.

Velmi důležitou součástí produkce vajec je jejich bezpečnost. Kontaminace vajec je nejmenší u vajec z obohacených klecí, zatímco u podlahových chovů jsou vejce 100 – 1000násobně více kontaminována různými druhy mikroorganismů včetně patogenních. Na druhou stranu má vejce řadu obranných mechanismů jak se bránit pronikání těchto mikroorganismů do vejce (skořápce a bílkoviny s protibakteriálním či antivirálním působením). Přesto výsledky ukazují, že do vajec z podlahových chovů proniká více mikroorganismů. Penetrace do vejce je závislá i na kvalitě skořápky, kdy při nižší kvalitě je penetrace vyšší. Kvalita skořápky také ovlivňuje i skladovatelnost vajec. U vajec s nižší kvalitou skořápky dochází k rychlejšímu zhoršování vnitřní kvality, snižování hmotnosti vejce a řidnutí bílku, které zkracuje následně dobu použitelnosti vajec.

Z výsledků studie vyplynulo, že vysokou kvalitu i bezpečnost mají především vejce z obohacených klecí. Tato vejce si udržují vysokou kvalitu déle i během skladování ve srovnání s vejci z jiných systémů ustájení. Vysoká kvalita i bezpečnost vajec z obohacených klecí souvisí především s velmi příznivými podmínkami pro slepice v tomto systému z hlediska welfare. V této souvislosti laická veřejnost o této skutečnosti chybí informace, že nosnice v obohacených klecích mohou praktikovat celý repertoár přirozeného chování, oproti podlahovým chovům jsou chovány v malých sociálně stabilních skupinách a nejsou negativně ovlivňovány sociálním stresem, který se projevuje v alternativních chovech kanibalismem a vyšším úhynem.

5 Seznam použité literatury

- Abdel-Salam, Z. A., Abdou, A. M., Harith, M. A. (2006): Elemental and ultrastructural analysis of the eggshell: Ca, Mg and Na distribution during embryonic development via LIBS and SEM techniques. *International Journal of Poultry Science*, 5, 35 – 42.
- Abrahamsson, P., Tauson, R., Appleby, M. C. (1995): Performance of four hybrids of laying hens in modified and conventional cages. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 45, 286 – 296.
- Abrahamsson, P., Tauson, R., Elwinger, K. (1996): Effect on production, health and egg quality of varying proportions of beat and barley in diets for two hybrids of laying hens kept in different housing systems. *Acta Agriculture Scandinavica*, 46, 173 – 182.
- Abrahamsson P., Tauson R. (1997): Effects of group size on performance, health and birds' use of facilities in furnished cages for laying hens. *Acta Agriculturae Scandinavica a Animal Science*, 47, 254 - 260.
- Abrahamsson, P., Tauson, R. (1998): Performance and egg quality of laying hens in an aviary system. *Journal of Applied Poultry Research*, 7, 225 – 232.
- Abudabos, A. M. (2012): Optimal dietary phosphorus for broiler performance, bone integrity and reduction of phosphorus excretion. *Asian Journal Animal Veterinary Advances*, 7, 4, 288 - 298.
- Acker, L., Ternes, W. (1994): Physikalisch-chemische Eigenschaftsveränderungen bei der Alterung von Hühnereiern. In Ternes, Acker und Scholtyssek: ‚Ei und Eiprodukte‘. Paul Parey Verlag Berlin und Hamburg, ISBN 3-489-63114-5, 322-328.
- Ahmadi H., Rodehutsord M. (2012): A meta-analysis of responses to dietary nonphytate phosphorus and phytase in laying hens. *Poultry Science*, 91, 2072–2078.
- Ahmed, A. M. H., Rodriguez-Navarro, A. B., Vidal, M. L., Gautron, J., Garcia-Ruiz, J. M., Nys, Y. (2005): Changes in eggshell mechanical properties, crystallographic texture and in matrix proteins induced by moult in hens. *British Poultry Science*, 46, 268 - 279.
- Akyurek, H., Okur, A. A. (2009): Effect of storage time, temperature and hen age on egg quality in free-range layer hens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8, 10, 1953 - 1958.
- Anderson, K. E., Tharrington, J. B., Curtis, P. A, Jones, F. T. (2004): Shell characteristics of eggs from historic strains of Single Comb White Leghorn chickens and the

