

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH
ZDROJŮ

KATEDRA MIKROBIOLOGIE, VÝŽIVY A DIETETIKY



**Přídavek ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*) na
jaterní metabolismus a kvalitu spermatu u hřebců**

The addition of ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*) on
hepatic metabolism and semen quality in stallions

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce: Bc. Kateřina Řejhová

Vedoucí práce: doc. Ing. Boris Hučko, CSc.

©2013

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Příklad oostropěstřce mariánského (*Silybum marianum*) na jaterní metabolismus a kvalitu spermatu u hřebců vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne

Podpis autorky práce

Poděkování

Ráda bych tímto poděkoval MVDr. Vladimírovi Tluchořovi za konzultace a odborné rady a vedoucímu své diplomové práce doc. Ing. Borisovi Hučkovi, CSc. za umožnění pracovat na tématu Přídavek ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*) na jaterní metabolismus a kvalitu spermatu u hřebců a za ochotné poskytnutí rad, připomínek a informací k mé diplomové práci.

Souhrn

Inseminace má v reprodukci koní nezastupitelné místo a stává se stále populárnější. Může napomoci k vyhledávání reprodukčních problémů, které by jinak nebyly zjištěny a tím zabránit špatným reprodukčním výsledkům. Dává chovatelům možnost efektivnějšího využití starších cenných hřebců či připuštění klisny v neoptimálnějších časech. I to je důvodem proč se chovatelé snaží najít co nejúčinnější krmné doplňky, které budou mít vliv nejen na sportovní výkonnost, ale u plemenných hřebců i na kvalitu spermatu.

Silyfeed - L je krmný doplněk podávaný za účelem podpory regenerace jaterního parenchymu koní a omezování oxidativního stresu. Hlavní podíl tvoří expeler ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*), který obsahuje směs bioaktivních flavonolignanů z nichž nejvýznamnější je silybin. K posílení vlivu na tvorbu svalové hmoty je přidána nať parchy saflorové (*Leuzea carthamoides*), která má anabolické účinky. Je proto vhodným krmným doplňkem pro koně ve vysoké zátěži nebo jedince v rekonvalescenci.

Pro ověření účinnosti krmného přídatku Silyfeed - L bylo provedeno hodnocení vlivu tohoto přídatku u skupiny drezurních a parkurových plemenných hřebců v Equinním reprodukčním centru v Mněticích. V průběhu šedesáti dnů podávání krmného doplňku bylo provedeno klinické vyšetření testovaných koní a celkem tři testovací odběry krve koní z pokusné a kontrolní skupiny, které byly podrobeny biochemickému a hematologickému vyšetření a stanovena úroveň parenchymatózních orgánů (jater) a dalších ukazatelů. Dále se provádělo laboratorní vyhodnocení spermatu pravidelně odebíraného za účelem inseminace.

Krmný doplněk Silyfeed - L prokázal hepatoprotektivní a regenerační účinky. To bylo prokázáno snížením některých hladin jaterních enzymů (AST, ALT, GMT, bilirubin) a dalších ukazatelů ovlivňujících jaterní metabolismus. Některé jaterní enzymy u koní mají také vliv na svalový metabolismus. Jejich pokles u skupiny pokusné vůči kontrolní prokazuje schopnost přípravku Silyfeed – L optimalizovat a regenerovat svalový metabolismus. Tyto účinky nemají vliv pouze na sportovní využití koní, ale úspěšně mohou být užívány i v reprodukci, kde je vyvíjen tlak nejen na výkonnost pohlavní soustavy koně, ale zejména u plemenných hřebců využívaných k pravidelné inseminaci, právě i na svalovou soustavu.

Z výsledků rozborů spermatu lze usoudit, že krmný doplněk Silyfeed – L má vliv na kvalitu spermatu hřebců. Ovlivnění jsme mohli pozorovat zejména u motility spermií.

Klíčová slova: Silyfeed, ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*), parcha saflorová (*Leuzea carthamoides*), expeler, kůň, játra, sperma.

Summary

Insemination has a stable place in equine reproduction and is becoming ever more popular. It can be helpful in discovering reproduction issues that would not be otherwise uncovered and that way it can prevent negative results of reproduction. It provides breeders the opportunity to use older valuable studs more effectively or to find the optimum time for breeding of the mare. All this leads breeders to search for the most effective feed supplements that influence not only the sport performance but also quality of sperm in breeding studs.

Silyfeed - L is a feed supplement used to support recovery of equine liver parenchyma and to reduce oxidative stress. The substance is based on the processed fruit of Milk thistle (*Silybum marianum*), which contains mix of bioactive flavonolignans, the most significant of which is Silybin. The tops of Maral root (*Leuzea carthamoides*) are added to support the increase in muscular tissue and have anabolic effects. Therefore it is a suitable feed supplements especially for horses with intensive physical strain and or those in convalescence period.

In order to verify the efficiency of Silyfeed – L its influence was evaluated on a group of dressage and show jumping stallions in the equine reproduction centre in Mnětice. During a 60 day period of application of the feed supplement there were clinical examinations of the tested horses as well as 3 blood samples in the testing and control group. These were subject to biochemical and haematological tests to set the level of parenchymatous organs (liver) and other indicators. Further laboratory evaluation was performed with periodically collected semen used for insemination.

The Silyfeed – L feed supplement showed hepatoprotective and regenerative effects. This was proved by a decrease in the levels of certain liver enzymes (AST, ALT, GGT, bilirubin) and other indicators influencing hepatic metabolism. Some liver enzymes in horses also affect muscular metabolism. Their decline in the experimental group to the control group demonstrates the ability of Silyfeed - L to optimize and regenerate muscle metabolism. These effects influence not only the sport use of horses, but can also be successfully used in reproduction, where the pressure is on performance of the horse's reproductive system, but also on the muscular system especially in stallions used for regular insemination.

The results of the semen analyses suggest that Silyfeed - L feed supplement has an impact on the quality of sperm of stallions. we saw this influence especially to affect the motility of sperm.

Keywords: Silyfeed, Milk thistle (*Silybum marianum*), Maral root (*Leuzea carthamoides*), expeller, horse, liver, sperm.

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce.....	2
3 Literární rešerše	3
3. 1 Ostropestřec mariánský	3
3. 1. 1 Historie.....	3
3. 1. 2 Popis.....	3
3. 1. 3 Sběr a úprava.....	4
3. 1. 4 Účinné látky a působení.....	4
3. 2 Parcha saflorová	6
3. 3 Organismus koně v zátěži	7
3. 3. 1 Trénink	7
3. 3. 2 Regenerace	7
3. 4 Fyziologie jater.....	8
3. 4. 1 Topografie enzymů v hepatocytu	9
3. 5 Sledované ukazatele	9
3. 5. 1 Jaterní enzymy	9
3. 5. 1. 1 AST – Asparátaminotransferáza	9
3. 5. 1. 2 ALT – Alaninaminotransferáza	10
3. 5. 1. 3 ALP – Alkalická fosfatáza.....	10
3. 5. 1. 4 GMT – Gama - glutamyltransferáza	10
3. 5. 1. 5 CK – Kreatinkináza	11
3. 5. 1. 6 LDH – Laktátdehydrogenáza	11
3. 5. 2 Další stanovené látky	11
3. 5. 2. 1 Žlučové kyseliny.....	11
3. 5. 2. 2 Cholesterol	11
3. 5. 2. 3 Bilirubin.....	12
3. 6 Samčí pohlavní soustava	13
3. 6. 1 Spermie	13
3. 6. 2 Hlavička	14
3. 6. 3 Akrozóm.....	14
3. 6. 4 Bičík.....	14
3. 6. 5 Plazmatická membrána	15
3. 6. 6 Ejakulát	15
3. 6. 6. 1 Semenná plazma	16
3. 6. 7 Kapacitace spermie	16
3. 7 Oxidativní stres	17
3. 7. 1 Volné radikály	18

3. 7. 2 Antioxidanty.....	18
3. 7. 2. 1 Enzymové antioxidanty	19
3. 7. 2. 2 Neenzymované antioxidanty.....	19
3. 7. 3 Oxidativní stres v reprodukci.....	19
4 Materiál a metody.....	21
4. 1 Charakteristika přípravku Silyfeed.....	21
4. 1. 1 Silyfeed L.....	21
4. 2 Metodika podávání přípravku silyfeed.....	22
4. 3 Odběr spermatu	24
4. 4 Metodika chemického rozboru krmiv	25
4. 4. 1 Stanovení sušiny	26
4. 4. 2 Stanovení popela.....	26
4. 4. 3 Stanovení tuku.....	26
4. 4. 4 Stanovení vlákniny.....	27
4. 4. 5 Stanovení dusíkatých látek.....	27
4. 4. 6 Stanovení BNLV	27
4. 5 Výpočty v programu Statistica	27
5 Výsledky.....	28
5. 1 Objektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L	28
5. 1. 1 Jaterní parenchym	28
5. 1. 2 Obecné ukazatele	31
5. 1. 3 Minerální látky	34
5. 1. 4 Hematologie	37
5. 2 Subjektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L.....	39
5. 3 Rozbor spermatu	39
5. 4 Chemický rozbor krmiv	41
6 Diskuze.....	42
6. 1 Objektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L	42
6. 1. 1 Jaterní parenchym	42
6. 2 Obecné ukazatele	44
6. 3 Minerální látky	44
6. 4 Hematologie	45
6. 5 Subjektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L.....	45
6. 6 Rozbor spermatu	46
7 Závěr.....	48
8 Použitá literatura.....	50
9 Seznam použitých zkratk.....	56

Seznam příloh

Příloha 1 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr, skupina pokusná (P), 1. část	I
Příloha 2 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr, skupina pokusná (P), 2. část	II
Příloha 3 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr, kontrolní skupina (K), 1. část	III
Příloha 4 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr, kontrolní skupina (K), 2. část	IV
Příloha 5 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr, skupina pokusná (P), 1. část	V
Příloha 6 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr, skupina pokusná (P), 2. část	VI
Příloha 7 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr, kontrolní skupina (K), 1. část ..	VII
Příloha 8 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr, kontrolní skupina (K), 2. část ..	VIII
Příloha 9 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr, skupina pokusná (P), 1. část	IX
Příloha 10 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr, skupina pokusná (P), 2. část	X
Příloha 11 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr, kontrolní skupina (K), 1. část ..	XI
Příloha 12 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr, kontrolní skupina (K), 2. část ..	XII
Příloha 13 Statistické zpracování biochemických a hematologických dat, 1. odběr	XIII
Příloha 14 Statistické zpracování biochemických a hematologických dat, 2. odběr	XV
Příloha 15 Statistické zpracování biochemických a hematologických dat, 3. odběr	XVII
Příloha 16 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, 1. odběr	XIX
Příloha 17 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, 2. odběr	XIX
Příloha 18 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, 3. odběr	XIX
Příloha 19 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, celé období	XX

1 Úvod

Stejně jako se lidé stále více zajímají o své potravní návyky, přestává jim být lhostejné, co krmí svým zvířatům. Kromě vyvážené krmné dávky složené z kvalitního objemového a jadrného krmiva, je na trhu velké množství krmných aditiv.

U koní ve vysoké zátěži se snažíme hledat krmný doplněk, který by našemu koni pomohl v rychlé regeneraci a obnovení tělesné rovnováhy. Kromě vysoké sportovní zátěže na koňský organismus stejně jako na organismus člověka působí také vliv životního prostředí, stres a mnoho dalších faktorů.

Jednou z možností, jak podpořit dobrý zdravotní stav koní, aniž by byly dopingem a stabilizovaly tak jejich výkonnostní aktivitu, jsou přírodní krmné přípravky, které mimo jiné podporují regeneraci jaterního parenchymu a kosterní svaloviny.

Vhodným doplňkem by mohl být ostropestřec mariánský, u kterého již byly prokázány hepatoprotektivní účinky. Působení na parenchymatózní orgány by mohlo pozitivně ovlivnit další činnosti organismu a mít vliv na jeho fyziologické pochody.

Mezi vysokou zátěž se kromě sportovních výkonů může řadit i každodenní odběr spermatu hřebcům v insemináčnických stanicích. Vzhledem k tomu, že se inseminace stala nejrozšířenějším způsobem zapouštění klisen, odběry spermatu hřebcům probíhají prakticky po celou sezónu. Odběry jsou prováděny na odběrných místech splňující náročné zooveterinární podmínky.

Inseminace má v reprodukci nezastupitelné místo. Může napomoci k vyhledávání reprodukčních problémů, které by jinak nebyly zjištěny a tím zabránit špatným reprodukčním výsledkům a ztrátě reputace hřebce a farmy. Dává chovatelům možnost připuštění abnormálních klisen, které nemohou být připuštěny normálně, možnost efektivnějšího využití starších cenných hřebců či připuštění klisny v neoptimálnějších časech.

Odběr spermatu nebo připouštění „na živo“ je pro hřebce vyčerpávající záležitost. Je kladen vysoký tlak na psychiku, svalovou a pohlavní soustavu koně. V případě, že se hřebci využívají k reprodukci každý den, je pro jejich celkový psychický stav, zdravotní stav a kvalitu spermatu zásadní vhodná péče (welfare) a především výživa. Kvalitními a vhodnými výživovými doplňky můžeme podpořit cílené orgány koně, ale i celkový zdravotní stav a psychiku.

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce jsou možnosti ovlivnění jaterního metabolismu a kvality spermatu u hřebců po podání přípravku z ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*) Silyfeed - L.

Hypotéza je založena na předpokladu, že přídavek Silyfeed – L ovlivní některé biochemické a hematologické ukazatele v krevní plazmě. Ovlivnění těchto ukazatelů bude mít dále vliv na jaterní parenchym (zlepší se hodnoty u jaterních enzymů a dalších ukazatelů stavu jater), motilitu, fertilitu, hustotu a objem spermatu u plemenných hřebců.

3 Literární rešerše

3. 1 Ostropestřec mariánský

3. 1. 1 Historie

Plody ostropestřce mariánského, jak udává Ramawat (2008), se používají k léčbě jaterních a žlučových chorob od starověku.

Už staří Římané ho používali na celou řadu onemocnění. Poprvé byl popsán Theophrastem ve 4. století před naším letopočtem pod názvem Pternix. Později v 1. století našeho letopočtu také Dioskuridem ve spise *Materia medica* a Pliniem ve spise *Historia naturalis*, přičemž oba autoři již tento rostlinný druh označují shodně názvem *Sillybum*. V průběhu staletí byl ostropestřec mariánský popisován ve všech významných herbářích léčivých rostlin jako rostlina, jejíž plody pomáhají léčit některá onemocnění jater a sleziny (Tluchoř, 2011).

Anglický botanik, sběratel a bylinkář Nicholas Culpepper v 17. století používal ostropestřec mariánský v léčbě žloutenky.

Wagner (1968) však upřesňuje, že přes dlouhou historii užívání ostropestřce mariánského k léčbě jater, byly až roku 1968 objasněny chemické struktury nejvíce zastoupených látek, které dnes řadíme do skupiny tzv. flavanolignanů. Pro tuto skupinu látek se často používá souhrnné označení silymarinový komplex či zkráceně silymarin, což je název označující standardizovaný suchý extrakt z plodu ostropestřce mariánského, obsahující okolo 80% směsi definovaných flavanolignanů.

