

12. Mezinárodní sympozium KONZERVACE OBJEMNÝCH KRMIV

Brno, 3.-5. dubna, 2006



Sborník vědeckých prací

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno
Slovenské centrum polnohospodářského výskumu, Nitra
Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves
NutriVet, Pohořelice
Medipharm CZ, Hustopeče u Brna

12. mezinárodní symposium

KONZERVACE OBJEMNÝCH KRMIV

BRNO, 3. – 5. dubna 2006

Organizační výbor:

Doc. MVDr. Josef ILLEK, DrSc.
Ing. Václav JAMBOR, CSc.
Prof. Dipl. Ing. Ladislav ZEMAN, Csc.
Prof. Doc. MVDr. Ing. Petr DOLEŽAL, CSc.
Prof. Ing. František HRABĚ, CSc.
Prof. Ing. Alexander SOMMER, DrSc.
Ing. Lubica RAJČAKOVÁ, Ph.D.
Ing. Václav KUDRNA, CSc.
Ing. Yvona TYROLOVÁ, CSc.
MVDr. Mirko TREU, CSc.
MVDr. Petr MIČAN

ISBN 80-7305-555-4

© **Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2006**

K vydání připravili:

V. Jambor, S. Jamborová, B. Vosynková, P. Procházka, D. Vosynková, D. Kumprechtová,

GENERÁLNÍ SPONZOŘI SYMPOSIA::



WWW.CHR-HANSEN.COM

SPONZOŘI SYMPOSIA:



WWW.LIMAGRAINCENTRALEEUROPE.COM

Kemira

WWW.KEMIRA.FI



WWW.ADDCON.DE

BIOFERM

WWW.BIOFERM.COM

NutriVet s.r.o.

WWW.NUTRIVET.CZ



WWW.MEDIPHARM.CZ



WWW.MIKROP.CZ



WWW.SCHAUMANN.CZ



WWW.AGRODIAGNOSTIK.CZ

DELACON
Phytogenic Feed Additives

WWW.DELACON.CZ



WWW.OSEVABZENEC.CZ

12. Mezinárodní symposium Konzervace objemných krmiv, Brno 2006

Obsah

Plenární práce

Mykotoxiny a pícniny.....	13
<i>J. Nedělník, H. Moravcová</i>	
Strategie minimalizace klostridií v silážích.....	25
<i>F. Weissbach</i>	
Mykotoxiny v krmivech a jejich vliv na zdraví zvířat.....	32
<i>J. Böhm</i>	
Botulotoxin a siláže.....	36
<i>H. Böhnel, B. Schwagerick, F. Gessler</i>	
Kapilární elektroforéza v analýze krmiv – využití analyzátoru IONOSEP.....	43
<i>F. Kvasnička</i>	
Nové technologie skladování a organizace uskladnění konzervovaných krmiv v USA.....	57
<i>B. J. Holmes</i>	
Problémy, které způsobují konzervovaná krmiva v Mexiku a USA.....	72
<i>E. Uribane, K.K. Bolsen</i>	
Redukce hub v silážích pomocí homofermentativních bakterií.....	83
<i>Ch. Ohlsson, K. Holmgren, K. Ström, T. Pauly, J. Schnürer</i>	
Výroba travních siláží a jejich využití v Kolumbii.....	86
<i>A. Uribe - Peralta</i>	
Výroba kvalitních siláží ke krmení koní.....	90
<i>P. Lingvall</i>	
Zdravotní rizika zkrmování nekvalitních siláží.....	101
<i>J. Illek</i>	
Konzervace zelené píce při použití ekologických přísad na území Polska.....	104
<i>J. Mikolajczak</i>	

Seznam dalších prezentovaných prací
plné znění (v anglickém jazyce) najdete na webových stránkách
www.12isfc.cz

Produkce píce

Kvalita lučních porostů v závislosti na úrovni hnojení a jejich vzájemné interakci

F. Hrabě, J. Svěráková a L. Rosická

Produkce, vytrvalost a kvalita bílkovinných píce v podmínkách České republiky.

A. Kohoutek, H. Jakešová a, P. Nerušil

Produkce a kvalita různých druhů trav určených pro extenzivní pastevní sezónu dojníc v podmínkách České republiky

P. Nerušil, A. Kohoutek, P. Komárek, V. Odstrčilová, J. Fiala a J. Pozdíšek

Vliv nedostatku srážek na výnos píce *Dactylis glomerata* L., *Dactylis polygama* Horvat, *Festuca arundinacea* L. a genové hybridy v dlouhodobých pokusech (1986-2004)

A. Kohoutek, V. Odstrčilová, P. Komárek, P. Nerušil a J. Fiala

Revitalization of biotope with stinging- (*Urtica dioica*) dominance in the Velká Fatra National park

J. Novák a R. Kostka

Produkce biomasy ranných hybridů kukuřice

P. Fuksa, J. Hakl, D. Kocourková a J. Kalista

Stanovení termínu první seče vojtěšky metodou Growing Degree Day

J. Hakl, J. Šantrůček, P. Fuksa, D. Kocourková a J. Kalista

Vliv doby sklizně a druhu trav na kvalitativní parametry biomasy určené k přímému spalování

D. Kocourková, J. Mrkvička, J. Hakl a P. Fuksa

Establishment of red clover (*Trifolium pratense*) stands with use of polymer seed coating

D. Hlavičková, M. Svobodová, J. Kalista a J. Hakl

Výživná hodnota a hygienická nezávadnost konzervovaných krmiv a jejich vliv na zdraví zvířat

Zdravotní rizika zkrmování nekvalitních siláží

J. Illek

Travní siláž sklizená řezačkou nebo do kulatých balíků pro výživu dojníc

Å. T. Randby

Sušení píce – studie příčin formace dioxinů

J. Mellmann, H. Schemel, Ch. Fürll, V. Scholz a T. Wiesmüller

Obsah strukturálních sacharidů a jejich vliv na degradovatelnost N-látek vojtěšky v různých stádiích fenofáze.

M. Chrenková, Z. Čerešňáková, A. Sommer a P. Flak

Vliv kyseliny octové, kapronové a tryptaminu na dobrovolný příjem train siláže u výkrmu býků.

S. Krizsan, Å. T. Randby a F. Westad

Nutriční hodnota kukuřičné siláže s různými dávkami dusíkem

M. Juráček, D. Bíro, B. Gálik, M. Šimko a O. Ložek,

Vývoj kvality a nutriční hodnoty rákosu sklizeného do kulatých balíků

Žurek H., Wróbel B.

Vliv různé úrovně manžmentu travních porostů na nutriční hodnotu a produkci živin

J. Pozdíšek, P. Mičová, M. Svozilová, M. Štýbnarová a J. Ržonca

Změny obsahu živin a fermentační process kukuřičné siláže v závislosti na kontaminaci kmenem *Fusarium*

L. Křížová, S. Hadrová, M. Richter a J. Třináctý

Porovnání a hodnocení kvality siláže vojtěšky v ČR v letech 1997 až 2005 a vliv sušiny na živinové ukazatele a proteolýzu

F. Mikyska

Degradovatelnost N-látek a obsah biogenních aminů siláže

A. Olt, O. Kart, H. Kaldmae a M. Ots

Uvolňování Ca, Mg a P z objemných krmiv v bachoru dojníc

Z. Čerešňáková, P. Flak, M. Chrenková a M. Poláček

Vliv rozdílného přídatku močoviny na kvalitu fermentačního procesu kukuřičné siláže

V. Pyrocha, P. Doležal, J. Doležal a I. Vyskočil, L. Kalhotka

Kvasinkový přípravek jako modular krmné dávky a jeho vliv na ukazatele bachorové fermentace

J. Doležal, P. Doležal, L. Zeman, V. Pyrocha a I. Vyskočil, L. Kalhotka

Časně, nebo normálně sklizená travní siláž pro dojnice chovaných v organických farmách

A. Steffen, A. Adler a Å. T. Randby

Technologie sklizně píce, konzervace a skladování

Zlepšení aerobní stability siláže lisovaných cukrovarských řízků vyrobených v plastových vacích v závislosti na konzervačním přípravku

U. Weber a E. Kaiser

Krimpované vlhké zrno ukladené do plastových vaků

A. Wagner, M. Matthiesen a W. Büscher

Vliv různé hustoty na fermentační proces a aerobní stabilitu širokovo - kukuřičnou siláž – vyrobenou v novém modelu uskladnění

S. Orosz, C. Marton, T. Ivacska a T. Luca Szócs

Měření hustoty siláže

H. Schemel, Ch. Fürll, M. Glaser, M., Tews a H. Richter

Aerobní stabilita širokovo-kukuřičné siláže

Z. Avasi, P.J. Szúcsné, I.K. Márki-Zayné a S. Korom

Stanovení silážovatelnosti semen hrachu (*Pisum sativum*) při sklizni před dozráním

E.M. Ott a A. Gefrom

Výhody mechanického narušení píce při sklizni

M. Polák a M. Jančová

Mikrobiologie a kontrola fermentačního procesu siláží

Laboratorní vybavení Chr. Hansen A/S: a použitelné nástroje výzkumu.

F.P. Rattray, A.H. Johansen a D. Seale

Ztráty sušiny silážované cukrové třtiny (*Saccharum officinarum* L.) ošetřené chemickými přípravky

M.C. Santos, L.G. Vo Nussio, P. Schmidt, L.J. Mari, D. Dep. Sousa, J.L. Ribeiro, O.C. Muller Queiroz, M. Zopillato, S. Gil de Toledo Filho a J.O. Sarturi

Vliv absorbentů a konzervačních aditiv na fermentační proces siláže z mláta

P. Doležal, L. Zeman, J. Doležal, V. Pyrochta a I. Vyskočil

Vliv některých biologických ořívoků na fermentaci a kvalitu GPS ječmene

L. Rajčáková a R. Mlynár

Použití probiotických přípravků při konzervaci siláže hrachu s podílem obilovin

J. Přikryl

Vliv aplikace biologických aditiv na kvalitu fermentace jetelové siláže

M. Gallo, L. Rajčáková a R. Mlynár

Kontrola klostridiální fermentace siláže při použití konzervačních přípravků na bázi mléčných bakteri

M. Holzer, E. Mayerhuber, W. Kramer a E. Mathies

Mikrobiální změny během skladování pivovarského mláta

L. Kalhotka, V. Pyrochta, J. Doležal, I. Vyskočil, P. Doležal

Vliv konzervačních přípravků na kvalitu jetelové a jetelotravní siláže

P. Lättemäe, U. Tamm a H. Kaldmäe
Stanovení silážovatelnosti vojtěšky a GPS tritikale při použití rychlé I vitro metody (Rostocker Fermentationstest)
A. Bickel, S. Hoedtke, M. Gabel, R. Bodarski, S. Krzywiecki a A. Pasternak
Hodnocení vlivu silážních přípravků na fermentační proces různých siláží trav
B. Osmane, J. Miculis, I. Ramane a A. Nikalovska
Aplikace chemických aditiv na konzervaci kukuřičného zrna s vysokou vlhkostí
R. Mlynár, L. Rajčáková a M. Gallo
Vliv fenofáze zralosti na podíl listů u vojtěšky a vliv aditiv na fermentační proces siláže
Y. Tyrolová a A. Výborná
Startovací kultury pro výrobu siláže na farmách – laciná alternativa
Ch. Idler
Vliv LAB – enzyme inokulantu na kvalitu a nutriční hodnotu travní siláže ve velkých balících
B. Wróbel a H. Jankowska-Huflejt
Vliv chemických aditiv na kvalitu cukrovarských řízků
L. Rajčáková, R. Mlynár a M. Gallo
Dynamika tvorby a charakteristika štav ze siláže pivovarského mláta
I. Vyskočil, P. Doležal, L. Zeman, J. Doležal, V. Pyrochta, L. Kalhotka

Mykotoxiny a pícniny

Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro zvířata

J. Nedělník, H. Moravcová

Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko

V posledních letech výrazně stoupá zájem odborné i laické veřejnosti o původ a kvalitu potravin, a s tím logicky roste i význam kvalitních krmiv. Do popředí se dostává také problematika časté přítomnosti mykotoxinů ve všech typech krmiv. Mykotoxiny jsou sekundární metabolity houbových patogenů s různou úrovní toxicity pro teplokrevné živočichy (včetně člověka), které mohou způsobovat zdravotní problémy a tím také ekonomické ztráty v chovech hospodářských zvířat.

V současnosti je popsáno téměř 400 druhů mykotoxinů produkovaných velmi širokým spektrem houbových patogenů, avšak pravidelně je kontrolován výskyt jen těch nejfrekventovanějších a neškodlivějších z nich. Mezi časté producenty těchto látek patří např. druhy rodů *Alternaria*, *Aspergillus*, *Ceratocystis*, *Fusicoccum*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Penicillium*, *Rhynchosporium*, *Stachybotrys*, aj. (Lew et al., 2001). Některé z výše uvedených druhů hub je možné nalézt na velmi širokém okruhu hostitelských rostlin v různých vývojových fázích. Je tedy patrné, že přítomnost jejich metabolitů je do určité míry nevyhnutelná (Salomonsson et. al., 2002, Palermo, 2002).

Toxinogenní houby se nacházejí prakticky po celém světě. Od vypuknutí tzv. nemoci „turkey-X“ ve Velké Británii (Blount, 1961) začalo být zřejmé, že mezinárodní obchod se surovinami pro krmiva usnadňuje přenos mykotoxinů z endemických regionů do oblastí s intenzivním farmářstvím. V současné době je kontaminace krmivářských komodit plísněmi a mykotoxiny považována za jeden z nejdůležitějších negativních faktorů v produkci plodin a kvalitě krmiv pro zvířata (Steyn 1998, Scudamore 1998).

Důsledky působení mykotoxinů na živočišný organismus jsou velmi různorodé v závislosti na typu toxinu, dávce a délce doby jeho působení, druhu, stáří, pohlaví a aktuálním zdravotním stavu jedince. Projevují se např. snížením imunity, alergickými reakcemi, poruchami reprodukce, poruchami nervové soustavy, dýchacího ústrojí, snížením konverze a využití krmiv či zvýšenou mortalitou v chovu. Mykotoxiny také poškozují sliznici střev, čímž omezují absorpci živin a dále zhoršují funkci jater, ledvin, reprodukčních orgánů a imunitního systému. Gastrointestinální absorpcí dochází k pronikání toxinů do krevního řečiště a do tělesných tkání. Poté, co jsou mykotoxiny zkonsumovány a absorbovány v zažívacím traktu, dostávají se do jater, kde dochází k jejich biologické transformaci. Za normálních okolností takováto biotransformace toxicitu škodlivých látek snižuje, v případě mykotoxinů však někdy dochází paradoxně k jejímu zvýšení a zlepšení schopnosti těchto látek pronikat do jedlých tělesných tkání. V porovnání s monogastry jsou přežvýkavci vůči některým mykotoxinům odolnější, protože jejich bachorová mikroflora tyto látky rozkládá a likviduje. Bachorové mikroorganismy jsou schopny některé mykotoxiny transformovat, např. transformace aflatoxinů řady B na M typ (Bertuzzi et al., 2003, Gimeno, Martins, 2002). Nejčastější dopad kontaminace krmiva mykotoxiny na živočišnou produkci je však subklinický. Prvotní dopad mykotoxinů na zdraví zvířat i lidí je imunosuprese a snížení efektivity řady metabolických procesů a tedy zvýšená citlivost k negativním faktorům prostředí (Danicke, 2001). Mykotoxiny mohou vést k akutní intoxikaci, ale především mohou narušit užitkovost zvířete tím, že snižují jejich hmotnostní přírůstek, konverzi krmiva a odolnost proti infekčním nemocem. Studie provedené s purifikovanými toxiny identifikovaly hlavní cílové orgány pro toxické účinky a byly publikovány detailní studie shrnující experimentální údaje pro všechny hlavní toxiny: aflatoxiny (Miller, Wilson 1994),

trichothecénů (Eriksen, Alexander 1998), deoxynivalenolu (Rotter et al. 1996), zearalenonu (Kuiper-Goodman et al. 1987) i fumonisinů (Marasas 1995).

Rešeršní studii o vlivu nekvalitních siláží na zdraví zvířat publikoval Wilkinson (1999). Rizika spojená se silážemi shrnul do tří kategorií: (1) kontaminující mikroorganismy – *Listeria*, enterobakterie, clostridia, plísně, (2) jejich chemické produkty tj. mykotoxiny a (3) vysokou kyselost a jiné metabolické zvraty. Další rozsáhlé studie na tato témata byly publikovány v roce 1998 (Scudamore, Livesey 1998) a v roce 2000 (Driehuis, Elferink 2000).

Nejčastěji se v krmivech rostlinného původu objevují tyto mykotoxiny: aflatoxiny, fumonisin, ochratoxin A, patulin, roquefortin C, zearalenon a mykotoxiny ze skupiny trichothecénů.

Aflatoxiny

Jedná se o látky produkované houbami *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*. Tyto houbové organismy jsou někdy označovány jako skladištní plísně. Rozlišují se tzv. aflatoxiny základní – B₁, B₂, G₁, G₂ a aflatoxiny odvozené – M₁, M₂, které vznikají konverzí v procesu trávení krmiv kontaminovaných aflatoxiny základními. Aflatoxin B₁ je jedním z nejsilnějších dosud popsaných přírodních karcinogenů.

Producenti aflatoxinů potřebují k životu relativně vysokou teplotu – jejich životní optimum je 28°C a také vysokou relativní vlhkost substrátu. Je známo, že pokud klesá vlhkost substrátu pod 12 %, životní cyklus patogena se zastavuje.

Aflatoxiny vykazují především toxický účinek na játra a ledviny. Vnímavé jsou všechny druhy hospodářských zvířat, především drůbež, mláďata a březí samice. Nejčastějšími příznaky intoxikace jsou nechutenství, gastroenteritidy, podkožní krvácení, krvácení z tělních otvorů a úhyny. Játra uhynulých zvířat jsou zvětšená, vykazují známky nekrotických změn.

Fumonisin

Fumonisin jsou skupinou mykotoxinů produkovaných druhy rodu *Fusarium*, konkrétně *F. moniliforme* a částečně *F. proliferatum* (Bezuidenhout et al., 1988, Gelderblom et al., 1988, Vesonder et al., 2000). Tito patogeni jsou izolováni nejčastěji na kukuřici a kukuřičných produktech. Fumonisin jsou relativně nejnebezpečnější pro koně, osly, prasnice a ovce, u kterých jsou jako důsledek příjmu kontaminovaného krmiva nejčastěji popsána závažná onemocnění typu leukoencefalomalácie (smrtelné onemocnění postihující mozek, játra a ledviny, projevuje se svalovým třesem, poruchami koordinace pohybů, vrávoravou chůzí, natažením nohou a krku až celkovým ochrnutím) a plicní edém. U drůbeže fumonisin vyvolávají tzv. syndrom toxicity krmiva. Ze zatím dostupných literárních údajů vyplývá, že skot je k mykotoxinům této skupiny relativně málo vnímavý (Marasas, 2001). Podle mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny Světové zdravotnické organizace (IARC-WHO) jsou fumonisin klasifikovány jako možné karcinogeny pro člověka (třída 2B). Fumonisin jsou strukturálně podobné sfingosinu a mohou uplatnit svou biologickou aktivitu v blokaci klíčových enzymů biosyntézy sfingolipidů.

Ochratoxiny

Produkce ochratoxinů A, B a C je popsána především u druhů *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum* a *P. verrucosum*. Ochratoxiny se v našich podmínkách vyskytují poměrně často, optimální životní podmínky jejich producentů jsou při teplotě 3 – 5°C a vlhkosti kolem 20%. Nejčastěji se s těmito mykotoxiny setkáváme v ječmeni, žitě, ovsu, pšenici, rýži a kukuřici (Palermo et al., 2002). Nejtoxičtější ochratoxin A má imunotoxické, teratogenní a karcinogenní účinky, způsobuje poškození ledvin, imunitního systému a poruchy trávení. Vnímavé jsou všechny druhy hospodářských zvířat, zejména

prasata, u kterých je v důsledku působení ochratoxinů popsána neuropatie prasat. Jedná se o onemocnění postihující ledviny a játra, která jsou zvětšená, bledá a mají nerovný povrch. Ochratoxin A přechází do masa.

Ochratoxiny jsou velice toxické také pro drůbež, naopak přežvýkavci jsou k těmto látkám rezistentní, jelikož v batoru dochází k jejich detoxikaci.

Patulin

Je produkován rody *Aspergillus* a *Penicillium* a velmi často bývá přítomen v ovoci a ovocných výrobcích a také v silážích. Nejčastější intoxikace jsou popsány u drůbeže, kde způsobují poškození centrální nervové soustavy, sleziny, jater, žaludku, ledvin a dýchacího ústrojí.

Roquefortin C

V souvislosti se silážemi jsou často diskutovány toxiny produkované *Penicillium roqueforti*. Tato houba se dokáže přizpůsobit podmínkám s nízkým pH (Muller, Amend 1997). Bez ohledu na toxicitu prokázanou při experimentálních studiích je jejich význam jako kontaminantů krmiv omezený pro jejich nízkou biologickou dostupnost při orálním podání, která brání klinické intoxikaci. Mohou však vyvolat nepříznivé účinky kvůli své známé antimikrobiální činnosti vedoucí k disbakterioze. Obzvláště citlivá je flora batoru a narušená syntéza mastných kyselin může vést až ke ketoze. Kukuřičné siláže z faremních sil ze severního Německa byly analyzovány z hlediska fermentačního procesu, obsahu plísní a přítomnosti mykotoxinů. Autoři mj. uvádí, že se zvyšující se sušinou silážní hmoty se snižoval množství volných mastných kyselin a rostl podíl vzorků s vysokým procentem plísnových propagul. Zvýšená sekundární kontaminace především *Penicillium roqueforti* spolu s *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Monascus* spp. vedla ke zhoršení kvality siláže (Auerbach et al. 1998).

Trichothecény

Do této největší skupiny mykotoxinů produkované houbami rodu *Fusarium* patří více než 140 popsaných látek. Nejdůležitějšími látkami jsou: deoxynivalenol, nivalenol, T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol apod. (Danicke 2002, Bottalico et al., 2002, Desjardins et al. 2001). Ohrožené jsou všechny skupiny zvířat (Eriksen, Pettersson, 2004).

Deoxynivalenol (vomitoxin-DON) – je patrně nejfrekventovanějším trichothecénem. K velmi citlivým zvířatům patří prasata. Postižená zvířata odmítají krmivo, zvrací a trpí průjmami, k dalším projevům intoxikace patří poruchy koordinace pohybů, hemoragie na sliznicích, aborty u březích samic či náhlý úhyn. Přežvýkavci jsou opět méně vnímaví, působení DON se projevuje např. snížením mléčné produkce, sníženou konverzí krmiva a průjmami. Z prováděných experimentů vyplynulo, že DON přechází do mléka jen velmi omezeně.

T-2 toxin (T2) – působí převážně kožní problémy, často se vyskytují krvácivá ložiska v oblasti hlavy a pohlavních orgánů zvířete. U prasat způsobuje nejčastěji poruchy reprodukce, u skotu sníženou imunitu telat, poruchy srážlivosti krve a hemoragie. T-2 toxin je známý svojí vysokou akutní toxicitou (Salomonsson et al., 2002).

Zearalenon - je dalším metabolitem mnoha druhů *Fusarium* a je v našich podmínkách velmi často obsažen v různých zemědělských produktech rostlinného původu. Závažné problémy v chovech hospodářských zvířat působí svými estrogenními účinky. Bývá označován jako „nesteroidní hormon“, mnoho problémů s reprodukcí v chovech je způsobeno právě tímto toxinem (Minervini et al., 2001). Blokuje funkci přirozených hormonů, způsobuje zvětšení vulvy, dělohy a vaječnicků, výhřezy pochvy a rekta, tvorbu folikulárních cyst, poruchy říje, plodnosti, vývoje plodu a podobně. Závažný je přechod tohoto mykotoxinu do mléka. Nejcitlivější jsou prasata, méně skot.

V souladu s cílem zajistit dobrý zdravotní stav a výkon zvířat, je základem produkovat siláže s vysokou výživnou hodnotou a dobrou hygienickou kvalitou. Nehledě na kontaminaci siláží nežádoucími nebo patogenními mikroorganismy, např. *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes* nebo *Escherichia coli* je výskyt vláknitých hub a jejich sekundárních toxických metabolitů (mykotoxiny) dalším významným faktorem podmiňujícím v mnoha případech horší výkon a zdravotní potíže dobytka. Zároveň je ale nutné konstatovat, že ve srovnání s obilovinami či proteinovými krmnými materiály je úroveň znalostí o těchto mikroorganismech a jejich metabolitech v silážích a jejich efektech na zdravotní stav zvířat a kvalitu živočišných produktů stále nízká.

Vláknité houby a mykotoxiny v silážích Primární kontaminace

Velká část mykotoxinů analyzovaných v silážích je vyprodukována již během vegetace před sklizní a uskladněním. Patogenní mikroorganismy, především zástupci rodu *Fusarium* byly izolovány ze všech částí rostlin. Houby pronikají do hostitelských pletiv přes kořen, stonek, listy nebo také prostřednictvím vektorů, např. nematod. V průběhu fytopatogenního procesu dochází ke kontaminaci hostitelských rostlin mykotoxiny, které jsou v tomto období již detekovatelné. Obsah mykotoxinů narůstá v posledních týdnech před silážní zralostí, přičemž napadení je častější na odumřelých pletivech. Maximální úrovně obsahu toxinů jsou zaznamenávány v období sklizně a dále se významněji nemění.

Některé trichothece (např. DON a ZEA) byly nalezeny v travách v koncentracích přibližně 2 mg/kg. Silážní kukuřice také obsahovala DON a ZEA v různém množství, a to v rozpětí od 0,005 do 13,75 mg/kg. Incidence těchto mykotoxinů a jejich koncentrace byly zřetelně ovlivněny analyzovanou částí rostliny. Bylo zajímavé, že palice obsahovaly méně ZEA a v nižších koncentracích ve srovnání se stonky. Byla zaznamenána statisticky významná korelace mezi úrovní sušiny při sklizni a obsahem ZEA. U silážní kukuřice byla zaznamenána také přítomnost OTA. Gotlieb (1997) shrnul výsledky mnoha studií v USA, indikujících vysokou incidenci DON v silážích na úrovni až kolem 3 mg/kg. V Německu byly ZEA, DON a OTA nejčastěji izolovány ze siláží vyrobených z celých rostlin kukuřice. Koncentrace v silážích se pohybovala mezi 33 a 51 ppb u ZEA, 673-4297 ppb u DON a 17-37 ppb u OTA. Travní a kukuřičné siláže mohou být kontaminovány množstvím trichothece a zearalenonem. Obsahy mykotoxinů byly zaznamenány v nižším rozptylu.

Whitlow a Hagler (2002) analyzovali kukuřičné siláže z farem v Severní Karolíně a prokázali celou řadu toxických houbových metabolitů. Střední koncentrace pro AFL, DON, ZEA a T-2 toxin byly 28 ppb, 525 ppb, 1991 ppb, resp. 569 ppb. Často byly také nalezeny fumonisiny.

Změny v obsahu mykotoxinů pocházejících z primární kontaminace během fermentace

Změny mykotoxinů pocházejících z fytopatogenního procesu v procesu silážování nejsou stále zcela objasněny. Nicméně je prokázáno, že většina těchto metabolitů vykazuje vysokou stabilitu v silně kyselém prostředí. V průběhu fermentace kukuřičné siláže nebyl pozorován pokles koncentrací ZEA a DON (Lepom et al. 1990). V sérii laboratorních pokusů se silážováním trav a kukuřice nebyl nalezen žádný podstatný efekt fermentace na obsah DON. Spodní hranice koncentrace pro tento mykotoxin byla 570 ppb, a po prodloužené době fermentace byla zjištěna průměrná koncentrace DON 620 ppb. Lindenfelser a Ciegler (1970) studovali změny v obsahu aflatoxinů během silážování a našli jen malé nebo vůbec žádné snížení koncentrace obsahu těchto látek po 26 dnech skladování. Neúčinnost aflatoxinů popisovaná některými autory může být vysvětlena

působením organických, především mléčných kyselin. Účinek byl silně závislý na koncentraci a periodách použití.

Dynamika růstu hub během fermentace a po otevření siláží

Růst vláknitých hub (plísní) je determinován množstvím faktorů, které ovlivňují konečné složení mykoflóry siláží. Nejdůležitější faktory jsou teplota, složení atmosféry, vlastnosti substrátů zahrnující vlhkost, vodní aktivitu, pH a chemické složení, stejně jako biotické faktory (přítomnost hmyzu, obratlovců a ostatních mikroorganismů).

Populace vláknitých hub prodělávají nepřetržité významné změny mezi obdobími vegetace před silážováním až po otevření hotové siláže. Stěžejní roli ve změně mykoflory během prvních fází silážování hraje dostupnost kyslíku. Jakmile se v počáteční fázi fermentace vytvoří anaerobní prostředí, *Fusarium spp.* nemohou delší dobu přežít. Stejně tak brzy odumírají *Alternaria spp.* a *Cladosporium spp.* Je tedy zřejmé, že případné opožděné uzavření siláže může mít za následek vzrůst počtu houbových propagujících v silážích v počátečních fázích uskladnění.

Dle klasifikace vláknitých hub v silážích na základě jejich tolerance k deficitu kyslíku, jsou druhy rodu *Fusarium* přísně aerobní. Mezi tolerantní plísně řadí *Aspergillus fumigatus*, některé *Mucorales* a *Penicillium*, stejně jako *Monascus ruber*. Některé další druhy např. rodu *Mucor* nebo *Penicillium varioti* a *P. roqueforti* jsou považovány za indiferentní ve vztahu k přítomnosti kyslíku.

V sériích pokusů na rostlinách kukuřice Auerbach et al. (2000) ukázal pokračující snižování počtu nativních houbových propagulí, když byl materiál od začátku uskladněn v anaerobních podmínkách. Přístup vzduchu v počátečních fázích fermentace měl za následek růst některých druhů plísní dříve než jejich počet začal klesat. Jediným druhem vláknitých hub nalezeným v životaschopném stavu i po 60 dnech uskladnění byl *Penicillium roqueforti*. Na druhou stranu, permanentní přítomnost kyslíku nesnížila během celého zkušebního období množství hub.

Dalším faktorem ovlivňujícím sukcesi mikroorganismů během fermentace jsou změny pH způsobené přirozenou produkcí organických kyselin (mléčná, propionová aj.). Ačkoliv úroveň pH výrazně neovlivňuje vláknité houby, které mohou růst nebo zůstat v latentní fázi při širokém rozpětí pH od 3 do 8, kolísání mezi těmito hodnotami může mít vliv na jejich citlivost vůči ostatním okolním faktorům. Odolnost houbových organismů vůči organickým kyselinám je rozdílná mezi rody a druhy. Mléčná kyselina nemá většinou žádné negativní účinky na rozdíl od kyseliny propionové, která je možným inhibitorem plísní.

Růst vláknitých hub je možný také během odebrání krmiva, kdy je siláž znovu okysličována. Kyslík umožňuje růst vláknitých hub, jestliže ostatní faktory, jako jsou teplota, obsah organických kyselin, složení substrátu a konkurenční organismy neomezují jejich vývoj. Všechny micro-aerofilní druhy mají tu výhodu, že se mohou začít prudce množit při nízkých koncentracích kyslíku a relativně vysokých koncentracích oxidu uhličitého. Experimentálně bylo prokázáno, že např. *P. roqueforti* potřebuje pro růst minimální koncentraci kyslíku 4,2%, pokud koncentrace CO₂ nedosahuje 80%.

Mykoflora hotových siláží

Při analýze mykoflóry z 1230 vzorků hotových kukuřičných siláží z francouzských a italských farem bylo izolováno téměř 70 druhů hub. *Penicillium roqueforti* byl dominantním druhem nalezeným v 76% vzorků. Výskyt rodů *Monascus*, *Aspergillus*, *Byssosclamyces* a *Paecilomyces* byl 31%, 21%, 41%, respektive 27%. Hojně byly také zastoupeny *Mucoraceae*. Mykologické rozbory vzorků z 98 travních siláží a 135

kukuřičných siláží shromážděných během let 1997 a 1998 v jižním Německu prokázaly také dominanci tří hlavních druhů. *P. roqueforti* byl objeven ve 30% vzorků a *M. ruber* a *A. fumigatus* byly přítomny v 19% a 9% siláží. V Rakousku bylo ve vzorcích 455 travních a kukuřičných siláží analyzováno spektrum vláknitých hub, převládala v 53.6% *P. roqueforti*, *B. nivea*, *A. glaucus* a *M. ruber* (Adler 1993).

Proměnlivé výsledky výzkumu mykoflóry v silážích, s ohledem na přítomnost, četnost a dominanci určitých druhů hub, mohou být připisovány mnoha faktorům. Vliv mohou mít metody používané pro laboratorní analýzy vláknitých hub, inkubace v anaerobním nebo aerobním prostředí ovlivňuje rozsah pěstovaných druhů. Důležitou roli hraje také teplota a složení růstových medií. Výsledky některých studií také naznačují, že populace hub se mohou lišit podle typu siláže. Rozmanitější mykoflóru byla popsána v travních než kukuřičných silážích.

Formování mykotoxinů v silážích

Zjištění vláknitých hub v silážích není definitivním důkazem přítomnosti mykotoxinů. Stejně jako u výše popisovaného růstu hub, je také formování mykotoxinů ovlivňováno množstvím faktorů prostředí. Stejně jako všechny druhy daných rodů plísní nejsou schopné tvořit mykotoxiny, tak vývoj toxinogenních druhů v silážích je předpokladem pro produkci toxických metabolitů v těchto krmivech. Ačkoli produkce mykotoxinů formovaných *in vitro* v umělých podmínkách se ukazuje být společnou charakteristikou mezi druhy izolovanými ze siláží, ne vždy tato data koreluje se skutečností *in situ*.

Když po otevření siláže pronikne vzduch, může být zahájen růst plísní a produkce mykotoxinů. Bylo prokázáno, že *P. roqueforti* a *A. fumigatus* v travních a kukuřičných silážích mohou formovat ve výrazných koncentracích roquefortine C, stejně jako verruculogen a fumitremorgen B. Je velmi pravděpodobné, že typ dosažitelných uhlíkových zdrojů a jejich využitelnost může lépe podporovat růst *P. roqueforti* a formování roquefortinu C v kukuřičných silážích ve srovnání s travní siláží. Tyto siláže mají často přebytek cukru a plísně rostou dvakrát rychleji na cukrech jako na produktech fermentace

Odběr vzorků

Stanovení mykotoxinů v krmivech či jiných komoditách je poměrně nákladná záležitost. Je třeba zajistit, aby takové vyšetření mělo co nejvyšší vypovídací schopnost. Maximální pozornost je proto třeba věnovat nejen vlastnímu analytickému stanovení, ale také vzorkování a přípravě vzorků pro analýzu. Výsledky analýz mohou být bezcenné, pokud vzorek nebyl dostatečně reprezentativní pro celou šarži a navážka vstupující do testu dostatečně reprezentativní pro daný vzorek. Chybné vzorkování materiálu a odběr poměrného vzorku z celkového odebraného vzorku tvoří dle mnohých autorů většinou přes 90% celkové chyby mykotoxinové analytiky. Důležitost správného vzorkování testované šarže pro přesný výsledek je dána dvěma typickými vlastnostmi kontaminace mykotoxiny: nízkou koncentrací těchto látek v dané komoditě a jejich nerovnoměrným rozložením. Pravděpodobnost záchytu kontaminace je možno zvýšit pouze zvýšením objemu jednotlivých vzorků a zvýšením jejich počtu – odběr z co nejvíce míst silážní jámy. Jen pro ilustraci výskytu mykotoxinů v nízkých koncentracích jsou uvedeny některé srovnávací příklady. Průměrný výskyt mykotoxinů se uvádí v jednotkách mg/kg tj. ppm (parts per milion) nebo µg/kg tj. ppb (parts per bilion). Pro srovnání, jak nepatrná je to koncentrace několik příkladů:

1 mg/kg = 1 ppm – v 1 kg pšenice je asi 30000 zrn, 1 zrno ve 30 kg představuje 1 ppm.

1 µg/kg = 1 ppb – 1 zrno kukuřice ve 3,5 vagónech.

Odběr vzorku je definován jako odebrání určitého množství materiálu z celku pro test tak, aby výskyt a množství testovaných látek ve vzorku odpovídalo výskytu a množství v celku. Odběr vzorků na mykotoxiny ze silážních jam musí sestávat z odebrání množství siláže a jejich promíchání do průměrného vzorku. Pro otevřené silážní jámy s kukuřičnou siláží doporučujeme z čela silážní stěny odebrat ve třech horizontálních úrovních vždy po třech vzorcích o průměrné hmotnosti 1,5 kg, tedy celkem získat 4,5 kg vzorek. Tento průměrný vzorek je třeba důkladně homogenizovat, případně mechanicky upravit velikost částic. Poté se odebere proporcionalní analytický vzorek o hmotnosti 1 kg a z něho vlastní 100g vzorek + o stejné hmotnosti vzorek záložní. Vzorky se uloží ihned po odběru do mrazáku do teploty -20°C pro další zpracování. Zamražení vzorků je důležité proto, aby nedošlo během skladování k další produkci toxických látek metabolizujícími mikroorganismy. Samozřejmě, že ideální je analyzovat obsah mykotoxinů ihned po odběru vzorků, ale z provozních důvodů to není většinou možné.

Analytické stanovení obsahu mykotoxinů

Pro stanovení mykotoxinů jsou využívány různé analytické postupy. Jednou skupinou jsou chromatografické analýzy (TLC, GC, HPLC), skupinou druhou, která je vhodná pro screeningová stanovení je imunoenzymatická analýza pomocí ELISA metod. V současné době jsou k dispozici na tuzemském trhu ELISA soupravy od dvou zahraničních výrobců. Principiálně se neliší, určité odlišnosti jsou ve spektru nabízených analytů pro jednotlivé toxiny a v citlivosti (ppm, ppb). Testovací soupravy obsahují základní sadu reagensů včetně ředící řady standardů. Přesnější výsledky dávají soupravy, kde se výsledky odečítají na spektrofotometru při určité vlnové délce procházejícího světla (kvantitativní stanovení). Orientační výsledky lze získat použitím tzv. FAST testů, kde výslednou barevnou reakci odečítá laboratorní personál vizuálně. Tyto testy dávají semi-kvantitativní výsledky - méně, shodně nebo více než zvolený standard. Tyto testy trvají bez přípravy vzorku cca 20 minut.

Přesto, že ELISA stanovení obsahu mykotoxinů je instrumentálně méně náročné než většina chromatografických postupů, i zde je třeba mít v laboratoři některá nezbytná zařízení, pomůcky a chemikálie.

Obsahy mykotoxinů v silážích – ČR

Mykologická a mykotoxikologická laboratoř Výzkumného ústavu pícninářského spol. s r.o. Troubsko se od roku 2002 zabývá studiem hygienické kvality různých typů rostlinných krmiv pro hospodářská zvířata. Kromě jiných hodnocení (obsah živin, smyslová hodnocení, celkový počet nativních kolonií kvasinek a plísní) jsou prováděny také testy na přítomnost a koncentraci mykotoxinů.

V letech 2002 a 2003 bylo testováno 65 vzorků různých konzervovaných materiálů na přítomnost a koncentraci pěti nejčastějších a nejzávažnějších mykotoxinů: aflatoxiny, deoxynivalenol, fumonisiny, T-2 toxin a zearalenon. Vzorky pocházely z podniků severní a jižní Moravy. Pro analýzy mykotoxinů byla použita ELISA metoda.

