

STRAVITELNOST ORGANICKÉ HMOTY SMĚSNÝCH KRMNÝCH DÁVEK S PŘÍDAVKEM KVASINKOVÉ KULTURY METODOU *IN VITRO*

J. Doležal, P. Doležal

Došlo: 7. června 2007

Abstract

DOLEŽAL, J., DOLEŽAL, P.: *Digestibility of organic matter of total mixed rations with the supplementation of yeast culture using the in vitro method*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2007, LV, No. 5, pp. 59–64

We conducted this study to evaluate the new in vitro system, DAISY^{II} to determine organic matter (OM) digestibility in ruminant feedstuffs with and without addition of the yeast culture (*RUMEX*) in the amount of 0 grams; 0.30 grams and 2.40 grams/2L of rumen fluid. Three types of total mix rations (TMR) were used in the experiment. Feedstuffs samples were mixed in the ruminal fluid of cows. The material was incubated at 39 degrees of Celsius for 48 hours. Results from the DAISY-^{II} were compared with one another. Higher fibrous material content in 1 kilogram of dry matter (145.4 grams or 218.6 grams) and less energy ME (10.24 MJ or 11.88 MJ/kilogram of dry matter) in each TMR gave rise to worse organic matter digestibility. The highest digestibility of organic matter was noted at TMR 1 (81.04 % (0 g) or 83.47 % (0.30 g) or 84.30 % (2.4 g) with the addition of the yeast culture) and the lowest digestibility was noted at TMR 3 (78.98 % (0 g) or 82.49 % (0.30 g) or 82.95 % (2.4 g)). The supplement of the yeast culture in the amount of 0.3 grams ($P < 0.05$) and 2.4 grams ($P < 0.01$) showed a positive effect on the organic matter digestibility.

in vitro, organic matter digestibility, rumen fluid, yeast culture, cows

Stravitelností organické hmoty krmiv se zabývala řada autorů (MADRID et al., 2002; GOSSELINK et al., 2004; McWILLIAM et al., 2004; HARRISON et al., 1983; SCHUBIGER et al., 2001 a další). Výživná hodnota krmiv je vyjádřena nejen obsahem energie, živin a všech ostatních látek, dále fyzikálními, chemickými i dietetickými vlastnostmi, ale také působením krmiva na organismus zvířete. Živinu přijatého krmiva, která se nevyloučila výkaly, označujeme jako stravitelnou. Nemusí to být jen živina resorbovaná v trávicím traktu. Za stravitelnou považujeme např. i živinu přeměněnou při mikrobiálním trávení v předžaludku přežvýkavců v energeticky bohatý plyn, který se z organismu vyloučí krkáním (ZELENKA, 2004). V pokusech se zvířaty pracujeme klasickou nebo indikátorovou metodou (POZDÍŠEK, 1999). Obě metody lze použít k přímému i diferenčnímu stanovení stravi-

telnosti. Stravitelnost organické hmoty krmiv je ovlivněna řadou vnějších a vnitřních faktorů, ale i samotnou metodou stanovení. V laboratořích ji stanovujeme metodou *in vitro*. Vlákna má při hodnocení krmiv a při sestavování krmných dávek své specifické postavení nejen s ohledem k jejímu vlivu na průběh trávicích procesů, ale také na úroveň stravitelnosti ostatních organických živin (TRÍNÁCTÝ et al., 1999). Podílí se rovněž na energetické hodnotě krmiv a také tuto hodnotu výrazně negativně ovlivňuje. Zvláště výrazný je vztah obsahu vlákniny v krmivu ke stravitelnosti ostatních živin, resp. ke stravitelnosti organické hmoty (ZELENKA, 2004; TRÍNÁCTÝ et al., 1999). Negativní vztah obsahu vlákniny ke stravitelnosti organické hmoty je větší u prasat a drůbeže než u přežvýkavců.