3. 1. 2 Popis

Opletal (1999) popisuje ostropestřec mariánský jako jednoletou nebo dvouletou přezimující bylinu s vřetenovitým kořenem a s přímou větvenou lodyhou, dorůstající výšky až 2 m. Listy jsou střídavé, v obrysu podlouhle eliptické, lesklé, bělavě skvrnitě, na okraji ostnitě zubaté. Velké úbory vyrůstají jednotlivě na dlouhých stopkách. Mají kulovitý zákrov a střečovitě uspořádané, ostnitě zubaté listeny. Květy jsou oboupohlavé, nachové, zřídka bledě fialové nebo bílé. Rostlina kvete od července do září. Plody jsou šedohnědé lesklé nažky s chmýrem. Rostlina je nepříjemně ostnitá.

Buchta (2010) dodává, že semena ostropestřce mariánského obsahují významný podíl mastného oleje s vysokým obsahem vícenásobně nenasycených mastných kyselin, zejména

kyseliny linolové (n-6). Byly hodnoceny obsahy kyseliny linolové ve vybraných kultivarech ostropestřce mariánského a stanoveny některé fyzikální parametry mastných olejů, získaných lisováním semen ostropestřce mariánského. Získané výsledky ukazují na všestrannou použitelnost daného typu oleje pro kosmetický, potravinářský i krmivářský průmysl.

3. 1. 3 Sběr a úprava

Ostropestřec se sklízí v době, kdy dozrávají úbory na hlavních lodyhách, což bývá ke konci srpna. Sklizeň porostu se provádí sklízecí mlátičkou, zpravidla po předchozí desikaci (umělém vysušení) porostu. Po výmlatu se plody vyčistí, dosuší a zbaví chmýru. Droga má šedohnědou barvu, je bez pachu a chutná nahořkle. Skladuje se v suchu, je třeba ji zabezpečit proti škůdcům (Opletal, 1999).

Blumenthal (1998) upřesňuje, že aktivní bioflavonoidy jsou získávány pomocí methylalkoholu. Roztok se přefiltruje a odpaří se ve vakuu. Nakonec se odtučněná suspenze suší. Aktivní složka je standardizována na 80% silymarinu.

3. 1. 4 Účinné látky a působení

Ramawat (2008) uvádí, že výtažky z plodu ostropestřce mariánského jsou obvykle užívány k léčbě poruchy funkce jater. Studie provedené in vitro a in vivo prokázaly antioxidační aktivitu silymarinu a jeho schopnost stimulovat syntézu proteinů a buněčnou regeneraci, proto je silymarin používán k léčbě toxického poškození jater a k léčbě chronických zánětlivých onemocnění jater a jaterní cirhózy. Raza (2011) potvrzuje antioxidační a antiapoptotické vlastnosti silymarinu.

Silymarin pomáhá opravovat poškozené buňky jater, chrání nové před zničením stejnou látkou a snižuje zánětlivost (důležité pro lidi se zánětem jater nebo hepatitidou). Opletal (2007) ještě dodává, že silymarinový komplex je silným inhibítozem TNF (tumor necrosis factor - faktor způsobující nekrózu nádorů), výrazně blokuje cytotoxicitu, zánět a apoptózu, kterou TNF navozuje. Silybin je výrazný antioxidant, zametač volných kyslíkových radikálů a inhibitor lipidové peroxidace.

Dle Opletala (1999) nažky obsahují především flavonolignany označované jako silymarin (1,5 – 3 %; sylibin, silydianin a silikristin), flavonoidy (taxifolin, kvercetin, kemferol), aminy (tyramin, histamin), olej (20 – 30 %; kyseliny linolová, olejová, palmitová),

tokoferol (0,6 %), steroly (kampesterol, stigmasterol, beta-sitosterol) a bílkoviny (25-30 %).

Indrák a Chytilová (1992) ještě doplňují obsah sacharidů, malého množství silice a konkretizují složení olejového podílu na 60 % kyseliny linolové, 15 - 26 % kyseliny olejové, 2 % kyseliny linoleové a 8 - 12 % nasycených mastných kyselin.

Flavonolignany mají ochranný účinek na játra, tlumí účinky některých jaterních jedů (tetrachlormetanu, amanitinu, falloidinu), působí antioxidačně a odstraňují z organismu škodlivé radikály. Komplex obsahovaných látek zvyšuje vylučování žluči a uvolňuje křeče. Jegerov (1996) souhlasí a tvrzení doplňuje, látky silymarinového komplexu účinkují pozitivně při bakteriálních, virových, mykotických onemocněních a akutních otravách jaterními jedy tím, že pohlcují volné radikály, inhibují činnost oxidáz a peroxidáz, váží se na buněčné membrány a pronikají i do buněčných jader, kde stimulují syntézu bílkovin, čímž dochází k opravě poškozených buněk a tvorbě nových jaterních enzymů. Tyto účinky jsou příčinou výjimečného vlivu flavanolignanů na jaterní parenchym a jeho regeneraci. Korbelář (1985) dodává, že tlumí účinky sympatiku.

Plody ostropestřce mariánského obsahují až 6% silymarinu. Hlavními složkami silymarinu jsou silybin, silycristin a silydianin. Z těchto složek je nejvíce biologicky aktivní silybin. V semenech byla nalezena řada dalších flavanolignanů – dehydrosilybin, desoxysilycristin, desoxysilydianin, silandrin, silybinom, silyhermin a neosilyhermin. Dále semena obsahují apigenin, asilybonol, kyseliny kristovou, palmitovou, stearovou a olejovou (Brown, 1997).

Křen et al. (1997) ještě uvádí, že silymarin působí jako zhášec volných radikálů a antioxidant v membránových lipidech s antioxidační aktivitou asi desetkrát větší než vitamín E. Jeho nevýhodou je malá rozpustnost ve vodě a následná nízká biodostupnost.

3. 2 Parcha saflorová

Parcha saflorová (*Leuzea carthamoides*) název získala díky prvním ruským osadníkům na Altaji. Ti zjistili, že na podzim jeleni maralí vykopávají kopýtky kořeny této rostliny a s chutí je požírají. Ty jim umožňují přežít krutou sibiřskou zimu a zajišťují do určité míry jejich dobrou reprodukci. Lidé se z těchto poznatků poučili a začali tento "bodlák" užívat i v lidové medicíně jako vhodný prostředek při úbytku sil. Traduje se, že pomáhá od čtrnácti chorob a omlazuje, Tatarům navíc slouží jako afrodiziakum.

Pavela (2006) uvádí, že parcha saflorová je zahrnuta v evropském sortimentu léčivých rostlin teprve od druhé poloviny minulého století. Dnes je na farmaceutickém trhu několik léků a doplnku stravy na celkové povzbuzení organismu, zvýšení aktivity a chuti do života, v nichž je obsažena. Původem je tato rostlina z Ruska. Její hlavní domov je na Sibiři, kde roste běžně na loukách.

Tluchoř (2011) jmenuje obsažené látky v rostlině, jsou to především ecdysteroidy, flavonoidy a polyacetyleny. Ecdysteroidy jsou hlavní účinnou látkou zvyšující nescifickou odolnost organismu, mají adaptogenní (protistresovou) aktivitu, urychlují regeneraci organismu a působí stimulačně na centrální nervový systém. Ecdysteroidy také zlepšují metabolismus cukrů, tuků a cholesterolu, zvyšují ukládání bílkovin do příčně pruhovaného svalu, stabilizují hladinu glykogenu v kosterním svalstvu, zlepšují zásobování svalů a mozku kyslíkem a zkracují regeneraci namáhaných svalů.

Ecdysteroidy mají také ochranný vliv na játra a působí ochranně i na srdce a cévy. Doporučená denní dávka pro člověka je asi 10 mg ecdysteroidů. Rostliny obsahující ecdysteroidy mají léčivé účinky, zvláště anabolické, antidepressivní, psychostimulační, rejuvenační, zmírňují stárnutí a zvyšují potenci (Martirosyan, 2006).

3. 3 Organismus koně v zátěži

Fyzická zátěž je pracovní zátěž pohybového systému, srdečně cévního a dýchacího systému s odrazem v látkové přeměně a termoregulaci organismu (Hanáková, 2003).

3. 3. 1 Trénink

Aby zátěž nebyla pro organismus tolik vyčerpávající, je možné ovlivnit ho vhodným krmením a tréninkem. Hanák a kol. (1996) popisuje trénink jako proces přizpůsobování se organismu na opakovaně prováděnou zátěž. Je to v podstatě proces vytváření morfologické a funkční adaptace na buněčné úrovni. Při adaptaci dochází k vylepšení funkční činnosti jednotlivých orgánů a systémů, adaptuje se i jejich morfologická struktura. Tím se stávají orgány a systémy schopné pracovat větší intenzitou, ve větším objemu a dosahují tím i většího výkonu, tj. mají větší funkční kapacitu. Jednotlivé orgány a systémy se přizpůsobují zátěži specificky, tj. podle druhu konaného zatěžování.

Švehlová (2009) také popisuje trénink jako přípravu koně na jeho práci, čili zátěž fyzickou a psychickou tím, že podpoří změny v jeho těle, díky nimž se tato zvýšená zátěž stane běžnou. Koňský organismus jako celek i jednotlivé orgány, tkáně a buňky podstoupí fyziologické a anatomické změny. Budou trochu jinak fungovat a často i trochu jinak vypadat. Dojde k přizpůsobení se zátěži, k adaptaci.

3. 3. 2 Regenerace

Regeneraci neboli zotavení definuje Jirka (1990) jako přestavbu těla na rovnovážné podmínky po fyzickém a psychickém stresu způsobeném tréninkem nebo jinou zátěží. Tato definice zotavení je založená na předpokladu, že se organismus v běžných podmínkách nachází v rovnováze a že tato rovnováha byla narušena například velkým zatížením. Zotavení zahrnuje všechny procesy obnovy a rovnováhy organismu probíhající po tréninku nebo jiné zátěži, které přivedou fyzické a psychické systémy organismu na výchozí úroveň.

Zotavení z aerobního typu pomalu vznikající únavy trvá déle než z anerobní únavy. Resyntéza svalového glykogenu může trvat až dva dny, jaterního až tři dny. V této době je žádoucí zvýšená dodávka sacharidů. Rychlost resyntézy je nejvyšší v prvních hodinách po skončení cvičení vlivem zvýšené hladiny inzulínu v krvi. Měl by převládat pasivní odpočinek.

Zotavení z anaerobního typu rychle vznikající únavy je charakterizována rychlou

resyntézou svalového ATP a CP. Jaterní glykogen je resyntetizován do dvou dnů bez nutnosti zvýšeného příjmu cukrů potravou. Hlavním zdrojem pro opětovnou tvorbu glykogenu je LA. Měla by převládat aktivní forma odpočinku. Mírná pohybová aktivita zvyšuje průtok krve zatěžovanými svaly a vede k rychlejšímu odstraňování zplodin metabolismu (Dovalil, 2002).

3. 4 Fyziologie jater

Marvan et al. (2007) definuje játra jako největší žlázu těla, funkčně i vývojově spojenou s trávicí soustavou. Jejich mnohostranný význam spočívá v krve tvorbě v embryonálním období, ve funkcích při látkové výměně z hlediska přeměny a zásobárny živin, v tvorbě žluči a v regulační a detoxikační funkci.

Wilhelm (2007) publikuje, že játra jako jeden z metabolicky nejvýkonnějších a nejvýznamnějších orgánů organismu se podílejí na řadě fyziologických funkcí. Účastní se metabolismu hlavních substrátů – sacharidů, lipidů, proteinů. Syntetizují řadu látek, podílejí se na metabolismu vitaminů a hormonů, jsou významným depotem řady látek. Neméně významné jsou funkce detoxikační. Jaterní tkáň je přizpůsobena ke všem výše zmíněným funkcím neobvyklým v těle naprosto ojedinělým způsobem krevního zásobení.

Játra se vyznačují značnou regenerační schopností po poškození hepatotoxickými látkami, uvádí Jelínek et al. (2003) a dodává, že odstraníme – li u pokusného zvířete část jater, začnou se buňky zbývajícího jaterního parenchymu mitoticky dělit a játra dorostou do původní velikosti. Rychlost regeneračních pochodů je druhově odlišná a lze ji ovlivnit výživou, hormonálně i prostřednictvím léčiv.

Jsou místem tvorby a lokalizace četných enzymů, které při poškození jaterního parenchymu přecházejí do krve. Mnohé z nich, např. aminotransferázy AST (aspartátaminotransferáza) a ALT (alaninaminotransferáza), laktátdehydrogenáza a další, mohou sloužit jako indikátory funkčního poškození jaterních buněk (Jelínek et al., 2003). Hanák (1996) ještě dodává, že onemocnění jater se vzhledem k mnohostranným jaterním funkcím projeví onemocněním organismu jako celku, v pokročilých stádiích jde zejména o tzv. hepatocerebrální syndrom (ikterus a poruchy CNS – apatie, křeče, atd.).

3. 4. 1 Topografie enzymů v hepatocytu

Znalost topografie enzymů v jaterní buňce je velmi důležitá při interpretaci výsledků biochemických vyšetření. V cytoplasmě se nalézá především ALT, která je pro jaterní buňku relativně specifická. Už malé poškození jaterního parenchymu způsobuje zvýšení permeability membrány a způsobuje zvýšení aktivity ALT v plazmě, uvádí Cibulka (2006). Šišková (2009) doplňuje, že dalším enzymem cytoplasmy je AST. Enzymu AST se v cytoplasmě nachází pouze 30%, zbytek je v mitochondriích. V mitochondriích se nachází již zmíněná AST

a to 70%. Charakteristicky mitochondriální enzym je GMD. V membránách endotelu žlučových a v kanikulární membráně jaterních buněk jsou lokalizované enzymy ALP, NTS, GGT, jejichž zvýšení v séru ukazuje přítomnost cholestázy.

3. 5 Sledované ukazatele

3. 5. 1 Jaterní enzymy

Vyšší organismy využívají k trávení enzymy, které si produkují sami, nebo produkované mikroorganismy trávicího traktu (Rada, 2010). Aktivita jaterních enzymů v krevní plazmě se sleduje především kvůli diagnostice myopatií, hepatopatií a osteopatií. Za fyziologického stavu by měla být aktivita intracelulárních enzymů v krevní plazmě nízká (Hanák, 1996).

3. 5. 1. 1 AST – Asparátaminotransferáza

AST je u koní diagnosticky významná při onemocnění jater, poškození kosterního svalstva, myopatiích a poškození srdečního svalu. AST spolu s CK (kreatinkinázou) se také užívají pro posouzení stupně trénovanosti koně. Ke zvýšení AST dochází u koní na začátku tréninkového procesu. Později se hladina v séru snižuje, ale zůstává vyšší než u koní netrénovaných, udává Hanák (1996). Doubek et al. (2007) uvádí, že AST není orgánově specifická a vysoká aktivita se vyskytuje v srdci, v kosterní svalovině, játrech a erytrocytech. Dále popisuje, že je užitečné stanovit její aktivitu při podezření na onemocnění jater u koček, koně, prasete a přežvýkavců, je-li vyloučeno onemocnění svaloviny na základě stanovení aktivity kreatinkinázy.

