VVVZ
VĚDECKÝ
VÝBOR
VÝŽIVY
ZVÍŘAT

VĚDECKÝ VÝBOR VÝŽIVY ZVÍŘAT

Vláknina ve výživě brojlerových kuřat

prof. Ing. Martina Lichovníková, Ph.D.

Praha, listopad 2023

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

Obsah

1	Úvod	3
2	Vláknina a snižování používání antibiotik	4
3	Hodnocení vlákniny	4
4	Nutriční vlivy vlákniny	8
5	Mikrobiom	10
6	Dysbióza a krmení mikrobiomu	11
7	Slepá střeva a energie	12
8	Materiál a metodika	13
9	Výsledky	15
10	Závěr	18
11	Souhrn	19
12	Summary	20
13	Seznam literatury	21

1. Úvod

Nutriční hodnota krmiva vypovídá o množství živin obsažených v krmivu, které mohou být využity zvířetem. Její odhad zahrnuje, jak dobře jsou živiny stravitelné a využitelné zvířaty. Ve výživě drůbeže je vláknina spojována s negativními vlivy především s ředěním koncentrace energie, protože složení vlákniny (neškrobové polysacharidy - NSP a lignin) mají velký vliv na stravitelnost a využití živin, protože představují největší část krmiva, která nemůže být strávena endogenními enzymy. Vláknina může také ovlivňovat stravitelnost živin kvůli viskozitě spojené s rozpustnými NSP a nedostupnosti důležitých živin v buněčných stěnách bohatých na nerozpustné NSP. Na druhou stranu, nerozpustné NSP mohou pomoci rozvoji žaludku a dalších částí trávicího traktu a tím zlepšit stravitelnost živin. Vláknina může mít také pozitivní vliv na mikroflóru trávicího traktu a zdraví střeva. Další riziko, které bývá často spojováno s krmivy bohatými na vlákninu je kontaminace mykotoxiny. Názory na zařazení vlákniny do krmné směsi pro brojlerová kuřata se tedy různí.

Hlavním cílem této studie je popsat jednotlivé složky vlákniny a sepsat přehled o vzájemném působení NSP a vlákniny a procesech trávení se zaměřením na obiloviny, které jsou hlavním krmivem v krmných směsích pro brojlerová kuřata. Druhým cílem práce je prezentovat výsledky předběžné studie zaměřené na vliv vybraných krmných aditiv na produkci organických kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem ve slepých střevech a retenci energie v závislosti na věku brojlerových kuřat.

2. Vláknina a snižování používání antibiotik

Strategie Evropské komise Farm to Fork, která vznikla v přímé vazbě na iniciativu Green Deal, si klade řadu ambiciózních cílů, mezi nimi také snížit spotřebu antibiotik v chovu hospodářských zvířat. Antimikrobiální rezistence spojená s nadměrným a nevhodným užíváním antimikrobiálních látek ve zdravotní péči o zvířata i lidi vede k odhadovaným 33 000 úmrtím lidí v EU každý rok a k významným nákladům na zdravotní péči. Komise proto podnikne kroky ke snížení celkových prodejů antimikrobiálních látek pro hospodářská zvířata a v akvakultuře v EU o 50 % do roku 2030. Nová nařízení o veterinárních léčivech a léčivých krmivech předpokládají širokou škálu opatření, která pomohou dosáhnout tohoto cíle a podporují přístup "Jedno zdraví".

Hejna brojlerových kuřat vykrmovaná s omezeným užíváním antibiotik (antibiotic free) mohou potenciálně čelit většímu množství mikrobiálních a imunologických problémů, dysbiózám, nebo zánětům sliznice. Přeměna bílkovin a energetické potřeby mohou být u těchto zvířat pravděpodobně vyšší. Z tohoto pohledu je z nutričního hlediska klíčové podporovat vývoj svalnatého žaludku a střeva v raném věku, stimulovat raný vývoj zdravého mikrobiomu střeva a minimalizovat kontaminaci a vznik patogenních bakterií. Z pohledu vlákniny Oviedo-Rondón (2023) doporučuje zahrnout do optimalizace detailnější popis vlákniny jako jsou ADF, nestravitelná a stravitelná vláknina. Doporučuje minimální úroveň ADF nebo nestravitelné vlákniny (minimálně 2 % a maximálně 3 %) a maximální množství stravitelné vlákniny (ne více než 20 až 30 % celkové vlákniny). Poměr ADF/NDF v krmivu by měl být udržován na minimální úrovni 0,37 pro dosažení optimálního vývoje střeva, stravitelnosti živin a užitkovosti (Nursiam et al., 2022).