V současné době je známo, že kvasinky mají pro přežvýkavce ve specifických anaerobních podmín-

kách bachoru významný vliv. Prezentované výsledky (LYONS, 1993; SUNE et al., 1998; ALSHAIKH et al., 2002 a další) naznačují příznivé a pozitivní účinky kvasinkových kultur nejen na užitkovost přežvýkavců, obsah mléčných složek, ale zejména na bachorové trávení. Také BAX (2004) konstatuje, že přidávek kvasinek zlepšuje podmínky bachorového trávení a tím zvyšuje i bachorové trávení vlákniny. Pozitivní vliv kvasinek na užitkovost zvířat je dokládán také zvýšením příjmu krmiva a zlepšením stravitelnosti živin (JOUANY, 2001 a další). Doporučený přidávek kvasinkové kultury do krmných dávek dojnicím je 45 až 120 gramů na kus a den, zatímco skotu ve výkrmu je doporučená dávka kvasinkové kultury v množství 15 až 120 gramů na kus a den (LYNCH a MARTIN, 2002). LYNCH a MARTIN (2002) sledovali ve svém pokusu metodou *in vitro* vliv přidavku kvasinkové kultury na úroveň bachorové fermentace. Ve svém sledování použili kvasinkovou kulturu dávce 0,15 až 1,2 gramy na jeden litr bachorové tekutiny s rozdílnými výsledky.

MATERIÁL A METODIKA

Cílem této práce byla inovace a v praktických podmínkách názorná ukázka *in vitro* metody stanovení stravitelnosti organické hmoty krmiv na přístroji Daisy Ancom. Pozornost byla věnována také modifikaci změn bachorové stravitelnosti při přidavku kvasinkové kultury ke vzorkům směsných krmných dávek.

Do sáčků firmy Ancom (F 57), které byly předtím vyprány v acetonu (3–5 min.), vysušeny a zváženy (W_1), se v šesti opakováních navážilo 0,25 g (W_2) vzorku pomletého na velikost 1 mm a sáčky se zatahly dle návodu k přístroji *Daisy*. Kapacita jedné nádoby inkubátoru je 25 ks, tj. 6×4 vzorky + prázdný sáček na korekci (C_1). Dle návodu se doporučuje pro vyšší přesnost výsledků navážka 0,25 g.

Příprava roztoků

V návodu pro *Daisy* inkubátor je pro roztoky uváděn objem 2 litry.

Pufr-roztok A	g/l	Pufr-roztok B	g/l
KH_2PO_4	10	Na_2CO_3	15
$\text{MgSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,43	$\text{Na}_2\text{S}_9\text{H}_2\text{O}$	0,5
NaCl	0,5		
CaCl_2	0,075		
Močovina	0,5		

Oba roztoky (A, B) byly temperovány na teplotu 39 °C a smíchány v poměru 1:5 (1330 ml roztoku A, 266 ml roztoku B) k dosažení konečného pH 6,8. Do

každé nádoby obsahující filtrační sáčky bylo přidáno 1600 ml roztoku A/B.

Příprava očkovací látky a inkubace

Dvě dvoulitrové termosky předeřháté na teplotu 39 °C byly naplněny (na VFU v Brně) bachorovou tekutinou. Do jedné termosky byly vloženy dvě plné hrsti vláknitého podílu z bachoru.

V laboratoři na MZLU v Brně jsme přesunuli očkovací látku z termosek do míchačky. Z nádoby míchačky byl pomocí CO_2 vytěsněn O_2 a očkovací látka byla mixována při vysokých otáčkách po dobu 30 sekund. Míchání zajistí oddělení bachorových mikroorganismů obsažených ve vláknitém podílu a zajistí reprezentativní mikrobiologickou populaci pro fermentaci *in vitro*. Rozmíchané inokulum bylo přefiltrováno přes čtyři vrstvy filtrační tkaniny do pětilitrové láhve (předeřháté na teplotu 39 °C). Ke vzorkům a pufru v každé digesční nádobě bylo přidáno 400 ml bachorové tekutiny. Digescční nádobu jsme uzavřeli víčkem a vymývali po dobu 30 sekund CO_2 . Inkubace probíhala po dobu 48 hodin v podmínkách metody stravitelnosti *in vitro*. Po dokončení inkubace byly nádoby vyjmuty a odčerpány tekutiny. Sáčky byly vyplachovány proudem studené destilované vody, dokud nebyla voda čistá. Bylo použito minimum mechanického míchání. Sáčky určené pro analýzu organické hmoty byly vysušeny při 103 °C do konstantní hmotnosti, nechaly se zchladnout v exikátoru a byly zváženy (W_3). Potom se vzorky zmineralizovaly po dobu 5 hodin při 500 °C, nechaly se zchladnout v exikátoru a nakonec byly zváženy (W_4).