3. 5. 1. 2 ALT – Alaninaminotransferáza

Slouží u koní k diferenciální diagnostice myopatií a hepatopatií (Hanák, 1996). Doubek et al.(2007) definuje přesněji příčiny, které způsobují zvýšení aktivity ALT. Patří mezi ně poškození jater, akutní anémie, akutní pankreatitida, myokarditida, myopatie. Při těžkém poškození jaterního parenchymu (mnohočetné nekrózy, abscesy, tumory) může být aktivita ALT v referenčním rozmezí nebo i nižší z důvodů restrikce zdroje enzymu. U psa a kočky je hladina ALT specifická ke vztahu k játrům, u koně a u skotu nikoliv.

3. 5. 1. 3 ALP – Alkalická fosfatáza

Hanák (1996) popisuje místa největšího výskytu ALP. Vyskytuje se nejvíce v kostní tkáni a chrupavkách, dále pak i v játrech, ledvinách, slezině, erytrocytech, leukocytech a sliznici duodena. Diagnosticky je významná při chorobách skeletního systému, změnách metabolismu kostní tkáně a diferenciální diagnostice onemocnění jater. Zvýšené hladiny ALP fyziologicky zjišťujeme u rostoucích hříbat, kde je ALP produkováno osteoblasty (nezralé kostní buňky) při výstavbě kostní tkáně.

Zvýšené hladiny ALP u dospělých koní jsou patologické, můžeme je pozorovat při všech formách cholestáze v játrech. Zvýšená hladina ALP se může vyskytovat i při snížené hladině Ca v krvi. Doubek et al. (2007) souhlasí, že aktivita ALP se zvyšuje u rostoucích zvířat a dodává, že další příčinou zvýšení hodnot ALP může být onemocnění jater, žlučníku, žlučových cest, tumory duodena nebo extrémní námaha.

3. 5. 1. 4 GMT – Gama - glutamyltransferáza

Hanák (1996) definuje GMT jako enzym vyskytující se v řadě parenchymatózních orgánů. Ačkoliv má největší aktivitu v tkáni ledvin, zvýšení v séru koní indikuje cholestázy v játrech. Chronické záněty jater zvyšují aktivitu GMT jen nepatrně, výrazněji však při akutních exacerbacích (zhoršení nebo nové vzplanutí nemoci). Sekundárně se zvyšuje aktivita GMT i při některých dalších onemocněních, zejména při kolikách a enteritidách.

Diagnózu onemocnění jater je třeba potvrdit stanovením žlučových kyselin a případně amoniaku (Doubek et al., 2007).

3. 5. 1. 5 CK – Kreatinkináza

CK je důležitým enzymem kosterního a srdečního svalstva, uvádí Hanák (1996). Dále pokračuje tvrzením, že aktivita CK v séru se zvyšuje nejen při přímém poškození svalů (traumatické poškození, intramaskulární injekce dráždivých látek), ale také při nepřímém (akutní nebo chronické vyčerpání organismu, myoglobinurie, tetanus atd.) poškození svalů a při infarktu myokardu, který ale u koní nebývá obvyklý. Zvyšuje se také při šokových stavech (stresu) a při fyzické zátěži netrénovaných jedinců.

3. 5. 1. 6 LDH – Laktátdehydrogenáza

LDH se používá k diagnostice poškození jater, krve, kosterního svalstva, případně i k diagnostice tumorů. Zvyšuje se při lézích kosterního svalstva, myokarditidách, onemocnění jater, intravitálních hemolýzách a myolýzách (Hanák 1996).

3. 5. 2 Další stanovené látky

3. 5. 2. 1 Žlučové kyseliny

Žlučové kyseliny Kodíček (2007) definuje jako steroidní sloučeniny, vznikající oxidací cholesterolu. Mezi nejdůležitější patří kyselina cholová a deoxycholová. Svými emulgačními schopnostmi usnadňují trávení potravy, především triacylglycerolů. Doubek et al. (2007) toto ještě doplňuje o důvody zvýšené koncentrace žlučových kyselin. Příčinou mohou být hepatitidy, hepatotoxické látky, cholestáze nebo hypertyreóza, Cushingův syndrom a diabetes mellitus.

3. 5. 2. 2 Cholesterol

Cholesterol je přirozená chemická substance zcela nezbytná pro normální funkci nervové tkáně i pro tvorbu žluče či různých hormonů (Clark, 1998). Dále pokračuje Hanák (1996). Cholesterol hraje důležitou roli v metabolismu jako součást buněk a tkání. Je syntetizován v játrech z acetyl – CoA, který se formuje v těle při štěpení glycidů, bílkovin a tuků. Částečně proniká do krve lymfou, zčásti konvertuje do žlučových kyselin a steroidních hormonů, a z části je zanesen do buněčných membrán a nervové tkáně. V krvi je v 70% přítomen v esterifikované formě a v 30 % ve formě volné. Doubek et al. (2007) a Hanák (1996) se shodují, že zvýšení cholesterolu v krvi provází onemocnění jater, sníženou funkci

štítné žlázy, léčbu kortikoidy a další. Relativní snížení cholesterolu v krvi nastává při hypertyreóze, kachexii a jaterní nedostatečnosti.

3. 5. 2. 3 Bilirubin

Bilirubin je konečný produkt katabolismu hemu u savců (Stocker et al., 1987). Härtlová et al. (2009) toto tvrzení rozvádí. Katabolismus hemového kruhu začíná enzymem hemoxygenasou a prvním produktem je biliverdin, který je redukován a vzniká bilirubin – žlučové barvivo. Bilirubin vzniká jak v monocyto – makrofágovém systému, tak v játrech. Z periferie je do jater transportován vazbou na bílkovinu albumin. V hepatocytech je bilirubin následně konjugován kyselinou glukuronovou na rozpustný bilirubinglukuronát a takto je vylučován do žluče. V tlustém střevě se bilirubin redukuje střevními mikroorganismy na sterkobilirubin, který je vstřebáván do krve a portálním oběhem se dostává opět do jater. Urobilinogen pak vzniká redukcí bilirubinu přímo v játrech.

Vyskytuje se typicky vázaný na albumin v poměru 1:1. Jeho antioxidační funkce spočívá zřejmě ve vychytávání peroxylových radikálů a singletového kyslíku (Halliwell and Gutteridge, 2001).

Doubek et al. (2007) rozděluje bilirubin na nekonjugovaný (přímý, volný) v krvi vázaný na albumin a konjugovaný (nepřímý, vázaný), který je v hepatocytu konjugován s glukosiduronátem. Dále uvádí, že nekonjugovaný bilirubin je nerozpustný ve vodě a nepřechází proto do moči. Konjugovaný bilirubin je rozpustný ve vodě a do moči přechází. Hladina přímého i nepřímého bilirubinu odráží degradaci hemu a zvyšuje se při hemolýze, uvádí Kubisz et al. (2006). Doubek et al. (2007) ještě doplňuje další příčiny hyperbilirubinemie: jaterní selhávání, cholestáze, hladovění (kůň, skot), fyzická námaha (kůň).

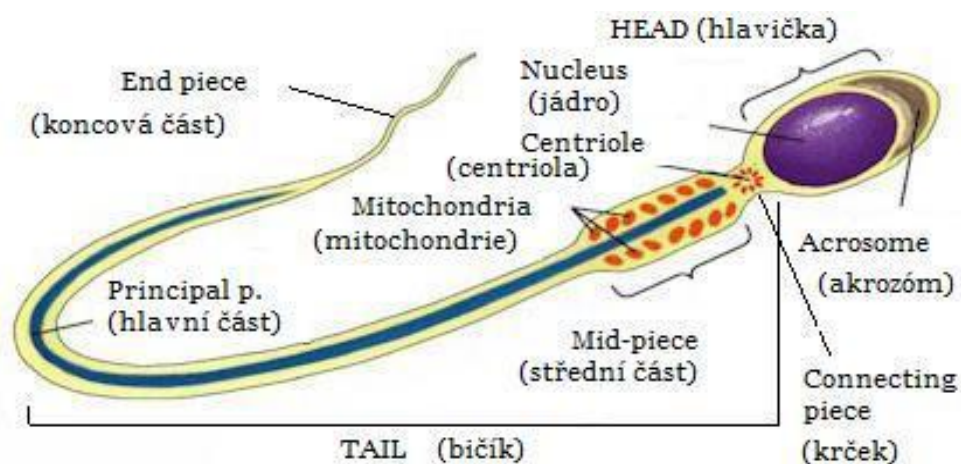
3. 6 Samčí pohlavní soustava

K samčím pohlavním orgánům patří varlata, nadvarlata, chámovody, přídavné pohlavní žlázy a pářící orgán pyj (Marvan et al., 2007).

Reece (1998) a Cibulka et al. (2006) se shodují, že funkcí reprodukční soustavy samců je tvorba spermií, jejich dozrávání a doprava do samičích pohlavních orgánů. Spermie jsou tvořeny v semenotvorných kanálcích varlat a potom jsou transportovány přes síť kanálků varlete do nadvarlete. Zde jsou uloženy a dozrávají. Jakmile produkce spermií jednou začne, stává se z ní nepřetržitý proces. Dále pokračuje pouze Reece (1998). Doprava spermií do samičích pohlavních orgánů je umožněna ztopořením pohlavního údu, pyje (penisu), který tak může proniknout do tubicovité pohlavní soustavy samice. Po zasunutí pyje dojde k výronu spermií a sekretů přídavných pohlavních žláz do samčí močové trubice. Skutečný transport semene samčí močovou trubicí pyje do oblasti děložního krčku nebo dělohy je završen ejakulací. Činnost samčí pohlavní soustavy je řízena hormony a autonomním nervovým systémem.

3. 6. 1 Spermie

Marvan et al. (2007) popisuje spermie jako samčí pohlavní buňky, které vznikají v semenotvorných kanálcích varlat. Spermie je zralá pohlavní buňka schopná samostatného pohybu s cílem aktivního vyhledávání a oplození vajíčka. Kauerová (2007) ještě zdůrazňuje, že oplozením je myšleno nejen proniknutí do vajíčka, ale také přenesení genetického materiálu samce. Splnit tyto funkce jí umožňuje morfologická stavba: aktivní pohyb zabezpečuje bičík, na penetraci se podílí akrozóm, genetické informace jsou uloženy v jaderné hmotě.



Spermie jsou 50 – 80 μ m dlouhé. Se zřetelem na přítomnost sex chromozomu jsou mezi nimi nepatrné hmotnostní rozdíly. Spermie s malým heterochromozomem Y (androspermie) jsou lehčí než spermie s větším heterochromozomem X (gynospermie) (Jelínek et al., 2003). Marvan et al. (2007) uvádí přesnou velikost spermie hřebce 60 μ m. Cibulka et al.(2006) ještě doplňuje, že na hlavičku spermie připadá 51 % a na bičík 49 % celkové hmotnosti spermie.

3. 6. 2 Hlavička

Hlavička spermie má zploštělý oválný tvar. Její podstatu tvoří jádro pohlavní buňky obalené jadernou membránou. Přední pól hlavičky kryje čepičkovitý obal – akrozóm. Povrch celé hlavičky a bičíku pokrývá cytoplazmatická membrána (Marvan et al., 2007). Jelínek et al. (2003) s Marvanem souhlasí a ještě popis hlavičky spermie rozvádí. Hlavičku spermie tvoří především jádro s kondenzovaným chromatinem a obsahujícím deoxyribonukleovou kyselinu nesoucí genetické informace pro vlastnosti nového jedince. Bazální část hlavičky je prohloubená v podobě implantační jamky hlavičky, do níž se vkládá hlavice bičíku, která slouží spojení bičíku s hlavičkou.

3. 6. 3 Akrozóm

Cibulka et al. (2006) a Jelínek et al. (2003) shodně popisují akrozóm. Je to cytoplazmatický útvar s obsahem enzymů, pokrývající přední část hlavičky Jeho posláním je umožnit rozpuštění obalů vajíčka a jeho následné oplození. Marvan et al. (2003) uvádí některé z enzymů vyskytujících se uvnitř akrozómu: hyaluronidáza, proakrozín, akrozín aj.

3. 6. 4 Bičík

Bičík je ústřední orgán pro pohyb neboli motilitu. Zprostředkovává transport spermie na místo oplodnění. Důležitou úlohu přitom hraje mitochondriální spirála, sloužící jako zdroj energie (ATP), a komplex axiálních vláken jako místo, kde se tato energie mění na mechanickou. Bičík se skládá z několika segmentů: spojující části (krčku), střední části, hlavní části a části koncové (Gamčík et al. 1992). Dále pokračuje Fawcett and Porter (1954), centrální

strukturou v celém bičíku je axonema – osově vlákno, svazek mikrotubulů tvořený jedním centrálním párem a devíti páry mikrotubulů po obvodu bičíku (uspořádání 9+2).

Vlastní pohyb je dán střídavým klouzáním jednotlivých mikrotubulů, ohýbáním axonem a relaxací. Pohyb je asynchronní, ale koordinovaný po celé délce bičíku (Cosson, 1996).

3. 6. 5 Plazmatická membrána

Celá spermie (tj. hlavička a všechny oddíly bičíku) je pokryta nepřerušovanou dvouvrstevnou cytoplazmatickou membránou, která představuje základní ochranu spermie. Je acidorezistentní, vysoce permeabilní a citlivá na změny osmotického tlaku. Permeabilita membrány umožňuje látkovou výměnu spermií (Jelínek et al., 2003). Knobil and Nail (2006) dodávají, že v nadvarlatech se syntetizuje cholesterol, který se váže do cytoplazmatické membrány spermií a působí protektivně při průchodu spermií hostitelským prostředím samičího reprodukčního systému, současně chrání spermii před předčasnou kapacitací.

Na základě poznatku, že cytoplazmatická membrána u živých spermií nepropouští některá barviva (eozin, fluorochromy) a že se permeabilita zvýší u mrtvých spermií, byla vypracována metoda vitálně letálního barvení, umožňující rozlišovat živé a mrtvé spermie. Poškození permeability membrán může nastat při dlouhodobé konzervaci spermií (při zmrazování) a stát se tak příčinou snížené oplozovací schopnosti spermií (Jelínek et al., 2003).

3. 6. 6 Ejakulát

Ejakulát všech samců je složen ze spermií a semenné plazmy, uvádí Cibulka et al. (2006). Semenná plazma je tekutina, která obsahuje z velké míry sekrety přídatných pohlavních žláz (England, 2005). Reece (1998) jmenuje zvláštní samostatné orgány, které nazýváme přídatné pohlavní žlázy. Patří k nim ampule chámovodu, měchýřkovité žlázy (u hřebce nazývané semenné váčky), prostata a bulbouretrální žlázy (někdy nazývané Cowperovy žlázy). Při ejakulaci se sekrety přídatných pohlavních žláz (označované jako semenná plazma) smísí se spermatem a tekutinou nadvarlete a vytváří se semeno.

Marvan et al. (2003) uvádí, že semeno má druhově specifickou barvu, konzistenci a pach a jeho množství vyloučené při jedné ejakulaci druhově značně kolísá.