3. Hodnocení vlákniny

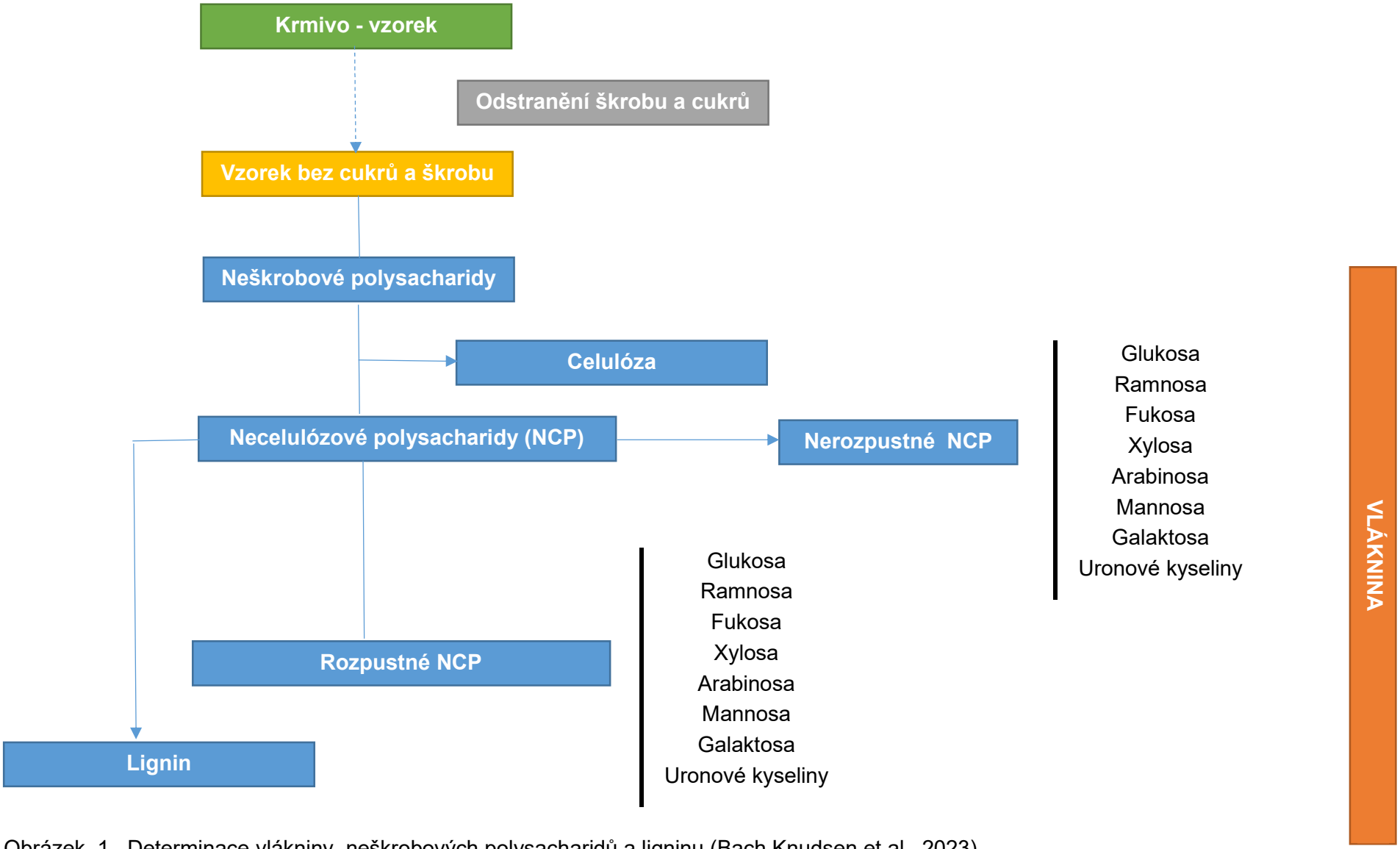
Vláknina je chemicky a fyzikálně heterogenní materiál. V základu ji lze rozdělit na rozpustnou (viskózní a fermentovatelnou) a nerozpustnou ve vodě (neviskózní a nefermentovatelná). Různé složení rozpustné a nerozpustné vlákniny pomáhá objasnit jejich účinek na trávení a absorpci živin v trávicím traktu. Množství a struktura vlákniny je velmi variabilní u různých rostlinných krmiv. Vedle slámy, plev a ligninu obsahují vysokou koncentraci nerozpustné vlákniny také vedlejší produkty cereálií, jako jsou pšeničné nebo rýžové otruby, slunečnicový extrahovaný šrot nebo cukrovarské řízky (Michard, 2011).

Nerozpustná vláknina

Nerozpustná vláknina způsobuje hlavně naředění živin. Na druhou stranu řada studií ukazuje, že nerozpustná vláknina (neškrobové polysacharidy NSP a lignin) ovlivňují funkci střeva a stavitelnost živin. Nerozpustná vláknina se akumuluje ve svalnatém žaludku. Výsledný dobře vyvinutý svalnatý žaludek zlepšuje mechanické a následně i enzymatické trávení, což snižuje množství hrubých částic vstupujících do tenkého střeva a přispívá ke zvýšené dostupnosti živin a jejich využití. Nerozpustné NSP podporují růst prospěšných bakterií, které stimulují jak střevní, tak celkový zdravotní stav. Krmné směsi s vysokým obsahem škrobu podporují fermentaci v tenkém střevě, kde se mohou rychle množit patogeny a vytvářet situaci s vysokým rizikem nerovnováhy mikroorganismů a onemocnění střeva hostitele. Zvýšený obsah nerozpustné vlákniny v krmné směsi zvětšuje svalnatý žaludek a vede k delšímu zadržení potravy v této části trávicího traktu, což umožňuje větší sekreci chlorovodíkové kyseliny. Toto, společně se stimulačním účinkem činnosti svalnatého žaludku na sekreci HCl, sníží pH obsahu svalnatého žaludku. Nižší pH a těžce fermentovatelná vláknitá frakce podporují vyšší podíl prospěšných mikroorganismů v trávicím traktu kuřat. Tento účinek podporuje integritu střevní stěny, zlepšuje trávení živin (Michard, 2011).

Nový pohled na vlákninu

Nejstarší a stále používaný způsob, kterým lze nejjednodušeji charakterizovat vlákninu v krmivu je stanovení hrubé vlákniny. V nedávné době byly vyvinuty enzymaticko-gravimetrické postupy AOAC a enzymaticko-chemické postupy pro analýzu vlákniny v krmivu. Tyto pozdější metody byly původně vyvinuty pro potraviny, ale byly také použity při analýze krmiv (Bach Knudsen a Laerke, 2018). Metoda znázorněná na Obrázku 1 umožňuje oddělené odhady obsahu celulózy, rozpustných a nerozpustných necelulózových polysacharidů (NCP) a ligninu (Klason) pomocí enzymaticko-chemicko-gravimetrických principů. Metoda rovněž poskytuje podrobné informace o monomerickém složení frakce NCP. Informace o polymerech tvořících frakci NCP lze odvodit z monomerických cukerných zbytků, například arabinosa a xylosa jsou markery arabinoxylanu v NCP, glukosa v různých vazbách je indikátorem β-glukanu v obilninách, uronové kyseliny tvoří kostru pektinu a arabinosa, galaktosa atd. jsou součástí pektinových polysacharidů. Srovnání výsledků získaných při analýze stejných krmiv různými analytickými metodami ukazuje výrazné rozdíly; hodnoty hrubé vlákniny jsou mnohem nižší než hodnoty získané neutralizační metodou (stanovení NDF), která je poněkud nižší než hodnoty získané enzymaticko-chemickými metodami.



Obrázek 1 . Determinace vlákniny, neškrobových polysacharidů a ligninu (Bach Knudsen et al., 2023)

Obsah NSP a ligninu v krmivech se výrazně liší. Obiloviny mají obecně nižší koncentraci NSP a ligninu než krmiva bohatá na dusíkaté látky, zatímco vedlejší produkty z obilovin a potravinářského/olejářského průmyslu mají vyšší koncentraci těchto živin (Tabulka 1).