V níže uvedené tabulce jsou uvedeny průměrné záchyty jednotlivých mykotoxinů ve vzorcích testovaných druhů krmiv.

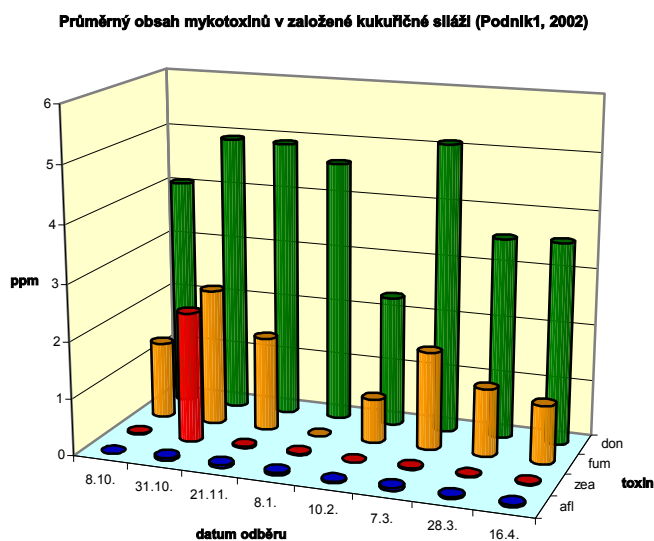
Tab.: Průměrné koncentrace mykotoxinů v sušině různých typů krmiv / ppm

	AFL	T2	FUM	DON	ZEA	Procento pozitivních vzorků
vojtěšková siláž	0,0035	0,176	0,050	0,500	0,577	100
kukuřičná siláž	0,0014	0,260	1,870	0,960	1,377	96
jetelotravní siláž	0,0028	0,242	0,470	0,630	0,179	100
travní siláž	0,0024	0,207	1,110	0,550	1,197	93
GPS ječmen	0,0024	0,163	1,130	1,370	0,500	100

Je patrné, že přítomnost mykotoxinů ve všech typech krmiv rostlinného původu je realitou. Z výsledků analýz vyplývá, že z hlediska obsahu mykotoxinů jsou nejvíce problematické kukuřičné siláže. Naproti tomu jetelotravní a vojtěškové siláže byly těmito škodlivými látkami kontaminovány nejméně ze všech testovaných druhů krmiv. Primárním zdrojem kontaminace je napadení hostitelských rostlin patogenními organismy již v průběhu vegetace. Během sklizňového a konzervačního procesu se již obsah mykotoxinů výrazněji nemění s výjimkou látek produkovaných *Aspergillus* spp. či *Penicillium* spp., kdy v průběhu skladování může ještě dojít k sekundární infekci a následné tvorbě těchto látek. Zajímavý je záchyt fumonisinů u travních siláží. Tento typ mykotoxinů byl zatím popisován především z kukuřice, ale zřejmě zde může existovat vazba mezi produkujícími druhy *Fusarium* spp. a dalšími jednoděložnými druhy hostitelů.

Často je kladena otázka jak se mění obsah mykotoxinů např. v průběhu silážování. Následující graf demonstruje na kukuřičné siláži založené v roce 2003 obsah deoxynivalenolu a dalších mykotoxinů v průběhu silážovacího procesu. Vzorky pro analýzy byly odebírány z horní části silážního žlabu vždy ve 3-4 týdnech intervalech. Z grafu je patrné, že pokud jsou mykotoxiny přítomny již v naskladňované hmotě jejich obsah se v průběhu silážování nijak výrazně nemění a co je hlavní, nedochází ke snižování. Spíše naopak a to v případě, že by siláž byla nekvalitně založena a došlo by k sekundární kontaminaci houbovými mikroorganismy.

Graf: Změny v obsahu vybraných mykotoxinů v kukuřičné siláži v průběhu silážování – příklad jednoho ze sledovaných podniků



Vedle VÚP Troubsko probíhají analýzy mykotoxinů také ve Státním veterinárním ústavu v Jihlavě, které je akreditovaným pracovištěm pro analýzu vybraných mykotoxinů. Souhrnné výsledky monitoringu z let 2000-2002 byly prezentovány na semináři pořádaném SZÚ Brno pod názvem Mykotoxiny a toxinogenní mikromycety v potravinách (Honzlová, 2003) ve sborníku SZÚ Brno, říjen 2003). V laboratoři SVÚ Jihlava bylo analyzováno široké spektrum vzorků krmiv na obsah DON, ZEA, T-2 a FUM. Z monitoringu krmiv na obsah DON vyplynulo, že např. v roce 2000 z 48 vzorků úsušků píce bylo 48 pozitivních s průměrným záchytem 1,61 mg/kg, u sena ze 3 vzorků byly 2 pozitivní s průměrem 0,35 mg/kg. V roce 2002 bylo analyzováno na obsah DON mj. 7 vzorků kukuřičné siláže, všech 7 bylo tímto toxinem kontaminováno s průměrem 0,93 mg/kg. Při analýze obsahu ZEA bylo ze zmiňovaných 48 vzorků úsušků píce 44 pozitivních s průměrem 0,19 mg/kg, u kukuřičných siláží bylo opět všech 7 vzorků pozitivních s průměrným záchytem 1,01 mg/kg. U T-2 toxinu byla u kukuřičné siláže průměrná kontaminace 0,32 mg/kg. Na obsah těchto tří mykotoxinů byly kromě zmíněných objemných krmiv analyzovány také cukrovarnické řízky, šrot pšenice, řepky, vojtěšky, KS, pokrutiny apod. Také kolegové ze SVU konstatují, že např. na obsah DONu jsou velmi problematické vedle krmných směsí pro prasata především siláže a senáže a z krmných surovin jsou nejvyšší koncentrace zaznamenávány u pšenice a kukuřice.

Hygienické limity

Na rozdíl od potravin chybí ve většině evropských států pro jednotlivé mykotoxiny a jednotlivé kategorie zvířat a krmiv maximálně přípustné koncentrace. Používá se proto srovnání zjištěných výsledků s doporučenými limity publikovanými ve Spojených státech. Pro zearalenon pro všechna krmiva a kategorie zvířat je limit 0,5 mg/kg, T-2 toxin je limitován obdobně, pro fumonisin je maximálně přípustná hranice 5 mg/kg. U deoxynivalenolu je specifikováno několik kategorií, např. pro skot je hranice 10 ppm v méně než 50% krmiva, pro prasata 5 ppm.

Opatření

Základem pro výrobu kvalitních objemných krmiv nekontaminovaných mykotoxiny je integrovaný systém pěstování rostlin s vhodně volenými prvky ochrany rostlin a dodržováním zásad správné zemědělské praxe. (GAP – good agricultural practice). Patří sem především volba optimálního stanoviště pro pěstovanou plodinu, výběr vhodné odrůdy pro konkrétní pěstitelskou oblast, harmonická výživa či přiměřená pesticidní ochrana proti houbovým chorobám a hmyzím škůdcům, kteří svojí činností vytvářejí vstupní bránu pro patogeny produkující toxické látky (některé mykotoxiny jsou již v malém množství výrazně toxičtější než rezidua běžně používaných pesticidů). Velmi důležitá je také dobře načasovaná a provedená sklizeň plodiny a neprodlené a správné silážování. Stále se v některých provozech setkáváme s nedostatečnou přípravou čerstvé silážní hmoty (řezání na optimální velikost částic) a také s nedokonalým udusáním a vytěsněním vzduchu u naskladněné siláže. Dalším z častých problémů zhoršujících kvalitu siláží bývá jejich nedostatečné a nedokonalé zakrytí umožňující přístup vzduchu a sekundární kontaminaci houbovými patogeny. Samostatnou kapitolou je dobře organizovaný odběr hotové siláže. I zde při špatném otevření a nekompaktním odběru může docházet k sekundární kontaminaci. Riziko nadměrného růstu houbových mikroorganismů a následné tvorby mykotoxinů např. u skladovaných krmiv lze do určité míry snížit aplikací tzv. „protiplísňových“ přípravků. Hlavními součástmi uvedených přípravků jsou kyseliny a látky snižující korozivnost přípravku a naopak zlepšující mechanické vlastnosti krmiv. Nejčastěji se v těchto přípravcích objevuje kombinace

organických kyselin a esenciálních olejů či jiných látek, které jsou účinné proti širokému spektru houbových organismů, zlepšují sypkost naskladněných krmiv a mají sníženou korozivnost. Pokud ale v dané komoditě (krmivu, siláži apod.) jsou již mykotoxiny přítomny, efekt těchto „protiplísňových“ přípravků je nulový. V této fázi musíme hovořit o možnostech vyvázání mykotoxinů, což je nepoměrně složitější. Eliminace mykotoxinů, především v našich podmínkách nejrozšířenějších fusariotoxinů, je komplikována nízkou polaritou jejich molekul a tím i omezenou možností adsorpce, která je navíc málo stabilní. Na vyvázování mykotoxinů se donedávna používaly přípravky na bázi jílu, které selektivně adsorbují polární mykotoxiny (aflatoxiny, částečně ochratoxin). Adsorpční složkou jsou speciálně upravené aktivované hlinitokřemičitany s krystalickou strukturou. Velikost pórů v krystalické struktuře zajišťuje selektivitu účinku pouze na žádanou velikost molekul a rozmístění polárních skupin. Adsorpce je však možná pouze u molekul, které mají funkční polární skupiny. Adsorbované mykotoxiny nemohou být vstřebány přes střevní stěnu do krve, procházejí trávicím traktem zvířete a v trusu ven z těla. V současnosti je do těchto přípravků inkorporována inaktivovaná biomasa *Sacharomyces cerevisiae* se zachovanou enzymatickou aktivitou esteráz a epoxidáz. Tyto enzymy degradují molekuly trichothecenu a zearalenonu na netoxické metabolity, které jsou opět vyloučeny přirozenou cestou ze zvířete. Tyto přípravky se míchají do krmiva jako prevence. Aplikace např. do silážované hmoty se zatím neprovádí (Visconti et al., 2000, Dvorska, Surai, 2001, Smith et al., 2001).

Při důsledném dodržování všech výše zmíněných doporučení bude jistě možné udržet hladinu nežádoucích mykotoxinů v krmivech na únosné úrovni, a také ekonomické ztráty v chovech hospodářských zvířat způsobené účinky těchto látek budou minimalizovány.

Uvedené výsledky byly získány při řešení projektů QE0040 a QD1056 podporovaných MZe ČR.

Literatura:

- Adler, A.** (1993): In: BAL-Bericht über die österreichweite Silagetagung vom 13./14. Januar 1993. Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft, Gumpenstein, Austria, pp. 45-53.
- Auerbach, H., Oldenburg, E., Weissbach, F.** (1998): Incidence of *Penicillium roqueforti* and roquefortine C in silage. Journal of the Science of Food and Agriculture 76, 565-572.
- Bertuzzi T. et al.** (2003): Aflatoxin residues in milk of sows fed a naturally contaminated diet. Italian Journal of Animal Science, 2, Suppl. 1, 234 – 236.
- Bezuidenhost, S.C. et al.** (1988): Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. J. Chem. Soc. Chem. Commun. 743 – 745.
- Blount, W.P.** (1961): Turkey „X“ disease. Turkey 9, 52.
- Bottalico, A. et al.** (2002): Toxicogenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small grain cereals in Europe. European Journal of Plant Pathology, 108: 7, 611 – 624.
- Chamley, L.L., Trendholm, H.L., Prelusky, D.B., Rosenberg, A.** (1995): Economis losses and decontamination. Natural Toxins 3, 199-203.
- Danicke, S.** (2002): Effect of *Fusarium* toxin contaminated wheat grainn and of detoxifying agent on ruman physiological parameters and in sacco dry matter degradation of wheat straw and lucerne hay in wethers. Journal of Animal and Feed Science, 11: 3, 437 – 451.
- Danicke, S. et al.** (2001): Effects of mycotoxin contaminated wheat and detoxifying agent on the performance of pigs and digestibility of nutrients. Vitamine und Zusatzstoffe in der

- Ernahrung von Mensch und Tier. 8. Symposium, 26.und 27. September, 2001, Jena Thuringen, Germany, 473-476.
- Desjardins, E.A. et al.** (2001): Biochemistry and genetics of Fusarium toxins. Fusarium:Paul E. Nelson Memorial Symposium. 50-69. PB: American Phytopathological Society (APS Press); St. Paul; USA.
- Driehuis, F., Elferink, F.** (2000): The impact of the duality on snimal health and food safety: A review. Veterinary Quarterly 22, 212-216.
- Dvorska, J.E., Surai, P.F.** (2001): Effects of T-2 toxin, zeolite and mycosorb on antioxidant systems of growing quail. Asian-Australasian-Journal-of-Animal-Sciences, 14: 12, 1752-1757.
- Eriksen, G.S., Alexander, J.**(1998): Fusarium toxin in cereals – a risk assesment. Nordic Council of Ministr, Thema Nord 502, Kopenhagen, Denmark.
- Eriksen, G. S., Pettersson, H.** (2004): Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science & Technology* 114, p205.
- Gelderblom, W.C. et al.** (1988): Fumonisin – novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. Appl. Environ. Microbiol., 44, 1806 – 1811.
- Gimeno, A., Martins, M.L.** (2002): Contaminants of milk and its derivates. Aflatoxin M1 and other mycotoxins control and recommandations. Albeitar 53, 52 – 54.
- Gotlieb, A.** (1997): In: Proceedings from Silage: Field to feedbunk North American Conference. February 11-13 1997, Hershey, Pennsylvania. Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Ithaca, New York, pp. 213-220.
- Honzlová,** (2003): In: Mykotoxiny a toxinogenní mikromycety v potravinách. Sb. SZÚ Brno, říjen 2003.
- Kuiper-Goodman, T.** (1987): Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. Regulatory Toxicology and Pharmacology 7, 253-306.
- Lepom, P., Knabe, O., Baath, H** (1990): Occurrence of *Fusarium* species and their mycotoxins in maize – formation of deoxynivalenol (DON) in a maize plotartificially inoculated with *Fusarium culmorum* and the influence of ensilaging on the stability of DON formel. Archiv fur Tierenahrung 40, 1005-1012.
- Lew, H. et al.** (2001) : Occurrence of toxigenic fungi and related mycotoxins in plants, food and feed in Austria. In: Occurrence of toxigenic fungi, Cost Action 835, European Commission 2001, 3- 12.
- Lindenfelser, L.A., A. Ciegler** (1970): J. Agric. Food. Chem. 18:640-643.
- Marasas, W. F.** (1995): Fumonisin: their implications for human and animal health. Natural Toxins 3, 193-198.
- Marasas,W.F.O. et al.** (2001): Fumonisin - occurrence, toxicology, metabolism and risk assessment. Fusarium:Paul E. Nelson Memorial Symposium. 2001, 332-359.
- Miller, D.M., Wilson, D.M.** (1994): Veterinary diseases related to aflatoxins. In: Eateon, D.L. and Groopman, J.D. (eds) The toxicology of aflatoxins. Pp. 347-364. Academic Press Inc. San Diego – New York.
- Muller, H.,M., Amend, R.** (1997): Formation and disappearanceof mycophenolic acid, patulin, penicillic acid and PR toxin in maize silage inoculated with *Penicillium roqueforti*. Archiv Tierernahrung 50, 213-225.
- Minervini, F. et al.** (2001): Toxic effects of the mycotoxin zearalenone and its derivatives on in vitro maturation of bovine oocytes and 17beta-estradiol levels in mural granulosa cell cultures. Eleventh International Workshop on In Vitro Toxicology, Pueblo Acantilado, El Campello (Alicante), Spain, 25-28 October 2000. Toxikology in Vitro,15, 4-5, 489-495.
- Palermo, D. et al.** (2002): Occurence of ochratoxin A in cereals from Publia (Italy). Italian Journal of Food Science, 14: 4, 447 – 453.
- Rotter, B.A., Prelusky, D.B., Pestka, J.J.** (1996): Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). Journal Toxicology Environmental Health 48, 1-34.

- dos Santos, V.M., Dorner, J.W., Carreira, F.** (2003): Isolation and toxinogenicity of *Aspergillus fumigatus* from moldy silage. *Mycopathologia* 156, 133-138.
- Salomonsson, A. C. et al.** (2002): *Fusarium* mycotoxins in feed grain – examples from two years. *Svensk-Veterinartidning*, 54: 16, 797 – 802.
- Scudamore, K.A., Nawaz, S., Hetmanski, M.T.** (1998): Mycotoxins in ingredients of animal feedstuffs: II. Determination of mycotoxins in maize and maize products. *Food Additives and Contaminants* 15, 30-55.
- Scudamore, K.A., Livesey, C.T.** (1998): Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77, 1-17.
- Smith, T.K. et al.** (2001): The threat to animal performance from feed and forage mycotoxins. *Feed-Compounder*, 21: 4, 24-27.
- Steyn, P.S.** (1998): The biosynthesis of mycotoxins. *Revue de Médecine Vétérinaire* 149, 469-478.
- Vesonder, R.F. et al.** (2000): Toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolated from dairy cattle feed produce fumonisins, moniliformin and a new C₂₁H₃₈N₂O₆ metabolite phytotoxic to *Lemna minor* L.. *Journal of Natural Toxins*. 9: 2, 103-112.
- Visconti, A. et al.** (2000): Strategies for detoxification of *Fusarium* mycotoxins and assessing in vivo the relevant effectiveness. The BCPC Conference: Pests and diseases, Volume 2. Proceedings of an international conference held at the Brighton Hilton Metropole Hotel, Brighton, UK, 13-16 November 2000, 721-728.
- Yu, W.J., Yu, F.Y., Undersander, D.J., Chu, F.S.** (1999): Immunoassays of selected mycotoxins in hay, silage and mixed feed. *Food and Agricultural Immunology* 11, 307-319.
- Wilkinson, J.M.** (1999): Silage and animal health. *Natural Toxins* 7, 221-232.
- Whitlow, L.W., W.M. Hagler, Jr.** (2002): Feedstuffs. July 10, pp. 68-77.

Strategie pro minimalizování spor klostridií v silážích a dojnících

*F. Weissbach
Rostock, Germany*

Úvod

Kontrola kvality a management kvality se staly nezbytnou součástí zemědělství i potravinového průmyslu. Od začátku tohoto roku vešla v platnost směrnice EU 1831/2003 o hygieně potravin. Tato směrnice ukládá zemědělcům povinnost zajistit, aby všechna krmiva používaná pro krmení zvířat splňovala požadavky současné EU legislativy. Koncept HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) se stává povinnou metodou, jak kontrolovat kvalitu. Tato metoda se stala užitečnou v různých oblastech potravinového průmyslu.

Používání HACCP konceptu zahrnuje: 1) určení kritických bodů během výrobního procesu, které jsou rozhodující pro kvalitu finálního produktu, 2) nastavit standard kvality pro tyto kritické body a 3) pravidelně je kontrolovat. Je zřejmé, že zajištění a zlepšování kvality finálních produktů je dosaženo pouze tehdy, pokud jsou jednotlivé kroky kontrolovány. Účelem této prezentace je prokázat, že kontrola všech kroků výroby (od sklizně po dojení) je nezbytná pro dosažení dobré kvality mléka hlavně z hlediska výskytu klostridií.

Problém

Spory klostridií způsobují nepříjemný zápach a strukturální defekty v různých druzích sýra. Zdrojem kontaminace kravského mléka jsou spory klostridií obsažené ve výkalech krav, ze kterých je mléko získáváno. I při dodržování nejlepších hygienických opatření během dojení, se alespoň malé množství spor přeneso do mléka (Stadhouders and Spoelstra, 1990). Riziko kontaminace se významně zvyšuje při zvýšeném obsahu spor ve výkalech. Za účelem omezení poruch během výrobního procesu sýrů, musí mlékárny používat různá opatření ke kompenzaci kvalitativních nedostatků mléka. Tato opatření jsou nákladná (např. centrifugace) nebo nežádoucí z důvodu bezpečnosti zákazníka (např. chemické přísady). V některých regionech s výrobou speciálních sýrů, není dovoleno zkrmování siláže a to z toho důvodu, že siláž je hlavní zdroj spor klostridií v potravě. V ostatních regionech je obsah spor v mléku velmi přísně kontrolován.

Kromě toho, vážné zdravotní potíže ve stádech dojnic bývají spojené s vysokým výskytem klostridií v krmivu. „Viscerální botulismus“ je název nově objevené nemoci, která byla u krav pozorována (Böhnel, 1999, 2004; Böhnel *et al.*, 2001; Schwagerick and Böhnel, 2001, 2003; Schwagerick, 2004). Přestože některé prvky tohoto onemocnění musejí být i nadále zkoumány, výskyt tohoto onemocnění je spojen se zkrmováním siláže se špatnou hygienickou kvalitou. To se shoduje se starou zkušeností, že špatná siláž může způsobit onemocnění krav. V minulosti se to týkalo pouze jednotlivých zvířat, ale se zvýšenou produkcí mléka na velkých farmách a s použitím TMR (Total Mixed Ration) krmení, se to stalo nyní velkým problémem ve velkých stádech.

Oba dva důvody vyžadují kontrolu a zlepšení hygieny krmiva a kvality siláže.

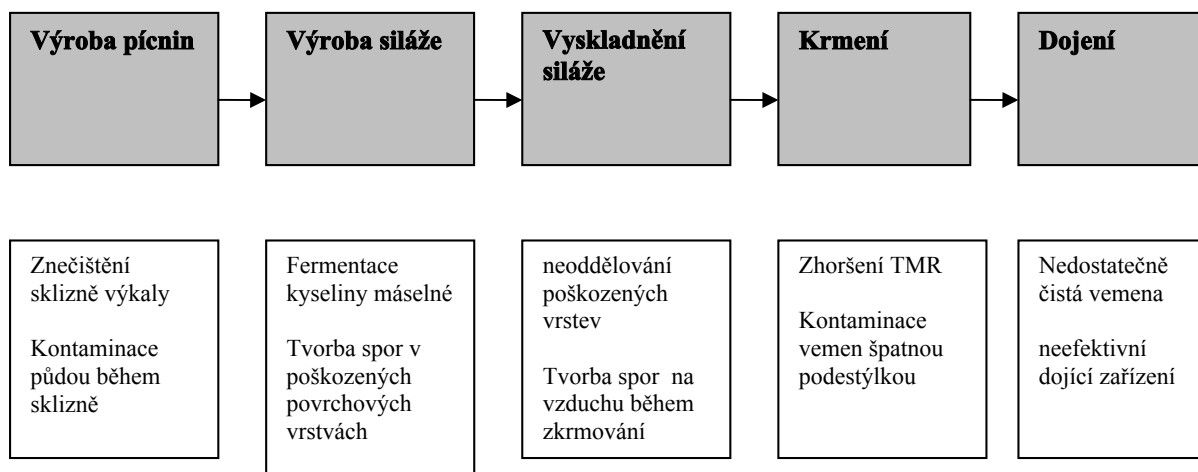
Výrobní řetězec

Schéma 1 ukazuje spojení jednotlivých kroků výrobního řetězce a hlavní rizikové faktory, které ohrožují hygienickou kvalitu mléka. Rizika kontaminace začínají již během produkce pícnin, zejména pokud jsou louky (které jsou užívány k produkci siláže) hnojeny výkaly. Výkaly dobytka totiž obsahují vysoké množství spor klostridií. Znečištění pastvy

se zbytky výkalů nebo rostlinným materiálem s částicemi půdy mohou vytvořit v siláži velké množství spor i bez rozmnožení klostridií během procesu fermentace.

Schéma 1: Výrobní řetězec of a dairy farm with silage based feeding

- Hlavní rizikové faktory kontaminace spory klostridií -



Fermentace kyseliny máselné v silu je největší příčinou vysokého výskytu spor klostridií v siláži (Weissbach and Köller, 1998; Stadhouders and Spoelstra, 1990). Během procesu fermentace se počet klostridií a jejich spor zvyšuje. Proto je proces fermentace největším rizikovým faktorem v hygieně krmiva a má mu být zabráněno. Částečné zavádění pícnin je hlavní způsob, jak zabránit růstu klostridií během přípravy travní nebo luštěninové siláže. Tento způsob může být kombinován s použitím vhodných silážních přísad a pomáhá kompenzovat nedostatečný nebo různý stupeň zavedení sklizně. V případě velmi nízkého obsahu nitratů a znečištění sklizně půdou je nutné použití silážních prostředků mající potlačující efekt na klostridie (Weissbach *et al.*, 1993; Weissbach and Honig, 1996; Kaiser and Weiss, 1997; Weiss, 2000; Kaiser, 2001; Polip, 2001).

Přestože jsou klostridie anaerobní bakterie, velké množství spor bývá často nalezeno v blízkosti povrchu silážního žlabu a také v siláži po kontaktu se vzduchem během vybírání siláže (Kwella and Weissbach, 1991).

Při dodatečném vystavení vzduchu mohou živé buňky klostridií tvořit spory. Podmínky umožňující růst klostridií nemohou být dosaženy v každém silu. Ale přesto mohou existovat v několika místech uvnitř silážního žlabu, zejména v blízkosti povrchu. Například, pronikání vzduchu do siláže během skladování umožňuje růst kvasinek a plísní, které metabolizují kyselinu mléčnou. Následkem toho vzrůstá pH, čímž se tvoří podmínky pro růst klostridií. Tímto způsobem se může stát i kukuřičná siláž zdrojem vysokého výskytu spor (jak bylo nedávno zjištěno) (Driehuis and te Giffel, 2005).

Chování spor klostridií v zažívacím traktu skotu není dosud dostatečně pochopeno. Nicméně se prokázalo, že spory pouze bachorem a střevem neprochází, ale mohou také klíčit a buňky se v tomto prostředí mohou rozmnožovat (Bani *et al.*, 1991). Je dokázáno, že se může ve střevě vyskytnout tvorba botulinum toxinu (Böhnel, 1999, 2004; Böhnel *et al.*, 2001; Schwagerick and Böhnel, 2001, 2003; Schwagerick, 2004).

Systém ustájení skotu a dojení může podstatně ovlivnit riziko kontaminace mléka spory klostridií. Nicméně všechny snahy minimalizovat kontaminaci vemen a jejich čištění před dojením nemůže zabránit přenosu spor do mléka pokud má zkrmovaná siláž vysoký obsah klostridií.

Kritické body kontroly

Siláže s vysokým obsahem klostridií nemohou být zkrmovány. Protože je siláž velmi nehomogenní materiál pro mikrobiologickou analýzu, měl by se testovat obsah spor v kravských výkalech, což může být spolehlivější parametr na hodnocení hygieny krmiva (Weissbach and Köller, 1989).

Byla provedena opakovaná kompletní metodická vyšetření a technika odběru vzorků na určení spor klostridií ve výkalech. Používaná laboratorní metoda určovala MPN (Most Probable number) všech plynotvorných anaerobních spory-tvořících bakterií. Tato skupina mikroorganismů zahrnuje všechny bakterie patřící do třídy *Clostridium*, kromě spor některých druhů *Bacillus*. Užití této metody se ukázalo být efektivnější než ostatní, specifické metody. (Bergere *et al.*, 1990).

Ukázalo se, že analýza shromážděných vzorků odebraných z výkalů nejméně 10ti náhodně vybraných krav poskytuje reprezentativní a opakovatelné výsledky pro hodnocení hygieny krmiva v daném (Weissbach *et al.*, 1993). Výsledky vzorků, které byly odebrány na několika farmách prokázaly velké rozdíly v obsahu spor u jednotlivých farem a jednotlivých období krmení. Předpokládaný vztah mezi počtem spor ve výkalech a mléku se potvrdil (Kalzendorf, 1994, 1996). Některé výsledky monitorování farem jsou ukázány v tabulce 1 a 2.

Tabulka 1: Výsledky monitorování obsahu spor klostridií ve výkalech skotu

Farma	počet vzorků	Počet spor <i>Clostridium</i> (MPN/g)	
		Průměr	Maximum
Zimní zkrmování			
A	35	3 000	250 000
B	38	14 200	250 000
C	33	16 000	450 000
D	68	20 700	520 000
E	10	37 000	450 000
F	52	194 000	2 500 000
G	18	230 000	450.000
Letní zkrmování (zahrnující siláž)			
D	18	66 000	250 000
Letní zkrmování (bez siláže)			
B	26	150	4 500
A	36	220	2 500

Tyto výsledky ukazují hladinu a rozdílnost obsahu spor ve výkalech, které jsou očekávány za praktických podmínek kdy je tato metoda užitá. Velký rozdíl mezi obdobími zkrmování – s *versus* bez krmení siláže – potvrzují, že většina klostridií pochází ze siláže

(Tabulka 1). Nicméně, hladina spor klostridií a riziko kontaminace mléka závisí na kvalitě siláže (Tabulka 2).

Tabulka 2: Monitorování výsledků kvality travní siláže a spor klostridií

Farma	období monitorování	Kyselina máselná v siláži % DM	Spory klostridií		výskyt (%) vzorků mléka s vysokým obsahem spor klostridií*
			ve výkalech MPN/g	v mléce MPN/ml	
I	02.01. – 16.04.	0.2	5 000	1.2	8
II	18.12. – 18.03.	0.7	6 800	1.7	19
III	06.01. – 22.03.	0.7	23 000	3.0	26
IV	21.01. – 18.05.	1.2	163 000	4.6	32
V	08.01. – 25.03.	1.5	224 000	14.0	63

* MPN >6 spor/ml

Analýza Rizik

Na závěr, obsah spor klostridií ve vzorcích shromážděných z výkalů krav mohou být vhodný ukazatel kvality hygieny krmiva na farmách s dojnicemi, např. takových, kde má mléko moc vysoký obsah spor nebo mají zvířata zdravotní problémy. Méně než 10 000 spor/g výkalů je přijatelná hodnota, více než 100 000 spor/g výkalů je velké riziko ve smyslu kvality mléka nebo zdraví zvířat (Weissbach, 1997).

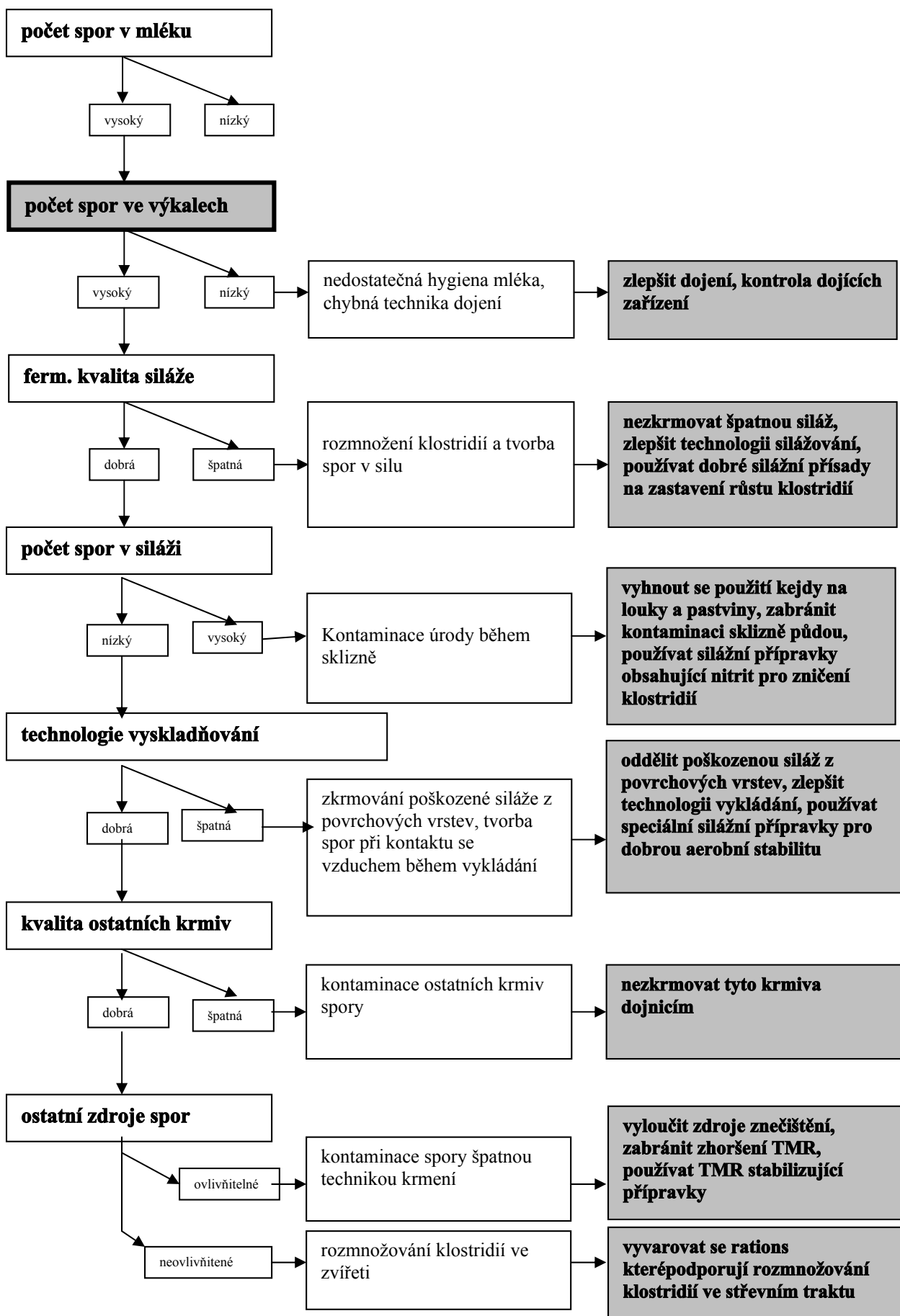
Počet spor klostridií ve výkalech umožňuje charakterizovat stupeň hygieny kompletní směsné dávky, zahrnující techniku krmení. Může být použita jako základ analýzy příčin celého výrobního řetězce. Schéma takovéto kauzální analýzy je demonstrováno ve schématu 2. Dodržování tohoto návrhu dovoluje nejen hodnotit úroveň hygieny, ale také analyzovat příčiny a vyvozovat doporučení na řešení problému.

Schéma 2: analýza příčin výskytu spor klostridií

Kontrola a její výsledky

Pravděpodobná příčina

Nutná opatření



Zlepšení silážové techniky a používání efektivnějších silážních prostředků jsou rozhodujícími body vedoucí ke změně situace ve většině farmách, které mají hygienické problémy. Podle zkušeností získaných během minulých let nemůže být požadovaná kvalita zajištěna bez použití silážních prostředků. Tyto prostředky se používají ke kompenzaci přirozeně se měnících biologických vlastností sklizně, při střídání povětrnostních podmínek a také nevyhnutelných slabých stránek technologie zajišťující optimální podmínky. Proto má být použití silážních prostředků součástí každého silážního postupu. Ukázalo se, chemické silážní prostředky jsou pro tyto účely mnohem efektivnější než očkovací látky. Co se chemických prostředků týče, vodné-neutrálně reagující roztoky solí konzervantů jsou mnohem jednodušší na zacházení než směsi kyselin.

Souhrn

Ochrana a zlepšení hygieny krmení znamená hlavně snížení spor klostridií v siláži. Systém kvality založený na HACCP konceptu je doporučen. Obsah spor klostridií ve výkalech je nejkritičtějším bodem v systému. Výsledky monitorování spor klostridií na farmách byly ukázány.

Literatura

- Bani, P., G. Bertoni, P. Ghilardelli, R. Gennari** (1991): Preliminary research on some factors affecting the content of *Clostridium* - spores in the faeces of dairy cows. *Scienza e tecnica lattiero-casearia* 42, 421-432
- Bergere, J.L., S. Sivelü** (1990): Detection and enumeration of clostridial spores related to cheese quality – classical and new methods. *Bulletin of the IDF* 251, 18-23
- Böhnel, H.** (1999): Botulismus – eine vergessene Krankheit. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 112, 139-145
- Böhnel, H.** (2004): Von der Bakterienspore zum Tod des Patienten. *Botulinomics – Die Entwicklungskaskade des Botulismus. Tierärztl. Umschau* 59, 13-16
- Böhnel, H., B. Schwagerick, F. Gessler** (2001): Visceral botulism – a new form of bovine *Clostridium botulinum* toxification. *J. Vet. Med. A* 48, 373-383
- Driehuis, F., M. C. te Giffel**, (2005): Butyric acid bacteria spores in whole crop maize silage. In: *Silage production and utilisation. Proc. XIVth Intern. Silage Confer., Belfast*, 271
- Kaiser, E.** (2001): Bei Nitratmangel mißlingen Grassilagen. *Neue Landwirtschaft, Heft* 6, 58-60
- Kaiser E., K. Weiss** (1997): Zum Gärungsverlauf bei der Silierung von nitratarmem Grünfütter. 2. Mitt.: Gärungsverlauf bei Zusatz von Nitrat, Nitrit Milchsäurebakterien und Ameisensäure. *Arch. Animal Nutrition* 50, 187-200
- Kalzendorf, C.** (1994): Durchführung von Maßnahmen zur Verbesserung der Rohmilchqualität durch Reduktion des Clostridien-Sporengehaltes. Zwischenbericht. Landesvereinigung der Milchwirtschaft Niedersachsens e. V., Oldenburg
- Kalzendorf, C.** (1996): Durchführung von Maßnahmen zur Verbesserung der Rohmilchqualität durch Reduktion des Clostridien-Sporengehaltes. Abschlußbericht. Landesvereinigung der Milchwirtschaft Niedersachsens e. V., Oldenburg
- Kwella, M., F. Weissbach** (1991): Clostridial spore content of silages and influence of air contact. *Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft* 123, 447-450
- Polip, I.** (2001): Untersuchungen zur Unterbindung von Buttersäuregärung und Clostridienaktivität in Silagen aus nitratarmem Grünfütter. Dissertation, Humboldt-Universität Berlin, 1-118
- Schwagerick, B., H. Böhnel** (2001): Eine chronische Erkrankung bei Milchkühen mit Nachweis von Botulinumtoxin – eine Fallstudie. *Praktischer Tierarzt* 82, 516-524

- Schwagerick, B.** (2004): Klinische Fälle von Viszeralem Botulismus bei Milchrindern in Mecklenburg-Vorpommern. Tierärztl. Umschau 59, 25-29
- Stadhouders, J., S. F. Spoelstra** (1990): Prevention of the contamination of raw milk by making a good silage. Bulletin of the IDF 251, 24-31
- Weiss, K.** (2000): Gärungsverlauf und Gärqualität von Silagen aus nitratarmem Grünfütter. Dissertation, Humboldt-Universität Berlin
- Weissbach, F., H. Honig** (1996): Über die Vorhersage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau. Landbauforschung Völkenrode 46, 10-17
- Weissbach, F.** (1997): Qualitäts-Management-System für die Erzeugung von Milch mit geringstmöglichem Gehalt an Clostridien-Sporen. Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 18, 59-65
- Weissbach, F., H. Honig, E. Kaiser** (1993): The effect of nitrate on the silage fermentation. Proc. 10th International Conference on Silage Research, Dublin, 122-123
- Weissbach, F., S. Köller** (1989): Silagequalität und Clostridien-Sporen in der Milch. Tierzucht 43, 383-385
- Weissbach, F., G. Pahlow, C. Kalzendorf** (1993): Der Clostridien-Sporengehalt des Rinderkotes als Kriterium der Fütterungshygiene bei Milchkühen. 105. VDLUFA-Kongress, Hamburg, 389-392

Mykotoxiny obsažené v píce a zdravotní problémy u přežvýkavců

J. Böhm

Department of Veterinary Public Health, Institute of Nutrition,
University of Veterinary Medicine, Veterinärplatz 1, A-1210 Vienna, Austria
e-mail: josef.boehm@vu-wien.ac.at

Mykotoxiny jsou toxigenní metabolity plísní, které jsou rozšířeny po celém světě a které představují potenciální riziko jak pro člověka, tak také pro zvířata, a to zejména při konzumu kontaminovaných krmiv a potravin. V posledních desetiletích byla získána celá řada nových poznatků o jejich významu a rozšíření. Po požití krmiv kontaminovaných mykotoxiny vznikají u zvířat tzv. mykotoxikózy. V závislosti na množství toxických substancí, které zvíře přijme může být u skotu průběh mykotoxikóz buď akutní anebo chronický. V důsledku oslabení přirozených obranných mechanismů a imunogeneze jsou dojnice vůči různým infekčním onemocněním více vnímavé. Krmiva kontaminovaná mykotoxiny představují potenciální zdravotní riziko také pro člověka, a to především proto, že rezidua aflatoxinů se vyskytují v mase i v mléčných produktech. V roce 2003 byla v Itálii zjištěna rezidua aflatoxinů v mléce. Specifické mykotoxiny ovlivňují některé orgány a tkáně, například játra, ledviny, mozek a sliznice gastrointestinálního i genitálního traktu.

