

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Zemědělská fakulta**

**Katedra zootechnických věd**

**Hlavní faktory výživy a strategie krmení intenzivně  
chovaných brojlerových králíků**

**Habilitační práce**

**Autor: Ing. Zdeněk Volek, Ph.D.**

**© 2017 JČU v Českých Budějovicích**

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval především všem členům rodiny a přátelům, kteří mě podporují v mé práci. Poděkování patří také spolupracovníkům Oddělení fyziologie výživy a jakosti produkce, bez jejichž pomoci by předkládané publikace mohly jen těžko vzniknout.

# **OBSAH**

<b>1. Úvod</b>	<b>5</b>
<b>2. Literární přehled</b>	<b>6</b>
2.1 Popis managementu chovu, genetického materiálu a systému krmení králíků pro intenzivní produkci	6
2.2 Výživa a strategie krmení brojlerových králíků	12
2.2.1 Charakteristika a funkce hlavních orgánů trávicího traktu	12
2.2.1.1 Žaludek	12
2.2.1.2 Tenké střevo	13
2.2.1.3 Slepé střevo	14
2.2.1.4 Tračník	16
2.2.1.4.1 Cékotrofie	16
2.2.2 Současný stav poznání významu vlákniny, dusíkatých látek a škrobu z pohledu užítkovosti a zdravotního stavu králíků	18
2.2.2.1 Vláknina	18
2.2.2.2 Dusíkaté látky a jejich zdroj	22
2.2.2.3 Škrob	24
<b>3. Cíl Práce</b>	<b>26</b>
<b>4. Publikované práce</b>	<b>27</b>
4.1 Publikace 1	29
4.2 Publikace 2	41
4.3 Publikace 3	47
4.4 Publikace 4	56
4.5 Publikace 5	65
4.6 Publikace 6	72
4.7 Publikace 7	81
4.8 Publikace 8	87
4.9 Publikace 9	97
<b>5. Souhrnná diskuse</b>	<b>108</b>
5.1 Lupina bílá jako hlavní zdroj dusíkatých látek v krmných směsích	108
5.1.1 Chemické složení semen lupiny bílé	108
5.1.2 Vliv lupiny bílé na užítkovost a kvalitu jatečného těla králíků	109

5.1.3 Vliv lupiny bílé na stravitelnost živin	110
5.1.4 Vliv lupiny bílé na zdravotní stav	110
5.1.5 Vliv lupiny bílé na složení mastných kyselin v mase a ledvinovém tuku	112
5.1.6 Vliv lupiny bílé na produkci mléka a složení mléka	112
5.1.7 Slupky lupiny bílé jako vedlejší produkt zemědělské výroby	114
5.2 Doporučený obsah škrobu v krmných směsích odstavených králíků	115
5.3 Inulin a zdroj fruktanů inulinového typu v dietách rostoucích králíků	116
<b>6. Závěr</b>	<b>119</b>
<b>7. Použitá literatura v kapitolách 2 a 5</b>	<b>121</b>

# 1. ÚVOD

V současné době se intenzivní chov brojlerových králíků v ČR, stejně jako v jiných zemích světa s tradicí chovu králíků pro masnou produkci, potýká s vysokými náklady, kde největší dopad mají náklady na krmení, celková konverze krmiva a počet živě narozených/ odstavených / prodaných králíků za časové období. Na uvedené parametry mají největší vliv vysoké riziko trávicích poruch králíků v období mléčné výživy a výkrmu, neodpovídající tělesná kondice chovných zvířat a nízká reprodukční užitkovost. Primární příčinou uvedených negativních událostí je nevhodně zvolená výživa a krmení jednotlivých kategorií zvířat.

V minulosti se uvedené problémy, spojené s poruchami trávení, řešily plošným podáváním krmných antibiotik. Aplikace krmných antibiotik snižovala zdravotní rizika, napomáhala lepšímu využití živin a díky tomu se užitkovost zvířat dařilo držet na vysoké úrovni. Po plošném zákazu antimikrobiálních aditiv však v chovech brojlerových králíků dochází k návratu známých problémů. Zvyšuje se nemocnost zvířat, zhoršuje se konverze krmiva, prodlužuje se doba výkrmu a zvyšují se náklady spojené s veterinární léčbou. V situaci, kdy na faremní chov brojlerových králíků, ačkoliv se jedná o plnohodnotné odvětví zemědělské výroby, existují pouze omezené dotační tituly, se řada farem dostává do ekonomických problémů a v častých případech zaniká. Je proto nutné hledat možnosti, jak některé náklady chovu snížit. Protože efektivní náhrada antibiotik v podobě například vakcín selhává, je pozornost v současné době zaměřena na tzv. ne-nutriční či nutriční strategie, které by mohly vést ke snížení používání antibiotik, a to jak z pohledu prevence, tak také léčby.

Mezi ne-nutriční faktory, které budou v nadcházejících letech stále častěji do faremního chovu brojlerových králíků implementovány, lze řadit prevenci trávicích poruch prostřednictvím obohaceného systému ustájení, zavedení tzv. „all-in all-out“ produkčního systému, vhodný reprodukční rytmus, biologickou bezpečnost, úplnou desinfekci hal na konci výkrmového cyklu apod.

Kromě ne-nutričních strategií se též hledají nové nutriční strategie, které povedou ke zvyšování resistance brojlerových králíků k poruchám trávení. Pozornost je zaměřena na plnohodnotnou produkci mléka a jeho složení, s ohledem na růst a vývoj králíčat, protože období před odstavením rozhoduje o životaschopnosti zvířat v následném výkrmovém období. Předmětem předkládané habilitační práce je proto popsat hlavní faktory výživy a strategie krmení intenzivně chovaných brojlerových králíků a doplnit některé informace, které jsou v dostupné literatuře jen velmi málo popsány či zcela chybí.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Popis managementu chovu, genetického materiálu a systému krmení králíků pro intenzivní produkci

Pro intenzivní celoroční vyrovnanou produkci jatečních králíků se používá výhradně brojlerový králík, u kterého je zajištěn vysoký genetický potenciál růstu, jatečné výtěžnosti, plodnosti a mléčnosti samic. Brojlerový králík, při srovnání s tradičními (čistokrevnými) plemeny, zvyšuje z pohledu celkového zisku farmy produktivitu o 15 – 20 % a o 5 – 10 % zlepšuje konverzi krmiva celého chovu (Volek, 2015). Výchozí prarodičovské populace (linie) tohoto králíka byly vyšlechtěny z králíků středních plemen masného typu. Klasickými kritérii selekce jsou velikost vrhu, rychlost růstu, individuální živá hmotnost a hmotnost celého vrhu v době odstavu. Jako další kritéria selekce lze uvést dlouhověkost králic, homogenitu velikosti vrhu a individuální hmotnosti při narození nebo odstavu, jatečnou výtěžnost, resistenci ke specifickým chorobám, adaptabilitu na klecovou technologii atp. (Lebas, 2009). Prakticky všechny populace brojlerových králíků pocházejí ze zahraničí a chovatelé je znají pod různým firemním označením. V Evropě dominují zejména 3 francouzské selekční firmy, které pokrývají asi 70 – 80 % evropského trhu. Do ČR se tak dostávají brojleroví králíci firmy Grimaud Frères (HYPLUS), dále firmy Eurolap (HYLA) a firmy HYcole C (HYCOLE). Kromě výše uvedených francouzských firem lze hybridní linie králíků získat také ve Španělsku (linie brojlerových králíků produkuje University of Valencia), v Německu se jedná o těžké linie pod označením ZIKA a v Maďarsku lze získat linie brojlerových králíků Pannon White. Průměrný denní přírůstek živé hmotnosti se u brojlerových králíků pohybuje mezi 45 - 50 g. Jatečná výtěžnost je v průměru 57,4 %. Porážková hmotnost se v zemích Evropské unie liší v závislosti na požadavcích spotřebitele. Například ve Francii je porážková hmotnost 2,4 – 2,5 kg, ve Španělsku či jižní Itálii preferují spotřebitelé nízkou porážkovou hmotnost (1,9 – 2,0 kg), v severní Itálii, Maďarsku či ČR je porážková hmotnost vyšší a pohybuje se okolo 2,5 – 2,8 kg (Volek, 2015).

Pokud se týká reprodukce brojlerových králíků, používá se výhradně technika umělé inseminace, mimo jiné i z důvodu turnusového odstavu. Průměrná březost bývá na farmách 80,2 %, počet vrhů na samici a rok 6,98, velikost vrhu při narození je okolo 10,3 (všech narozených), z toho 9,6 živě narozených. Významným kritériem ekonomiky chovu je počet odstavených či prodaných králíků na samici a rok, přičemž průměr se pohybuje okolo 51,8 (Lebas, 2009). Z řady experimentálních studií a také praktických zkušeností vyplývá, že

nejlepší výsledky reprodukční užitkovosti laktujících samic se dosahují při aplikaci 20 – 25 UI eCG (i.m.), 48 hodin před inseminací, 11. den po porodu (semi-intenzivní reprodukční rytmus) (Garcia-Ximenez a Vicente, 1990; Theau-Clément, 2007). Tímto způsobem se dosahuje vyšší sexuální ochoty samic, vyšší schopnosti oplození a vyšší velikosti vrhu. Navzdory prokazatelným produkčním výhodám a bezpečnosti eCG z hlediska zdraví králic, protože rutinní používání eCG je bez významných imunologických rizik (Lebas *et al.*, 1996; Theau-Clément *et al.*, 2008), se stále více do popředí zájmu dostává možnost úplné eliminace hormonální indukce říje, využíváním alternativních metod, tzv. biostimulací (Theau-Clément a Boiti, 1998; Theau-Clément *et al.*, 1998). Zřejmě zatím nejlepší metodou biostimulace je změna způsobu kojení bezprostředně před inseminací (Theau-Clément, 2007). Touto metodou se samice velmi dobře připraví, zvyšuje se procento oplození a dokonce se někdy zaznamenává větší velikost vrhu. Živá hmotnost králíčat v době odstavu se nesnižuje, protože mláďata nikdy nevynechají kojení. V intenzivních chovech obvykle trvá laktační období 4 – 5 týdnů, v závislosti na reprodukčním rytmu a managementu chovu. V zásadě lze zmínit 3 reprodukční rytmy, které se mohou v praxi využívat: intenzivní (inseminace 48 hodin po porodu), dále již zmíněný semi-intenzivní (inseminace 11. den po porodu) či reprodukční rytmus, kdy se nepřekrývá laktace s březostí (inseminace bezprostředně po odstavu). Nejvhodnější je semi-intenzivní rytmus, naopak nejméně vhodný je intenzivní reprodukční rytmus (Maertens *et al.*, 2006; Castellini *et al.*, 2010; Szendrő *et al.*, 2012).

Pokud se týká formy podávaného krmiva a techniky krmení, v intenzivním produkčním systému se téměř výhradně používají vyvážené, kompletní (rozemleté rostlinné komponenty, přídavek tuku, premix) krmné směsi, které musí plně odpovídat nutričním požadavkům jednotlivých kategorií zvířat, stejně jako optimalizovat jejich produkční záznam a management krmení. Skladba krmné směsi pro jednotlivé kategorie králíků je nejdůležitějším kritériem užitkovosti a hlavním tématem výzkumu. Tyto koncentrované diety se granulují, protože králíci ukazují silnou preferenci pro tuto formu podávání krmné směsi než pro jiné způsoby podávání krmiva (například šrotování, mačkání, drcení). Náklady spojené s granulací krmných směsí jsou vysoce kompenzované počtem výhod (Maertens, 2010). Jestliže se králíkům podává krmná směs, která neprošla granulací, snižuje se významně spotřeba krmiva. V důsledku této skutečnosti klesá průměrný denní přírůstek, zhoršuje se konverze krmiva a klesá porážková hmotnost (Harris *et al.*, 1983; Scholout, 1995; Maertens, 2010). Mezi další výhody granulace lze zmínit zužitkování většího množství vedlejších produktů zemědělské výroby, minimální odpad, snížení prašnosti v halách apod. Určitou alternativou granulace může být extruze krmných diet pro králíky. Jestliže pevnost a

tvrdost je v pořádku, pak králíci takovýto typ krmiva akceptují, ačkoliv užitkovost má tendenci klesat. Byl zaznamenán pokles denního přírůstku živé hmotnosti, značně variabilní konverze krmiva či nižší příjem krmiva. Uvedená negativa souvisela s degradací kvality proteinu, což je způsobené vysokou teplotou během extruze a horší kvalitou granulí (pevnost a tvrdost) u extrudované diety (Fernández-Carmona *et al.*, 1983; Maertens a Luzi, 1995). O extruzi diet se uvažovalo zejména z pohledu zvýšení stravitelnosti škrobu, který ve vyšších koncentracích může způsobit trávicí problémy. Ukázalo se však, že stravitelnost škrobu se tímto postupem nezvýšila, a tak extruze krmiva z hlediska snížení úhynu králíků, způsobeném příjmem diet s vysokým obsahem škrobu, selhala (Maertens a Luzi, 1995). Z výše uvedeného je tedy zřejmé, že plnohodnotné potřeby živin a energie pro dosažení maximální biologické užitkovosti králíků v intenzivním systému produkce lze dosáhnout pouze podáváním kompletní granulované krmné směsi. Granule však musejí splňovat určitá kritéria, která jsou determinována tvarem, pevností a tvrdostí. Délka granulí by se měla pohybovat od 0,5 do 1 cm. Delší granule se při manipulaci lámou, králíci při délce granulí větší než 1 cm navyšují ztráty směsi. Optimální průměr granulí je v rozmezí od 3 do 4 mm pro všechny kategorie králíků. Vyšší průměr opět zvyšuje odpad a s tím spojené produkční náklady. Menší velikost granulí (průměr < 2,5 mm) pak snižuje příjem krmiva (Maertens, 1994; Gidenne *et al.*, 2003a). Spotřeba krmiva se liší v závislosti na kategorii králíků; u březích samic se příjem krmiva pohybuje od 180 do 200 g/den, v období laktace pak od 350 do 400 g/den a během výkrmu králíků je průměrná spotřeba krmiva asi 150 g/den (Volek, 2015).

Obecně lze říci, v závislosti na věku králíků v době odstavu a porážkové hmotnosti, že v intenzivních chovech se na celkové roční spotřebě krmné směsi podílejí z 31 % laktující samice, z 10 % nekojící samice a mladá chovná zvířata (samice, které se připravují na reprodukční kariéru a náhradní samice + chovní samici) a 59 % krmné směsi spotřebují rostoucí králíci (Maertens a Gidenne, 2016). Protože náklady na krmení představují z celkových produkčních nákladů farmy asi 55 – 60 % je zřejmé, že pro ekonomiku chovu má redukce nákladů na krmení primární význam (Maertens, 2009). Klíčovým kritériem je v tomto ohledu využitelnost krmiva, často vyjádřená jako konverze krmiva, která je hlavním indikátorem zhodnocení výkonnosti zvoleného systému chovu na farmách. Za posledních 15 let se na evropských farmách snížila globální konverze krmiva (reprodukce + výkrm) z 3,8 na 3,4, přičemž existuje potenciál, jak využitelnost krmiva v intenzivním chovu dále zlepšit (Maertens, 2010; Maertens a Gidenne, 2016). Není bez zajímavosti, že současně se zlepšenou konverzí krmiva se snižuje exkrece dusíku a fosforu do vnějšího prostředí (Maertens *et al.*,



1997; Maertens *et al.*, 2005a; Gidenne *et al.*, 2013a; Gidenne *et al.*, 2013b; Tazzoli *et al.*, 2015), a tedy že zvolené postupy naplňují prvky precizního zemědělství (výživy).

Existuje mnoho faktorů, které ovlivňují konverzi krmiva; genetický potenciál zvířat, systém chovu (efektivnost reprodukce), kvalita krmiva a strategie krmení, věk v době porážky, systém ustájení, ale především zdravotní stav králíků (Maertens a Gidenne, 2016). Na konverzi krmiva v reprodukční jednotce má značný vliv počet odstavených králíků na samici a rok, přičemž tento počet je ovlivněn plodností, velikostí vrhu a počtem uhynulých králíčat v období před odstavením. Konverze krmiva farmy je vyšší než 4, jestliže produkční hladina klesá pod 40 prodaných králíků na samici a rok. V případě, že se zvyšuje počet produkovaných jatečných králíků na 55, klesá konverze krmiva k 3,39 (Maertens *et al.*, 2005a). Samice mimo reprodukční cyklus, tedy samice, které nezabřezly, je nutné krmit restriktivně. Překrmování těchto zvířat o 10 g/d zvyšuje konverzi krmiva o 2 až 3 % (Pascual *et al.*, 2003; Maertens *et al.*, 2005a). U mladých a rychle rostoucích králíků se konverze krmiva zvyšuje s věkem, přičemž velmi dobrá konverze krmiva je zjišťována v prvních týdnech výkrmu, zatímco prudce se zhoršuje v době před koncem výkrmu (živá hmotnost nad 2 kg, 9. týden věku), tedy blízko před dosažením porážkové hmotnosti (60 – 70 % dospělé hmotnosti). Tato skutečnost souvisí s alometrií depositu tkání; ukládá se již více tuku než proteinu a vody, což z hlediska syntézy v tukové tkáni vyžaduje vyšší energetické náklady. Dále se zvyšuje potřeba živin pro záchovu, klesá denní přírůstek živé hmotnosti a v důsledku uvedených skutečností se prudce zhoršuje konverze krmiva. Z hlediska ekonomiky chovu je proto chybou vykrmovat králíky do vyšší porážkové hmotnosti (Maertens, 2009; Maertens, 2010). Další strategií výživy, díky které lze efektivně zlepšit konverzi krmiva v období výkrmu, je technika limitovaného příjmu krmiva (Gidenne *et al.*, 2009b; Knudsen *et al.*, 2014; Volek *et al.*, 2016). V současné době, za předpokladu implementace nových vědeckých poznatků, lze za optimální konverzi krmiva v období výkrmu považovat hodnoty v rozmezí mezi 2,9 – 3,2. Na konverzi krmiva nemá vliv pohlaví, rozdíl je patrný až v období od 14. týdne věku, kdy dochází k vyššímu ukládání tuku u samic, čímž se konverze krmiva zhoršuje (Trocino *et al.*, 2015).

Významný vliv na využitelnost krmiva má jeho kvalita. Hlavní úlohu sehrává méně stravitelná vláknina (acido-detergentní vláknina, ADF). Je znám úzký vztah mezi obsahem ADF a stravitelné energie v krmné směsi, přičemž s rostoucím obsahem ADF klesá hladina stravitelné energie (de Blas *et al.*, 1992), a tím se zhoršuje konverze krmiva (Gidenne, 2015). Obecně, neškrobové polysacharidy a lignin jsou hlavním faktorem výživy králíků, ať už z hlediska stravitelnosti diet, či zejména zdraví trávicího traktu, a proto tato problematika

bude detailně diskutována v následujících kapitolách. Jestliže se respektuje dietní doporučení potřeby vlákniny pro rostoucí králíky, je možné do určité míry zvýšit obsah stravitelné energie v krmné směsi částečnou náhradou škrobu vyšším přídatkem tuku (Fernández-Carmona *et al.*, 2000; Gidenne *et al.*, 2009a; Knudsen *et al.*, 2014). Je však nutné dodržet maximální hladinu tuku v krmné směsi, mezi 2 až 4 %, protože při vyšší koncentraci klesá kvalita granulí (Volek, 2015). Také do laktačních diet se pro zvýšení mléčné užitkovosti často přidává tuk. Tímto způsobem se mírně zvýší příjem krmiva; energetický limit pro příjem krmiva je v případě vyššího obsahu tuku v krmné směsi vyšší ve srovnání s vyšším zastoupením škrobu. Nedoporučují se však krmné směsi s vysokým obsahem stravitelné energie, což má souvislost s energetickou bilancí během laktace; ukládá se méně tuku a zhoršuje se konverze krmiva (Xiccato a Trocino, 2010). Ke konverzi krmiva má také vztah obsah stravitelného proteinu v krmných směsích. V tomto ohledu, jak z hlediska redukce exkrece dusíku, tak také optimální konverze krmiva a růstu, je nejlepší strategií podávat během posledních 3 týdnů výkrmu diety s vyšším obsahem stravitelné energie a nižším obsahem stravitelného proteinu (Maertens *et al.*, 2005; Knudsen *et al.*, 2014). Svůj význam mají též jednotlivé aminokyseliny. Například pro optimální příjem krmiva a mléčnou produkci se doporučují 4,4 g stravitelného treoninu na kg krmné směsi. Nižší či vyšší koncentrace treoninu snižuje počet odstavených králíků, což vede ke zhoršení konverze krmiva (de Blas *et al.*, 1998).