- relationship of egg shape to shell strength. *International Journal of Poultry Science*, 3, 17 – 19.
- Appleby, M. C., Hogrth, G. S., Anderson, J. A., Hughes, B. O., Whittemore, C. T. (1988): Performance of deep litter system for egg production. *British Poultry Science*, 29, 735 – 751.
- Appleby, M. C., Walker, A. W., Nichol, C. J., Lindberg, A. C., Freire, R., Hughes, B. O., Elson, H. A. (2002): Development of furnished cages for laying hens. *British Poultry Science*, 43, 489 – 500.
- Arpášová, H., Halaj, M., Halaj, P. (2010): Eggshell quality and calcium utilization in feed of hens in repeated laying cycles. *Czech Journal of Animal Science*, 55, 66 – 74.
- Arpášová, H., Haščík, P., Kačániová, M., Gálik, B., Golian, J., Mellen, M. (2012): The effect of various forms and doses of selenium supplementation of the hens diet on selected qualitative parameters and freshness of table eggs. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 45, 11–16.
- Bain, M. M. (1991): A reinterpretation of eggshell strength. *Egg and Eggshell quality*. (Ed. Solomon, S. E.), Wolfe Publishing Limited, Aylesbury, pp. 131 - 145.
- Bain, M. M. (1992): Eggshell strength: a relationship between the mechanism of failure and the ultrastructural organisation of the mamillary layer. *British Poultry Science*, 33, 303 - 319.
- Bain, M. M. (1997): A reinterpretation of eggshell strength, in: *Egg and eggshell quality*, edited by: Solomon, S. E., London: Manson Publishing Ltd., 131–142.
- Bain, M. M. (2005): Recent advances in the assessment of eggshell quality and their future application. *Worlds Poultry Science Journal*, 61, 268 – 277.
- Bain, M. M., Dunn, I. C., Wilson, P. W., Joseph, N., De Ketelaere, B., De Baerdemaeker, J., Waddington, D. (2006): Probability of an egg cracking during packing can be predicted using a simple non-destructive acoustic test. *British Poultry Science*, 47, 462 – 469.
- Benton, C. E., Brake, J. (2000): Effects of atmospheric ammonia on albumen height and pH of fresh broiler eggs. *Poultry Science*, 79, 1562 – 1565.
- Berrang, M. E., Frank, J. F., Buhr, R. J., Bailey, J. S., Cox, N. A. (1999): Eggshell membrane structure and penetration by *Salmonella typhimurium*. *Journal of Food Protection*, 62, 73 - 76.

- Blanco, A. E., Icken, W., Ould-Ali, D., Cavero, D., Schmutz, M. (2014): Genetic parameters of egg quality traits on different pedigree layers with special focus on dynamic stiffness. *Poultry Science*, 93, 2457 – 2463.
- Blokhuis, H. J., Metz, J. H. M. (1995): Aviary housing for laying hens. Spelderholt Publication No. 641. ID-DLO, Lelystad, The Netherlands.
- Boling, S. D., Douglas, M. W., Johnson, M. L., Wang, X., Parsons, C. M., Koelkebeck, K. W., Zimmerman, R. A. (2000a). The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. *Poultry Science*. 79, 224–230.
- Boling, S. D, Webel, D. M., Mavromichalis, I., Parsons, C. M., Baker, D. H. (2000b): The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. *Journal of Animal Science*, 78, 682 – 689.
- Brake, J., T. J. Walsh, C. E. Benton, Jr., J. N. Petite, R. Meijerhof, and G. Penalva. (1997): Egg handling and storage. *Poultry Science*, 76, 144–151.
- Braun, P., Fehlhaber, K., Wicke, A. (1999): *Salmonella* Enteritidis invades the egg through the shell. *World Poultry Special*, 23 - 24.
- Bunk, M. J., Balloun, S. L. (1978): Ultrastructure of the mammillary region of low puncture strength avian eggshells. *Poultry Science*, 57, 639 – 647.
- Caner, C. (2005): The effect of edible eggshell coatings on egg quality and consumer perception. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 1897 - 1902.
- Caner, C., Yüceer, M. (2015): Efficacy of various protein-based coating on enhancing the shelf life of fresh eggs during storage. *Poultry Science*, 94, 7, 1665 - 1677.
- Carlos A.B., Edwards H.M. (1998): The effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on the natural phytate phosphorus utilization by laying hens. *Poultry Science*, 77, 850–858.
- Cufadar, Y., Olgun, O., Yildiz, A. Ö. (2011): The effect of dietary calcium concentration and particle size on performance, eggshell quality, bone mechanical properties and tibia mineral contents in moulted laying hens. *British Poultry Science*, 52, 6, 761 - 768.
- Cusack, M., Fraser, A. C., Stachel, T. (2003): Magnesium and phosphorus distribution in the avian eggshell. *Comparative Biochemistry and Physiology Biochemistry Molecular Biology*, 134, 63-9.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Heyndrickx, M., Zoons, J., De Baere, K., Uyttendaele, M., Herman, L. (2004): Bacterial eggshell contamination in conventional cage, furnished cages and aviary housing systems for laying hens. *Proceedings of 22nd World Poultry Congress, Istanbul, Turkey*, 4s.

- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Heyndrickx, M., Zoons, J., De Baere, D., Uyttendaele, M., Debevere, J., Herman, L. (2005a): Bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems. *British Poultry Science*, 46, 149 - 155.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Herman, L. (2005b): The use of total aerobic and Gram-negative flora for quality assurance in the production chain of consumption eggs. *Food Control*, 16, 147 - 155.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickw, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., Herman, L. (2006a): Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella* Enteritidis. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 253 - 260.
- De Reu, K., Grijspeerdt, K., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., De Baere, K., Herman, L. (2006b): Bacterial shell contamination in the egg collection chains of different housing systems for laying hens. *British Poultry Science*, 47, 163 – 172.
- De Reu, K., Heyndricky, M., Grijspeerdt, K., Rodenburg, T. B., Tuytens, F., Uyttendaele, M., Debevere, J., Herman, L. (2007): Estimation of the vertical and horizontal bacterial infection of hen's table eggs. XVII European symposium on the quality of poultry meat a XIIth European symposium on the quality of eggs and egg products. Conference proceedings. Prague. Czech Republic. 46 - 47.
- De Vries, S., Kwakkel, R. P., Dijkstra, J. (2010): Dynamics of calcium and phosphorus metabolism in laying hens. Pages 133– 150 in *Phosphorus and Calcium Utilization and Requirements in Farm Animals*. D. M. S. S. Vitti and E. Kebreab, ed. CAB International, Wallingford, UK.
- Dukić - Stojčić, M., Perić, L., Bjedov, S., Milošević, N. (2009): The quality of table eggs produced in different housing systems. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25, 5 – 6, 1103 - 1108.
- Duncan, I. J. H., Appleby, M. C., Hughes, B. O. (1992): Effect of perches in laying cages on welfare and production of hens. *British Poultry Science*, 33: 25–35.
- Dunn, I. C. (2011): Poultry breeding for egg quality: traditional and modern genetic approaches. In: Nys, Y., Bain, M., Van Immerseel, F., editors. *Improving the Safety of Eggs and Egg Products*. Vol 1: Egg Chemistry, Production and Consumption. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd., pp. 245–260.
- Dušek, M. (2004): Využití kapilární elektroforézy v analýze potravin, Disertační práce, VŠCHT.