V tomto referátu jsou diskutovány pouze nejvýznamnější plísně a mykotoxiny a jejich účinky na přežvýkavce. V objemných krmivech se vyskytují jiné mykotoxiny než v obilninách a jejich obsah bývá zpravidla vyšší. V závislosti na klimatických podmínkách jsou např. v Rakousku v krmivech za nejdůležitější považovány tyto mykotoxiny: fusariotoxiny (deoxynivalenol, DON = vomitoxin a ostatní trichotheceny) (které samostatně nebo v kombinaci s ostatními působí nepříznivě na sliznici trávicího traktu) a zearalenon, ZON, který způsobuje neplodnost.

Trichotheceny způsobují podráždění výstelky trávicího traktu. Tato skupina zahrnuje přibližně 100 různých toxinů, které se vyznačují různě intenzivní toxicitou. Otravy hospodářských zvířat jsou nejčastěji způsobeny deoxynivalenolem (=DON, vomitoxin), nivalenolem, T-2-toxinem, diacetoxyscirpenolem (DAS) a makrocyclickými trichotheceny jako je roridin A a verrucarin A. Tyto sekundární metabolity produkují plísně rodu *Fusarium*, z nichž nejznámější jsou druhy *Fusarium roseum* (*Gibberella zeae*), *F. graminearum* a *F. culmorum*.

V zemědělských podnicích v Rakousku způsobují deoxynivalenol a estrogenní zearalenon významné ekonomické ztráty. Vlhké a chladné počasí jakož i náhlé změny denních a nočních teplot způsobují u obilnin a kukuřice zvýšenou produkci fusariotoxinů. T-2-toxin, DAS a makrocyclické trichotheceny mají vyšší toxicitu než DON. Klinickými symptomy intoxikace mohou být např. pokles příjmu potravy, všeobecná slabost, krvácivost, kardiovaskulární poruchy a apatie. Jako lokální cytotoxické efekty bývají popisovány záněty mulce, jazyka a hltanu. Již po 6 týdnech zkrmování kontaminovaného krmiva (4 mg/kg) způsobuje T-2-toxin u telat atrofii brzlíku.

Pokud jde o toxický efekt DON u skotu, máme zatím k dispozici jen poměrně málo informací. V pokusech na dojnících, které dostávaly po dobu 5 dnů 43 nebo 83 mg celkového DON, nebyly pozorovány žádné klinicko-patologické symptomy. Produkce mléka i hladina minerálních látek se pohybovaly v rámci normálního rozpětí hodnot. Již velmi brzy po podání se DON vylučoval výkaly a močí, v mléce však zjištěn nebyl. Na základě těchto nálezů lze tedy předpokládat, že DON je metabolizován přes bachorovou mikroflóru. Toxikózy způsobené trichotheceny však lze diagnostikovat pouze chemickou

analýzou přítomnosti příslušného toxinu v krmivech. V důsledku rychlého odbourávání v bachoru však nebyla rezidua T-2-toxinu, DON nebo DAS nalezena ani v krevním séru, ani v moči a ani v játrech.

Zearalenon (ZON) ovlivňuje zejména pohlavní orgány. Tento metabolit s estrogení aktivitou je v průběhu vegetace produkován plísněmi rodu *Fusarium*. Často se vyskytuje také společně s DON a někdy se svým aktivním alkoholem zearalenolem. Teplotní optimum pro enzymy, které syntetizují ZON, se pohybuje v rozmezí od 12 do 24 °C a především změny teploty jsou příčinou produkce tohoto toxinu. Svou chemickou strukturou je ZON podobný estradiolu a proto se váže na příslušné receptory buněk, kde vyvolává obdobné změny jako estrogeny (včetně příznaků abnormální říje). U jalovic lze pozorovat prodlouženou říji, nižší procento zabřezávání a opakované říje (přebíhání). U dojníc, které byly krmeny obilím kontaminovaným fusariotoxiny (25 mg ZON/kg), byla zjištěna vaginitida, prodloužená říje, pokles příjmu krmiva a snížení doживosti. Kukuřičná siláž, zrno kukuřice a pšenice bývají plísněmi rodu *Fusarium* napadány velmi často a proto vykazují nejvyšší koncentrace zearalenonu.

Mykotoxiny v travních porostech

Pastevní a travní porosty mohou být v průběhu vegetace napadeny různými endofytickými houbami rodu *Neotyphodium* (dřívější název *Acremonium*). Tyto endofyty jsou často považovány za symbionty, a to proto, že hostitelské rostlině poskytují některé výhody. Endofyty však produkují i celou řadu alkaloidů, např. námel či alkaloidy endol-diterpenového typu, které u zvířat vyvolávají poruchy lokomoce, gangrénu končetin, sníženou plodnost a citlivost vůči na vyšším teplotám vnějšího prostředí.

V Evropě infikuje *Neotyphodium* zejména trávy, např. jilek vytrvalý (*Lolium perenne*) a teprve v nedávné době byl popsán jeho výskyt i na přírodních loukách, ovšem v závislosti na roční době a počasí. Námel a příbuzné alkaloidy jsou toxiny, které produkuje rod *Neotyphodium*; tyto toxiny však jsou pro savce méně toxické. Nejzávažnějším toxinem, který po zkrmení infikovaného jilku vyvolává u zvířat otravy je toxin zvaný **lolitrem B**.

Jilek vytrvalý (*Lolium perenne*) se vyskytuje v mnoha klimatických zónách. *Neotyphodium lolii* infikuje všechny druhy jilku a produkuje toxiny, které se nazývají lolitremy. Chemicky jde o indolové terpenoidy. Typickými klinickými příznaky intoxikace jsou u zvířat na pastvě lokomoční poruchy. Tyto symptomy začínají třesem hlavy, svalů na krku a plecích a později i třesem nohou. Mladý skot polehává, obtížně vstává a jeho postoje jsou abnormální. U koní lze pozorovat záškuby svalů, tremor a ataxii. Stojící ovce se obvykle kymácejí. Jsou-li zvířata nucena pohybovat se anebo jsou-li vystavena jinému stresu, výše uvedené symptomy se náhle výrazně zhorší a přecházejí až do tetanických křečí. K úhynům však dochází jen zřídka. U jehňat se snižují přírůstky, jejich zdravotní stav a funkce orgánů však lolitremy nejsou příliš významně ovlivněny. Přechod lolitremů do krve potvrzen nebyl. V Evropě jsou koncentrace lolitremů nižší než např. v Austrálii a proto se zde tzv. "potácení ovcí" téměř vůbec nevyskytuje.

Mechanismus působení lolitremů není zatím zcela objasněn. Předpokládá se však, že lolitremy zasahují do metabolických drah gama-aminomáselné kyseliny a zvyšují koncentraci excitačních aminokyselin v centrální nervové soustavě. Pokud zdroj intoxikace je odstraněn, mohou se zvířata zcela uzdravit. U skotu a ovcí činí maximální přípustná koncentrace tohoto toxinu cca 2 mg/kg sušiny, u koní je to zhruba polovina. U skotu spásajícího v USA endofyty infikované porosty kostřavy vyvýšené (*Festuca arundinacea*) byl pozorován pokles přírůstků, zhoršené zabřezávání a citlivost na vyšší teploty. Jako toxin způsobující tyto symptomy byl identifikován **ergovalin**. Ten působí jako agonista dopaminových receptorů a je příčinou tzv. "kostřavové toxikózy", což jsou gangrenózní léze na končetinách vzniklé v důsledku silného vazokonstrikčního efektu. Pokles příjmu

krmiva může být následkem acidémie, jelikož v periferní krvi i centrálním nervovém systému lze v takovýchto případech zjistit zvýšení hladiny tryptofanu a serotoninu. Pokles produkce mléka a retardace růstu u telat se vysvětlují sníženou hladinou prolaktinu, která již u nemocných zvířat prokázána byla. Také ergovalin složení těla ovlivňuje - pozorována byla např. nekróza tukové tkáně a vodnatá, měkká svalová tkáň. U koní se vyskytuje agalaktie a zvýšená mortalita hřibat. Z dalších symptomů byl popsán pokles imunokompetence, prodloužená doba březosti, protrahující funkce žlutého tělíska, zadržetí placenty a zhoršené zabřezávání. Jako terapie je v těchto případech doporučováno podání těch látek, které dopaminergní aktivitu ergovalinu snižují.

Mykotoxiny v seně a ve slámě

V důsledku fermentace se koncentrace lolitremu B během tří měsíců snižuje až na reziduální hodnoty, které za toxické již považovány nejsou. Ostatní toxiny např. alafraamin v leguminózách zřejmě přetrvávají. Typickými skladovými plísněmi jsou *Alternaria* a *Aspergillus*. Jejich spory jsou zapojeny do patogeneze rekurentního onemocnění dýchacích cest u koní, skotu i člověka. Ve slámě byly nalezeny různé fusariotoxiny, a to zejména T-2 toxin a satratoxin. Oba tyto toxiny patří do skupiny dermatotoxinů a způsobují poškození kůže.

Mykotoxiny v siláži

V travních silážích je převažujícím druhem plísní *Penicillium roqueforti*, následované plísněmi *Aspergillus fumigatus* a *Monascus ruber*. Všechny tyto plísně mění senzorycké vlastnosti siláží, což ovlivňuje jejich chutnost a snižuje příjem krmiva, zejména u dojnic. Omezení příjmu krmiva má za následek vážné produkční ztráty a ohrožuje i zdraví zvířat, protože zejména u mladých, vysoce užitkových dojnic dochází při nedostatečném přísunu živin v prvních fázích laktace k negativní energetické bilanci. Současně se mění i metabolické procesy v batoru, což má za následek nárůst pH a pokles produkce metanu a mastných kyselin s krátkým řetězcem. Hlavními toxiny jsou v těchto případech **mykofenolová kyselina, roquefortin C, PR toxin, kyselina penicillová a patulin**. Tyto sloučeniny vznikají v různých stádiích vývoje plísněvé kolonie a to rutinní monitoring toxinů a vyhodnocení jejich skutečného negativního efektu na zdravotní stav zvířat značně ztěžuje. Zkrmování siláže kontaminované plísní produkující roquefortin C v koncentracích vyskytujících se v běžné praxi se však ukázalo jako málo toxické.

Mykofenolová kyselina je známou imunosupresivní látkou, u ovcí však její akutní toxicita prokázána nebyla. Její nejvyšší koncentrace však parametry imunitního systému ovlivňují zcela průkazně. Monacolin K je známým inhibitorem 3-OH-Me-glutaryl-CoA-reduktázy, který inhibuje batorovou mikroflóru a tudíž zhoršuje i trávení vlákniny. Obsah citrininu v silážích je obvykle velmi nízký a z hlediska toxicity je pro přežvýkavce nevýznamný. *Aspergillus fumigatus* je plísní, která se v silážích vyskytuje běžně a která produkuje širokou škálu **tremorgeních mykotoxinů**, např. verrucologen, fumitremorgen a penitrem A. Tyto toxiny vyvolávají tras a jiné příznaky neurotoxicity, jejich příjem potravou však je nízký a neurologické symptomy se v praxi vyskytují jen velmi zřídka. **Gliotoxin** se vyskytuje u těch dojnic, které trpí mastitidou, jež je vůči terapii rezistentní, a jako imunotoxická látka vyvolává apoptózu různých typů buněk.

Aspergillus clavatus je další plísní, která se v silážích běžně vyskytuje. Tento druh plísní produkuje toxin **patulin**, který poškozuje ochrannou funkci výstelky trávicího traktu tím, že se váže na glutathion. Další symptomy jsou povahy neurotoxické, v praxi se však běžně nevyskytují. Patulin byl dříve používán jako účinné antibiotikum, v nedávné době však bylo prokázáno, že tato látka je karcinogenní.

V kukuřičných silážích převažují plísně rodu *Fusarium*. Jejich toxiny se vytvářejí ještě v průběhu vegetace. Deoxynivalenol, zearalenon a fumonisiny jsou nejběžnějšími a

nejdůležitějšími mykotoxiny tohoto typu. Deoxynivalenol (vomitoxin) ovlivňuje negativně funkce trávicího traktu, a to má za následek snížené vstřebávání živin a zhoršení růstu. Kromě toho vykazuje také zánětlivé a imunosupresivní účinky. Zearalenon se váže na estrogenní receptory a tím způsobuje hyperestrogenismus a pokles plodnosti. Bachorová mikroflóra přežvýkavců sice dokáže tyto toxiny degradovat, ale jen do určité míry. Fumonisin jsou účinnými inhibitory enzymu ceramid syntetázy, neboť narušují metabolismus sfingolipidů a tím i mezibuněčné interakce (včetně interakcí mezi buňkami trávicího traktu). Fumonisin je pravděpodobně příčinou mnoha nemocí u koní (encefalomalacie), prasat (edém plic), skotu a ovcí (snížená užitkovost a nefrotoxicita).

Vliv bachorové mikroflóry na metabolismus mykotoxinů

Fusariotoxiny ZON, T-2-toxin, diacetoxyscirpenol (DAS) a DON představují pro skot jen potenciální riziko. U skotu s plně vyvinutým systémem předžaludků je nicméně bachorová tekutina pro některé mykotoxiny, např. pro ZON, T-2-toxin, DAS nebo DON, účinnou detoxikační bariérou. Výzkumy prokázaly, že výše zmíněné mykotoxiny jsou v bachoru metabolizovány na podstatně méně toxické látky. ZON se konvertuje na α -zearalenol a β -zearalenol, DAS a T-2-toxin na monacetoxyscirpenol (MAS) a HT-2-toxin podléhá deacetylační transformaci. Tyto metabolické změny v bachoru jsou přirozeným obranným mechanismem proti toxickým látkám obsaženým v krmivech. DON se metabolizuje na deepoxymetabolit 1 (DOM 1) a vylučuje se močí.

Diagnóza

U skotu je diagnostika mykotoxikózy záležitostí značně obtížnou a složitou. Velmi důležité jsou proto informace o vývoji onemocnění a o pozorovaných klinických symptomech (např. o poruchách trávení, hemorragické diatézi, poruchách centrálního nervového systému atd.) a také informace o krmném režimu. Plísňemi mohou být napadena jak jadrná, tak také objemná krmiva. Léčba antibiotiky je však často neúčinná a výskyt intoxikací má sezónní charakter (jaro, podzim); proto je třeba prověřit podmínky, za nichž jsou krmiva skladována. U viditelně zaplísňených krmiv totiž vždy existuje podezření na přítomnost mykotoxinů a proto je třeba vyloučit vliv jiných patogenů např. bakterií, virů anebo parazitů. Diagnózu mykotoxikózy lze potvrdit chemickým vyšetřením krmiva anebo vzorků tkání (játra, ledviny) či krevního séra na přítomnost mykotoxinů.

Prevence

Z preventivních opatření je důležité usušit ihned po sklizni zrno obilovin s vyšším obsahem vody. Růst plísní s následnou produkcí mykotoxinů lze také omezit vhodně volenými opatřeními v průběhu sklizně, transportu a skladování. Při uskladnění zrna s vyšším obsahem vody se k prevenci invaze plísní používají organické kyseliny, např. kyselina propionová. K detoxikaci krmiv kontaminovaných mykotoxiny bylo navrženo mnoho metod, jejich použití je však nákladné a všeobecně vzato v praktických podmínkách neúčinné. O tom, zda lze kontaminované krmivo zkrmit nebo je nutné je zlikvidovat, musí rozhodnout zkušený mykotoxikolog ve spolupráci s veterinárním lékařem a výživářem.

Botulismus a siláže

Část I. Botulismus

H. BÖHNEL, H.¹, GESSLER, F.²

¹ *Institute for Tropical Animal Health, Georg-August-University Goettingen, Kellnerweg 6, 37077 Goettingen, Germany, e-mail: hboehne@gwdg.de*

² *Miprolab Microbiological Diagnostics, Kellnerweg 6, 37077 Goettingen, Germany, e-mail: gessler@miprolab.com*

Clostridium (C.) botulinum je půdní bakterie. Rozlišujeme několik různých druhů a typů, které jsou charakterizovány produkcí tzv. botulino-toxinu (BT).

Mají společný:

- anaerobní metabolismus
- tvorbu spor.
- produkci toxinů.

Až na několik výjimek mohou spory a/nebo toxiny vstoupit do těla orální cestou a mohou zapříčinit onemocnění, které je známo jako „botulismus“.

Bakterie

C. botulinum žije, rozmnožuje se (a také zemře) v půdě. Některé druhy se adaptovaly na přežití ve střevním traktu zvířat. Přídavné substráty, které napomáhají rozmnožení jsou v dnešní době bio-komposty a substráty s produkcí bioplynů. Drůbeží a vepřový hnůj a kočičí výkaly mohou obsahovat patogen také ve velkém množství. Různé typy *C. botulinum* mají požadavky na různé výživné látky a různý typ půdy a mohou odolat i různým mikrobiálním/protozoálním konkurentům a predátorům. Z tohoto důvodu není se současnými znalostmi možné předvídat, co se může stát různým typům *C. botulinum* rozprostřených v okolním prostředí. Nicméně, pokud se nemoc někde objeví poprvé, může se vyskytovat v dalších několika letech.

Bakterie se rozmnožují v atmosféře se sníženým kyslíkovým tlakem (anaerobiosa). Pokud je přežití bakterie ohroženo, vegetativní forma se přemění na formu spor. Tato forma odolá nepříznivým okolním podmínkám po mnoho desetiletí v půdě, krmivu a ostatním kontaminovaném materiálu. Mohou přežít teplotu během konzervace siláže, sušení sena, lisování krmiva, tzv. „hygienizaci“ v kompostování a proces produkce bioplynů. Až se okolní podmínky stanou příznivé pro rozmnožování, spory začnou klíčit a změni se opět na vegetativní formu. Biochemická cesta zůstává nejasná.

Toxiny

Mnoho druhů klostridií jsou charakterizovány produkcí metabolitů, které mají negativní efekt na metabolismus mnoha zvířat, včetně lidí. Existují různé druhy toxinů:

- neurotoxiny (A-G), smíšené formy, neznámé druhy
- cytotoxické látky (C2, C3)
- haemolysiny
- ostatní.

Není známo, proč a kdy produkují bakterie toxiny a kdy je přestanou produkovat, přestože mnoho genetických faktorů bylo již popsáno.

Produkce toxinů se odehrává v živočišných nebo rostlinných proteinech. Kromě ostatních vyživujících a fyziologických faktorech je nutná teplota vyšší než 20 °C a určitá

aktivita vody (voda prospěšná pro mikrobiolog. metabolismus, ne identická s obsahem vody). Téměř ideální podmínky jsou během silážního procesu. Tento problém bude projednávám ve zvláštní přednášce. Také nevhodné skladování sena, koncentrátů nebo minerální směsi mohou zapříčinit rozmnožování *C. botulinum* a produkci toxinů.

Toxiny jsou termolabilní, tj. při teplotě 60-70 °C jsou zničeny. Farmakologicky působí na svaly a vnitřní orgány, jak bylo již popsáno Kernerem v roce 1820. Bohužel, v dnešní době je botulismus brán jen jako svalová paralýza. Pojem “bulbar paralysis” znamená, že všechny cílové orgány nervů jdoucí ze dřene, mohou být zasaženy.

Vyplatí se uvést příklady orgánů, které mohou být zasaženy botulino-toxinem. (farmaceutický výzkum pracuje s koncentrací toxinů, které jsou mnohem vyšší než za přirozených podmínek. Neexistují studie na dlouhodobé působení malých dávek vyskytující se za normálních podmínek.)

svalstvo	příčně pruhované	hladké	srdeční
nervový systém	sympatikus	parasympatikus	autonomní ns.
	mozek	dřeň	hippocampus
	mícha		
endokrinní orgány	hypofýza	slinivka	nadledvinky
	játra		
urogenitální systém	děloha	močový měchýř	ledviny
	sperma	prsní žláza	
krev	erytrocyty	leukocyty	krevní destičky

Onemocnění

Přestože botulino-toxiny jsou toxiny s vysokou biologickou aktivitou, klinický obraz se může lišit

- typem, množstvím a délkou resorpce toxinů
- zvířetem, rod a druh
- věkem
- paralelním působením mykotoxinů, ostatních bakterií nebo rostlinných toxinů
- střevní homeostáza (rovnováha virů, bakterií, prvoků, parazitů)
- příjem krmiva a vody
- jiné základní onemocnění.

Mnohé symptomy nemusí být přisuzovány botulismu, jako např. redukce mléka, neléčitelná mléčná horečka, dislokace slezu, zadržení placenty, porucha vyprazdňování střev

Nemoci mohou být charakterizovány různě:

- příjem toxinů
 - intoxikace
 - střevní infekce (toxiko-infekce)
 - infekce rány (zřídka)
- klinický aspekt
 - svalový botulismus
 - vnitřní/systémový botulismus
 - obecná slabost
- průběh a trvání
 - hyperakutní
 - akutní
 - subakutní
 - chronické

- následky
 - letální
 - uzdravení
 - chronická slabost
 - snížená produkce.

Diagnóza

Diagnóza většinou potřebuje předpokládanou diagnózu, možná s výjimkou klasického případu svalové paralýzy. Laboratorní diagnóza, patologické znaky, epidemiologické hodnocení vede k finální diagnóze (z důvodu vyloučení jiných onemocnění). Chronické případy nemusí zůstat průkazné.

V některých případech, zejména nových, je požadována laboratoř specializovaná na diagnózu botulinismu.

Léčba

V akutních případech není žádná specifická léčba. Ve farmách s dřívějším výskytem botulinismu může být nápomocné podání antitoxinů specifického typu toxinu.

Střevní použití antibiotik není významnou pomocnou léčbou, může naopak zhoršit klinický obraz kvůli tomu, že zasažené bakterie mohou produkovat další toxiny..

Symptomatická léčba může být užitečná, hlavně v případech, kdy nejsou zvířata zasažena moc a u chronických případů.

Obnovení střevní rovnováhy pomocí hospodaření s krmivem bude probíráno v jiné přednášce.

Profylaxe

Tak jako u jiných clostridiálních onemocnění, může být prevencí očkování vakcín s modifikovaným toxinem. Toto platí hlavně pro svalový botulismus. U léčby vnitřní formy je stále velmi málo zkušeností.

Pro různé druhy botulinotoxinů musí vakcína obsahovat specifický typ toxinů. Většinou tam není žádná křížová ochrana mezi různými typy. Na světovém trhu existují vakcíny proti typu B, C, a D u zvířat. Jejich kvality není vždy zajištěna.

Obecně, produkce, sklizeň a skladovací podmínky mohou snížit kontaminaci *C. botulinum*. Kontakt zvířat a bakterií a toxinů by měl být redukován. Evropská legislativa, která podporuje používání bio-hnojiv a produkci bio-plynů, způsobuje nezáměrně vznik nových druhů *C. botulinum* (a ve vysokém množství) v prostředí. Díky tomu může *C. botulinum* představovat velké riziko pro budoucí zemědělství a zdraví spotřebitele.

Reference

Böhnel, H. (2005): Acute botulism in Ibex in a game park after silage feeding. – A note (in German). Zool. Garten 75, 116-121.

Böhnel; H., F. Gessler, (2004) : From the bacterial spore to death of the patient. Botulinomoc – the development cascade of botulism (in German). Tierärztl. Umschau 59, 12-19

Böhnel, H., F. Gessler, (2005) : Botulinum toxins – cause of botulism and systemic diseases? Vet. Res. Comm. 29,313-345

Böhnel, H., K. Lube, (2000): *Clostridium botulinum* and biocompost. A contribution to the analysis of potential health hazards caused by bio-waste recycling. J. Vet. Med B 47, 785-795.

- Böhnel, H., B.-H. Briese, F. Gessler,** (2002): Methods for health risk assessment by *Clostridium botulinum* in bio-compost. In: Insam, H., Riddech, N., Klammer, S. (eds.). Microbiology of Composting, Springer, Heidelberg, 517-526.
- Böhnel, H., B. Neufeld, F. Gessler,** (2005): Botulinum neurotoxin type B in milk from a cow affected by visceral botulism. J. Vet. Res. 169, 124-125, DOI: 10.1016/j.tvjl.2004.01.006
- Böhnel, H., B. Schwagerick, F. Gessler,** (2001): Visceral botulism – A new form of bovine *Clostridium botulinum* toxication. J. vet. Med. A 48, 373-383.
- Böhnel, H., A. Belihard-Neufeld, F. Gessler, M. Holzhauer, M. Krüger, B. Neufeld, W. Schrödl, Schwagerick, B., Seifert, H.S.H., Weißbach F.,** (2004): Spezial copy “Botulism“(in German). Tierärztl. Umschau 59 (1).
- Große-Herrenthey, A.,** (2004): Investigations on factors for an efficient strategy to combat bovine botulism in Brasil (in German). Diss. med. vet., Leipzig.
- Holzhauer, M.,** (2004): Bovine botulism in the Netherlands (in German). Tierärztl. Umschau 59, 29-31.
- Krüger, M., W. Schrödl** (2004): The importance of the gastro-intestinal flora of farm animals, their regulation and potential for their control (in German). Tierärztl. Umschau 59, 41-46.
- Merz, B., H. Bigalke, G. Stoll, M. Naumann,** (2003): Botulism type B presenting as pure autonomic dysfunction. Clin. Auto. Res. 13, 337-338.
- Schwagerick, B.,** (2004): Clinical cases of visceral botulism in dairy cows in Mecklenburg-Vorpommern (in German). Tierärztl. Umschau 59, 25-29.
- Schwagerick, B., H. Böhnel,** (2001): A chronic disease in dairy cattle with proof of botulinum toxin- a case study (in German). Prakt. Tierarzt 82, 516-524.
- Smith L. D., H. Sugiyama** (1988): Botulism. The organism, its toxins, the disease. 2nd ed., Charles C. Thomas, Springfield.

Botulismus a siláž

Část II. Diagnóza a diskuse

B. SCHWAGERIK

*Bovine Health Services Mecklenburg-Vorpommern, P. O. Box 110163,
17041 Neubrandenburg, Germany, e-mail: schwagerick@t-online.de*

Diagnóza

Od března 1999 byla ve 20 stádech dobytka v Meklenburgu (severovýchodní část Německa) pozorována dosud neznámá nemoc dojnic. určení diagnózy bylo dost těžké, kvůli nespecifickým symptomům:

- zvýšené ztráty krav po otelení z nejasných příčin
- problémy při telení
- vysoká míra ležení
- Vysoké snížení tělesné hmotnosti u jednotlivých krav
- Výskyt průjmu nebo zácpy u jednotlivých krav ze stejné skupiny, zvýšený výskyt dislokace slezu
- chromost
- ataktická chůze
- neschopnost dobrovolně vstát
- vyčerpání
- přívětivost
- snížená produkce mléka
- snížená produkce mléka v porovnání s příjmem potravy.

Těmito poruchami trpěli hlavně krávy po otelení a nově získaná zvířata. Později byly tyto problémy pozorovány v době kojení a suchém období. Ve farmách postižených dlouhou dobu byly krávy trpící nespavostí, neschopností pít a postavit se.

Po vyšetřeních, které vyloučily ostatní onemocnění, zůstali klinické příznaky, které mohly být následkem botulino-toxinu:

1. Příčně pruhované svalstvo

- ochablé kosterní svalstvo, zvláště končetin: ataxie, překřížené přední nohy, kymácení se během stání,
- svěšený ocas
- těžkosti při polykání
- obrna jazyka

2. Hladké svalstvo

- snížená střevní motilita
- snížená aktivita přežvykávání
- dislokace slezu
- ochablost dělohy

3. Autonomní nervové funkce

- přílišné slinění

- snížený reflex na světlo (snížená stažitelnost panenky)
- snížené vnímání očí
- svěšené uši
- spavost
- snížené reflexy.

Obecně jsou tyto syndromy brány jako bulbar paralysis, typický příznak botulismu:

4. Oběhový systém

- respirační stres, vysoká nebo nízká srdeční frekvence
- nateklé žíly na nohách a hlavě
- otok břicha a vemen
- studená a suchá kůže
- náhlá smrt.

5. Imunitní systém

- potlačení imunitní reakce
- oteklé lymfatické uzliny na krku
- zanícená kůže, např. ekzém v oblasti třísla.

Po klinickém vyšetření – nejdůležitější část diagnózy –s pomocí laboratorního vyšetření musí být zváženy i jiné diagnózy.

Kromě tendence k acidóze, nebyly žádné jiné metabolické poruchy identifikovány. Na druhé straně střevní flóra obsahovala spory tvořící bakterie a botulinotoxiny. Botulinotoxiny byl nalezeny také v bacheru, játrech a tenkém střevu. Ale ne jenom *Clostridium botulinum*, ostatní druhy klostridií jako *C. perfringens* nebo *C. septicum* byly nalezeny také. Mluví se o obecném termínu “clostridiosis”. Snížená hladina krevního cholesterolu a vitamínu B12 vyplývala ze střevní absence bakterií. Infekční onemocnění byly vyloučeny. Byly nalezeny různé hladiny protilátek botulinotoxinu. U nemocných krav byla hladina protilátek botulinotoxinů velmi nízká oproti ostatním kravám.

Diskuze

Ve všech postižených farmách byla pozorována běžná příčina: travní siláž špatné hygienické kvality nebo snížená stabilita krmiva (TMR; jedna výjimka: voda kontaminována mršinou). Po změně siláže se zdravotní stav krav zlepšil.

Typická charakteristika takové siláže:

- nízký obsah konzervačních kyselin jako kyselina octová, propionová a mléčná
- vyšší stupeň kyseliny máselné a více než 10 000 spor na gram (MPN)
- obsah půdy > 100 g/kg
- vyšší obsah proteinů (>17 g/kg)
- obvykle první řezanka v daném roce
- pocházející z rozsáhlé travní plochy
- přerůstání plevelu
- odumřelý materiál v pořezané trávě (hlavně po záplavách)
- pohnojené splašky nebo produkty výroby bioplynů
- rychlé sklizňové stroje, nízký řez nad zemí.

Zemědělci obvykle kompenzují nižší produkci mléka zvýšeným zkrmováním koncentrátů a kukuřičné siláže, čímž situaci ještě zhoršují. Kukuřičná siláž s vysokým obsahem škrobu zvyšuje riziko rozmnožování klostridií ve střevě..

Závěr

Popisovaná nemoc se ukázala být chronickou formou botulismu. Již dříve ve 20 století popisovalo mnoho autorů stejné příznaky jako u botulismu. Nedávno objevený “food borne” botulismus je akutní intoxikace. Pravděpodobně musíme akceptovat existenci dlouhodobé intoxikace, která vznikne po příjmu klostridií a ve střevě vzniklých toxinech (Toxiko-infekce). Důležitým faktorem propuknutí chronického botulismu u krav je kvalita travní siláže. travní siláž je dobře známou příčinou koňského botulismu. Musíme zvažovat přírodní cyklus od koncentrace klostridií v půdě, přes řezanku trávy, příjem klostridií do střeva zpátky do půdy.

Je nutné se vyvarovat popsáním chybám během produkce krmiva a zkrmováním.

Reference

Viz jiná část semináře.

Kapilární elektroforesa v analýze krmiv – využití analyzátoru IONOSEP

F. Kvasnička

*VŠCHT Praha, Ústav konzervace potravin a technologie masa, Technická
1903, 166 28 Praha 6*

Tel: 220 445 51 17, Fax: 233 337 337, E-mail: kvasnicf@vscht.cz

Souhrn

V příspěvku jsou shrnuty metody kapilární elektroforesy pro stanovení látek významných ve výživě zvířat. Látky jsou rozděleny do tří skupin – přirozené, aditivní a kontaminující. Jsou popsány principy elektroforetických metod a uvedeny příklady použití analyzátoru IONOSEP pro analýzu nutričně významných látek.

Princip a rozdělení metod kapilární elektroforesy

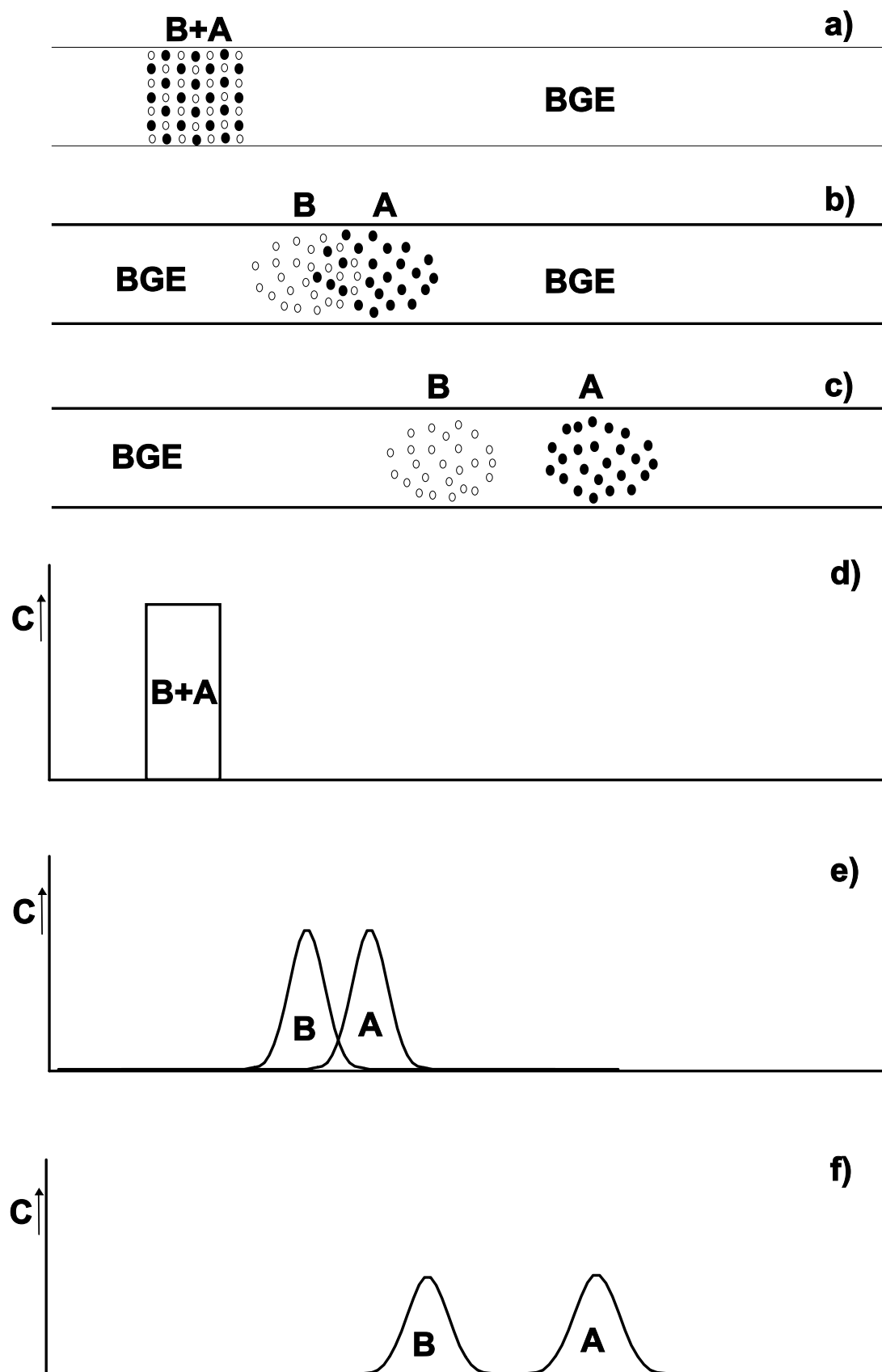
Kapilární elektroforesa je analytická metoda umožňující separace ionogenních látek i látek neionogenních. Mezi metody kapilární elektroforesy patří:

- ✓ kapilární zónová elektroforesa (CZE)
- ✓ kapilární isotachoforesa (CITP)
- ✓ kapilární gelová elektroforesa (CGE)
- ✓ kapilární isoelektrická fokusace (CIEF)
- ✓ micelární elektrokinetická kapilární elektrochromatografie (MEKC)
- ✓ kapilární elektrochromatografie (CEC)
- ✓ kombinace kapilární isotachoforesa se zónovou elektroforesou (CITP-CZE)

Kapilární zónová elektroforesa je principiálně nejjednodušší metodou (módem) kapilární elektroforesy. Separační kapilára je naplněna roztokem základního elektrolytu. Po nadávkování vzorku do kapiláry se na kapiláru vloží napětí. Jednotlivé složky roztoku migrují různou rychlostí (úměrnou své efektivní pohyblivosti) se vydělí do zón, které jsou detegovány. Schéma separace a vývoje koncentračních profilů zón je na obrázku 1. Kapilární zónová elektroforesa umožňuje současnou separaci aniontů i kationtů. Neionogenní látky jsou unášeny elektroosmotickým tokem v zóně nástřiku a tudíž se neseparují. Každá zóna obsahuje kromě složky ještě ionty základního elektrolytu (protion a koion), jejichž koncentrace je zpravidla o několik řádů vyšší než koncentrace vlastního iontu. Základní elektrolyt vede v podstatě všechen elektrický proud, procházející kapilárou. Měl by mít dostatečnou pufrační kapacitu, nízkou absorpci světla (při použití přímé UV detekce) a nízkou vodivost (z čehož pramení nízký vývoj Jouleova tepla). Vodivost roztoku v kapiláře zůstává prakticky během celého separačního děje konstantní a tudíž i potenciálový spád se během separace nemění. Kriteřiem separovatelnosti dvou iontů je jejich relativní rozdíl efektivních pohyblivostí \bar{u} , definovaný jako

$$\Delta\bar{u}_r = \frac{\bar{u}_A - \bar{u}_B}{\bar{u}_A} = \frac{\Delta\bar{u}_{A,B}}{u_A}$$

Obrázek 1: Schéma separace látek při zónové elektroforese. (a)-(c) situace uvnitř kapiláry naplněné základním elektrolytem (BGE) a nadávkovanou směsí látek A a B. (d)-(f) koncentrační profily podél kapiláry (d) na začátku separace, (e) a (f) v průběhu separace.