Jak výše uvedeno, hlavním problémem chovu brojlerových králíků zůstává zdravotní stav zvířat. Nejvíce rizikové je období výkrmu a první laktace. Vysoký sanitární index ve fázi výkrmu, spolu s vysokou roční obměnou samic jsou hlavní příčinou ekonomických ztrát farem, a tedy zhoršení globální konverze krmiva farmy (Maertens a Gidenne, 2016). Samice jsou velmi vnímavé k intenzivnímu tělesnému energetickému deficitu během laktace, zvláště pak vysoce produkční linie, jejichž objem příjmu krmiva je často nedostačující pro pokrytí potřeby živin v době laktace a současné březosti (Xiccato a Trocino, 2010). Vztah mezi příjmem krmiva, energie a tělesným energetickým deficitem byl podrobně popsán u laktujících a březích samic, a to od jejich prvního do druhého porodu (Parigi Bini *et al.*, 1992; Xiccato *et al.*, 1995; Fortun-Lamothe a Lebas, 1996). Příjem stravitelné energie se zvyšuje s počtem porodů, ale i přes tuto skutečnost je stále nedostačující pro kompletní obnovu tělesných rezerv, ztracených během laktace, a tento jev je patrný ještě u samic po čtvrtém porodu (Xiccato *et al.*, 2004).

Poruchy trávení jsou hlavní patologické události, které ovlivňují odstavené nebo vykrmované králíky (Rosell, 2003; Rosell *et al.*, 2009). Navzdory zásadním objevům v oblasti diagnostické techniky a implementace lepší faremní praxe (maternity management; Huneau-

Salaün *et al.*, 2015), je používání antibiotik, jako terapeutické léčby, stále hlavní metodou prevence (Agnoletti, 2012). Bez ohledu na dobu odstavu, vrchol zvýšeného sanitárního indexu se obvykle zaznamenává 14. den po odstavu a přetrvává další 1 až 2 týdny (například Garrido *et al.*, 2009). Protože Evropská unie zakázala plošné používání krmných antibiotik (EC Council, 2003), které zmíněné problémy řešily, zvyšuje se zájem o hledání alternativních strategií, které by mohly redukovat či dokonce zcela eliminovat používání antibiotik pro kontrolu výskytu enteropathií (Le Bouquin *et al.*, 2013). Z možných alternativ se nabízí především vhodné techniky managementu chovu, jako například tzv. all-in all-out systém, který spolu s řádnou desinfekcí, čištěním či využíváním minimálně nemocného reprodukčního stáda, je slibným nástrojem dovolujícím redukcí používání antimikrobiálních látek, prostřednictvím lepšího hygienického standardu (Maertens, 2007). Se zdravím zvířat, prostřednictvím méně stresových situací vedoucích k imunosupresím, souvisí i nové pohledy na ustájení. Stávající individuální ustájení chovných samic s mláďaty se rozvíjí směrem ke zlepšení welfare zvířat; klece s vyvýšenou/druhou podlahou zabezpečují samicím více pohybu, prostoru pro odpočinek, snižují stres zvířat. Vkládáním plastové podložky, okusem a dalšími prvky se snižuje výskyt zranění a zvyšuje komfort zvířat. Také ustájení králíků ve výkrmu má dnes své obohacující prvky; důraz je kladen na velikost klece, výšku klece, materiál podlahy, dnes víme jaká je optimální velikost skupiny, hustota osazení apod. (Szendrő a Dalle Zotte, 2011; Szendrő a McNitt, 2012; Szendrő *et al.*, 2016; Hoy a Matics, 2016).

Vedle managementu chovu je primárním cílem výzkumu hledání nových strategií výživy za účelem zvýšit resistenci rostoucích králíků k patologiím trávicího traktu (de Blas *et al.*, 2012). Zde se jako velmi slibný nástroj jeví technika restrikce krmiva (Gidenne *et al.*, 2012; Knudsen *et al.*, 2014). Bylo prokázáno, že limitovaný příjem krmiva moduluje imunitu kaudálních oddílů trávicího traktu (Knudsen *et al.*, 2015). Vhodně zvolená technika restrikce krmiva snižuje úhyn a morbiditu rostoucích králíků (Gidenne *et al.*, 2003b; Gidenne *et al.*, 2009a; Gidenne *et al.*, 2009b). Má to však svá určitá negativa v podobě nižší finální živé hmotnosti a jatečné výtěžnosti (Uhlířová *et al.*, 2015), a je tedy úkolem výzkumu tuto problematiku dále studovat. Dalším faktorem nové strategie výživy, s ohledem na zdraví trávicího traktu, je úloha nerozpustné a rozpustné vlákniny. Zatímco koncept nerozpustné vlákniny je velmi dobře popsán (Gidenne, 2015), rozpustná vláknina je předmětem výzkumu teprve několik posledních let. V řadě studií, které potvrzují příznivý vliv rozpustné vlákniny na architekturu střevní sliznice, fermentační a mikrobiální aktivitu slepého střeva, snižování mortality a morbidity králíků, se sledoval pektin, jehož hlavním zdrojem jsou cukrovarské řízky. Je nutné

tento vliv potvrdit též s jinými polysacharidy (Trocino *et al.*, 2013a), například fruktany-inulinového typu. Jako další novou strategii výživy lze zmínit hledání vhodného zdroje dusíkatých látek pro krmné směsi intenzivně chovaných brojlerových králíků. Tradičně používaný sójový extrahovaný šrot má příznivý vliv na růst králíků a konverzi krmiva, ale u odstavených králíků zvyšuje riziko trávicích poruch (Carabaño *et al.*, 2009). Tedy jedním z cílů současného výzkumu je hledání alternativ pro náhradu sójového extrahovaného šrotu, v neposlední řadě též z pohledu soběstačnosti Evropské unie v pokrytí proteinové základny a využívání domácích proteinových plodin (Carrouée *et al.*, 2003), stejně jako z pohledu udržitelnosti evropského systému zemědělství (Jensen a Hauggaard-Nielsen, 2003).

## **2.2 VÝŽIVA A STRATEGIE KRMENÍ BROJLEROVÝCH KRÁLÍKŮ**

Existuje obecná shoda, že výživa a strategie krmení intenzivně chovaných králíků může ovlivnit výskyt patologických procesů střevního původu (Gidenne *et al.*, 2010). Podávání nevybalancované diety zvyšuje riziko trávicích problémů u králíků dvěma způsoby; navyšováním retenčního času tráveniny v trávicím traktu a vstupem zvýšeného množství snadno dostupných substrátů, které unikly trávení v tenkém střevě, do fermentačních oddílů trávicího traktu. Obě situace mění střevní mikroflóru, a tato skutečnost se bere do úvahy jako možná primární příčina těchto patologií. V případě králíků jsou dietní faktory, které způsobují průjem, spojené s obsahem škrobu a vlákniny, často v inverzní korelaci, typem vlákniny a hladinou a zdrojem dusíkatých látek (de Blas *et al.*, 1981; Blas and Gidenne, 1998; de Blas *et al.*, 1999; Gidenne, 2003). V následujících kapitolách proto bude hlavní pozornost soustředěna právě k těmto živinám, k procesu trávení a kompromisu nutričních potřeb z pohledu maximální užitkovosti a zdraví trávicího traktu.

### **2.2.1 Charakteristika a funkce hlavních orgánů trávicího traktu**

#### **2.2.1.1 Žaludek**

Žaludek je prvním významným oddílem trávicího traktu, který není nikdy zcela prázdný. I po 24 hodinovém lačnění je žaludek dospělých králíků stále z 50 % naplněn (Carabaño a Piquer, 1998). Z celkové kapacity trávicího traktu představuje žaludek 34 % (Portsmouth, 1977). Rozmezí pH žaludku je od 1 do 5, přičemž záleží na místě stanovení (nejnižší hodnoty jsou nalézány v oblasti česla), na přítomnosti nebo absenci cékotrofních výkalů, na časovém rozmezí od příjmu krmiva (nižší hodnoty 4 h po příjmu krmiva) a věku králíků (Orengo a Gidenne, 2007). Žaludek je místem začátku trávení bílkovin a u mláďat rovněž mléčného

tuku. Po narození představují žaludek a tenké střevo hlavní komponenty trávicího traktu. V období mléčné výživy lze v žaludku mláďat nalézt vysokou aktivitu lipasy, díky vysokému obsahu lipidů v mléce (10 – 25 % v nativním stavu), které jsou v tomto období hlavním zdrojem energie (Maertens *et al.*, 2006). Maximální koncentraci gastrické lipasy lze zaznamenat u 30 denních králíčat, pak pomalu mezi 30. až 60. dnem věku králíků klesá a u dospělých zvířat zcela vymizí (Bernadac *et al.*, 1991; Marounek *et al.*, 1995). Z proteolytických enzymů má v období mléčné výživy hlavní význam rennin (optimální pH 4) (Henschel *et al.*, 1972), který způsobuje srážení mléka (Rees a Rees, 2003). Díky této skutečnosti se zpomaluje průchod mléka žaludkem (23, 5 h – od kojení do kojení). U jiných zvířat by takováto doba zdržení zvýhodnila proliferaci patogenních mikroorganismů. Králík je však vybaven protektivní funkcí „antimikrobiálního faktoru“ (funkce připsána kyselině kaprylové a kaprinové), který je přítomen v mléce samic (Canas-Rodrigues a Smith, 1966; Cole *et al.*, 1983). Význam „antimikrobiálního faktoru“ se snižuje společně s poklesem produkce mléka ke konci laktace. Ve stejný čas také klesá hodnota pH žaludku a hlavním proteolytickým enzymem se stává pepsin (Bernadac *et al.*, 1991; Dojana *et al.*, 1998), jehož optimální aktivita je při hodnotě pH 2. Význam proteolytické aktivity v žaludku králíčat klesá s věkem, spolu s rostoucí proteolytickou aktivitou ve slepém střevě, tračníku a pankreatu (Marounek *et al.*, 1995). Velmi kyselé prostředí žaludku (pH 1,5 – 2) přebírá protektivní funkci „antimikrobiálního faktoru“ proti mikrobiální kolonizaci žaludku a tenkého střeva. Uvedená ochrana rostoucích králíků proti střevním infekcím v době odstavu však závisí na synchronizaci přechodu z jednoho protektivního mechanismu na druhý (Rees a Rees, 2003). Nepřekvapí proto, že většina případů střevních infekcí se u rostoucích králíků vyskytuje právě v období odstavu a následného výkrmu (Gidenne *et al.*, 2010).

### **2.2.1.2 Tenké střevo**

Tenké střevo, u králíka asi 3 m dlouhé, je nejdůležitější místo trávení lipidů, bílkovin a škrobu. Trávenina tenkého střeva obsahuje 8 – 10 % sušiny. V předních částech tenkého střeva lze nalézt mírně zásadité pH (7,2 – 7,5), zatímco v posledním úseku ilea je pH nižší (6,2 - 6,5) (Nicodemus *et al.*, 2002). Ačkoliv byl v posledních letech zintenzivněn výzkum v oblasti vývoje funkčnosti střevní sliznice a pankreatu, což je velmi významné pro pochopení schopnosti králíků trávit jiné substráty než mateřské mléko, zůstávají některé výsledky odlišné (Carabaño *et al.*, 2010). Většina autorů se shoduje při popisu vývoje aktivit pankreatické amylasy a lipasy. Dostupnost pankreatické amylasy a lipasy pro substráty v tenkém střevě, stejně jako jejich aktivity v pankreatu, se zvyšují s věkem králíků (mezi 21. –

42. dnem) (Dojana *et al.*, 1998; Debray *et al.*, 2003; Gallois *et al.*, 2008a). Zvyšující se aktivita amylasy je pravděpodobně výsledkem vyššího příjmu škrobu s věkem (Scapinello *et al.*, 1999; Marounek *et al.*, 1995), což zřejmě koresponduje s rostoucí schopností králíků trávit škrob (Gallois *et al.*, 2008b). Ukazuje se, že také aktivita pankreatické lipasy se zvyšuje s věkem (Debray *et al.*, 2003; Gallois *et al.*, 2008a), ačkoliv někteří autoři dávají do souvislosti s touto aktivitou zvýšený příjem lipidů, nikoliv věk králíků (Dojana *et al.*, 1998). Postnatální vývoj aktivit proteolytických enzymů je nejasný (Carabaño *et al.*, 2010). Gallois *et al.* (2008a) uvádějí významný pokles aktivity trypsinu mezi 21. a 28. dnem věku králíků, přičemž tento pokles dávají do souvislosti s diversifikací intestinálního obsahu a přítomností rostlinného materiálu. Jiní autoři nezaznamenali mezi 25. a 42. dnem věku králíků v aktivitě trypsinu žádný rozdíl (Debray *et al.*, 2003), zatímco Dojana *et al.* (1998) pozorovali nárůst aktivity trypsinu mezi 25. – 42. dnem věku s následnou stabilizací. Podobně jsou protichůdné též nálezy vývoje aktivit chymotrypsinu (Marounek *et al.*, 1995; Dojana *et al.*, 1998; Gutiérrez *et al.*, 2002). Pokud se týká postnatálního vývoje enzymatických aktivit duodenální (dvanáctník) a jejunální (kyčelník) sliznice, většina autorů popisuje progresivní vývoj mezi 14. a 49. dnem věku králíků (Keelan *et al.*, 1985; Debray *et al.*, 2003; Galois *et al.*, 2008a). Zvyšující se aktivity disacharidas (maltasa a isomaltasa) a aminopeptidas mohou být vysvětleny zhuňčováním střevní sliznice a prodlužováním tenkého střeva, ale také specializací střevních buněk. Tento vývoj se zdá být paralelním se zvyšujícím se příjmem pevného krmiva, a díky tomu vyšší dostupností substrátu pro maltasu a sacharosu (Gallois *et al.*, 2008a). Maltosu a sacharosu lze dodat pouze rostlinnou dietou. Nestrávená část tráveniny tenkého střeva vstupuje po 1, 5 h do slepého střeva (Carabaño a Piquer, 1998).

### 2.2.1.3 Slepé střevo

Slepé střevo je charakterizováno slabou svalnatou vrstvou a 20 % obsahem sušiny tráveniny. Hodnota pH obsahu slepého střeva je 5,4 – 6,8, přičemž tato hodnota závisí na věku králíků; pH obsahu slepého střeva klesá z 6,8 v 15 dnech věku na 5,4 v 50 dnech věku (García *et al.*, 2002). Z celkového objemu trávicího traktu představuje slepé střevo přibližně 49 % (Carabaño *et al.*, 2010), což dokazuje jeho značný význam v procesu trávení. Tento význam je dán mikrobiální aktivitou, která je spojena s využitím živin a kontrolou trávicích poruch (Gidenne, 2003; Trocino *et al.*, 2013a; Gidenne *et al.*, 2015). Přítomnost mikrobiální populace ve slepém střevě, společně s céklotrofií, umožňuje králíkům navýšit příjem energie, aminokyselin a vitaminů (Carabaño *et al.*, 2010). Hlavním zástupcem mikrobiální populace ve slepém střevě dospělého králíka je *Bacteroides* (Gouet a Fonty, 1973), který zahrnuje  $10^9$  –

$10^{10}$  bakterií  $g^{-1}$ . Tuto populaci dále doplňují *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Streptococcus* a *Enterobacter*, takže kompletní mikrobiální populace slepého střeva králíka zahrnuje  $10^{10}$  –  $10^{12}$  bakterií  $g^{-1}$  (Bonnafous a Raynaud, 1970; Gouet a Fonty, 1979; Forsythe a Parker, 1985). Je nutné poznamenat, že tento popis mikrobiální populace je založen na využití klasických kultivačních technik. Nedávné výzkumu ukázaly, použitím molekulárních technik, že mikrobiální komunita v kaudálních oddílech trávicího traktu králíka bude podstatně větší, než se v předešlých výzkumech popisovalo (Benneghi *et al.*, 2003; Badiola *et al.*, 2004; Abecia *et al.*, 2005). Úlohu mikrobiální komunity slepého střeva králíka v procesech trávení je možné zhodnotit její enzymatickou aktivitou nebo konečnými produkty fermentace. Mikrobiální populace slepého střeva sekretuje enzymy, které jsou schopné hydrolyzovat hlavní složky dietní vlákniny. Lze říci, že enzymatické aktivity pro degradaci pektinu a hemicelulos jsou vyšší než aktivity degradující celulosu (Marounek *et al.*, 1995; Jehl a Gidenne, 1996). Tato skutečnost je konsistentní s nižšími počty celulolytických bakterií ve srovnání s xylanolytickými nebo pektinolytickými bakteriemi ve slepém střevě králíka (Boulaouf *et al.*, 1991). Kromě fibrolytické aktivity lze nalézt ve slepém střevě králíka také velmi významné ureolytické, proteolytické či amoniak využívající enzymatické aktivity mikrobiální komunity (Emaldi *et al.*, 1972). Složení mikroflóry slepého střeva nezůstává konstantní během života králíka, ale je silně ovlivněno dobou odstavu (Padilha *et al.*, 1996). Výsledkem s věkem spojených změn v mikrobiální populaci je nárůst těkavých mastných kyselin (Bellier *et al.*, 1995; Padilha *et al.*, 1995), které jsou hlavním produktem mikrobiální fermentace. Těkavé mastné kyseliny jsou velmi rychle absorbovány v kaudálních oddílech trávicího traktu (Gidenne *et al.*, 2010). Absorpce těkavých mastných kyselin může u králíka reprezentovat až 50 % z potřeby energie pro záchovu (Marty a Vernay; 1984; Gidenne, 1994). Kromě neškrobových polysacharidů a oligosacharidů fermentuje mikroflóra slepého střeva také residua nestráveného škrobu v tenkém střevě a endogenní mukopolysacharidy. Jako zdroj energie pro mikrobiální populaci může být využit (po deaminaci) i zbytek proteinu tráveniny, která přichází z ilea (nestrávený protein krmiva, protein „odloupaných“ slizničních buněk, enzymy) (Gidenne *et al.*, 2010). Profilem těkavých mastných kyselin se králík liší od dalších zvířat (Gidenne, 1997). Nejvíce zastoupen je acetát ( $77 \text{ mmol } 100 \text{ ml}^{-1}$ , s rozmezím od 65 do 87), následuje butyrát ( $17 \text{ mmol } 100 \text{ ml}^{-1}$ , s rozmezím od 6 do 28) a propionát ( $6 \text{ mmol } 100 \text{ ml}^{-1}$ , s rozmezím od 3 do 11) (Gidenne, 2015). Právě převaha butyrátu nad propionátem je specifickým rysem fyziologie trávení králíka. Uvedené molární poměry těkavých mastných kyselin lze ovlivnit obsahem vlákniny v krmné směsi. Například molární poměr acetátu roste a butyrátu klesá, jestliže se zvyšuje obsah vlákniny v krmné směsi. Molární podíl propionátu

je pozitivně korelován pouze s obsahem uronových kyselin v krmné směsi (García *et al.*, 2002). Průměrný retenční čas tráveniny ve fermentačních oddílech (slepé střevo a tračník) je relativně krátký (asi 10 h). Tato doba zdržení tráveniny ve slepém střevě závisí na obsahu NDF (hemicelulosa + celulóza + lignin) v krmné směsi a na stupni lignifikace NDF (Gidenne *et al.*, 2010). Dalším faktorem, který ovlivňuje dobu zdržení tráveniny ve fermentačních oddílech je velikost částic vlákniny. Částičky < 0,3 mm jsou ve slepém střevě zadržovány déle ( $\geq 10$  h v průměru) než částičky > 0,3 mm. S relativně krátkou dobou zdržení tráveniny ve fermentačních oddílech souvisí efektivita trávení vlákniny (de Blas *et al.*, 1999).