- Elson, H. A., (2014): Poultry welfare in different production systems. Proceedings of XIVth European Poultry Conference, Stavanger, Norway, 23 – 27 June 2014, 251-259
- Englmaierová, M., Tůmová, E. (2008): Změny kvality vajec v závislosti na systému ustájení a skladování. *Náš chov*, 68, 72 - 73.
- Englmaierová, M., Tůmová, E., Charvátová, V., Skřivan, M. (2014): Effects of laying hens housing system on laying performance, egg quality characteristics, and egg microbial contamination. *Czech Journal of Animal Science*, 59, 345 – 352.
- Etches, R. J. (1987): Calcium logistics in the laying hen. *Journal of Nutrition*, 117, 619 - 628.
- Farmer, M., Roland, D. A., Clark, A. J.(1986): Influence of Dietary Calcium on Bone Calcium Utilization, *Poultry Science*, 65, 337–344.
- Fleming, R. H. (2008): Nutritional factors affecting poultry bone health. Proceedings of the Nutrition Society, 67, 177 - 183.
- Frank, F. R., Burger, R. E., Swanson, M. H. (1965): The relationships among shell membrane, selected chemical properties and the resistance to shell failure of *Gallus domesticus* eggs. *Poultry Science*, 45, 63 – 69.
- Fritzsche, K., Gerriets, E. (1962): *Geflügelkrankheiten*. 2. Auflage. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey, 448 s.
- Gaal, K. K., Safár, O., Gulyas, L., Stadler, P. (2004): Magnesium in Animal Nutrition. *Journal of the American College Nutrition*, 23, 6, 754–757.
- Gautron, J., Hincke, M. T., Nys, Y. (2014): Composition and biomineralization of the eggshell. In: Proceedings of XIVth European Poultry Conference, Stavanger, Norway, 271 – 286.
- Georgievski, V. I., Annenkov, B. N., Samokhin, V. T. (1982): *Mineral nutrition in animals*. Butterworth Publ. London.
- Grashorn, M. A., Jürgens, A., Bessei, W. (2016): Effects of storage conditions on egg quality. *Lohmann Information*, 49, 2, 21-25.
- Guesdon, V., Faure, J. M. (2004): Laying performance and egg quality in hens kept in standard or furnished cages. *Animal Research*, 53, 45 – 57.
- Guo, Y. M., Yang, R., Yuan, J., Ward, T. L., Fakler, T. M. (2002): Effect of Availa Zn and ZnSO₄ on laying hen performance and egg quality. *Poultry Science*, 81 (Suppl.), 40.
- Hamilton, R. M. G., Hollands, K. G., Voisey, P. W., Grunder, A. A. (1979): Relationship between eggshell quality and shell breakage and factors that affect shell breakage in the field -a review. *Worlds Poultry Science Journal*, 35, 177 – 190.

- Harry, E. G. (1963): The relationship between egg spoilage and the environment of the egg when laid. *British Poultry Science*, 4, 91 - 100.
- Heath, J. L. (1977): Chemical and related osmotic changes in egg albumen during storage. *Poultry Science*, 56, 822 - 828.
- Hidalgo, A., Rossi, M., Clerici, F., Ratti, S. (2008): A market study on the quality characteristics of eggs from different housing systems. *Food Chemistry*, 106, 1031 – 1038.
- Hicke, M. T., Gautron, J., Panhéleux, M., García-Ruiz, J. M., McKee, M. D., Nys, Y. (2000): Identification and localization of lysozyme as a component of eggshell membranes and eggshell matrix. *Matrix Biology*, 19, 443 - 453.
- Hincke, M. T., Gautron, J., Nys, Y., Rodriguez-Navarro, A. B., McKee, M. D.(2011): Theeggshell: structure and productive function. In: Nys, Y., Bain, M. M., Immerseel, F. V. (Eds.): *Improving the safety and quality of eggs and egg products*. Woodhead Publishing Limited, pp. 151-182.
- Hincke, M. T., Nys, Y., Gautron, J., Mann, K., Rodriguez-Navarro, A., McKee, M. D. (2012): The eggshell structure, composition and mineralization. *Frontiers in Biosciences*, 17, 1266 – 1280.
- Holcombe, D. J., Roland, D. A., Harms, R. H. (1976): The ability to regulate phosphorus intake when offered diets containing different levels of phosphorus. *Poultry Science*, 55, 308–317.
- Holt, P. S., Davies, R. H., Dewulf, J., Gast, R. K., Huwe, J. K., Jones, D. R., Waltman, D., Willian, K. R. (2011): The impact of different housing systems on egg safety and quality. *Poultry Science*, 90, 251 – 262.
- Hughes, B. O., Dun, P., McCorquodale, C. C. (1985): Shell strength of eggs from medium.bodied hybrid hens housed in cages or on range in outside pens. *British Poultry Science*, 26, 129 - 136.
- Hughes, B. O., Dun, P. (1986): A comparison of hens housed intensively in cages or outsider on range. *Zootechnica International*, 44 – 46.
- Hulzebosch, J. (2006): Wide range of housing options for layers. *World Poultry*, 22, 20 – 22.
- Huneau-Salaün, A., Michel, V., Huonnic, L., Balaine, L., Le Bouquin, S. (2010): Factors influencing bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and free-range systems for laying hens under commercial conditions. *British Poultry Science*, 51, 163 - 169.