Tabulka 1

Obsah neškrobových polysacharidů a ligninu ve vybraných krmivech (g/kg sušiny, Bach Knudsen et al., 2023)

		Non-cellulosic polysaccharides									
	Cell	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	UA	NCP	NSP	KL	Fibre
Cereals											
Brown rice	1	5	4	1	1	8	2	21 (2)	22 (2)	13	35
Maize	22	22	30	3	5	10	7	75 (9)	97 (9)	11	108
Sorghum	15	17	13	1	3	10	4	51 (4)	66 (4)	16	83
Wheat	20	29	47	3	4	11	5	99 (25)	119 (25)	10	138
Rye	16	36	61	5	5	26	4	136 (42)	152 (42)	21	174
Barley	43	28	56	4	3	47	6	143 (56)	186 (56)	35	221
Oats	82	18	80	3	7	33	10	150 (40)	232 (40)	66	298
Cereal co-products											
Maize bran	83	72	116	4	20	16	44	271 (32)	354 (32)	25	379
Maize feed meal	33	33	48	2	9	10	20	123 (10)	156 (10)	18	174
Maize DDGS	58	52	71	19	13	21	16	192 (34)	250 (34)	39	289
Wheat bran	72	90	148	5	8	35	15	302 (29)	374 (29)	75	449
Wheat middling	19	48	67	8	7	33	10	171 (71)	190 (71)	11	201
Wheat DDGS	50	57	86	16	11	33	8	212 (67)	262 (67)	66	328
Rye bran	39	78	213	3	12	66	10	383 (63)	422 (63)	68	490
Barley hull meal	192	51	184	3	6	25	18	286 (20)	478 (20)	115	594
Oat hull meal	196	28	212	2	9	20	36	309 (13)	505 (13)	148	653
Protein rich feedstuffs											
Soybean meal	62	26	19	13	41	7	48	155 (63)	217 (63)	16	233
Rapeseed meal	52	43	17	6	19	21	61	168 (55)	220 (55)	134	354
Peas	53	26	13	2	7	36	32	127 (52)	180 (52)	12	192
Fava beans	81	24	12	2	6	32	33	109 (50)	190 (50)	20	210
Lupin	131	43	36	9	141	2	39	274 (134)	405 (134)	12	416
Palm cake	73	12	1	309	15	7	19	393 (32)	466 (32)	136	602
Sunflower cake	123	31	59	12	13	17	67	192 (57)	315 (57)	133	448

NCP, necelulózové polysacharidy; NSP, neškrobové polysacharidy; Cell, celulóza; Ara, arabinosa; Xyl, xylosa; Man, mannosa; Gal, galactosa; Glc, glucosa; UA, uronové kyseliny; KL, Klason lignin; DDGS, výpalky. Hodnoty v závorkách uvádí obsah rozpustných NCP/NSP.

Zatímco celulóza je přítomná ve všech buněčných stěnách rostlin v různé koncentraci, existuje široká variabilita v obsahu necelulózových polysacharidů mezi jednotlivými krmivy. β-Glukany (NCP-glukosa) tvoří relativně vysokou koncentraci rozpustných NCP v ječmeni a ovsu a rozpustné AX (arabinosa + xylosa) jsou hlavní složkou rozpustných NCP v pšenici a žitu. V luštěninách a bílkovinných krmivech se pektinové látky vyskytují ve formě uronových kyselin, galaktosy a arabinosy, xyloglukany jsou vyjádřené xylosou a glukosou, galaktany galaktosou v lupině a mannany jsou vyjádřené manosou v palmových výliscích

jsou hlavními necelulózovými polysacharidy zodpovědnými za relativně vysokou úroveň rozpustných NCP v těchto krmivech (Bach Knudsen et al., 2023).

4. Nutriční vlivy vlákniny

Krmné směsi pro brojlerová kuřata jsou postaveny na relativně malém počtu krmiv, běžně na kukuřici/pšenici a sójovém extrahovaném šrotu. S ohledem na cenu krmiv, ale také na podporu cirkulární ekonomiky/oběhového hospodářství můžeme v krmných směsích využít i další, ekonomicky výhodnější, energetická a bílkovinná krmiva případně vedlejší produkty. Společné pro tuto druhou skupinu krmiv je, že mají vyšší obsah NSP, jsou viskóznější a mají nižší stravitelnost a využití živin. Nižší stravitelnost a využití živin je důsledkem vyššího obsahu NSP a má následující příčiny:

1. NSP představují největší podíl sušiny krmiva, kterou ptáci nestráví svými endogenními enzymy.
2. Viskózní povaha některých rozpustných NSP může zasahovat do enzymatických procesů trávení, čímž jsou tyto enzymy méně efektivní.
3. Nerozpustné NSP v některých strukturách buněčných stěn mohou uzavírat potenciálně dostupné živiny.

NSP jsou složkou krmiva s největším negativním vlivem na stravitelnost živin. U brojlerových kuřat je stravitelnost NSP ovlivněna věkem a složením NSP, ale obecně je nižší u mladších než u starších zvířat. U ptáků ve věku 5-10 dní bylo zjištěno, že rozpustné a nerozpustné AX s nízkým poměrem arabinosy k xylosy mohou vstoupit do slepého střeva, ale nejsou rozsáhle fermentovány mikrobiotou slepého střeva. Naopak vyzrálá mikrobiota od 21. dne věku vedla k nárůstu jak rozpustnosti nerozpustných AX, tak k fermentace rozpustných AX v ileu a slepém střevě (Bautil et al., 2019). Navzdory nízké degradaci NSP u kuřat, poskytuje mikrobiota hostiteli energii. Bylo odhadnuto, že maximální fermentace NSP přispívá 3-4 % k celkovému obsahu metabolizovatelné energie (ME) a vylučování organických kyselin (především mléčné a octové kyseliny) představuje až 2 % ME (Jørgensen et al., 1996). Byla také zjištěna měřitelná množství H_2, zatímco nebyl detekován žádný CH_4, což naznačuje absenci metanogenních bakterií. Další studie také ukázaly, že variabilita v obsahu NSP v jednotlivých krmivech významně přispívá k variabilitě obsahu ME, což bylo potvrzeno u různých odrůd pšenice (Annison, 1991).