3. 6. 6. 1 Semenná plazma

Semenná plazma představuje svým objemem hlavní podíl ejakulátu, u hřebce je uváděno 95 - 98 %. V samičím pohlavním ústrojí vytváří vhodné prostředí pro přežití spermií. Je bohatá na elektrolyty, fruktózu, kyselinu askorbovou, bílkoviny, aminokyseliny, enzymy, prostaglandiny, androgeny a estrogeny, vitaminy a minerální látky (například zinek, vápník, hořčík, sodík). Na tomto složení se shodují Reece (1998) a Cibulka et al. (2006). Jelínek et al., (2003) ještě doplňuje, že semenná plazma má relativně stálý osmotický tlak a vyznačuje se velkými pufračními schopnostmi. Reece (1998) dále navazuje na složení plazmy a věnuje se jednotlivým složkám. Stálá a nekolísající složka semenné plazmy u všech druhů domácích zvířat je fruktóza. Výhodou fruktózy jako energetického zdroje může být skutečnost, že pro vstup do spermie nepotřebuje energii.

Další významnou složkou, kterou Reece (1998) zmiňuje, jsou prostaglandiny. Ellis (2007) popisuje prostaglandiny jako skupinu hormonům podobných látek odvozených od kyseliny arachidonové. Mohou vznikat prakticky ve všech orgánech těla (prostata, plíce, cévy, ledviny, mozek aj.). Na rozdíl od hormonů je netvoří specializované buňky (žlázy) a nepřenášejí se krví, nýbrž účinkují místně. Ovlivňují prokrvení, tvorbu řady látek včetně hormonů a trávicích šťáv, srážení krve, účastní se imunitních a zánětlivých procesů, zvyšují stahy děložní svaloviny atd.

V oplozování napomáhají dvěma způsoby. Reagují s hlenem sliznice krčku a upravují jej pro průchod spermií a některé z přítomných prostaglandinů způsobují kontrakce hladké svaloviny. Mohou tím v děloze a vejcovodech napomáhat transportu spermií směrem k vaječnícům (Reece, 1998).

3. 6. 7 Kapacitace spermie

Kapacitace spermií je proces, který probíhá v pohlavním traktu samice. Po ejakulaci je spermie neschopná oplodnění, k tomu je zapotřebí, aby určitou (pro každý druh specifickou) dobu pobývala v reprodukčním traktu samice (Lefebvre and Suarez, 1996). Cibulka et al. (2006) uvádí, že délka pobytu je různá a závisí na druhu zvířete.

Kapacitaci také doprovází jev nazývaný hyperaktivace. Spermie změní charakter svého pohybu, začne se pohybovat rychleji a v kruhu. Hyperaktivace může pomáhat spermii odpoutat se z ovidukálního rezervoáru a proniknout vajíčkem (Suarez, 1996).

Kapacitace představuje sadu změn v plazmatické membráně, které umožňují spermii podstoupit akrozómovou reakci (Austin, 1951).

Roztočil et al. (2008) popisuje podstatu akrozomální reakce. Jsou to změny na povrchové membráně spermie, ke kterým dochází při průniku spermii pohlavním traktem samice a které umožní akrozomální reakci – splynutí membrány akrozómu s povrchovou membránou a uvolnění enzymů akrozómu.

Cibulka et al. (2006) uvádí, že podstata kapacitace není přesně známá. Dochází k biochemickým změnám, které způsobují destabilizaci plazmatické membrány spermie. V oblasti akrozómu se odštěpují glykoproteiny vázané na plazmatickou membránu a následně proběhne tzv. Akrozómová reakce, která umožní po rozpadu membrán uvolnění vezikul (membránových váčků) s akrozómovou hmotou obsahující enzym hyaluronidázu. Tento enzym se podílí na první fázi procesu penetrace spermie do vajíčka.

Na aktivaci spermii a akrozomální reakci se podílejí fyziologické dávky ROS, které zde indukují zahájení signálních kaskád vedoucích k těmto procesům (Leclerc et al., 1997).

3. 7 Oxidativní stres

Oxidativní stres vzniká při porušení rovnováhy produkce volných radikálů a antioxidantů, ve prospěch volných radikálů, uvádí Murray (2002). Dále pokračuje, je-li příliš masivní, nebo trvá-li příliš dlouho, může dojít ke značnému poškození buněk.

Oxidoredukční prostředí (redoxní stav) buňky je definován kapacitou antioxidantního systému, dostupností redukčních ekvivalentů a intenzitou oxidační zátěže, které je buňka vystavena příjmem reaktivních kyslíkových metabolitů (ROS) a reaktivních dusíkových metabolitů (RNS) z okolí i z intracelulárních zdrojů, včetně ROS tvořených předpokládanou signální aktivací NADPH-oxidázy (Flohe et al. 1997).

Fiers et al. (1999) and Hayes et al. (1999) se shodují, že oxidační stres je stav, při kterém je narušena rovnováha mezi těmito faktory a vede ke vzniku oxidačních poškození, indukovaných volnými radikály. Oxidační stres působící na buňky je tedy důsledkem zvýšené tvorby oxidantů, snížené antioxidantní ochrany nebo neschopnosti opravovat oxidační poškození. Za fyziologických podmínek jsou ROS (Reactive oxygen species – reaktivní kyslíkové radikály z buňky odstraňovány činností superoxiddismutázy (SOD), katalázy nebo glutathionperoxidázy. Oxidační stres a reaktivní metabolity mají velký podíl na vzniku

a rozvoji řady nemocí, například Alzheimerovy choroby, Parkinsonovy choroby, rakoviny a také stárnutí a plodnosti.

3. 7. 1 Volné radikály

Volné radikály jsou částice (atomy nebo molekuly), které jsou konstantně produkovány v organismu, definuje Härtlová et al. (2009). Ve svých vnějších orbitech mají nepárové elektrony a tím je snížena stabilita těchto molekul a stoupá jejich reaktivita s jinými atomy nebo molekulami. Většina biomolekul nejsou radikály, neboť obsahují orbitaly plně obsazené dvěma elektrony. V biologických systémech vznikají volné radikály odejmutím nebo přijetím elektronu.

Radikály jsou většinou velmi reaktivní částice. Ve snaze doplnit si párový elektron se pohotově váží na okolní molekuly nebo jim předávají či odebírají elektron. Reakcí dvou radikálů vzniká normální molekula, protože nepárové elektrony se spojí ve dvojici. Pokud však dojde k reakci radikálu s molekulou, která není radikálem, stává se tato normální molekula radikálem a zahajuje řetězec dalších radikálových reakcí. Tato propagace je ukončena reakcí s jiným radikálem.

Při vysoké zátěži se volné radikály z vnějšího prostředí vstřebávají daleko intenzivněji (Saastamoinen et al. 2008). Pokud je například při zátěži dýchání rychlejší a hlubší, dostane se do organismu více škodlivin ze znečištěného prostředí. Teplota svalů může dosáhnout až 45 °C, což též vede ke zvýšené tvorbě volných radikálů.

Härtlová et al. (2009) uvádí, že nedostatek některých antioxidantních systémů zvyšuje zranitelnost různých tkání a buněčných komponent k reaktivním formám kyslíku, zatímco ve tkáních vzrůstá jejich antioxidantní obrana vlivem chronické aktivace. Kontrolovaný dlouhodobý trénink může být jednou z cest vzrůstající antioxidantní obrany v tkáních pracujících koní.

3. 7. 2 Antioxidanty

Antioxidant je látka, jejíž molekuly omezují aktivitu kyslíkových radikálů (Grandjean and Haymann, 2010). Snižují pravděpodobnost jejich vzniku nebo je převádějí do méně reaktivních nebo nereaktivních stavů. Tím omezují proces oxidace v organismu nebo směsích, kde se vyskytují. Antioxidanty jsou součástí obranného mechanismu organismu před ROS.

Štípek (2000) a Härtlová et al. (2009) se shodují na rozdělení antioxidantů

na enzymové a neenzymové. Mezi enzymové antioxidanty řadí superoxiddismutasu, glutathion, peroxidáza, kataláza a další.

3. 7. 2. 1 Enzymové antioxidanty

- vitamíny – vitamín A, vitamín E, vitamín C, vitamín B2, vitamín B15
- karotenoidy
- flavonoidy – rostlinná barviva (včetně karotenoidů, některých tříslovin a polyfenolů)
- třísloviny (včetně některých polyfenolů)
- fenolické antioxidanty, polyfenoly
- některé sloučeniny selenu, zinku, manganu, mědi, germania
- antioxidanty na bázi aminokyselin – glutathion, taurin
- čisté uhlovodíky (bez dusíku, síry, kovů aj.) – zdroj buněčného kyslíku squalin (skvalen)

3. 7. 2. 2 Neenzymované antioxidanty

- glutathion peroxidáza
- superoxiddismutáza
- glutathiontransferáza
- kataláza

3. 7. 3 Oxidativní stres v reprodukci

V nízkých koncentracích fungují ROS jako klíčové signální molekuly v řízení různých fyziologických funkcí reprodukčního systému samců a samic savců. Volné radikály ovlivňují například mikroprostředí folikulární tekutiny, seminální tekutiny a ejakulátu. Prostřednictvím oxidace biomolekul působí na morfologii a funkci spermií, vajíček, interakci vajíčka a spermie, a raný embryonální vývoj. Navíc tyto molekuly modulují řadu transkripčních faktorů a expresi genů.

ROS je tedy pro reprodukční systém nezbytný a dá se říci, že by bez kyslíkových radikálů, které provází celý proces vzniku nového jedince (od tvorby a fúzi gamet, po časnou embryogenezi) nefungoval. Na druhou stranu při oxidativním stresu jsou fyziologické funkce omezovány v různém rozsahu. ROS oxidují genom spermie a způsobují jeho rozpad, což

může být dědičné (Ji et al., 1997). Prostřednictvím peroxidace membrány ovlivňují motilitu, fertilizační schopnost a interakce mezi spermii a vajíčkem (Aitken et al., 1998). ROS vyvolává i apoptózu spermii prostřednictvím narušení membrán mitochondrií (Wang et al., 2003).

4 Materiál a metody

4. 1 Charakteristika přípravku Silyfeed

Společnost Moravol s.r.o, výrobce krmného expeleru Silyfeed, ho definuje jako základní krmný expeler, který vykazuje příznivé působení na zdraví užitkových a domácích zvířat, které je dáno příznivým synergickým působením přírodních látek, obsažených v plodu ostropestřce mariánského. Plod je upraven pouze mechanickou cestou tak, aby byla v co nejvyšší míře zvýšena biodostupnost účinných látek z krmné dávky.

Hlavní podíl krmného doplňku tvoří expeler, který vzniká lisováním semene ostropestřce mariánského, jako vedlejší produkt při extrakci oleje, jenž je dále využíván v kosmetickém a potravinářském průmyslu. K podpoře účinku na tvorbu svalové hmoty je do krmného doplňku přidána nať parchy saflorové, která má anabolické účinky (ecdysteron). Podporuje zvýšené ukládání bílkovin přednostně do svalu.

Obecně je tento doplněk schopen relativně rychle obnovit tělesnou rovnováhu po náročném fyzickém zatížení koní, včetně zmírnění nepříznivých vlivů, jako je například působení kontaminovaného prostředí.

Esenciální mastné kyseliny se podílejí zejména na stavbě buněčných membrán a jsou vý-chozími látkami pro biosyntézu důležitých mediátorů, jako např. prostaglandinů, prostacyklinů a leukotrienů, které řídí a ovlivňují zejména stav zánětlivých procesů v organismu (Tluchoř, 2011).

4. 1. 1 Silyfeed L

Tento doplněk se zaměřuje na sportovní koně a rozvoj svalové hmoty. V tomto expeleru je zvýšený obsah rostliny parchy saflorové, která obsahuje i některé steroly, u kterých byly prokázány účinky na růst svaloviny, posílení imunitního systému či adaptogenní působení (zvyšující odolnost organismu proti stresovým situacím, jako je zranění, úzkost nebo tělesná únava). Přídavek této rostliny v Silyfeedu L tedy doplňuje skladbu přírodních látek u tohoto expeleru o složky, které zejména u sportovních a užitkových zvířat mohou sehrát důležitou roli v dosažení optimálního efektu z jejich chovu (Moravol, spol. s r.o.).

4. 2 Metodika podávání přípravku silyfeed

Testace přípravku Silyfeed - L byla prováděna v Equinním reprodukčním centru u plemenných hřebců se sportovním zaměřením na drezúru a parkur. Hřebci byly různého věku a fyzické zátěže. Společným znakem byly pravidelné odběry spermatu určené pro inseminaci klisen. Koně byly rozděleny do 2 skupin (kontrolní a pokusná). V každé skupině bylo sledováno 5 koní. Ustájení koní bylo standardní - boxové. Výživa u obou skupin byla stejná s výjimkou skupiny pokusné, která dostávala navíc Ostropestřec mariánský v podobě krmného doplňku Silyfeed – L v denní dávce 0,15 kg. Krmná dávka koní se skládala z 8-10 kg lučního sena, 1,5 kg ovsu a 3 kg směsi doplňkového granulovaného krmiva Höveler.

Před zahájením sledování bylo provedeno klinické vyšetření testovaných koní (zdravotní stav) a odběr krve k biochemickému a hematologickému vyšetření pro stanovení úrovně parenchymatózních orgánů (játra, ledviny) včetně bílkovinného, energetického, minerálního a svalového metabolismu.

Odběry krve byly provedeny tzv. vakuovým systémem do zkumavek typu Vacuteiner a následně zpracovány standardními metodami biochemickým automatickým analyzátozem MINDRAY BS- 300 a hematologickým analyzátozem VET ABC. Odběry krve a zpracování hematologických a biochemických výsledku zajišťovala Veterinární klinika Pardubice. Pod vedením MVDr. Vladimíra Tluchoře, CSc.

První odběr krve byl proveden u obou skupin koní před zahájením sledování, druhý po 30 dnech zkrmování přípravku a třetí na konci sledování tj. 60 den zkrmování.

Tabulka č. 1: Metody stanovení metabolických testů u koní

Metody stanovení metabolických testů u koní		
Užité biochemické metody ve stanovení metabolických testů koní		
Laboratoř: Veterinární klinika Pardubice, Štrosova 239, 53003 Pardubice		
Analyzátor: BS-300 Mindray		
Chemikálie	Metoda	Výrobce
Albumin	Bromocresol Green	Greiner
ALP	IFCC (p-nitrophenylphosphate AMP)	Greiner
ALT	Tris buffer no P5P IFCC	Greiner
AST	Tris buffer no P5P IFCC	Greiner
Bile acids total	Kolorimetricky s nitrotetrazolium blue	Diazime
Bilirubin total	Jendrassik - Grof	Bio - La Test
Calcium	Cresolphthalein complexon	Greiner
Cholesterol (total)	Cholesterol oxidase	Biovendor
Copper	Kolorimetricky, Dibrom - PAESA	Greiner
Creatinkinase (total)	NAC substrate start (DGKC), IFCC	Greiner
Creatinine	Jaffé	Greiner
GMT	γ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide (IFCC)	Greiner
Glucose	GOD - POD	Biovendor
Iron	Chromazurol B	Elitech
Lactate	Enzymatic Colorimetric, LOD - PAP	Greiner
LDH	IFCC; Lactate " Pyruvate	Greiner
Magnesium	Xylidyl blue	Greiner
Phosphate Inorganic	Phosphomolybdate UV	Greiner
Protein total	Biuret	Greiner
Ransel (GPX)	Enzymaticky	Randox
Triglycerides	GPO - PAP	Greiner
Urea	Urease kinetic	Greiner
Zinc	Colorimetric with deproteinisation; 5 - Brom - PA-PS	Greiner
Kontroly	Specifikace	Výrobce
Kontrola 1	Assay Bovine Multissera	Randox
Kontrola 2	Humatrol N	Human
Kontrola 3	Ransel	Randox

Dále bylo v průběhu testace ve spolupráci s ošetřovateli a trenérem testovaných koní prováděno subjektivní hodnocení. Sledované ukazatele byly rozděleny do čtyř kategorií. Kategorie a bodové hodnocení je popsáno v tabulce č.2. Body se rozdělovali podle kriteria v tabulce č. 3.