- Icken, W., Thurner, S., Caverio, D., Schmutz, M., Wendl, G., Preisinger, R. (2009): Analysis of the nesting behaviour from laying hens in a floor system. *Archiv für Geflügelkunde*, 73, 253 - 257.
- Jelínek, K., Lhotecký, J. (1996): Změny v ultrastruktuře skořápky u vajec s defektní skořápkou. *Živočišná výroba*, 9, 413 - 421.
- Jendral, M. J., Church, J. S., Feddes, J. J. (2004): Assessing the welfare of Layers hens housed in conventional, modified and commercially-available furnished battery cages. *Proceedings of 22nd World Poultry Congress, Istanbul, Turkey*, 4s (CD).
- Jiang, S., Cui, L. Y., Shi, C., Ke, X., Luo, J. W., Hou, J. F. (2013): Effects of dietary energy and calcium levels on performance, egg shell quality and bone metabolism in hens, *Veterinary Journal*, 198, 252–258.
- Jones, D. R., Musgrove, M. T. (2005): Effects of extended storage on egg quality factors. *Poultry Science*, 84, 1774–1777.
- Jones, D. R., Karcher, D. M., Abdo, Z. (2014): Effect of a commercial housing system on egg quality during extended storage. *Poultry Science*, 93, 1282 - 1288.
- Keener, K. M., McAvoy, K. C., Foegeding, J. B., Curtis, P. A., Anderson, K. E., Osborne, J. A. (2006): Effect of testing temperature on internal egg quality measurements. *Poultry Science*, 85, 550–555.
- Keshavarz, K. (1998): Further Investigations on the Effect of Dietary Manipulation of Protein, Phosphorus, and Calcium for Reducing Their Daily Requirement for Laying Hens 1. *Poultry Science*, 77, 1333 – 1346.
- Ketta, M., Tůmová, E. (2017): Relationship between eggshell thickness and other eggshell measurements in eggs from litter and cages. *Italian Journal of Animal Science*, in press.
- Ketta, M., Tůmová, E. (v tisku): Eggshell characteristics and cuticle deposition in three laying hens genotypes housed in enriched cages and on litter. *Czech Journal of Animal Science*.
- Kerihara, K., Chuhei, I., Koukichi, G., Konuma, H., Shinagawa, K. (1996): Bacterial contamination on the shell surface of hen eggs and the source of contamination. *Japanese Journal of Food Microbiology*, 13, 111 – 116.
- Kibala, L., Rozempolska-Rucinska, I., Kasperek, K., Zieba, G., Lukaszewicz, M. (2015): Ultrasonic eggshell thickness measurement for selection of layers. *Poultry Science*, 94, 2360 – 2363.

- Kim, K. E., Sasaki, N., Speziali, A., Pickering, A. N., Farraro, K. F., Woo SL-Y. (2013): Proceedings of the International Symposium on Ligaments and Tendons-XIII. Italy.
- Kirunda, D. F. K., McKee, S. R. (2000): Relating quality characteristics of aged eggs and fresh eggs to vitelline membrane strength as determined by a texture analyzer. *Poultry Science*, 79, 1189–1193.
- Klecker, D., Zeman, L., Pokludová, M., Slavíčková, M. (2002): Porovnání jednotlivých technologických systémů v chovu slepic, Sborník referátů, Konference Technologické systémy v chovu drůbeže, Brno 2002, 9 – 12.
- Klecker, D., Zeman, L., Lichovníková, M., Havlíček, Z., Tůmová, E.(2003): How to improve the eggshell quality in hens kept in different technological systems. *Krmivářství*, 7, 2003: 12 – 15. (in Czech)
- Košář, K., Navarová, H., Procházka, D. (2004): Zásady welfare a nové standardy EU v chovu drůbeže. Praha: VÚŽV Praha – Uhřetěves, ISBN 80-86454-46-0.
- Kusuda, S., Iwasawa, A., Doi, O., Ohya, Y., Yoshizaki, N. (2011): Diversity of the cuticlelayer of avian eggshells. *Journal of Poultry Science*, 48, 119 - 124.
- Kříž, L. (1997): Zpracování a ošetření drůbežích produktů. Institut výchovy a vzdělávání MZe, 29 s.
- Lay, D.C., Fulton, R.M., Hester, P.Y., Karcher, D.M., Kjaer, J.B., Mench, J.A., Mullens, B.A., Newberry, R.C., Nicol, C.J., O’Sullivan, N.P., Porter, R.E. (2011): Hen welfare in different housing systems. *Poultry Science* 90, 278–294.
- Leach, R. M. (2000): Physiology of bone growth and development. XXI World’s Poultry Congress, Montreal, Canada, August 2000, Abstract & Proceedings CD.
- Ledvinka, Z., Tůmová, E., Ebeid, T., Klesalová, L. (2004): Užítkovost nosnic a kvalita vajec slepic chovaných v odlišných podmínkách. *Náš chov*, 10, 36 - 38.
- Ledvinka, Z., Tůmová, E., Štolc, L. (2008): Užítkovost nosnic a kvalita vajec v různých systémech chovu. *Metodika pro praxi, ČZU v Praze*, vydání 1., 24 s.
- Ledvinka, Z., Tůmová, E., Englmaierová, M., Podsedníček, M. (2012): Egg quality of three laying hen genotypes kept in conventional cages and on litter. *Archiv Fur Geflugelkunde*, 76, 38 – 43.
- Lewko, L., Gornowicz, E. (2011): Effect of housing system on egg quality in laying hens. *Annals of Animal Science*. 11, 4, 607 - 616.
- Leyendecker, M., Hamann, H., Hartung, J., Kamphues, J., Ring, C., Glunder, G., Ahlers, C., Sander, I., Neumann, U., Distl, O. (2001): Analysis of genotype-environment interactions between layer lines and housing systems for performance traits, egg