#### **2.2.1.4 Tračník**

Svou významnou úlohu v procesu trávení sehrává také tračník, který je hlavním místem cékotrofie, a který lze rozdělit do dvou částí: proximální část (přibližně 35 cm) a distální část (80 – 100 cm). Proximální část tračníku od distální části odděluje tzv. *Fusus coli* (svalnaté ztluštění), což je struktura unikátní pro Lagomorpha. *Fusus coli* působí jako stimulátor pro iniciaci peristaltických vln v proximálním a distálním tračníku, a reguluje separaci fermentovatelného materiálu od nestravitelné vlákniny (Rees a Rees, 2003). Hlavní roli tedy sehrává při cékotrofii.

##### **2.2.1.4.1 Cékotrofie**

Cékotrofie je specifickým rysem fyziologie trávení králíků. Začátek cékotrofie je spojen s významným zvyšováním příjmu pevného krmiva, tedy s obdobím mezi 3. až 5. týdnem věku králíčat (Gidenne *et al.*, 2002). Často je proces přijímání cékotrofních výkalů chybně označován jako koprofágie. Koprofágie je odchylka od normálního chování a často reakcí na nedostatečnou výživu. Pro úplnost je však nutné poznamenat, že během prvních dnů života králíci vykazují koprofágní chování. Králíčata přijímají během prvních 21 dnů života výhradně mléko, nicméně z nedávných výzkumů vyplývá, že už od druhého dne po porodu požirají tvrdé výkaly, které v hnízdě během kojení zanechávají matky (Combes *et al.*, 2014). Nejvíce vylučovaných tvrdých výkalů v hnízdě bylo zaznamenáno během prvních 6 dnů po porodu, pak tato exkrece výkalů v hnízdě klesala a 20. den po porodu již tvrdé výkaly v hnízdě pozorovány nebyly. Podle uvedené studie je příjem tvrdých výkalů pro králíčata velmi důležitý z hlediska včasné a plnohodnotné implementace kaudálních oddílů trávicího traktu bakteriální komunitou. Ukázalo se, že tato včasná implementace zlepšuje zdravotní stav králíků po odstavu. Na druhou stranu tento jev nebyl potvrzen v podmínkách komerční farmy (Shi *et al.*, 2016), takže v tomto ohledu bude potřeba realizovat další sledování. Uvedenými



experimenty je však potvrzeno, že v tomto období králíčata vykazují koprofágní chování, které se však s rostoucím věkem králíků a po odstavu již nevyskytuje. Cékotrofie je zcela jiného významu. Při cékotrofii dochází k produkci dvou typů výkalů: tvrdých a cékotrofních. Cékotrofní výkaly si králík vybírá přímo z řitního otvoru, které bez rozkousání a rozmělnění spolkne. Do žaludku se tak dostávají neporušené, obalené vrstvou mucinu. Vylučování cékotrofních výkalů se střídá s příjmem krmiva a vylučováním tvrdých výkalů (Carabaño *et al.*, 2010), přičemž ke zvýšené produkci cékotrofních výkalů dochází během světelné periody, zatímco příjem krmiva a vylučování tvrdých výkalů probíhá spíše za tmy (Lebas a Laplace, 1975; Bellier a Gidenne, 1996; Orengo a Gidenne, 2007). K tvorbě tvrdých a cékotrofních výkalů dochází během průchodu tráveniny slepým střevem a proximální částí tračnicku (Carabaño *et al.*, 2010). K formování tvrdých výkalů nedochází resorpcí některých složek obsahu slepého střeva, ale mechanickou separací tráveniny (Pickard a Stevens, 1972). Tedy zásadním momentem procesu trávení je u králíků regulace motility tračnicku a slepého střeva, která umožní rozdělit tráveninu na nestravitelnou část, dále nevyužitelnou (hrubé částičky > 0,3 mm, v podstatě nestravitelná frakce vlákniny), a fermentovatelný substrát (ve vodě rozpustné substance, jemné částičky, zahrnující mikroorganismy, které poskytují hodnotný mikrobiální protein) (Carabaño a Piquer, 1998). Obecně tedy lze uvedený proces rozdělit do dvou fází: fáze vylučování tvrdých výkalů a fáze vylučování cékotrofních výkalů.

Ve fázi vylučování tvrdých výkalů je zpočátku slepé střevo relativně prázdné, protože jeho obsah se vyprázdnil během přechodí fáze vylučování cékotrofních výkalů. S nově přijatým krmivem se začíná postupně slepé střevo a tračnick zaplňovat tráveninou, která přichází z tenkého střeva. Fermentační aktivita slepého střeva je v této době slabá. Slepé střevo vyvíjí kontrakce, které posouvají tráveninu do proximální části tračnicku. Stěna tračnicku sekreduje vodu, která usnadňuje míchání tráveniny a následnou separaci střevního obsahu. Separaci střevního obsahu řídí *fusus coli*, který vytváří kontrakce (Rees a Rees, 2003). Během procesu víření se částičky a kapalina dynamicky pohybují; nestravitelné částičky vlákniny, větší než 0,3 mm, se koncentrují uprostřed proximálního tračnicku. Fermentovatelný substrát se přesouvá k periférii a shromažďuje se v haustrech (Carabaño a Piquer, 1998). Nestravitelná část tráveniny prochází distálně tračnickem, a fyzikální kompresí, kterou vyvíjí *fusus coli*, se formuje do tvrdých výkalů (Rees a Rees, 2003). Fermentovatelný substrát, který se akumuloval na periférii, se prostřednictvím antiperistaltických pohybů vrací z tračnicku zpět do slepého střeva, kde dojde k jeho fermentaci a začíná fáze vylučování cékotrofních výkalů. Po fermentaci představuje obsah slepého střeva jemnou, tmavě zelenou, pastu, která je bohatá na neúplně strávený materiál krmiva a mikroorganismy. Kontrakce, které během vylučování

tvrdých výkalů způsobily separaci tráveniny, se během vylučování cékotrofních výkalů nevyskytují (Ruckebush a Hörnicke, 1977). Pouze slabé peristaltické kontrakce, které rychle posouvají obsah slepého střeva podél tračníku. Transitní čas během vylučování cékotrofních výkalů je 1,5 – 2,5 x rychlejší než během vylučování tvrdých výkalů (Rees a Rees, 2003). Kontrakce, které vyvíjí *Fusus coli* jsou během fáze vylučování cékotrofních výkalů jemnější, takže nedochází k vytlačování kapaliny z cékotrofních výkalů. *Fusus coli* sekretuje hlen. S tím, jak cékotrofní výkaly procházejí distálním tračníkem, se přidává lysozym, a výkaly se obalují mucinem. Cékotrofní výkaly postupují dál trávicím traktem k řitnímu otvoru, kde si je králík vybírá, a jak již zmíněno, nerozmělněné a nerozkousané polyká.

Závěrem lze učinit poznámku, že v tradičních podmínkách chovu umožňuje cékotrofnie doplnit nižší kvalitu proteinu nebo nižší obsah vitaminů v dietě, v intenzivních podmínkách chovu je však přídavek vitaminů skupiny B, minerálů a limitujících aminokyselin nezbytný (Carabaño *et al.*, 2010).

## **2.2.2 Současný stav poznání významu vlákniny, dusíkatých látek a škrobu z pohledu užitečnosti a zdravotního stavu králíků**

### **2.2.2.1 Vlákna**

Stanovení obsahu vlákniny v krmivech králíků je velmi významné, protože deficit vlákniny vede k vážným trávicím problémům (Gidenne, 2000; Bennegadi *et al.*, 2001; Gidenne, 2003; Bennegadi-Laurent *et al.*, 2013, Trocino *et al.*, 2013a; Gidenne, 2015). Obecně se vlákna v krmivech pro zvířata stanovuje pomocí gravimetrických metod (vážení residuí po hydrolýze specifických složek buněčných stěn). V krmivech pro králíky lze obsah vlákniny stanovit metodou Weende (z roku 1806). Touto technikou se po kyselé a následně zásadité hydrolýze extrahuje jeden vláknitý zbytek. Hlavním nedostatkem této metody (hrubá vlákna) je vysoká variabilita v chemickém složení residuí, protože v závislosti na krmivu, se může touto metodou rozpustit až 60 % celulosy, 80 % pentosanů a 95 % ligninů (Gidenne, 2015). Obsah hrubé vlákniny v krmné směsi má tak velmi nízkou vypovídací schopnost o kvalitě vlákniny (Bach Knudsen, 2001). Výhodnější jsou techniky, které frakcionují buněčnou stěnu tak, aby se získala vlákna bez doprovodných látek. Hlavní výhodou této metody je získání třech vláknitých frakcí: aNDFom (Mertens, 2002: extrakce residuí korespondujících s nerozpustnými složkami dietní vlákniny rostlinných buněčných stěn, použitím horkého neutrálně-detergentního roztoku), ADFom (AOAC 2000, oficiální metoda 973.18: na stejném vzorku po analýze aNDFom; extrakce celulosy a ligninů, tj. nejhůře stravitelných vláknitých

frakcí; extrakce prostřednictvím horkého kyselého detergentního roztoku) a ADL (Robertson a Van Soest, 1991: na stejném vzorku po analýze ADFom; extrakce frakcí ligninu silně kyselým roztokem při pokojové teplotě). Ze stanovení uvedených frakcí je možné zjistit obsah hemicelulos (aNDFom - ADFom), celulosy (ADFom - ADL) a ligninu. Znalost obsahu jednotlivých složek vlákniny v krmné směsi má zásadní význam z hlediska užítkovosti a životaschopnosti intenzivně chovaných brojlerových králíků (Gidenne, 2000; Gidenne, 2003; Gidenne, 2015). Pro stanovení odhadu obsahu rozpustné vlákniny se dále v krmivech pro králíky stanovuje celková dietní vláknina (TDF, představuje hlavní frakci vlákniny v komerčních krmivech pro králíky; enzymaticko-gravimetrické metody AOAC 2000, procedury 985.29 a 991.43) (Trocino *et al.*, 2013a).

Trávicí trakt králíka je velmi dobře adaptován k vysokému příjmu vlákniny. Proto je také dietní vláknina hlavní složkou krmiv králíků a v závislosti na použité metodě stanovení se její obsah v krmivech pohybuje od 15 (ADF) do 60 % (TDF) (Gidenne, 2003; Trocino *et al.*, 2013a; Gidenne, 2015). Obecný význam vlákniny v krmných směsích je dán jejím vlivem na příjem krmiva, rychlost pasáže trávicím traktem a úlohou coby substrátu pro mikroflóru trávicího traktu (Combes *et al.*, 2013). U králíků je dietní doporučení vlákniny o to těžší, že je nutné respektovat nejenom zdraví trávicího traktu, ale také růst a konverzi krmiva. Například vysoký obsah vlákniny či naopak nedostatek vlákniny vede ke snížení užítkovosti králíků (de Blas *et al.*, 1999). De Blas *et al.* (1986) uvádějí, že krmné dávky s vyšším obsahem vlákniny snižují výskyt průjmových onemocnění, ale také redukuje hmotnostní přírůstky. Uvedená situace nastává, jestliže obsah ADF v krmné směsi přesahuje 25 %. Při takto vysokém obsahu vlákniny nejsou králíci schopni dostatečně zvýšit příjem krmiva pro pokrytí energetických potřeb, takže snižují rychlost růstu. Je známo, že králíci pro dosažení konstantního denního příjmu stravitelné energie, regulují příjem krmiva na základě obsahu stravitelné energie v krmné směsi. Tento mechanismus platí, jestliže je rozmezí obsahu stravitelné energie v krmné směsi mezi 9,0 a 11,5 MJ/kg (Xiccato a Trocino, 2010). Vyšší korelace příjmu krmiva je však získána s hladinou ADF, jestliže je toto rozmezí od 10 do 25 %. Dobrovolný příjem krmiva je proto více vztažen k dietnímu obsahu ADF, což je dáno nízkou stravitelností této frakce (Gidenne, 2015).

Polysacharidy buněčných stěn jsou hydrolyzovány a dále fermentovány pouze bakteriálními enzymy, zatímco lignin a kutin se považují za téměř nedegradovatelné (Gidenne *et al.*, 2010). Rozsah trávení vlákniny se liší v závislosti na její frakci, přičemž nejméně stravitelná je celuloza (10 %), zatímco nejvíce stravitelná je frakce rozpustné vlákniny (Trocino *et al.*, 2013a; Gidenne, 2015). Ve většině provedených experimentů se ukázalo, že stravitelnost

vlákniny není ovlivněna jejím obsahem v krmné směsi. Množství vlákniny, které vstupuje do slepého střeva, tedy není limitujícím faktorem fermentačního procesu, protože retenční čas tráveniny ve fermentačních oddílech trávicího traktu je relativně krátký (8 až 12 h; Gidenne, 1997), a dovoluje přednostně degradovat snadno stravitelné frakce vlákniny, jako jsou pektiny nebo hemicelulosity (Gidenne, 2000; Gidenne, 2003; Gidenne *et al.*, 2010; Gidenne, 2015). Za předpokladu dodržení doporučeného množství ADF lze snadno stravitelnou frakcí vlákniny částečně nahradit v krmných směsích škrob. Stravitelnost diet neklesá, utilizace těchto frakcí vlákniny pro růst je srovnatelná se škrobem a zároveň se snižuje riziko trávicích poruch u rostoucích králíků (Gidenne a Bellier, 2000; Gidenne a Perez, 2000; Perez *et al.*, 2000).

Z pohledu redukce trávicích poruch odstavených zvířat má nezastupitelnou úlohu méně stravitelná vláknina (ADF) (Perez *et al.*, 1994). Obsah ADF v krmivech pro rostoucí králíky, jako jediné kritérium ve vztahu ke zdraví trávicího traktu, však není dostačující. Rozhoduje též kvalita ADF, tj. dopad ligninu a celulosity na poruchy trávení (Gidenne, 2015). Zvyšující se příjem ligninu prudce snižuje stravitelnost krmiv, což má souvislost s redukcí retenčního času tráveniny v celém trávicím traktu (Gidenne a Perez, 1994). Zároveň však byl prokázán lineární negativní vztah mezi ADL a úhynem králíků (Perez *et al.*, 1994). V případě experimentů sledujících vliv zvýšeného příjmu celulosity (ADF – ADL) na zdravotní stav odstavených králíků se také prokázal příznivý dopad na snižování mortality (Perez *et al.*, 1996). Ve srovnání se zvyšující se hladinou ADL však byl vliv celulosity na stravitelnost diet či retenční čas méně významný (Gidenne a Perez, 1996). Kromě výše uvedeného, také zvyšující se poměr ligninu k celulose je spojován s nižším sanitárním indexem (součet morbidity a mortality) (Gidenne *et al.*, 2001). Z hlediska redukce rizika trávicích poruch odstavených králíků by se měl proto denní příjem ligninu (stanoveno jako ADL) pohybovat mezi 5 – 7 g, celulosity mezi 11 – 12 g, přičemž poměr ligninu k celulose by měl být vyšší než 0,4 (Gidenne, 2015).

Svůj význam, jak v procesu trávení, tak také z pohledu zdraví trávicího traktu, mají i více stravitelné frakce vlákniny (hemicelulosity, ve vodě nerozpustný pektin a rozpustná vláknina), které jsou současně velmi rychle fermentovány ve srovnání s ADF (Gidenne, 2015). Pro zhodnocení vlivu těchto frakcí vlákniny na zdravotní stav králíků však bylo nejprve nutné odhadnout složky vlákniny, které jsou relativně stravitelné, a které se v krmivech vyskytují ve vysokých koncentracích. Gidenne (2003) proto navrhl nové kombinované kritérium vlákniny, nazvané „stravitelná vláknina“, což je součet hemicelulos (NDF-ADF ve vodě nerozpustné; stanoveno sekvenční procedurou) a ve vodě nerozpustného pektinu. Řada experimentů potvrdila významný vliv stravitelné vlákniny na snižování trávicích poruch králíků v období

po odstavu a následného výkrmu, přičemž stravitelnou vlákninou byl v těchto experimentech částečně nahrazován škrob či hrubý protein, bez významného snížení užitkovosti vykrmovaných králíků (Perez *et al.*, 2000; Gidenne *et al.*, 2004b; Tazzoli *et al.*, 2009; Trocino *et al.*, 2011; Xiccato *et al.*, 2011; Gidenne *et al.*, 2013b). Uvedený efekt stravitelné vlákniny na zdraví trávicího traktu králíků a proces trávení je připisován stimulaci fermentační aktivity slepého střeva a mírnému vlivu na rychlost průchodu tráveniny trávicím traktem (García *et al.*, 2002; Gidenne *et al.*, 2004a). Ukázalo se však také, že je nutné obsah stravitelné vlákniny v krmné směsi vztáhnout k dietnímu obsahu ADF. Velmi vysoký obsah stravitelné vlákniny, s ohledem na obsah ligninu a celulosy v dietě, působí negativně na zdraví trávicího traktu (Gidenne *et al.*, 2000; Bennegadi *et al.*, 2001; Debray *et al.*, 2002; Gidenne *et al.*, 2004a; Gidenne *et al.*, 2004b). V případě diet s obsahem ADF nad 15 % se proto doporučuje poměr stravitelné vlákniny k ADF pod 1,3 (Gidenne, 2015).

Ve srovnání s „konceptem stravitelné vlákniny (TDF - ADF)“ ve výživě rostoucích vykrmovaných králíků byla opomíjena rozpustná vláknina, protože se v krmivech nachází v malých koncentracích (10 – 35 % z TDF). Ukazuje se však, že i rozpustná vláknina by mohla mít svůj význam z hlediska zvyšování resistance králíků k poruchám trávení. Zatím se pro analýzu obsahu rozpustné vlákniny v krmných směsích a komponentech krmných směsí používají zejména dvě metody. Jednou z možností, jak analyzovat úlohu rychle fermentovaných polysacharidů, je stanovení residuí neutrálně-detergentní rozpustné vlákniny (NDSF; Hall *et al.*, 1997), přičemž tato residua korespondují s polysacharidy rozpustnými v neutrálně detergentním roztoku. Tuto metodu stanovení rozpustné vlákniny použili pro své experimenty Gómez-Conde *et al.* (2007; 2009) a Pascual *et al.* (2014). Uvedení autoři popsali, že zvyšující se hladina NDSF (z 8 na 13 %) zlepšila užitkovost králíků (nižší úhyn a lepší využitelnost krmiva) a stravitelnost živin, zvýšila obsah slepého střeva, ovlivnila mikroflóru slepého střeva a zlepšila integritu a funkčnost střevní sliznice. Uvedená metoda stanovení rozpustné vlákniny je však poměrně náročná a v případě, že kompletní krmiva mají nízký obsah pektinů nebo rozpustné vlákniny, je i poměrně málo precizní. Většina publikovaných prací proto obsah rozpustné vlákniny v krmivech pro králíky uvádí jako rozdíl mezi TDF a aNDFom, přičemž aNDFom je po korekci na popel a dusík (Trocino *et al.*, 2013a). Tato metoda má také své limity, ale umožňuje rutinní laboratorní analýzu krmiv. Tímto postupem stanovení představuje rozpustná vláknina frakci, do které nepatří neškrobové NDF polysacharidy, ale zahrnuje pektinové látky,  $\beta$ -glukany, resistantní škrob, oligosacharidy, fruktany a gummy (Gidenne, 2015). Výzkumy posledních let ukazují, že zvyšující se dietní hladina této frakce vlákniny má příznivý vliv na redukci mortality

rostoucích králíků, způsobenou epizootickou králičí enterokolitidou (ERE, nemoc vysokého úhynu králíků), přičemž tento efekt je připisován rychlé fermentaci rozpustné vlákniny, schopnosti měnit intestinální mikrobiální populaci a obohacení intestinální integrity kaudálních oddílů trávicího traktu (Trocino *et al.*, 2010; Trocino *et al.*, 2011; Xiccato *et al.*, 2011; Tazzoli *et al.*, 2013; Trocino *et al.*, 2013b; Tazzoli *et al.*, 2015). Ve většině prací byly zdrojem rozpustné vlákniny (pektinu) cukrovarské řízky. Je nutné popsat také vliv jiných zdrojů rozpustné vlákniny, např. fruktanů inulinového typu, na užítkovost králíků a zdravotní stav (Trocino *et al.*, 2013). Nejbohatším přírodním zdrojem fruktanů je čekanka obecná. Doplnění dostupné vědecké literatury o chybějící informace týkající se úlohy inulinu či zdroje fruktanů v krmné směsi rostoucích-vykrmovaných králíků, z pohledu trávení, mikrobiální aktivity slepého střeva, zdraví a užítkovosti, je proto jedním z cílů předkládané habilitační práce.