V první kategorii byl hodnocen příjem krmiva. Ošetřovatelé sledovali především změny v ochotě přijímaní podaného krmiva v průběhu testace.

Druhá kategorie zahrnovala posuzování aktivity jednotlivých koní při trénincích, sportovních výkonech a při odebírání spermatu (tzn. ochota „ke skoku“ a vložená energie do tohoto úkonu).

Dále se hodnotila alergická reakce. Zde se kontrolovalo, zda kůň nemá dermatologické nebo oftalmologické obtíže, není dušný či nevykazuje jiné zdravotní výkyvy.

V poslední, čtvrté kategorii bylo sledováno welfare všech posuzovaných zvířat. Toto zahrnovalo sledování celkového psychického stavu koní.

Tabulka č. 2: Seznam zvolených kategorií pro sledování

Pořadí	Kategorie	Body
1	Příjem krmiva	0 -10
2	Aktivita - Vliv na výkon a vitalitu koně	0 -10
3	Alergická reakce	0 -10
4	Welfare – pohoda chování	0 -10

Tabulka č. 3: Kriteria bodového subjektivní hodnocení.

Hodnocení	Počet bodů
Výborné	8 -10
Velmi dobré	5-7
Špatné	1-4
Žádné	0

4. 3 Odběr spermatu

Odběry spermatu probíhaly ve firmě ERC s.r.o. (Equinní Reprodukční Centrum), což je soukromé zařízení, které vzniklo privatizací bývalého střediska reprodukce koní Výzkumné stanice pro chov koní Slatiňany. Toto středisko dosáhlo významných úspěchů v oblasti intenzivní reprodukce koní, zejména inseminace a transferu embryí.

Odběr spermatu se provádí převážně pomocí umělé vaginy a umělého fantomu nebo říjící se klisny. Po vzeskoku na fantom se pyj zavede do umělé předeřháté vaginy, kam hřebec odsemení. Zachycené sperma se laboratorně hodnotí. Hodnotí se především množství spermatu, jeho koncentrace a pohyblivost spermií udaná procentickým vyjádřením množství spermií s progresivním pohybem vpřed, popisuje Dušek et. al. (2007).

Věžnik et. al. (2004) se podrobně zabývá hodnocením motility. Základním způsobem kvantitativního stanovení motility je mikroskopické počítání pohybujících se spermií v zorném poli. Hodnocení pohyblivosti se provádí v ejakulátu naředěném fyziologickým roztokem pufrovaným fosfátovým pufrem. Stupeň ředění závisí na koncentraci ejakulátu, volí se tedy ředění takové, aby v 1 mm³ suspenze bylo cca 100 000 spermií. Kapka takto naředěného ejakulátu se nanese na podložní sklíčko předeřáté na vhodnou teplotu, přikryje se krycím sklíčkem a pozoruje pod mikroskopem při temperovaném stolku (35°-37°C). Hodnotí se minimálně tři zorná pole. Dále se hodnotí, zda je pohyb přímý a progresivní. Může se stát, že se přímý pohyb mění na kruhovitý, některé spermie vykazují trhavý nebo přerušovaný pohyb, eventuálně pohyb na místě.

Jednotlivé odběry jsou zaznamenávány do odběrového sešitu. Zapisuje se tam datum odběru, jméno hřebce, číslo odběru (počítáno pro každého hřebce zvlášť, v dané připouštěcí sezóně), množství spermatu (ml), hustota spermatu (koncentrace spermií, mm³), počet inseminačních dávek, na které byl jeden odběr od jednoho hřebce rozdělen a motilita spermií po ředění (%).

Hodnoty udávané pro inseminační dávku e krátkodobé konzervaci. Jsou objem 10 ml, koncentrace 0,1 – 0,3 x 10⁶ mm³ a aktivita (motilita) 60 %. Krátkodobou konzervací rozumíme sperma zchlazené na teplotu asi 4 °C, použitelné k inseminaci 12 až 48 hodin po jeho odběru.

4. 4 Metodika chemického rozboru krmiv

Pro chemický rozbor krmiv byly použity komponenty z krmné dávky pro obě skupiny hřebců (kontrolní, pokusná). Krmivo, které bylo použito k chemickému rozboru je luční seno, oves a směs doplňkového granulovaného krmiva Höveler

Chemická analýza těchto krmiv byla provedena v laboratořích katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky na České zemědělské univerzitě v Praze.

4. 4. 1 Stanovení sušiny

Sušina je neodpařitelný zbytek krmiva, který zbyde po zahřívání a odpařování při teplotě 103 °C do konstantní hmotnosti. Zbytek po vysušení představuje sušinu krmiva. Výsledek se vyjádří procentuelně.

Výpočet a vyjádření výsledku: $S = (X/ Y) \times 100$

S = sušina původní hmoty v procentech

X = hmotnost vysušeného vzorku v gramech

Y = navážka vzorku v gramech

4. 4. 2 Stanovení popela

Popel je zbytek krmiva po dokonalém spálení při teplotě 550 °C. Vzorky krmiv byly spáleny v peci za stanovených podmínek (550 °C) do konstantní hmotnosti. Byla zjištěna hmotnost vzorku před spálením a po spálení.

Výpočet a vyjádření výsledku: $P = (X/ Y) \times 100$

P = obsah popela v procentech

X = hmotnost popela v gramech

Y = navážka vzorku v gramech 21

4. 4. 3 Stanovení tuku

Tuk je látka rozpustná v organickém rozpouštědle. Stanovení tuku bylo provedeno vázkově přímou extrakcí vzorku příslušným extrakčním činidlem - petroléterem, následným oddestilováním extrakčního činidla a vysušením vyextrahovaného tuku v sušárně při teplotě 95 °C.

Výpočet a vyjádření výsledku: $T = [(X - Y) / N] \times 100$

T = obsah tuku v procentech

X = hmotnost extrakční baňky s vyextrahovaným tukem v gramech

Y = hmotnost čisté extrakční baňky v gramech

N = navážka vzorku v gramech

4. 4. 4 Stanovení vlákniny

Obsah čisté vlákniny se stanoví jako rozdíl hmotnosti vysušeného zbytku po obou hydrolyzách a hmotnosti tohoto zbytku po spálení, vyjadřuje se v g/kg. Byla použita metoda stanovení vlákniny podle Henneberga a Stohmanna.

4. 4. 5 Stanovení dusíkatých látek

Byla použita metoda dle Kjeldahla, kde byl stanoven obsah dusíku a poté vynásoben koeficientem 6,25. Pro tuto metodu byl použit přístroj Kjeltec 2400 od firmy FOSS.

4. 4. 6 Stanovení BNLV

Obsah bezdusíkatých látek výtahových v krmivu stanovíme dopočtem tak, že odečteme od sušiny obsahy ostatních základních složek krmiva, které jsme stanovili chemickou analýzou (dusíkaté látky, tuk, vláknina, popel).

4. 5 Výpočty v programu Statistica

Získaná data byla statisticky zpracována pomocí programu STATISTICA 10 (StatSoft, Inc. (2009), STATISTICA - data analysis software system, version 10.0. www.statsoft.com). Byly určeny výběrové statistické hodnoty pro jednotlivé skupiny testovaných koní a poté byl použit nezávislý dvouvýběrový t-test pro zjištění průkaznosti rozdílu mezi testovanou a kontrolní skupinou koní na hladině významnosti 0,05.

5 Výsledky

Kompletní naměřená data se základním vyhodnocením jsou uvedena v příloze 1 - 11. K porovnání pokusné a kontrolní skupiny byl zvolen nezávislý dvouvýběrový t-test na hladině významnosti 0,05 (95%). Statisticky zpracovaná data jsou uvedena v příloze 12 - 17.

Výsledky jednotlivých ukazatelů biochemického a hematologického vyšetření byly zaneseny do grafu. Stejným způsobem bylo zpracováno i subjektivní bodové hodnocení koní.

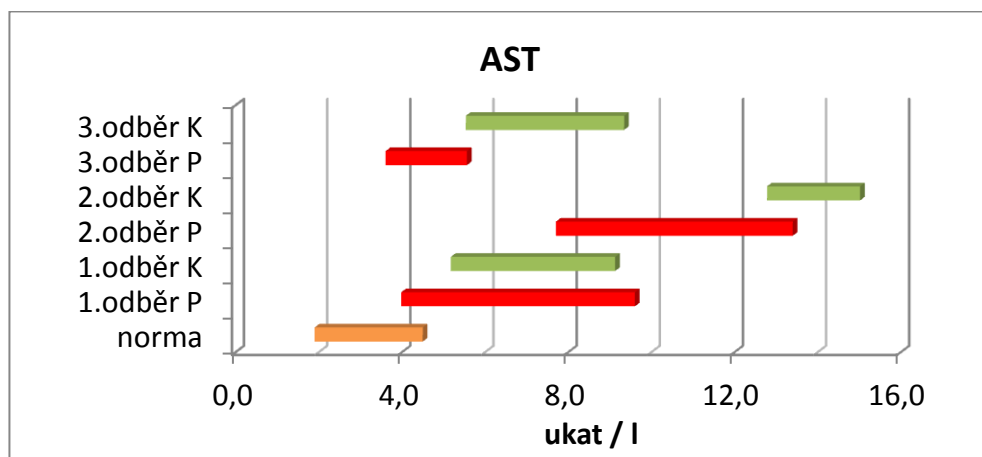
Skupina pokusná je v grafech označena jako P (červená) a kontrolní skupina jako K (zelená). V každém grafu jsou zaneseny všechny tři provedené odběry a fyziologické rozmezí (norma – oranžová). První odběr krve byl proveden u obou skupin koní před zahájením sledování, druhý po třiceti dnech zkrmování přípravku Silyfeed-L a třetí na konci sledování tj. šedesátý den zkrmování.

5. 1 Objektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L

5. 1. 1 Jaterní parenchym

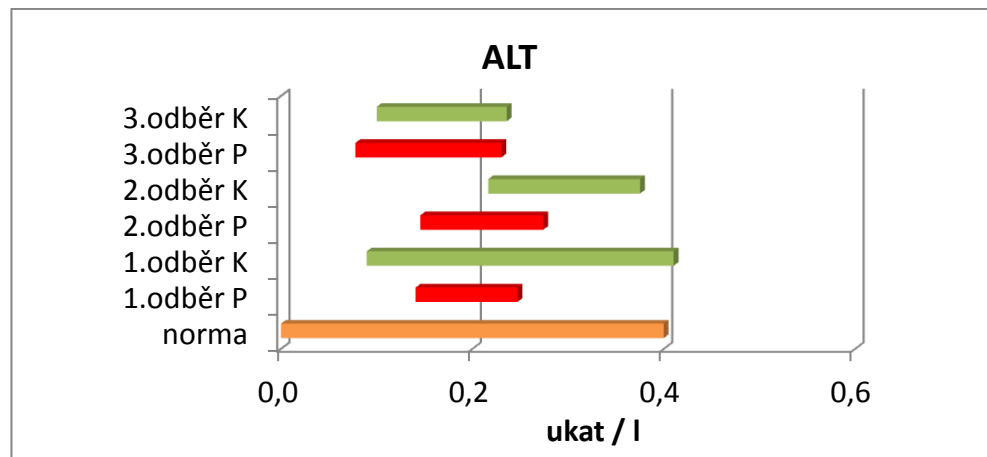
Graf č. 1 zobrazuje hladiny asparátaminotransferázy v průběhu testování vlivu krmeného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Všechny tři odběry u skupiny pokusné i kontrolní přesahují fyziologického rozmezí (dále normu). Během testace je viditelný pokles AST u pokusné skupiny oproti skupině kontrolní. Tento pokles je ve druhém a třetím odběru statisticky významný (na hladině významnosti 0,05).

Graf č. 1: Průměrné hodnoty AST v krvi



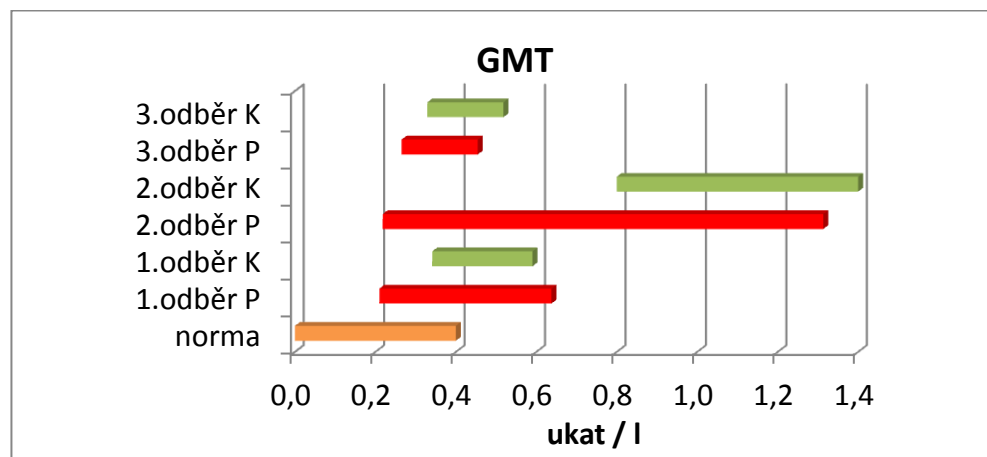
Graf č. 2 zobrazuje hladiny alaninaminotransferázy v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V prvním odběru kontrolní skupina mírně přesahovala hodnoty normy. Dále se již hodnoty obou skupin nacházely ve fyziologickém rozmezí. Hladina ALT se u pokusné skupiny při druhém odběru nepatrně zvýšila, při třetím odběru byla výrazně nižší než při prvním a druhém odběru. Po celou dobu testace byla hladina ALT u pokusné skupiny nižší oproti kontrolní skupině.