V isotachoforese se používá systému dvou elektrolytů, tzv. vedoucí a koncový elektrolyt. Vedoucí elektrolyt obsahuje vedoucí ion (v aniontové analýze anion, v kationtové kation) a protion (v aniontové analýze kation, v kationtové anion). Vedoucí elektrolyt je zvolen tak, že efektivní pohyblivost vedoucího iontu je větší, než jsou efektivní pohyblivosti stanovovaných látek. Protion bývá zpravidla slabá báze (aniontový mód) nebo slabá kyselina (kationtový mód) a je zvolen tak, aby s vedoucím iontem tvořil tlumící směs (pufr) o daném pH. Koncový elektrolyt je zvolen tak, aby v ustáleném stavu platilo, že efektivní pohyblivosti látek, které se budou separovat leží mezi efektivními pohyblivostmi vedoucího a koncového iontu. Schéma principu separace látek v isotachoforese je na obrázku 2. Na začátku isotachoforetického experimentu se kapilára naplní vedoucím elektrolytem. Vzorek se nadávkuje do rozhraní mezi vedoucím a koncovým elektrolytem. Po vložení elektrického pole se všechny ionty v roztoku začnou pohybovat k příslušným elektrodám. Ze zóny vzorku (dále směsné zóny) se vyděluje rychlejší složka (A) a za zadním rozhraním zóny vzorku se opožděje pomalejší složka (B). V dalším průběhu separace se čisté zóny složek A i B prodlužují a zkracuje se směsná zóna. Po určité době dojde k úplnému rozdělení složek A i B a směsná zóna zcela zmizí. Tento stav, kdy mezi vedoucím a koncovým elektrolytem se nacházejí jen zóny čistých složek se nazývá ustáleným stavem. V ustáleném stavu jsou zóny seřazeny podle svých klesajících efektivních pohyblivostí a pohybují se kapilárou stejnou rychlostí v (odtud název isotachoforesa). Matematicky se tato skutečnost dá vyjádřit jako

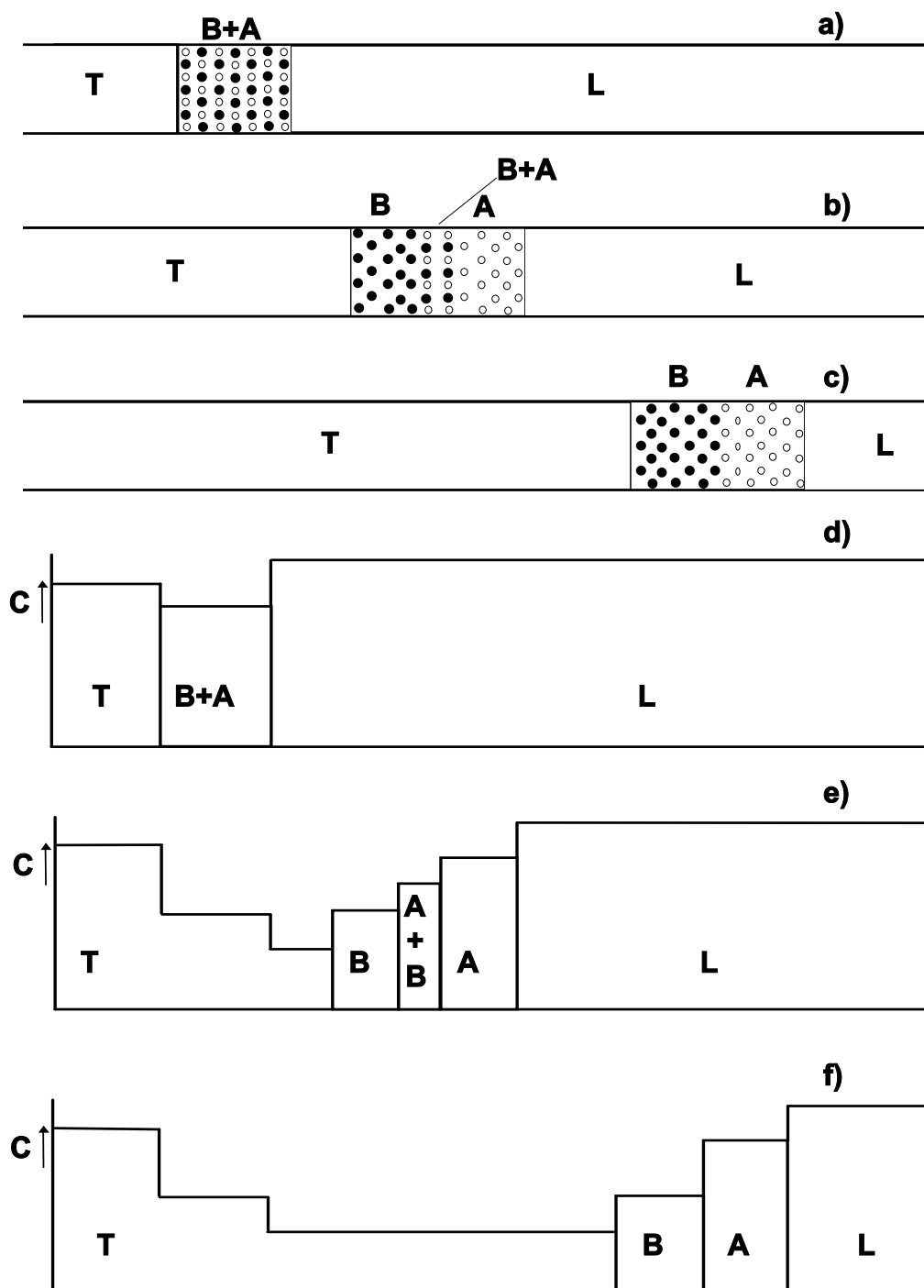
$$v = \bar{u}_L E_L = \bar{u}_A E_A = \bar{u}_B E_B = \bar{u}_T E_T$$

kde \bar{u}_x je efektivní pohyblivost látky x, E_x potenciálový spád v zóně x. Rovnice je vyjádřením tzv. obecné isotachoforetické podmínky. Isotachoforetické zóny obsahují kromě protiiontu pouze ionty jediné látky. Koncentrace iontů ve svých zónách jsou určeny složením vedoucího elektrolytu a jsou zcela nezávislé na původní koncentraci ve vzorku. Znamená to tedy, že koncentrované složky se naředí a zředěné se zakonzcentrují. Následující rovnice je nejčastěji používaným tvarem tzv. Kohlrauschovy regulační funkce pro ustálený stav.

$$c_A = c_L \frac{u_L + u_R}{u_L} \frac{u_A}{u_A + u_L} \frac{|z_L|}{|z_A|}$$

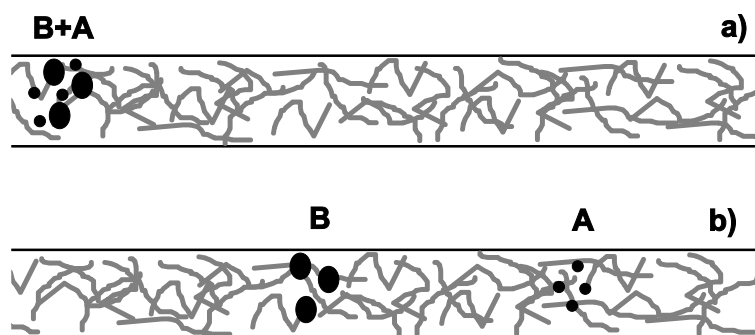
kde c_x je koncentrace iontu x v ustáleném stavu, u_x aktuální pohyblivost iontu x a z_x nábojové číslo iontu x. Symboly A, L a R se vztahují k analytu, vedoucímu iontu a protiiontu. Zóny jsou od sebe rozděleny ostrými rozhraními, na kterých dochází k tzv. samozaostřujícímu efektu. Na rozhraní mezi zónami dochází ke skokovým změnám koncentrací, což vede k difusním tokům iontů ze své zóny do zóny sousední: Např. ion A (viz obrázek 2) se ve své zóně pohybuje rychlostí $v = E_A \bar{u}_A$. Vnikne-li tento ion difusí do zóny vedoucího elektrolytu (L), sníží se jeho rychlost na $v = E_L \bar{u}_A$ ($E_L < E_A$) a ion se okamžitě vrátí do své zóny. Vnikne-li naopak ion A do následující zóny B, zvýší se jeho rychlost na $v = E_B \bar{u}_A$ ($E_A < E_B$) a ion se opět vrátí do své zóny. Od zóny k zóně se také mění skokem řada fyzikálně chemických vlastností (specifická vodivost, potenciálový spád, teplota, pH, efektivní pohyblivost iontu, součin celkové koncentrace iontu a jeho efektivního náboje, koncentrace protiiontu).

Obrázek 2: Schéma isotachoforetické separace. (a)-(c) situace uvnitř kapiláry naplněné vedoucím elektrolytem L, koncovým elektrolytem T a vzorkem A+B nadávkovaným do rozhraní L-T. (d)-(f) koncentrační profily podél kapiláry. (d) na začátku separace, (e) před dosažením ustáleného stavu, (f) po dosažení ustáleného stavu.



Kapilární gelová elektroforesa je vlastně kapilární zónovou elektroforesou ve vhodné gelové matici. Separacním principem této techniky kapilární elektroforesy je tedy migrace nabitých částic v prostředí molekulárního síta vlivem vloženého potenciálového spádu. Princip metody je zřejmý z obrázku 3.

Obrázek 3: Schéma průběhu separace částic, lišících se ve velikosti v CGE. (a) stav na počátku separace, (b) stav během separace.

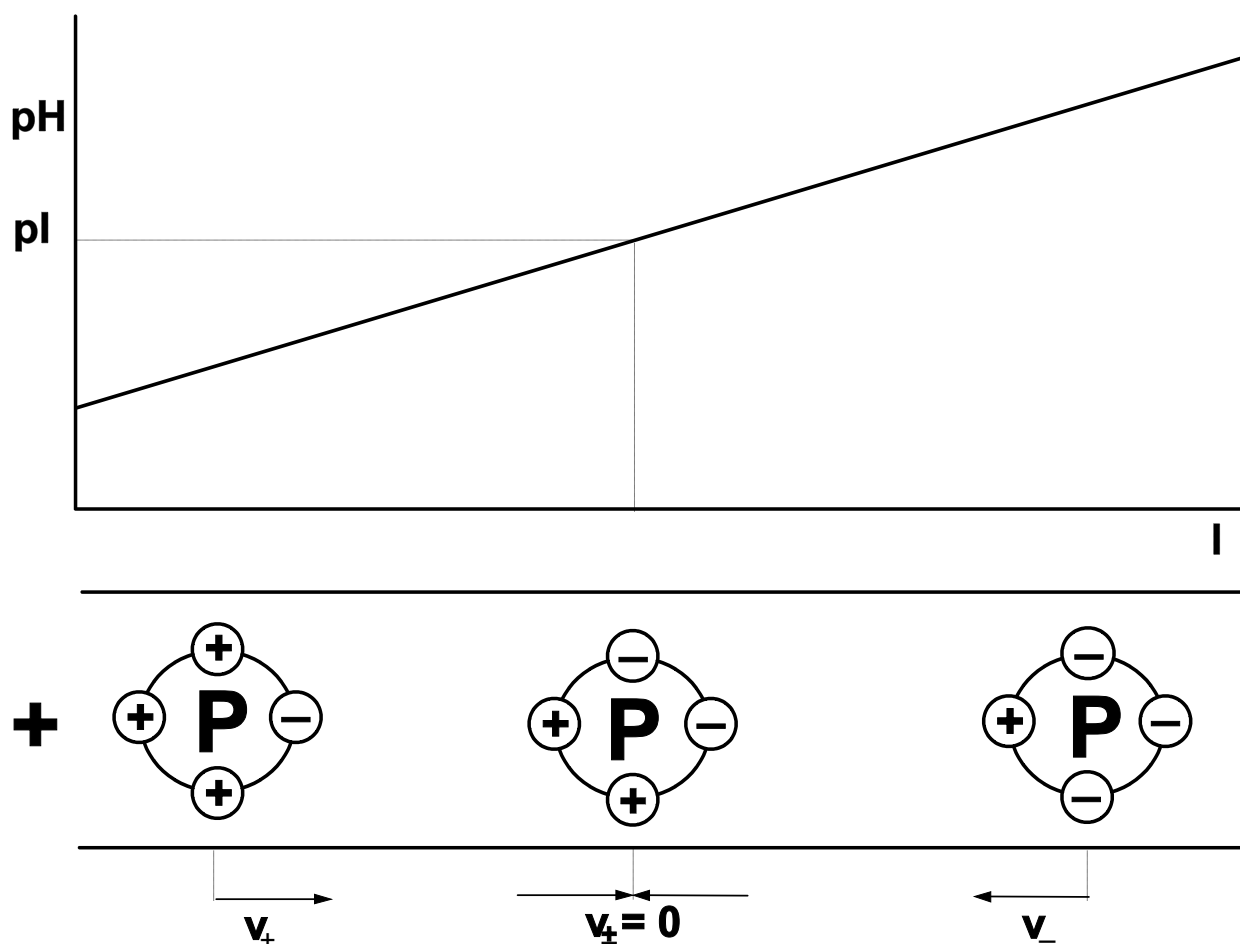


První práce publikované o kapilární gelové elektroforesi byly inspirovány klasickou gelovou elektroforesou, ve které probíhá separace ve struktuře v přírodě se vyskytujícího nebo uměle vyrobeného polymeru, který tvoří trojrozměrnou síť. Tyto systémy aplikované v kapilárním měřítku vykazovaly pro separace DNA enormně vysokou účinnost, přesahující v mnohých případech milion teoretických pater. Aplikace takovýchto 3D gelů (nejčastěji zesítený PAA) má však několik závažných nevýhod. Především je to malá reprodukovatelnost přípravy gelem plněných kapilár a jejich poměrně krátká životnost. Použitá gelová matrice nemusí mít však strukturu rigidního gelu, nýbrž i povahu roztoku lineárního polymeru. Pokud totiž koncentrace lineárních polymerů překročí určitou hranici (tzv. overlap threshold) dochází k vzájemné interakci řetězců lineárních polymerů a výsledná struktura umožňuje separovat molekuly podle velikosti podobně jako zesítená rigidní struktura gelu. Výhodou těchto tzv. „entangled polymerů“ je především fakt, že s roztoky lineárních polymerů se manipuluje podobně jako s běžnými elektrolyty používanými v CZE od kterých se liší pouze viskozitou. Jako lineární polymery se v CGE používají především lineární PAA a modifikované celulosy. Tento mód kapilární elektroforesy slouží k separaci makromolekul (proteinů, fragmentů nukleových kyselin). Makromolekuly od určité velikosti nelze totiž separovat pomocí volné zónové elektroforesy vzhledem ke konstantnosti poměru náboje a hmotnosti makromolekuly. Pro separace proteinů se většinou nepoužívají nativní proteiny, nýbrž jejich komplexy s SDS. Tyto komplexy eliminují rozdíly v efektivních nábojích závislých na pH a udílí proteinům konstantní poměr náboje ku hmotnosti. Separace takových komplexů je pak založena pouze na rozdílech ve velikosti molekul.

Principem kapilární isoelektrické fokusace (CIEF) je separace amfolytů v pH gradientu na základě rozdílných hodnot jejich isoelektrických bodů (pI). Princip je schematicky vysvětlen na obrázku 4. Vzorek (většinou protein) se aplikuje ve směsi se základním amfolytem, který obsahuje směs pokrývající spojitě kyselé, neutrální až zásadité amfolyty, jinými slovy pI hodnoty těchto amfolytů definují vytvořený gradient pH v kapiláře. Touto směsí se naplní celá separační kapilára. V některých případech se vzorkem plní pouze část kapiláry. V elektrodových nádobkách je na anodické straně kyselý roztok (nejčastěji kyselina fosforečná), zatímco na straně katodické roztok bazický (nejčastěji hydroxid sodný). Po aplikaci potenciálového spádu na kapiláru začnou kapilárou putující oxoniové a hydroxidové ionty reagovat s molekulami amfolytů a způsobí jejich migraci. Během migrace se snižuje efektivní pohyblivost (a tím i rychlost) amfolytů, protože neustále klesá celkový náboj amfolytu vlivem utvářejícího se gradientu pH, až amfolyt dosáhne místa v kapiláře, kde je jeho celkový náboj nulový a dále se už nepohybuje. Po určité době dojde k ustavení ustáleného stavu, ve kterém všechny amfolyty dosáhnou polohy v kapiláře odpovídající jejich isoelektrickému bodu ($\text{pH} = \text{pI}$). Ustálený stav se projeví poklesem proudu procházejícího kapilárou k nulové hodnotě. V tomto stavu není

ovšem možno provést detekci. Ta se provádí až po tzv. mobilizaci. Cílem mobilizace je průchod fokusovaných amfolytů detektorem. Lze toho dosáhnout např. aplikací tlaku, který vytlačí amfolyty ven z kapiláry přes detektor. Pokud to použité instrumentace dovolují provádí se tato mobilizace za současné aplikace napětí na kapiláru, což zaručuje, že amfolyty zůstanou fokusovány a nedojde k případnému difusnímu rozmytí fokusovaných zón. Jiným způsobem je tzv. chemická mobilizace, která se může provádět dvěma způsoby. Záměnou báze v elektrodové nádobce katody za kyselinu nebo záměnou kyseliny v elektrodové nádobce anody za bázi. Druhým způsobem chemické mobilizace je pak záměna jedné z elektrodových nádobek za roztok soli (např. NaCl). Pokud se roztokem soli nahradí anolyt, probíhá mobilizace směrem k anodě a naopak. Celá metoda kapilární isoelektrické fokusace má tedy dvě fáze a sice fázi vlastní fokusace a fázi detekce, která je v tomto případě vlastně synonymem mobilizace. Existují i postupy, kdy se celý proces provádí v jednom kroku. Jedná se o současné vložení napětí a tlaku na kapiláru, případně se využívá elektroosmotické mobilizace.

Obrázek 4: Schéma separace při isoelektrické fokusaci. Molekula proteinu (P) migruje v lineárním gradientu pH až dosáhne polohy s nulovým celkovým nábojem, kde se zastaví.



Vzájemná separovatelnost dvou látek je dána minimálním rozdílem pI hodnot dvou amfolytů vedoucí k rozlišení $R=1$. Platí, že

$$\Delta pI = 4 \left(\frac{D_i \frac{d(pH)}{dx}}{\left| \frac{du_i}{d(pH)} \right| E} \right)^{1/2}$$

Z rovnice vyplývá, že vysoké rozlišovací schopnosti CIEF je dosaženo minimalizací směrnice pH gradientu v kapiláře, aplikací vysokých potenciálových spádů na kapiláru, fokusací látek s nízkým difusním koeficientem a velkou změnou pohyblivosti v okolí svého isoelektrického bodu ($du_i/d(pH)$). Ve špičkových případech je možné rozlišit proteiny lišící se o 0,005 pI jednotek.

Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MEKC) je technika kombinující princip kapilární zónové elektroforesy a micelární kapalinové chromatografie. Ve své podstatě je to chromatografie s pohybující se pseudostacionární micelární fází a s elektroosmoticky pumpovanou mobilní fází. Schématicky je princip separace vysvětlen na obrázku 5. MEKC používá základní elektrolyt s vhodnou povrchově aktivní látkou v koncentraci vyšší, než je tzv. kritická micelotvorná koncentrace (CMC). Povrchově aktivní látka se v koncentracích nižších než CMC chová jako normální elektrolyt. Po překročení určité mezní koncentrace (CMC) dojde však k prudké změně několika fyzikálních vlastností jako jsou osmotický tlak, elektrická vodivost a povrchové napětí. Tyto změny jsou způsobeny tvorbou agregátů - micel. V hydrofilním (vodném) prostředí základního elektrolytu se orientují hydrofobní řetězce povrchově aktivních látek dovnitř micely, zatímco hydrofilní skupiny jsou orientovány vně do vodného prostředí. Micela určité povrchově aktivní látky je charakteristická počtem asociovaných molekul, kterému se říká agregační číslo. V takto vytvořené hydrofobní kavitě micely se mohou rozpouštět hydrofobní částice z analytu. Povrchově aktivní látka může být kationaktivní, anionaktivní nebo neionogenní. Aplikací potenciálového spádu na kapiláru dojde k migračnímu toku micel a k elektroosmotickému toku prostředí, který má zpravidla opačný směr a větší velikost. Výsledný separační princip je tedy složen z migrace částice ve volném roztoku a z distribuce částice mezi volným roztokem a micelární pseudofází. Tento mód kapilární elektroforesy tedy umožňuje separovat i částice, které nenesou náboj a zároveň je to mód kapilární elektroforesy, pro který je relevantní pojem retenční čas. Tak jako v chromatografii i v MEKC je definován pro analyzovanou složku její kapacitní faktor \tilde{k}' jako

$$\tilde{k}' = \frac{n_{mc}}{n_{aq}}$$

kde indexy látkových množství odpovídají micelární pseudofázi a vodné fázi základního elektrolytu. Kapacitní faktor tedy může nabývat hodnot od nuly do nekonečna. Nulová hodnota přísluší neutrálnímu analytu, který s micelární pseudofází neinteraguje, zatímco hodnota kapacitního faktoru nekonečno vyjadřuje skutečnost, že neutrální analyt je přítomen prakticky pouze v micelární pseudofázi. Retenční čas t_0 látek s nulovým kapacitním faktorem je potom

$$t_0 = t_{eo} = \frac{L}{u_{eo} E}$$

zatímco retenční čas látky s kapacitním faktorem nekonečno je $t_{mc} = \frac{L}{(u_{eo} + u_{mc}) E}$

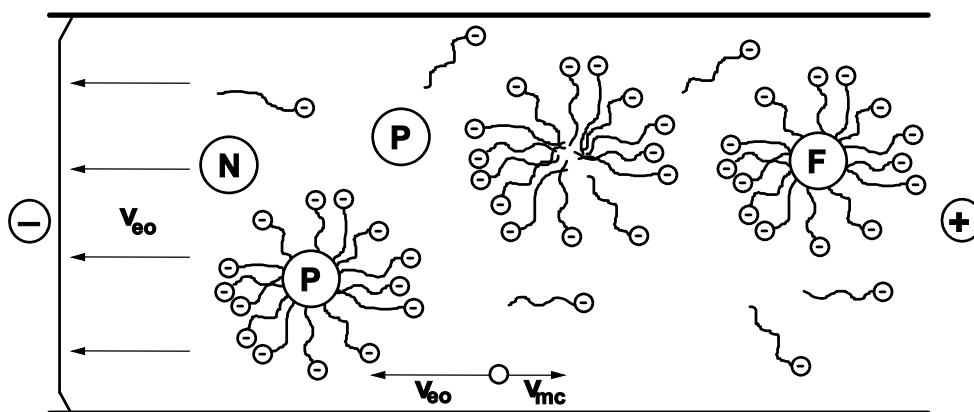
přičemž v obou případech je L efektivní délkou kapiláry (délka od dávkovacího konce k detektoru), u_{eo} je elektroosmotická pohyblivost a u_{mc} je pohyblivost micel.

Retenční čas neutrální látky, která se distribuuje mezi obě fáze je potom dán jako

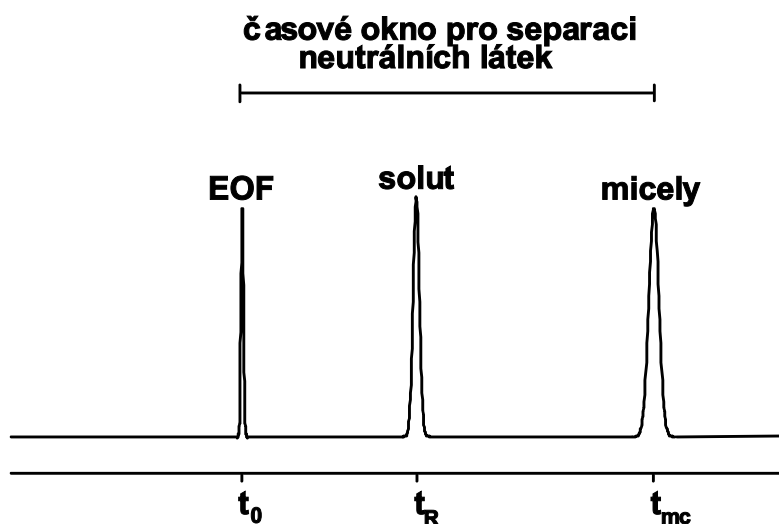
$$t_R = \frac{1 + \bar{k}'}{1 + (t_0 / t_{mc})\bar{k}'} t_0$$

Nadávkováním hydrofilního EOF markeru, který nebude interagovat s micelou spolu s markerem, který bude totálně retardován je tedy možné experimentálně zjistit časové okno (viz obrázek 6), ve kterém se eluují neutrální látky.

Obrázek 5: Schéma separace neutrálních látek v micelární elektrokinetické kapilární chromatografii. N = neutrální látka neinteragující s micelou, P = neutrální látka, distribující se mezi micelární pseudostacionární fází a základní elektrolyt, F = neutrální látka vyskytující se pouze v micelární fázi.



Obrázek 6: Schéma časového okna na elektroforegramu pro migraci neutrálních látek v MEKC.



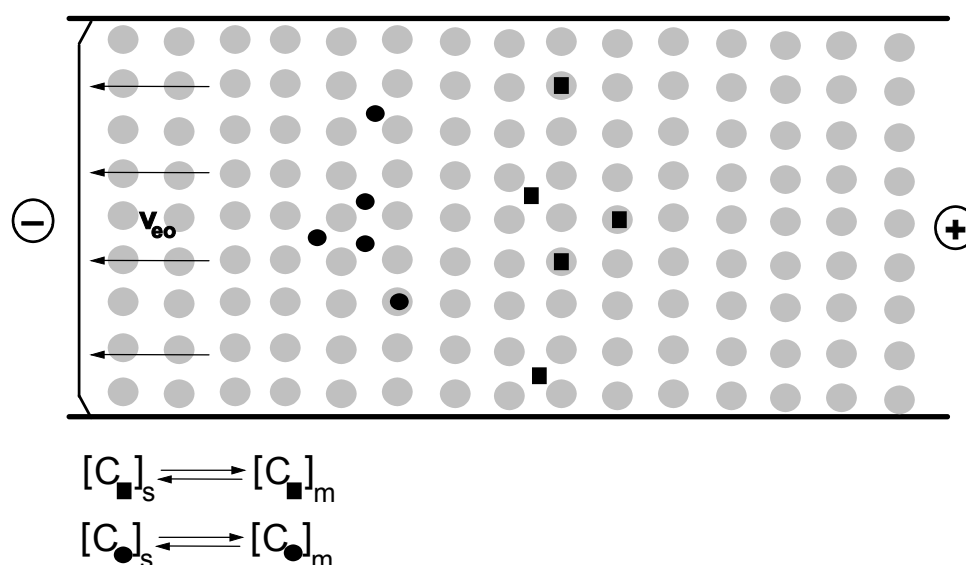
Rozlišení v MEKC je definováno vztahem

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{a-1}{a} \right) \left(\frac{\bar{k}'_2}{1 + \bar{k}'_2} \right) \left(\frac{1 - t_0 / t_{mc}}{1 + (t_0 / t_{mc})\bar{k}'_1} \right)$$

kde symbol a je tzv. separační faktor daný poměrem kapacitních faktorů obou separandů. MEKC byla vyvinuta pro stanovení neutrálních látek kapilární elektroforesou. Pro iontové částice přináší MEKC další separační rozměr. Částice, které se pohybují samy v elektrickém poli se mohou navíc ještě distribuovat mezi roztok základního elektrolytu a micely, čímž může být v řadě případů řešena separace látek, které se pouhou zónovou elektroforesou neseperují. Pokud tedy např. v MEKC s elektroosmotickým tokem ke katodě migrují i ionogenní látky, pak kationty mají migrační časy menší než t_0 jako v klasické CZE, zatímco anionty s efektivní pohyblivostí menší než je pohyblivost micel migrují v separačním okně pro neutrální látky ($t_0 < t_{an} < t_{mc}$). Anionty s efektivní pohyblivostí větší mají migrační časy větší než t_{mc} .

Kapilární elektrochromatografie (CEC) je módem kapilární elektroforesy který je svým principem nejbližší kapalinové chromatografii. Separační princip CEC je názorně vysvětlen na obrázku 7. Jediný rozdíl ve srovnání s kapalinovou chromatografií spočívá ve způsobu, jakým se přes kolonu nechává protékat mobilní fáze. Zatímco v kapalinové chromatografii způsobuje tok mobilní fáze tlakový rozdíl (vyvolaný většinou chromatografickou pumpou) u kapilární elektrochromatografie je tok mobilní fáze vyvolán aplikací vysokého napětí na kapiláru a je tedy totožný s elektroosmotickým tokem. Separace látek je dána jejich rozdílnou distribucí mezi stacionární fází, kterou je naplněna kapilára a fází mobilní.

Obrázek 7: Schéma principu separace v kapilární elektrochromatografii. Látky se distribuují mezi stacionární fází (s), kterou je naplněna kapilára a fází mobilní (m).



Elektrochromatografie má proti klasické kapalinové chromatografii tu výhodu, že elektroosmotický tok mobilní fáze má lineární rychlostní profil, což umožňuje dosahovat při separacích několikanásobně vyšších účinností. Použitím rozdílných náplní kapiláry je možné měnit selektivitu analyzovaných látek.

Pokud je prováděna analýza složky nacházející se vedle jiných složek, jež ji koncentračně o několik řádů převyšují, může být takováto analýza problematická jak z pohledu separačního, tak i z pohledu detekce. Vhodným řešením tohoto separačního problému je v řadě případů použití kapilární isotachoforesy jako představně kapilární zónové elektroforesy - kombinace kapilární isotachoforesa se zónovou elektroforesou (CITP-CZE). Kapilární isotachoforesa je ideální technikou dávkování pro kapilární zónovou elektroforesu. Umožňuje totiž nadávkovat v isotachoforetickém kroku velký objem vzorku,

který je zakoncentrován (podle složení vedoucího elektrolytu) do isotachoforetických zón. Makrosložky (až 10^6 násobném přebytku vzhledem k mikrosložkám) komplexní matrice mohou být odstraněny mimo další separační trasu a do zónové elektroforesy mohou tak být nadávkovány minimální objemy zakoncentrovaných minoritních složek, které mají být stanoveny. Ve vhodně zvoleném základním elektrolytu (se zpravidla stejným koiontem jako je koncový ion isotachoforetického stupně) se dosáhne účinné separace analyzovaných složek. Tímto uspořádáním (CITP-CZE) lze dosáhnout detekčního limitu v řádu až 10^{-8} mol/l.

Aplikace CE v analýze krmiv

Aplikace CE nacházejí uplatnění především v biochemii, farmacii, v analýze životního prostředí a částečně i v analýze potravin. Analýza krmiv ještě donedávna nebyla typickou aplikační oblastí CE, nicméně v poslední době lze i v této oblasti sledovat nárůst publikací.

Krmivem se nazývají látky rostlinného, živočišného nebo minerálního původu, nebo jejich směsi, které v obvyklých dávkách nepůsobí škodlivě na zdraví hospodářských zvířat ani na kvalitu jejich produktů (maso, mléko, vejce apod.). Jsou to např. suroviny, kompletní a doplňkové krmné směsi, minerální nebo minerálně vitaminové směsi, premixy anorganických a organických látek nebo látek se specifickými biologickými účinky. Z analytického hlediska představuje krmivo komplexní a značně heterogenní matici, což výrazně komplikuje analytické stanovení látek v něm obsažených. Vzhledem ke skutečnosti, že běžné neionogenní složky potravin jako jsou sacharidy, škrob, vláknina a další neruší elektroforetickou analýzu, je tato metoda v řadě případů velmi vhodná pro stanovení ionogenní látek. Další výhodou je potřeba minimální úpravy vzorku před analýzou (ředění a filtrace u kapalných vzorků či extrakce u vzorků pevných), což snižuje pracnost analýz. Separace ve volném roztoku v kapiláře eliminuje v mnoha případech nežádoucí interakce analytu s nosičem jak tomu bývá u chromatografických technik a tím se dosahuje velmi dobré reprodukovatelnosti analýz.

Pro přehlednost budou látky stanovené metodami kapilární elektroforesy rozděleny do třech hlavních skupin:

- ✓ přirozené látky v krmivech (alkalické kovy a kovy alkalických zemin, anorganické anionty, organické kyseliny, aminokyseliny, biogenní aminy, bílkoviny, antinutriční látky a toxiny),
- ✓ krmivářská aditiva (esenciální aminokyseliny, ve vodě rozpustné vitaminy, antioxidanty, acidifikátory, konzervační látky, růstové stimulatory),
- ✓ cizorodé látky (biocidy, těžké kovy, některé anorganické anionty).

Kapilární elektroforesa byla taktéž využita pro hodnocení homogenity krmných směsí přes stanovení minoritních složek jako je přidáný lysin, cholin, halofuginon, aj.

IONOSEP (výrobce Recman-laboratorní technika, Ostrava, ČR) je analyzátor konstruovaný pro analýzy na principu isotachoforesy (jednokapilárový analyzátor IONOSEP 2003), dvourozměrné isotachoforesy nebo kombinace CITP-CZE (dvoukapilárový analyzátor IONOSEP 2002 a 2004).

IONOSEP 2003 je přístroj určený pro analýzy ionogenních materiálů na principu kapilární izotachoforézy (ITP). Slouží ke stanovení iontů, kyselin a zásad, včetně některých aminokyselin v roztocích. Umožňuje stanovení několika až mnoha složek jedinou analýzou v krátkém čase. IONOSEP 2003 se od staršího modelu IONOSEPU 2001 liší především v tom, že separační systém je uložen vertikálně, čímž se lépe vymývají vzduchové bubliny v systému a tak se omezuje možné přerušení analýzy vlivem překročení

vysokého napětí. IONOSEP 2003 má rovněž zcela novou konstrukci 6-ti cestného dávkovacího kohoutu. Kohout má pouze dvě polohy, kdy v jedné poloze probíhá plnění systému vedoucím a zároveň koncovým elektrolytem a vzorkem a v druhé poloze pak probíhá analýza. Navíc zde odpadají problémy s odkapáváním koncového elektrolytu, protože nová konstrukce dávkovacího kohoutu nemá rezervoár koncového elektrolytu. Koncový elektrolyt je dávkován pro každou analýzu samostatně. Tento způsob plnění má rovněž i výhodu v tom, že pokud dojde k případnému znečištění koncového elektrolytu, tak vzniklá vlna nečistoty je konstantní pro každou jednotlivou analýzu a lze s ní při vyhodnocení analýzy počítat. U IONOSEPU 2001, kde je použit dávkovací kohout s rezervoárem koncového elektrolytu se vlna nečistoty s počtem analýz zkracuje.

IONOSEP 2003 je vybaven 10-ti pozičním automatickým měničem vzorků. Tento měnič vzorků se dá používat odděleně od ITP analyzátoru, což je výhodou při práci v terénu. S použitím UPS – záložního zdroje a řídicím notebookem lze ITP analyzátor provozovat až 40 hodin = až 150 analýz v terénu mimo mateřskou laboratoř. Podobně jako IONOSEP 2001 je IONOSEP 2003 zkonstruován jako plně automatický analyzátor. Veškeré práce, včetně dávkování, průběhu analýz, sběru dat a vyhodnocování jsou řízeny počítačem. Podobně jako u IONOSEPU 2001 je zde použit bezkontaktní vysokofrekvenční detektor, který se svými parametry plně vyrovná kvalitnímu vodivostnímu detektoru a přitom odstraňuje jeho nedostatky spojené s nesouměrností a se znečištěním elektrod. Jeho unikátní konstrukce je dílem Přírodovědecké fakulty UK Praha a je na něm uplatněno několik patentů. Jeho životnost je prakticky neomezená a díky autokalibrační smyčce po celou dobu dává konstantní výsledky. IONOSEP 2003 je zařízení pracující ve spolupráci s nadřazeným počítačem pod operačním systémem WINDOWS 95/98/2000/XP.

Veškerá uživatelská komunikace s přístrojem probíhá pomocí programového vybavení na nadřazeném počítači formou menu a nápověd. Uživatel si nastaví z široké nabídky možných analýz parametry IONOSEPU, vloží jednotlivé roztoky a vzorky do přístroje a další činnost je již plně automatická. O postupu vlastních analýz je pak průběžně informován na obrazovce počítače, včetně vykreslení izotachforegramu vzorku, identifikace a matematického zpracování jednotlivých zón a následného tisku protokolu.

IONOSEP 2002/2004 je automatický analyzátor se spojenými kapilárami osazený třemi vodivostními vysokofrekvenčními bezkontaktními detektory - dva slouží pro vyhodnocení izotachforetické separace (ITP detektory) a třetí pro vyhodnocení separace na principu zónové elektroforézy (CZE detektor). V případě IONOSEPU 2002 je místo třetího vodivostního detektoru osazen UV-VIS detektor umožňující analýzu látek absorbujících v oblasti spektra 200 – 600 nm. První vodivostní detektor je umístěn na předseparační kapiláře. Vnitřní průměr jeho měřicí cely je 510 μm a umožňuje stanovit makrosložky separované s detekčním limitem stanovení látek jednotky až desítky mg/l. Součástí tohoto detektoru je tzv. spojovací blok kapilár, který jednak spojuje předseparační kolonu s analytickou, ale rovněž umožňuje „odstranění vybraných přebytečných makrosložek ze separační trasy tak, aby negativně neovlivňovaly stanovení mikrosložek v analytické koloně (zejména v módu ITP-CZE). Analytickou kolonu tvoří křemenná kapilára o světlosti 250 μm a celkové délce 340 mm. Na této kapiláře jsou umístěny dva detektory – ITP a CZE detektor. Konstrukční řešení analytické kapiláry umožňuje posouvání obou detektorů po kapiláře a tím stanovit jejich optimální umístění pro sběr dat. Tímto uspořádáním – a to pouhým posunutím detektoru - takto nastavíme optimální délku analytické kolony v rozmezí od 70 do 340 mm, aniž bychom museli tuto kolonu mechanicky měnit.

Spojení dvou kolon – předseparační a analytické umožňuje pracovat v několika módech:

- kapilární izotachoforéza (CITP)
- dvourozměrná kapilární izotachoforéza (2D - CITP)

- kombinace kapilární izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy (CITP - CZE)

Spojením dvou kolon, a to zejména v módu kombinace kapilární izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy lze dosáhnout velké citlivosti, kdy se detekční limity u mikrosložek pohybují v jednotkách $\mu\text{g/l}$. IONOSEP 2004, jako ostatně všechny analyzátoři IONOSEP, umožňuje plně automatizovaný provoz, kde všechny úkony jako je dávkování vzorku a plnění systému elektrolyty, řízení analýzy při separaci látek, sběr dat a následné vyhodnocení analýzy vč. tisku protokolu je řízeno osobním počítačem.

Seznam aplikací analyzátořů IONOSEP v analýze krmiv je uveden v následující tabulce.

Závěr

Kapilární elektroforesa (zvláště pak isotachoforesa a její on-line spojení s kapilární elektroforesou) je mocný nástroj zvláště pro analýzu látek, které neabsorbují v UV či viditelné části spektra. Typickým příkladem jsou alkalické kovy a kovy alkalických zemin, anorganické i organické kyseliny a jiné. Díky zakoncentrovávacímu efektu isotachoforesy lze dosáhnout detekčních limitů až 10^{-8} mol/l a to bez složité úpravy vzorku. Velmi užitečnou technikou je spojení kapilární isotachoforesy se zónovou elektroforesou kdy CITP slouží jako předseparační krok (zakoncentrování a oddělení nežádoucích složek vzorku) a CZE umožňuje účinnou separaci minoritních analytů vzorku. S použitím analyzátořů IONOSEP je možné stanovit řadu nutričně významných složek krmiv.

Zájemce o tuto techniku odkazují na přehledné články [1, 2, 3] či na internetové stránky [4,5].