Rozpustná a hydrofilní povaha AX a β-glukanu umožňuje těmto dvěma polymerům se poměrně snadno rozptýlit v trávicím traktu a zvýšit viskozitu střeva s následnými negativními účinky na stravitelnost živin a užitkovost kuřat (Pettersson a Aman, 1989). Mechanismus spočívá v inhibici trávení živin ztěžováním difuze trávicích enzymů, jejich substrátů a produktů.

S tím souvisí i snížená schopnost střeva fyzicky promíchat obsah. To se ukázalo jako významné zejména pro trávení tuků, a to více pro nasycené než nenasycené tuky, protože k účinné emulgaci, což je předpoklad pro efektivní trávení tuků, je potřeba výrazné promíchávání tráveniny. Steenfeldt (2001) identifikovala významný negativní vztah mezi koncentrací AX v odrůdách pšenice a koeficientem zdánlivé stravitelnosti tuku. Negativní účinek viskozity na stravitelnost živin byl publikován taky ve studii Choct a Annison (1992). Autoři v modelovém experimentu sledovali významný negativní účinek koncentrovaného množství pšeničných AX (pentosanů) na ileální stravitelnost škrobu, bílkovin a tuků. Věk hraje důležitou roli pro projev negativního vlivu viskozity na stravitelnost živin; zatímco u brojlerových kuřat do 21-28 dnů věku byl významný, u starších zvířat byly negativní účinky menší, pravděpodobně proto, že u starších ptáků může mikrobiota strávit a využít některé z viskózních polysacharidů (Bautil, 2019).

Je známo, že některé struktury buněčných stěn mohou obalovat potenciálně dostupné živiny a tím snižovat jejich stravitelnost (Classen, 1996). Příklady takových struktur buněčných stěn jsou aleuronové a endospermové buňky obilovin a kotyledon u luštěnin. Aleuronová vrstva je specifická tkáň endospermu obilovin, jedna silná vrstva je u pšenice a žita a tři silné vrstvy u ječmene. Aleuronový AX je v obilovinách převážně nerozpustný a má nižší poměr A/X než škrobovitý endosperm jak u pšenice, tak u ječmene. AX aleuronových buněk je také silněji esterifikován kyselinami AX škrobovitého endospermu. Nerozpustná povaha aleuronových buněčných stěn je činí odolnými vůči trávení endogenními enzymy a neporušené buňky této vrstvy byly identifikovány v trusu kuřat, což způsobuje současně nižší stravitelnost hrubého proteinu.

Buněčné stěny kotyledonu hrachu, bobu a dalších luštěnin mohou omezovat přístup endogenních enzymů ke škrobu a hrubému proteinu (Dhital et al., 2016). Buněčné stěny kolyledonu jsou hydrofilní a složeny především z pektinových polysacharidů, xyloglukanů a celulózy a ačkoli NSP v buněčných stěnách kotyledonu se analyticky chová jako rozpustný NSP, za podmínek, které přetrvávají v trávicím traktu, je většinou nerozpustný. Bylo zjištěno, že tyto vlastnosti buněčných stěn luštěnin ovlivňují *in vitro* rychlost a rozsah trávení škrobu u hrachu, fazolí a bobu. Rozsah trávení škrobu u luštěnin je daleko nižší než u obilovin a zejména u manioku (Weurding et al., 2001).

Kromě viskózních vlastností β-glukanu u ječmene mohou buněčné stěny endospermu ječmene také působit jako fyzická bariéra pro endogenní enzymy, což může zpomalit trávení škrobu v tenkém střevě (Hesselman a Aman, 1986). Částečná degradace β-glukanu pomocí exogenních enzymů vedla k rychlejšímu trávení škrobu v tenkém střevě (Hesselman a Aman, 1986). Může také existovat interakce mezi buněčnými stěnami endospermu a nerozpustnou bílkovinnou maticí, jak naznačuje studie s čirokem a ječmenem. Bylo zjištěno, že rychlost

hydrolýzy škrobu byla významně vyšší u ječmene než u čiroku, když byly šrotovány na různé velikosti, což pravděpodobně odráží snížený přístup α-amylázy ke granulím škrobu kvůli nerozpustné bílkovinné matici a okolním buněčným stěnám (Weurding et al., 2001). Takže buněčné stěny endospermu z obilovin mohou ovlivňovat trávení škrobu v některých obilovinách prostřednictvím interakce s nerozpustnou bílkovinnou maticí a v jiných s viskózními vlastnostmi AX a β-glukanu.

5. Mikrobiom

Bakterie byly na této planetě miliony let před vznikem obratlovců. Obratlovci se tak objevili ve světě, který byl již ovládnut mikroby. Při zkoumání mikrobiomu je potřeba mít na paměti miliony let společného vývoje. Není tedy překvapující, že interakce mezi oběma královstvími jsou extrémně komplexní. Je však třeba vzít v úvahu, že stavební kameny bakteriální buňky (aminokyseliny, nukleové kyseliny, lipidy, stopové prvky atd.) jsou velmi podobné stavebním kamenům buňky živočišné nebo lidské. Lze tedy usuzovat, že bakterie i vyšší organismy soutěží o stejné živiny. Aby se předešlo takové soutěži, probíhá absorpce živin u vyšších organismů v odděleném prostoru, konkrétně ve střevním traktu. Ve skutečnosti se v tenkém střevě, kde probíhá skutečná trávení a absorpce, udržuje hustota bakterií pozoruhodně nízká, většinou pod 10^3 na gram (Ducatelle et al., 2023). Ve slepých střevech ptáků jsou však bakterie nejen tolerovány, ale dokonce jsou podporovány a živeny hostitelem, pomocí vylučování velkého množství mucinu. Tento mucin je využíván jako zdroj živin specializovanými druhy bakterií, aby udržely mikrobiom jedince během období hladovění (Such et al., 2019). Když je krmivo dostupné, většina stravitelné frakce se absorbuje v tenkém střevě, takže bakteriím, které žijí v kaudálnější části trávicího traktu, zůstává pouze nestravitelná frakce. Rozšiřování populace mikrobů v tenkém střevě, zejména ve dvanáctníku a lačníku, je brzděno účinnými obrannými mechanismy hostitele proti bakteriím, které zahrnují nejen specifické antimikrobiální peptidy a proteiny, ale také nespecifické inhibiční látky, jako je kyselina chlorovodíková produkovaná ve žlaznatém žaludku. Tato látka může být baktericidní, ale může také indukovat tzv. "životaschopný, ale nekultivovatelný stav" (Geirnaert et al., 2014), umožňující bakteriím projít tenkým střevem v metabolicky neaktivním stavu.