Graf č. 2: Průměrné hodnoty ALT v krvi



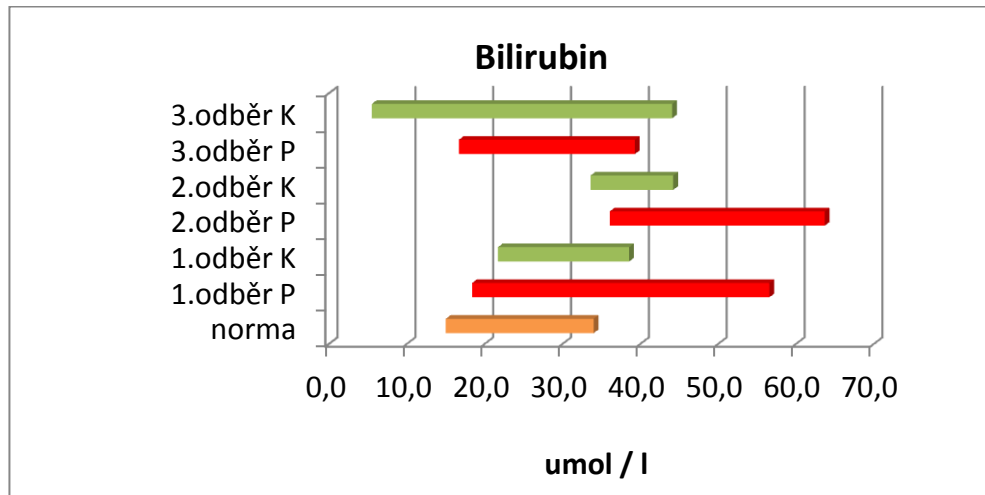
Graf č. 3 zobrazuje hladiny γ -glutamyltransferázy v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Všechny tři odběry vykazují vyšší hodnoty, než udává norma. Během testace se hladiny GMT pokusné skupiny udržovaly podstatně nižší oproti skupině kontrolní.

Graf č. 3: Průměrné hodnoty GMT v krvi



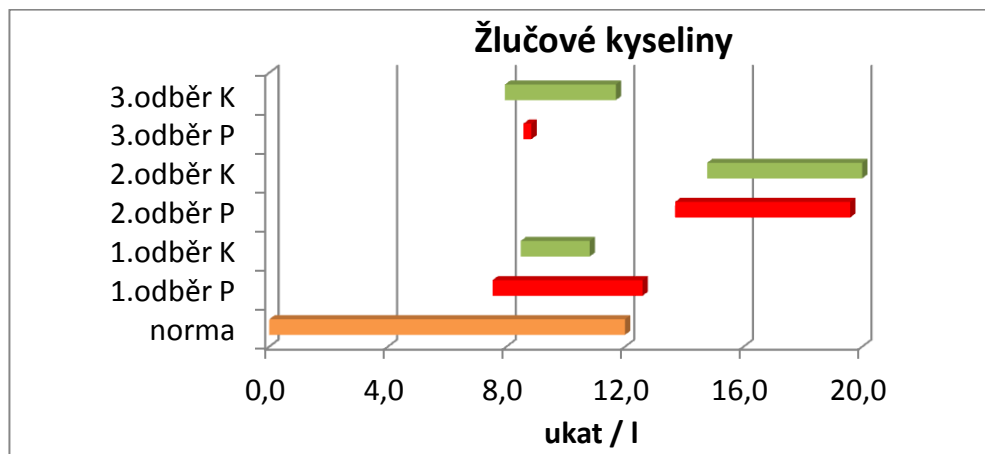
Graf č. 4 zobrazuje hladiny bilirubinu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace hodnoty u pokusné skupiny výrazně překračovali normu. Při třetím odběru hladina bilirubinu klesla do fyziologického rozmezí. U kontrolní skupiny byly hodnoty v průběhu testace nižší než u skupiny pokusné a výrazně se po tuto dobu neměnili.

Graf č. 4: Průměrné hodnoty Bilirubinu v krvi



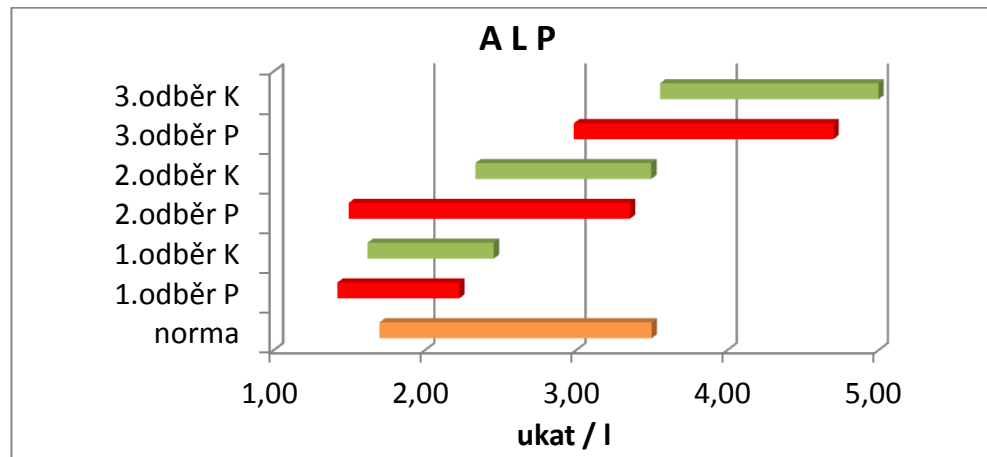
Graf č. 5 zobrazuje hladiny žlučových kyselin v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Při druhém odběru hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny překročili normu. Při třetím odběru hladina bilirubinu klesla do fyziologického rozmezí. U kontrolní skupiny byly hodnoty v průběhu testace nižší než u skupiny pokusné a výrazně se po tuto dobu neměnili.

Graf č. 5: Průměrné hodnoty žlučových kyselin v krvi



Graf č. 6 zobrazuje hladiny ALP v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Při první odběru zasahovali minimální hodnoty u obou skupin pod fyziologické rozmezí. Při druhém odběru se hodnoty dostaly do normy. Při odběru třetím skupina pokusná částečně překročila normu. Kontrolní skupina byla mimo normu v celém rozsahu. Během testace se hladiny ALP pokusné skupiny udržovaly nižší oproti skupině kontrolní.

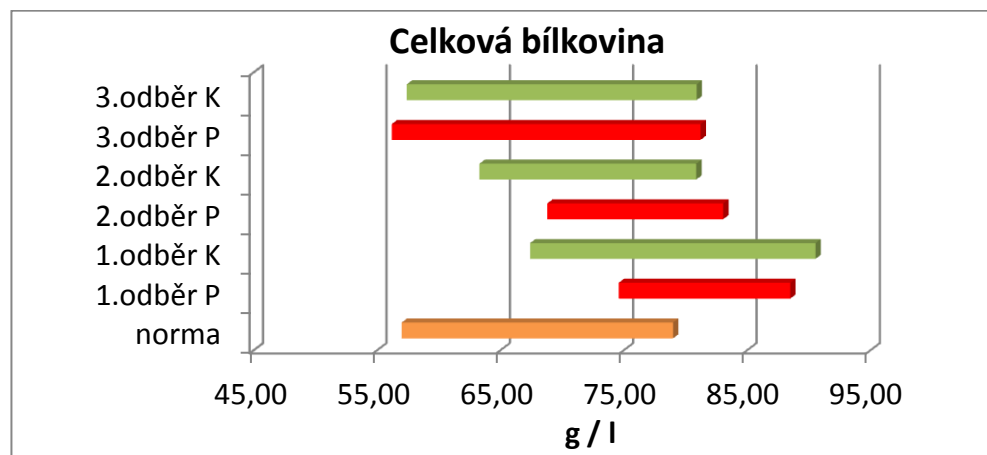
Graf č. 6: Průměrné hodnoty ALP v krvi



5. 1. 2 Obecné ukazatele

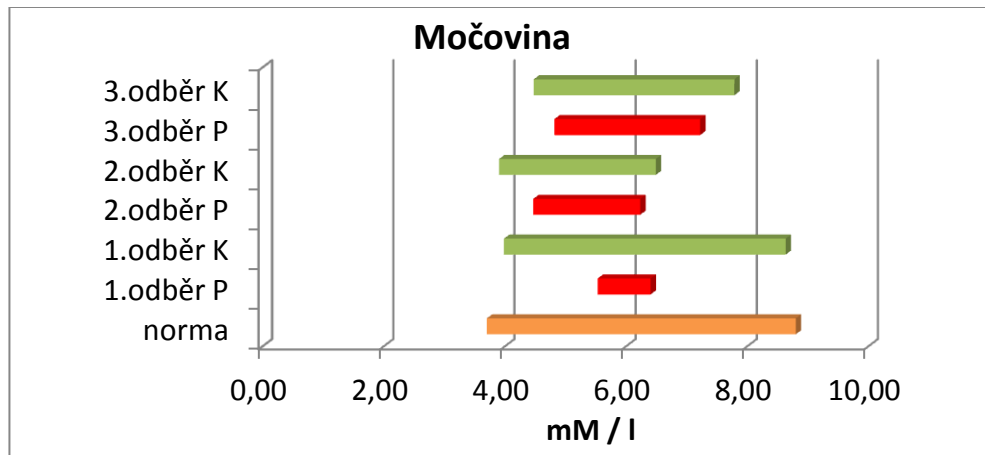
Graf č. 7 zobrazuje hladiny celkové bílkoviny v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny překročili normu. Hladiny pokusné i kontrolní skupiny se v průběhu testace neprůkazně snížily.

Graf č. 7: Průměrné hodnoty celkové bílkoviny v krvi



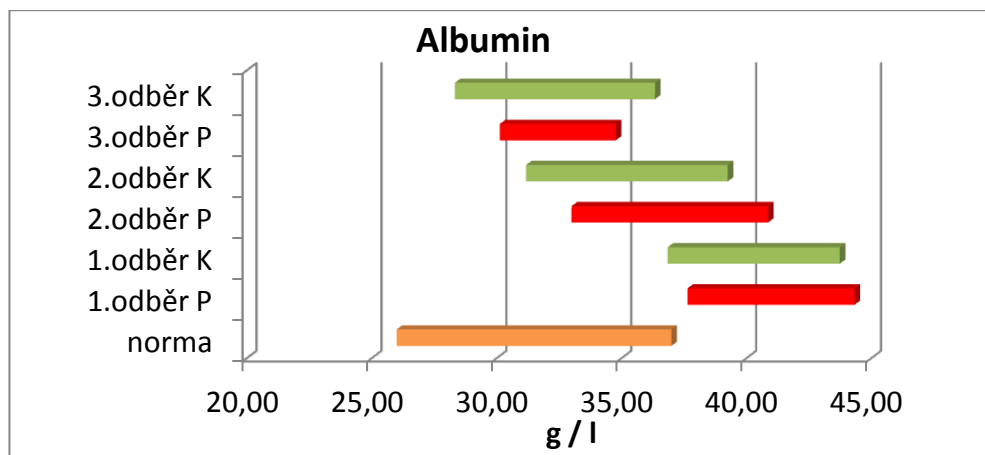
Graf č. 8 zobrazuje hladiny močoviny v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace nevybočovaly hodnoty z normy. Poměr pokusné skupiny vůči kontrolní se významně neměnil.

Graf č. 8: Průměrné hodnoty močoviny v krvi



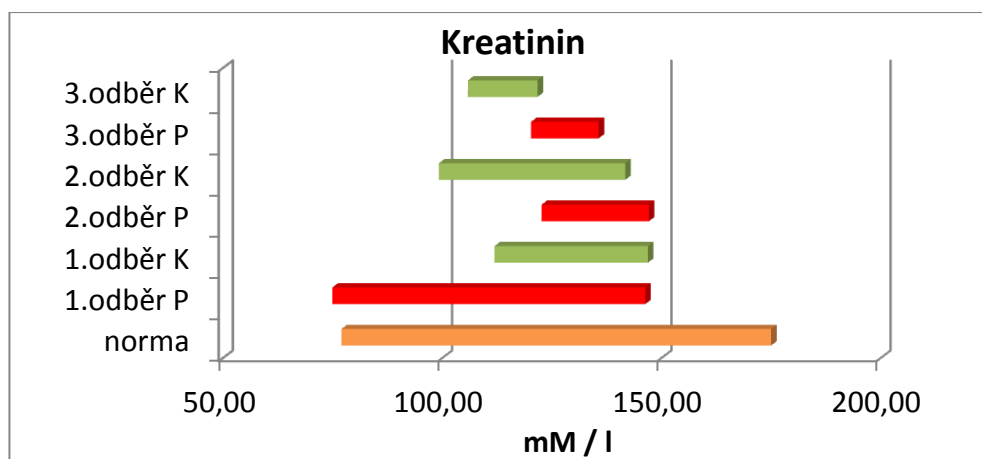
Graf č. 9 zobrazuje hladiny albuminu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny překročili normu. Hladiny pokusné i kontrolní skupiny se v průběhu testace neprůkazně snížily. Při třetím odběru hladina albuminu klesla do fyziologického rozmezí.

Graf č. 9: Průměrné hodnoty albuminu v krvi



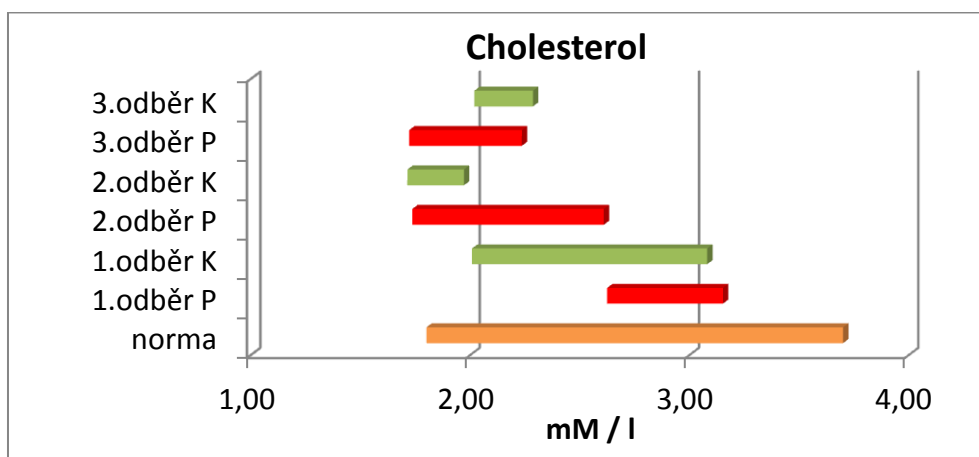
Graf č. 10 zobrazuje hladiny kreatininu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace nevybočovaly hodnoty z normy. Mírně pod hladinu fyziologického rozmezí se nacházel první odběr u pokusné skupiny.

Graf č. 10: Průměrné hodnoty kreatininu v krvi



Graf č. 11 zobrazuje hladiny cholesterolu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nevybočovaly z normy. U pokusné skupiny byl během všech tří odběrů patrný pokles hladiny cholesterolu v krvi. U kontrolní skupiny byl trend podobný jako u skupiny pokusné až na třetí odběr, kdy oproti druhému, odběru hladina cholesterolu mírně vzrostla.

