



PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: MVDr. Jan STARÝ
Narozen(a): 23. 5. 1981 v Prachaticích
Studijní program: Zootechnika
Studijní obor: Speciální zootechnika
Forma studia: Kombinovaná
Školící pracoviště: KZVK ZF JU v Č. Budějovicích
Datum a místo konání zkoušky: 22. 5. 2015, ZF JU v Praze
Zkušební termín č.: 1.

Název disertační práce:

Zhodnocení vybraných doplňků krmiv na snížení negativních účinků mykotoxinů na zdraví a užitkovost dojnic

Výsledek obhajoby:

Prospěl (a)

Neprospěl (a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. František Louda, DrSc.; ČZU v Praze, FAPPZ	
Členové:	prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.; VFU Brno, FVHE (oponent)	
	doc. MVDr. Josef Illek, DrSc.; VFU Brno, FVL (oponent)	
	prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	prof. Ing. Bohuslav Čermák, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	IMUVEN
	doc. Ing. Josef Bouška, CSc.; VÚŽV v Praze	
	dr. hab. Inž. Jan Micinsky, prof.; UWM w Olsztynie, Polsko (oponent)	IMUVEN
	doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
Školitel :	prof. Ing. Jan Frelich, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	

Odpovědi na otázky oponentů k disertační práci MVDr. Jana Starého na téma:

Zhodnocení vybraných doplňků krmiv na snížení negativních účinků mykotoxinů na zdraví a užitkovost dojnic

Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc. Dipl. ECBHM
Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
Fakulta veterinárního lékařství

1. Lze očekávat rozdíl v absorpčním efektu použitých aditiv u krav s výskytem acidózy bachorového obsahu?

Odpověď: V případě kvasinkového preparátu, pokud se nejedná o akutní acidózu s klinickými projevy, se dá očekávat, že kvasinky napomohou utilizaci snadno degradovatelných cukrů a jakoby čekají na tuto příležitost, dojde k alkoholovému kvašení, produkci CO₂, tepla a alkoholu, který se dá dále energeticky využít a napomáhají stabilizaci bachorového prostředí. Vazba na glukomanany ve stěně kvasinek není změnou pH zásadně změněna.

V případě HSCAS může též bachorová acidóza pozitivně ovlivnit sorpční kapacitu doplňku, většina hlinitokřemičitých jíílů má ve vodném roztoku neutrální až mírně zásadité pH, okyselením stoupá náboj mezi nábojem tvořeným přítomností kovových iontů uvnitř molekuly jíilu a vazba s mykotoxinovými skupinami o opačné polaritě se tak stává silnější.

2. Jaká je optimální dávka testovaných absorbentů pro dojnice.

Odpověď: V podstatě jsme se v obou pokusech drželi doporučeného dávkování výrobcem tj. 5kg/t krmiva u HSCAS a 5 g/ks a den v případě kvasinkového doplňku. (Pokusně dle literatury až 60 i 100 g/ks den, otázkou je ekonomika a dlouhodobé podávání)

3. Lze vyšší dávkou docílit vyšší efekt

Odpověď: V případě HSCAS je zde otázka selektivity, zda by při vyšším množství nedošlo k vazbě některých nutričně významných látek, vitaminů, aminokyselin,... U kvasinek by vyšší dávka neměla vadit, nutričně jsou vhodné, otázkou je opět ekonomika.

4. Jaké výživářské metody autor doporučuje pro pozitivní ovlivnění bachorové fermentace a zvýšení syntézy mikrobiálního proteinu při zvýšeném obsahu mykotoxinů v TMR?

Odpověď: Dodržet zásady přísunu alespoň minima hrubé vlákniny pro stimulaci bachorové činnosti, včetně tvorby papil, u vysokoprodukčních dojnic případně dotovat energii propylenglykolem, nebo glycerolem (+/- 500 g/ks/den)

Odpovědi na otázky oponentů k disertační práci MVDr. Jana Starého na téma:

Zhodnocení vybraných doplňků krmiv na snížení negativních účinků mykotoxinů na zdraví a užitkovost dojnic

Prof. dr. hab. Jan Miciński

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Wydział, Bioinżynierii Zwierząt
Katedra Hodowli Bydla i Oceny Mleka
Oczapowskiego 5/150, 10-719 Olsztyn

1. V grafu 6 na str. 103 je zřejmý rozdíl v nemocnosti krav v obou sledovaných stádech, respektive u obou sledovaných plemen. V čem vidíte příčiny stavu, že je zřetelný rozdíl u obou plemen ve frekvenci onemocnění končetin?

Odpověď: Rozdílnost v nemocnosti je dán plemennou příslušností dojnic, u českého strakatého jako kombinovaného plemene není tak vysoký tlak na mléčnou užitkovost jako je tomu u plemene holštýnského.