### **2.2.2.2 Dusíkaté látky a jejich zdroj**

Existuje minimum informací o kvalitativním a kvantitativním významu utilizace nitrogenních složek mikroflórou slepého střeva. Je však prokázáno, že mikroflóra je schopna využít dusík, který vstupuje do slepého střeva (Yoshida *et al.*, 1972; Rerat, 1978; Emaldi *et al.*, 1979). Zdá se, že kromě produkce amoniaku, je proteolytická aktivita bakterií slepého střeva zodpovědná též za příspěvek k celkové produkci těkavých mastných kyselin (Carabaño *et al.*, 2009). Residua proteinu, která pochází z tráveniny ilea (nestrávený protein krmiva, mukoproteiny, enzymy...), mohou být po deaminaci využity jako zdroj energie pro mikrobiální populaci (Gidenne *et al.*, 2010). Vernay a Raynaud (1975) zaznamenali ve slepém střevě hladovějících králíků koncentraci celkových těkavých mastných kyselin  $17,8 \text{ mmol}^{-1}$ , což naznačuje, že ve slepém střevě může být fermentováno významné množství endogenního materiálu. Též je známo, že pokles ileální stravitelnosti proteinu zvýšil aciditu slepého střeva, což potvrzuje významnou úlohu proteinu ve fermentaci slepého střeva (Gidenne a García, 2006). Není však známo jaký je relativní příspěvek těchto zdrojů k celkové produkci těkavých mastných kyselin ve slepém střevě králíka (Gidenne *et al.*, 2010). Tyto konečné produkty jsou částečně absorbovány stěnou slepého střeva a tračniku, amoniak je také využit bakteriemi slepého střeva jako hlavní substrát pro syntézu proteinu. Rozsah těchto procesů nebyl dosud kvantifikován (Carabaño *et al.*, 2009). Dalším zdrojem dusíku pro mikrobiální růst je močovina, která se do slepého střeva dostává přímo z krve; jestliže příjem proteinu převyšuje jeho potřebu pro syntézu tělesného proteinu, dochází ke katabolismu tohoto přebytku, přičemž konečným produktem je močovina. Močovina je pak částečně recyklována do

slepého střeva (Forsythe a Parker, 1985). Hydrolýzou močoviny se produkuje amoniak, který může být využit pro mikrobiální růst; zvyšuje se tedy koncentrace amoniaku v obsahu slepého střeva. Uvedené platí, jestliže je nedostatek energie pro syntézu bakteriálního proteinu. Fraga (1998) pozorovala negativní korelaci mezi poměrem stravitelného proteinu (SP) k stravitelné energii (SE) a koncentrací amoniaku ve slepém střevě rostoucích králíků.

Rezidentní mikroflóra slepého střeva tedy prospívá z nitrogenních substrátů. Jestliže je však králíkům v období růstu a následného výkrmu nabídnuta krmná směs, která nesplňuje nutriční požadavky uvedené kategorie zvířat (nevybalancovaná krmná směs), může dojít k nárůstu potenciálních patogenů (Carabaño et al., 2009). De Blas *et al.* (1981) uvádí kvadratický vztah mezi mortalitou a poměrem SP / SE v období růstu. Obsah dusíkatých látek (NL) v krmné směsi proto rozhoduje nejen o růstu, ale také o zdraví trávicího traktu. Optimální obsah NL v dietě rostoucích králíků je 16 % (Carabaño *et al.*, 2009). Krmiva s vyšším obsahem NL zvyšují množství nitrogenních residuí nestráveného krmiva, proliferaci potenciálních patogenních bakterií (*Clostridium perfringens*) a úhyn zvířat (Haffar *et al.*, 1978; Chamorro *et al.*, 2007). Obsah NL v krmné směsi odstavených a vykrmovaných králíků (35. – 75. den věku) je možné snížit na 14 % za předpokladu, že poměr SP / SE je okolo 9,5 a hladina limitujících aminokyselin (lyzin, sírné aminokyseliny, treonin, arginin) odpovídá nutričním potřebám této kategorie zvířat (de Blas *et al.*, 1981; Trocino *et al.*, 2000; García-Palomares *et al.*, 2006). Uvedeným způsobem je možné snížit exkreci dusíku ve výkrmové fázi až o 38 % (Maertens *et al.*, 1997) a také úhyn králíků (Carabaño *et al.*, 2009). Je nutné mít ovšem na paměti, že významná redukce hladiny NL, ačkoliv dietní obsah limitujících aminokyselin bude na potřebné úrovni, může snížit koncentraci dalších esenciálních či neesenciálních aminokyselin, což negativně ovlivní růst nebo zdraví trávicího traktu. De Blas *et al.* (1981) pozorovali nízkou užitkovost a nárůst mortality králíků v případě diety obsahující 12 % NL. Obsah NL, jako vyjádření potřeby proteinu pro jednotlivé kategorie zvířat, však není zcela adekvátní. Protože je u králíků příjem krmiva regulován mechanismy vzájemného působení krevních metabolitů a hormonů, jsou v praxi potřeby proteinu vyjádřeny ve vztahu k energii, tj., jak již shora zmíněno, poměrem SP / SE. Doporučený obsah SP v krmné směsi pro rostoucí králíky, mladé samice a samce je 105 – 110 g / kg. U samic v reprodukci je doporučený obsah NL v krmné směsi 175 – 190 g / kg a SP v krmné směsi 125 – 138 g / kg. Poměr SP / SE v krmné směsi pro rostoucí králíky a samce by měl být 9,5 – 11,0 g / MJ. Poměr SP / SE v krmné směsi samic v reprodukci by měl být 11,5 – 12,5 g / MJ. Vyšší hodnoty jsou doporučovány pro samice s intenzivním reprodukčním rytmem. U březích a laktujících samic redukce poměru SP / DE z 12,5 na 11,2 může snížit velikost a hmotnost

vrhu. Nicméně v případě, že již klesá produkce mléka (od 21. dne laktace do odstavu) a krmná směs má adekvátní obsah všech limitujících aminokyselin, je možné poměr SP / SE snížit na 11,5 g / MJ bez negativního dopadu na užitkovost samic a jejich vrhů (Xiccato a Trocino, 2010).

Do souvislosti s obsahem NL v dietě rostoucích králíků je však nutné dávat též jejich zdroj. Nejběžněji používaným zdrojem NL pro výkrmové diety brojlerových králíků je sójový extrahovaný šrot (Villamide *et al.*, 2010). Ukazuje se však, že navzdory jeho příznivému vlivu na růst a konverzi krmiva, ve vyšších koncentracích zvyšuje riziko trávicích poruch (Gutiérrez *et al.*, 2003; García-Ruiz *et al.*, 2006; Chamorro *et al.*, 2007). Pro krmné směsi brojlerových králíků je proto lépe namísto sójového extrahovaného šrotu používat slunečnicový extrahovaný šrot (García-Ruiz *et al.*, 2006). Kromě slunečnicového extrahovaného šrotu, dalším vhodným zdrojem dusíkatých látek pro krmné směsi brojlerových králíků může být lupina bílá (Kelly *et al.*, 1990). Lupina bílá je bohatá nejen na NL, ale také na lipidy (s příznivým profilem mastných kyselin), neškrobové polysacharidy, oligosacharidy rafinosové řady (Van Barneveld, 1999) či arginin, na který mají králíci poměrně vysoký požadavek (Adamson a Fisher, 1973). V dostupné literatuře je však velmi málo informací o možnosti využití lupiny bílé ve výživě brojlerových králíků. Dalším z cílů předkládané habilitační práce proto bylo tyto chybějící informace doplnit.

### **2.2.2.3 Škrob**

Často diskutovanou otázkou minulých let byl obsah škrobu v dietě králíků po odstavu. Věřilo se, že vysoký obsah škrobu v krmné směsi má negativní vliv na zdravotní stav odstavených králíků (Cheeke a Paton, 1980; Blas *et al.*, 1994; Lebas a Fortun-Lamothe, 1996). Pro vyvarování se zdravotních rizik byl doporučován obsah škrobu v prvních 14 dnech po odstavu méně jak 14 %, po zbytek výkrmu pak 18 % škrobu (Perez *et al.*, 2000). Nicméně další autoři nepozorovali negativní vliv vysokého obsahu škrobu v dietě na zdravotní stav rostoucích králíků (např. Gutiérrez *et al.*, 2002; Xiccato *et al.*, 2002). Protichůdné výsledky vycházely ze skutečnosti, že v řadě prací byl posuzován vztah škrobu nebo vlákniny k výskytu trávicích poruch králíků odděleně, kdy jedna živina nahrazovala v dietě druhou. Dosažený příznivý vliv zvýšeného obsahu vlákniny na zdraví trávicího traktu byl současně doprovázen redukcí obsahu škrobu v krmné směsi. Bylo nutné rozhodnout, zda zvýšené riziko trávicích poruch lze připsat vyššímu obsahu nestráveného škrobu, který vstupuje do slepého střeva a stává se vhodným substrátem pro patogenní mikroflóru (Cheeke a Paton, 1980), nebo nedostatku vlákniny v krmné směsi (Gidenne, 2015). Na toto téma provedené experimenty prokázaly, že



pouze hladina vlákniny sehrává klíčovou roli v patologických událostech trávicího traktu králíků, odstavených mezi 28. – 35 den věku, nikoliv vyšší obsah škrobu (Gidenne *et al.*, 2004b; Gidenne *et al.*, 2005). Cílem habilitační práce bylo doplnit informace o vhodném obsahu škrobu v krmné směsi odstavených králíků z pohledu praxe.

### 3. CÍL PRÁCE

Jak bylo v literárním přehledu naznačeno, v dostupné literatuře je jen velmi málo informací či zcela chybí o využití celých semen lupiny bílé, jako hlavním zdroji NL a tuku, pro výkrmové a reprodukční diety, stejně jako nebyla popsána úloha fruktanů inulinového typu, coby zdroje rozpustné vlákniny, ve výživě brojlerových králíků. Ačkoliv byl popsán vliv vlákniny a škrobu na zdraví trávicího traktu rostoucích králíků, doporučený obsah škrobu v krmných směsích pro rostoucí králíky, z hlediska praxe, nebyl zřejmý.

V předložených publikacích, které se týkají lupiny bílé, byla celé semena (neodslupkovaná) lupiny bílé porovnávána s tradičními zdroji NL, tj. sójovým a slunečnicovým extrahovaným šrotem. Ve výkrmové fázi se sledoval vliv lupiny bílé na růst, spotřebu krmiva, konverzi krmiva, stravitelnost živin, sanitární index (součet morbidity a mortality) a kvalitu jatečného těla a masa. V období laktace se denně zaznamenávala produkce mléka, sledoval se vliv lupiny bílé na složení mléka, zejména z pohledu obsahu tuku a profilu mastných kyselin, dále se sledoval vliv lupiny na živou hmotnost samic, spotřebu krmiva, konverzi krmiva a zdravotní stav. U králíček se pozorovala hmotnost vrhu, individuální růst, konverze mléka, poměr příjmu mléka k příjmu pevného krmiva a zdravotní stav. Možnost zařadit lupinu bílou do krmných směsí se zkouší také u jiných druhů, například drůbeže. V takovém případě je nutné semena lupiny odslupkovat. Otázkou zůstává, zda tyto slupky lze využít jako vedlejší produkt zemědělské výroby. Protože slupky lupiny jsou bohaté na strukturální vlákninu, na kterou má králík vysoký požadavek, nabízí se možnost jejich využití pro krmné směsi. Dílčím cílem proto bylo ověřit, zda lze slupky zařadit do krmné směsi rostoucích králíků, bez negativních dopadů na užítkovost a stravitelnost diet.

V případě předložených publikací, které se týkají přídavku inulinu či zdroje fruktanů (čekanka obecná) do výkrmových diet, se sledoval vliv vyššího obsahu rozpustné vlákniny na růst, konverzi krmiva a zdravotní stav králíků. Hlavní pozornost byla soustředěna na ovlivnění fermentační a fibrolytické aktivity mikroflóry slepého střeva, stejně jako stravitelnosti živin.

V případě experimentu, který se týkal vhodného obsahu škrobu v dietě odstavených králíků, byla hlavní pozornost soustředěna na zdraví trávicího traktu, v podmínkách komerční farmy. Ověřovalo se, zda je nutné krmit během výkrmu dvě směsi; první směs s nižším obsahem škrobu v období bezprostředně po odstavení, následovaná druhou dietou s vyšším obsahem škrobu pro zbytek výkrmové fáze.

## 4. PUBLIKOVANÉ PRÁCE

**Publikace 1:** Volek, Z., Marounek, M., Skřivanová, V. 2005. Replacing starch by pectin and inulin in diet of early-weaned rabbits: effect on performance, health and nutrient digestibility. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 14, 327 – 337.

**Publikace 2:** Volek, Z., Marounek, M., Skřivanová, V. 2006. Technical note: Health status and growth performance of rabbits fed diets with different starch level during the post-weaning period. *World Rabbit Science*, 14, 27 – 31.

**Publikace 3:** Volek, Z., Marounek, M., Skřivanová, V. 2007. Effect of a starter diet supplementation with mannan-oligosaccharide or inulin on health status, caecal metabolism, digestibility of nutrients and growth of early weaned rabbits. *Animal*, 1, 523 – 530.

**Publikace 4:** Volek, Z., Marounek, M. 2009. Whole white lupin (*Lupinus albus* cv. Amiga) seeds as a source of protein for growing-fattening rabbits. *Animal Feed Science and Technology*, 152, 322 – 329.

**Publikace 5:** Volek, Z., Marounek, M. 2011. Effect of feeding growing-fattening rabbits a diet supplemented with whole white lupin (*Lupinus albus* cv. Amiga) seeds on fatty acid composition and indexes related to human health in hind leg meat and perirenal fat. *Meat Science*, 87, 40 – 45.

**Publikace 6:** Volek, Z., Marounek, M. 2011. Dried chicory root (*Cichorium Intybus* L.) as a natural fructan source in rabbit diet: Effects on growth performance, digestion and caecal and carcass traits. *World Rabbit Science*, 19, 143-150.

**Publikace 7:** Volek, Z., Volková, L., Marounek, M. 2013. Effect of a diet containing white lupin hulls (*Lupinus Albus* cv. Amiga) on total tract apparent digestibility of nutrients and growth performance of rabbits. *World Rabbit Science*, 21, 17 – 21.

**Publikace 8:** Volek, Z., Marounek, M., Volková, L., Kudrnová, E. 2014. Effect of diets containing whole white lupin seeds on rabbit doe milk yield and milk fatty acid composition as well as the growth and health of their litters. *Journal of Animal Science*, 92, 2041 – 2049.

**Publikace 9:** Uhlířová, L., Volek, Z., Marounek, M., Tůmová, E. 2015. Effect of feed restriction and different crude protein source on the performance, health status and carcass traits of growing rabbits. *World Rabbit Science*, 23, 263 – 272.

## **4.1 Publikace 1**

### **Replacing starch by pectin and inulin in diet of early-weaned rabbits: effect on performance, health and nutrient digestibility**

Volek, Z., Marounek, M., Skřivanová, V.

*Journal of Animal and Feed Sciences*, 14, 2005, 327 – 337.



























## 4.2 Publikace 2

**Technical note: Health status and growth performance of rabbits fed diets with different starch level during the post-weaning period**

Volek, Z., Marounek, M., Skřivanová, V.

*World Rabbit Science*, 14, 2006, 27 – 31.











### 4.3 Publikace 3

**Effect of a starter diet supplementation with mannan-oligosaccharide or inulin on health status, caecal metabolism, digestibility of nutrients and growth of early weaned rabbits**

Volek, Z., Marounek, M., Skřivanová, V.

*Animal*, 1, 2007, 523 – 530.



















#### 4.4 Publikace 4

### **Whole white lupin (*Lupinus albus* cv. Amiga) seeds as a source of protein for growing-fattening rabbits**

Volek, Z., Marounek, M.

*Animal Feed Science and Technology*, 152, 2009, 322 – 329.





















## 4.5 Publikace 5

**Effect of feeding growing-fattening rabbits a diet supplemented with whole white lupin (*Lupinus albus* cv. Amiga) seeds on fatty acid composition and indexes related to human health in hind leg meat and perirenal fat**

Volek, Z., Marounek, M.

*Meat Science*, 87, 2011, 40 – 45.













## 4.6 Publikace 6

**Dried chicory root (*Cichorium Intybus* L.) as a natural fructan source in rabbit diet:  
Effects on growth performance, digestion and caecal and carcass traits**

Volek, Z., Marounek, M.

*World Rabbit Science*, 19, 2011, 143-150.





















#### **4.7 Publikace 7**

### **Effect of a diet containing white lupin hulls (*Lupinus Albus* cv. *Amiga*) on total tract apparent digestibility of nutrients and growth performance of rabbits**

Volek, Z., Volková, L., Marounek, M.

*World Rabbit Science*, 21, 2013, 17 – 21.











## 4.8 Publikace 8

**Effect of diets containing whole white lupin seeds on rabbit doe milk yield and milk fatty acid composition as well as the growth and health of their litters**

Volek, Z., Marounek, M., Volková, L., Kudrnová, E.

*Journal of Animal Science*, 92, 2014, 2041 – 2049.























## 4.9 Publikace 9

### **Effect of feed restriction and different crude protein source on the performance, health status and carcass traits of growing rabbits**

Uhlířová, L., Volek, Z., Marounek, M., Tůmová, E.

*World Rabbit Science*, 23, 2015, 263 – 272.























## 5. SUHRNNÁ DISKUSE

### 5.1 Lupina bílá jako hlavní zdroj dusíkatých látek v krmných směsích

#### 5.1.1 Chemické složení semen lupiny bílé

Chemické složení semen lupiny bílé (odrůda Amiga) bylo porovnáno s tradičně používanými zdroji NL, tj. sójovým extrahovaným šrotem a slunečnicovým extrahovaným šrotem (publikace 4, 5, 8, 9). Ve srovnání se slunečnicovým extrahovaným šrotem a lupinou bílou, sójový extrahovaný šrot obsahoval vyšší koncentrace NL a většiny limitujících aminokyselin (AMK), a naopak nižší koncentrace frakcí vlákniny. Obsah NL v semenech lupiny bílé byl však poměrně vysoký (30 – 35 %), ve shodě s dalšími autory (např. Van Barneveld, 1999), a jak bylo v předložených publikacích prokázáno, lupina bílá, coby hlavní zdroj NL, plně nahradila sójový či slunečnicový extrahovaný šrot. Kromě uvedeného, biologickou kvalitu semen lupiny bílé lze zvýšit přidavkem syntetických AMK (Ballester *et al.*, 1980).