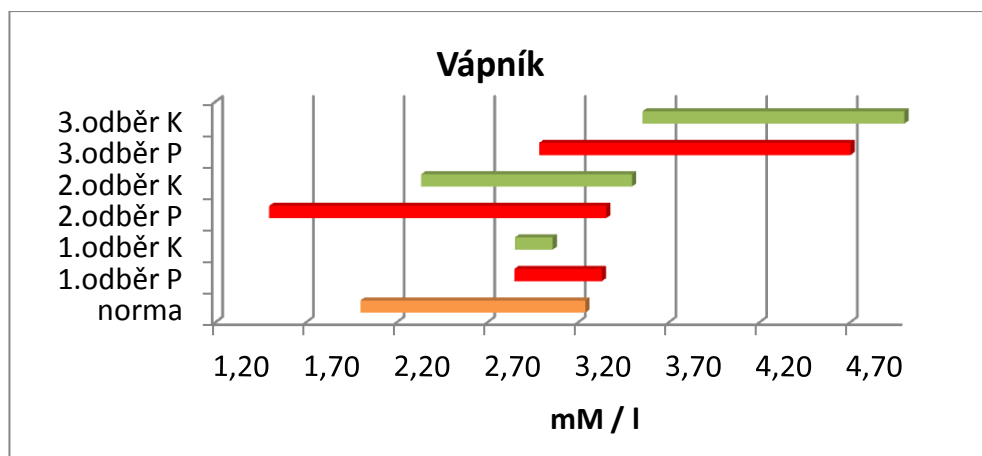
Graf č. 11: Průměrné hodnoty cholesterolu v krvi



5. 1. 3 Minerální látky

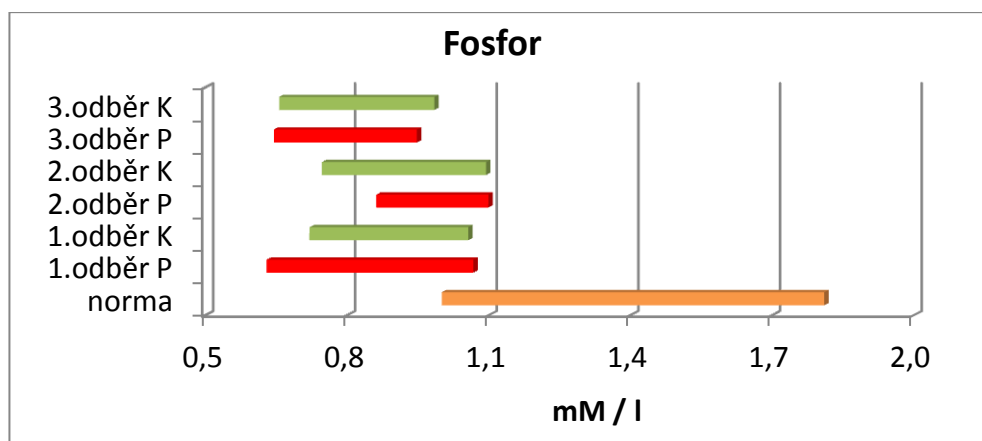
Graf č. 12 zobrazuje hladiny vápníku v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Při první a druhém odběru hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny mírně překročili normu. Při třetím odběru byla hladina vápníku u obou skupiny výrazně vyšší než udává fyziologické rozmezí. Hodnoty u pokusné skupiny se nacházely blíže stanovené normě oproti skupině kontrolní. Při druhém odběru byl tento rozdíl statisticky průkazný (na hladině významnosti 0,05).

Graf č. 12: Průměrné hodnoty vápníku v krvi



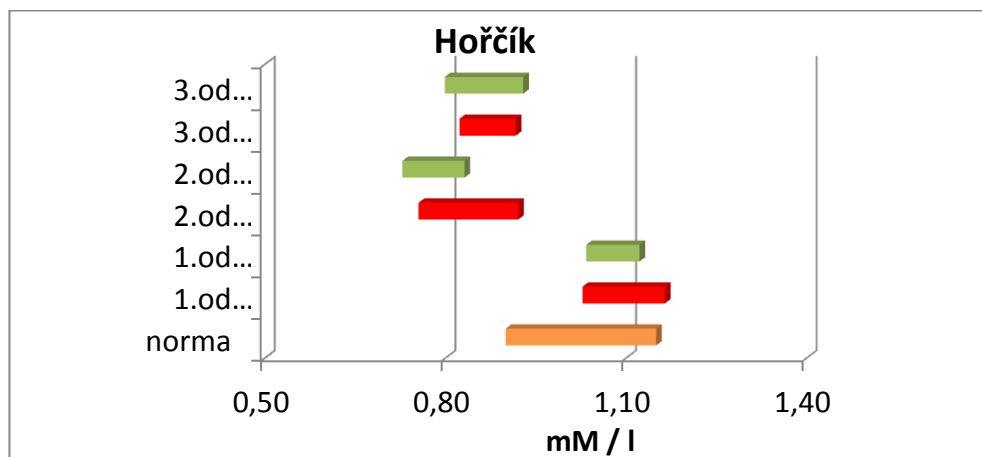
Graf č. 13 zobrazuje hladiny fosforu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace se hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nelišily. Hladina fosforu nedosahovala fyziologického rozmezí.

Graf č. 13: Průměrné hodnoty fosforu v krvi



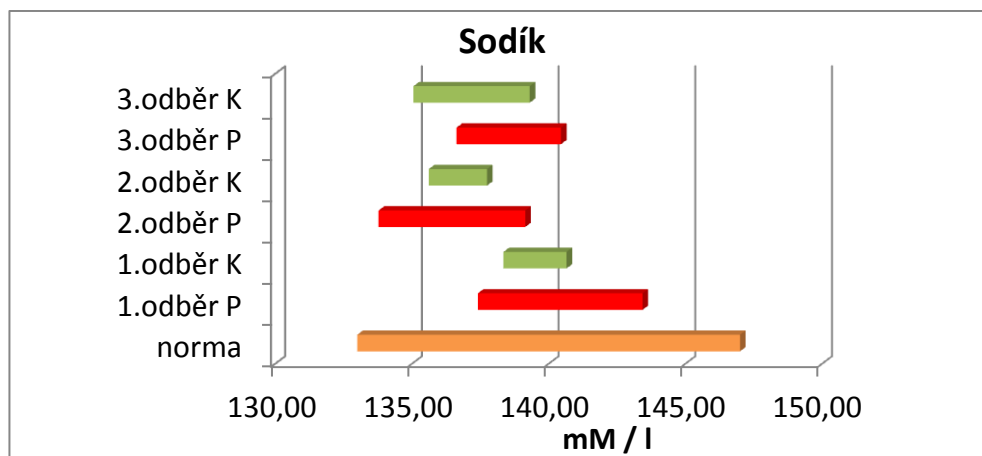
Graf č. 14 zobrazuje hladiny hořčíku v průběhu testování vlivu krmného doplňku Sily-feed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace se hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nelišily. Při prvním odběru se hladina hořčíku u obou skupin nacházela v normě. Při druhém a třetím odběru klesla hladina hořčíku pod fyziologické rozmezí.

Graf č. 14: Průměrné hodnoty hořčíku v krvi



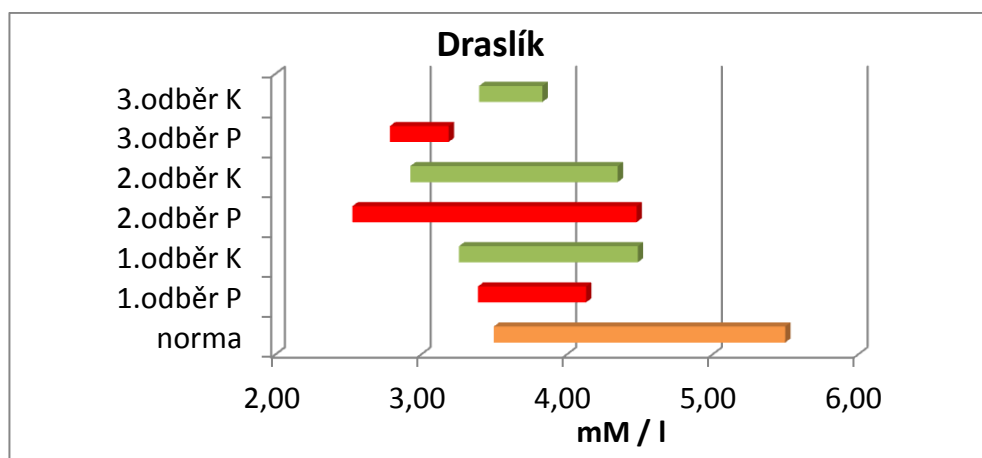
Graf č. 15 zobrazuje hladiny sodíku v průběhu testování vlivu krmného doplňku Sily-feed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace se hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nelišily. V průběhu testace nevybočovaly hodnoty z normy.

Graf č. 15: Průměrné hodnoty sodíku v krvi



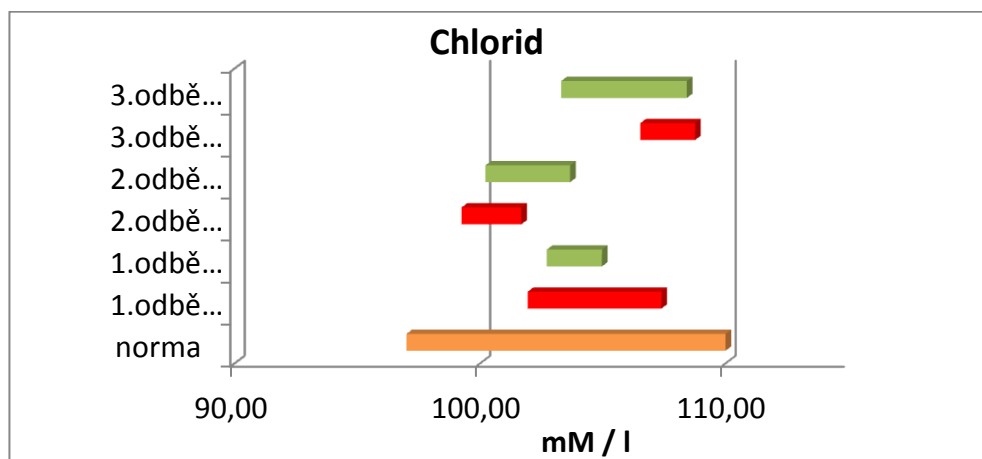
Graf č. 16 zobrazuje hladiny draslíku v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu prvních dvou odběrů se hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nelišily a nacházely se v normě a mírně pod normou. Při třetím odběru byl rozdíl mezi pokusnou a kontrolní skupinou statisticky významný (na hladině významnosti 0,05). Hladina draslíku se nacházela pod fyziologickým rozmezím u skupiny pokusné oproti skupině kontrolní, kde byla hladina v normě.

Graf č. 16: Průměrné hodnoty draslíku v krvi



Graf č. 17 zobrazuje hladiny chloridu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace se hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nelišily. V průběhu testace nevybočovaly hodnoty z normy.

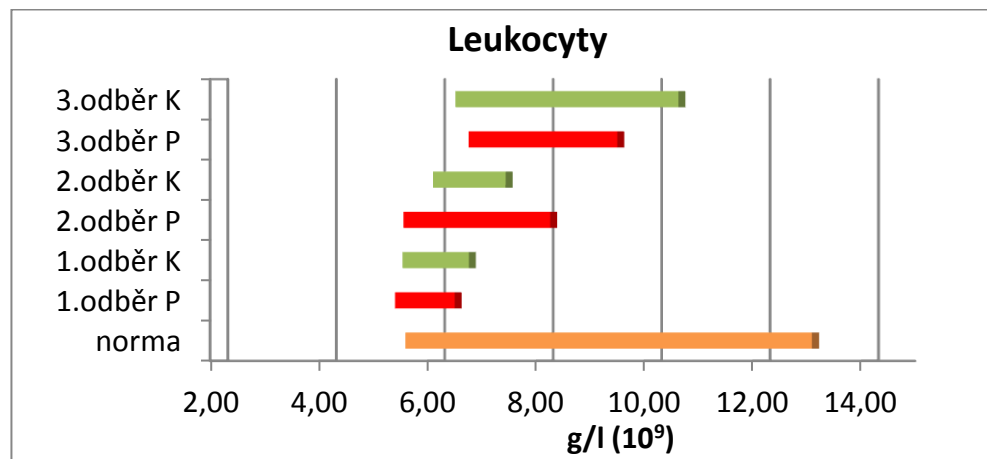
Graf č. 17: Průměrné hodnoty draslíku v krvi



5. 1. 4 Hematologie

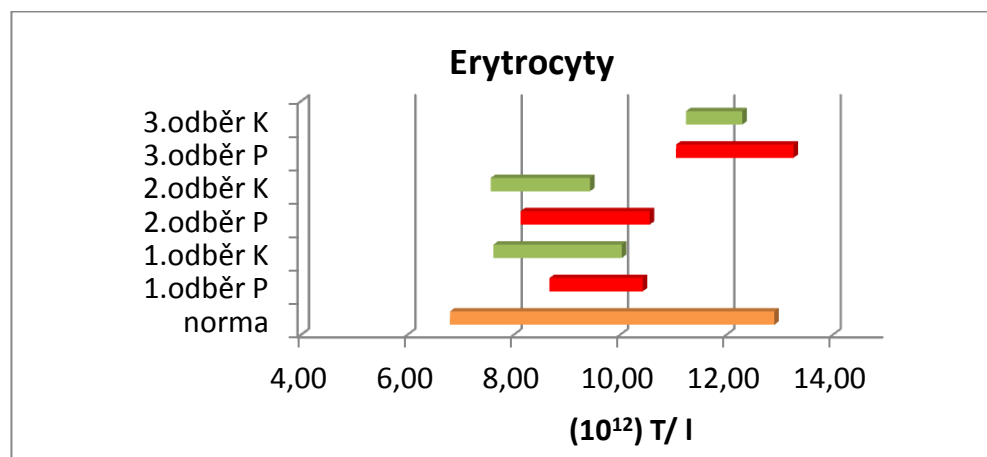
Graf č. 18 zobrazuje hladiny leukocytů v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace se hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nelišily. V průběhu testace nevybočovaly hodnoty z normy. U obou skupin je viditelný, avšak statisticky nevýznamný vzestup hladiny leukocytů.

Graf č. 18: Průměrné hodnoty leukocytů v krvi



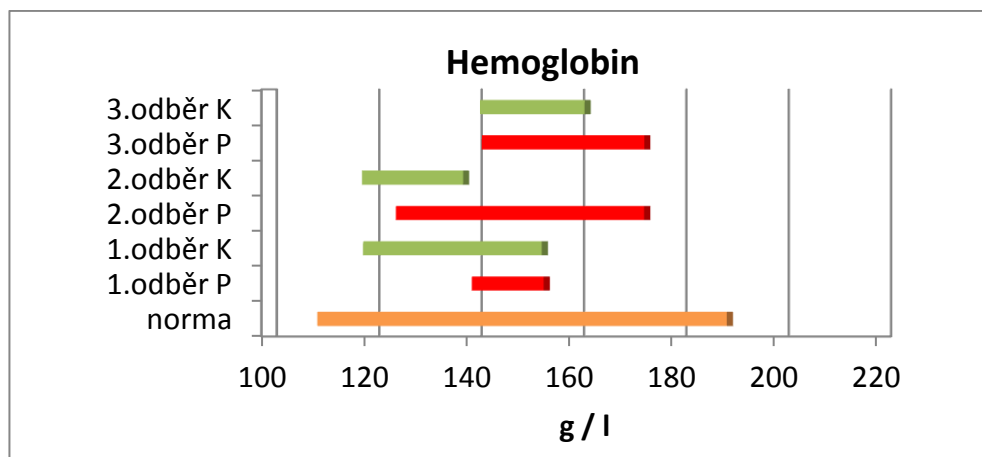
Graf č. 19 zobrazuje hladiny erytrocytů v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace se hodnoty u pokusné i kontrolní skupiny významně nelišily a nevybočovaly z normy. Při třetím odběru je u obou skupin patrný vzestup hladiny erytrocytů.