- quality and bone breaking strength. 2nd Communication: Egg Quality Traits. *Zuchtungskunde*, 73, 308 – 323.
- Lichovniková, M., Zeman, L. (2008): Effect of housing system on the calcium requirements of laying hens and eggshell quality. *Czech Journal of Animal Science*, 53, 162 – 168.
- Lichovniková, M. (2007): The effect of dietary calcium source, concentration and particle size on calcium retention, eggshell quality and overall calcium requirement in laying hens, *British Poultry Science*, 48, 71–75.
- Lukić, M., Pavlovski, Z., Škrbić, Z (2009): Mineral nutrition of modern poultry genotypes. *Biotechnology in animal Husbandry*, 25, 399-409.
- McWard, G. W. (1967): Magnesium tolerance of the growing and laying chicken. *British Poultry Science*, 8, 91–99.
- Mehring Jr. A. J., Johnson Jr. D. (1965): Magnesium in limestone for laying chickens. *Poultry Science*, 44, 853–860.
- Messens, W., Grijspeerdt, K., Herman, L. (2005): Eggshell characteristics and penetration by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis through the production period of a layer flock. *British Poultry Science*, 46, 694 - 700.
- Messens, W., Grijspeerdt, K., Herman, L. (2006): Eggshell penetration of hen's eggs by *Salmonella enterica* serovar Enteritidis upon various storage conditions. *British Poultry Science*, 47, 554 – 560.
- Messens, W., Grijspeerdt, K., De Reu, K., De Ketelaere, B., Mertens, K., Bamelis, F., Kemps, B., De Baerdemaeker, J., Decuypere, E., Lieve, H. (2007): Eggshell Penetration of Various Types of Hens' Eggs by *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. *Journal of Food Protection*, 3, 623 - 628.
- Mohiti-Asli, M., Shariatmadari, F., Lotfollahian, H., Mazuji, M. T. (2008): Effects of supplementing layer hen diets with selenium and vitamin E on egg quality, lipid oxidation and fatty acid composition during storage. *Canadian Journal Animal Science*, 88, 475-483.
- Mostert, B. E., Bowes, E. H., Walt, J. C., 1995: Influence of different housing systems on the performance of hen sof four laying strains. *South African Journal of Animal Science*, 25, 80 – 86.
- Nascimento, V. P., Cranstoun, S., Solomon, S. E. (1992): Relationship between shell structure and movement of *Salmonella enteritidis* across the eggshell wall. *British Poultry Science*, 33, 37 - 48.

- Nedomová, Š., Simeonovová, J. (2007): Effect of storage time on quality of eggs. In: Book of abstracts „XVIIIth European symposium on the quality of poultry meat and XIIth European symposium on the quality of eggs and egg products“, Prague, Czech Republic. 286 - 287.
- Nelson, T. S. (1976): The hydrolysis of phytate phosphorus by chicks and laying hens. *Poultry Science*, 55, 2262 - 2264.
- Nir, I. (2000): Poultry feed and nutrition. Shefayim: Mashav + Cinadco, s. 123.
- Nys, Y., Zawadzki, J., Gautron, J., Mills, A. D. (1991): Whitening of brown-shelled eggs: mineral composition of uterine fluid and rate of protoporphyrin deposition. *Poultry Science*, 70, 1236 - 1245.
- Nys, Y., Hincke, M. T., Arias, J. L., García-Ruiz, J. M., Solomon, S. E. (1999): Avian eggshell mineralization. *Poultry and Avian Biology Reviews*, 10, 143 - 166.
- Nys Y., Gautron J., McKee M.D., Garcia-Ruiz J.M., Hincke M.T. (2001): Biochemical and functional characterisation of eggshell matrix proteins in hens. *World's Poultry Science Journal*, 57, 401 – 413.
- Nys, Y., Gautron, J., García-Ruiz, J. M., Hincke, M. T. (2004): Avian eggshell mineralization: biochemical and functional charactesization of matrix proteins. *Comptes Rendus Palevol*, 3, 549 - 562.
- Nys, Y., Bain, M., Immerseel, F. van. (2011): Hen nutrition for sustained egg quality. *Improving the safety and quality of eggs and egg products. Volume 1: Egg chemistry, production and consumption*, 261-299.
- Pappas, A. C., Acamovic, T., Sparks, N. H. C., Surai, P. F., Mcdevitt, R. M. (2005): Effects of supplementing broiler breeder diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. *Poultry Science*, 84, 865-874.
- Pavlovski, Z., Hopic, S., Vracar, S., Masic, B., (1994): The effect of housing system on external egg quality trans in small flaks of layers. *Biotechnol. Stocar*, 10, 13 – 19.
- Pavlovski, Z., Hopic, S., Lukic, M. (2001): Housing systems for layers and egg quality. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 17, 197 – 201.
- Pavlovski, Z., Vitorović, D., Lukić, M., Spasojević, I. (2003): Improving eggshell quality by replacement of pulverised limestone by granular limestone in the hen diet. *Acta veterinaria*, 53, 1, 35-40.
- Pištěková, V., Hovorka, M., Večerek, V., Straková, E., Suchý, P. (2006): The quality comparison of eggs layid by laying hens kept in battery cages and in a deep litter system. *Czech Journal of Animal Science*, 51, 318 – 325.