Provedené analýzy dále odhalily, že lupina bílá obsahuje více tuku (éter extrakt: 9 – 11 %), ve vodě nerozpustného pektinu a oligosacharidů rafinosové řady (GOS) než sójový či slunečnicový extrahovaný šrot. Tyto nálezy zvýhodňují semena lupiny bílé pro využití v krmných směsích brojlerových králíků, zejména pokud se týká zdraví trávicího traktu; vyšší obsah GOS v krmné směsi obsahující lupinu bílou zvýšil koncentraci kyseliny mléčné v obsahu slepého střeva králíků (publikace 4) a naznačil tak možný prebiotický efekt, který byl u těchto oligosacharidů, přítomných v semenech lupin, popsán (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2005; Martínez-Villaluenga a Gómez, 2007). Stejně tak vyšší obsah tuku v krmné směsi obsahující lupinu bílou, díky vyššímu obsahu tuku v samotné lupině ve srovnání se sójovým extrahovaným šrotem, mohl mít příznivý vliv na zdravotní stav králíků (publikace 8). Vztah mezi obsahem tuku či profilem mastných kyselin a zdravím trávicího traktu je často naznačován (Xiccato, 2010).

Z tohoto pohledu je velmi zajímavé složení a profil mastných kyselin tuku lupiny bílé při srovnání s tradičními zdroji NL. Na rozdíl od sójového či slunečnicového extrahovaného šrotu jsou v semenech lupiny bílé nejvíce zastoupeny mononenasyčené mastné kyseliny (MUFA), zatímco polynenasycené (PUFA) a nasycené mastné kyseliny (SFA) jsou přítomny v menším množství. Semena lupiny bílé obsahují méně kyseliny palmitové (C 16:0) a linolové (C 18:2n-6) a více kyseliny eikosenové (C 20:1n-9), olejové (C 18:1n-9) a  $\alpha$ -linolenové (C 18:3n-3) ve srovnání s tradičními zdroji NL. Kyselina olejová je převládající mastnou kyselinou v semenech lupiny bílé, což potvrzují také další autoři u jiných odrůd

lupiny bílé (Erbas *et al.*, 2005; Uzun *et al.*, 2007; White *et al.*, 2007;), stejně jako vysoký poměr PUFA n-3 / PUFA n-6 se zdá být pro lupinu bílou typický (Boschin *et al.*, 2008; Chiofalo *et al.*, 2012).

Z uvedeného je tak zřejmé, že z pohledu chemického složení (vysoký obsah NL, tuku, rozpustné a nerozpustné vlákniny, příznivý profil a složení mastných kyselin) by lupina bílá měla představovat významnou složku krmných směsí pro intenzivně chované brojlerové králíky.

### **5.1.2 Vliv lupiny bílé na užitkovost a kvalitu jatečného těla králíků**

V dostupné literatuře bylo jen velmi málo informací, které se zabývaly vlivem lupiny bílé na užitkovost králíků (Kelly *et al.*, 1990). Informace o vlivu přídatku lupiny bílé do výkrmových či laktačních diet na kvalitu jatečného těla, či užitkovost samic v období laktace, v literatuře zcela chyběly. Cílem realizovaných experimentů (publikace 4, 5, 8, 9) proto bylo tyto chybějící informace doplnit. Lupina bílá byla porovnána se sójovým a slunečnicovým extrahovaným šrotem, tedy s tradičními zdroji NL, jejichž vliv na užitkovost je obecně znám. Ze získaných nálezů lze říci, že lupina bílá neměla negativní vliv na biologickou užitkovost králíků. V porovnání s běžně používanými zdroji NL tedy nebyl pozorován rozdíl v živé hmotnosti samic na začátku laktace a v době odstavy, ve spotřebě krmiva samic během laktace, růstu a vývinu králíkat před odstavením, denním přírůstkem králíků v následném období výkrmu, spotřebě krmiva, konverzi krmiva či porážkové hmotnosti. Nezávisle na době odstavy, která se v rámci předložených publikací lišila (mezi 30. a 37. dnem věku), tak bylo prokázáno, že lupina bílá plně nahradí běžně používané zdroje NL pro krmné směsi králíků.

Kromě uvedeného, ve srovnání se sójovým extrahovaným šrotem měl přídatek lupiny bílé do krmných směsí příznivý dopad na mléčnou užitkovost, složení mléka, konverzi mléka a jak již naznačeno též na zdravotní stav odstavených králíků. Tyto parametry budou detailněji diskutovány v dalších kapitolách.

U králíků, kterým byla podávána dieta s lupinou bílou, byla zaznamenána vyšší hmotnost jatečného těla po vychlazení a referenční hmotnost jatečného těla ve srovnání se skupinou zvířat krmných směsí obsahující sójový extrahovaný šrot (publikace 9). Protože v dostupné literatuře nejsou o vlivu lupiny na kvalitu jatečného těla žádné záznamy, lze srovnání hledat u jiných druhů zvířat, například jehňat. Ponnampalam *et al.* (2002; 2003) porovnávali dva zdroje dusíkatých látek (lupina a rybí moučka), které se lišily v rychlosti degradace v bacheru a lipidovém složení. Uvedení autoři pozorovali vyšší hmotnost jatečného těla u zvířat, kterým byla podávána dieta s lupinou, a vysvětlují, že zřejmě rychleji degradovatelný protein a

energie ze semen lupiny byly efektivněji využity pro růst v porovnání s rybí moučkou. Ačkoliv v dostupné literatuře nejsou data týkající se srovnání ileální stravitelnosti sójového extrahovaného šrotu a lupinového proteinu z pohledu anti-nutričních faktorů (inhibice aktivity trypsinu) u odstavených králíků lze usuzovat, že se tyto zdroje mohou v ileální stravitelnosti lišit. Gutiérrez *et al.* (2003) zaznamenali rozdíl v ileální stravitelnosti proteinu, který pocházel z různých zdrojů (sojový extrahovaný šrot, slunečnicový extrahovaný šrot, sojový a bramborový koncentrát), a to i přesto, že „zjevná“ stravitelnost NL nebyla zdrojem proteinu ovlivněna. V tomto kontextu jsou potřeba další experimenty, které objasní, zda skutečně existuje rozdíl mezi ileální stravitelností sójového extrahovaného šrotu a semen lupiny bílé u rostoucích králíků, a zda tento aspekt může ovlivnit hmotnost jatečného těla.

V diskutované práci (publikace 9), ačkoliv hmotnost celého trávicího traktu u králíků krmených dietou s lupinou byla vyšší než u králíků krmených výkrmovou směsí obsahující sojový extrahovaný šrot, nebyl zaznamenán pokles jatečné výtěžnosti. Tento náález lze vysvětlit nižší hmotností kůže u králíků s lupinovou dietou. A protože se jatečná výtěžnost v rámci sledovaných skupin zvířat nelišila, nebyl též patrný rozdíl v ukládání tuku (Ouhayoun *et al.*, 1986). Podobně také z výsledků publikace 5 je patrné, že zdroj proteinu neměl vliv na jatečnou výtěžnost. Na druhou stranu rozdíl, ve prospěch králíků krmených dietou s lupinou bílou, byl zaznamenán v publikaci 4. Tyto rozdílné výsledky lze vysvětlit různou hmotností králíků v době porážky, hmotností kůže a celého trávicího traktu.

### **5.1.3 Vliv lupiny bílé na stravitelnost živin**

Zdroj NL (sojový extrahovaný šrot, slunečnicový extrahovaný šrot, lupina bílá) neměl vliv na celkovou „zjevnou“ stravitelnost proteinu a energie (publikace 4, 5, 8, 9). Nálezy jsou ve shodě s dalšími autory (Fekete a Gippert, 1986). U králíků, kterým byla podávána krmná směs s lupinou bílou, jsme zaznamenali vyšší stravitelnost tuku (publikace 8) ve srovnání s dietou obsahující sojový extrahovaný šrot. Tento rozdíl lze vysvětlit vyšším obsahem tuku v krmné směsi s lupinou (Xiccato, 2010).

### **5.1.4 Vliv lupiny bílé na zdravotní stav**

Nutnost nahradit sojový extrahovaný šrot v krmných směsích odstavených králíků vychází z prací, které byly provedeny na Polytechnické univerzitě v Madridu (Gutiérrez *et al.*, 2003; García-Ruiz *et al.*, 2006). Bylo prokázáno, že sojový extrahovaný šrot může ve vyšších koncentracích zvyšovat riziko trávicích poruch. Tyto poruchy jsou hlavní patologické události, které ovlivňují odstavené nebo vykrmované králíky (Rosell, 2003; Rosell *et al.*,

2009). Zmínění autoři proto na základě realizovaných experimentů navrhli preferovat slunečnicový extrahovaný šrot před sójovým extrahovaným šrotem. Další vhodnou alternativou, na základě chemického složení, se zdály být semena lupiny bílé. Informace o vlivu přídatku semen lupiny bílé do krmné směsi odstavených králíků na zdraví trávicího traktu v dostupné literatuře chyběly. Z dosažených výsledků (publikace 4, 8, 9) lze říci, že ve všech případech byl zaznamenán horší zdravotní stav u králíků krmných dietou obsahující sójový extrahovaný šrot. U králíků, kterým byla podávána krmná směs s lupinou bílou, byl opakovaně prokázán nižší výskyt průjmů, úhynů a nižší sanitární index. Není však jasné, co je primárním mechanismem příznivého vlivu lupiny bílé na zdravotní stav králíků. Zjištěný vyšší výskyt průjmů a úhynů spojený se sójovým extrahovaným šrotem potvrzuje předchozí zjištění uvedených prací, které se zhoršeným zdravotním stavem spojují anti-nutriční faktory sójového extrahovaného šrotu, snižující ileální stravitelnost proteinu. Větší množství nestráveného proteinu pak přichází do slepého střeva a stává se vhodným substrátem pro proliferaci patogenních bakterií (Gutiérrez *et al.*, 2003; García-Ruiz *et al.*, 2006; Chamorro *et al.*, 2007). Vliv na lepší zdravotní stav u králíků krmných dietou obsahující lupinu bílou však mohl mít také vyšší obsah tuku, díky jeho vysokému zastoupení v samotné lupině. Jak shora uvedeno, tuk je obecně spojován s lepším zdravotním stavem, protože zvyšuje příjem stravitelné energie a tím je zajištěn plnohodnotný růst a vývin králíků v období odstavení (Xiccato, 2010). Další vliv může být připisán příjmu mléka se zvýšeným obsahem C 18:3n-3 a kyseliny eikosapentaenové (EPA), jako výsledek přídatku semen lupiny bílé do laktační diety samic (publikace 8). Podobně Maertens *et al.* (2005b), když studovali vliv diet, které obsahovaly vyšší hladiny PUFA n-3, na užitečnost a složení mléka samic, stejně jako na životaschopnost jejich potomstva, pozorovali významně nižší mortalitu u králíků krmných dietou s vyšším obsahem PUFA n-3. Další experimenty je proto nutné zaměřit na objasnění primárního mechanismu příznivého vlivu lupiny bílé na zdravotní stav králíků během výkrmu.

Z provedených experimentů je možné říci, že laktační a výkrmová směs obsahující lupinu bílou jsou z hlediska prevence zdravotních rizik bezpečnější než diety obsahující sójový extrahovaný šrot. Je však nutné poznamenat, že výkrmová směs musí být zkrmována *ad libitum*. Prokázali jsme, že v případě aplikace krátkodobé restriktce (14 dní po odstavení), se v následném realimentačním období prudce zhoršuje zdravotní stav, bez ohledu na použitý zdroj proteinu (publikace 9). Zdá se tedy, že technika krmení je nadřazena zdroji dusíkatých látek. Je však nutné na toto téma zaměřit budoucí experiment, který naznačenou tezi potvrdí či vyvrátí.

### **5.1.5 Vliv lupiny bílé na složení mastných kyselin v mase a ledvinovém tuku**

Kromě NL má lupina bílá také poměrně vysoký obsah tuku, s příznivým složením a profilem mastných kyselin. Z tohoto důvodu byl realizován experiment (publikace 5), který sledoval, jak dieta obsahující lupinu bílou ovlivní profil a složení mastných kyselin v mase stehena a ledvinovém tuku králíků, indexy vztahující se k lidskému zdraví (atherogenní a trombogenní index) a dále pak poměr PUFA n-6/PUFA n-3, který se snaží zootechnický výzkum v živočišných produktech snižovat. Krmná směs s lupinou bílou byla porovnána s dietou obsahující tradičně používaný slunečnicový extrahovaný šrot. Do krmných směsí nebyl přidáván tuk. Výsledky experimentu ukázaly příznivý vliv přídavku lupiny bílé do krmné směsi na profil a složení mastných kyselin či poměr PUFA n-6/PUFA n-3. V mase stehena této skupiny králíků byl pozorován signifikantně nižší obsah SFA a PUFA. Z nasycených mastných kyselin se jednalo zejména o nižší obsah kyseliny laurové (C 12:0), myristové (C 14:0), pentadekanové (C 15:0), palmitové (C 16:0) a margarové (C 17:0), což je z hlediska lidské výživy významné, protože příjem tzv. nasyceného (saturovaného) tuku má být, z důvodu prevence kardiovaskulárních onemocnění, omezený (Ulbricht a Southgate, 1991). Z MUFA se jednalo o signifikantně vyšší obsah C 20:1n-9, z PUFA pak o významně nižší obsah C 18:2n-6, eikosatrienové (C 20:3n-6) a naopak o vyšší obsah EPA. Díky uvedenému došlo v mase stehena králíků krmných dietou s lupinou bílou k signifikantnímu snížení poměru PUFA n-6/PUFA n-3, snížení indexu saturace (nasycené vyšší mastné kyseliny/nenasycené vyšší mastné kyseliny) a k signifikantnímu snížení atherogenního a trombogenního indexu. Podobných výsledků bylo dosaženo též v ledvinovém tuku králíků krmných dietou s lupinou bílou. Přídavek lupiny bílé do krmné směsi tedy z pohledu lidské výživy zvyšuje nutriční hodnotu masa a ledvinového tuku králíků. Shodné nálezy v případě kuřat uvádějí také další autoři (Laudadio a Tufarelli, 2011).

### **5.1.6 Vliv lupiny bílé na produkci mléka a složení mléka**

Stejně jako v předchozích případech, také vliv přídavku lupiny bílé do laktační krmné směsi králíků nebyl v literatuře popsán. Byl porovnán vliv laktační diety obsahující semena lupiny bílé s krmnou směsí, která jako hlavní zdroj NL obsahovala sójový a slunečnicový extrahovaný šrot (publikace 8). Do laktačních diet nebyl přidán tuk. Vyšší produkce mléka, jak z pohledu konečné fáze laktace, tak také z pohledu celé laktační periody, byla zaznamenána u samic krmných dietou s lupinou bílou. U této skupiny zvířat byl vrchol laktace pozorován 21. den po porodu, zatímco u samic krmných dietou obsahující tradiční zdroje NL byl vrchol laktace zaznamenán již 18. den po porodu. Vyjádřeno na kg metabolické



hmotnosti, produkce mléka, stejně jako produkce tuku byly vyšší u samic, kterým byla podávána dieta s lupinou bílou. U této skupiny zvířat byla pozorována také lepší konverze krmiva z pohledu prvních třech týdnů laktace. Uvedené nálezy je možné dát do souvislosti s vyšším obsahem tuku v krmné směsi obsahující lupinu bílou a též jeho vyšším příjmem (Pascual *et al.*, 2003). Bez ohledu na použitou laktační dietu, dosažený vrchol laktace byl ve shodě s dalšími autory (Maertens *et al.*, 2006). Nalezenou lepší konverzi krmiva mezi 1. a 21. dnem laktace u samic krmených dietou obsahující lupinu bílou, stejně jako vyšší přírůstek a konverzi mléka u jejich potomstva, lze vysvětlit významně vyšší produkcí tuku na kg metabolické hmotnosti bez variací ve spotřebě krmiva.

Složení mléka bylo posuzováno 21. den laktace, protože během prvních třech týdnů je mléko výhradním zdrojem živin králíčat, přičemž jeho složení se v tomto období výrazně nemění (Maertens *et al.*, 2006). V mléce samic krmených dietou obsahující lupinu bílou byl zaznamenán nižší obsah sušiny a NL. U této skupiny samic byl pozorován nižší obsah SFA, s korespondujícím poklesem kyseliny kaprylové (C 8:0), kaprinové (C 10:0) a C 16:0. Naopak obsah kyseliny stearové (C 18:0) byl v mléce samic krmených laktační dietou obsahující lupinou bílou vyšší. V mléce této skupiny zvířat byl dále nalezen významně vyšší obsah MUFA, s korespondujícím nárůstem C 18:1n-9. Dále byl u těchto zvířat zaznamenán nižší obsah PUFA ve srovnání se samicemi, kterým byla podávána směs s tradičními zdroji NL. Mléko samic krmených laktační dietou s lupinou bílou obsahovalo méně C 18:2n-6 a arachidonové (C 20:4n-6) a více C 18:3n-3 a EPA. Dále byl u této skupiny zvířat pozorován vyšší poměr PUFA n-3 celkem/C 20:4n-6.

Obecně lze říci, že profil mastných kyselin v mléce samic krmených dietou obsahující tradiční zdroje NL byl ve shodě s dalšími autory (Maertens *et al.*, 2006), zatímco mléčný tuk samic, kterým byla podávána laktační směs s lupinou bílou, odrážel typický profil mastných kyselin v semenech lupiny bílé.

Jak bylo zmíněno, u skupiny samic, kterým byla podávána laktační dieta s lupinou bílou, byl zaznamenán signifikantně nižší obsah SFA než u samic krmených dietou obsahující tradiční zdroje NL. Tento nález je pravděpodobně spojen s *de novo* syntézou mastných kyselin s krátkou či střední délkou řetězce, které jsou syntetizovány uvnitř mléčné žlázy, spíše než získávány z cirkulující krve nebo generovány oxidací mastných kyselin s dlouhým řetězcem uvnitř mléčné žlázy (Carey a Dils, 1972), a pravděpodobně také s nižším obsahem C 16:0 a naopak vyšším obsahem C 18:1n-9 v krmné směsi obsahující lupinu bílou. Hansen a Knudsen (1987) v případě buněk mléčné žlázy přežvýkavců prokázali, že přídavek C 16:0 do

inkubačního média silně stimuluje syntézu a inkorporaci *de novo* syntetizovaných mastných kyselin do triglyceridů, zatímco přídavek C 18:1n-9 tuto syntézu inhibuje.

Podávání laktační diety s lupinou bílou také významně zvýšilo obsah kyseliny C 18:3n-3 v mléce samic, což může být vysvětleno nižším poměrem C 18:2n-6/C 18:3n-3 v této dietě. V mléce této skupiny zvířat byl dále pozorován nižší obsah C 20:4n-6 a vyšší obsah EPA, s korespondujícím zvýšením v poměru PUFA n-3 celkem/C 20:4 n-6 než v mléce samic, kterým byla podávána laktační dieta s tradičními zdroji NL. Tento nálezn je pravděpodobně spojen se zjevným antagonismem mezi metabolickými cestami PUFA n-6 a PUFA n-3 (Bernardini *et al.*, 1999). Je známo, že konverze C 18:3 n-3 na EPA může být potlačena vysokým příjmem C 18: 2n-6, v důsledku soutěže o stejné elongasy a desaturasy (Williams, 2000).

### **5.1.7 Slupky lupiny bílé jako vedlejší produkt zemědělské výroby**

Z uvedených experimentů (publikace 4, 5, 8, 9) je zřejmé, že v případě králíků není nutné semena lupin odslupkovat, lze použít celá semena lupiny bez negativního dopadu na nutriční hodnotu diet.

V případě dalších druhů, jako jsou brojlerová kuřata či prasata, se však odslupkování lupin ukazuje jako vhodný nástroj, kterým lze účinně snížit některé anti-nutriční faktory (např. vysoký obsah neškrobových polysacharidů) a tím zlepšit nutriční hodnotu semen lupin pro uvedené druhy zvířat (Smulikowska *et al.*, 1995; Mieczkowska *et al.*, 2005; Písařiková a Zralý, 2009; Nalle *et al.*, 2010). Nabízí se otázka, zda nelze slupky lupiny bílé nějakým způsobem využít, coby vedlejší produkt zemědělské výroby. V tomto ohledu by mohl sehrát podstatnou úlohu sektor intenzivního chovu brojlerových králíků, protože požadavek králíků na obsah vlákniny v krmné směsi je vysoký.