Výpočty

$$\text{OMD} = 100 - \frac{100 * (\text{DMR} - \text{AR})}{m_2 * \text{DM} * \text{OM}} \quad \text{AR} = m_4 - m_1 * c_2$$

Legenda:

- DMR hm. vzorku po inkubaci a vysušení (bez sáčku)
 DM obsah sušiny ve vzorku (%/100)
 OM obsah organické hmoty v sušině vzorku (%/100)
 OMD stravitelnost organické hmoty (%)
 AR hm. vzorku po inkubaci, vysušení a mineralizaci (bez popele sáčku)
 m_1 hm. prázdného sáčku (g)
 m_2 navážka vzorku (g)
 m_3 hm. vzorku a sáčku po inkubaci a vysušení (g)
 m_4 hm. vzorku a sáčku po inkubaci a mineralizaci (g)
 c_1 korekce-sušina (hmotnost sáčku po inkubaci/hmotnost prázdného sáčku)
 c_2 korekce-popel(hmotnost sáčku po mineralizaci/hmotnost prázdného sáčku)

Výsledky byly matematicky zpracovány metodou analýzy variance (ANOVA) a statistická rozdílnost mezi skupinami byla zjišťována Tukeyovým testem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Průměrné kvalitativní charakteristiky jednotlivých směsných krmných dávek (TMR 1–3) jsou uvedeny v tab. I. Z výsledků je patrné, že hodnoty obsahu sušiny TMR 1 a 2 jsou vyhovující a dosahují hodnot v rozmezí 44–46 %, což odpovídá požadavkům kladeným na TMR (KUDRNA, LANG, MLÁZOVSKÁ, 2002). Sušina TMR 3 je 39,77 % a neodpovídá doporučeným hodnotám jiných autorů. Například DOLEŽAL a kol. (2006) doporučuje, aby se hodnota sušiny směsné krmné dávky pohybovala v rozmezí 55–60 %. Hodnoty pH jsou v rozmezí 4,79–4,95 a dají se ohodnotit jako dobré. Hodnoty KVV se pohybují v rozpětí 660–980 mg KOH na 100 g sušiny. V 1 kg sušiny TMR 1–TMR 3 bylo obsaženo 2,7–4,2 % kyseliny mléčné a 2,27–2,58 % kyseliny octové. Poměr kyseliny mléčné ku octové je v rozmezí 1,2–1,63.

Průměrné chemické složení a výživná hodnota směsných krmných dávek (TMR 1–3) v 1 kg sušiny jsou uvedeny v tab. II. Směsné krmné dávky obsahovaly v 1 kg sušiny 155,2–188,3 g NL, což je v doporučeném rozmezí (KUDRNA et al., 2002). Bachorová degradovatelnost dusíkatých látek TMR 1–3 byla v rozpětí 58,47–63,27 %. Tyto hodnoty lze považovat za nízké (ZEMAN et al., 1994; HARAZIM, HOMOLKA, 2002). Hodnota tuku byla 2,32–3,77 % a vyhovuje doporučení podle SOMMERA a PETRIKOVIČE (2003). Obsah vlákniny v 1 kg sušiny u TMR 1 byl 14,54 % a je na spodní hranici fyziologického rozmezí. Množství vlákniny u TMR 2–3 bylo v rozmezí 16,88–21,86 % a odpovídá fyziologické potřebě. Množství strukturální vlákniny bylo v rozpětí 6,84–7,56 %, což je méně, než doporučují SOMMER a PETRIKOVIČ (2003). Obsah BNLV dosáhl 53,22–54,96 % a byl zřejmě ovlivněn vysokou dáv-

kou jaderných krmiv. Celkový obsah škrobu v 1 kg sušiny TMR 1 byl 29,16 % a převyšuje doporučenou koncentraci (do 250 g/kg sušiny) o 41,6 g (SOMMER a PETRIKOVIČ, 2003). U zbývajících TMR 2–3 se celkový obsah škrobu v 1 kg sušiny pohyboval v rozmezí 10,34–22,02 %, což odpovídá doporučenému rozpětí. Degradovatelný škrob u TMR 1–2 dosáhl hodnot 70,10–73,15 %, což se považuje za průměrnou hodnotu. Pouze TMR 3 má podprůměrnou hodnotu (67,15 %) degradovatelného škrobu. Množství ME (10,24–11,88 MJ/kg sušiny) a NEL (6,11–6,86 MJ/kg sušiny) odpovídají údajům dostupné literatury (LOHNERT et al., 2001).