Použité zkratky

BALA = beta-alanin; BTP = 1,3-bis[tris(hydroxymethyl)methylamino]propan, bis-tris-propan; EACA = 6-aminokapronová kyselina; GLYGLY = glycyglycin; HEC = hydroxyethylcellulosa; HIS = histidin; HPMC = hydroxypropylmethylcellulosa; MES = morfolinethansulfonová kyselina, MHEC = methylhydroxyethylcellulos; TRIS = 1,1,1-Tris (hydroxymethyl)-aminomethan; PVP = polyvinylpyrrolidon; SPE = extrakce na tuhou fázi (solid phase extraction)

Použitá literatura

Blatný, P., Kvasnička, F.: Czech J. Anim. Sci., 44 (1999) 277 – 288.

Blatný, P., Kvasnička, F.: J. Chromatogr., 834 (1999) 419 – 431.

Kvasnička, F.: Electrophoresis, 21 (2000) 2780 – 2787.

<http://www.recman.cz>

http://www.vscht.cz/ktk/www_324/staff/FK/cz/default.htm

Použití analyzátoru IONOSEP v analýze krmiv

analys	Elektroforetický mód/detekce	Elektrolytový systém	Vzorek	Úprava vzorku
NH ₄ , K, Na, Ca, Mg	CITP/vodivostní	LE: 7.5 mM H ₂ SO ₄ + 7 mM 18-crown-6 + 0.05 % HPMC TE: 5 mM BTP + 10 mM kapronová kyselina	Siláže, doplňky krmiv, různé krmné směsi	Extrakce vodou nebo 0.1 M HCl, ředění, filtrace
Fe	CITP-CZE/UV při 254 nm	LE: 10 mM HCl + 14 mM BALA + 0.05% HPMC TE: 10 mM octová kyselina BGE: 100 mM octová kyselina + 20 mM BALA + 0.05% HPMC	Pitná voda, různé krmné směsi	Přídavek EDTA
Těžké kovy (Cd, Cu, Pb, Zn) + Al	CITP/ vodivostní	LE: 30 mM NH ₄ Ac + 10 mM glykolová kyselina TE: 5 mM octová kyselina	Pitná voda, různé krmné směsi	Extrakce na tuhou fázi (Spheron OXIN 1000)
Chlorid, bromid, jodid, síran	CITP/ vodivostní	LE: 6 mM Cd(NO ₃) ₂ TE: 10 mM vinná kyselina	Pitná voda	žádná
Dusitan, dusičnan, síran, siřičitan, fosforečnan	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 10 mM BALA + 3 mM BTP + 0.05% HPMC TE: 10 mM citronová kyselina	Pitná voda, různé krmné směsi	Ředění, extrakce vodou nebo 0.1 M HCl
Bromičnan, chlorečnan, chloritan	CITP-CZE/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 20 mM BALA + 0.05% HPMC TE: 10 mM jantarová kyselina BGE: 10 mM jantarová kyselina + 5 mM BALA + 0.05% HPMC	Pitná voda	žádná
Fosforečnan (některé organické kyseliny)	CITP/ vodivostní	LE: 5 mM HCl + GLYGLY, pH 2.8 TE: 10 mM kapronová kyselina	různé krmné směsi	Extrakce horkou vodou, filtrace
Fluorid	CITP/ vodivostní	LE: 2 mM HCl + 5 mM EACA + 0.05% HPMC TE: 2 mM vinná kyselina	krmné směsi, různé krmné směsi	Mikrodifuze z 25% chloristé a zachycení do 0.5 M NaOH
Jodid	CITP/UV při 254 nm	LE: 10 mM HCl + HIS + 0.2% HEC + 6% PVP, pH 6 TE: 10 mM MES + HIS, pH 6	Pitná voda	Přídavek síranu a fluoridu (diskrétní spacery)
Organické kyseliny (mléčnan, octan, jantaran, propionan, máselnan)	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 22 mM EACA + 0.05% HPMC TE: 10 mM kapronová kyselina	Siláže, různé krmné směsi	Extrakce vodou, ředění, filtrace

Analyt	Elektroforetický mód/detekce	Elektrolytový systém	Vzorek	Úprava vzorku
Organické kyseliny (citronová, benzoová, mravenčí, fumarová, mléčná, jablečná, fosforečná, vinná)	2D-CITP/ vodivostní a UV při 254 nm	LE1: 10 mM HCl + 5.6 mM BTP + 0.05% MHEC LE2 : 20 mM HCl + 30 mM glycin + 20 mM beta-cyklodextrin + 0.05% MHEC TE :5 mM kapronová kyselina	krmné směsi a doplňky	Extrakce vodou, ředění, filtrace
Organické kyseliny (mléčná, jantarová, beta-hydroxymáselná)	2D-CITP/ vodivostní	LE1: 10 mM HCl + 20 mM BALA + 0.05% MHEC LE2 : 5 mM HCl + 20 mM BALA + 0.05% MHEC TE :5 mM kapronová kyselina	vejce	Extrakce vodou, ředění, filtrace nebo odstředění
Fytová kyselina a fosforečnan	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 5.6 mM BTP + 0.05% HPMC, pH 6.1 TE: 10 mM MES	Obiloviny, luštěniny, různé krmné směsi	extrakce 3.5% HCl, filtrace, ředění
Methionin (volný)	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM HCl + 20 mM arginin + 0.1% PVP TE: 10 mM valin+ Ba(OH) ₂ do pH 10	krmné směsi a doplňky	Extrakce vodou, ředění, filtrace
Lysin, arginin, ornithin (volný nebo vázaný)	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM KOH + 20 mM valin + 0.05% HPMC TE: 10 mM Tris + HCl do pH 8.3	krmné směsi a doplňky	Extrakce nebo alkalická hydrolyza hydroxidem barnatým, neutralizace, ředění, filtrace
Histamin	CITP/ vodivostní	LE: 10 mM KOH + 20 mM valin, pH 9.9 TE: 20 mM Tris + HCl, pH 8.3	Rybí moučka, různé krmné směsi	extrakce 0.01 M HCl
Glukosinoláty (sinalbin, sinigrin)	CITP/ vodivostní a UV při 254 nm	LE: 10 mM HCl + 20 mM GLYGLY + 0.05% HPMC TE: 10 mM octová kyselina	Hořčičné semena, různé krmné směsi	Extrakce horkou vodou
Glykoalkaloidy (chaconin, solanin)	CITP/ vodivostní	LE: 2 mM HCl v methanol TE: 5 mM Zn(NO ₃) ₂ v methanol	brambory, různé krmné směsi	Extrakce methanolem, SPE zakoncentrování

Nové technologie a ošetřování silážních prostor v Severní Americe

B. J. Holmes

Profesor a odborný poradce, Biological Systems Engineering, University of Wisconsin-Madison

Proč je udusání sila TAK důležité

Při dusání siláže je vzduch obsažený v silážované hmotě vytěsňován ven. To tedy znamená, že se množství vzduchu v silážované hmotě snižuje, takže klesá aktivita těch aerobních mikroorganismů, které přítomné cukry rozkládají na oxid uhličitý a vodu. Při této reakci je také uvolňováno teplo, takže dochází k záhřevu silážované píce a ke ztrátám sušiny.

Poměr mezi objemem pórů a celkovým objemem silážované hmoty je označován termínem poréznost anebo porozita. Vysoce porézní píce umožňuje snadný průnik vzduchu do ukládané hmoty. V důsledku této výměny plynů proniká kyslík při fermentaci, během skladování a při vybírání siláže dovnitř uložené hmoty. Kontakt se vzduchem omezují jednak stěny silážního prostoru a jednak plastová fólie, která kryje povrch uložené siláže. Materiály používané k utěsnění silážního prostoru však proti průniku kyslíku neposkytují stoprocentní ochranu. Trhliny a díry (a také permeabilita použitého krycího materiálu) umožňují, aby kyslík pronikal dovnitř silážního prostoru. Čelo vybíraného silážního prostoru je přitom v kontaktu se vzduchem vždy. Je-li siláž dobře udusána a je-li plocha vybíraného čela siláže hladká a nečlenitá, je pronikání kyslíku do porézní silážní hmoty výrazně omezeno. Dobře udusaná siláž tento průnik kyslíku omezuje a tím snižuje ztráty sušiny a zvyšuje trvanlivost krmiva.

Mají-li aerobní mikroorganismy možnost působit po delší časové údobí, dochází k dramatickému nárůstu populací bakterií, nižších hub, plísní a kvasinek. Během tohoto procesu probíhá rozklad cukrů, škrobu a organických kyselin, čímž narůstá pH a zvyšuje se obsah vlákniny, dusíkatých látek, amoniaku. Uvolňované teplo pak snižuje hladinu dostupných bílkovin.

Pitt (1983) (In: Pitt 1990), prokázal, že i v dobře utěsněných silážích dochází při špatném udusání a vysokém obsahu sušiny k nárůstu teploty (tab. 1).

Udusaná hmota s nižší sušinou je méně permeabilní a pronikání kyslíku odolává lépe než hmota neudusaná a s vysokým obsahem sušiny.

Tabulka 1: Nárůst teploty (°C) po dobrém utěsnění sila při různém stupni udusání a různém obsahu sušiny (Pitt, 1983)

Specifická hmotnost (kg/m ³)	Obsah sušiny (%)					
	20	30	40	50	60	70
320,4	2,7	2,9	3,3	3,8	4,3	5,0
380,6	1,4	1,6	1,8	2,1	2,4	2,8
640,8	0,8	0,9	1,0	1,2	1,4	1,7
801,0	0,4	0,4	0,6	0,7	0,8	1,0
961,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,6

Při posuzování 19 silážních jam zjistil Ruppel (1992) po 96 denním skladování, že ztráty sušiny jsou funkcí měrné hustoty. Podle jeho zjištění se průměrná ztráta sušiny pohybuje kolem 2,5% za měsíc. Autor této práce přepočtl ztráty sušiny vypočtené Ruppel na ztrátu za 1 den a vypočtenou hodnotu pak vynásobil 180 dny, aby odvodil vztah mezi měrnou hustotou silážní hmoty a ztrátou sušiny za 180 denní období. Tato rovnice má tvar

$$\text{Ztráta sušiny (\%)} = 29,1 - 0,936 \times \text{hmotnost sušiny (kg/m}^3\text{)}$$

Z Ruppelových výsledků i z údajů dalších autorů pak vyplývá, že ztráta sušiny (a tím také pokles kvality krmiva) je nepřímo úměrná měrné hmotnosti siláže.

Faktory ovlivňující měrnou hmotnost siláže

Obsah sušiny v silážním prostoru ovlivňuje celá řada faktorů a proto je velmi obtížné odvodit takovou matematickou rovnici, která by měrnou hmotnost popisovala přesně jako funkci těchto faktorů. V tab. 2 jsou uvedeny výsledky výzkumu a demonstračních projektů, zaměřených na studium faktorů, ovlivňujících měrnou hmotnost siláží ve věžových silech a silážních žlabech. Symbol + označuje studie, ve kterých byla zjištěna kladná závislost měrné hmotnosti silážní hmoty na studovaném faktoru. Symbol – označuje situaci, kdy měrná hmotnost siláže klesala, jestliže se hodnota příslušného faktoru zvyšovala. Symbol ● znamená, že vliv daného faktoru byl sledován, avšak neměl na měrnou hmotnost siláže žádný vliv.

V dřívějších studiích, ve kterých bylo dusání nedokonalé, byl pozorován růst měrné hmotnosti silážní hmoty se zvyšováním obsahu vody v silážované píce, i když měrná hmotnost sušiny se neměnila. Vzestup měrné hmotnosti siláže byl v tomto případě způsoben hlavně vyšší hmotností vody v silážní hmotě obsažené.

Messer & Hawkins (1977b) zjistili, že měrná hmotnost siláže roste se zvyšujícím se podílem vody, ale měrná hmotnost sušiny se neměnila a pohybovala se v rozmezí 125-152,2 (kg/m³). Tito autoři také zjistili, že kukuřičná siláž má nižší měrnou hmotnost než fermentované seno o stejném obsahu vody po 18 dnech fermentace.

Maximální průměrná hmotnost 273,9 (kg/m³) naměřená v hloubce 21,3 m siláže je nižší než v některých silážních žlabech, kde byly k dusání použity těžké traktory. Z toho vyplývá, že aktivním dusáním siláží, i když jsou uskladněny v nižších vrstvách, se dosáhne větší měrné hmotnosti než pouhým působením gravitace.

Údaj o měrné hmotnosti „v hloubce“ v tabulce 3 je předpokládaná hodnota, jaké se dosáhne na spodku sloupce siláže o dané výšce. Tato hodnota se zvyšuje s výškou sloupce a je vyšší, než je průměrná měrná hmotnost sloupce. Většinou se pohybuje v rozmezí hodnot zjišťovaných na dně silážních žlabů, avšak u některých aktivně dusaných siláží je měrná hmotnost sušiny vyšší než 312,4 (kg/m³).

Tabulka 3: Měrná hmotnost siláže a ekvivalent hmotnosti traktoru ve věžovém silu podle normy ASAE D252.1

Výška siláže (m)	Prům. měrná hmotnost (kg/m ³)	Měrná hmotnost sušiny [30%] (kg/m ³)	Měrná hmotnost v hloubce (kg/m ³)	Měrná hmotnost sušiny [30%] (kg/m ³)	Tlak sloupce silážní hmoty ((kg/m ³))	Ekvivalent* hmotnosti traktoru (kg)
3,1	608,8	182,6	785,0	235,5	267,178	2 086,5
6,1	720,9	216,3	881,1	264,3	632,790	4 898,8
9,1	785,0	235,5	929,2	278,7	1 033,557	7 883,2
15,2	865,1	259,5	992,3	298,0	1 898,370	14 696,4
21,7	913,1	273,9	1041,3	312,4	2 791,307	21 591,0

Pozn.: Čtyřkolový traktor, kontaktní plocha na 1 kolo 0,46 m × 0,61 m

Pro ilustraci tlaků, vyvíjených při dusání siláže ekvivalentem hmotnosti traktoru „v hloubce“, bylo provedeno několik výpočtů, jejichž výsledky jsou shrnuty v tabulce 3. Tlak byl vypočten vynásobením průměrné měrné hmotnosti (PMH) pro danou hloubku výškou sloupce siláže. Tak například

$$\text{hloubka } 6,1 \times 720,9 \text{ (kg/m}^3\text{)} = 4\,397,5 \text{ kg/m}^2$$

Předpokládaná kontaktní plocha kol traktoru byla 0,46 m × 0,61 m na jedno kolo. Hodnota ekvivalentní hmotnosti traktoru pro hloubku 6,1 m použitá v tabulce 3 byla vypočtena takto:

$$\text{Hmotnost traktoru (kg)} \quad 4\,397,5 \text{ kg/m}^2 \times 0,28 \text{ m}^2/\text{kolo} \times 4 \text{ kola} = 4\,925,2 \text{ kg}$$

Jelikož moderní traktory používané k dusání jsou těžší než 7 883,2 kg, dá se očekávat, že průměrná měrná hmotnost sušiny siláže bude vyšší než 235,5 kg/m³, kterou je možno dosáhnout při slehnutí sloupce siláže vysokého 9,1 m působením gravitace.

Jofriet & Zhao (1990) navrhli pro výpočet měrné hmotnosti sušiny v závislosti na hmotnosti traktoru (v tunách) vztah

$$\text{Měrná hmotnost sušiny (kg/m}^3\text{)} = 200 + 4 \times m$$

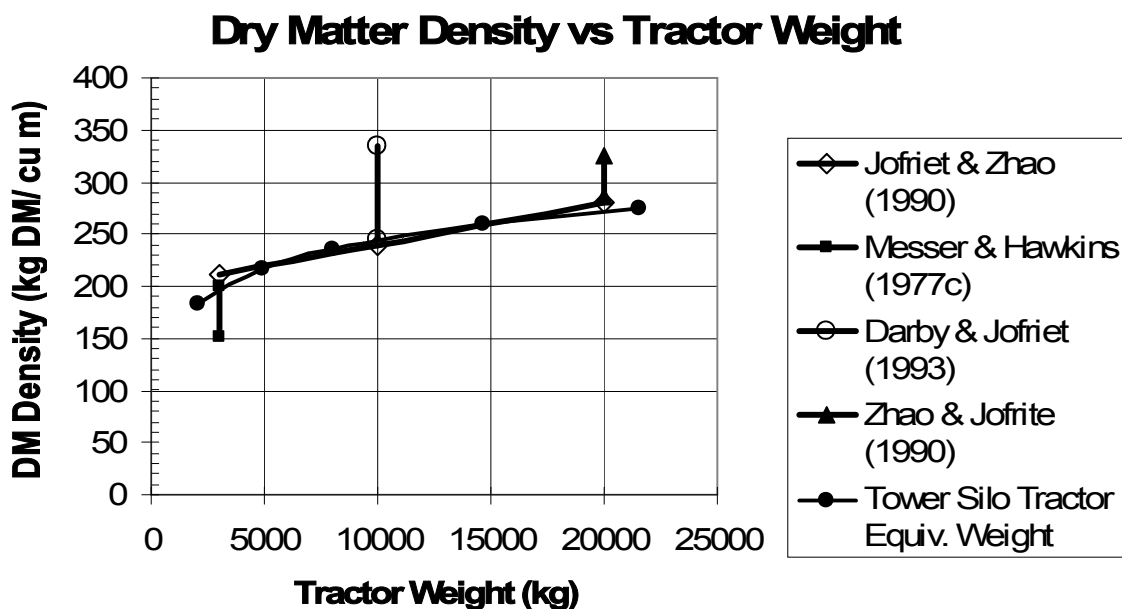
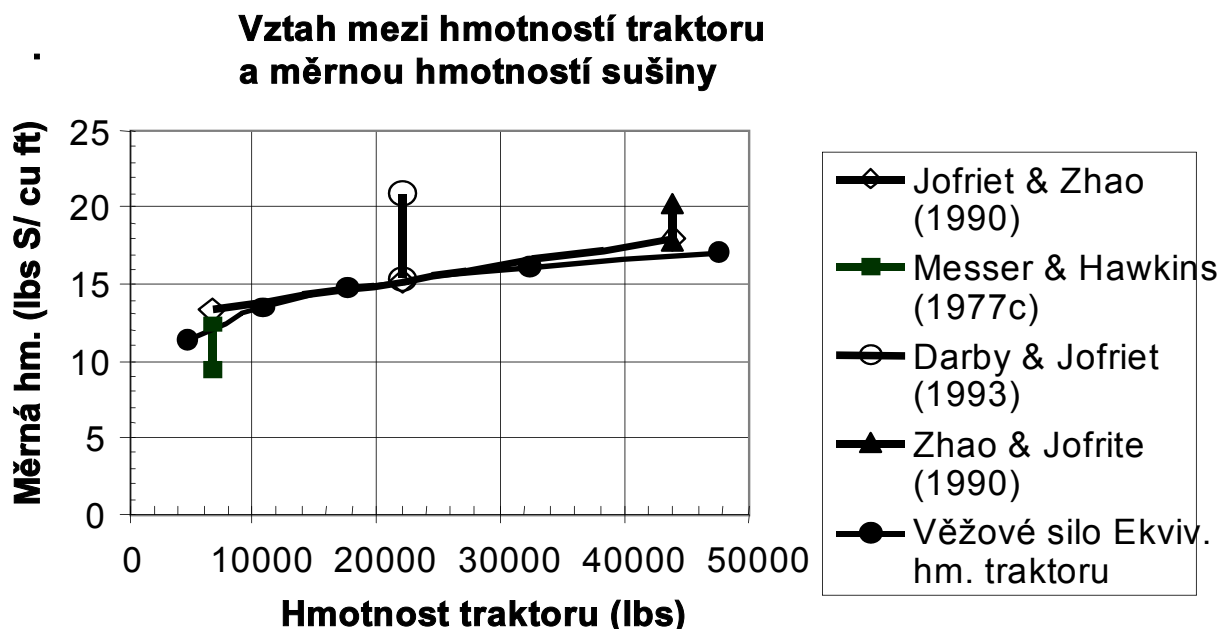
Graficky je tento vztah znázorněn na obr. 1, přičemž se vycházelo z hmotnosti traktorů, používaných při výzkumu dusání siláží. Messer & Hawkins (1977c) použili traktor o hmotnosti 3 000 kg, Darby & Jofriet (1993) 10 000 kg a Zhao & Jofriet (1990) pracovali s traktorem o hmotnosti 20 000 kg. V grafu 1 je rovněž znázorněn vztah mezi dosaženou měrnou hmotností a ekvivalentem hmotnosti traktoru z tabulky 3. Rovnice Jofrieta & Zhao pravděpodobně podhodnocuje měrnou hmotnost u dvou ze tří použitých traktorů, ale dosti přesně vystihuje ekvivalent hmotnosti traktoru odpovídající měrné hmotnosti dosažené gravitačním působením sloupce siláže ve věžovém silu.

Muck & Holmes (2000) sledovali měrnou hmotnost travních siláží o zvýšené sušině a kukuřičných siláží uskladněných ve 168 silážních žlabech. Vzorky odebírali ze čtyř míst u dna silážního žlabu. Na základě svých pozorování dospěli k závěru, že nejdůležitějšími faktory, které měrnou hmotnost ovlivňují, jsou výška vrstvy siláže, hmotnost traktoru, výška vrstvy píce před dusáním a doba dusání přepočtená na tunu materiálu. Výsledky této studie byly převedeny do uživatelsky přístupné formy pomocí tabulkového procesoru a jsou k dispozici ke stažení na webové stránce University ve Wisconsinu

<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/storage.htm>

Tento program využívá mnoho poradců pracujících v zemědělství jako učební pomůcku při vysvětlování možností, jak lze pomocí dusání zvýšit měrnou hmotnost siláže a její kvalitu.

Obrázek 1: Vliv hmotnosti traktoru na měrnou hmotnost sušiny siláže



Muck aj. (2004b) testovali zhutňování vojtěškové siláže jedním či dvěma přejezdy traktoru o hmotnosti 6 500 kg (4,52 min/t sušiny vs. 5,92 min/t sušiny). Tloušťka dusaných vrstev byla v průměru 0.26 m, svrchní vrstvy asi 0,2 m. Obsah sušiny kolísal v širokém rozmezí od 24,8% do 76,6% , v průměru činil asi 42,7%. Zejména prvních dvanáct vrstev mělo vysoký obsah sušiny (>50% S). Na základě celkové hmotnosti a objemu silážního

prostoru byla vypočtena měrná hmotnost sušiny 301,2 (kg/m³) při jednom přejezdu a 291,6 (kg/m³) při přejezdu dvojnásobným. Údaje o měrné hmotnosti sušiny zjišťované odběrem z různých míst silážního žlabu jsou shrnuty v tab. 4.

Tabulka 4: Měrná hmotnost vojtěškové siláže v závislosti na výšce od dna a frekvenci přejezdu traktorem (Muck, aj., 2004b)

Datum odběru 18.12. 2003			Datum odběru 3.2.2004		
Výška nad dnem (m)	1x	2x	Výška nad dnem (m)	1x	2x
----- Měrná hmotnost (kg/m ³) -----					
0,49	370,1	362,1	0,49	298,0	301,2
1,19	282,0	293,2	1,10	357,2	324,4
1,89	269,1	246,7	1,58	225,9	270,7
2,59	169,8	225,9	2,19	253,1	304,4
3,29*	168,2	185,1	2,71*	163,4	195,4
Průměr	253,1	262,7	Průměr	259,5	278,7

Pozn.: 0,5 m pod povrchem siláže

Průměrná měrná hmotnost při dvojnásobném přejezdu byla vyšší než při přejezdu jedním, a to jak při prvním, tak také při druhém odběru vzorků. Spodní vrstvy byly ztuhlejší přibližně stejně, dvojnásobný přejezd však zvýšil měrnou hmotnost siláže ve vrstvách blíže k povrchu. Tento rozdíl byl pozorován při obou odběrech. 3. února byla odebírána siláž v blízkosti zadní stěny siláže, což do jisté míry omezovalo pojezd traktoru. Siláž odebíraná z těchto míst měla podstatně nižší obsah vody než v ostatních částech silážního žlabu, a to by mohlo vysvětlovat nerovnoměrné změny měrné hmotnosti v závislosti na vzdálenosti ode dna. Dosažené výsledky naznačují, že dvojnásobný pojezd traktorem by bylo možno omezit pouze na horní vrstvy silážované hmoty, kde dochází ke zvýšení měrné hmotnosti sušiny v průměru o 40 kg/m³. Stojí také za zmínku, že hodnoty měrné hmotnosti dosažené v tomto sledování byly podstatně vyšší než kolik činí doporučená hmotnost (224,3 kg/m³). To lze přičíst pravděpodobně tomu faktu, že na přípravu siláže byl dostatek času, neboť hmotnost traktoru použitého pro dusání byla poměrně nízká.

Muck, aj. (2004b) studovali vliv hmotnosti traktoru na měrnou hmotnost siláže celých rostlin kukuřice. Při plnění jednoho silážního žlabu použili traktor o hmotnosti 6 500 kg zatímco u druhého byl použit traktor o hmotnosti 9 700 kg. Na začátku silážování byl čas pro navrstvení a udusání asi 1,42 min/t sušiny u lehčího traktoru a 1,63 min/t u těžšího traktoru. Na konci plnění byl obdobný čas u lehčího traktoru 3,56 min/t a u těžšího traktoru 4,08 min/t. Průměrná tloušťka jedné vrstvy byla 0,4 m palců u lehčího traktoru a 0,33 m u těžšího traktoru. Obsah sušiny kukuřice byl v průměru 33,9%.

Na začátku plnění silážní jámy byly průměrné hodnoty měrné hmotnosti silážované hmoty u obou traktorů podobné (236,3 (kg/m³) u těžšího traktoru a 235,5 (kg/m³) u lehčího traktoru). Neočekávaně nižší průměrná měrná hmotnost u těžšího traktoru by mohla být vysvětlena a) vyčníváním os u kol, což znemožňovalo dusání v blízkosti stěny siláže a b) umístěním předních kol za čelem traktoru, což v podstatě mělo stejný účinek.

Během vybírání siláže byly vzorky ke stanovení měrné hmotnosti siláže odebrány dvakrát (tab. 5). Průměrná měrná hmotnost sušiny byla u těžšího traktoru o 24 kg/m³ vyšší (12%) než u traktoru lehčího. Tyto rozdíly byly pozorovány ve vrstvách nižších než 0,5 m

pod povrchem. Měrná hmotnost vzorků bezprostředně pod povrchem byla nízká a rozdíly mezi oběma srovnávanými postupy nebyly výrazné. Tyto výsledky dokládají, že zhutnění povrchové vrstvy siláže se musí věnovat patřičná pozornost, ale současně naznačují i limity, které nelze překonat ani při dodržení všech zásad správného silážování.

Tabulka 5: Měrná hmotnost kukuřičné siláže odebírané z různých vrstev při vybírání silážního žlabu (Muck, aj., 2004b)

Hmotnost traktoru (kg)	6 600	6 600	6 600	7 700	7 700	7 700	7 700
Výška nad dnem (m)	Měrná hm. sušiny (kg/m ³)	Výška nad dnem (m)	Měrná hm. sušiny (kg/m ³)	Výška nad dnem (m)	Měrná hm. sušiny (kg/m ³)	Výška nad dnem (m)	Měrná hm. sušiny (kg/m ³)
0,46	233,9	0,46	235,5	0,46	312,4	0,46	320,4
0,98	227,5	1,13	249,9	1,04	257,9	1,13	245,1
1,46	235,5	1,80	245,1	1,65	264,3	1,77	246,7
1,98	211,5	2,47	195,4	2,26	241,9	2,44	219,5
2,5*	195,4	3,11*	184,2	2,83*	182,6	3,11*	190,6
Průměr	221,1		221,1		251,5		243,5

Pozn.: 0,5 m pod povrchem siláže

Průměrná měrná hmotnost sušiny siláže byla při použití lehčího traktoru těsně pod doporučeným minimem 224,3 kg/m³. Se stejným traktorem bylo při silážování travního porostu o zvýšené sušině dosaženo podstatně vyšších hodnot (Muck, aj., 2004b). Tyto rozdílné výsledky získané s rozdílnými pícninami mohly být způsobeny nižší tloušťkou zhutňovaných vrstev (0,26 m vs. 0,4 m), vyšším průměrným obsahem sušiny (42,7% vs. 33,9%) a delším časem dusání (4,5 min/t suš. vs. 3,2 min/t suš.) při přípravě travní siláže. Každý z těchto rozdílů mohl měrnou hmotnost kukuřičné siláže snížit. Při výrobě kukuřičné siláže byly při použití traktoru s hmotností o 50 % vyšší některé z těchto negativních vlivů eliminovány.

Vokey (2002) studoval vliv vzdálenosti od povrchu a použití silážní folie na měrnou hmotnost a kvalitu siláže ve 14 silážních žlabech. Tento autor zjistil, že se zvyšující se vzdáleností od povrchu (až do 1,8 m) se měrná hmotnost i kvalita siláže zvyšují (tab. 6). Výsledky u siláží krytých folií byly podobné jako v pokusu, který provedli Craig & Roth (2005) v roce 2004 (tab. 9) a údaje z hlubších vrstev nekryté siláže jsou podobné údajům Craiga & Rotha z pokusů se stejným typem siláží z r. 2005. Jedinou výjimkou byla nízká měrná hmotnost ve vrstvě 0,3 m pod povrchem nekryté siláže. V tomto případě byla zřejmě měrná hmotnost snížena v důsledku částečného rozkladu siláže za přístupu vzduchu.

Visser (2005) studoval vlastnosti 48 vzorků travní siláže se zvýšeným obsahem sušiny a 69 vzorků kukuřičné siláže ze silážních žlabů a polních sil. Zjistil, že měrná hmotnost kukuřičné siláže byla nižší než travní siláže (tab. 7). Měrná hmotnost z polních sil byla všeobecně nižší než ze žlabů, a to jak v případě kukuřičné, tak také travní siláže. Nižší měrná hmotnost kukuřičné siláže mohla být způsobena vyšší rychlostí sklizně kukuřice a v důsledku toho i nedostatkem času na řádné udusání silážované hmoty. Visser pozoroval růst měrné hmotnosti siláže s rostoucí hloubkou (tab. 8) a ve vzdálenosti větší

než 1,2 m od okrajů silážního zařízení. Tento autor konstatoval, že u některých siláží nebylo dosaženo dostatečné měrné hmotnosti sušiny, což skýtá prostor pro zlepšení vlastností siláží. U některých kukuřičných siláží byla měrná hmotnost sušiny velmi nízká ($78,5 \text{ kg/m}^3$), což je typická hodnota pro materiál během transportu ve vozech (Holmes, 1995). Z toho vyplývá, že takovéto siláže nebyly vůbec udusány.

Tabulka 6: Vliv vzdálenosti od povrchu a použití silážní folie na měrnou hmotnost siláže (Vokey, 2002)

Vzdálenost od povrchu (m)	Bez folie	S folií
	- - Měrná hmotnost sušiny (kg/m^3) - - - -	
0,30	141,0	176,2
0,91	221,1	197,0
1,83	241,9	227,5

Craig & Roth (2005) odebírali vzorky pro měření měrné hmotnosti pomocí sondy ve 22 silážních žlabech. V r. 2004 odebrali 22 vzorků, v r. 2005 21 vzorků. Vzorky odebírali na 4 místech čela silážní hmoty ve třech výškách. Identifikovali 6 nebo 7 producentů, kteří v r. 2004 dosáhli nižší měrné hmotnosti sušiny než $192,2 \text{ kg/m}^3$, ale v r. 2005 se jim podařilo hranici $192,2 \text{ kg/m}^3$ překročit (obr. 4). Toto zlepšení bylo důsledkem školení zaměřeného na objasnění faktorů ovlivňujících měrnou hmotnost siláže, které se odrazilo v lepším technickém provedení silážních prací.

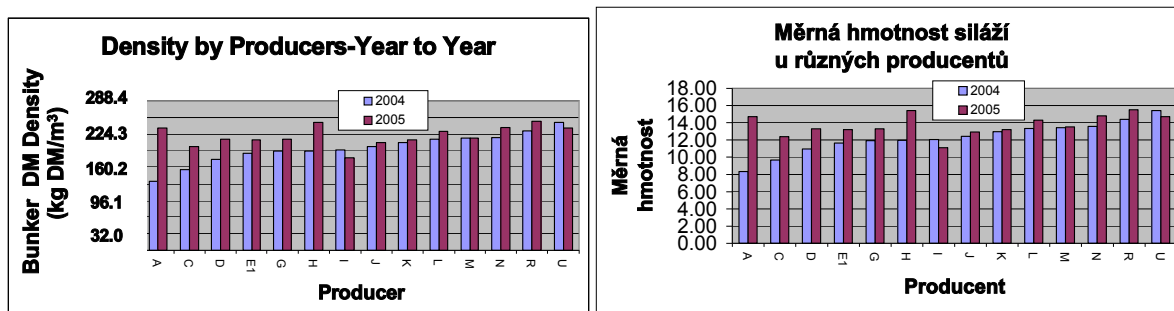
Tabulka 7: Měrná hmotnost sušiny kukuřičné a travní siláže se zvýšeným obsahem sušiny v závislosti na typu silážního zařízení (Visser, 2005)

Silážní zařízení	Travní siláž		Kukuřičná siláž	
	Průměr	Rozpětí	Průměr	Rozpětí
	- - - - - Měrná hmotnost sušiny (kg/m^3) - - - - -			
Silážní žlab	254,7	158,6-435,7	193,8	102,5-378,1
Polní silo	219,5	131,4-366,9	176,2	78,5-299,6
Žlab/polní silo	357,2	235,5-581,5	195,4	78,5-298,0

Tabulka 8: Vliv místa odběru a typu pícniny na měrnou hmotnost sušiny siláže (Visser, 2005)

Místo odběru	0,9-1,2 m pod povrchem	Střed siláže
Pícnina	- - Měrná hmotnost (kg/m^3) - -	
Travní porost	238,7	275,5
Kukuřice	169,8	214,7

Obrázek 2: Měrná hmotnost sušiny siláží (kg /m³) u různých producentů v letech 2004 a 2005 (Craig & Roth, 2005)



Craig & Roth (2005) zjistili, že měrná hmotnost siláže je funkcí místa, kde se provádí odběr. Měrná hmotnost se zvyšovala s rostoucí hloubkou a mechanické zhutňování ovlivnilo poněkud více střední a hlubší vrstvy než materiál blízko povrchu silážní jámy (tab. 9). Přepřehování silážního zařízení a nemožnost udusat horní vrstvy snížily měrnou hmotnost povrchových vrstev siláže.

Tabulka 9: Průměrná měrná hmotnost sušiny siláže v závislosti na hloubce (Craig & Roth, 2005)

Místo odběru	Průměrná měrná hmotnost sušiny (kg/m ³)	
	2004	2005
Vrch	179,4	190,6
Střed	206,7	222,7
Dno	224,3	241,9

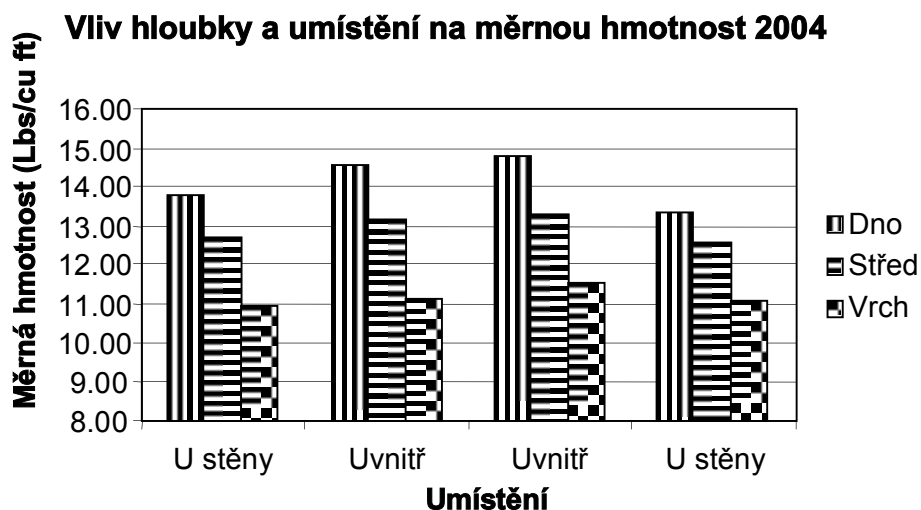
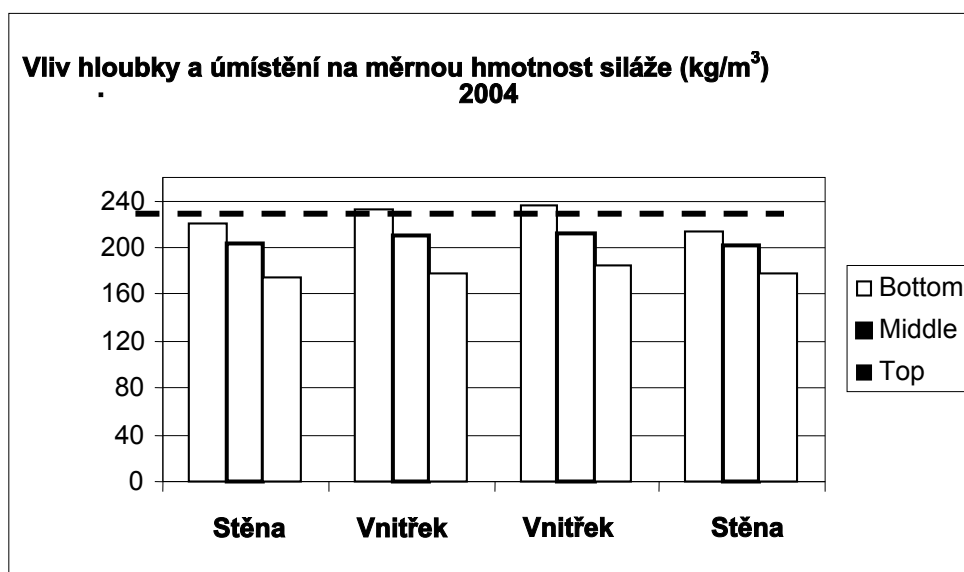
Vzorky odebrané ve vzdálenosti 2,4-3,0 m od stěn silážního žlabu měly podstatně nižší měrnou hmotnost než vzorky odebrané ze vzdálenosti větší (tab. 10). Tyto rozdíly mohou být způsobeny dvěma faktory: menší výškou dusané vrstvy u okrajů a nižší frekvencí přejezdu kol traktoru u stěn. Pravděpodobnější je druhé vysvětlení, které – jak dokládá tabulka 4 – podporují i závěry Mucka aj. (2004b). Při pohybu traktoru po povrchu silážovaného materiálu přicházejí do kontaktu v daném bodě ve vnitřní části sila obě kola, kdežto ve vzdálenosti od okrajů, rovnající se šířce traktoru, se pohybuje jen jedno kolo. V důsledku toho je vnitřní prostor sila udusáván více než jeho okrajové části. Z tab. 10 vyplývá, že při větší péči věnované zhutňování silážovaného materiálu sice byla měrná hmotnost v r. 2005 větší než v r. 2004, ale rozdíly mezi vnitřními a okrajovými částmi sila zůstaly zachovány. Obsluha traktoru proto musí věnovat větší péči okrajovým částem sila, aby se v této oblasti, ohrožené kontaktem s kyslíkem vlivem různých netěsností, dosáhlo vyšší měrné hmotnosti. Jak je vidět z obr. 3 je, měrná hmotnost více ovlivněna hloubkou než horizontální polohou (Craig & Roth, 2005).

D'Amours & Savoie (2004) monitorovali 6 silážních žlabů v průběhu jejich plnění a dusání. Měrnou hmotnost kukuřičné siláže měřili ve čtyřech výškách, jednak uprostřed a jednak v blízkosti jedné ze stěn. Vzorky odebrané ze středu měly o 7% vyšší měrnou hmotnost než vzorky odebrané od stěny (tab. 11), což potvrzuje výsledky, kterých dosáhli Craig & Roth (2005). Z tab. 12 vyplývá, že měrná hmotnost narůstá se zvyšující se hloubkou. Střední vzorek 1 byl blíže dnu než střední vzorek 2.