V literatuře zcela chyběly informace o vlivu dietního zařazení slupek lupiny na nutriční hodnotu diet. Byl proto realizován experiment, který sledoval zařazení 5 % slupek lupiny bílé do krmné směsi odstavených králíků na stravitelnost živin a užítkovost (publikace 7). Nutriční hodnota (poměr stravitelného proteinu k stravitelné energii) krmné směsi obsahující slupky lupiny bílé byla shodná s kontrolní směsí. Z provedené chemické analýzy slupek lupiny bylo zjištěno, že převládajícím strukturálním polysacharidem je celulóza, což potvrzuje nálezy také dalších autorů (například Gdala, 1998). Z pohledu obsahu NDF, ADF a celulósy se slupky lupiny neliší od slupek slunečnice (García *et al.*, 1996; Nicodemus *et al.*, 2002), zatímco obsah vlákniny ve slupkách sóji je nižší (García *et al.*, 1997, 1999). Slupky lupiny obsahují méně ADL než slupky slunečnice (García *et al.*, 1996; Nicodemus *et al.*, 2002). Z pohledu stravitelnosti živin lze říci, že zařazením slupek lupiny bílé do krmné směsi nedošlo k poklesu

stravitelnosti sušiny, energie nebo NL. Tento nálezný tak naznačuje, že slupky lupin mohou být využívány jako zdroj vlákniny pro rostoucí-vykrmované králíky. Nebyl také zaznamenán výrazný rozdíl v růstu, spotřebě krmiva, konverzi krmiva či finální porážkové hmotnosti. Slupky lupin proto mohou sloužit jako vhodný vedlejší produkt zemědělské výroby pro krmiva králíků bez negativního dopadu na nutriční hodnotu diet. V následujících experimentech je nutné ověřit maximální dietní hladinu slupek lupiny. Ověření možnosti zařazení 5 % slupek lupiny je tak prvním krokem naznačeného budoucího testování.

## **5.2 Doporučený obsah škrobu v krmných směsích odstavených králíků**

Testování hypotézy, zda vyšší obsah škrobu v dietách odstavených králíků má či nemá primární vliv na zdraví trávicího traktu, bylo předmětem mnoha experimentálních studií minulých let. Ukázalo se, že primární úlohu sehrává obsah a poměr neškrbových polysacharidů v krmných směsích rostoucích králíků, nikoliv vyšší obsah škrobu.

Z hlediska prevence se však doporučovalo v prvních týdnech po odstavu podávat diety s obsahem škrobu pod 14 %, a po zbytek výkrmu krmit směsí s 18 % škrobu (Perez *et al.*, 2000). Jiní autoři však nepozorovali negativní vliv vyšší dietní hladiny škrobu na trávicí poruchy odstavených králíků (Gutiérrez *et al.*, 2002; Xiccato *et al.*, 2002).

Cílem předložené publikace 2 proto bylo získat vlastní zkušenost, zda je nutné podávat dvě krmné směsi během výkrmu králíků, lišící se v obsahu škrobu. Experiment byl uskutečněn v reálných podmínkách komerční farmy. Sledovaly se dvě skupiny zvířat. První skupina byla krmena po celou dobu výkrmu dietou, která obsahovala 14 % škrobu. Druhá skupina králíků byla krmena prvních 14 dnů po odstavu výkrmovou směsí s 12 % škrobu, zatímco po zbytek výkrmu přijímali směs se 14 % škrobu. Lepší výsledky užitkovosti byly pozorovány u skupiny králíků, kterým byla podávána krmná směs se 14 % škrobu po celou dobu výkrmu. Stejně tak sanitární index (součet uhynulých a nemocných zvířat) byl u této skupiny nižší. Výsledky naznačily, že nižší hladina škrobu (pod 12 %) během prvních 14 dnů po odstavu může zvýšit riziko trávicích poruch, zatímco dietu obsahující 14 % škrobu lze podávat během celého výkrmu, s příznivým dopadem na užitkovost a zdravotní stav králíků. Uvedené nálezy tedy byly v rozporu s doporučeným postupem krmení odstavených králíků, který navrhli Pérez *et al.* (2000).

V současné době se pro rostoucí králíky doporučuje v krmných směsích 14 – 16 % škrobu po celou dobu výkrmu (de Blas a Mateos, 2010).

### 5.3 Inulin a zdroj fruktanů inulinového typu v dietách rostoucích králíků

Nové nutriční strategie se nezaměřují pouze na hledání vhodného obsahu vlákniny, škrobu, tuku, či obsahu a zdroje dusíkatých látek, ale pozornost je také věnována polysacharidům a oligosacharidům, které lze považovat za tzv. prebiotika. Prebiotika se obvykle definují jako látky, které nejsou hydrolyticky tráveny, ale jsou selektivně fermentovány v kaudálních oddílech trávicího traktu k podpoře růstu zdraví prospěšné bakteriální populace (Gibson a Roberfroid, 1995). Právě inulin a fruktooligosacharidy, díky příznivému vlivu na zdraví gastrointestinálního traktu zvířat, přitahují stále větší pozornost experimentálních pracovišť (Flickinger *et al.*, 2003). Z uvedených důvodů byly realizovány experimenty (publikace 1, 3, 6), ve kterých byl sledován vliv přídatku inulinu či zdroje fruktanů do startérové (časný odstav; publikace 1, 3) a výkrmové diety (publikace 6) na mikrobiální aktivitu slepého střeva, zdraví trávicího traktu a užitkovost králíků. Fruktany v uvedených experimentech představovaly rozpustnou vlákninu.

První z provedených experimentů (publikace 1) sledoval vliv částečné náhrady škrobu vyšším obsahem pektinu (zdroj cukrovské řízky) či pektinu spolu s přídatkem inulinu (komerční zdroj) v krmných směsích rostoucích králíků na užitkovost, zdravotní stav a fermentační aktivitu slepého střeva. Výsledky ukázaly, že růst králíků se v rámci sledovaných skupin signifikantně nelišil, ačkoliv nepatrně lepší přírůstek živé hmotnosti byl pozorován u zvířat krmených dietou doplněnou o inulin. Částečnou náhradou škrobu vyšším obsahem pektinu v krmné směsi nedošlo, oproti očekávání, ke zlepšení zdravotního stavu. Tuto skutečnost lze zřejmě vysvětlit zjištěnou vyšší viskozitou tráveniny tenkého střeva u této skupiny králíků. Jak bylo prokázáno například u selat, zvýšená viskozita tráveniny zpomaluje její průchod trávicím traktem a tím umožňuje proliferaci patogenních mikroorganismů (Hopwood *et al.*, 2002). Příznivý vliv na zdravotní stav však měl přídatek inulinu. U této skupiny zvířat byl zjištěn nejnižší úhyn za celé sledované období, doprovázený vyšší koncentrací těkavých mastných kyselin a nižší hodnotou pH, což potvrzuje pozitivní vliv inulinu (fruktanů) na fermentační aktivitu mikroorganismů slepého střeva králíka (Morisse *et al.*, 1993; Maertens *et al.*, 2004). Je nutné ale poznamenat, že v období, kdy králíci již nedostávali krmnou směs obohacenou o inulin, tedy po zbytek výkrmové periody, došlo u této skupiny k nárůstu patologických událostí trávicího traktu ve srovnání s kontrolní skupinou. Výsledky uvedeného experimentu tak poprvé naznačily, že je zřejmě nutné podávat dietu s přídatkem inulinu po celou dobu výkrmu.

Druhý experiment (publikace 3) porovnával vliv přídatku různých prebiotik (MOS – mannooligosacharidy nebo inulin) do startérové diety na užitkovost a zdraví časně

odstavených králíků. Porovnávala se kontrolní krmná směs, která neobsahovala aditiva, s dietami, do kterých byly přidány mannanooligosacharidy (0,3 %) nebo inulin (4 %). Na základě dosažených výsledků lze říci, že růst králíků se z pohledu celého výkrmu v rámci sledovaných skupin významně nelišil, ačkoliv během startérové periody (25. – 46. den věku) byl zaznamenán vyšší přírůstek živé hmotnosti u králíků kontrolní skupiny. Během uvedeného období byly zaznamenány rozdíly v morbiditě zvířat a sanitárním indexu. Nejnižší počet nemocných zvířat, stejně jako nižší sanitární index, byly zjištěny u králíků krmných dietou doplněnou o inulin. Nicméně, po změně krmné směsi (46. den věku) došlo u této skupiny zvířat ke zhoršení zdravotního stavu, takže z pohledu celého výkrmu inulin neměl vliv na snižování trávicích poruch. Přídavek inulinu zvýšil celkovou koncentraci těkavých mastných kyselin a snížil hodnotu pH v obsahu slepého střeva. Stejně tak koncentrace amoniaku ve slepém střevě klesala, jestliže králíci dostávali dietu s inulinem. U této skupiny zvířat byla dále zaznamenána vyšší aktivita inuliny, zatímco v dalších aktivitách fibrolytických enzymů (celulasa, xylanasa, pektinasa) nebyl pozorován významný rozdíl. Uvedené příznivé ovlivnění fermentační a fibrolytické aktivity mikroflóry slepého střeva zřejmě vedlo ke snížení morbidity a sanitárního rizika králíků během startérové periody; těkavé mastné kyseliny, pH a koncentrace amoniaku ve slepém střevě králíka jsou klasické hodnoty uváděné v souvislosti s poruchami trávení (Gidenne a Licois, 2005). Obecně lze shrnout, že výsledky potvrdily předchozí nález (publikace 1), tedy nutnost podávání krmné směsi s inulinem během celého období výkrmu králíků.

V předložených publikacích 1 a 3 se v případě inulinu jednalo o komerční přípravky, které jsou z hlediska praxe značně nákladné. Je proto žádoucí hledat levnější alternativu. Z tohoto pohledu by vhodnou alternativou mohlo být zařazení do kompletní granulované krmné směsi přímo zdroj fruktanů. Nejvýznamnějším přírodním zdrojem fruktanů inulinového typu je čekanka obecná. Na uvedené téma byl realizován experiment (publikace 6), který hledal optimální zastoupení sušeného kořene čekanky obecné v krmné směsi, a to zejména ve vztahu k užitkovosti králíků, nutriční hodnotě diet, fermentační aktivitě mikroflóry slepého střeva či jatečné výtěžnosti. Do krmných směsí bylo zařazeno 5 % či 10 % sušeného kořene čekanky, který částečně či zcela nahradil oves v kontrolní krmné směsi. Výsledky experimentu ukázaly, že přídavek čekanky do krmné směsi králíků ve výkrmu nezhoršil užitkovost či parametry jatečného těla. Stejně tak nutriční hodnota diet nebyla přítomností čekanky negativně ovlivněna. Přídavek čekanky zvýšil hmotnost obsahu slepého střeva, celkovou koncentraci těkavých mastných kyselin a snížil hodnotu pH obsahu slepého střeva. Krmná směs s 10 % čekanky navíc signifikantně zvýšila koncentraci kyseliny mléčné v obsahu slepého střeva.

Čekanka tedy pozitivně ovlivnila fermentační aktivitu slepého střeva a stává se tak perspektivní novou komponentou krmných směsí pro rostoucí-vykrmované brojlerové králíky.

## 6. ZÁVĚR

Výživa a krmení brojlerových králíků je velmi široké téma, kterému je dlouhodobě věnována značná pozornost řady výzkumných institucí, zejména pak v zemích Evropské unie. Na nové nutriční strategie vedoucí ke zvýšení resistance králíků k poruchám trávení, zlepšení tělesné kondice chovných zvířat, zvýšení dostupnosti mléka a tím životaschopnosti mláďat v období před a po odstavu či zlepšení globální konverze krmiva, lze nahlížet z mnoha pohledů. V současné době se v souvislosti se zdravím brojlerových králíků nejvíce zmiňuje technika restrikce krmiva ve výkrmovém období zvířat a vhodný obsah rozpustné a nerozpustné vlákniny či obsah a zdroj dusíkatých látek v krmných směsích. Cílem předložené habilitační práce proto bylo některé informace, které se uvedeného tématu týkají, a které nebyly dosud v literatuře popsány, doplnit.

Jako zdroj dusíkatých látek, coby náhrada sójového extrahovaného šrotu v laktačních a výkrmových dietách, byla studována lupina bílá, odrůda Amiga.

Dosažené výsledky prokázaly, že přítomnost lupiny bílé v laktační dietě zaručuje vysokou produkci mléka a tuku na kg metabolické hmotnosti, což příznivě ovlivňuje konverzi krmiva samic a konverzi mléka u jejich potomstva. S uvedenými skutečnostmi pak souvisí i plnohodnotný růst a vývin králíčat v období před odstavením. Vlivem vysokého obsahu tuku a příznivého složení mastných kyselin v semenech lupiny bílé (vysoký obsah kyseliny olejové, nižší obsah kyseliny linolové a naopak vyšší obsah kyseliny  $\alpha$ -linolenové) lze účinně měnit složení mléka samic. Přídavek lupiny bílé do laktační diety zvyšuje obsah kyseliny  $\alpha$ -linolenové a eikosapentaenové, a tato skutečnost zřejmě souvisí s lepším zdravotním stavem králíků během období výkrmu. V případě sestavování laktační krmné směsi, která bude obsahovat lupinu bílou, není potřeba přidávat tuk. Dieta obsahující lupinu bílou tak představuje novou nutriční strategii pro období laktace, přičemž její předností se zdá být příznivý vliv na tělesnou kondici samic a životaschopnost králíků v následném období výkrmu. Lze poznamenat, že o uvedené výsledky výzkumu již projevil zájem konkrétní výrobce krmných směsí.

Také zařazení lupiny bílé do výkrmové diety bylo předmětem habilitační práce. V předložených publikacích bylo prokázáno, že lupina bílá plně nahradí tradičně používané zdroje dusíkatých látek, a to jak z pohledu růstu, konverze krmiva či finální porážkové hmotnosti, tak také z pohledu kvality jatečného těla a masa. Zajímavé jsou nálezy, které se týkají zdraví trávicího traktu. Ukazuje se, že výkrmová směs založená na lupině bílé je

vhodnou prevencí zvýšeného rizika trávicích poruch ve srovnání s dietou obsahující sójový extrahovaný šrot. Tato skutečnost byla v předložených publikacích opakovaně potvrzena.

Na základě následné experimentální činnosti autora habilitační práce je však nutné poznamenat, že v případě patologických událostí trávicího traktu, které jsou zřejmě spojené s tzv. epizootickou králičí enterokolitidou (ERE; nemoc vysokého úhynu králíků), dochází i u králíků krmených dietou s lupinou bílou k nárůstu úhynů. V případě střevní infekce způsobené specifickými patogeny jsou úhyn a morbidita králíků krmených směsí s lupinou bílou velmi nízké, bez výkyvů během výkrmového období. Jinak je tomu ale v případě výskytu ERE, přičemž nástup trávicích poruch je u králíků krmených dietou s lupinou bílou oddálen (3. týden po odstavu), zatímco u králíků krmených dietou s jiným zdrojem dusíkatých látek, začínají poruchy trávení již po odstavu.

Krmná směs s lupinou bílou je tedy z hlediska zdraví trávicího traktu slibnou novou nutriční strategií. Je však nutný další výzkum, který bude doplňovat stávající znalosti.

Zřejmě bude důležité krmnou směs obsahující lupinu bílou, která prokazatelně snižuje rizika trávicích poruch, obohatit o nový prvek, schopný čelit riziku ERE.

V úvahu přicházejí fruktany inulinového typu, protože výsledky předložených publikací dokazují, že přídavek inulinu do krmné směsi rostoucích králíků příznivě ovlivňuje fermentační a fibrolytickou aktivitu mikroflóry slepého střeva, přičemž tento efekt byl spojen s nižším výskytem průjmů a úhynů králíků v období výkrmu. Ukázalo se však také, že je nutné podávat diety s vyšším obsahem fruktanů po celou dobu výkrmu.

Z dosažených výsledků předložených publikací se tak nabízí další výzkum, který bude vhodným způsobem kombinovat vliv přídavku semen lupiny bílé a čekanky obecné (zdroj fruktanů), coby nových komponent krmných směsí pro brojlerové králíky, na užitkovost a zdraví trávicího traktu.



## 6. POUŽITÁ LITERATURA V KAPITOLÁCH 2 A 5

- Adamson, I., Fisher, H. 1973. Amino acid requirements of the growing rabbit: An estimate of quantitative needs. *J. Nutr.*, 103, 1306-1310.
- AOAC International, 2000. *Official Methods of Analysis, 17th ed. Official Methods of Analysis of AOAC, Washington, DC, USA.*
- Abecia, L., Fondevila, M., Balcells, J., Edwards, J. E., Newbold, C.J., Mcewan, N. R. 2005. Molecular profiling of bacterial species in the rabbit caecum. *Fems Microbiol. Lett.*, 244, 111-115.
- Agnoletti, F. 2012. Update on rabbit enteric diseases: Despite improved diagnostic capacity, where does disease control and prevention stand? *In Proc.: 10th World Rabbit Congress, 2012, Sharm-El-Sheikh, Egypt, 1113-1127.*
- Bach Knudsen, K. E. 2001. The nutritional significance of dietary fibre analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 90, 3-20.
- Badiola, I., Pérez de Rozas, A.M., Roca, M., Carabaño, R., Gómez, M., García, J., de Blas, J.C. 2004. Characterization of the microbial diversity of rabbit intestinal tract by restriction fragment length polymorphism. *In Proc.: 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 2004. Puebla, Mexico, 746-751.*
- Ballester, D., Yáñez, E., García, R., Erazo, S., López, F., Haardt, E., Cornejo, S., López, A., Pokniak, J., Chichester, C.O., 1980. Chemical composition, nutritive value, and toxicological evaluation of two species of sweet lupine (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*). *J. Agric. Food Chem.*, 28, 402-405.
- Bellier, R., Gidenne, T., Vernay, M., Colin, M. 1995. In vivo study of circadian variations of the cecal fermentation pattern in postweaned and adult rabbits. *J. Anim. Sci.*, 73, 158-135.
- Bellier, R., Gidenne, T. 1996. Consequences of reduced fibre intake on digestion, rate of passage and caecal microbial activity in the young rabbit. *Br. J. Nutr.*, 75, 353 – 363.
- Bennegadi, N., Gidenne, T., Licois D. 2001. Impact of fibre deficiency and sanitary status on non-specific enteropathy of the growing rabbit. *Anim. Res.*, 50, 401-413.
- Bennegadi, N., Fonty, G., Millet, L., Gidenne, T., Licois, D. 2003. Effects of age and dietary fibre level on caecal microbial communities of conventional and specific pathogen-free rabbits. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 5, 23-32.