- Podhradský, J. (1960): Speciální zootechnika – Chov drůbeže. Praha: SZN, 826 s.
- Quarles, C. L., Gentry, R. F., Bressler, G. O. (1970): Bacterial contamination in poultry houses and its relationship to egg hatchability. *Poultry Science*, 49, 60 - 66.
- Radkowski, M. (2002): Effect of moisture and temperature on survival of *Salmonella* Enteritidis on shell eggs. *Archiv für Geflügelkunde*, 66, 119 - 123.
- Rao, K. S., Roland, D. A. (1992): Improved limestone retention in the gizzard of commercial Leghorn hens. *Journal Applied Poultry Research*, 1, 6–10.
- Rilley, A., Sturrock, C. J., Mooney, S. J., Luck, M. R. (2014): Quantification of eggshell microstructure using X-ray micro computed tomography. *British Poultry Science*, 3, 311 - 320.
- Robinson, L. (1957): *Modern poultry husbandry*. 4th edition London: Crosby lockwood and son, LTD, 746 s.
- Rodriguez-Navarro, A., Kalin, O., Nys, Y., Garcia-Ruiz, J. M. (2002): Influence of the microstructure on the shell strength of eggs laid by hens of different ages. *British Poultry Science*, 43, 395 - 403.
- Rodriguez-Navarro, A. B., Yebra, A., Nys, Y., Jimenez-Lopez, C., Garcia-Ruiz, J. M. (2007): Analysis of avian eggshell microstructure using X-ray area detectors. *European Journal of Mineralogy*, 19, 391 – 398.
- Roland, D. A., Harms, R. H.(1973): Calcium-Metabolism in Laying Hen .5. Effect of Various Sources and Sizes of CalciumCarbonate on Shell Quality, *Poultry Science*, 52, 369–372.
- Roland, D. A. (1986): Egg shell quality III: Calcium and phosphorus requirements of commercial Leghorns. *World's Poultry Science Journal*, 42, 154 - 165.
- Roland, D. A. (1988): Egg shell problems: Estimates of incidence and economic impact. *Poultry Science*, 67, 1801–1803.
- Romanoff, A. L. (1929): Study of the physical properties of the hens eggshell in relation to the function of shell-secretory glands. *The Biological Bulletin*, 5, 351-356.
- Romanoff, A. L., Romanoff, A. (1949): *The avian egg*. New York: John Wiley & Sons.
- Ros, C., Bell, R. W., White, P. F. (1997): Effect of seed phosphorus and soil phosphorus applications on early growth of rice (*Oryza sativa* L.) cv. IR66. *Soil Science and Plant Nutrition*, 43, 499 – 509.
- Rose-Martel, M., Du, J., Hincke, M. T.(2012): Proteomic analysis provides new insight into the chicken eggshell cuticle. *Journal of Proteomics*, 75, 2697 - 2706.