Tabulka 10: Průměrná měrná hmotnost sušiny siláže v závislosti na vzdálenosti od stěn (Craig & Roth, 2005)

Umístění	Měrná hmotnost (kg/m ³)	
	2004	2005
U stěny	197,8	212,3
Uvnitř	209,1	225,1

Obrázek 3: Měrná hmotnost sušiny siláže v závislosti na umístění a hloubce v silážním žlabu (Craig & Roth, 2005)



Tabulka 11: Měrná hmotnost sušiny siláže ze dvou míst silážního žlabu - průměr dvou odběrů (D'Amours & Savoie, 2004)

Farma	- - Měrná hmotnost (kg/m ³) - -	
	Stěna	Střed
1	283,6	298,0
2	217,9	235,5
3	216,3	240,3
4	200,3	205,1
5	246,7	278,7
6	253,1	275,5

Tabulka 12: Vliv výšky silážované hmoty na měrnou hmotnost sušiny (D'Amours & Savoie, 2004)

Farma	1	2	3	4	5	6
Výška	- - - - - Měrná hmotnost (kg/m ³) - - - - -					
0,5 m od dna jámy	312,4	259,5	249,9	221,1	290,0	---
Střední vrstva 1	291,6	233,9	232,3	206,7	272,3	272,3
Střední vrstva 2	296,4	216,3	222,7	193,8	257,9	264,3
0,5 m od povrchu	264,3	200,3	208,3	185,8	229,1	241,9
Průměr	291,6	227,5	229,1	201,9	262,7	264,3

Tloušťka dusané vrstvy

Měrná hmotnost pícniny před mechanickým zhutňováním představuje důležitou informaci pro výpočet plnění věžových sil, nákladních vozů a pro odhad tloušťky vrstvy navážené před dusáním. Holmes (1995) uvádí, že průměrná měrná hmotnost sušiny pícnin v nákladním voze je asi 80 kg/m³. Protože mnozí lidé mají potíže s odhadem nebo měřením tloušťky jedné vrstvy, lze použít údaj o měrné hmotnosti k výpočtu plochy, odpovídající tloušťce vrstvy. Např. je-li kapacita nákladního vozu kolem 2 500 kg sušiny (Muck, aj. 2004b), měrná hmotnost pícniny 80 kg/m³ a požadovaná tloušťka vrstvy 0,15 m, potom plocha, na níž se musí umístit objem vozu je 207,7 m².

$$2\,500 \text{ kg suš.} \div 80 \text{ kg suš. m}^3 \div 0,15 \text{ m} = 207,7 \text{ m}^2$$

Jestliže je šířka sila 9,14 m, bude délka rozprostřené vrstvy 22,7 m (207,7 m² : 9,14 m). Je-li výška stěn silážního zařízení, potom horizontální vzdálenost od nejnižšího místa po vrchní okraj silážovaného materiálu musí být asi 22,5 m, což zhruba odpovídá délce šikmého povrchu naskladňované pícniny. Pro usnadnění těchto výpočtů byl vyvinut program v tabulkovém procesoru (Holmes, 2005a), pomocí něhož lze odhadnout horizontální vzdálenost, na kterou má být navezen silážovaný materiál, aby bylo dosaženo požadované tloušťky vrstvy. Jako vstupní data musí být známy tyto hodnoty:

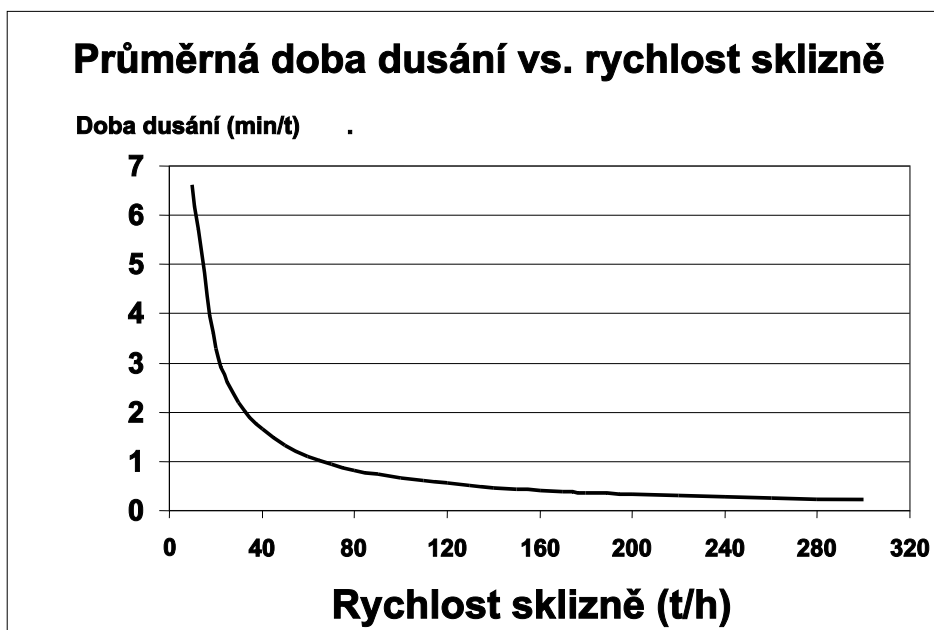
1. Kapacita transportního vozidla
2. Výška stěn silážního zařízení
3. Šířka silážního zařízení
4. Odhad měrné hmotnosti pícniny v transportním voze

Jednou z možností, jak zkrátit délku plochy, na kterou se pícnina vrství a docílit menší tloušťky vrstvy je vyskladnit polovinu vozu, udusat ji a potom vyskladnit zbytek.

Rychlost sklizně

Rychlost sklizně ovlivňuje dobu, která je k dusání silážního žlabu nebo polního sila k dispozici (obr. 4). U kukuřice je rychlost sklizně (t/h) obecně vyšší než u travních porostů, což je způsobeno hlavně tím, že se vstupní prostor sklízecí řezačky v případě kukuřice snadněji udržuje plný. Samohybné sklízecí řezačky se vyznačují podstatně vyšší sklízecí rychlostí než stroje tažené traktorem. Některé vysokokapacitní stroje, které jsou v současné době na trhu, mohou porosty sklízet rychlostí až 136,1-181,4 t/h, takže čas, který je k dispozici pro dusání, je pouze 0,3-0,4 min./t sklizené hmoty. Traktory o nižší hmotnosti potřebují k dosažení dostatečné měrné hmotnosti silážovaného materiálu $> 224,3 \text{ kg/m}^3$ takže na tunu sušiny je zapotřebí několika minut. Se zvyšující se rychlostí sklizně musí být proto věnována zvýšená pozornost dostatečnému zhutnění. Toho lze docílit buď použitím těžšího traktoru anebo přidáním dodatečné zátěže na traktory lehčí. Od určitého okamžiku může být rychlost sklizně tak velká, že s jedním traktorem požadované měrné hmotnosti vůbec nelze nedosáhnout. Použití dvou traktorů s podobnou hmotností je přitom výhodnější než použití jednoho těžkého a jednoho lehkého traktoru. V případě použití dvou traktorů se musí také dbát na to, aby nedošlo k jejich kolizi.

Obrazek 4: Vliv rychlosti sklizně na čas využitelný k dusání silážované hmoty



Stanovení průměrné měrné hmotnosti v praktických podmínkách

V mnoha výzkumných pracích a demonstračních projektech se uvádějí výsledky měření měrné hmotnosti siláže s použitím sond podobného typu, jaký popsali Muck & Holmes (2000). Použití této metody je v běžných podmínkách zemědělské praxe omezeno několika faktory:

- Nedostupnost vhodné sondy
- Počet odběrových míst potřebných k získání reprezentativního vzorku
- Variabilita měrné hmotnosti v různých místech čela siláže (hloubka, vzdálenost od okraje, nerovnosti čela siláže, variabilita ve zhutnění atd.
- Riziko poranění, příp. smrti v důsledku zřícení čela siláže při odběru vzorků.

Jako alternativu proto navrhli Holmes & Muck (2004) metodu výpočtu průměrné měrné hmotnosti. Tato metoda je založena na vážení odebrané silážní hmoty při jejím transportu do stáje. Zjištěná hmotnost se vydělí vypočteným objemem odebrané siláže. Výpočet ve formě tabulkového procesoru (Holmes 2005b) je k dispozici na webových stránkách University ve Wisconsinu (UW-Extension Team Forage: Harvest and Storage).

Silážní frézy

Silážní frézy používané ve žlabových silech jsou mechanizačními prostředky, které slouží k vybírání uložené siláže. Často jsou konstruovány jako bubny opatřené zuby. Buben je připojen k pohonné jednotce (vysokozdvíhový vozík, traktor, manipulátor, apod.) Rotující buben při pohybu směrem dolů odřezává z čela siláže část hmoty, která zpravidla padá na dno silážního žlabu. Čelo siláže zůstává hladké, což snižuje kontakt silážní hmoty s kyslíkem. Silážní fréza je alternativou běžného čelního nakladače, který se k vybírání siláže často používá. Na rozdíl od frézy ponechává tento nakladač čelo siláže nerovné, často s hlubokými zářezy do silážní hmoty. Větší povrch silážního čela a v důsledku toho větší styk se vzduchem jsou při tomto způsobu odběru hlavní příčinou ztrát (až 10%).

Výše ztrát při použití frézy a čelního nakladače je ovlivňována mnoha faktory, od postupu při zakládání siláže až po její vybírání. Odhady rozdílů ve ztrátách sušiny jsou uvedeny v tabulce 13. Tyto odhady vycházejí z předpokladu, že rozdíly jsou tím větší, čím méně jsou dodržovány doporučené zásady zakládání a ošetřování siláže.

Tabulka 13: Snížení ztrát sušiny siláže při použití silážní frézy ve srovnání s nakladačem

Snížení ztrát sušiny (%)	Charakteristika technologie silážování
1	Sklizeň pícniny při obsahu vody 60 – 70% Krátká délka řezanky Dobré udusání (> 256,3 kg/m ³) Odebírání 0,3 m z čela siláže denně Dobré urovnění čela siláže čelním nakladačem
3	Sklizeň pícniny při obsahu vody 55 – 65% Větší délka řezanky Udusání na měrnou hmotnost sušiny 225 – 240 kg/m ³ Odebírání 0,15 m z čela siláže denně Průměrné urovnění čela siláže nakladačem
5	Sklizeň pícniny při obsahu vody 50 – 60% Dlouhá řezanka Udusání na měrnou hmotnost sušiny pod 225 kg/m ³ Odebírání méně než 0,075 m z čela siláže denně Špatné urovnění čela siláže čelním nakladačem

K výpočtu rentability použití silážní frézy byla v tabulkovém procesoru vytvořena procedura, pomocí níž byla generována data uvedená v tab. 14. Aby bylo dosaženo rentability, musí být náklady nižší než výnosy. Náklady na frézu odpovídající hranici rentability po přepočtu na roční náklady jsou součtem hodnoty siláže odpovídající nižším ztrátám, zvýšených pracovních a materiálních nákladů a nákladů na pohonné hmoty. Náklady na pohonné hmoty a pracovní a materiální náklady mohou být ve skutečnosti nižší, pokud je výkon silážní frézy vyšší než výkon nakladače.

Vypočtené údaje v tabulce 14 vycházejí z předpokladu, že výkon frézy a nakladače je stejný. Hodnota siláže byla stanovena na 129 USD/t sušiny. Rovněž se předpokládalo, že při použití frézy se nezvýší pracovní a materiálové náklady ani náklady na pohonné hmoty. Náklady na malou frézu se pohybují v rozmezí od 3 500 USD do 5 000 USD. Jak je patrné z tab. 14, pro farmáře produkujícího malé množství siláže a dodržujícího správné zásady silážování (rozdíl ve ztrátách sušiny 1 %) bude rentabilní malá fréza. Větší zemědělské

podniky a podniky s horší technologií silážování dosáhnou zisku s frézou o hodnotě \$4,500. Například producent s celkovým objemem siláže 1 860 t sušiny, jemuž se sníží ztráty o 3% , by dosáhl za 10 let zisku \$29,667 (\$34,167 – \$4,500), tj. \$2,967 za rok.

Tabulka 14: Mez rentability použití silážní frézy (rychlost vybírání stejná jako u čelního nakladače)

Zvýšené ztráty suš. při použití nakladače (%)	Množství siláže (t suš.)	750	1 850	3 700	5 600	7 500
	Počet krav a jalovic	100	250	500	750	1 000
----- Mez rentability (USD) -----						
0,5		2 278	5 694	11 389	17 083	22 778
1		4 556	11 389	22 778	34 167	45 556
2		9 111	22 778	45 556	68 333	91 111
3		13 667	34 167	68 333	102 500	136 667
4		18 222	45 556	91 111	136 667	182 222
5		22 778	56 944	113 889	170 833	227 778

Další přednosti

Přednosti silážní frézy , které lze obtížně vyjádřit v peněžních jednotkách, zahrnují následující:

- Odstranění velkých kusů siláže, které se obtížně dávkuje do míchačky a občas se v míchačce nerozmělní
- Míchání píce před vstupem do míchačky
- Velikost částic se nezmenšuje

Výše zmíněný tabulkový procesor a podrobnější informace o problematice silážování (Holmes, 2003) lze stáhnout z webových stránek University ve Wisconsinu:

<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/storage.htm>

Nejdůležitější závěry

- Ztráty sušiny jsou nepřímo úměrné měrné hmotnosti siláže.
- Aktivní dusání píce v silážních žlebech i polních silech zvyšuje měrnou hmotnost siláže.
- Mnoho producentů nedosahuje doporučené minimum měrné hmotnosti. Producenti musí zjišťovat měrnou hmotnost a v případě potřeby změnit technologii silážování.
- Se zvyšující se rychlostí sklizně se musí zvýšit rychlost naskladňování sila a intenzita dusání.
- Zvýšení hmotnosti traktoru má za následek vyšší měrnou hmotnost siláže.
- Zvýšení frekvence pojezdu traktoru po povrchu silážovaného materiálu zvyšuje jeho měrnou hmotnost. Vyšší počet přejezdů vyžaduje delší čas na tunu silážovaného materiálu.
- Ke zvýšení měrné hmotnosti v blízkosti stěn silážního žlabu je zapotřebí větší počet přejezdů.
- Horní vrstvy siláže, vystavené působení kyslíku, musí být důkladně utuženy, aby se zvýšila jejich měrná hmotnost, např. použitím těžkého traktoru, prodloužením doby dusání atd.

- Náklady na silážní frézu se středním a větším podnikům rychle vrátí, pokud se jejím použitím sníží ztráty sušiny při vybírání siláže v porovnání s běžným nakladačem.

Literatura

- ASAE.** (2005): ASAE D252.1. Tower silos: unit weight of silage and silo capacities. *ASAE Standards*, Amer. Soc. Agric. Engineers, St. Joseph, MI.
- Bernier-Roy, M., Y. Tremblay, P. Pomerleau and P. Savoie.** (2001): Compaction and density of forage in bunker silos. ASAE Paper No. 01-1089, Amer. Soc. Agric. Engineers, St. Joseph, MI.
- Craig, P.H. and G. Roth.** (2005): *Penn State University Bunker Silo Density Study Summary Report 2004-2005*. Pennsylvania State Univ. Cooperative Extension-Dauphin County, <http://cornandsoybeans.psu.edu/pdfs/bunker_silo_study.pdf>.
- D'Amours, L. and P. Savoie.** (2004): Density profile of corn silage in bunker silos. ASAE Paper No. 041136, Amer. Soc. Agric. Engineers, St. Joseph, MI.
- Darby, D.E. and J.C. Jofriet.** (1993): Density of silage in horizontal silos. *Canadian Agric. Engr.* 35(4):275-280.
- Holmes, B. J.** (2003): Bunker Silo Facer – Why Invest? UW-Extension Team Forage web site, <<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/storage.htm>>.
- Holmes, B.J.** (1995): Forage density in a forage wagon. UW-Extension Team Forage web site, <<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/storage.htm>>.
- Holmes, B.J.** (2005a): Floor length to achieve bunker/pile filling layer thickness calculator. UW-Extension Team Forage web site, <<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/storage.htm>>.
- Holmes, B.J.** (2005b): Stored density calculator. UW-Extension Team Forage web site, <<http://www.uwex.edu/ces/crops/uwforage/storage.htm>>.
- Holmes, B.J. and R.E. Muck.** (2004): *Managing and Designing Bunker and Trench Silos* (AED-43). Ames, IA: MidWest Plan Service, <<http://www.mwpsHQ.org>>.
- Jofriet, J.C. and Q. Zhao.** (1990): Design load recommendations for bunker silo walls. ASAE Paper No. 90-4542, Amer. Soc. Agric. Engineers, St. Joseph, MI.
- Johnson, L.M., J.H. Harrison, D. Davidson, W.C. Mahanna, K.J. Shinnors and D. Linder.** (2002): Corn silage management: Effects on maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. *J. Dairy Sci.* 85(2):434-444.
- McGechan, M.B.** (1990): A review of losses arising during conservation of grass forage, Part 2: Storage losses. *J. Agric. Engr. Res.* 45(1):1-30.
- Messer, H.J.M. and J.C. Hawkins.** (1977a): The influence of the properties of grass silage on bulk density and horizontal pressure. *J. Agric. Engr. Res.* 22(1):55-64.
- Messer, H.J.M. and J.C. Hawkins.** (1977b): The influence of moisture content and chop length of forage maize on silage bulk density and the pressure on bunker silo walls. *J. Agric. Engr. Res.* 22(3):175-182.
- Messer, H.J.M. and J.C. Hawkins.** (1977c): Loads exerted by grass silage on bunker silo walls. *J. Agric. Engr. Res.* 22:237-339.
- Muck, R.E. and B.J. Holmes.** (2000): Factors affecting bunker silo densities. *Appl Engr. in Agric.* 16(6):613-619.
- Muck, R.E., B.J. Holmes and P. Savoie.** (2004b): Packing practice effects on density in bunker silos. ASAE Paper No. 041137, Amer. Soc. Agric. Engineers, St. Joseph, MI.
- Negi, S.C., J.C. Jofriet and J. Buchanan-Smith.** (1984): Densities, pressures and capacities of corn silage in tower silos. *Canadian Agric. Engr.* 26(1):43-47.

- Pitt, R.E.** (1983): Mathematical prediction of density and temperature of ensiled forage. *Trans. ASAE* 26(5):1522-1527, 1532.
- Pitt, R.E.** (1986): Dry matter losses due to oxygen infiltration in silos. *J. Agric. Engr. Res.* 35:193-205.
- Pitt, R.E.** (1990): *Silage and Hay Preservation* (NRAES-5). Ithaca, NY: Northeast Regional Agricultural Engineering Service.
- Ruppel, K.A.** (1992): Effect of bunker silo management on hay crop nutrient management. M.S. Thesis, Cornell University, Ithaca, NY.
- Ruppel, K.A., R.E. Pitt, L.E. Chase and D.M. Galton.** (1995): Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 78(1):141-153.
- Savoie, P., R.E. Muck and B.J. Holmes.** (2004): Laboratory assessment of bunker silo density, Part II: Whole-plant corn. *Appl. Engr. Agric.* 20(2):165-171.
- Visser, B.** (2005): Forage density and fermentation variation: A survey of bunker, piles and bags across Minnesota and Wisconsin dairy farms. *Four-state Dairy Nutrition and Mgmt. Conf.* (MWPS-4SD18). Ames, IA: MidWest Plan Service.
- Vokey, F.** (2002): Bunker silo management and silage quality: Results from 14 Lewis County dairies. Cornell Cooperative Extension-Lewis County, <http://www.cce.cornell.edu/lewis/PDFs/Research%20Reports/2001%20Corn%20Bunk%20Silo%20Study%20-%20Report.pdf>
- Zhao, Q, and J.C. Jofriet.** (1990): Pressures on bunker silo walls. Tech. Rpt. 126-84. Sch. of Engineering, Univ. of Guelph, Guelph, ON.

Rady pro odstraňování běžných problémů při výrobě siláží v Mexiku a USA

M. E. Uriarte¹, K. K. Bolsen², R. E. Bolsen³

¹Nutrix, Inc., Quaretaro, Mexico; ²Professor Emeritus, Kansas State University, Manhattan, Kansas; ³Managing Director, Keith Bolsen PhD & Associates, Austin, Texas

Úvod

Bez ohledu na počet operací, chovatelé skotu a producenti mléka vědí, že problémy se vyskytují v každém silážním programu. Tento článek popisuje možné případy a řešení 10ti běžných problémů, které zahrnují:

- Bezpečnostní opatření
- Silážní šťávy
- Velké rozdíly v nutriční hodnotě konzervovaného krmiva
- Nedostatečný odhad úrodnosti sklizně kukuřice
- Siláže ze zavadlé píce obsahující kyselinu máselnou a klostridie
- Vysoká hladina kyseliny octové v siláži s nízkou sušinou
- Siláž poškozená zahřátím
- Aerobně nestabilní kukuřičná siláž během zkrmování
- Nadměrné poškození povrchové vrstvy v uzavřených vacích a balících
- Vysoké ztráty čerstvé píce versus siláž v silážních žlabech a balících

Výrobci a jejich odborníci na výživu by měli diskutovat o těchto problémech a řešeních s každým z jejich silážního týmu, s cílem implementovat nejlepší možné silážní postupy.

Bezpečnostní opatření pro silážní vaky a balíky

Dobře chránění pracovníci, skot, zařízení a technologie sklizně, náplň a krmení se neobejde bez promyšlené přípravy a školení. Nemáme co ztratit při dodržování bezpečnosti, můžeme ztratit vše při nedodržování bezpečnosti. (Murphy and Harshman, 2006)

Největší rizika a preventivní opatření

- Převrácení traktoru.
 - ✓ Konstrukce bránící převrácení traktoru (ROPS) tvoří ochrannou zónu kolem řidiče v traktoru
 - ✓ Pokud řidič používá bezpečnostní pásy, ROPS zabraňuje vypadnutí nebo vyhození řidiče z ochranné zóny a jeho rozdrcení traktorem nebo zařízením, které je na traktoru nasazeno.
 - ✓ Nenaplňujte hmotu - píci nikdy výše, než po horní hranu výklopné stěny, aby jste zabránili jejímu prolomení.
 - ✓ Signalizační konzoly mohou být instalovány do stěn. Tyto konzoly indikují polohu stěny vůči obsluze balícího zařízení. Ovšem neslouží jako zábrana proti převrácení traktoru.
 - ✓ Na konzolách by měla být přídavná světla, pokud bude plnění probíhat v noci.

- ✓ Během plnění vaků nebo balení z šikmé plochy dna zásobníku, používejte maximální sklon 3/1. Dodržení tohoto sklonu minimalizuje riziko převrácení balicího zařízení
- ✓ Snížením sklonu předejdeme převrácení z důvodu příliš velkého sklonu.
- ✓ Použij nízkou světlou výšku, široký přední rozvor a přídavná závaží (přední i zadní část) aby došlo ke zvýšení stability.
- ✓ Pokud používáte přední nakladač pro dopravu krmiva do sila, nezvedejte lžici příliš vysoko, aby jste udrželi nízko těžiště a nedošlo k převrácení.
- ✓ Posilovač řízení napomáhá řídit traktor a pohon na přední kola zajišťuje větší stabilitu.
- ✓ Pokud jsou používány dva nebo více traktorů, zajisti řídicí plán, aby se předešlo kolizi.
- ✓ Úložné nákladní vozy, které jsou používány k transportu pořezané hmoty se mohou na příkrém svahu převrátit, zejména pokud je hmota nestejně naložena.
- ✓ Zvedni úložné rameno pouze v případě, když pracovní stroj stojí na pevném podkladu.
- Zaklíněný ve stroji
 - ✓ Použij ochranné kryty na všech rotujících součástech (náhon, řetěz, v-pásky, převodovka na traktorech, kombajnech, nakládačích a krmných vozech), aby nedošlo ke zranění obsluhy.
- Přejetý strojem
 - ✓ Během plnění operace je zakázáno lidem (a hlavně dětem) chodit do blízkosti vaku nebo balíků
 - ✓ Zpětná zrcátka mají být připevněna a správně nastavena na všech traktorech a nákladních autech
- Pád z výšky
 - ✓ Zábradlí má být nainstalováno na všech stěnách zásobníku , které jsou nad zemí, z důvodu snadného uklouznutí při vlhkém počasí.
 - ✓ Buď opatrný při odstraňování plastu hlavně na okraji stěny.
 - ✓ Nikdy nestůj na vrcholu siláže, může dojít k pádu nebo sesunutí.
- Rozmačkaný sesunutím siláže (Schoonmaker, 2000). Jeden z faktorů vedoucích k těžkým zraněním nebo dokonce smrti jsou sesuvy siláže způsobené přetíženými zásobníky nebo vaky!
 - ✓ Naplňuj zásobníky do bezpečné výšky, cca 3,5 – 4 m.
 - ✓ Při odebrání siláže používej adekvátní techniku, která zahrnuje ‘frézování‘ stěny siláže směrem od vrchu dolů, nikdy nenabírej lžici od spodu siláže. Podseknutí, což je běžný jev, hlavně když lžice nedosáhne vrcholu válce nebo balíku, vytvoří se převis, který se může propadnout na zem.
 - ✓ Je zakázáno stát nebo se shromažďovat u krmné stěny a dle běžných pravidel se nemá přiblížit blíže jak k 3násobku jeho výšky.
 - ✓ Obvod zásobníků a vaků má být oplocen a označen: Zákaz vstupu, vstup jen povolaným osobám
- Spokojenost
 - ✓ Mysli na bezpečnost! I nejlepší pracovník může být frustrován multifunkčním zařízením a špatným počasím a může nesprávně posoudit situaci a podniknout rizikovou akci. (Murphy, 1994).
 - ✓ Je vždy nejlepší podniknout kroky k eliminaci rizik předem než se spoléhat na druhé a doufat v jejich správná rozhodnutí.

Silážní štávy

Silážní štávy mají vysokou požadavky na biochemický kyslík. Mají být vždy zadrženy blízko sila a nikdy nesmí prosakovat do podzemní vody nebo rybníku či jiného vodního toku či koryta. Pokud se vyskytne prosakování, ohrožují kvalitu vody jsou také živiny, které se ztrácí ze siláže.

Příčiny

- Krmivo bylo silážované moc vlhké (nízký obsah sušiny) pro daný typ a rozsah siláže.
- Nebyly dodrženy podmínky silážování.
- Hmota v době zavádání byla v silné vrstvě na pokosu z důvodů vysokého výnosu.
- Hmota nebyla dostatečně zavadlá (kvůli počasí) před sklizní.
- Osoba odpovědná za určení sušiny udělala chybu.
- Celá rostlina kukuřice nebo čirok sklizený v ranné fenofázi.
 - ✓ Silážní smluvní dodavatel přijel dříve, než bylo plánováno
 - ✓ Řezání začalo velmi brzy kvůli velkému počtu hektarů, které se mají sklídit

Řešení

- Využijte předpovědi počasí pro správná rozhodnutí
- Využijte výhody nových technologií a zařízení (řezání, zpracování...)
- Zkoordinujte spojení sklizňového okna s dobou sklizně
- Monitorujte stupeň zavádání a obsahu vlhkosti celé rostliny na každém poli s kukuřicí tak, aby mohla sklizeň začít včas.
- Selektujte rozsah kukuřičných hybridů s rozdílným stupněm zralosti a rozšiřte efektivní sklizňové období.

Velké kolísání sušiny a nutriční hodnoty konzervovaného krmiva

Příčiny

- Vysazení plodin různého stupně zralosti
- Několikanásobná řezanka a násobné silážování hmoty ve stejném silu.
- Opoždění sklizně kvůli poruchám stroje nebo nedostatku mechanizačních prostředků nebo nedostatku personálu.
- Sezónní nebo denní počasí ovlivní zrání plodin a rychlost zavadnutí
- Rozdíly mezi kukuřičnými hybridy. Stále zelené hybridy mají sklon k větší vlhkosti zralého zrna než normálně dozrávající zelené rostliny kukuřice.

Řešení

- Použijte hromadná sila a menší sila, která zvyšují kontrolu zásob krmiva..
- Silážujte pouze jednu řezanku a nebo jeden sortiment zavadlé hmoty v jednom silu.
- Minimalizujte počet kukuřičných a nebo čirokových hybridů v silu.
- Zkrátte čas plnění silážního prostoru

Nedostatečný odhad úrodnosti sklizně kukuřice

Příčiny

- Kapacita strojů na sklizeň je neadekvátní.
- Úroda zraje v malém sklizňovém období

- Teplé, suché počasí může urychlit proces zrání a zvýší stupeň vysušení zrn a krmných komponent rostliny
- Vlhké počasí může vyřadit z provozu sklizňové stroje.
- Silážní smluvní dodavatel nedorazil podle časového plánu

Řešení

- Zasad' hromadně kukuřičné nebo širokové hybridy s různou délkou zrání.
- Zlepšit komunikaci mezi chovatelem skotu, výrobcem mléka, pěstitelům a smluvním dodavatelem siláže.
- Změnit strategii sklizně, která zahrnuje zpracování zrna, kratší délku řezu (teoretická délka řezanky), nebo větší množství balících traktorů/ů

Zavadající siláž obsahující kyselinu máselnou a klostridie

Příčiny

- Hmota je silážovaná moc vlhká a podstupuje fermentaci řízenou klostridiami.
- Vojtěška a ostatní luštěniny, které zmokly na poli jsou rizikové, protože děšť vyluhuje cukry z rostliny.
- Hmota je sklizena moc vlhká pro daný typ a rozsah siláže.

Řešení

- Silážuj a proved' řezanku rostlin se sušinou vhodnou pro daný typ a velikost silážního žlabu.
- Balení s minimální hustotou 240 kg sušiny/m³ nepropustí kyslík a omezuje ztrátu rostlinných cukrů během aerobní fáze (Visser, 2005; Holmes, 2006).
- Použij bakteriální očkovací látku na všechny rostliny, aby byla zajištěna účinná přeměna rostlinných cukrů na kyselinu mléčnou
- Nekontaminuj hmotu při sklizni půdou nebo hnojem.
- Když není možné kontrolovat obsah sušiny při zavadání, přídavek rozpustných cukrů může snížit výskyt klostridiové fermentace a problémy spojené s kyselinou máselnou v siláži.

Vysoké hodnoty kyseliny octové, obzvláště ve vlhké kukuřičné siláži

Příčiny a symptomy

- Když má celá rostlina nízký obsah sušiny při sklizni, předpokládá se u ní prodloužené, heterofermentativní kvašení.
- Tato siláž má silný octový zápach a má asi 0.4 - 0.8 metrovou vrstvu jasně žluté, nakysle zapáchající siláže na dně zásobníku nebo vaku.

Řešení

- Silážuj hmotu se správným obsahem sušiny a hlavně ne moc vlhkou
- Použij homofermentativní očkovací konzervační přípravky, abys zajistil účinnou přeměnu rozpustných karbohydrátů v rostlině na kyselinu mléčnou.

Siláž poškozená teplem

Tato siláž má tmavě hnědé zbarvení a silný, karamelovo-tabákový zápach. Následkem tohoto poškození teplem má sníženou stravitelnost proteinů a energetických komponent.

Příčiny

- V dobré siláži nesmí teplota silážované hmoty stoupnout více než 8° až 16° C nad okolní teplotu při sklizni a když teplota silážované hmoty přesáhne 46° - 48° C během prvního 1 – 2 týdnů v silu, může dojít k poškození zahřátím.
- Nejvíce tepla vzniká z rostlinného a mikrobiologického dýchání, které probíhá, dokud je kyslík přítomen v silážní hmotě..
- Chemické Maillard reakce zvané také „hnědnutí“ spojují rostlinné cukry a hemicelulózu s proteiny a aminokyselinami.

Řešení

- Oblož stěny zásobníku polyethylenem nebo utěsni praskliny ve stěnách polyethylenem před plněním.
- Proveď sklizeň ve správném stadiu zralosti, ne však moc zralém.
- Silážuj hmotu se správným obsahem sušiny a hlavně ne moc suché.
- Neřež rostliny moc dlouhé, tzn. ne delší než 2,5 cm pro zavadlé rostliny na poli a 14 – 18 mm (teoretická délka řezanky) pro celé rostliny obilí (GPS), nebo širok.
- Dosáhnout anaerobních podmínek co nejrychleji v silážované hmotě
- Naplň silo v určitém vhodném čase a hmotu rozlož rovnoměrně v silu.
- Dosáhnout minimální hustoty 240 kg sušiny/m³.
- Zákryt - utěsnit povrch co nejrychleji po naplnění (během 24 hodin)

Aerobně nestabilní kukuřičná siláž během zkrmování

Výzkum aerobní nestability nevysvětluje, proč se kukuřičné siláže liší v jejich citlivosti k aerobní nestabilitě. Mikroorganismy (hlavně laktáty využívající kvasnice), a management silážování jsou možné příčiny aerobní stability jednotlivých kukuřičných siláží. (Uriarte-Archundia et al., 2002).

Řešení

- Proveď sklizeň ve správném stupni zrání zrna a především ne přezralé.
- Silážuj se správným obsah sušiny, ale hlavně ne moc suché.
- Proveď řezanku delší než 18 mm (teoretická délka řezanky) jestliže je sklizeň zpracovaná nebo 12 mm jestli není zpracovaná.
- Dosáhnout minimální hustoty 240 kg sušiny/m³.
- Udržet jednotný a rychlý vývoj v siláži během celého krmného období.
 - ✓ Minimální odběr 15 až 25 cm denně v chladných měsících.
 - ✓ Minimální odběr 25 až 40 cm denně v teplých měsících.
- Provádět odběry siláže tak, aby plocha po odebrání byla hladká a rovnoměrná. Používejte metodu čelního frézování (shora dolů) nebo odřezávání.
- Minimalizuj čas uložení kukuřičné siláže v přípravném prostoru před zkrmením, siláž by měla být přemísťována z vaků nebo balíků do přípravného prostoru dvakrát denně.
- Nenechávejte kukuřičnou siláž v silážním zásobníku příliš dlouho, hlavně ve vlhkém a teplém počasí.
- Přidejte 1 – 2 kg pufrované kyseliny propionové na tunu TMR, v případě, že dojde k zahřátí.
- Dodržujte změny odebíraného množství siláže pro zpracování k tvorbě krmiva v zimních a letních měsících.
 - ✓ Odebírejte větší zkrmovací plochu v zimních měsících.

- ✓ Odebírejte menší zkrmovací plochu v teplých měsících.

Nadměrné povrchové poškození v utěsněných (zakrytých) zásobnících a vácích.

Řešení

- Dosáhněte minimální hustoty 240 kg sušiny/m³ v horních 0.75 metrech siláže v zásobníku nebo vaku.
- Upravte povrch tak, aby mohla voda stéct po zásobníku nebo vaku a zadní, přední a boční sklony nesmí převýšit sklon v poměru 3 ku 1.
- Utěsňte povrch ihned po naplnění (Bolsen, 1997).
- Dvě vrstvy polyethylenu nebo jedna vrstva kyslíkové bariéry je upřednostňována před použitím jedné vrstvy plastu (Berger and Bolsen, 2006). (www.silostop.com).
- Umístěte plastovou krycí vrstvu tak, aby se zabránilo kontaktu vody se siláží
- Tato krycí vrstva na povrchu silážního zásobníku má přesahovat o 1 – 1,5 m.
- Vrstvy mohou dosáhnout do výšky 1,5m až 2m rovnoměrně v celém silážním zásobníku.
- Rozlož závaží po celém povrchu zásobníku nebo vaku a zdvojnásob závaží na přesahujících vrstvách (na přesahující okraje) (Ruppel, 1993).
 - ✓ Bias-ply truck sidewall disks, with or without a lacework of holes, are the most common alternative to full-casing tires.
 - ✓ Pytle s pískem (naplněné šterkem) jsou efektivní způsob zatížení krajních částí krycí plachty a slouží jako těžké, stejnoměrné závaží na hraně silážního zásobníku. Sandbags, filled with pea gravel, are an effective way to anchor the overlapping sheets, and sandbags provide a heavy, uniform weight at the interface of the sheets and bunker wall.
 - ✓ Postranní disky a pytle s pískem mohou být umístěny na paletách, aby se s nimi lépe manipulovalo a mohou být snadněji zvednuty na horní stěnu zásobníku, když je silo zakryto a mohou být lépe odkládány na zeď zásobníku při postupném odkrývání. Sidewall disks and sandbags can be stacked, and if placed on pallets, they can be moved easily and lifted to the top of a bunker wall when the silo is being sealed and lifted to the top of the when the cover is being removed.
 - ✓ 15 – 25 cm vrstva písku nebo půdy je efektivní způsob upevnění vrstvy okolo perimetru pilíře.
- Zabraň poškození vrstev během skladování
 - ✓ Pokoste plochu okolo zásobníku nebo vaku a postav prozatimní pletivo jako ochranu proti divokým nebo domácím zvířatům.
 - ✓ Kontrolujte výskyt hlodavců okolo farmy.
 - ✓ Použijte pletivo nebo rezistentní krytí proti ptákům.
 - ✓ Skladujte nevyužitý polyethylen a zakryjte vázící materiál tak, aby neposkytoval úkryt drobné havěti.
 - ✓ Prováděj pravidelné kontroly a opravy, defekty mohou vzniknout a rozvíjet se velmi rychle, hlavně když se voda nebo vzduch dostane do silážní hmoty.
- Zlikvidujte všechny povrchové defekty z důvodu negativního efektu na příjem DM a stravitelnost živin (Whitlock et al., 2000).
- Neskladujte zmetky (defekty) odstraněné ze siláže v blízkosti skladu – hrozí riziko hromadění havěti.
- Zakrytí (Obalyodložené discarded tires se používaly standardně k upevnění polyethylenových vrstev na zásobnících po mnoho let. Tyto nepoužité tires jsou ale

obtížné k manipulaci, špinavé a stojatá voda v full-casing tires může rozšiřovat West Nile virus, což je další důvod, proč nepoužívat full-casing tires na běžné denní operace (Jones et al., 2004).

Vysoké ztráty mezi vstupním krmivem a siláží v zásobnících a vacích

Řešení

- Sklizeň v optimálním stadiu zrání a whole-plant DM obsah
- Použití vhodné velikosti zásobníku nebo vaku a vyvarování se přeplnění zásobníku nebo vaku
- Dobře vyškolení, zkušení zaměstnanci, zejména ti, kteří obsluhují žací stroje (kombajny), sbírací traktory nebo balící (pytlovací) stroje (Muck and Holmes, 2004).
- Nasazení HomoLAB inokula
- Dosažení jednotné hustoty nejméně 250 kg DM na m³ v zásobníku nebo vaku.
- Efektivní utěsnění povrchu zásobníku nebo vaku, použití dvoj - polyetylenových vrstev nebo kyslíkové bariéry. (Bolsen, 2004) (www.silostop.com).
- Dodržování patřičné postupy odběrů během celého krmného období.
- provádět pravidelnou kontrolu kvality a pravidelné meetingy s celým silážnickým týmem.

Výnosnost utěsnění kukuřičné a vojtěškové siláže v zásobnících a vacích: Instrukce

Tabulková kalkulace byla vyvinuta v Kansaské Státní Univerzitě roku 1990-1995 a výpočty publikoval Huck et al. (1997). Autoři zaznamenali, že cca 75% celkového množství kukuřičné čirok siláže vyrobené v Kansasu v letech 1994-1996 nebyly utěsněny, a hodnota siláže ztratila na povrchových defektech odhadem 6-10 milionů dolarů ročně.