- Bennegadi-Laurent, N., Licois, D., Gidenne, T. 2013. Nutritionally induced enteropathy in the growing rabbit: Impact on caecal microbial activity and blood metabolic profile. *Rev. Med. Vet.*, 164: 495-502.
- Bernadac, A., Moreau, H., Verger, R., 1991. Gastric lipase and pepsinogen during the ontogenesis of rabbit gastric glands. *Europ. J. Cell. Biol.*, 55, 149-157.
- Bernardini, M., Dal Bosco, A., Castellini, C. 1999. Effect of dietary n-3/n-6 ratio on fatty acid composition of liver, meat and perirenal fat in rabbits. *Anim. Sci.*, 68, 647–654.
- Blas, E., Cervera, C., Fernández-Carmona, J., 1994. Effect of two diets with varied starch and fibre levels on the performances of 4-7 weeks old rabbits. *World Rabbit Sci.*, 2, 117-121.
- Blas, E., Gidenne, T. 1998. Digestion of starch and sugars. In: *de Blas, J.C., Wiseman, J. (ed.). The Nutrition of the Rabbit, CAB Int., Wallingford, 17 – 38.*
- Bonnafous, R., Raynaud, P. 1970. Recherches sur le variation de la densité des microorganismes dans le colon du lapin domestique. *Experientia*, 26, 52.
- Boschin, G., D'agostina, A., Annicchiarico, P., Arnoldi, A. 2008. Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seed. *Food Chem.*, 108, 60-606.
- Boulahrouf, A., Fonty, G., Gouet, P. 1991. Establishment, counts and identification of the fibrolytic bacteria in the digestive tract of rabbit. Influence of feed cellulose content. *Current Microbiol.*, 22, 1-25.
- Canas-Rodrigues, A., Smith, H.W. 1966. The identification of the antimicrobial factors of the stomach contents of suckling rabbits. *Biochemical J.*, 100, 79-82.
- Carabaño, R., Piquer, J. 1998. The digestive system of the rabbit. In: *de Blas, J.C., Wiseman, J. (ed.). The Nutrition of the Rabbit, CAB Int., Wallingford, 1 – 16.*
- Carabaño, R., Villamide, M. J., García, J., Nicodemus, N., Llorente, A., Chamorro, S., Menoyo, D., García-Rebollar, P., García-Ruiz, A. I., de Blas, J. C. 2009. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits. A review. *World Rabbit Sci.*, 17, 1 - 14.
- Carabaño, R., Piquer, J., Menoyo, D., Badiola, I. 2010. The digestive system of the rabbit. In: *The Nutrition of the Rabbit. 2nd ed., de Blas, C., Wiseman, J. (ed). CABI International, Wallingford, UK, 1-18.*
- Carey, E. M., Dils, R. 1972. The pattern of fatty acid synthesis in lactating rabbit mammary gland studied in vivo. *Biochem. J.* 126, 1005–1007.

- Carrouée, B., Crépon, K., Peyronnet, C. 2003. Les protéagineux : intérêt dans les systèmes de production fourragers français et européens. *Fourrages*, 174, 163-182.
- Castellini, C., Dal Bosco, A., Arias-Álvarez, M., Lorenzo, L., Cardinali, R., Rebollar, P. G. 2010. The main factors affecting the reproductive performance of rabbit does: A review. *Anim. Reprod. Sci.*, 122, 174-182.
- Cole, C.B., Scott, K.S., Henschel, M.J., Coates, M.E., Ford, J.E., Fuller, R. 1983. Trace nutrient binding proteins in milk and the growth of bacteria in the gut of infant rabbits. *Br. J. Nutr.*, 49, 231-240.
- Combes, S., Fortun-Lamothe, L., Cauquil, L., Gidenne, T. 2013. Engineering the rabbit digestive ecosystem to improve digestive health and efficacy. *Animal*, 7, 1429-1439.
- Combes, S., Gidenne, T., Cauquil, L., Bouchez, O., Fortun-Lamothe, L. 2014. Coprophagous behavior of rabbit pups affects implantation of cecal microbiota and health status. *J. Anim. Sci.* 92: 652-665.
- de Blas, J.C., Pérez, E., Fraga, M.J., Rodríguez, M., Gálvez, J.F. 1981. Effect of diet on feed intake and growth of rabbits from weaning to slaughter at different ages and weights. *J. Anim. Sci.*, 52, 1225-1232.
- de Blas, J. C., Santoma, G., Carabano, R., Fraga, J. M. 1986. Fibre and starch levels in fattening rabbit diets. *J. Anim. Sci.*, 63, 1897 – 1904.
- de Blas, J.C., Wiseman, J., Fraga, M.J., Villamide, M.J., 1992. Prediction of the digestible energy and digestibility of gross energy of feeds for rabbits. 2. Mixed diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 39, 39–59.
- de Blas, J.C., Taboada, E., Nicodemus, N., Campos, R., Piquer, J., Méndez, J. 1998. Performance response of lactating and growing rabbits to dietary threonine content. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 70, 151-160.
- de Blas, J.C., García, J., Carabaño, R. 1999. Role of fibre in rabbit diets. A review. *Ann. Zootech.*, 48, 3-13.
- de Blas, J. C., Mateos, G. G. 2010. Feed formulation. In: *The Nutrition of the Rabbit. 2nd ed.*, de Blas, C., Wiseman, J. (ed). *CABI International, Wallingford, UK*, 222-232.
- de Blas J.C., Chamorro S., García-Alonso J., García-Rebollar P., García-Ruiz A.I., Gómez-Conde M.S., Menoyo D., Nicodemus N., Romero C., Carabaño R. 2012. Nutritional digestive disturbances in weaner rabbits. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 173:102 – 110.
- Debray, L., Fortun-Lamothe, L. Gidenne, T. 2002. Influence of low dietary starch/fibre ratio around weaning on intake behaviour, performance and health status of young and rabbit does. *Anim. Res.*, 51, 63-75.

- Debray, L., Le Huërou-Luron, I., Gidenne, T., Fortun-Lamothe, L. 2003. Digestive tract development in rabbit according to the dietary energetic source: correlation between whole tract digestion, pancreatic and intestinal enzyme activities. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 135, 443-455.
- Dojana, N., Costache, M., Dinischiotu, A. 1998. The activity of some digestive enzymes in domestic rabbits before and after weaning. *Anim. Sci.*, 66,501-507.
- EC Council. 2003. Regulation (EC) of the European Parliament and of the Council on additives for use in animal nutrition. *No. 1831/2003/EC, 22 September 2003. Off. J. Eur. Comm., 18 October 2003, L 268, 29-43.*
- Emaldi, O., Crociani, F., Matteuzi, D., Proto, V. 1979. A note on the total viable counts and selective enumeration of anaerobic bacteria in the caecal content, soft, and hard faeces of rabbit. *J. Appl. Bacteriol.*, 46, 169-172.
- Erbaş, M., Certel, M., Uslu, M. K. (2005). Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.). *Food Chem.*, 89, 341–345.
- Fekete, S., Gippert, T., 1986. Digestibility and nutritive value of nineteen important feedstuffs for rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.* 9, 103–108.
- Fernández-Carmona, J., Cervera, C., Blas, E. 1983. Utilización de piensos extrusionados en el destete de gazapos. *In Proc.: IX Symposium de Cunicultura, ASESCU, 1983, Granollers, Espanole, 55-57.*
- Fernández-Carmona, J., Pascual, J.J., Cervera C. 2000. The use of fats in rabbit diets. *World Rabbit Sci.*, 8, suppl. 1., 29-59.
- Flickinger, E.A., Van Loo, J., Fahey, G.C., 2003. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals. A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 43, 19-60.
- Forsythe, S.J., Parker, D.S. 1985. Nitrogen metabolism by the microbial flora of the rabbit caecum. *J. Appl. Bacteriol.*, 363 – 369.
- Forsythe, S. J., Parker, D. S. 1985. Ammonia nitrogen turnover in the rabbit ceacum and exchange with plasma urea. *Br. J. Nutr.*, 54, 285-292.
- Fortun-Lamothe, L., Lebas, F. 1996. Effects of dietary energy level and source on foetal development and energy balance in concurrently pregnant and lactating primiparous rabbit does. *Anim. Sci.*, 62, 615-620.
- Fraga, M. J. 1998. Protein digestion. *In: de Blas, J.C., Wiseman, J. (ed.). The Nutrition of the Rabbit, CAB Int., Wallingford, 39 – 54.*

- Gallois, M., Le Huërrou-Luron, I., Fortun-Lamothe, L., Lallès, J.P., Gidenne, T., 2008a. Adaptability of the digestive function according to age at weaning in the rabbit: I. Effect on feed intake and digestive functionality. *Animal*, 2, 525-535.
- Gallois, M., Fortun-Lamothe, L., Michelan, A., Gidenne, T. 2008b. Adaptability of the digestive function according to age at weaning in the rabbit: II. Effect on nutrient digestion in the small intestine and in the whole digestive tract. *Animal*, 2, 536-547.
- García, J., Villamide, M.J., de Blas, J.C. 1996. Energy, protein and fibre digestibility of sunflower hulls, olive leaves and NaOHTreated barley straw for rabbits. *World Rabbit Sci.*, 4: 205-209.
- García, J., Villamide, M.J., de Blas, J.C. 1997. Energy, protein and fibre digestibility of soya bean hulls for rabbits. *World Rabbit Sci.*, 5: 111-113.
- García, J., Carabaño, R., de Blas, J.C. 1999. Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits. *J. Anim. Sci.*, 77, 898-905.
- García, J., Gidenne, T., Falcao e Cunha, L., de Blas, J.C. 2002. Identification of the main factors that influence caecal fermentation traits in growing rabbits. *Anim. Res.*, 51, 165-173.
- García-Palomares, J., Carabaño, R., García-Rebollar, P., de Blas, J. C., Corujo, A., García-Ruiz, A. I., 2006. Effects of a dietary protein reduction and enzyme supplementation on growth performance in the fattening period. *World Rabbit Sci.*, 14, 231-236.
- García-Ruiz, A.I., García-Palomares, J., García-Rebollar, P., Chamorro, S., Carabaño, R., de Blas, J.C., 2006. Effect of protein source and enzyme supplementation on ileal protein digestibility and fattening performance in rabbits. *Span. J. Agric. Res.* 4, 297-303.
- García-Ximanez, F., Vicente, J.S. 1990. Effect of PMSG treatment to mating interval on the superovulatory response of primiparous rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.*, 13, 71-73.
- Garrido, S., Nicodemus, N., García, J., Chamorro, S., de Blas, J.C. 2009. Effect of breeding system and farm hygiene on performances of growing rabbits and lactating does over two reproductive cycles. *World Rabbit Sci.*, 17, 71-78.
- Gdala, J. 1998. Composition, properties, and nutritive value of dietary fibre of legume seeds. A review. *J. Anim. Feed Sci.*, 7, 131-149.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 125, 1401-1412.
- Gidenne, T. 1994. Estimation of volatile fatty acids and of their energetic supply in the rabbit caecum: Effect of the dietary fibre level. In *Proc. : 6èmes Journées de la Recherche Cunicole, 1994, ITAVI, Paris, France, 293-299.*

- Gidenne, T., Perez, J.M. 1994. Apports de lignines et alimentation du lapin en croissance. I. Conséquences sur la digestion et le transit. *Ann. Zootech.*, 43, 313-322.
- Gidenne, T., Perez, J.M. 1996. Dietary cellulose for the growing rabbit. I. Consequences on digestion and rate of passage. *Ann. Zootech.*, 45, 289-298.
- Gidenne, T. 1997. Caeco – colic digestion in the growing rabbit: Impact of nutritional factors and related disturbances. *Livest. Prod. Sci.*, 51, 73 – 88.
- Gidenne, T. 2000. Recent advances in rabbit nutrition: Emphasis on fibre requirements. A review. *World Rabbit Sci.*, 1, 23-32.
- Gidenne, T., Bellier, R. 2000. Use of digestible fibre in replacement to available carbohydrates. Effect on digestion, rate of passage and caecal fermentation pattern during the growth of the rabbit. *Livest. Prod. Sci.*, 63, 141 – 152.
- Gidenne, T., Perez, J.M. 2000. Replacement of digestible fibre by starch in the diet of the growing rabbit. 1. Effects on digestion, rate of passage and retention of nutrients. *Ann. Zootech.*, 49, 357-368.
- Gidenne, T., Pinheiro, V., Falcao, E., Cunha, E. 2000. A comprehensive approach of the rabbit digestion : consequences of a reduction in dietary fibre supply. *Livest. Prod. Sci.*, 64, 225-237.
- Gidenne, T., Arveux, P., Madec, O. 2001. The effect of the quality of dietary lignocellulose on digestion, zootechnical performance and health of the growing rabbit. *Anim. Sci.*, 73, 97-104.
- Gidenne, T., Jehl, N., Segura, M., Michalet-Doreau, B. 2002. Microbial activity in the caecum of the rabbit around weaning: impact of a dietary fibre deficiency and of intake level. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 99, 107-118.
- Gidenne, T. 2003. Fibre in rabbit feeding for digestive troubles prevention: respective role of low-digested and digestible fibre. *Livest. Prod. Sci.*, 81, 105-117.
- Gidenne, T., Fortun-Lamothe, L., Lapanouse, A. 2003a. Comportement alimentaire du lapereau sevré précocement: Effet du diamètre du granulé. *In Proc.: 10èmes Journées de la Recherche Cunicole, 19-20 November, 2003, Le Mans, ITAVI, Paris, France, 17-19.*
- Gidenne, T., Feugier, A., Jehl, N., Arveux, P., Boisot, P., Briens, C., Corrent, E., Fortune, H., Montessuy, S., Verdelhan, S. 2003b. Un rationnement alimentaire quantitatif post-sevrage permet de réduire la fréquence des diarrhées, sans dégradation importante des performances de croissance: résultats d'une étude multi-site. *In Proc. : 10èmes Journées*

- de la Recherche Cunicole, 19-20 November, 2003. Le Mans, ITAVI, Paris, France, 29-32.*
- Gidenne, T., Jehl, N., Lapanouse A., Segura, M. 2004a. Inter-relationship of microbial activity, digestion and gut health in the rabbit: effect of substituting fibre by starch in diets having a high proportion of rapidly fermentable polysaccharides. *Brit. J. Nutr.*, 92, 95-104.
- Gidenne, T., Mirabito, L., Jehl, N., Perez, J.M., Arveux, P., Bourdillon, A., Briens, C., Duperray, J., Corrent, E. 2004b. Impact of replacing starch by digestible fibre, at two levels of lignocellulose, on digestion, growth and digestive health of the rabbit. *Anim. Sci.*, 78, 389-398.
- Gidenne, T Licois, D 2005. Effect of a high fibre intake on the resistance of the growing rabbit to an experimental inoculation with an enteropathogenic strain of *Escherichia coli*. *Anim. Sci.*, 80, 281-288.
- Gidenne, T., Jehl, N., Perez, J.M., Arveux, P., Bourdillon, A., Mousset, J.L., Duperray, J., Stephan, S., Lamboley, B., 2005. Effect of cereal sources and processing in diets for the growing rabbit. II. Effects on performances and mortality by enteropathy. *Anim. Res.*, 54, 65-72.
- Gidenne, T., García, J. 2006. Nutritional strategies improving the digestive health of the weaned rabbit. In : Maertens, L., Coudert, P. (ed.). *Recent advances in rabbit sciences, ILVO, Merelbeke, Belgium, 211-227.*
- Gidenne T., Aymard P., Bannelier C., Combes S., Lamothe L. 2009a. Interaction entre la stratégie de restriction et la concentration énergétique de l'aliment: impact sur la croissance et la santé du lapin. Premiers résultats. In Proc. : *13èmes Journées de la Recherche Cunicole, 17-18 Novembre, 2009. Le Mans, France, 63-66.*
- Gidenne, T., Combes, S., Feugier, A., Jehl, N., Arveux, P., Boisot, P., Briens, C., Corrent, E., Fortune, H., Montessuy, S., Verdelhan, S. 2009b. Feed restriction strategy in the growing rabbit. 2. Impact on digestive health, growth and carcass characteristics. *Animal*, 3: 509-515.
- Gidenne, T., Carabaño, R., García, J., de Blas, J. C. 2010. Fibre digestion. In: *The Nutrition of the Rabbit. 2nd ed., de Blas, C., Wiseman, J. (ed). CABI International, Wallingford, UK, 66-82.*
- Gidenne, T., García, J., Lebas, F., Licois, D. 2010. Nutrition and feeding strategy : Interactions with pathology. In: *The Nutrition of the Rabbit. 2nd ed., de Blas, C., Wiseman, J. (ed). CABI International, Wallingford, UK, 179-199.*

- Gidenne T., Combes S., Fortun-Lamothe L. 2012. Feed intake limitation strategies for the growing rabbit: effect on feeding behaviour, welfare, performance, digestive physiology and health: a review. *Animal*, 6: 1407 – 1419.
- Gidenne, T., Combes, S., Fortun-Lamothe, L. 2013a. Protein replacement by digestible fibre in the diet of growing rabbits. 1. Impact on digestive balance, nitrogen excretion and microbial activity. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 183, 132-141.
- Gidenne, T., Kerdiles, V., Jehl, N., Arveux, P., Eckenfelder, B., Briens, C., Stephan, S., Fortune, H., Montessuy, S., Muraz, G. 2013b. Protein replacement by digestible fibre in the diet of growing rabbits. 2. Impact on performance, digestive health and nitrogen output. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 183, 142-150.
- Gidenne, T. 2015. Dietary fibres in the nutrition of the growing rabbit and recommendations to preserve digestive health : A review. *Animal*, 9, 227-242.
- Gómez-Conde, M. S., García, J., Chamorro, S., Eiras, P., Rebollar, P. G., Pérez de Rozas, A., Badiola, I., de blas, C., Carabaño, R. 2007. Neutral detergent-soluble fiber improves gut barrier function in twenty-five-day-old weaned rabbits. *J. Anim. Sci.*, 85, 3313-3321.
- Gómez-Conde, M. S., Pérez de Rozas, A., Badiola, I., Pérez-Alba, L., de Blas, C., Carabaño, R., García, J. 2009. Effect of neutral detergent soluble fibre on digestion, intestinal microbiota and performance in twenty five day old weaned rabbits. *Livest. Sci.*, 125, 192-198.
- Gouet, P., Fonty, G. 1973. Evolution de la microflore digestive du lapin holoxenique de la naissance an sevrage. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 13, 733 – 735.
- Gutiérrez, I., Espinosa, A., García, J., Carabaño, R., de Blas, J. C. 2002. Effect of levels of starch, fiber, and lactose on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *J. Anim. Sci.*, 80, 1029-1037.
- Gutiérrez, I., Espinosa, A., García, J., Carabaño, R., de Blas, J.C., 2003. Effect of protein source on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *Anim. Res.* 52, 461–471.
- Haffar, A., Laval, A., Guillou, J. P. 1988. Entérotoxémie á *Clostridium spiriforme* chez des lapins adultes. *Le Point Vétérinaire*, 20, 99-102.
- Hall, M.B., Lewis, B. A., Van Soest, P. J., Chase, L. E. 1997. A simple method for estimation of neutral detergent-soluble fiber. *J. Sci. Food Agric.*, 74, 441-449.
- Hansen, H. O., Knudsen, J. 1987. Effect of exogenous longchain fatty acids on individual fatty acid synthesis by dispersed ruminant mammary gland cells. *J. Dairy Sci.*, 70,1350–1354.