Stravitelnosti organické hmoty u jednotlivých směsných krmných dávek bez přidavku a taktéž s přidavkem kvasinkové kultury prezentuje tab. III. Ze zjištěných výsledků vyplývá, že vyšší obsah vlákniny v 1 kg sušiny (145,4 g, resp. 218,6 g) a menší množství energie ME (10,24 MJ, resp. 11,88 MJ/kg sušiny) v jednotlivých TMR vedl k horší stravitelnosti organické hmoty. Přídavek kvasinkové kultury v množství 0,30 g a 2,4 g/ 2 l bachorové tekutiny vedl ke zvýšení stravitelnosti organické hmoty. Nejvyšší stravitelnost organické hmoty byla u TMR 1 (81,04 %, resp. 83,47 %, resp. 84,30 % s přidavkem kvasinek) a naopak nejnižší stravitelnost byla u TMR 3 (78,98 %, resp. 82,49 %, resp. 82,95 % s přidavkem kvasinek). Tyto závěry jsou v souladu s výsledky jiných autorů (LYNCH a MARTIN, 2002; GOSSELINK et al., 2004).

Vliv obsahu vlákniny na stravitelnost organické hmoty (OH) je uveden v grafu 1. Z grafu je zřejmé, že vyšší obsah vlákniny v krmivu má negativní vliv na stravitelnost organické hmoty; tento výsledek je v souladu s výsledky řady jiných autorů (ZELENKA, 2004; TRINÁCTÝ et al., 1999 a další). Také FOREJTOVÁ et al. (2005), kteří sledovali a porovnávali stravitelnost organické hmoty metodami *in vitro* a *in vivo* a potvrdili, že vyšší obsah vlákniny má negativní vliv na stravitelnost organické hmoty.

I: Průměrné kvalitativní charakteristiky směsných KD (TMR)

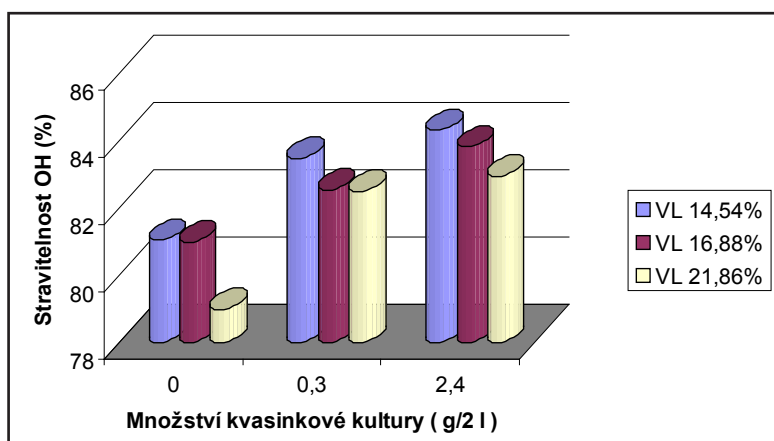
Krmivo	Sušina-lab.	Sušina-p.h.	pH	KVV	KML	KO	Suma kyselin v sušině	KML./KO	Etanol	Klas.FP
Jednotka	%			mg KOH	%					
TMR 1	93,93	46,75	4,95	660	2,72	2,27	4,99	1,20	0,34	II.
TMR 2	93,53	44,18	4,85	890	3,37	2,63	6,00	1,28	0,11	II.
TMR 3	93,10	39,77	4,79	980	4,20	2,58	6,78	1,63	0,30	II.

II: Průměrné chemické složení a výživná hodnota směsných KD (TMR)