- Rossi, M., Nys, Y., Anton, M., Bain, M., De Ketelaere, B., De Reu, K., Dunn, I., Gautron, J., Hammershoj, M., Hidalgo, A., Meluzzi, A., Mertens, K., Nau, F., and Sirri, F. (2013): Developments in understanding and assessment of egg and egg product quality over the last century. *World's Poultry Science Journal*, 69, 414 - 429.
- Safaa, H. M., Serrano, M. P., Valencia, D. G., Frikha, M., Jiménez-Moreno, E., Mateos, G. G. (2008): Productive performance and egg quality of brown egg-laying hens in the late phase of production as influenced by level and source of calcium in the diet. *Poultry Science*, 87, 2043 - 2051.
- Samli, H. E., Agha, A., Senkoylu, N. (2005): Effects of storage time and temperature on egg quality in laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 14, 548 - 553.
- Sas Institute Inc. 2003. The SAS System for Windows. Release 9.1.
- Scott, T. A., Silversides, F. G. (2000): The effect of storage and strain of hen on egg quality. *Poultry Science*, 79, 1725 - 1729.
- Seo, Y. M., Shin, K. S., Rhee, A. R., Chi, Y. S., Han, J., Paik, I. K. (2010): Effects of dietary Fe-soy proteinate and MgO on egg production and quality of eggshell in laying hens. *Asian Australas Journal of Animal Science*, 23, 1043–1048.
- Sharpley, A., (1999): Agricultural phosphorus, water quality and poultry production: are they compatible? *Poultry Science*, 78, 660 – 673.
- Scheideler, S., Jalal, M., Weber, T. (2005): Testing the optimum blend of fine : large particle size limestone and dietary calcium level for the Hy Line W-36 and W-98 strains of White Leghorn hens. *Poultry Science Association Annual Meeting 2005. Abstract book*, 121.
- Silversides, F. G., Villeneuve, P. (1994): Is the Haugh unit correction for egg weight valid for eggs stored at room temperature? *Poultry Science*, 73, 50 - 55.
- Silversides, F. G., Scott, T. A. (2001): Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. *Poultry Science*, 80, 1240 - 1245.
- Singh, R., Cheng, K. M., Silversides, F. G. (2009): Production performance and egg quality of four strains of laying hens kept in conventional cages and floor pens. *Poultry Science*, 88, 256 – 264.
- Skřivan, M., Englmaierová, M., Skřivanová, V. (2010): Effect of different phosphorus levels on the performance and egg quality of laying hens fed wheat- and maize-based diets. *Czech Journal of Animal Science*, 55, 420-427.
- Směrnice Rady Evropské Unie č. 74/1999 : Minimální požadavky na ochranu nosnic. *Official Journal L 203*, 3.8. 1999, 53 – 57.

- Snow, J.L., Baker, D.H., Parsons, C.M., (2004): Phytase, citric acid, and 1-hydroxycholecalciferol improve phytate phosphorus utilization in chicks fed a corn–soybean meal diet. *Poultry Science*, 83, 1187 – 1192.
- Solomon, S. E. (2009): Foundation is key for eggshell quality. *World Poultry Science*, 9, 16 - 18.
- Solomon, S. E. (2010): The eggshell: Strength, structure and function. *British Poultry Science*, 51, 52 - 59.
- Solomon, S. E., Bain, M. M., Cranstoun, S., Nascimento, V. (1994): Hen's eggshell structure and function. In: Board, R. G., Fuller, R. (Eds.): *Microbiology of the Avian Egg*, Springer, US, pp. 1-24.
- Sosnowka – Czajka, E., Herbut, E., Skomorucha, I. (2010): Effect of different housing systems on productivity and welfare of laying hens. *Annals of Animal Science*, 10, 349 – 360.
- Stahl, J. L., Cook, M. E., Sunde, M. L. (1986): Zinc supplementation: its effect on egg production, feed conversion, fertility and hatchability. *Poultry Science*, 65, 2104–2109.
- Stevens, L. (1996): Egg proteins: What are their functions. *Science Progress*, 79, 65 - 87.
- Suchý, P., Straková, E., Herzig, I. (2014): Selenium in poultry nutrition: a review. *Czech Journal of Animal Science*, 59, 495–503.
- Surai, P. F., Fisinin, V. I. (2014): Selenium in poultry breeder nutrition: an update. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 1–15.
- Suttle, N. F. (2010): *Mineral nutrition of livestock*. 4 ed. Wallingford: CABI Publishing, s. 562. ISBN 1-84593-472-9.
- Svobodová, J., Tůmová, E., Popelářová, E., Chodová, D. (2015): The effect of light colour on egg production and egg contamination. *Czech Journal of Animal Science*, 60, 12, 550 - 556.
- Świątkiewicz, S., Arczewska-Włosek, A., Krawczyk, J., Puchała, M. Józefiak, D., (2015): Effects on performance and eggshell quality of particle size of calcium sources in laying hens' diets with different Ca concentrations. *Archiv Fur Tierzucht –Archives of Animal Breeding*, 58, 301- 307.
- Tabatabaie, M. M., Aliarabi, H., Saki, A. A., Ahmadi, A., Siyar, S. A. H. (2007): Effect of Different Sources and Levels of Zinc on Egg Quality and Laying Hen Performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10, 19, 3476 – 3478.