- Harris, D.J., Cheeke, P.R., Patton, N.M. 1983. Feed preference and growth performance of rabbits fed pelleted versus unpelleted diets. *J. Appl. Rabbit Res.*, 6, 15-17.
- Henschel, M.J. 1972. The digestion and absorption of protein in the gut of the neonatal rabbit. *National Academic Awards*, 22, 205.
- Hopwood, D.E., Pethick, D.W., Hampson, D.J., 2002. Increasing the viscosity of the intestinal contents stimulates proliferation of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Brachyspira pilosicoli* in weaner pigs. *Brit. J. Nutr.*, 88, 523-532.
- Hoy, St., Matics, Zs. 2016. Alternative housing system for rabbit does. *In Proc.: 11<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 2016. Qingdao, China, 637-651.*
- Huneau-Salaün, A., Bougeard, S., Balaine, L., Eono, F., Le Bouquin, S., Chauvin, C., 2015. Husbandry factors and health conditions influencing the productivity of French rabbit farms. *World Rabbit Sci.*, 23, 27-37.
- Chamorro, S., Gomez Conde, M. S., Perez de Rozas, A. M., Badiola, I., Carabaño, R., de Blas, J. C. 2007. Effect on digestion and performance of dietary protein content and increased substitution of lucerne hay with soy-bean protein concentrate in starter diets for young rabbits. *Animal*, 1, 651-659.
- Cheeke, P. R., Patton, N. M. 1980. Carbohydrate-overload of the hindgut. A probable cause of enteritis. *J. Appl. Rabbit Res.*, 3, 20-23.
- Chiofalo, B., Lo Presti, V., Chiofalo, V., Gresta, F. 2012. The productive traits, fatty acid profile and nutritional indices of three lupin (*Lupinus* spp.) species cultivated in a Mediterranean environment for the livestock. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 171, 230 – 239.
- Jehl, N., Gidenne, T. 1996. Replacement of starch by digestible fibre in feed for the growing rabbit. 2. Consequences for microbial activity in the caecum and on incidence of digestive disorders. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 61, 193-204.
- Jensen, E.S., Hauggaard-Nielsen, H. 2003. How can increased use of biological N<sub>2</sub> fixation in agriculture benefit the environment? *Plant Soil*, 252, 177-186.
- Keelan, M., Walker, K., Thompson, A.B.R. 1985. Intestinal morphology, marker enzymes and lipid content of brush border membranes from rabbit jejunum and ileum: effect of aging. *Mech. Ageing. Dev.*, 31, 49-68.
- Kelly, J.D., Cheeke, P.R., Patton, N.M., 1990. Evaluation of lupin (*Lupinus albus*) seed as a feedstuff for swine and rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.* 13, 145–150.
- Knudsen, C., Combes, S., Briens, C., Coutelet G., Duperray, J., Rebours, G., Salaun, J-M., Travel, A., Weissman, D., Gidenne, T. 2014. Increasing the digestible energy intake

- under a restriction strategy improves the feed conversion ratio of the growing rabbit without negatively impacting the health status. *Livest. Sci.*, 169 : 96-105.
- Knudsen, C., Combes, S., Briens, C., Duperray, J., Rebours, G., Salaun, J-M., Travel, A., Weissman, D., Gidenne, T. 2015. Quantitative feed restriction rather than caloric restriction modulates the immune response of growing rabbits. *J. Nutr.*, 145:483-489.
- Laudadio, V., Tufarelli, V. 2011. Dehulled-micronised lupin (*Lupinus albus* L. cv. Multitalia) as the main protein source for broilers: influence on growth performance, carcass traits and meat fatty acid composition. *J. Sci. Food Agric.*, 91, 2081-2087.
- Lebas, F., Laplace, J. P. 1974. Note sur l'excretion fécale chez le lapins. *Ann. Zootech.*, 23, 577-581.
- Lebas, F., Fortun-Lamothe, L., 1996. Effects of dietary energy level and origin (starch vs oil) on performance of rabbits does and their litters: Average situation after 4 weanings. *In Proc.: 6<sup>th</sup> World Rabbit Congr., Toulouse, 1, 217-221.*
- Lebas, F., Theau-Clément, M., Remy, B., Drion, P., Beckers, J.F. 1996. Production of anti-PMSG antibodies and its relation to the productivity of rabbit does. *World Rabbit Sci.*, 4, 57-62.
- Lebas, F., 2009. Rabbit production in the World, with a special reference to Western Europe. Quantitative estimation and Methods of production. <http://www.researchgate.net/>.
- Le Bouquin, S., Rouxel, G., Mihoc, E., Chauveau, V., Terrade, F., Chauvin, C. 2013. Facteurs humains et usages des antibiotiques en filière cunicole: étude de quelques déterminants psychologiques. *In Proc.: 15<sup>èmes</sup> Journées de la Recherche Cunicole, 19-20 Novembre, 2013. Le Mans, France, 115-119.*
- Maertens, L. 1994. *Influence du diamètre du granulé sur les performances des lapereaux avant et après sevrage. In Proc.: 6<sup>èmes</sup> Journées de la Recherche Cunicole, Vol. 2 ITAVI, 1994, Paris, France, 325-332.*
- Maertens, L., Luzi, F. 1995. The effect of extrusion in diets with different starch levels on the performance and digestibility of young rabbits. *In. 9. Arbeitstagung über Haltung und Krankheiten der Kaninchen, Pelztier und Heimtiere. Celle. Deutsche Vet. Medizinische Gesellschaft e.V., Giessen, 131-138.*
- Maertens, L., Luzi, F., De Groote, G. 1997. Effect of dietary protein and amino acids on the performance, carcass composition and N-excretion of growing rabbits. *Ann. Zootech.*, 46, 255-268.

- Maertens, L., Aerts, J.M., De Boever, J., 2004. Degradation of dietary oligofructose and inulin in the gastro-intestinal tract of the rabbit and the effects on caecal pH and volatile fatty acids. *World Rabbit Sci.*, 12, 235-246.
- Maertens, L., Cavani, C., Petracci, M. 2005a. Nitrogen and phosphorus excretion on commercial rabbit farms: calculations based on the input output balance. *World Rabbit Sci.*, 13, 3-16.
- Maertens, L., J. M. Aerts, and D. L. De Brabander. 2005b. Effet d'un aliment riche en acides gras omega-3 sur les performances et la composition du lait des lapines et la viabilité de leur descendance. (In French.) *In: Proc. 11èmes Journ. Rech. Cunicole, 11 Days of Rabbit Production Science, Paris, France, p. 205–208.*
- Maertens, L., Lebas, F., Szendrő, Zs. 2006. Rabbit milk: A review of quantity, quality and non-dietary affecting factors. *World Rabbit Sci.*, 14, 205-230.
- Maertens, L. 2007. Strategies for the reduction of antibiotic utilization during rearing. *In Proc.: Giornate di Coniglicoltura ASIC 2007, 26-27 September, Fiera di Forlì, Italy, 1-11.*
- Maertens, L. 2009. Possibilities to reduce the feed conversion in rabbit production. *In Proc.: Giornate di Coniglicoltura ASIC 2009, 2-3 April, Fiera di Forlì, Italy, 1-10.*
- Maertens, L. 2010. Feeding system for intensive production. *In: The Nutrition of the Rabbit. 2<sup>nd</sup> ed., De Blas, C., Wiseman, J. (ed). CABI International, Wallingford, UK, 253-266.*
- Maertens, L., Gidenne, T. 2016. Feed efficiency in rabbit production: Nutritional, technico-economical and environmental aspects. *In Proc.: 11<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 2016. Qingdao, China, 337-351.*
- Marounek, M., Vovk, S.J., Skřivanová, V. 1995. Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. *Br. J. Nutr.*, 73, 463 – 469.
- Martínez-Villaluenga, C., Frías, J., Vidal-Valverde, C., Gómez, R., 2005. Raffinose family of oligosaccharides from lupin seeds as prebiotics: application in dairy products. *J. Food Protect.* 68, 1246–1252.
- Martínez-Villaluenga, C., Gómez, R., 2007. Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. *Int. Dairy J.* 17, 116–122.
- Marty, J., Vernay, M. 1984. Absorption and metabolism of the volatile fatty acids in the hindgut of the rabbit. *Br. J. Nutr.*, 51, 265 – 277.

- Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85, 1217–1240.
- Mieczkowska, A., Jansman, A.J.M., Kwakkel, R.P., Smulikowska, S. 2005. Effect of dehulling and  $\alpha$ -galactosidase supplement on the ileal digestibility of yellow lupin based diets in broiler chickens and adult roosters. *J. Anim. Feed Sci.*, 14, 297-304.
- Morisse, J.P., Maurice, R., Boilletot, E., Cotte, J.P., 1993. Assessment of the activity of fructooligosaccharide on different cecal parameters in rabbits experimentally infected with *Escherichia coli* O.103. *Ann. Zootech.*, 42, 81-87.
- Nalle, C.L., Ravindran, G., Ravindran, V. 2010. Influence of dehulling on the apparent metabolisable energy and ileal amino acid digestibility of grain legumes for broilers. *J. Sci. Food Agr.*, 90, 1227-1231.
- Nicodemus, N., García, J., Carabaño, R., de Blas, J.C. 2002. Effect of inclusion of sunflower hulls in the diet on performance, disaccharidase activity in the small intestine and caecal traits of growing rabbits. *Anim. Sci.*, 75, 237-243.
- Ouhayoun, J., Lebas, F., Delmas, D. 1986. The effects of feeding regimes on growth and carcass quality in rabbit. *Cuni-Sciences*, 3: 7-21.
- Orengo, O., Gidenne, T. 2007. Feeding behaviour and caecotrophy in the young rabbit before weaning: An approach by analysing the digestive contents. *Appl. Animal Behaviour Sci.*, 102, 106-118.
- Parigi-Bini, R., Xiccato, G., Cinetto, M., Dalle Zotte, A. 1992. Energy and protein utilization and partition in rabbit does concurrently pregnant and lactating. *Anim. Prod.*, 55. 153-162.
- Padilha, M.T.S., Licois, D., Gidenne, T., Carré, B., Fonty, G. 1995. Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Reprod. Nutr. Develop.* 35, 378 – 386.
- Padilha, M.T.S., Licois, D., Gidenne, T., Carré, B., Condert, P., Lebas, F. 1996. Caecal microflora and fermentation pattern in exclusively milk – fed young rabbits. *In Proc.: 6<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 1996, Lempdes, France, 247 – 251.*
- Pascual, M., Soler, M. D., Cervera, C., Pla, M., Pascual, J. J., Blas, E. 2014. Feeding programmes based on highly-digestible fibre weaning diets: Effects on health, growth performance and carcass and meat quality in rabbits. *Livest. Sci.*, 169, 88-95.
- Pascual, J.J., Cervera, C., Blas, E., Fernández-Carmona, J. 2003. High-energy diets for reproductive rabbit does: Effect of energy source. *Nutr. Abstr. Rev.*, 73, 27R-39R.

- Perez, J. M., Gidenne, T., Lebas, F., Caudron, I., Arveux, P., Bourdillon, A., Duperray, J., Messenger, B. 1994. Dietary lignins in growing rabbits. 2. Consequences on growth performances and mortality. *Ann. Zootech.*, 43, 323-332.
- Perez, J.M., Gidenne, T., Bouvarel, I., Arveux, P., Bourdillon, A., Briens, C., Le Naour, J., Messenger, B., Mirabito, L. 1996. Dietary cellulose for the growing rabbit. II. Consequences on performances and mortality. *Ann. Zootech.*, 45, 299-309.
- Perez, J.M., Gidenne, T., Bouvarel, I., Arveux, P., Bourdillon, A., Briens, CH., Le Naour, J., Messenger, B. 2000. Replacement of digestible fibre by starch in the diet of the growing rabbit. 2. Effects on performances and mortality by diarrhoea. *Ann. Zootech.*, 49, 369-377.
- Pickard, D. W., Stevens, C. E. 1972. Digesta flow through the rabbit large intestine. *Am. J. Physiol.*, 222, 1161-1166.
- Písaříková, B., Zralý, Z. 2009. Nutritional value of lupine in the diets for pigs (a Review). *Acta Vet. Brno*, 78: 399-409.
- Ponnampalam, E.N., Sinclair, A.J., Hosking, B.J., Egan, A.R. 2002. Effects of dietary lipid type on muscle fatty acid composition, carcass leanness, and meat toughness in lambs. *J. Anim. Sci.*, 80: 628-636.
- Ponnampalam, E.N., Hosking, B.J., Egan, A.R. 2003. Rate of carcass components gain, carcass characteristics, and muscle longissimus tenderness in lambs fed dietary protein sources with a low quality roughage diet. *Meat Sci.*, 63: 143- 149.
- Portsmouth, J.I. 1977. The nutrition of the rabbits. In: *Haresign, W., Swan, H., Lewis, D. (ed.). Nutrition and Climatic Environment. Butterworths, London, UK, 93-11.*
- Rees Davies, R., Rees Davies, J.A.E. 2003. Rabbit gastrointestinal physiology. *Vet. Clin. Exot. Anim.*, 6, 139-153.
- Rerat, A. 1978. Digestion and absorption of carbohydrates and nitrogenous matters in the hindgut of the omnivorous nonruminant animal. *J. Anim. Sci.*, 46, 1808-1837.
- Robertson, J.B., Van Soest, P.J., 1981. The detergent system of analysis. In: *James, W.P.T., Theander, O. (ed.). The Analysis of Dietary Fibre in Food. Marcel Dekker, NY, pp. 123-158.*
- Rockebush, Y., Hörnicke, H. 1977. Motility of the rabbit's colon and caecotrophy. *Physiology and Behaviour*, 18, 871-878.
- Rosell, J.M. 2003. Health status of commercial rabbitries in the Iberian peninsula. A practitioner's study. *World Rabbit Sci.*, 11: 157-169.

- Rosell, J.M., de la Fuente, L.F., Badiola, J.I., Fernández de Luco, D., Casal, J., Saco, M. 2009. Study of urgent visits to commercial rabbit farms in Spain and Portugal during 1997-2007. *World Rabbit Sci.*, 17: 127-136.
- Scapinello, C., Gidenne, T., Fortun-Lamothe, L. 1999. Digestive intake capacity of the rabbit during the post-weaning period, according to the milk/solid intake pattern before weaning. *Reprod. Nutrit. Develop.*, 39, 423-432.
- Schlolaut, W. 1995. Das große Buch vom Kaninchen. *DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany*, 219-226.
- Shi, D., Savietto, D., Prigent, A. Y., Gidenne, T., Colin, M., Combes, S., Zemb, O., Fortun-Lamothe, L. 2016. Interest and limits of adding exogenous hard feces in the nest box on the rabbit performances and health before and after weaning. *In Proc.: 11<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 2016, Qingdao, China*, 583-586.
- Smulikowska, S., Wasilewko, J., Mieczkowska, A. 1995. A note on the chemical composition of the cotyledons and seed coat of three species of sweet lupin. *J. Anim. Feed Sci.*, 4, 69-76.
- Szendrő, Zs., Dalle Zotte, A. 2011. Effect of housing conditions on production and behaviour of growing meat rabbits. A review. *Livest. Sci.* 137: 296-303.
- Szendrő, Zs., McNitt, J.J. 2012. Housing of rabbit does: Group and individual system: A review. *Livestock. Sci.* 150: 1-10.
- Szendrő, Zs., Szendrő, K., Dalle Zotte, A. 2012. Management of Reproduction on small, medium and large rabbit farms: A review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 25, 738-748.
- Szendrő, Zs., McNitt, J.J., Matics, Zs., Mikó, A., Gerencsér, Zs. 2016. Alternative and enriched housing systems for breeding does: A review. *World Rabbit Sci.*, 24, 1-14.
- Tazzoli, M., Carraro, L., Trocino, A., Majolini, D., Xiccato, G. 2009. Replacing starch with digestible fibre in growing rabbit feeding. *Italian J. Anim. Sci.*, 8 (suppl. 3), 148-250.
- Tazzoli, M., Birolo, M., Filiou, E., Trocino, A., Zuffellato, A., Xiccato, G. 2013. Increasing dietary energy with starch and soluble fibre and reducing ADF at different protein levels for growing rabbits. *Agric. Conspec. Sci.*, 78, 235-239.
- Tazzoli, M., Trocino, A., Birolo, M., Radaelli, G., Xiccato, G. 2015. Optimizing feed efficiency and nitrogen excretion in growing rabbits by increasing dietary energy with high-starch, high-soluble fibre, low-insoluble fibre supply at low protein levels. *Livest. Sci.*, 172, 59-68.
- Theau-Clément, M., Boiti, C. 1998. “Biostimulation methods” for breeding rabbit does: Synthesis of the first results. *World rabbit Sci.*, 6, 205-208.

- Theau-Clément, M., Castellini, C., Maertens, L., Boiti, C. 1998. Biostimulations applied to rabbit reproduction: Theory and practice. *World rabbit Sci.*, 6, 179-184.
- Theau-Clément, M. 2007. Preparation of the rabbit doe to insemination. A review. *World Rabbit Sci.*, 15, 61-80.
- Theau-Clément, M., Lebas, F., Beckers, J.F., Drion, P.V. 2008. Evolution of anti-eCG antibodies in response to eCG doses and number of injections. Relationship with productivity of rabbit does. *Animal*, 2, 746-751.
- Trocino, A., Fragkiadakis, M., Radaelli, G., Xiccato, G. 2010. Effect of dietary soluble fibre level and protein source on growth, digestion, caecal activity and health of fattening rabbits. *World Rabbit Sci.*, 18, 199-210.
- Trocino, A., Fragkiadakis, M., Majolini, D., Carabaño, R., Xiccato, G. 2011. Effect of the increase of dietary starch and soluble fibre on digestive efficiency and growth performance of meat rabbits. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 165, 265-277.
- Trocino, A., García, J., Carabaño, R., Xiccato, G. 2013a. A meta-analysis of the role of soluble fibre in diets for growing rabbits. *World Rabbit Sci.*, 21, 1-15.
- Trocino, A., Fragkiadakis, M., Majolini, D., Tazzoli, M., Radaelli, G., Xiccato, G. 2013b. Soluble fibre, starch and protein level in diets for growing rabbits: Effects on digestive efficiency and productive traits. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 180, 73-82.
- Trocino, A., Filiou, E., Tazzoli, M., Birolo, M., Zuffellato, A., Xiccato, G. 2015. Effects of floor type, stocking density, slaughter age and gender on productive and qualitative traits of rabbits reared in collective pens. *Animal*, 9, 855-861.
- Uhlířová, L., Volek, Z., Marounek, M., Tůmová, E. 2015. Effect of feed restriction and different crude protein sources on the performance, health status and carcass traits of growing rabbits. *World Rabbit Sci.*, 23, 263-272.
- Ulbricht, T. L. V., Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*, 338(8773), 985-992.
- Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M., Toker, C. (2007). Fat and fattyacids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.). *Food Chem.*, 102, 45-49.
- Van Barneveld, R.J., 1999. Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus* spp.) seed to improve livestock production efficiency. *Nutr. Res. Rev.* 12, 203-230.
- Vernay, M., Raynaud, P. 1975. Répartition des acides gras volatils dans le tube digestif du lapin domestique. II Lapin soumis au jeûne. *Ann. Rech. Vet.*, 6, 369-377.

- Villamide, M. J., Nicodemus, N. Fraga, M. J., Carabaño, R. 2010. Protein digestion. *In: de Blas, J.C., Wiseman, J. editors, Nutrition of the rabbit. 2nd ed. CAB International, Wallingford, UK. p. 39–55.*
- Volek, Z., 2015, Základy faremního chovu brojlerových králiků. *Vědecká monografie. 1. vydání, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Praha, 111 stran, ISBN: 978 – 80 – 7394 – 506 – 0.*
- Volek, Z., Uhlířová, L., Marounek, M., Tůmová, E., Zita, L. 2016. The effect of dried chicory root added to the restrictive feed ration of rabbits on health status, performance and caecal and carcass traits. *In Proc.: 11<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 2016, Qingdao, China, 467-470.*
- White, C. L., Staines, V. E., Staines, M. vH. 2007. A review of the nutritional value of lupins for dairy cows. *Aust. J. Agric. Res.* 58:185–202.
- Williams, C. M. 2000. Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.*, 49, 165–180.
- Xiccato, G., Trocino, A., Sartori, A., Queaque, P.I., 2002. Effect of dietary starch level and source on performance, caecal fermentation and meat quality in growing rabbits. *World Rabbit Sci.*, 10, 147-157.
- Xiccato, G., Trocino, A., Sartori, A., Queaque, P.I. 2004. Effect of parity order and litter weaning age on the performance and body energy balance of rabbit does. *Livest. Prod. Sci.*, 85, 239–251.
- Xiccato, G., Trocino, A., Boiti, C., Brecchia, G. 2005. Reproductive rhythm and litter weaning age as they affect rabbit doe performance and body energy balance. *Anim. Sci.*, 81, 289-296.
- Xiccato, G. 2010. Fat digestion. *In: de Blas, J. C., Wiseman, J. editors, Nutrition of the rabbit. 2nd ed. CAB International, Wallingford, UK. p. 56–65.*
- Xiccato, G., Trocino, A. 2010. Energy and protein metabolism and requirements. *In: de Blas, J.C., Wiseman, J. editors, Nutrition of the rabbit. 2nd ed. CAB International, Wallingford, UK. p. 83–118.*
- Xiccato, G., Trocino, A., Majolini, D., Fragkiadakis, M., Tazzoli, M. 2011. Effect of decreasing dietary protein level and replacing starch with soluble fibre on digestive physiology and performance of growing rabbits. *Animal*, 5, 1179-1187.
- Yoshida, T., Pleasants, J. R., Reddy, B. S., Wostmann, B. S. 1972. The pH values and nitrogen fractionations of cecal contents and feces of germfree and conventional rabbits. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 43, 284-289.