V kaudální části trávicího traktu drůbeže se zdá být specifické prostředí mikroorganismů, přičemž členové rodiny *Lactobacillaceae* dominují v ileu s hustotami až 10^9 aktivních bakterií na gram, a rodiny *Oscillisporaceae* (dříve: *Ruminococcaceae*) a *Lachnospiraceae* tvoří většinu bakterií ve slepých střevech, která mají ještě větší populaci 10^{11} bakterií na gram (Rychlik, 2020). Baktérie rodu *Lactobacillaceae*, *Oscillospiraceae* a *Bacteroidota* se podílejí na primárním rozkladu nestravitelné části krmiva, která je většinou složena z NSP z buněčných

stěn rostlinných buněk. Není proto překvapením, že rozklad této vlákniny pro využití jako živiny pro mikroorganismy vyžaduje soustředěné úsilí mnoha různých mikroorganismů. Dalšími substráty pro mikroflóru ve slepých střevech jsou proteiny od hostitele (z vylučovaných enzymů a oddělených buněk) a kyselina močová (pomocí antiperistaltických vln z kloaky), které tvoří důležité zdroje dusíku. Mnoho meziproduktů metabolismu bakterií a metabolitů mikrobiální fermentace je vstřebáváno sliznicí slepých střev hostitelem. Tyto metabolity představují zdroj energie (jako jsou organické kyseliny s krátkým uhlíkatým řetězcem). Jsou také zdrojem B-vitaminů. Pozitivní signály jako je butyrát a propionát mají příznivé účinky na střevní sliznici, zatímco negativní metabolity, jako je sirovodík způsobí poškození epitelu (Ducatelle et al., 2023).

6. Dysbióza a krmení mikrobiomu

Dnešní krmné receptury pro brojlerová kuřata jsou charakterizovány velmi vysokou koncentrací energie a bílkovin, což je nezbytné k uspokojení stále rostoucích požadavků brojlerových kuřat, která byla selektována více než půl století na vysoký příjem krmiva. Krmiva používaná v těchto recepturách pocházejí z plodin s vysokým výnosem a relativně nízkým a proměnlivým obsahem NSP. Krmením brojlerových kuřat tímto způsobem nedáváme mikrobiomu v kaudální části střeva potřebné živiny. K tomu navíc rychle rostoucí kuřata vyžadují krmivo s vysokou koncentrací esenciálních živin, jako jsou esenciální aminokyseliny. Protože kvalita rostlinného proteinu je nižší, je v krmných směsích určitý stupeň nerovnováhy v obsahu aminokyselin, receptury obvykle obsahují zbytečně mnoho hrubého proteinu ke kompenzaci určitých deficitů v esenciálních aminokyselinách. To může vést ke snížené stravitelnosti hrubého proteinu v tenkém střevě s následným nadbytkem hrubého proteinu ve slepých střevech. Tento stav je jedním z hlavních spouštěčů posunu ve složení mikrobioty ve slepých střevech, obvykle označované jako dysbióza. Dysbióza je horší, když patogeny, jako jsou *Eimeria acervulina* nebo *Eimeria maxima*, naruší trávení a vstřebávání živin v tenkém střevě. Dysbióza se vyznačuje nejen posunem v mikrobiotě, ale také zvýšenou permeabilitou střevní bariéry a zánětem (Ducatelle et al., 2023). Posun mikrobioty obvykle zahrnuje dramatické snížení producentů butyrátu, často doprovázené expanzí kmene *Proteobacteria*. Zánět, který doprovází dysbiózu, vyvolává další poškození produkce mucinu, který vytváří bariéru, spouští se tak začarovaný kruh snížení obsahu mucinu, zánětu a nerovnováhy mikroorganismů, což nakonec může zvýšit vlhkost trusu a způsobit vlhkou podestýlku. Když se situace dostane do tohoto bodu, je však obtížné ji vrátit zpět, a ztráty na užitkovosti kuřat mohou být značné. Proto se vynakládají úsilí na podporu mikrobioty v kaudální části střeva brojlerových kuřat od samého začátku.

Nestravitelná frakce krmiv používaných k výrobě krmných směsí je přirozeným substrátem pro mikrobiotu v kaudální části střeva, především NSP. Je však obtížné řídit mikrobiotu výběrem konkrétních krmiv pro recepturu krmné směsi, protože obsah NSP v krmivech je velmi variabilní a analytické techniky dostupné pro rutinní analýzy NSP nejsou dostatečně kvalitní na to, aby umožnily předpověď účinků na mikrobiotu. Navíc volba složek má pokrýt primární výživové potřeby brojlerových kuřat. Prezentovaný systém nové enzymově-chemické analýzy vlákniny, by ale tyto predikce mohl usnadnit.

7. Slepá střeva a energie

Anaerobním rozkladem materiálu vstupujícího do slepých střev vznikají hlavně organické kyseliny s krátkým uhlíkatým řetězcem. Annison et al. (1968), analyzovali obsah z celého trávicího traktu mladých nosnic a zjistili, že tyto organické kyseliny se nacházejí v nejvyšších koncentracích ve slepých střevech a že se přenášejí do krve a mohou tak být zdrojem energie po daného jedince. Annison et al. (1968) naznačili, že tyto organické kyseliny by mohly poskytnout až 11 % metabolizovatelné energie pro dospělé nosnice, zatímco novější studie odhadují množství energie, které lze získat z fermentace ve slepých střevech na přibližně 3-5 % celkových energetických potřeb kuřete (Choct et al., 1992; Jorgensen et al., 1996; Jamroz et al., 2002).

Jozefiak et al. (2011) zjistili významné množství organických kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem ve slepých střevech, s klesajícím pořadím následujícím způsobem: kyselina octová (65 %), kyselina máselná (16 %) a kyselina propionová (12 %). Zatímco v zobáku a tenkém střevě bylo nalezeno velké množství kyseliny mléčné, ve slepých střevech nebyla detekována žádná. Podobné výsledky získali Jamroz et al. (2002) a Jozefiak et al. (2006), přestože malé množství kyseliny mléčné bylo detekováno ve slepých střevech. Celková produkce těchto organických kyselin se ve slepých střevech zvyšuje mezi 7. a 42. dnem věku u brojlerových kuřat (Fischer, 2003). Tyto údaje ukazují, že plná fermentační kapacita slepých střev je dosažena až po 28 dnech věku u brojlerových kuřat. Je tedy možné, že fermentace ve slepých střevech není schopna hrát významnou roli během prvních týdnů života u brojlerových kuřat.