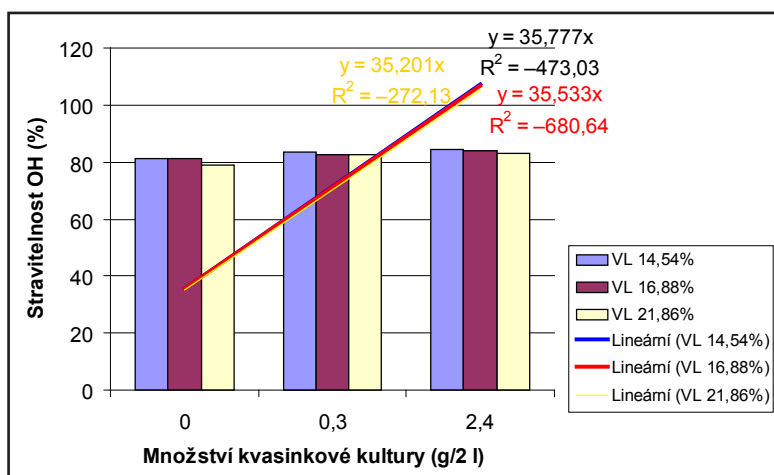
Krmivo	NL	Degr. NL	TUK	VL	St.VL	ADF	NDF	BNLV	Škrob celkový	Deg.škrob	ME	NEL
Jednotka	%										MJ/kg	
TMR 1	18,83	58,47	3,77	14,54	6,84	16,76	28,13	54,39	29,16	73,15	11,88	6,86
TMR 2	16,67	61,00	3,27	16,88	7,14	18,97	30,08	54,96	22,02	70,1	11,63	6,61
TMR 3	15,52	63,27	2,32	21,86	7,56	24,04	35,68	53,22	10,34	67,15	10,24	6,11

III: Stravitelnost organické hmoty (%)

krmivo	0 g kvas.kult.	0,3 g kvas. kult./2 l bach. tekutiny	2,4 g kvas. kult./2 l bach. tekutiny
TMR 1	81,04 ± 0,001	83,47 ± 0,011***	84,30 ± 0,114****
TMR 2	80,99 ± 0,001	82,52 ± 0,228***	83,81 ± 0,114****
TMR 3	78,98 ± 0,001	82,49 ± 0,114***	82,95 ± 0,111****



1: Vliv obsahu vlákniny na stravitelnost OH



2: Vliv obsahu vlákniny na stravitelnost OH

SOUHRN

Cílem předložené práce byla inovace *in vitro* metody stravitelnosti organické hmoty v laboratorních podmínkách a stanovení vlivu přídavku kvasinkové kultury na výslednou hodnotu stravitelnosti organické hmoty směsných krmných dávek. Z výsledků tohoto modelového pokusu vyplývá, že po přídavku kvasinkové kultury v množství 0,30 g/2 l bacherové tekutiny došlo ke statisticky významnému

zvýšení ($P < 0,05$) stravitelnosti organické hmoty směsných krmných dávek. Statisticky vysoce průkazné zvýšení ($P < 0,01$) stravitelnosti organické hmoty směsných krmných dávek bylo prokázáno po přidavku kvasinkové kultury v dávce 2,4 g/2 l bacherové tekutiny. Nejnížší stravitelnost organické hmoty (78,98 %, resp. 82,49 %, resp. 82,95 %) byla u TMR 3 (směs měla nejnížší obsah škrobu a nejvyšší obsah vlákniny), zatímco nejvyšší stravitelnost organických živin byla stanovena u TMR 1 (81,04 %, resp. 83,47 %, resp. 84,30 %). Stejně jako i jinými *in vitro* metodami, ani touto metodou se nedosahují totožné výsledky metody *in vivo*. Jedním z důvodů může být rozdíl mezi nativními enzymy bacherového inokula a průmyslovými enzymy. Nebyla nalezena žádná práce, která by potvrdila negativní účinek kvasinkového preparátu na stravitelnost organické hmoty jednotlivých krmiv.

in vitro, stravitelnost organické hmoty, bacherová tekutina, kvasinková kultura, dojnice