2. V tabulce 27 na str 107 je uvedena hodnota nádoje 2683 až 2757 kg mléka. Za jak období (za jaký úsek laktace) byla tato hodnota zjištěna?

Odpověď: Jedná se o denní množství mléka dodané do mlékárny.

3. Proč jsou v tabulkách 27 a 29 uvedeny hodnoty obsahu složek mléka v odlišných jednotkách (% a kg)?

Odpověď: Množství tuku je uváděno v %, nebo g/100g, nebo v kg, v konečné úpravě bylo opomenuto sjednocení jednotek pro větší přehlednost, na statistické hodnocení tato skutečnost nemohla mít žádný vliv..

4. V prvním odstavci na str. 117 uvádíte, že nejvíce veterinárních zásahů vyžadovaly v obou stádech reprodukční poruchy (38,5 % v podniku 1 a 28,0 % v podniku 2) Čím si vysvětlujete tento rozdíl u obou stád, když hodnoty mezidobí v obou stádech jsou na velmi podobné úrovni (viz tabulky 16 a 17) a holštýnský skot chovaný v podniku 2 je obecně známý svými horšími výsledky reprodukce?

Odpověď: Podnik 2 s chovem holštýnského skotu, by dle předpokladů měl být horší, ale zde je určitá nedostatečnost v metodice, jde o rozdíl v přísnosti zařazení, či nezařazení onemocnění reprodukčních orgánů. Ret. sec. – navazuje endometritis a ta je řešena v podniku 2 jako součást např. mastitis a jsou-li užita celkově ATB má přednost záznam MASTITS s OL, než ošetření dělohy prostřednictvím inta uter. tbl.. Nicméně předmětem práce nebylo hodnotit farmy mezi sebou, ale zda ovlivnil zvolený doplněk výskyt onemocnění, předpoklad je a to naštěstí bylo v obou podnicích dodrženo, že po celou dobu zajišťoval veterinární péči stejný veterinární lékař.

Odpovědi na otázky oponentů k disertační práci MVDr. Jana Starého na téma:

Zhodnocení vybraných doplňků krmiv na snížení negativních účinků mykotoxinů na zdraví a užitkovost dojnic

Prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Fakulta veterinární hygieny a ekologie

- strana 12 – Autor uvádí, že problematika plísní úzce souvisí s úrovní pěstování rostlin, s použitím správných technologických postupů. Není jedním ze zásadních technologických postupů střídání plodin (viz. příklad jak se lidstvo zbavilo námele)? Obměnu polních plodin jako prevenci autor uvádí na straně 76 a 77.

Odpověď: Střídání plodin je jedním ze základních postupů snížení výskytu jakýchkoli patogenů, plevelů a škůdců. Ergotismus z neošetřeného obilí a neselektované napadená zrna, ale obdobně je tomu i u jiných intoxikací, např. Aflatoxikóza, otravách ochratoxiny, yearalenonem. Je nutné stejně jako dodržet obměnu plodin, také zajistit optimální podmínky optimální podmínky růstu a sklizně a bránit poškození škůdci. Řada dalších případů z historie např.: období konce 2. světové války a Akutní toxické aleukie u lidí v SSSR způsobená T-2 toxinem.

- strana 22 – OT, DON, ZEA, T-2 se kumulují v tkáních zvířat a tím narůstá i riziko pro narušení zdravotní nezávadnosti potravin. Pro OT a ZEA nacházím vysvětlení – mají enterohepatální cyklus. Je tomu také tak pro DON a T-2, které nemají enterohepatální cyklus?

Odpověď: Enterohepatální cyklus je mechanismus, který udržuje a zpomaluje vyloučení mykotoxinu z organismu, ale značný podíl má i snadná rozpustnost v polárních a nepolárních rozpouštědlech T-2 toxin velice snadno proniká tkáněmi i kůží, obdobně i DON.

- strana 22 – Zajímavá je problematika maskovaných mykotoxinů. Nedávno byla v odborné literatuře uvedena problematika maskovaných mykotoxinů například v pivu. Je to závažný problém? Mohl by autor podrobněji vysvětlit pojem maskovaných mykotoxinů?

Odpověď: Masked mycotoxins, v roce 2013 byla publikována poměrně obsáhlá review v Molecular Nutrition and Food Research na toto téma. ZEA, OTA, DON, FUM, ale i PAT, tvoří glykosidový komplex s molekulou cukru, čímž se navenek mění charakter celé molekuly mykotoxinu, ta se stává „maskovanou“ již v rostlině, posléze v GIT uniká detoxikačním mechanismům a následně i námi zvolenou diagnostickou metodou.