Pokud jde o ptáky schopné létat, omezení tělesné hmotnosti je pravděpodobně hlavním důvodem omezené fermentační kapacity. V tomto kontextu je zajímavé poznamenat, že se zdá, že ptáci neschopní létat, jako jsou emu a pštrosi, jsou schopni uspokojit většinu svých energetických potřeb z fermentace v kaudální části trávicího traktu (Jozefiak a kol., 2004). Tito autoři sledovali i vliv frakcí vlákniny na produkci organických kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem. Dospěli k závěru, že pouze malé množství NSP je fermentováno. Marounek et al. (1999) studovali fermentaci různých sacharidů v obsahu slepých střev *in vitro* a zjistili, že

nejvyšší produkci zmíněných organických kyselin poskytují laktóza a rafinóza, následované škrobem, inulinem a pektinem. U divokých druhů hrabavých zvyklých na stravu bohatou na vlákninu, může být až 34 % celulózy ve stravě stráveno, hlavně díky fermentaci ve slepých střevech (Gasaway, 1976).

8. Materiál a metodika

Cílem předběžné studie bylo zjistit vliv krmných aditiv na produkci organických kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem ve slepém střevě a metabolizovatelnost energie u brojlerových kuřat v závislosti na jejich věku. Krmná aditiva byla vybrána s předpokladem, že ovlivňují mikroflóru trávicího traktu včetně slepých střev, která má následně vliv na produkci organických kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem a na stravitelnost energie. Jako krmná aditiva byly použity komerční přípravky Arbocel® (A) od firmy JRS (J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co KG) v dávce 0,7 %, jedná se o celulózu nerozpustnou ve vodě. Dále byl použit přípravek Biomin® Biofaser (C) od firmy BIOMIN®, (dnes součást DSM) na bázi fermentovaných cukrovarských řízků s obsahem hrubé vlákniny 30 % v dávce 0,7 %. Třetí přípravek byl od firmy BIOFERM® Bacteria Control SF1 (B) na bázi organických kyselin (kyselina mravenčí 45%, kyselina citrónová 15%, kyselina propionová 11,5%) v dávce 0,7%, kontrolní skupina (K) neobsahovala žádné aditivum.

Experiment byl proveden v experimentálních prostorech pavilonu M agronomické fakulty MENDELU v Brně. Jednodenní kuřata, obě pohlaví, hybridní kombinace Ross 308 v počtu 240 ks, byla naskladněna do dvou třietážových klecových baterií. V Každé etáži byly čtyři klece, celkem bylo tedy použito 24 klecí. Každá pokusná skupina měla šest opakování, jedno opakování představovalo deset kuřat. Pod každou klecí se nacházel tác pro sběr trusu.

Teplota a délka světelného dne byly nastaveny v souladu s doporučením pro daného hybrida. Kuřata byla krmena ad libitum. Voda byla přístupná z kapátkových napáječek také ad libitum. Do sedmého dne věku kuřata přijímala stejnou krmnou směs BR1 ve formě drcených granulí. Od sedmého dne jim byla zkrmována sypká pokusná krmná směs (KS), do které byl zamíchán oxid chromitý v množství 3 g na kg KS (0,3 %), který byl použit jako indikátor pro stanovení retence energie. Zároveň byla do směsí přimíchána aditiva.

Ve věku kuřat 15, 22 a 29 dnů byl z pod každé klece odebrán směsný vzorek trusu, který byl homogenizován, pro stanovení retence energie. Vždy den před sběrem trusu, byly všechny tácy důkladně očištěny, aby odebraný vzorek trusu byl za jeden den. Vzorky trusu byly předsušeny a byl u nich stanoven obsah sušiny, obsah oxidu chromitého a kalorimetricky obsah spalného tepla. Stejné složky byly stanoveny i v krmných směsích. Indikátorovou

metodou byla odhadnuta retence (metabilizovatelnost) energie pro jednotlivé skupiny podle níže uvedeného vzorce:

Retence energie (%) = 100 – (100xIkrm x Žtrs / Itrs x Žkrm)

Kdy:	Ikrm	–	Indikátor krmiva (g/kg 100% sušiny)
	Žtrs	–	Energie trusu (g/kg 100% sušiny)
	Itrs	–	Indikátor trusu (g/kg 100% sušiny)
	Žkrm	–	Energie krmiva (g/kg 100% sušiny)

Ve stejných věcích bylo z každé klece odebráno jedno kuře, tedy celkem 6 za skupinu. Byla omráčena a usmrcena a byla jim ihned odebrána trávenina ze slepých střev vytlačením do ependorfek a okamžitě zamražena při mínus 20 ºC. Tyto vzorky tráveniny byly následně v chladícím boxu převezeny do laboratoře firmy Nutrivet s.r.o. Jednotlivé vzorky byly po rozmražení naředěny 0,5 g vzorku + 5 ml destilované vody, vzorek byl promíchán a stočen a bylo provedeno další ředění 0,5 ml odstředěného vzorku do 50 nebo do 25 ml destilované vody. Organické kyseliny, octová, máselná, mléčná a propionová byly stanoveny na izotachoforetickém analyzátoru IONOSEP a vyjádřeny v mmol/100 g tráveniny. Složení krmné směsi BR2 uvádí tabulka 2.

Tabulka 2

Složení sypké krmné směsi BR2

Krmivo	%
pšenice	39,80
kukuřice	21,96
sojový extrahovaný šrot	14,88
řepkový extrahovaný šrot	7,96
ječmen	4,98
kukuřičné výpalky	2,99
slunečnicový extrahovaný šrot	1,99
živočišný tuk	1,31
vápenec	1,07
lysin	0,51
monokalcium fosfát	0,31
sůl	0,26
methionin	0,17
treonin	0,11
premix	1,72

Výsledky byly statisticky hodnoceny dvoufaktorovou analýzou variance (věk x aditivum). Pro následné testování průkaznosti rozdílů mezi průměry byl použit LSD test. Pro hodnocení byl využit program Unistat 10.