V Tabulce 1 jsou uvedeny příklady kalkulace, jak ukázat výnosnost utěsněných zásobníků a vaků se silem. Čistý zisk z efektivního utěsnění ukazuje, že chovatelé a producenti mléka by měli brát na zřetel detaily těchto 'vysoce problémových' postupů.

Výnosnost (Ziskovost) kukuřičné siláže ošetřené HomoLAB pro dojící krávy: Instrukce

Mnoho chovatelů skotu a výrobců mléka řeší otázku, zda je ekonomické nasazovat HomoLAB pro přípravu kukuřičné siláže celé rostliny. V tabulce 2 je tabulková kalkulace, která může být použita k výpočtu výnosnosti kukuřičné siláže naočkované HomoLABem.

Př: Průměrná produkce mléka ve stádu je 34.0 litrů mléka na krávu a den a denní příjem sušiny je 23.6 kg. Zvýšení příjmu sušiny kukuřičné siláže naočkované homofermentativními laktobacily, počítáno na krávu a den nebo na krávu a rok spočívá ve zlepšení využití siláže a zvýšené užitkovosti. Užitkovost "dojnice/den" na tunu kukuřičné siláže díky zvýšení silážní recovery sušiny (1.3 % jednotek) a zvýšená produkce mléka na krávu a den (0.125 litrů) vedou ke zvýšení čistého příjmu 18.5¢ na krávu a den a \$56.31 na krávu a rok. Zvýšení čistého obrátu na tunu kukuřičné siláže je \$8.81.

Zvýšení užitkovosti zvýšením příjmu sušiny kukuřičné siláže u dojníc. Kalkulace:

Kalkulace zahrnuje udržení a využití efektivity, což umožňuje chovateli zhodnotit ziskovost specifických silážních vstupů. Tři změny vloženy do příkladu, který je zobrazen v tabulce č. 3. byly:

- 1) Očkovací látka HomoLAB aplikována do \$1.00 na tunu
- 2) použití dalšího balícího traktoru \$1.25 na tunu
- 3) efektivnější utěsnění/zakrytí při ceně \$1.00 na tunu.

Tyto změny vedly k zvýšení čistého zisku \$8.19 na tunu silážní kukuřice, při zvýšení recovery sušiny o 5 % došlo ke zvýšení přírůstků o 0,25 kg (DM basis).

Reference

- Berger, L.L. and K.K. Bolsen.** (2006): Sealing strategies for bunker silos and drive-over piles. In: Proceedings of Silage for Dairy Farms: Growing, Harvesting, Storing, and Feeding. pg. 266-283. NRAES Publ. 181. Ithaca, NY.
- Bolsen, K.K.,** (1997): Issues of top spoilage losses in horizontal silos. In: Proceedings of Silage: Field to Feedbunk. pg. 137-150. NRAES Publ. 99. Ithaca, NY.
- Bolsen, K. K.** (2002): Bunker silo management: four important practices. In: Proceedings of the Tri-State Dairy Nutr. Conf. Ft. Wayne, IN. The Ohio State University, Columbus. pg. 160-164.
- Bolsen, K.K.** (2004): Unpublished data. Kansas State University, Manhattan, KS.
- Bolsen, K.K., R.N. Sonon, B. Dalke, R. Pope, J.G. Riley, and A. Laytimi.** (1992): Evaluation of inoculant and NPN silage additives: a summary of 26 trials and 65 farm-scale silages. Kansas Agric. Exp. Sta. Rpt. of Prog. 651:102.
- Bolsen, K.K., J.T. Dickerson, B.E. Brent, R.N. Sonon, Jr., B.S. Dalke, C.J. Lin, and J.E. Boyer, Jr.** (1993): Rate and extent of top spoilage in horizontal silos. J. Dairy Sci. 76:2940-2962.
- Holmes, B.J.** (2006): Density in silage storage. In: Proceedings of Silage for Dairy Farms: Growing, Harvesting, Storing, and Feeding. pg. 214-238. NRAES Publ. 181. Ithaca, NY.
- Huck, G.L., J.E. Turner, M.K. Siefers, M.A. Young, R.V. Pope, B. E. Brent, K.K. Bolsen.** (1997): Economics of sealing horizontal silos. Kansas Agric. Exp. Sta. Rpt. of Prog. 783:84.
- Jones, C.M., A.J. Heinrichs, G.W. Roth, and V.A. Isher** (2004): From harvest to feed: understanding silage management. Publ. Distribution Center, The Pennsylvania State University, 112 Agric. Admin. Bldg, University Park, PA 16802.
- Muck, R.E. and B.J. Holmes.** (2004): Bag silo densities and losses. ASAE Paper No. 041141, Amer. Soc. Agric. Engineers, St. Joseph, MI.
- Murphy, D.J.** (1994): Silo filling safety. Fact Sheet E-22. Agricultural and Biological Engineering Department, The Pennsylvania State University, University Park, PA.
- Murphy, D.J. and W.C. Harshman.** (2006): Harvest and storage safety. In: Proceedings of Silage for Dairy Farms: Growing, Harvesting, Storing, and Feeding. pg. 171-187. NRAES Publ. 181. Ithaca, NY.
- Ruppel, K.A.** (1993): Management of bunker silos: opinions and reality. In: Proceedings of Silage Production: From Seed to Animal. pg. 266-273. NRAES Publ. 67. Ithaca, NY.

Schoonmaker, K. (2000): Four ways to be safe around silage. Dairy Herd Management. October.

pg. 58, 60, and 62.

Uriarte-Archundia, M.E., K.K. Bolsen, and B. Brent. (2002): A study of the chemical and microbial changes in whole-plant corn silage during exposure to air: effects of a biological additive and sealing technique. In: Proc. 13th International Silage Conf. Ayr, Scotland. pg. 174-175.

Visser, B. (2005): Forage density and fermentation variation: a survey of bunker, piles and bags

across Minnesota and Wisconsin dairy farms. Four-state Dairy Nutrition and Management Conference. MWPS-4SD18. Ames, IA: Midwest Plan Service.

Whitlock, L.A., T. Wistuba, M.K. Siefers, R. Pope, B.E. Brent, and K.K. Bolsen. (2000): Effect of

level of surface-spoiled silage on the nutritive value of corn silage-based rations. Kansas Agric. Exp.

Sta. Rpt. of Prog. 850:22.

Tabulka 1: Ziskovost zakrytí - utěsněné kukuřičné a vojtěškové siláže v silážních žlabech nebo vacích.¹

Hodnoty a výpočty	žlab 1 kukuřice	vak 1 kukuřice	žlab 2 kukuřice	žlab 3 vojtěška
Hodnota siláže, \$ na tunu	35	35	32.50	60
Hustota siláže, kg čerstvé wt/ m ³	700	700	700	600
Šířka žlabu, m	12.2	12.2	30.5	12.2
Délka žlabu, m	30.5	30.0	76.2	30.5
<i>Ztráta siláže ve vrchní vrstvě - 1 metr:</i>				
neutěsněná, % silážované hmoty	55	55	60	50
utěsněná, % silážované hmoty	20	20	20	15
Náklady na krycí plachtu, ¢ / m ²	48.0	48.0	48.0	48.0
Siláž ve vrchním 1 m, tuny	260	534	1,627	223
Hodnota ztráty siláže neutěsněné, \$ na silo	5,014	10,275	31,724	6,698
Hodnota ztráty siláže utěsněné, \$ na silo	1,823	3,726	10,575	2,009
Cena utěsnění, \$ per silo	579	1,186	3,615	579
Hodnota siláže ochráněné utěsněním, \$ per silo	2,612	5,353	17,535	4,110

¹číslo ve zvýrazněných čtvercích jsou spotřebitelská data.

Tabulka 2: Výnosnost (ziskovost) kukuřičné siláže naočkované HomoLABem pro dojnice.¹

<i>Kukuřičná siláž, ostatní hmota, zrno nebo doplňková data</i>					
Složky	příjem sušiny, kg	DM, %	krmivo, kg na den	Cena krmiva, \$/ kg	Cena krmiva, \$/ den
Kukuřičná siláž	6.8	33.3	20.4	0.035	0.71
Ostatní hmota (siláž)	4.1	45.0	9.1	0.060	0.54
Ostatní hmota (seno)	1.8	88.0	2.0	0.150	0.31
Zrno nebo doplněk	10.9	88.0	12.4	0.180	2.23
Celkem	23.6		43.9		3.79
<i>Zásoba kukuřičné siláže a cena očkovací látky:</i>					
Kukuřičná siláž - kráva/rok, tuny					7.22
HomoLAB - cena na tunu sklizně, \$					1.00

Tabulka 2: (pokračování). Výnosnost (ziskovost) kukuřičné siláže naočkované HomoLABem pro dojnice.¹

Komponent	Neošetřená kukuřičná siláž	Kukuřičná siláž ošetřená HomoLABem
<i>Výkonost, Efektivita:</i>		
Silage recovery, % silážované sklizně ²	85.0	(1.3)³
Silage recovered na tunu silážované sklizně, kg	850	863
Množství siláže zkrmené na krávu a den, kg	20.4	20.4
Kráva/den na tunu silážované sklizně	41.62	42.26
Zvýšení "kráva/den" na tunu silážované sklizně		0.64
Produkce mléka na krávu a den, kg		34.0
Mléko získané na tunu silážované sklizně, kg		21.6
Cena mléka, \$ per kg		0.40
Zvýšení hodnoty mléka na tunu silážované sklizně, \$		8.66
<i>Zužitkovatelnost:</i>		
Zvýšení mléka/den/kráva, kg		0.125
Zvýšená hodnota mléka na tunu silážované sklizně, \$		2.11
<i>Výkonost + Zužitkovatelnost:</i>		
Zvýšení hodnoty mléka na tunu silážované sklizně, \$		10.77
Zvýšená cena krmiva extra kráva/den, \$		3.08
Zvýšená cena krmiva na tunu silážované sklizně, \$		1.96
Zvýšený čistý obrat na tunu silážované sklizně, \$		8.81
<i>Přidaná hodnota HomoLAB: kráva/den, \$</i>		0.024
<i>Kráva/rok, \$</i>		7.22
<i>Navýšení příjmu mléka: kráva/den \$</i>		0.208
<i>Kráva/rok \$</i>		63.58
<i>Čistý zisk z HomoLAB: kráva/den \$</i>		0.185
<i>Kráva/rok \$</i>		56.31

¹Čísla ve zvýrazněných čtvercích jsou spotřebitelská data (informace).

²V závorkách je odpovídající hodnota HomoLABu vyjádřena v %, což je průměr 19ti pokusů všech Homolab konzervačních přípravků u 19 pokusů (Bolsen et al., 1992).

Tabulka 3: Výnosnost Profitability of increasing DM recovery of maize silage for growing cattle.¹

složky TMR	sušina základ	neléčená ration	HomoLAB dávka	neléčená ration	HomoLAB ² Response	HomoLAB ration
	%	DM, %	DM, %	kg / day		kg / day
Kukuřičná siláž	87.5	0.333	0.333	6.76		6.85
Ostatní siláž nebo seno	0	0.90	0.90	0		0
Zrno nebo doplněk	12.5	0.90	0.90	0.97		0.98
Celkem ³	100			7.73		7.83
Prům. váha dobytka, kg	300					
Cena dobytka, \$ per kg	2.60					
Prům denní přírůstek, kg				1.09		1.14
DMI, kg /den				7.73	+ 0.10	7.83
Ration DM per kg of gain, kg				7.1	- 0.25	6.85
Siláž na kg of gain, kg of DM				6.21		5.99
DM recovery, % silážované sklizně				82.5	+ 5.0	87.5
Siláž zkrmená na tunu silážované sklizně, kg as-fed				825		875
Gain per tonne of as-fed crop ensiled, kg				44.2		48.6
Extra gain per tonne of as-fed crop ensiled, kg						4.4
Value of the extra gain per tonne of crop ensiled, \$				---		11.44
Cena HomoLABu na tunu silážované sklizně, \$				---		3.25
Čistý zisk na tunu HomoLABem ošetřené silážované sklizně, \$				---		8.19

¹Čísla ve zvýrazněných čtvercích jsou spotřebitelská data (informace).

²Response is a 19-trial average across all HomoLAB products (Bolsen et al., 1992).

³User must adjust ration ingredients to 100 percent.

Redukce hub v silážích pomocí homofermentativních bakterií

CH. OHLSSON¹, K.HOLMGREN¹, K. STRÖM², T. PAULY³, J. SCHNÜRER³

¹Medipharm AB, Bygatan 2, 260 23 Kågeröd Sweden

²AstraZeneca AB, 151 85 Södertälje Sweden

³Swedish University of Agricultural Sciences, Box 7070, 750 07 Uppsala Sweden

Souhrn

Homofermentativní (HOM) bakterie kyseliny mléčné (LAB) jsou osmotolerantní a její anti-fungální vlastnosti jsou velmi žádoucí charakteristiky určené ke konzervaci píce. Cílem práce bylo identifikovat a komercializovat kmeny HOM LAB, které budou osmotolerantní a prokáží anti-plísňový efekt v silážích. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14 a MiLAB 393 byl osmotolerantní při simulaci obsahu sušiny 450 g/kg čerstvé hmoty. Množství kvasinek v trávě a kukuřici bylo nižší u *L. plantarum* MiLAB 393 v porovnání s ostatními kmeny LAB a kontrolou ($1.87 - 3.10 \times 10^3$ colony forming units (CFU)/g čerstvé hmoty vs. $0.14 - 1.70 \times 10^5$ CFU/g čerstvé hmoty). Aerobní stabilita trávy a kukuřice ošetřené s kmeny HOM LAB byla variabilní, ale podobná s neošetřenou kontrolou kukuřice při sušině 290 g/kg, podobná, nebo lepší než tráva o sušině 396 g/kg a nižší než tráva o sušině 437 g/kg. Fermentační ukazatelé byly stabilně zlepšující při použití HOM LAB v porovnání s neošetřenou kontrolou ve všech pokusech. To nám umožnilo identifikovat a komercializovat jeden HOM LAB kmen který byl osmotolerantní a prokázal antifungální vlastnosti.

Úvod

Siláž je důležitý zdroj krmiv pro skot, ovce a koně během období kdy nemůžeme krmiv čerstvé píce. Pro optimální krmení, siláž musí mít vysokou nutriční hodnotu a hygienicky nezávadná. Růst hub může zhoršit nutriční a hygienickou kvalitu siláží a výsledky ukazují na vysoké ztráty sušiny, špatnou aerobní stabilitu a sníženou užitkovost zvířat. LAB mohou ochránit siláž před mikrobiálními ztrátami, způsobené houbami, přes konkurenčním růstem, tvorbou antagonistických látek, nebo dalšími antimikrobiálními látkami (Schillinger et al., 1996; Stiles, 1996). V této době mnoho LAB obsahuje kombinaci charakteristik efektivně potlačující růst hub. Tradičně, heterofermentativní kmeny (HET) LAB jako *Lactobacillus buchneri*, byly používány k potlačení růstu hub v silážích a zvyšovaly aerobní stabilitu díky relativně vysoké produkci kyseliny octové, která nemůže být využita jako substrát pro houby. Avšak většina HET LAB nejsou konkurenční v prostředí siláže, které obsahuje velké množství ostatních mikroorganismů, jako HOM LAB (Weinberg and Muck, 1996). Siláže které neobsahují houby, HOM LAB sníží pH mnohem rychleji, mají nižší ztráty sušiny a vyšší přírůstky u zvířat než HET LAB. Tudíž identifikace HOM LAB, které jsou vysoce osmotolerantní a mají přímý vliv na poláčení růstu hub jsou vysoce potřebné jako silážní aditiva.

Cílem práce bylo identifikovat a komercializovat kmeny homofermentativních mléčných bakterií, které jsou osmotolerantní a vykazují anti fungální efekt v silážích

Material a metody

Cílem je prezentovat výsledky u osmotolerantního a antifungálního kmene *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 a některých dalších *L. plantarum* L4, *L. plantarum* MiLAB 14 a *L. coryniformis* Si3 při silážování trav a kukuřice. Ve spolupráci mezi švédskou zemědělskou univerzitou (SLU) a Medipharm AB byl připraven silážní přípravek

na základě kmene MiLAB 393, který byl firmou Medipharm AB dodán na trh v roce 2005. Byl podán patent založený na antifungálním vlivu MiLAB 393 spojeném s produkcí cyclo(L-Phe-L-Pro), cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) a 3-phenyl kyseliny mléčné. V poloprovozních pokusech byla testována kvalita fermentačního procesu, aerobní stabilita a užítkovost zvířat komerčního produktu obsahujícího kmen *L. plantarum* MiLAB 393.

13 kulturních kmenů LAB bylo rozetřeno na misky s agarem MRS doplněné s 10 % KCl simulující sušinu 450 g/kg a vodní aktivitu (a_w) of 0.91. Kmeny byly považovány za osmotolerantní, jestliže 30 % CFU zůstalo po 48 h anaerobní inkubace při 30⁰ C v porovnání s kontrolními miskami bez KCl. Podle těchto kritérií, MiLAB 393 a MiLAB 14 byly osmotolerantní, zatímco L4 byl částečně osmotolerantní a Si3 nebyl osmotolerantní (Ström et al., 2005).

Potlačení kvasinek kmeny LAB s antifungálním účinkem bylo zjišťováno u dvou travních siláží při obsahu sušiny 396 g/kg (A) a respect. 437 g/kg (B)

Výsledky a diskuze

Potlačení kvasinek pomocí čtyř antifungálních kmenů v silážích trav o sušině 396 g/kg čerstvé hmoty a 437 g/kg čerstvé hmoty ukazuje že počty kvasinek byly nižší u MiLAB 393 ($0.87 - 3.10 \times 10^3$ CFU/g čerstvé hmoty) v porovnání s ostatními antifungálními kmeny LAB a neošetřené kontroly ($0.14 - 1.70 \times 10^5$ CFU/g) (Ström et al., 2005). Zatímco žádné siláže neměly alarmující počty kvasinek ($<1.7 \times 10^5$ CFU/g), časné potlačení kvasinek redukuje riziko pozdějšího růstu hub. Ve stejném pokuse, byla zjišťována aerobní stability u travní a kukuřičné siláže, která byla aerována sedm dní. V travní siláži o sušině 396 g/kg bylo zjištěno zvýšení teploty o +2 °C mezi 0,3 až 1,2 dny. U travní siláže o sušině 437 g/kg korespondující hodnoty byly 1,5 až 7 dnů a u kukuřičné siláže při sušině 290 g/kg rozmezí bylo 3,2 až 5,5 dnů. Jen u travní siláže o sušině 437 g/kg byla aerobní stabilita vyšší (více dní ke zvýšení teploty) u neošetřené kontroly s ostatními varianty. Zbylé varianty ošetření se jen málo lišily v aerobní stabilitě (Ström et al., 2005). Siláž je všeobecně aerobně stabilní jestliže do dvou dnů se nezvýší teplota o +2 °C, to indikuje že ošetření s antifungálními LAB v trávě měly nižší úspěch než u kukuřičné siláže. Avšak neošetřené travní siláže měly vyšší koncentraci kyseliny máselné a kyselin, které snižují kvalitu siláže, ale zvyšují aerobní stabilitu.

V pokusech řízené firmou Medipharm s různými přípravky obsahující MiLAB 393 nebo komerční kmeny bez MiLAB 393 ukazují, že MiLAB 393 byl více osmotolerantní s tendencí vyšší aerobní stabilitou, když byly použity u siláží založených na travách, GPS a kukuřici (Bruzelius & Zander-Jakobsson, 2002). Mimoto účinek použitého kmene MiLAB 393 byl nejvyšší když sušina trávy byla (550 g/kg sušiny), zatímco rozdíl ve fermentačním procesu a aerobní stabilitě porovnané s komerčními kmeny bez MiLAB 393 byly nižší, když píce byla silážována při nízké sušině.

Závěry

Všechny pokusy, zahrnující modelové pokusy a faremní pokusy, ve kterých byl kmen MiLAB 393 použit samostatně, nebo s ostatními kmeny ukázaly, že fermentační ukazatelé siláží byly excelentní a že kmen působil dobře u siláže s vysokou sušinou. Výsledky ukazující potlačení růstu hub byly variabilní, ale pozitivně při porovnání s komerčním kmenem firmy Medipharm bez MiLAB nebo siláže neošetřené.

Literatura

- Bruzelius, K. and S. Zander-Jakobsson.** (2002): An evaluation of bacterial additives in ensiling different crops. Master Thesis. Lund Institute of Technology, Lund University Sweden.
- McDonald, P., N. Henderson and S. Heron.** (1991): The Biochemistry of Silage 2nd Ed., Chalcombe Publications, UK.
- Schillinger, U., R. Geisen and W.H. Holzapfel.** (1996): Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. Trends in Food Science and Technology 7:158-164.
- Stiles, M.E.** (1996): Biopreservation by lactic acid bacteria. Anton. Leeuw. Int. J. Gen. Mol. Microbiol. 70:331-345.
- Ström, K., J. Sjögren, A. Broberg and J. Schnürer.** (2002): *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo(L-Phe-L-Pro) and cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. Appl. Environm. Microb. 68:4322-4327.
- Ström, K., T. Pauly, C. Ohlsson and J. Schnürer. 2005. Lactic acid bacteria with antifungal properties can provide aerobic stability and improve the quality of grass silage. Doctoral Thesis no. 2005:37, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala Sweden.
- Weinberg, Z.G. and R.E. Muck.** (1996): New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. FEMS Microbiology Reviews 19:53-68.

Výroba travních siláží a její využití v Columbií

A. Uribe-Peralta

Calle 127A No 31 – 71, Bogota, Columbia

e-mail: agronet@msn.cz, agronet@msn.com

Způsob silážování pícnin vynalezený v zemích s ročními obdobími jako řešení výživy býložravců z důvodu nedostatku krmiv během zimních období přešel do zemí bez ročních období a zhruba 50 let jej používáme v naší zemi. Kolumbie je jednou ze zemí, které jsou považovány za tropické se zvláštností, že se jedná o zemi rovníkovou. V této malé rovníkové zóně, ve které leží Kolumbie neexistují dramatické teplotní změny, ale existují období sucha a období dešťů. Období sucha nejsou ve vyhraněných obdobích v celé zemi a existují oblasti, ve kterých nedostatek srážek v průběhu roku vede ke ztrátám a zároveň také existují oblasti, ve kterých jsou srážky permanentní, jsou výhodné a nemají problémy.

Naše země, kde je relativně stálá teplota prostředí, jsou přítomny ohromné hory, máme hranice se dvěma oceány: Tichým a Atlantickým, jsme řazeni jako třetí země na světě ve vodních zdrojích, více než pětina země (200.000 km²) je tvořena pralesy, patříme do povodí řek Amazonka a Orinoko, disponujeme v průběhu roku pravidelnými 12 hodinami noci a 12 hodinami světla každý den, má tímto nesrovnatelné zvláštní vlastní podmínky.

Z tohoto důvodu se v Kolumbií nachází 293 různých druhů žab a 1780 druhů ptáků, ale ani žáby, ani ptáci se nenachází ve stejné ekologické oblasti, jedny rostou a reprodukují se v pralese, jiné v horách, další na pláních, jiné v blízkosti moře a kvůli těmto různorodým podmínkám je v našich muzeích více než 24 000 druhů rostlin, což umožňuje variabilitu naší flóry a fauny.

V naší zemi se nechoval skot, ani zde nikdy nebyla obrovská stáda býložravců jako v Africe nebo bizonů jako v Severní Americe. Do naší země přivezli skot až španělští kolonizátoři v roce 1541 a stejným způsobem v téže době byli dovezeni koně, slepice, prasata, ovce, kozy a obiloviny jako pšenice, ječmen a oves a začaly se vyvážet brambory, kakao, kaučuk, kukuřice, juka, pikantní koření a rostliny, o kterých se vědělo, že tišily horečky a jiné neduhy.

Ale stálost podnebí a vlhkosti jsou nejen užitečné k proliferaci druhů dobrých pro člověka, také bují hmyz, motýli, saví komáři, plísňe a bakterie a výsledkem jejich působení je výskyt nemocí, které se přenášejí na jiné druhy včetně člověka a na zvířectvo, které žije v tomto prostředí.

Z těchto důvodů v našem prostředí jsou napadány nepřetržitě plodiny i zvířata a škody jsou podstatně větší než je běžným zvykem v jiných částech světa, proto se také tolik používají insekticidy, fungicidy a antibiotika na našich polích a v chovech zvířat, které vysoce převyšují množství používané jinde a také jsme vystaveni vyšším škodám.

Kolumbie je zemí, kde jsou zemědělci stejně výkonní jako ti nejlepší na světě, ale naše výnosy jsou nižší než v zemích s ročními obdobími a je to proto, že se jedná o dva druhy přírodních podmínek kompletně rozdílné i když se nachází na jedné zeměkouli, proto srovnávání produkce, které nebere v úvahu náš ekosystém je jednoduše chybou v interpretaci projevů přírody.

Proto také řešení našich problémů mohou být jiná. Proto nemůžeme v našem kraji aplikovat všechna řešení, která existují v jiných přírodních podmínkách než jsou ty naše a proto také myslíme, že naše názory nemohou být přijímány bez výhrad těmi co žijí v jiných krajích.

Přes to je v naší zemi v současnosti 25 milionů kusů dobytka, který se živý na pastvinách nejrůznějšího původu. V našich půdách jsou zasetá semena trav pocházejících z Afriky, jako např. z hory Kilimandžáro *Pennisetum clandestinum* (travina kikuyo), která díky svému původu z Keni, rovníkové země stejně jako Kolumbie, našla úrodnou půdu na planinách lokalizovaných 2600 m nad mořem. Na těchto pastvinách se nachází Holštýnský skot schopný vyprodukovat bez přikrmování obilovinami 3 až 4 tuny mléka za laktaci. Také byly dovezeny traviny z Anglie a Itálie, které se množí na náhorních plošinách a nikdy nerostou v nížinách. V nížinách (výška mezi 0 a 1000 m nad mořem) rostou převážně africké druhy a naše domorodé trávy jsou vytlačovány díky větší kapacitě afrických druhů při pastevním zatížení.

Naše náhorní plošiny, přestože jsou podobné, jsou také velmi rozdílné s podmínkami Kilimandžára. V našich nadmořských výškách díky oblačnosti pocházejících z oblasti amazonského pralesa je nižší dostupnost sluneční energie přístupné rostlinám, než jakou mají rostliny v oblasti Kilimandžára. Tento relativní deficit má obrovský vliv na distribuci dusíku v našich travinách: v průměru pouze 50 % z celkového obsahu dusíku obsaženého v trávě kikuyo vyšetě v našich výškách je bílkovinným dusíkem, zbytek odpovídá peptidům, aminokyselinám, nitrátům a dalším dusíkatým složkám. Po období relativního sucha s jasnými dny a nízkou dispozicí trávy k pastvě přichází období dešťů, kdy tráva roste velmi rychle ale v podmínkách nízké světelnosti, z důvodů přítomnosti mraků, tak dochází k akumulaci vysokých hladin nitrátů, které mohou vést až k intoxikaci zvířat, která je konzumují a může dojít k úhynu skotu. Stejně tak během jasných dnů dochází k obrovským nočním ztrátám tepla, které uniká z prostoru a není zadrženo mraky. Teploty mohou klesnout až na $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ v 6.00 ráno a vystoupit v 10.00 na $18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Toto rychlé rozmrazení trávy neumožní roztažení buněčných stěn stejnou rychlostí jako je pnutí vnitřní vody a tento fenomén roztrhá buňky a „spálí trávu“. Nelze předpovídat kdy a v jaké intenzitě budou jasné dny bez oblačnosti a proto je nemožné odhadnout, kdy dojde k přízemním mrazíkům a spálení trávy. Na náhorních plošinách tyto výkyvy teplot lépe snáší traviny evropského původu, africká tráva, která je převládající, má nižší nároky na hnojení a srážky a tím pádem nižší produkční náklady, ale je vysoce citlivá na tento fenomén. Zemědělec si musí rozhodnout, jestli bude investovat do náročné, drahé a na mrazíky odolné pastviny nebo nebude investovat a bude mít dobrou, nízko nákladovou pastvinu, která však bude vysoce citlivá na mrazíky. Někteří míchají oba dva druhy a permanentně investují ve snaze udržet pastvinu heterogenní.

V nížinách se nechová Holštýnský skot. Přírodní podmínky, zejména průměrná teplota $28\text{ }^{\circ}\text{C}$, vysoká relativní vlhkost, nemoci přenášené klíšťaty a komáry a podstatně delší období sucha, jednoduše nejsou kompatibilní se zvířaty evropského původu. Z tohoto důvodu převažuje skot rasy Zebu a dojí se kříženci mezi evropskými rasami a Zebu. Mléčná produkce je u kříženců nižší, ale je jich hodně. Počítá se, že z 5 milionů tun mléka vyprodukovaného v Kolumbii je 70 % z nížinných oblastí s nízkou technologií produkce a používají se krávy pocházející z křížení evropských mléčných ras se zebu a 30 % - 1,5 milionu tun ročně pochází z vysokohorských oblastí s vysokou technologií a z krav výběrových mléčných chovů (Holstein, Jersey, Guernsey a Normandský skot).

V Kolumbii se skladují krmiva, aby nedocházelo k problémům v produkci v návaznosti na nedostatek pícnin způsobený mrazíky nebo suchy ve vysokohorských oblastech nebo extrémními suchy v nížinných oblastech.

Skladování krmiv se provádí hlavně formou siláží a ne ve formě sena, poněvadž se jednoduše nedá předpovídat kdy bude pršet a tato podmínka znemožňuje masivní výrobu sena.

Co se suší a co se silážuje v Kolumbii?

V některých lokalitách vhodných pro tvorbu sena – vždycky v nížinách – se udržují plochy s travinami a luštěninami. Míchají se dva druhy za jediným účelem zvýšit obsah bílkovin v krmivu. Pícniny v Kolumbii jsou velmi rozdílné co se týče obsahu bílkovin: pícniny z vysokohorských oblastí obsahují mezi 14- 20 % celkové bílkoviny (N x 6,25) zatímco v nížinách dosahují 9 %. Produkce kukuřice na krmení je v Kolumbii také rozdílná podle oblastí, ve které se pěstuje: ve vysokých oblastech potřebuje kukuřice k dosažení zralosti 200 dnů, kdežto v nízkých oblastech se může sklízet na silážování za 85 dnů. Bez ohledu na oblast, ve které se pěstuje kukuřice jako pícnina, se produkuje značné množství objemově na jednotku půdy, ale jedná se o krmivo s nízkou koncentrací živin: nízký obsah bílkovin, vysoký obsah ligninu, málo rozpustných sacharidů, ale s velmi dobrou palatabilitou, které se může konzumovat ve velkém množství. Přestože se produkuje kukuřice v nízkých oblastech, jejím spotřebitelem jsou obecně chovatelé z vysokých oblastí, což má jako nevýhodu přepravu velkého množství vody (sušina kukuřičné siláže: 30%) a stále se zvyšující náklady na dopravu, což způsobuje vysoké náklady na kg sušiny v krmivu.

Za těchto podmínek je atraktivnější silážovat „in situ“, tráva, která se pěstuje a spásá ve vlastním chovu, nezávisle na lokalizaci v nízkých nebo vysokých polohách. Jednoduše se vyhradí vlastní plocha s porostem určeným ke konzervaci, která se provádí kdykoliv, v momentě, kdy je maximální produkce a kvalita pícniny. Sila se umísťují uvnitř vlastního pozemku na strategickém místě, aby doprava byla minimální a dává se zvířatům v případě potřeby.

Fermentační proces pícniny v silu jak aerobní tak anaerobní potřebuje dostatek nestrukturálních a rozpustných sacharidů. Pícniny z rovníkových oblastí, které jsou v Kolumbii, nemají dostatečný obsah rozpustných sacharidů a je proto nutné je přidat, běžně se používá k tomuto účelu melasa (vedlejší výrobek při zpracování cukrové třtiny) v množství 30 – 40 kg na tunu zelené hmoty. Melasa se naředí vodou zhruba dvojnásobkem jejího objemu a čerstvě připravená se aplikuje na vrstvy pícniny v průběhu tvorby siláže.

Pícninová siláž se zhutňuje na místě s nějakým sklonem, kde se nakrátko posekala tráva, položí se plast kalibru 4 nebo se úplně odstraní tráva a plastová folie se nepoužívá. Udusání se provádí za účelem snížení množství vzduchu neboli kyslíku mezi nařezanými stonky a listy pícniny. Používá se hmotnost traktoru, kterým se přejíždí přes hromadu a postupně se přidávají další vrstvy. Po dostatečném udusání a přidání odpovídajícího množství sacharidů se přikryje plastovou folií kalibr 6, v našem případě k ochraně proti vysoké radiaci UV, utěsní se, na okraji se zatíží hlínou, pokud se vytvořily vzduchové vaky, tyto se vypustí propíchnutím a pak zalepením otvoru páskou, plast se zatíží (používá se hlína, pneumatiky, klády, pytle s pískem zavěšené na podpěru a pod.) a nakonec se silo ohradí, aby se zamezil přístup a protřzení igelitu zvířaty.

Ztráty při silážování na hromadě, jak bylo výše popsáno, mohou být vysoké a pohybují se kolem 8 až 50 % a dělí se následným způsobem:

- 1.- Ztráty při přípravě 3% až 14%
- 2.- Ztráty respirací a aerobní fermentací 5% až 18%
- 3.- Ztráty výtokem 0% až 8%
- 4., Ztráty při alimentaci, aerobní rozklad 1% až 10%.

Na základě předcházejících čísel je jasné, že nejvyšší ztráty jsou během počátečního procesu při tvorbě siláže, které odpovídají reziduálnímu dýchání čerstvě pořezaných rostlin a aerobní fermentaci siláže.

Ztráty způsobené reziduálním dýcháním rostlin odpovídající oxidaci rostlinných sacharidů a CO₂ a zahrnují také období „agonie“ rostlinných frakcí, které nelze vyloučit.

Vážné ztráty jsou způsobeny aerobním dýcháním prostřednictvím mikroorganismů, ke kterému dochází v době, než se některý s následujících faktorů dostane na hranici inkompatibilní s vlastními aerobními bakteriemi: buď se drasticky sníží obsah kyslíku v siláži nebo se spotřebují rozpustné sacharidy, nebo se sníží pH na hodnotu blízkou 4. Během fermentace v normální siláži probíhají tyto procesy simultánně. Během tohoto období se množí mikroorganismy tolerantní na kyslík, jako aerobní mikroby., kvasinky a plísně. Tyto mikroorganismy jsou nežádoucí až škodlivé tvorbou uvedených ztát a uvolňováním tepla. Navíc v tomto období, které se může limitovat na několik hodin se uvolňují rostlinné proteázy, které působí na bílkoviny uvolňováním jejich aminokyselin a degradací čpavku a aminů, které jsou závislé na hladině pH.

Při snížení hladiny kyslíku uvnitř silaže proliferují anaerobní bakterie, mezi kterými vynikají bakterie produkující kyselinu mléčnou a enterobakterie, produkující kyselinu octovou, kyselinu mléčnou, etanol a CO₂, jako produkt fermentace jednoduchých cukrů: glukózy a fruktózy. Jakmile začne klesat pH, začnou převládat mléčné bakterie a jejich produkce je odpovědná za snižování pH v siláži až na dosažení úrovně 4, od toho momentu je siláž stabilní a udrží se tak, pokud není narušena.

Výroba vysoce kvalitních siláží pro koně

P. LINGVALL

Kungsaengens Research Centre, The department of Animal Nutrition and Management

Swedish University of Agricultural Sciences, S – 753 23 Uppsala, SWEDEN

Úvod

Nadvýroba potravin v EU představuje velký ekonomický a sociální problém. Členské státy se budou muset dohodnout, jak snížit produkci potravin a využívat zemědělskou půdu k jiným účelům a aktivitám. V poslední dekádě se zájem o sporty související s koňmi výrazně zvýšil, zejména u žen, a mnoho farem přešlo od výroby potravin k chovu koní. Krajina tak zůstává otevřená a kulturní a sociální život na venkově běží dál.

Chov koní v Evropské unii

Počet koní se velmi rychle zvyšuje a poslední údaje se blíží šesti milionům, což znamená 12,5 koně na 1000 obyvatel. Počet těch, kteří ve volném čase jezdí na koni, je 6,5 milionů, jezdeckých škol je asi 20 000 a členů jezdeckých škol 2,7 milionů.

Tabulka 1: Počet koní na 1000 obyvatel v členských státech EU. (Závěrečná zpráva, EU Equus 2001 – Chov koní v Evropské unii).

Členský stát	Celk. počet koní	Počet obyvatel	Počet koní na 1000 obyvatel
Rakousko	81.900	8.200.000	10
Belgie	200-250.000	10.200.000	22
Dánsko	150.000	5.300.000	28,3
Německo	1.200.000	82.000.000	12,2
Řecko	35.000	10.600.000	3,3
Španělsko	350.000	39.600.000	8,8
Finsko	57.400	5.200.000	11,0
Francie	452.000	59.100.000	7,7
Irsko	60.000	3.700.000	16,2
Itálie	323.000	57.300.000	5,6
Nizozemí	400.000	15.800.000	25,3
Polsko	27.000	9.900.000	2,5
Švédsko	280.000	9.000.000	31,1
UK	965.000	58.800.000	16,4
Celkem	4.676.000	375.331.000	12.5

Sociální význam chovu koní také roste. Díky tomu, že venkovské farmy jsou využity, vesnice jsou stále živé. Jízda na koni je sportem, kterým se zabývají především ženy – ve Švédsku jezdí na koni tolik žen, kolik mužů hraje fotbal – asi 500 000. Vyjádřeno v jazyce ekonomiky, chov koní má ve Švédsku stejnou hodnotu jako produkce prasat – 480 milionů euro z pohledu zemědělství a 2,7 miliard euro celkově.

V oblasti vzdělávání je však nedostatek informací, a v kapacitě vzdělávání jsou mezi jednotlivými zeměmi značné rozdíly (tabulka 2). V období poklesu chovu koní jsme ztratili mnoho zkušeností a základních znalostí. Distribuce koní se také změnila. Koně již nejsou částečně hospodářskými zvířaty, drženými na farmách s obecným zaměřením, ale jsou

chování ve specializovaných chovech, které vyžadují nové strategie konzervace krmiv, krmení a logistiky.

- Problémy spojené s nepřízní počasí
Problémy související s pící
Výroba sena
Výroba siláže
- Silážovací technologie u koní
Zralost siláže – obsah živin – obsah sušiny
Silážování do balíků – hustota – náklady – stabilita při skladování – kvalita
Samosmršťovací fólie – využití silážních aditiv
- Zkrmování siláže koním
Chutnost
Kvalita siláže
Výzvy do budoucna

Tabulka 2: Počty rekreačních jezdců a jezdeckých škol.

Členský stát	Rekreační jezdci	Počet jezdeckých škol	Členové jezdeckých škol
Rakousko	200.000	1.100	80.000
Belgie	-	800	15.000
Dánsko	100.000	500	70.000
Německo	> 2.000.000	5.000	100.000
Řecko	-	-	-
Španělsko	100.000	273	-
Finsko	60.000	500	26.000
Francie	600.000	5.939	426.000
Irsko	30.000	-	-
Itálie	50 – 70.000	1.200	25.000
Nizozemí	400.000	1.000	260.000
Polsko	-	400	700
Švédsko	500.000	600	215.000
UK	2.400.000	2.280	1.440.000
Celkem	6.460.000	19.592	2.657.700

Ve Švédsku 500 000 chlapců hraje fotbal a 65 000 lední hokej, kdežto 85 % jezdců na koních jsou dívky = 425 000. 80 % stájí s koňmi vlastní/řídí ženy. Chov koní je velmi důležitý pro zachování volné krajiny a tvoří velkou část zemědělského hospodářství. I v rámci Evropské unie má tento trend výraznou prioritu!!