- strana 24 – V tabulce 6 mě překvapil údaj o T-2 toxinu a prasatech. Prasata jsou k T-2 toxinu méně vnímavá?

Odpověď: Je to tabulka Devegowda, 1999, u prasat je diskutován především DON, ač T-2 působí eroze na rypáku, v dutině ústní, imunosupresi, nechutenství. Devegowda jej označil pro prasata za málo významný, pravděpodobně ve studiích do roku 1999 byl T-2 zastíněn DONem. Ve vědeckých člancích z posledního desetiletí je T-2 toxinu již přikládán minimálně

stejný význam jak deoxynivalenolu. Zmíněná tabulka byla použita pro názornost citlivosti jednotlivých druhů hospodářských zvířat k jednotlivým typům mykotoxinů

- strana 38 – 40 – V této části práci jsou uvedeny rovněž fytoestrogeny navozující estrogení účinek. Mohl by autor uvést původní citaci práce o účincích koniinu?

Odpověď: Čerpal jsem z citované publikace Opletal a Šimerda, Přírodní látky a jejich biologická aktivita, Praha 2010, kde shrnují literární údaje z řady zahraničních studií věnovaných problematice fytoestrogenů. problematiku fytoestrogenů jsme považoval za nutnou zmínit ve vztahu k biologickým účinkům zearalenonu.

- strana 73 – Ke stanovení mykotoxinů lze také použít biologický pokus, například test na *Artemia spp.* Mám takový dojem, že se tato informace automaticky přepisuje a v praxi asi nepoužívá. Mohl by autor uvést původní práci, která tuto informaci podává a případně případy, ve kterých byl tento test použit.

Odpověď: Např.: Evaluation of Brine Shrimp (*Artemia salina*) Larvae as a Bioassay for mycotoxins in Animal Feedstuffs, M. G. Prior, Canadian Journal of Comparative Medicine, 1979, 43 (4), 352 – 355. Je to článek vzniklý v době boomu studia mykotoxinů a je dodnes na tento v mnoha pracích odkazováno.

- strana 77 – Je možno v současné krmivářské praxi využít některé fyzikálně chemické metody dekontaminace mykotoxinů?

Odpověď: Mykotoxiny jsou tepelně stabilní látky, tepelné zpracování bez dalšího poškození není reálné, obdobně u většiny chemických způsobů dekontaminace. UV záření využívající se v rámci sterilizace v potravinářství může mít vliv i na detoxikaci aflatoxinů. Kyselina propionová jako doplněk energie u dojnic v poporodním období, ale její účinek by byl spíše nepřímo skrze stabilizaci bacherového prostředí.

- Huwig a kol. 2001 v Toxicological Letters uvádějí téměř neúčinnost křemičitanů a hlinitokřemičitanů proti trichotecenům. Je možno vysvětlit princip této neúčinnosti?

Odpověď: Informace autorů se v tomto poněkud liší a také je potřeba zdůraznit spektrum obsažených kovových iontů, ve vrstvách jílu, tedy io jaký typ hlinitokřemičitanu se jedná a pH při kterém působí.

- V práci byly použity dva typy dekontaminantů a to aluminosilikátový vyvazovač a kvasinkový doplněk. Může autor zdůvodnit použití právě těchto dvou typů dekontaminantů?

Odpověď: V období 2006 až 2008 se hledala cesta k přípravě terénního pokusu v provozních podmínkách, došlo k domluvě s poskytovatelem doplňkových preparátů a majiteli a hlavními zootechniky v pokusných podnicích, výsledkem byla možnost otestovat v provozních podmínkách právě tyto preparáty.

- strana 118 – Je možno v krmivářské praxi obecně doporučit „naředění“ kontaminovaného krmiva mykotoxiny krmivem prostým mykotoxinů?

Odpověď: Z ekonomických a provozních důvodů mnohdy jiná možnost není

- Budou sledované výsledky publikovány v odborném nebo vědeckém tisku?

Odpověď: Jistě budou.

- V práci je několik překlepů a ojediněle i nesrovnalostí v literatuře.

Doplňující otázky členů komise v rámci vědecké diskuse k obhajobě disertační práce MVDr. Jana Starého, konané dne 22. května 2015 na Katedře veterinárních disciplín Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze, na téma:

Zhodnocení vybraných doplňků krmiv na snížení negativních účinků mykotoxinů na zdraví a užitkovost dojnic

- Doc. Ing. Josef Bouška, CSc.:

Proč autor využil denní nádoj ke zpracování výsledků? A jaké bylo členění pro statistické vyhodnocení?

Odpověď: Denní nádoj v praktických podmínkách nejlépe ukazoval vývoj změn v produkci mléka. Toto členění bylo zvoleno pro větší přehlednost posouzení účinku doplňků a zároveň bylo vztaženo k ostatním hodnotám sumarizovaným po měsících.