- Tatara, M. R., Charuta, A., Krupski, W., Luszczewska-Sierakowska, I., Korwin-Kossakowska, A., Sartowska, K., Szpetnar, M., Horbanczuk, J. O. (2016): Interrelationships between morphological, densitometric and mechanical properties of eggs in Japanese quails (*Coturnix Japonica*). *Journal of Poultry Science*, 53, 51 – 57.
- Tauson, R. (2005): Management and housing systems for layers – effect on welfare and production. *Worlds Poultry Science Journal*. 61, 3, 477 - 490. ISSN 0043-9339
- Tolboom, J. G., Kwakkel, R. P. (1998): Dynamic modelling of Ca and P flows in layers: Prospects to reduce dietary digestible P levels. *British Poultry Science*, 39, 43 – 44.
- Tůmová, E., Ebeid, T. (2005): Effect of time of oviposition on egg quality characteristics in cages and in a litter housing system. *Czech Journal of Animal Science*, 50, 129 – 134.
- Tůmová, E., Englmaierová, M., Ledvinka, Z., Dlouhá, G. (2010): Mikrobiální kontaminace vajec z klecového a podestýlkového chovu. *Certifikovaná metodika, ČZU v Praze, vydání 1.*, 19s.,
- Tůmová E., Skřivan M., Englmaierová M., Zita L. (2009): The effect of genotype, housing system and egg collection time on egg quality in egg type hens. *Czech Journal of Animal Science*, 54, 17–23.
- Tůmová, E., Englmaierová, M., Ledvinka, Z., Charvátová, V. (2011): Interaction between housing system and genotype in relation to internal and external egg quality parameters. *Czech Journal of Animal Science*, 56, 490 – 498.
- Tůmová, E., Gous, R. M., Tyler, N. (2014): Effect of hen age, environmental temperature, and oviposition time on eggshell quality and eggshell and serum mineral contents in laying and broiler breeder hens. *Czech Journal of Animal Science*, 59, 435 – 443.
- Tůmová, E., Vlčková, J., Charvátová, V., Drábek, O., Tejnecký, V., Ketta, M., Chodová, D. (2016): Interactions of genotype, housing and dietary calcium in layer performance, eggshell quality and tibia characteristics. *South African Journal of Animal Science*, 46, 285 – 293.
- Tůmová, E., Uhlířová, L., Tůma, R., Chodová, D., Máchal, L. (2017a): Age related changes in laying pattern and egg weight of different laying hen genotypes. *Animal Reproduction Science*, 183, 21-26.
- Tůmová, E., Vlčková, J., Chodová, D. (2017b): Differences in oviposition and egg quality of various genotypes of laying hens. *Czech Journal of Animal Science*. 62, 377-383.
- Tiller, H. (2001): Nutrition and animal welfare in egg production systems. *Proceedings of 13th European Symposium of Poultry Nutrition, Blankenberge, Belgium*, 226 – 231.

- Tyler, C., Geake, F. H. (1964): The testing of methods for cracking eggshells, based on paired readings from individual eggs and the measurement of some effects of various treatments. *British Poultry Science*, 5, 26 - 28.
- Van den Brand, H., Parmentier, H. K., Kenp, B. (2004): Effects of housing system (outdoor vs cages) and age of laying hens on egg characteristics. *British Poultry Science*. 45, 745 - 752.
- Van der Klis, J. D., Versteegh, H. A. J., Simons, P. C. M., Kies, A. K., (1997): The efficacy of phytase in corn–soybean meal-based diets for laying hens. *Poultry Science*, 76, 1535–1542.
- Van Niekerk, T., Reuvekamp, B., Gunnik, H. (2011): Verdiend drie sterren. *Pluimveehouderij*, 41, 5, 26 - 27.
- Van Toledo, B., Parsons, A. H., Combs, G. F. (1982): Role of ultrastructure in determining eggshell strength. *Poultry Science*, 61, 569 - 572.
- Vlčková, J., Tůmová, E., Ketta, M., Englmaierová, M., Chodová, D. (2016): The effect of housing system and age on quality og eggshell, microbial contamination and penetration of microorganisms in laying hens eggs. *Czech Journal of Animal Science*, (v tisku).
- Vošlářová, E., Hanzalek, V., Večerek, V., Straková, E., Suchý, P. (2006): Comparison between latiny hen performance in the cage system and deep liter system on a diet free from animal protein. *Acta Veterinaria Brno*, 75, 219 – 225.
- Wall, H., Tauson, R. (2002): Egg quality in furnished cages for laying hens - Effects of cracked reduction measures and hybrid. *Poultry Science*, 81, 340 - 348.
- Wall, H., Tauson, R. (2007): Perch arrangements in small group furnished cages for laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 322 - 330.
- Wall, H., Tauson, R., Sorgjerd, S. (2008): Bacterial Contamination of Eggshells in Furnished and Conventional Cages. *Journal of Applied Poultry Research*, 17, 11 - 16.
- Wang, Z. G., Pan, X. J., Zhang, W. Q., Peng, Z. Q., Zhao, R. Q., Zhou, G. H. (2010): Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects antioxidant activity of breeding eggs. *Poultry Science*, 89, 931–937.
- Welleman-Labadie, O., Picman, J., Hincke, M. T. (2008): Antimicrobial activity of cuticle and outer eggshell protein extracts from three species of domestic birds. *British Poultry Science*, 49, 133 - 143.
- Whitehead, C. C. (1997): Studies on effects of nutritional factors on bone structure and osteoporosis in laying hens. *British Poultry Science*, 38, 417 - 424.

- Whitehead, C. C., Fleming, R. H. (2000): Osteoporosis in cage layers. *Poultry Science*, 79, 1033 – 1041.
- Yan, Y. Y., Sun, C. J., Lian, L., Zheng, J. X., Xu, G. Y., Yang, N. (2014): Effect of uniformity of eggshell thickness on eggshell quality in chickens. *Journal of Poultry Science*, 51, 338 – 342.
- Yüceer, M., Caner, C. (2014): Antimicrobial lysozyme-chitosan coatings affect functional properties and shelf life of chicken eggs during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 153 - 162.
- Zamani, A., Rahmani, H. R., Pourreza, J. (2005): Effect of Different Levels of Manganese and Zinc on Performance Traits and Breaking Eggs in Laying Hens. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8, 7, 1035-1040.
- Zelenka, J. (2005): *Výživa a krmení drůbeže*. MZLU Brno, 88 s. ISBN 80-7157-853-3.
- Zelenka, J., Zeman, L. (2006): *Výživa a krmení drůbeže*, Praha, ČZT. 117 s.
- Zhang, B., Coon, C. N. (1997): Improved in vitro methods for determining limestone and oyster shell solubility. *Jornal of Applied Poultry Research*, 6, 94–99.