9. Výsledky

Během experimentu nebyl zaznamenán žádný úhyn mezi kuřaty. Vliv věku a krmného aditiva na retenci energie uvádí tabulka 3. Věk i krmné aditivum měly průkazný vliv na retenci energie, mezi těmito faktory byla ale zjištěna také průkazná interakce. Průkazně nejvyšší retence energie byly zjištěny ve 29. dnu věku kuřat u všech skupin s výjimkou kuřat krmených arbocelem. Také při porovnání retence energie ve věku 22. a 15. dnů, byla vždy průkazně nejnižší u kuřat krmených arbocelem. Ve věku 15. dnů byla průkazně vyšší retence oproti kontrole pouze u skupiny B. Ovšem ve věku 22. dnů byla průkazně nejvyšší retence energie u skupiny K.

Vliv věku a krmného aditiva na koncentraci organických kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem uvádí tabulka 4. Věk, krmné aditivum a interakce mezi těmato dvěma faktory neměly průkazný vliv na produkci kyselin mléčné, propionové a máselné. Průkazný vliv věku a interakce mezi krmným aditivem a věkem byl zaznamenán u koncentrace kyseliny octové. Nejvyšší produkce této kyseliny byla zjištěna u kontrolní skupiny ve věku 29 dnů kuřat. Zajímavé je, že u kontrolní skupiny byla zaznamenána také nejnižší koncentrace této organické kyseliny a to ve věku 15 dnů. Ve věku 29 dnů byla průkazně nejvyšší koncentrace kyseliny octové u kontrolní skupiny v porovnání se všemi ostatními skupinami. Ve věku 22 dnů kuřat nebyly v koncentraci kyseliny octové mezi skupinami průkazné rozdíly.

Tabulka 3

Vliv věku a krmného aditiva na retenci energie (%)

skupina	n	průměr	směrodatná odchylka
A_15	6	64,1	± 1,6[f]
B_15	6	68,7	± 0,6[d]
C_15	6	66,9	± 1,8[de]
K_15	6	65,6	± 2,8[ef]
A_22	6	65,7	± 1,4[ef]
B_22	6	68,9	± 2,6[d]
C_22	6	69,0	± 2,2[cd]
K_22	6	71,8	± 1,2[b]
A_29	6	71,2	± 2,3[bc]
B_29	6	76,5	± 0,7[a]
C_29	6	75,4	± 2,2[a]
K_29	6	75,2	± 1,5[a]
P hodnota			
věk	4x6	≤ 0,001	
aditivum	3x6	≤ 0,001	
věk x aditivum	3x4x6	≤ 0,05	

*NS – non significant - neprůkazný

Tabulka 4

Vliv věku a krmného aditiva na koncentraci organických kyselin s krátkým uhlíkatým řetězcem ve slepých střevech (mmol/100 g tráveniny)

skupina	**n**	**kyselina**			
		mléčná	**octová**	**propionová**	**máselná**
A_15	6	1,92	8,70[bcd]	1,46	1,69
B_15	6	1,13	7,01[bc]	2,01	1,57
C_15	6	1,14	7,83[bcd]	1,50	1,61
K_15	6	2,34	5,83[d]	1,90	1,62
A_22	6	1,99	8,69[bc]	2,15	1,82
B_22	6	1,18	9,55[ab]	1,56	1,96
C_22	6	1,90	9,57[ab]	1,50	1,87
K_22	6	1,46	8,95[bc]	1,68	1,78
A_29	6	0,94	7,75[bcd]	1,54	1,95
B_29	6	1,43	7,68[bcd]	1,55	1,74
C_29	6	1,34	7,02[cd]	1,58	1,65
K_29	6	1,29	11,54[a]	1,54	2,45
P hodnota					
věk	4x6	NS*	≤0,05	NS	NS
aditivum	3x6	NS	NS	NS	NS
věk x aditivum	3x4x6	NS	≤0,01	NS	NS

*NS – non significant - neprůkazný

10. Závěr

Zvýšená pozornost věnovaná vláknině má své opodstatnění při naplňování strategie snižování antimikrobiálních látek ve výkrmu kuřat. Kromě významného vlivu pro rozvoj svalnatého žaludu a následné zvýšení stravitelnosti živin, má vláknina a její složky přímý vliv na mikrobiom trávicího traktu a jeho kvalitu. Při fermentaci ve slepých střevech se metabolity fermentace, organické kyseliny s krátkým uhlíkatým řetězcem, mohou podílet na zvyšování využitelnosti energie z krmiva.

Z předběžné studie vyplývá, že přídavek arbocelu do směsi BR2 průkazně snížil retenci energie u brojlerových kuřat ve věku 15 a 22 dnů. Krmná aditiva ani věk neměli průkazný vliv na koncentraci organických kyselin mléčné, máselné a propionové ve slepých střevech. U koncentrace kyseliny octové byla zjištěna průkazná interakce mezi věkem a krmným aditivem. Ve věku 29 dnů byla průkazně nejvyšší koncentrace kyseliny octové u kontrolní skupiny v porovnání se všemi ostatními skupinami. Ve věku 22 dnů kuřat nebyly v koncentraci kyseliny octové mezi skupinami průkazné rozdíly.

11. Souhrn

Vláknina představuje část krmiva, která není trávena vlastními enzymy a má tak významný a negativní vliv na nutriční hodnotu krmiva. Existují různé metody pro její stanovení, avšak v současnosti je běžné používat enzymaticko-chemicko-gravimetrické metody, které kromě celkového obsahu poskytují také informace o její rozpustnosti a u některých typů krmiv i hlavních polysacharidech. Zvýšená pozornost věnovaná vláknině má své opodstatnění i při naplňování strategie snižování antimikrobiálních látek ve výkrmu kuřat a při produkci antibiotic free kuřat. Kromě významného vlivu pro rozvoj svalnatého žaludu a následné zvýšení stravitelnosti živin, má vláknina a její složky přímý vliv na mikrobiom a jeho kvalitu. Při fermentaci ve slepých střevech se jednak vytváří příznivé podmínky pro rozvoj mikrobiomu, ale také se metabolity fermentace mohou podílet na zvyšování využitelnosti energie z krmiva. Zařazení vlákniny do krmných směsí na úrovni optimalizace jednotlivých frakcí je tak i v souladu s koncepcí One health.