Tabulka 3: Stávající možnosti zúčastnit se formálního vzdělávání v oblasti chovu koní a počty absolventů takových programů v roce 2000.

<u>Členský stát</u>	<u>Vyšší střední vzdělání</u>	<u>Vysokoškolské vzdělání</u>
	uváděné počty	uváděné počty absolventů
Rakousko	ano	-
Belgie	ano – 60	ne
Dánsko	ne	-
Německo	ne	ano - 12
Španělsko	ne	ano
Finsko	ano – 230	ano - 12
Francie	ano – 1185	ne
Irsko	ano	ano
Itálie	ne	ne
Nizozemí	ano – 60	ano - 10
Polsko	ano	ano – 24 + 23
Švédsko	ano – 300	ano – 35 + 55 (jízda / klus)
UK	ano – 5000	ano – 600 – 1000

Po druhé světové válce došlo k obrovskému poklesu zájmu o koně a mnoho poznatků bylo zapomenuto. Díky zvyšujícímu se zájmu o aktivity související s koňmi, jednak jako životního stylu, jednak ve smyslu sportovním a soutěžním, se pozornost obrátila k nedostatkům v krmení a výcviku koní. Ve Švédsku se chov koní rozvíjí a potřeba nových poznatků a informací je obrovská. Byla také vytvořena určitá základna pro aktivity související s koňmi, aby byl stimulován zájem mladých lidí o zdravé sportovní aktivity. Těšíme se na spolupráci v rámci rozsáhlejšího programu uvnitř EU.

Skutečná vzdělávací kapacita v roce 2000 je uvedena v tabulce 3.

Výroba krmiv pro koně

Tradičním způsobem konzervace píce je výroba sena. Klusáci a intenzivně využívaní parkuroví koně potřebují krmivo s vysokým obsahem živin a vysokou úrovní hygieny. Studie, v níž bylo zahrnuto 2817 koní na moha různých farem/jezdeckých škol v oblasti kolem Stockholmu a Uppsaly, většina z nich polokrevní jezdečtí koně, zkoumala situaci pomocí dotazníku. Výsledky jsou prezentovány dále. 59% koní bylo krmeno pouze senem, 14% pouze siláží/senáží a 27% senem i siláží. 29% chovatelů pozorovalo u koní zdravotní problémy. Zaplísňené seno bylo hlavním problémem. Při změně ze sena na siláž byly často pozorovány řídké výkaly.

Tabulka 4: Výskyt zdravotních poruch v chovech.

<u>Zdravotní problém</u>	<u>Incidence</u>
Průjem	17
Poruchy plodnosti	0
Respirační problémy	25
Laminitidy	2
Snížený příjem krmiva	9
Botulismus	2
Alergické symptomy	4
Jiné	10
	92

Údaje od pojišťovacích společností jsou velmi podobné. **Respirační** problémy mohou stát mnoho peněz – **botulin není** ve skutečnosti problémem.

Příjem píce ve vztahu k systémům konzervace – rizika a možnosti

Hodnotu pícnin a volbu způsobu konzervace ovlivňují tři důležité aspekty:

- a) Sklizeň a konzervace v optimálním stupni zralosti/živinové hodnotě. Cena
- b) se rychle sníží z 200 euro na tunu sušiny siláže na 100 euro.
- c) Zajištění přijatelné hygienické kvality. Přítomnost spór *Clostridium tyrobutyricum* v mléce snižuje cenu mléka a také cenu siláže o 45 euro na tunu sušiny.
- d) Snížení ztrát živin době mezi sklizní píce a jejím zkrmením zvířatům. Vliv nepříznivého počasí sám o sobě může stát 90 euro/ha.

Pícniny s vysokým obsahem živin lze snadno podávat většině koní jako jediné krmivo. Koně pro rekreační využití jsou často překrmováni a projevují se u nich poruchy nutričního původu. Když píce v krmné dávce převažuje, dává to možnost využívat zemědělskou půdu pro travní porosty a pastviny, což je ekonomický způsob ochrany citlivé kulturní krajiny. Tabulka 5 ukazuje dobrý příklad toho, jako hodnotu má využití zdravotně nezávadné konzervace píce a krmných strategií.

Tabulka 5: Vztah mezi krmnou dávkou a využitím zemědělské půdy k pěstování píce pro koně. (Závěrečná zpráva, EU Equus 2001 – Chov koní v Evropské Unii).

Krmná dávka A = 8 kg sena a 2 kg ovsa na den. B = 4 kg sena, 2 kg slámy a 4 kg ovsa. Koně jsou 165 dní v roce na pastvě a 200 dní ve stáji. Živá hmotnost zvířat, 500 kg. Procentický podíl celkové plochy zemědělské půdy využívaný pro koně.

Členský stát	Krmná dávka A	Krmná dávka B
Rakousko	2,4	1,9
Belgie	11,8	9,8
Dánsko	5,4	4,1
Německo	4,2	3,5
Řecko	1,7	1,5
Španělsko	2,5	2,4
Finsko	3,0	2,5
Francie	1,2	1,1
Irsko	0,9	0,7
Itálie	3,5	3,2
Nizozemí	14,0	11,4
Polsko	1,7	1,8
Švédsko	9,7	7,6 (odhad 2004)
UK	4,1	3,3
Celkem	3,15	2,68

Ve Švédsku je pro chov koní již využívána jedna třetina plochy pěstovaných pícnin a pastvin.

Problémy související s počasím

Počasí ovlivňuje dobu sklizně a kvalitu sena. Údaje z minulých let ukazují, jak velký význam má flexibilní možnost konzervace.

Tabulka 6: Konzervace píce ve Švédsku v letech 1990 až 2004.

Způsob	1990	1998	1999	2000	2004
Seno	30 %	5 %*	20 %	10 %*	10 – 15 %*
Silážní žlab	20	20	20	20	25
Silážní věž	20	20	20	20	20
Silážní balíky	30	55	40	50	50
<u>Tuna x 10³ smršťovací fólie:</u>					
	6	9	8	10	11

* Nepříznivé počasí

Nová technologie balíkování, zavedená v roce 1986, skutečně zvýšila produkci, neboť umožňuje, v porovnání s investicemi do sil a mechanizace, vyhnout se problémům s hygienickou kvalitou, snížit ztráty a zvýšit konkurenceschopnost na typických rodinných farmách. Tato metoda je mezi chovateli koní populární, neboť umožňuje optimální využití techniky a zabraňuje rozvoji plísní. V podmínkách špatného počasí je mnohem výhodnější píci balíkovat než ji sušit na seno.

Velikost balíků však může působit problémy. Omezený počet koní na farmě nemusí být schopen zkonzumovat balík vážící 300 kg (na bázi sušiny) za přiměřenou dobu. Pokud je počasí na podzim teplé, dochází k sekundární fermentaci a plesnivění siláže v otevřeném balíku. Objevují se požadavky na technologii malých balíků. Musí být v budoucnu zdokonalena. Silážní aditiva mohou pomoci zmírnit tento problém a zvýšit hodnotu krmiva.

Preference koní pro konzervovanou siláž (Müller, C. 2005.)

První seč travního porostu byla konzervována jako

- Seno sušené v seníku – 86 % sušiny
- Balíkováná siláž – 35 % sušiny
- Balíkováná siláž – 55 % sušiny
- Balíkováná siláž - 70 % sušiny

Tato krmiva byla individuálně podávána koním. Všechny typy píce byly krmeny všem koním ve čtyřech oddělených boxech. Všechny typy píce byly zkrmovány ve čtyřech oddělených boxech každému koni. Místa boxů byla měněna před každým krmným obdobím během čtrnáctidenního pokusného období po týdenní přípravném období.

Preference koní byly následující:

- Siláž o 35% sušiny
- Siláž o 55 % sušiny
- Siláž o 70 % sušiny = seno.

Koně dávali přednost silážím před senem. Siláž s nízkým obsahem sušiny je pro koně zřejmě chutnější. Tento výsledek přineslo již několik studií. Nemysleme si, že obsah sušiny je kritickým aspektem, pokud hygienická kvalita siláže je dobrá. Optimální obsah sušiny v balíkováné siláži je 50%. Při této sušiny je již omezen růst klostridií, balíky jsou mnohem hutnější a snižují se náklady na balení a manipulaci.

Výroba sena

Seno vhodného živinového složení, bez hygienických nedostatků preferují mnozí chovatelé, kteří mají jednoho nebo dva koně. Manipulace se senem a jeho skladování je snadné, nemění se obsah sušiny, a tak je snadné odhadnout množství, které má být zkrmeno.

Travní porost je velmi závislý na podmínkách počasí, a proto je obtížné sklízet píci v optimální fázi zralosti. Výživná hodnota píce může být proto rozdílná v jednotlivých letech i v jednotlivých sečích.

Hlavním problémem je zajištění hygienické kvality. V posledních letech způsobily podzimní mlhy růst plísní v průběhu skladování vysoce kvalitního sena sušeného v seníku, což zvýšilo zájem o balíkovanou siláž. Viz tabulka 6.

Výroba siláže

Odhadované využití balíkované siláže u koní je u 50% chovatelů (2004). Balíkováná siláž již byla v chovu koní akceptována.

Mnoho chovatelů koní má obavy z vlhké siláže – mnohdy proto, že cítí pach kyselin, nebo také v důsledku varování veterináře. *Clostridium botulinum* je považováno ze velké riziko. To ovšem nepotvrzují statistiky (tabulka 4 a preferenční studie).

Obecný názor na optimální fázi zralosti / nutriční hodnotu je taková, že píce by měla být sečena později (hrubý materiál s nižším obsahem dusíkatých látek). Silně zavadlá píce se obtížně stlačuje a snadno dojde k protržení samosmršťovací fólie. Siláž v potrhaném obalu pak plesniví.

Nové experimenty ukáží, jaké jsou možnosti krmit vysoce kvalitní siláže a snižovat tak množství koncentráту v krmné dávce. Takové krmné dávky jsou levnější a koně zdravější. Nepříznivé počasí, jehož důsledkem je plesnivění sena, již přesvědčilo mnoho chovatelů koní, aby místo sena používali senáž.

Hygienická kvalita siláže je na koňském trhu velice významným faktorem. Počasí nelze poručit, a tak je někdy píce balíkována při nižším obsahu sušiny, než je žádoucí. Nejmodernější kvalitní silážní aditiva, která lze použít u balíkových senáží z dlouhé píce, pomohou překonat tyto problémy.

Silážní technologie u koní

Fáze zralosti – koncentrace živin – obsah sušiny

Silážní balíky: technologie balíkování – udusání materiálu v balíku – kvalita balící fólie / počet vrstev – použití silážních aditiv – stabilita při skladování – náklady

Silážní balíky se vyrábějí na běžných farmách a do stájí pro koně se dovážejí. Balíkováná siláž je základem tohoto výrobního řetězce. Protože silážování je anaerobní proces, je velmi důležité, aby byl materiál uvnitř balíku velmi dobře stlačen a vytěsněn kyslík. Z tohoto pohledu hraje důležitou roli několik faktorů:

Posečená píce. Žádný balíkovač není schopen snížit vlhkost píce během balíkování. Sušina píce má největší vliv na hustotu materiálu v balíku – $R^2 = 0,75 - 0,85$. Zralost píce a její struktura odpovídají za 5 – 15% variability v hustotě. Protože mladá píce má vyšší nutriční hodnotu, je to pozitivní ekonomický faktor.

Tabulka 7: Vztah mezi sušinou píce, hustotou materiálu v balíku, počtem balíku na tunu sušiny a požadovaný typ fólie. Balíkovače pro kulaté balíky (round fix balers) a hranaté balíky (flex chamber balers) – velikost 120 x 120 cm. 6 vrstev fólie.

	Obsah sušiny v píci, g na kg čerstvé píce		
	200	350	500
Hustota materiálu v balíku, kg sušiny, m ⁻³	100 – 105	135 – 160	200 – 240
Počet balíku na tunu sušiny	7.5	4.6	3.2
fólie spotřebovaná na tunu sušiny (kg)	8.3	5.1	3.5

Technologie balíkování má také vliv na hustotu materiálu v balíku.

Použití balíkovačů *fix* nebo *flex chamber*, s noži nebo bez nožů, může zlepšit proces silážování a balící kapacitu.

Hranaté balíky se snáze transportují na velké vzdálenosti. Ovšem v rozích těchto balíků snadno dojde k proděravění, proto se při jejich výrobě používá 12 – 16 vrstev fólie. Malé hranaté balíky o vysoké hustotě materiálu jsou vhodné ke krmení koní. C. Müller, 2005 dospěl k dobrým výsledkům s těmito malými balíky (Welger AP 730 and New Holland 575), pokud byla hmotnost balíku vyšší než 35 kg. Porovnávala balíky s 6, 8 a 10 vrstvami fólie, a použila probiotikum obsahující bakterie mléčného kvašení a Kofasil Ultra. Se zvyšujícím se počtem vrstev fólie se zvyšovala vzduchotěsnost balíků a zlepšovala kvalita siláže a stabilita při skladování, k čemuž přispívala i použitá silážní aditiva. S Kofasilem Ultra byly získány nejvyrovnanější výsledky. Technologie malých balíků je však velmi pracovně náročná!!

Sečení / úpravy – kvalita zavadlé píce

Velmi citlivým faktorem je proměnlivý obsah sušiny v píci ležící na pokose. Balíkovač nemůže promíchávat píci v balíku. Pokud je průměrný obsah sušiny 350 – 400 g, ve spodní části ne často 200 g a v horní 500 g na kg čerstvé píce. Dlouze řezaný materiál s obsahem sušiny 200g/kg fermentuje velmi pomalu a dojde k rozvoji klostridií. Část balíku tedy bude mít špatnou hygienickou kvalitu. Dobrý příklad je prezentován v tabulce 8. V tomto případě měla píce nízký obsah sušiny – mnohem méně než 500 g / kg.

Tabulka 8: Neošetřená balikovaná siláž a balikovaná siláž ošetřená přípravkem Kofasil Ultra v dávce 4 l/t píce. Výsledky jsou získány vždy z deseti balíků

	Kontrola	Kofasil Ultra	LSD p< 0,05
sušina, g,kg píce	242	250	
pH	4.79	4.60	0.20
NH ₃ – N, g/kg celkového N	154	76	15.1
g na kg sušiny:			
vodorozpustné sacharidy (WSC)	3.8	26.3	4.9
kyselina mléčná	30.5	43.2	8.6
etanol 12.7	4.9	3.3	
kyselina máselná	17.1	< 0.3 3.7	
počet spór klostridií na g siláž	1.259.000	< 100	

Kvalita samosmršťovací fólie

Pronikání kyslíku do balíku způsobuje ztráty živin a hygienické problémy. Fólie musí naprosto zabránit pronikání plynů, a udržovat CO₂ uvnitř balíku a bránit pronikání O₂ do balíku. Také barva fólie je důležitá. Bílá fólie odráží sluneční světlo a její povrch zůstává chladný a plynotěsný, kdežto u černé fólie se zahříváním zvyšuje permeace. Protože vysoká teplota také stimuluje růst nežádoucích bakterií a plísní, způsobuje černá fólie jak ztráty živin, tak problémy s hygienickou kvalitou. Příklad uvádí tabulka 9.

Tabulka 9: Ztráty živin ve vztahu k použití silážních aditiv a barvě fólie.

Balíkovač: Krone *fixed chamber*. Wrapper: Kverneland Sila Wrap 7556.

Fólie: Triowrapp 750 mm x 25 μm x 65 % předepjatá.

Píce: Jílek vytrvalý 460 g sušiny/kg hmotnosti čerstvé píce; 107 g NL, 177 g vodorozp. sacharidů, 11 MJ na kg sušiny.

Ošetření: bez ošetření / 4 l Kofasil Ultra na tunu FW. 30 balíků v pokusném zásahu.

		<u>Ztráty živin, kg / t sušiny siláže.</u>		
Fólie		Bez aditiva	Kofasil Ultra	Rozdíl
Černá	x 6 vrstev	90	65	25
Bílá	x 6 vrstev	58	41	17
Rozdíl	32	24		
LSD p< 0,05				5.2

Pokud jsou živiny porovnány s melasou, 1 kg ztráty Ne stojí 0,33 euro.

Pronikání kyslíku ve vztahu k použité fólii, v kombinaci s Kofasil Ultra

Tabulka 10. Ztráty živin ve vztahu k použité fólii.

Balíkovač: Krone *fixed chamber*. Wrapper: Kverneland Sila Wrap 7556.

Fólie: Triowrapp 750 mm x 25 μm x 65 % předepjatá.

Píce: Jílek vytrvalý, 610 g sušiny/kg hmotnosti čerstvé píce, 107 g NL, 177 g vodorozp. sacharidů, 11 MJ na kg sušiny.

Ošetření: bez ošetření / 4 l Kofasil Ultra na tunu FW. 30 balíků na pokusný zásah.

		<u>Ztráty živin, kg / t sušiny siláže.</u>		
Fólie		Bez aditiva	Kofasil Ultra	Rozdíl
Bílá	x 4 vrstvy	63	38	25
Bílá	x 6 vrstev	39	21	18
Bílá	x 8 vrstev	38	23	15
LSD p< 0,05				3.5

Jaké je vysvětlení??

Tabulka 11: Vztah mezi technologií kulatých balíků (New Holland 658 a Claas 255), fází zralosti píče, obsahem sušiny a hustotou (udusáním) / ztrátami živin. Použito 8 vrstev fólie Rani Wrap (Olsson, M., Willson, D & Lingvall, P. 2003)

Balíkovač	sušina g	objem, m ³	hustota, kg sušiny/m ³	Ztráty, kg / balík	Ztráty na balík, kg	Ztráty živin, kg/tunu sušiny
<u>Píče A. g na kg sušiny: NL – 149, popel – 89, NDF – 455, MJ (ME) – 10,3</u>						
Flex chamber	401	1,65	174	6,1		54
Fix chamber	395	1,80	167	6,8		57

Balíkovač	DM, g	objem, m ³	hustota, kg sušiny/m ³	ztráty, kg / balík	Ztráty na balík, kg	Ztráty živin, kg/tunu sušiny
-----------	-------	-----------------------	-----------------------------------	--------------------	---------------------	-------------------------------------

Píče B. g na kg sušiny: NL – 174, popel – 100, NDF – 390, MJ (ME) – 10,5

Flex chamber	465	1,65	220	6,4		42
Fix chamber	531	1,79	218	6,3		41
Flex chamber, 8 km	578	1,66	261	5,8		31
10 km	613	1,67	241	6,1		34
Fix chamber, 8 km	523	1,81	219	7,7		49
10 km	539	1,82	220	6,5		38
LSD ^{P>0,05}	29	0,04	14,2	1,4		9,2

Tabulka 12. Porovnání vlivu dvou samosmršťovacích fólií různé kvality, použitých v 6 a 8 vrstvách na poškození zvenčí a ztráty živin. 16 balíků na pokusný zásah. (Jacobsson, F & Lingvall, P. 2002)

Počet vrstev	Trio base		Horse wrap		LSD ^{P>0,05}
	6	8	6	8	
g sušiny/kg píče	539	564	556	565	6,5
Hustota, kg sušiny na m ³	218	219	197	217	21,8
Těsnost v sekundách	40	102	63	105	
Poškození povrchu, % povrchu balíku	9,2	0,6	2,9	0,4	4,4
Ztráty živin, kg na tunu					
Sušina siláže	152	67	92	65	23,5
Odhadovaný povrch					
Ztráty	93	8	29	8	13,7

Závěry

Část 1.

- Claas 255 (tabulka 11) bude expandovat objem, když je komora naplněna - hustota bude snižena!
- Rozdíly v obsahu sušiny mezi pokusnými zásahy nebyly očekávány.
- Hustota balíků je také vztažena k obsahu vlákniny. Pohybovala se od 167 do 261 kg sušiny na m³.
- U vysoce zavadlé píce balíkováné strojem New Holland 658 se snižovala hustota balíků, když se zvýšila rychlost.
- Claas 255 nikdy nepřesáhl hustotu 220 kg sušiny na m³ , pravděpodobně díky brzdě (*clutch*).
- Naše hypotéza je taková, že ztráty souvisejí s velikostí povrchu balíků a permeací plynů skrze fólii. Stupeň permeace je ovlivněn kvalitou fólie, počtem vrstev a teplotou povrchu. Variabilita ve ztrátách hmotnosti balíků během skladování je velmi malá a souvisí s vlnitostí povrchu balíku. Ztráty živin / tunu sušiny siláže odpovídají množství sušiny siláže, které je obsaženo v balíku. 95% balíků bylo extrémně plynotěsných, jak se zjistilo měřením před otevřením balíků

Část 2.

- Těsnost balíků souvisí zejména s počtem použitých vrstev.
- Poškození povrchu lze "úplně" zabránit při použití 8 vrstev fólie.
- Smršťovací fólie o vyšší kvalitě - Horse Wrap - snížila ztráty živin ze 152 na 65kg na tunu sušiny siláže, v porovnání se šesti vrstvami fólie Trio base, což odpovídá 3,9 euro na balík, pokud se jedná o správně utvářený kulatý balík obsahující píci s vysokým obsahem živin!!

Chutnost

Již jsme porovnávali siláž a seno. Vztah mezi složením píce, obsahem sušiny a příjmem siláže u koní je třeba řádně prozkoumat, neboť v literárních odkazech se sice hovoří o problémech, ale nejsou jasně vysvětleny. Trh nebude dobře fungovat, dokud chovatelé koní nebudou mít jistotu.

Kvalita siláže

Z terénní studie, která byla provedena ve Švédsku, jasně vyplývá, že hygienická kvalita siláže je velmi důležitá. A.T. Ursin a M. Johannessen, 2004, Norsko, zkoumali chutnost a příjem krmiva u balíkováné siláže bez aditiv a s přidavkem GrasAAT – Plus a Kofasil Ultra. Zjistili malé rozdíly v chemickém složení a charakteru fermentace, avšak průkazné rozdíly v příjmu krmiva mezi silážemi ošetřenými různými aditivy.

Obsah vodorozpustných sacharidů (WSC) nebyl analyzován, ale po použití Kofasil Ultra lze očekávat zvýšení obsahu. Velmi rychlý efekt přípravku Kofasil Ultra na enzymatickou a mikrobiální degradaci po zabalení/uzavření balíku snižuje jak ztráty způsobené respirací, tak mikrobiální fermentací.

Tabulka 13. Příjem sušiny siláže zkrmované bez koncentráту 5 koním norského plemene chladnokrevných klusáků, 500 – 550 kg živé hmotnosti.

	Kontrola	Grassat Plus	Kofasil Ultra
Dávkování, l / tunu FW	-	3 – 5	3,5
Sušina, g na kg FW	420	460	490
pH	4,3	4,5	4,6
NH ₃ -N, g na kg celk, N	89	82	76
g na kg sušiny:			
Popel	6,3	6,7	6,7
Etanol 5,6	3,2	1,6	
Kyselina mléčná	24,2	16,1	17,9
Kyselina octová	4,2	2,8	3,5
Kyselina máselná	-	-	-
Příjem krmiva, kg sušiny na den	10,2	11,0	11,9 p< 0,01

Výzvy do budoucna

Zvýšený zájem o jezdecké sporty má pro společnost vysokou hodnotu. Lepší porozumění problematice krmení píce koním může zamezit vzniku mnoha trávících poruch u koní, způsobených podáváním příliš velkého množství škrobu. Současně lze zvětšit plochu travních porostů a pastvin, a tak udržovat krajinný ráz a chránit přírodu účinným a nenákladným způsobem.

Současné poznatky vypadají slibně. Již probíhají aktivity zaměřené na zvýšení využití píce u koní. Nyní se těšíme na vědeckou spolupráci v rozšířené Evropě a využití výzkumných kapacit a poznatků vědeckým a ekonomicky efektivním způsobem. Zkušenosti získané ve Švédsku dnes vedly k tomu, že se koně krmí siláží více než z 50% a je převážně využívána vysoce kvalitní siláž ze zavadlé píce a balíková siláž. Do dnešní doby jsme nezaznamenali žádné problémy se zařazením siláže do krmných dávek pro klusáky a jezdecké koně. Výzkumy v oblasti výživy provádíme také ve spolupráci s francouzskými vědci.

Poděkování

Naše výzkumy v oblasti využití siláží pro výživu koní podporovalo mnoho nadací a firem. Jsou to Addcon Agrar GmbH / Hanson & Mohring LTD, BPI / UK, DOW Chemical, Švýcarsko, The Kverneland Group Europé, Agri Pac Scandinavia, Trioplast LTD / Švédsko, Welger GmbH / Německo, Medipharm LTD / Švédsko, Perstorp Special Chemicals / Švédsko, Tellefsdal A.S. / Norsko, Kungsaengens Res. Centre, Uppsala, Švédsko a Dep. of Agric. Biosystems and Technology, Alnarp, Švédsko.

Zdravotní rizika zkrmování nekvalitních siláží

J. ILLEK

University of Veterinary and Pharmaceutical Science Brno

Palackého 1-3, 612 00 Brno, Czech Republic

www.vfu.cz

Siláže tvoří základní složku krmných dávek přežvýkavců. Jejich kvalita rozhoduje o nutriční hodnotě a chutnosti krmné dávky a tím i o celkovém příjmu sušiny zvířaty. Kvalitní kukuřičná siláž má vysokou energetickou hodnotu, zvířaty je dobře přijímána a stabilizuje fermentační procesy v předžaludku skotu. Ve většině chovů dojnic tvoří celoročně základ směsné krmné dávky. V kombinaci s kukuřičnou LKS či CCM je významným zdrojem energie v období rozdojování a vysoké laktace. Ovlivňuje produkci a jakost mléka, zdravotní stav zvířat i plodnost krav. V kombinaci s bílkovinnou konzervovanou pící a podílem jadrných krmiv vytváří optimální podmínky pro sestavení směsných krmných dávek / TMR / s vysokou koncentrací živin nezbytných pro dojnice v období vysoké produkce mléka s vyhovujícím dietetickým působením a minimalizací vzniku indigestí a poruch zdravotního stavu zvířat. Kvalitní konzervovaná píče je tak nepostradatelná pro vysokoprodukční dojnice. Velkou předností kukuřičné siláže, LKS i CCM je, že škrob kukuřice ve srovnání se škrobem pšenice a ječmene je pomalu tráven a částečně uniká bacheřové fermentaci. Trávením ve střevě tak vytváří přímý zdroj glukózy pro dojnice v období rozdojování a vysoké laktace, kdy jsou dojnice v negativní energetické bilanci. Působí tak proti vzniku ketózy. Kvalitu siláží ovlivňuje mnoho faktorů a to v průběhu všech fází technologie výroby, skladování až po vlastní zařazení do směsné krmné dávky a zkrmování. Odborná literatura a každoročně organizované semináře k problematice silážování poskytují dostatek informací o zásadách výroby kvalitních objemných konzervovaných krmiv. Dostupná sklízecí technika a nabízený sortiment konzervačních přípravků je dostatečný a srovnatelný se zahraničím. Přes tyto skutečnosti kvalita konzervovaných objemných krmiv v mnoha podnicích není na požadované úrovni a přináší jistá zdravotní rizika. Konzervovaná krmiva mají nízkou koncentraci energie, dusíkatých látek, nevyhovující strukturu a sušinu i problematickou hygienickou kvalitu. I dobře vyrobené siláže, které splňují požadavky na kvalitu se mohou velmi rychle změnit na krmiva problematická až hygienicky závadná. Každoročně se s takovou situací setkáváme v řadě chovů v jarním a letním období, kdy dochází k narušení konzervované píče sekundární aerobní fermentací. Aerobní fermentaci siláže, též označované jako /sekundární fermentace či spontánní samozáhřev/ způsobují kvasinky, bakterie a plísně. Nejvíce se na tomto procesu podílí kvasinky. Ty jsou velmi acidogenně tolerantní, snášejí velký rozsah teploty / od 8 do 35 stupňů C a dlouhou dobu přežívají v silážně hmotě. Podobně přežívají i spory plísní a některých bakterií. Za vhodných podmínek – to je při dostatku kyslíku, vody a teplotě prostředí v rozsahu cca 12 až 35 stupňů C dochází k rychlému množení kvasinek a k narušení konzervovaného krmiva. Kvasinky s velkou intenzitou metabolizují kyselinu mléčnou a rozpustné zbytkové cukry. Z těchto energetických zdrojů produkují teplo, oxid uhličitý a vodu. Konzervovaná píče ztrácí energetickou hodnotu, snižuje se množství sušiny. Opakovaně bylo prokázáno, že ztráta sušiny může v průběhu dne při aerobní fermentaci dosáhnout hodnotu 2 až 3%. Rozkladem kyseliny mléčné se mění pH silážní hmoty a vznikají tak vhodné podmínky pro rozmnožování bakterií a plísní. Akumulují se tak v silážní hmotě produkty hniloby, mykotoxiny a řada toxických biogenních aminů jako je kadaverin, tyramin, putrescin, spermidin, tryptamin a histamin. V silážní hmotě se zvyšuje počet bakterií *Escherichia*

coli, Klebsiella, Klostridie, Listerie a další. Zahřátím silážní hmoty vznikají nestrávitelné látky. Konzervované krmivo ovlivněné aerobní fermentací má nízkou výživnou hodnotu z hygienického hlediska nevyhovuje. Má řadu negativních dopadů na zdraví produkci i reprodukci zvířat.

Aerobně narušená konzervovaná píče snižuje hodnotu celkové směsné krmné dávky. Kvasinky velmi rychle napadají a rozkládají cukry které byly přidány do krmné dávky prostřednictvím melasy, nebo krmného cukru, plísně se rychle množí a vytváří velké množství mykotoxinů, rozkládají bílkoviny, patogenní bakterie mají rovněž vhodné podmínky pro rozmnožování a jejich počet se zvyšuje. Tyto nežádoucí procesy probíhají po celou dobu než je krmivo přijato zvířetem nebo je odstraněno z krmného místa.

Metabolity, které se tvoří v průběhu aerobní fermentace snižují chutnost krmné dávky a významně se snižuje příjem sušiny a to až o 30%. K velmi závažným změnám dochází i v předžaludku skotu. Bachorová fermentace potřebuje optimální příjem živin. Aerobní fermentací je snížena koncentrace rozpustných sacharidů, je snížena stravitelnost bílkovin, krmnou dávkou přijaté bakterie negativně působí na bachorovou mikroflóru a mikrofaunu. Velmi negativně na procesu bachorové fermentace se podílí mykotoxiny. Z výše uvedených důvodů vznikají poruchy trávení v předžaludku, jako je jednoduchá indigeste, alkalóza a hniloba bachorového obsahu. Charakteristickým syndromem zkrmování narušené píče aerobní fermentací je snížená žravost, pokles užítkovosti, změny v jakosti a skladbě mléka, zvýšený výskyt mastitid, výskyt průjmů, zvýšená incidence onemocnění paznehtů a značný výskyt hnisavých endometritid. Zdravotní stav krav se promítá i do zdravotního stavu telat. Rodí se telata se sníženou životností, nerada sají kolostrum, kolostrum má nedostatečný obsah imunoglobulinů a proto je u telat i špatná kolostrální imunita. U takovýchto telat se vyskytují průjmová onemocnění a dochází k velkým ztrátám telat úhynem.

Sledováním řady chovů dojníc bylo prokázáno, že narušení objemných krmiv aerobní fermentací negativně ovlivňuje fermentační procesy v bachoru. Byl zaznamenán posun pH bachorové tekutiny na alkalickou stranu, významně byla snížena koncentrace těkavých mastných kyselin /TMK/, snížena koncentrace kyseliny propionové a ve většině případů zvýšena koncentrace kyseliny máselné. Koncentrace čpavku v bachorové tekutině se zvýšila, což svědčí o nedostatečném využití NL a špatné tvorbě mikrobiálního proteinu. Velmi výrazný byl pokles počtu nálevníků v bachorové tekutině. Velmi často jejich počet klesá na hodnoty nižší než 100 000 v 1ml bachorové tekutiny, mnohdy se vyskytují pouze ojediněle a při závažných poruchách trávení jako je hniloba bachorového obsahu chybí. Bachorová tekutina má i změněnou barvu, konzistenci, a vůni.

Přítomnost nežádoucích metabolitů v krmné dávce a v zažitině trávicího traktu alteruje sliznice a omezuje resorpci živin. Velmi je omezena resorpce hořčíku, vápníku, TMK i aminokyselin. Resorbované mykotoxiny a ostatní metabolity narušují játra, dochází k poškození ledvin, vaječníků, štítné žlázy i nadledvin. Významně bývá narušena krevtvorba a imunita především při dlouhodobém zkrmování narušených krmiv. Relativně často vznikají zánětlivé procesy na škáře paznehtní a v chovu je vysoká incidence kulhání.

Důležitou kapitolu tvoří onemocnění mléčné žlázy dojníc. Toxické metabolity včetně mykotoxinů se vylučují do mléka a alterují parenchym mléčné žlázy. V počátcích je tato situace charakterizovaná pouze zvýšeným počtem somatických buněk v mléce, později vznikají zpravidla akutní mastitidy s celkovým narušením zdravotního stavu dojníc. V letním období se v některých chovech uplatňují při vzniku mastitid i kvasinky. Terapie těchto mastitid je velmi problematická a dochází k častým recidivám. Vysoká koncentrace T-2 toxinu vyvolává krvácení do mléčné žlázy a mléko má růžovou až načervenalou barvu. Velmi častou komplikací je následná mastitida.

Zkrmování narušených krmiv negativně ovlivňuje plodnost krav. V patogenezi těchto poruch se uplatňuje jednak nedostatek živin, který vzniká v důsledku snížené žravosti krav, probíhající poruchy metabolismu, postižení jater i změněná funkce štítné žlázy, nadledvin a ovarií. U krav zatížených T-2 toxinem jsme zjistili významné snížení koncentrace hormonů štítné žlázy. Některé metabolity, především mykotoxiny působí toxicky na spermie, oocyty i embrya. Zearalenon – mykotoxin s výrazným estrogením účinkem narušuje hormonální regulace, prodlužuje období říje a má rovněž toxický účinek na spermie a oocyty. Je zodpovědný za neuspokojivou plodnost v řadě chovů. Toxické metabolity společně se subklinickou hypokalcemií a dalšími faktory / karence selenu, vitamínu E / spolupůsobí při vzniku endometritid v raném puerperiu. Snížená celulární i humorální imunita, kterou mohou toxické metabolity při zkrmování narušené píce vyvolat, společně s se sníženou kontraktilitou dělohy navozenou hypokalcemií patří k významným faktorů v etiologii endometritid a poruch puerperia.

Závažnost negativního působení zkrmování narušené konzervované píce aerobní fermentací je zvýrazněna skutečností, že uvedené produkční i zdravotní problémy krav působí souběžně, velmi obtížně se hledá příčina těchto problémů a vznikají velké přímé i nepřímé ztráty. Proto rozhodující pro minimalizaci ztrát je účinná prevence. Dodržení technologických postupů při sklizni, vlastním silážování a použití vhodných konzervačních přípravků které omezují aerobní fermentaci jsou základem pro výrobu kvalitní konzervované objemné píce. Vyrobena kvalitní konzervovaná píce musí být dobře uskladněna a správným způsobem odebírána, i zkrmována. Nebezpečí vzniku aerobní fermentace je vysoké především u glycidových siláží.

Práce vznikla v rámci řešení výzkumného projektu Ministerstva zemědělství a výživy ČR

Konzervace zelené píce při použití ekologických přídatků na území Polska

J. MIKOLAJCZAK

*Katedra Žywieia Zwierząt i Gospodarki Paszowej
Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy*

V pokusu bylo sledováno 38 zemědělských podniků, chovajících dojná plemena skotu, z oblastí Pomorze, Kujawy a Wielkopolsko. Celkem bylo pozorováno 2890 kusů krav v laktaci. Dojnice byly charakterizovány průměrnou roční užitkovostí 5 500–6500 litrů mléka.

Přídavky byly použity při konzervaci trav, vojtěšky a kukuřice (Tab. 1). Farmy zahrnuté v pokusu byly rozděleny do třech skupin:

- I. Farmy nepoužívající přídavky,
- II. Farmy používající mikrobiologické nebo mikrobiologicko-chemické přídavky,
- III. Farmy používající chemické přídavky.

Z údajů obsažených v Tab. 2 vyplývá, že energetická hodnota kukuřičných siláží i trav byla výrazně vyšší na farmách skupiny II. a III. Také oxidační stálost těchto siláží byla lepší při použití mikrobiologických, resp. chemických přídatků.

Zdravotní stav dojnic ukazuje Tab. 3. Většina sledovaných onemocnění byla na farmách používajících mikrobiologické, resp. chemické přídavky, pozorována s menším stupněm výskytu. Na farmách I. skupiny (bez konzervačních přídatků) byla zjištěna ketóza u 28 % krav. Použití konzervantů znamenalo výrazný pokles tohoto onemocnění. Podobné závislosti byly zaznamenány u zadržetí lůžka, poruchy pohybového aparátu a jiných onemocnění.

Výsledky

Použití přídatků ke konzervaci píce (zejména mikrobiologických) zvýšilo energetickou hodnotu a biologickou hodnotu bílkovin siláží.

Poruchy plodnosti a metabolické choroby se vyskytovaly s menší frekvencí výskytu v případě zkrmování siláží konzervovaných s mikrobiologickými nebo chemickými přídatky (skupina II. a III.).

Tabulka 1: Vliv ekologických konzervantů na ukazatele plodnosti v Polsku

Druh přídatku	Počet farem	Stav krav % HF	Produkce mléka ($l \cdot rok^{-1}$)	Surovina k silážování
Bez přídatku	12	80-90	5630	tráva/kukuřice
Přídavky mikrobiologické (mikrobiologicko-chemické)	14	80-90	6451	vojtěška/tráva/kukuřice
Přídavky chemické	12	80-90	6320	vojtěška/tráva/kukuřice

Tabulka 2: Charakteristika mléčné užitkovosti stáda

Druh přídatku	Krmná hodnota 1 kg kukuřice (v suš.)			Krmná hodnota trav (v suš.)			Oxidační stálost (h)	
	UFJ	PDIN	PDIE	UFJ	PDIN	PDIE	trávy	kukuřice
Bez přídatku	0,85	52	60	0,88	78	63	166	121
Přídatky mikrobiologické (mikrobiologicko-chemické)	0,91	58	68	0,92	86	76	184	139
Přídatky chemické	0,90	56	65	0,91	84	64	172	130

Tabulka 3: Ukazatele plodnosti skotu a metabolické choroby (%)

Porucha	Bez přídatku	Přídatky mikrobiologické (mikrobiologicko-chemické)	Přídatky chemické
Ketóza	28	19	20
indigesce	30	18	18
Mastitida	31	28	25
Porucha pohybového aparátu	16	7	6
Zadržení lůžka	7	3	3
Endometritida	4	3	3
Ovariální cysty	7	6	5
Aborty	2	2	1
Levá dislokace slezu	4	1	1

Literatura:

Ostergaard S., Gröhn, (2000): Concentrate feeding, dry-matter intake, and metabolic disorders in Danish dairy cows. *Livestock Production Science*, 65, 107-118.

Clinical dairy Cow Nutrition, (2004): An interactive Guide By J.M. Wilkinson and C.E. Humphreys.

Malinowski E., (2003): Zaburzenia płodności jako skutek zapalenia wymienia. Zaburzenia w rozrodzie zwierząt wysokoprodukcyjnych, s. 111-118.