Příspěvek byl realizován za podpory projektu IG 260191/2102/222

LITERATURA

- ALSHAIKH, M. A., ALSIADI, M. Y., ZAHARAN, S. M., MOGAWER, H. H., AALSHOWIME, T. A.: Effect of feeding yeast culture from different sources on the performance of lactating Holstein cow in Saudi Arabia. *Asian-Australian J. Anim. Sci.*, 15, 352–356.
- BAX, J.: Ovlivnění činnosti bacheru. In Odborný seminář Výživa dojníc, Průhonice. 2. března 2004 (osobní sdělení).
- DOLEŽAL, P. a kol.: Konzervace, skladování a úpravy objemných krmiv. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 2006, s. 231–238.
- FOREJTOVÁ, J., LÁD, F., TRINÁCTÝ, J., RICHTER, M., GRUBER, L., DOLEŽAL, P., HOMOLKA, P., PAVELEK, L.: Comparison of organic matter digestibility determined by *in vivo* and *in vitro* methods. *Czech J. Anim. Sci.*, 50, 2005 (2), 47–53.
- GOSSELINK, J., DULPHYI, J., PONCETI, C., TAMMINGA, S., CONE, J.: A comparison of *in situ* and *in vitro* methods to estimate *in vivo* fermentable organic matter of forages in ruminants. *NJAS* 52–1, 2004.
- HARAZIM, J., HOMOLKA, P.: Stanovení degradovatelnosti a stravitelnosti dusíkatých látek u přežvýkavců. *Farmář*, č. 9, 2002, s. 38–39.
- JOUANY, J. P.: Dvacet let výzkumu kvasinkových kultur a jejich masivní nástup v současné době ve výživě přežvýkavců. In: Sbor. 15. evropského přednáškového turné firmy *Alltech*, Brno, 2001, s. 29–39.
- HARRISON, A. M., PIKE, A., PUTWAIN, P. D., MCNEILLY, T.: Prediction of *in vitro* organic matter apparent digestibility of grass silage. Zdroj: internet
- KUDRNA, V., LANG, P., MLÁZOVSKÁ, P.: Četnost podávání TMR a její vliv na mléčnou užitkovost. *Farmář*, č. 9, 2002, s. 34–35.
- LOHNERT, H. J., OCHRIMENKO, W. I., SUNDER, A. et al.: Influence of living yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) on the rearing of calves. In Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. Jena Thuringen 2001, s. 497–500.
- LYNCH, H., MARTIN, S.: Effects of *Saccharomyces cerevisiae* Culture and *Saccharomyces cerevisiae* Live Cells on In Vitro Mixed Ruminant Microorganism Fermentation. *J. Dairy Sci.* 2002, 85: 2603–2608.
- LYONS, P.: Požadavky současnosti na vývoj biotechnologických metod v oblasti výživy a krmení zvířat. In: Biotechnologie ve výživě zvířat. VII. Evropské přednáškové turné, *Alltech*, Brno, 1993, s. 11–24.
- MADRID, J., MEGÍAS, M., HERNÁNDEZ, F.: In vitro determination of ruminal dry matter and cell wall degradation, and production of fermentation end-products of various by-products. *Anim. Res.* 51 (2002) 189–199.
- MABJEESH, S., COHEN, M., ARIELI, A.: In Vitro Methods for Measuring the Dry Matter Digestibility of Ruminant Feedstuffs: Comparison of Methods and Inoculum Source. *Journal of Dairy Science* Vol. 83, No. 10, 2000.
- MCWILLIAM, E., BARRY, T., LÓPEZ-VILLALOBOS, N.: Organic matter digestibility of poplar (*Populus*) and willow (*Salix*) forage trees and its *in vitro* prediction. Received: 9 March 2004; Revised: 21 June 2004; Accepted.
- POZDÍŠEK, J.: Možnosti stanovení stravitelnosti organické hmoty. In Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců. Opava, 1999, s. 85–92.
- SCHUBIGER, F. X., LEHMANN J., DACCORD, R., ARRIGO, Y., JEANGROS, B.: Comparison of laboratory methods for determining forage digestibility. *Agrarforschung*, 8(09), 360–363, 2001.
- SOMMER, A., PETRIKOVIČ, P.: K problému výživy vysokoprodukčních dojnic. *Agromagazín*, č. 11, 2003, s. 32–35.
- SUNE, R. W., MUHLBACH, P. R. F.: Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) strain 1026 addition on milk yield and milk quality of Holstein

- cows in pasture. *Revista-Brasileira-de-Zootecnia*, 1998, 27:6, 1248–1252.
- TŘINÁCTÝ, J., RICHTER, M., PAVELKOVÁ, L., PAVELEK, L., HARAZIM, J.: Vývoj metod hodnocení vlákninového komplexu krmiv a degradace škrobu, ADF a NDF u jetelové a kukuřičné siláže v bachoru. In *Stanovení využitelnosti živin u přežvýkavců*. Opava, 1999, s. 69–76.
- ZELENKA, J.: Výživná hodnota krmiv. In *Výživa zvířat a nauka o krmivech*. Skriptum MZLU v Brně, 2004, s. 184–213.
- ZEMAN, L., DVOŘÁK, R., ILLEK, J. a kol.: Nový systém výživy a techniky krmení skotu. In: *Výživa skotu*, Brno, 24.11. 1994, 108 s.

Adresa

Ing. Jan Doležal, Prof. MVDr. Ing. Petr Doležal, CSc., Ústav výživy zvířat a pícninářství, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: hodo@centrum.cz, dolezal@mendelu.cz