Byl stanoven nástin výpočtu zhodnocení ekonomických prostředků vložených do detoxikace krmiv?

Odpověď: Zhodnocení ekonomického dopadu použitých doplňků, nebylo předmětem mé studie. Základem je vždy prevence vzniku mykotoxinů, odpovídající výroba a skladování krmiv. Údaje z USA uvádí ztráty vlivem kontaminace krmiv mykotoxiny v řádech milionů amerických dolarů, s údaji o nákladech na detoxikaci jsem se v literatuře nesetkal.

- Prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.:

Do jaké skupiny plísní patří plíseň obsažená v balících sena, polní, nebo skladištní?

Odpověď: Většina mykotoxinů v objemných krmivech je vytvořena již v době před sklizní, jedná se o skupinu polních plísní. Tvorba mykotoxinů u skladovaných krmiv může nastat za velmi nevhodných skladovacích podmínek, zatékání do seníků, nedostatečné zamezení přístupu vzduchu v silážních žlabech či vacích.

Zvyšuje se podíl plísní a mykotoxinů po uskladnění v krmivech pro dojnice?

Odpověď: Při vhodném skladování by nemělo k dalšímu nárůstu obsahu mykotoxinů dojít, předpokladem je zajištění anaerobního prostředí a optimálního pH při silážování, u ostatních krmiv zabezpečit vlhkost do 14%. Jinak samozřejmě může k sekundární tvorbě mykotoxinů docházet.

Jaké projevy mykotoxinů jsou u drůbeže, jako u hospodářských zvířat s krátkým životním cyklem?

Odpověď: V literatuře jsou diskutovány, ve vztahu k chovům drůbeže, především aflatoxiny a trichotheceny, které u brojlerů vedou k nižšímu příjmu krmiva a pomalejšímu růstu, vyšší mortalitě v hejnech u nosnic a např. T-2toxin vede k nárůstu počtu křapů. Krmiva pro drůbež jsou standardně kontrolována na obsah mykotoxinů, aby se zamezilo hromadným úhynům a především ohrožení zdraví lidí. Na doplnění, zearalenon se u ptáků prakticky vůbec neuplatňuje.

Jaký je mechanismus účinku mykotoxinů na imunitní systém?

Odpověď: Veškeré imunosupresivní mechanismy mykotoxinů nejsou zdaleka popsány a spektrum působení je značně široké. Alespoň příklad z námi vyšetřovaných mykotoxinů: u trichothecenů, předně u T-2 toxinu, je silná afinita k rychle se množícím buňkám, narušuje nejen epitelie, ale i tvorbu buněk červené a bílé krevní řady což vede k leukopenii.

- Doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.:

Jaká je nebezpečnost plísní pro koně, oproti skotu a s jakými projevy? Jakým způsobem se eliminují negativní účinky zaplísněného krmiva u koní?

Odpověď: U koní se více než vlastní mykotoxiny, ač spektrum jejich účinku je obdobné jak u ostatních monogastrických živočichů, řeší vlastní plísně pro jejich přímý dráždivý účinek. Plísněmi napadené seno je uváděno jako jedna z hlavních příčin vzniku syndromu chronických plicních onemocnění u koní, na vině více než mykotoxiny jsou spóry, části těl plísní, těkavé mastné kyseliny a aromatické látky.

Bylo by možné popsat vliv sezóny a srážek na výskyt mykotoxinů v krmivech?

Odpověď: Na výskytu plísní a následně i mykotoxinů se podílí podmínky růstu rostlin. Rozvoji obsahu mykotoxinů napomáhá vysoká vlhkost, pozdní sklizeň a další narušení např. přemrznutím, přimícháním zbytků z předešlé sklizně. Důležité jsou i agrochemické zásahy na snížení výskytu plevelů, škůdců a proti rozvoji plísní.

- Prof. Ing. František Louda, DrSc.:

Jaké toxiny mohou kontaminovat mléko a jsou stanoveny normy bezpečnosti?

Odpověď: U námi sledovaných mykotoxinů je podle literárních údajů prostup do mléka pouze v tisícinách promile z původně přijatého množství. Z hlediska bezpečnosti potravin je sledován výskyt Aflatoxinů, do mléka prostupuje potencionálně karcinogenní Aflatoxin M1.

Jaký je vliv střídání plodin na výskyt mykotoxinů a jaký je výskyt mykotoxigenních plísní v půdě?

Odpověď: Dodržování osevních postupů, důkladné zpracování půdy, zapracování organických zbytků z předešlé sklizně, setí ošetřených osiv, ale i udržování meliorační sítě, to vše vede k minimalizaci rozvoje a udržení spor plísní na polích.

Zapsal: Ing. Jan Beran, Ph.D.