Z předběžné studie vyplývá, že přídavek arbocelu do směsi BR2 průkazně snížil retenci energie u brojlerových kuřat ve věku 15 a 22 dnů. Krmná aditiva ani věk neměli průkazný vliv na koncentraci organických kyselin mléčné, máselné a propionové ve slepých střevech. U koncentrace kyseliny octové byla zjištěna průkazná interakce mezi věkem a krmným aditivem. Ve věku 29 dnů byla průkazně nejvyšší koncentrace kyseliny octové u kontrolní skupiny v porovnání se všemi ostatními skupinami. Ve věku 22 dnů kuřat nebyly v koncentraci kyseliny octové mezi skupinami průkazné rozdíly.

12. Summary

Dietary fiber represents a part of the feed that cannot be digested by endogenous enzymes, significantly impacting the nutritional value of the feed. There are various methods available for its determination, but currently, it is common to use enzymatic-chemical-gravimetric methods, which provide information not only about the total content but also about its solubility and, for certain types of feeds, the main polysaccharides. The increased attention to fiber is justified in the context of strategies aimed at reducing antimicrobial substances in broiler production and in the production of antibiotic-free chickens. In addition to its significant influence on the development of the muscular gizzard and the subsequent increase in nutrient digestibility, fiber and its components directly affect the microbiome and its quality. Fermentation in the ceca creates favorable conditions for microbiome development, and fermentation metabolites can also contribute to increased energy utilization from feed. Including fiber in feed formulations at the level of optimizing individual fractions aligns with the concept of One Health.

Preliminary findings from the study indicate that the addition of arbocel to the BR2 mixture significantly reduced energy retention in broiler chickens at 15 and 22 days of age. Neither feed additives nor age had a significant impact on the concentration of lactic, butyric, and propionic acids in the ceca. A significant interaction between age and feed additive was observed in the concentration of acetic acid. At 29 days of age, the control group showed significantly higher concentrations of acetic acid compared to all other groups. At 22 days of age, there were no significant differences in acetic acid concentration between the groups.

13. Seznam literatury

Annison, G., Relationship between the levels of soluble nonstarch polysaccharides and the apparent metabolizable energy of wheats assayed in broiler chickens. J Agric Food Chem, 1991, 39: 1252-1256.

Annison E.F. et al., Volatile fatty acids in the digestive tract of the fowl. Br J Nutr, 1968, 22: 207-216.

Bach Knudsen, K.E., et al., The effect of fibres in feedstuffs on nutritioanl value and how to determine it. in Book of Abstracts ESPN, 2023, 40-44.

Bach Knudsen, K.E. and H.N. Lærke, Carbohydrates and lignin in the feed – from sugars to complex composed fibres, in Feed Evaluation Science P. Moughan and W. Hendriks, Editors. 2018, Wageningen Academic Publisher: Wageningen. 109-140.

Bautil, A., et al., Age-related arabinoxylan hydrolysis and fermentation in the gastrointestinal tract of broilers fed wheat-based diets. Poult Sci, 2019, 98: 4606-4621.

Classen, H., Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. Anim Feed Sci Technol, 1996, 62: 21-27.

Dhital, S., et al., Intactness of cell wall structure controls the in vitro digestion of starch in legumes. Food Function, 2016, 7: 1367-79.

Ducatelle, R., et al., Poultry gut health and beyond. Animal Nutrition, 2023 (in press)

Fisher, E.N., Interrelationship of diet fibre and endoxylanase with bacteria in the chicken gut. Ph.D. thesis, 2003, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.

Gasaway, W.C., Cellulose digestion and metabolism by captive Rock Ptarmigan. Comp Biochem Physiol A, 1976, 54A: 179-182.

Geirnaert A., et al., Butyricicoccus pullicaecorum, a butyrate producer with probiotic potential, is intrinsically tolerant to stomach and small intestine conditions. Anaerobe, 2014, 30: 70-74.

Hesselman, K. and P. Åman, The effect of beta-glucanase on the utilization of starch and nitrogen by broiler chickens fed on barley of low or high viscosity. Anim Feed Sci Technol, 1986, 15: 83-93.

Choct, M. and G. Annison, The inhibition of nutrient digestion by wheat pentosans. Br J Nutr, 1992, 67: 123-32.

Jamroz, D., et al., Digestibility and energy value of non-starch polysaccharides in young chickens, ducks and geese, fed diets containing high amounts of barley. Comp Biochem Physiol A, 2002, 131A: 657-668.

Jørgensen, H., et al., The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. Br J Nutr, 1996, 75: 379-95.

Jozefiak, D., et al., Dietary divercin modifies gastrointestinal micobiota and improves growth performance in broiler chickens. Br Poult Sci, 2011, 52: 492-499.

Jozefiak, D., et al., The effect of β-glucanase supplementation of barley- and oat-based diets on growth performance and fermentation in broiler chicken gastrointestinal tract. Br Poult Sci, 2006, 51: 546-557.

Jozefiak, D., et al., Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. Anim Feed Sci Technol, 2004, 113: 1-15.

Marounek et al., Effect of substrate and feed antibiotics on in vitro production of volatile fatty acids and methane in caecal contents of chickens. Anim Feed Sci Technol, 1999, 80: 223-230.

Michard, J. and Hubbard, M. Dietary fibre: the forgotten nutrient. International Poultry Production, 2011, 19.7: 25.

Nursiam, I., et al., A Meta-analysis of Fiber Ratio Effects on Growth Performance, Gastrointestinal Traits, and Nutrient Digestibility of Broiler Chickens. J World's Poult Res, 2022, 12.2: 77-84.

Oviedo-Rondón, E.O. Nutritional and feeding strategies for antibiotic-free poultry production, In Book of Abstracts ESPN, 2023, p. 30-31.

Pettersson, D. and P. Åman, Enzyme supplementation of a poultry diet containing rye and wheat. Br J Nutr, 1989. 62: 139-149.

Rychlik, I., Composition and function of chicken gut microbiota. Animals, 2020, 10: 103.

Steenfeldt, S., The dietary effect of different wheat cultivars for broiler chickens. Br Poult Sci, 2001. 42: 595-609.

Such, N., et al., Wheat bran supplementation increases the abundance of Akkermansia muciniphila whereas single strain probiotic Clostridium butyricum fails to influence caecal microflora composition of broiler chickens. Proceeding of the 18th BOKU symposium in animal nutrition, 2019, 189-192.

Weurding, R.E., et al., Starch digestion rate in the small intestine of broiler chickens differs

among feedstuffs. J Nutr, 2001, 131: 2329-35.