Graf č. 19: Průměrné hodnoty erytrocytů v krvi



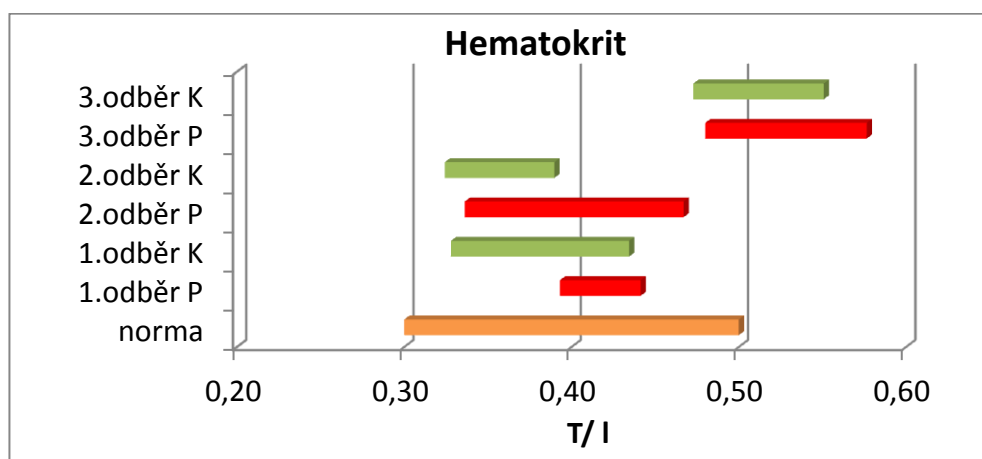
Graf č. 20 zobrazuje hladiny hemoglobinu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. V průběhu testace nevybočovaly hodnoty pokusné ani kontrolní skupiny z normy. Hodnoty hemoglobinu u pokusné skupiny oproti kontrolní byly v druhém a třetím odběru vyšší. Toto zvýšení nebylo statisticky významné.

Graf č. 20: Průměrné hodnoty hemoglobinu v krvi



Graf č. 21 zobrazuje hladiny hematokritu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. První odběr nevykazuje významný rozdíl mezi skupinami. První i druhý odběr se nachází v normě, při druhém odběru jsou hodnoty u pokusné skupiny nepatrně vyšší než u skupiny kontrolní. Třetí odběr nevykazuje významný rozdíl mezi pokusnou a kontrolní skupinou, nachází se však částečně mimo fyziologické rozmezí.

Graf č. 21: Průměrné hodnoty hematokritu v krvi



5. 2 Subjektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L

V tabulce č. 4 je vidět bodový souhrn subjektivního hodnocení, které probíhalo v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace.

V průběhu testace nevybočoval příjem krmiva z normy. U pokusné skupiny bylo vidět nepatrné zvýšení v příjmu krmiva oproti skupině kontrolní.

Aktivita koní v pokusné skupině měla v průběhu testace vzrůstající tendence. Skupina kontrolní nevykazovala žádné změny. Obě skupiny se pohybovaly v normě.

V průběhu podávání krmného doplňku Silyfeed – L nebyla zaznamenána žádná alergická reakce.

Bodové hodnocení welfare (psychická pohoda) bylo v průběhu testace shodné. Byl zaznamenán pouze mírný pokles u kontrolní skupiny při třetím odběru.

Tab. č. 4: Bodové hodnocení subjektivních ukazatelů

	1. odběr P	1. odběr K	2. odběr P	2. odběr K	3. odběr P	3. odběr K
Příjem	7,60	7,80	8,00	7,80	8,80	8,00
Aktivita	7,40	7,80	7,80	7,80	8,20	7,80
Alergická reakce	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Welfare	8,80	8,80	8,80	8,80	8,80	8,60

5. 3 Rozbor spermatu

Graf č. 22 zobrazuje průměrnou hustotu spermatu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Všechny tři odběry u skupiny pokusné jsou výrazně vyšší oproti skupině kontrolní. Tento rozdíl je při všech třech odběrech statistický významný (na hladině významnosti 0,05).

Graf č. 22: Průměrná hustota spermatu (mm³)



Graf č. 23 zobrazuje průměrné množství spermatu v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Při prvním a třetím odběru dosahovalo množství odebraného spermatu u skupiny kontrolní nepatrně vyšších hodnot než u skupiny pokusné. Druhý odběr byl u obou skupin shodný. Rozdíly v množství při prvním a posledním odběru nebyly statisticky významné (na hladině významnosti 0,05).

Graf č. 23: Průměrná množství spermatu (ml)



Graf č. 24 zobrazuje průměrnou motilitu spermií (pohyblivost) v průběhu testování vlivu krmného doplňku Silyfeed - L u pokusné a kontrolní skupiny koní během šedesátidenní testace. Všechny tři odběry u skupiny pokusné jsou výrazně vyšší oproti skupině kontrolní. Tento rozdíl je při všech třech odběrech statistický významný (na hladině významnosti 0,05).

Graf č. 24: Průměrná motilita spermií (%)



5. 4 Chemický rozbor krmiv

Tab. č. 4: Stanovení komponentů v krmivu (%)

Krmivo	Sušina	Popel	Tuk	Vláknina	NL	BNVL
Krmná směs 1	91,0	7,4	4,6	7,0	17,4	54,6
Krmná směs 2	94,5	7,6	3,1	0,8	6,5	76,5
Seno	93,5	4,8	1,9	31,7	6,8	48,3
Oves	90,7	2,8	3,6	12,3	10,1	61,9

6 Diskuze

Mezi pokusnou a kontrolní skupinou se projevíly statisticky významné rozdíly pouze u některých sledovaných ukazatelů. Příčinnou mohl být menší počet koní zařazený do pokusu a z toho vyplývající menší počet naměřených dat. Je tedy pravděpodobné, že při zvýšení počtu naměřených hodnot, by došlo k nárůstu počtu statisticky průkazných rozdílů pokusné a kontrolní skupiny a bylo by možno s větší jistotou interpretovat jejich tendence, které jsou patrné z grafů (viz. výše).

6. 1 Objektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L

6. 1. 1 Jaterní parenchym

V grafu č. 1 můžeme vidět rozdíl mezi hodnotami AST naměřených u pokusné a kontrolní skupiny v průběhu šedesátidenní testace. Z grafu je patrné, že ani jedna skupina po dobu testace nedosahovala hodnot normy. Hanák (1996) udává jako fyziologickou hodnotu AST 3,33 $\mu\text{kat/l}$. Doubek et al. (2007) publikuje širší referenční rozmezí hodnot AST, v rozsahu 3,7 – 6,0 $\mu\text{kat/l}$. Při prvním odběru, před začátkem podávání Silyfeedu – L, byly naměřené hodnoty u pokusné a kontrolní skupiny téměř totožné. Dále je možné vidět prohlubující se rozdíl mezi hodnotami skupiny pokusné vůči kontrolní. Ačkoliv se hodnoty pokusné skupiny při druhém odběru výrazně zvýšili oproti prvnímu odběru i oproti normě, rozdíl mezi skupinou pokusnou a kontrolní se dostal do rozmezí statistické významnosti na hladině 0,05. Hodnoty AST nacházející se dlouhodobě nad fyziologickou normou pravděpodobně souvisí spíše s dlouhodobou zátěží pohybového aparátu – kosterní svaloviny způsobenou tréninkem, sportovním zatížením a intenzivním využívání k odběru spermatu.

ALT na rozdíl od AST po dobu testace nepřekračuje fyziologické rozmezí. Přesto je v rámci normy, z grafu č. 2, patrný pokles hodnot u skupiny kontrolní. Také si můžeme povšimnout rozsahu hodnot u jednotlivých skupin. Skupina kontrolní se po dobu testace pohybuje ve větším rozpětí hodnot než skupina pokusná. Jako průměrnou hladinu ALT v krvi uvádí Hanák (1996) 0,38 $\mu\text{kat/l}$. Doubek et. al. (2007) u ALT žádné hodnoty neuvádí a v přehledu referenčních hodnot biochemických parametrů komentuje, že nemá diagnostickou hodnotu, ačkoliv sám popisuje, že ALT má zvýšené hodnoty při poškození jater, myopatiích nebo akutních pankreatitidách.

Naměřené hladiny enzymu GMT (graf č. 3), který se vyskytuje nejen v játrech, ale i v ledvinách, slinivce břišní a střevech, horní hladinou dosahovaly nad normu, což by mohlo souviset se zvýšenou zátěží. Mezi kontrolní a pokusnou skupinou se v průběhu testace nevyskytl významný rozdíl mezi naměřenými hodnotami. Pouze ve druhém odběru pokusná skupina vykazovala velký rozptyl naměřených hodnot. Což bylo pravděpodobně způsobeno výrazně vyšší hodnotou jednoho hřebce v pokusné skupině. Zbytek skupiny totiž dosahoval výrazně nižších hladin GMT. Toto potvrzuje myšlenku, že by bylo vhodné pokus opakovat na větší skupině koní a tím dosáhnout většího rozsahu dat nebo pokus vícekrát opakovat, aby bylo hodnocení průkazné. Třetí odběr se přibližuje více fyziologickému rozmezí a hladina GMT je u skupiny pokusné nepatrně nižší než u skupiny kontrolní. Rozdíl není statisticky významný.

V této práci srovnáváme výsledky s normou (fyziologickým rozmezím) stanoveným MVDr. Vladimírem Tluchořem, CSc, který prováděl a vyhodnocoval odběry krve sledovaných koní. Ten stanovil minimální hranici 0 $\mu\text{kat/l}$. a maximální 0,4 $\mu\text{kat/l}$. Avšak Hanák (1996) uvádí hodnotu pro GMT vyšší, než byla stanovena v pokusu, a to 0,501 $\mu\text{kat/l}$. Doubek et al.(2007) udává rozsah 0 – 0,2 $\mu\text{kat/l}$. Horní hranicí se tedy dostává na průměrnou hodnotu stanovenou MVDr. Vladimírem Tluchořem, CSc.

U hladiny bilirubinu se autoři Hanák (1996) a Doubek et al.(2007) rozcházejí pouze v dolní hranici hladiny, kdy Hanák (1996) uvádí rozmezí 0 – 34,2 $\mu\text{mol/l}$ a Doubek et al. (2007) 7 – 35 $\mu\text{mol/l}$. Z grafu č. 4 je patrný trend poklesu hladiny bilirubiny u skupiny pokusné oproti skupině kontrolní, kde můžeme poukázat spíše na mírné zvyšování hladiny v průběhu testace. Ve třetím odběru se pokusná skupina prakticky shoduje s rozsahem hodnot fyziologického rozmezí.

Žlučové kyseliny (graf č. 5) vykazují podobný trendy jako ostatní jaterní markery. Ačkoliv hodnoty při druhém odběru podstatně překročily normu u obou skupin, v pokusné skupině docházelo v průběhu testování k postupnému snižování hladin žlučových kyselin. Za povšimnutí stojí také zúžení rozmezí hodnot u pokusné skupiny ve třetím odběru. Hodnoty se u žádného z jedinců nevychylovaly a dosahovaly prakticky stejných hodnot u všech pěti hřebců, kteří přijímali Silyfeed – L.

Vzhledem k tomu, že jaterní enzymy u koní nejsou specifické pouze jako ukazatelé stavu jater, ale také se na nich odráží stav svalového metabolismu, můžeme ze všech jaterních výsledků usoudit, že hřebci měli v období před druhým odběrem krve vysokou zátěž. I přesto, že téměř u všech ukazatelů jaterního parenchymu byly hodnoty v druhém odběru výrazně zvýšené oproti prvnímu a třetímu odběru, je vidět trend snižování hodnot skupiny pokusné

vůči skupině kontrolní. Nicméně z důvodu nízkého počtu testovaných koní byl statisticky průkazný pokles na hladině významnosti 0,05 zaznamenán pouze u AST po třiceti i šedesáti denním užívání krmného doplňku.

Z celkového trendu jaterních markerů lze usoudit, že krmný doplněk Silyfeed - L pravděpodobně pozitivně ovlivnil regenerační schopnosti jaterního parenchymu a prokázal jistý, částečně statisticky podložitelný, hepatoprotektivní účinek.

6. 2 Obecné ukazatele

Obecné ukazatele biochemického profilu vesměs nevykazují žádné výrazné, nebo statisticky průkazné trendy a pohybují se v rozmezí fyziologických norem.

Jediný statisticky průkazný jev lze pozorovat u kreatininu (graf č. 10). Hodnoty se udržují v normě po celou dobu testace. Statisticky průkazný pokles na hladině významnosti byl zaznamenán ve třetím odběru, kdy hladina skupiny kontrolní klesla vůči skupině pokusné. Obě skupiny se však pohybovaly v rozmezí fyziologické normy, což potvrzuje i Doubek et al.(2007) a Hanák (1996), kteří shodně udávají hodnoty 106 - 168 $\mu\text{mol/l}$.

Také můžeme poukázat na postupný pokles cholesterolu v krvi, který je vidět v grafu č. 11. Tento pokles však není statisticky významný.

6. 3 Minerální látky

Sledované hladiny makroprvků se pohybovaly v rámci fyziologických norem nebo v blízkosti jejich dolní hranice. Horní hranice byla překročena pouze u vápníku u obou sledovaných skupin. Vzhledem k velkému rozsahu výsledných hodnot a malému počtu koní ve sledovaných skupinách se průměr těchto hodnot při druhém odběru projevil jako statisticky významný na hladině 0,05, ačkoliv z grafu č. 12 je patrné, že rozmezí hodnot u obou skupin se významně překrývá a tudíž rozdíl není tak výrazný.

V průběhu testace došlo k lehkému poklesu hladin hořčíku a draslíku. Nicméně tento pokles probíhal u skupiny pokusné i kontrolní zároveň, tudíž je pravděpodobné, že nesouvisel s podáváním krmného doplňku Silyfeed - L.

Z mikroprvků se v rozmezí fyziologické normy nacházelo pouze železo, které lehce překročilo hladinu normy v prvním odběru.

Hladiny mědi se pohybovaly těsně pod dolní hranicí rozmezí normy a u zinku byly hodnoty významně pod dolní hranicí normy. Tyto velmi nízké hodnoty zinku mohly být způsobeny jeho nízkým obsahem v krmné dávce.

Mezi pokusnou a kontrolní skupinou se nevyskytovaly statisticky významné rozdíly z čehož se dá soudit, že podávání přípravku Silyfeed – L nemá významný vliv na minerální metabolismus nebo se tento vliv po dobu šedesáti denní testace neprojevil.

Je pravděpodobně, že trendy projevující se u makroprvků i mikroprvků vypovídají o zvolené množství minerálních doplňků v krmné dávce.

6. 4 Hematologie

Hodnoty sledovaných hematologických ukazatelů se u skupin pokusné i kontrolní pohybovaly v rámci tolerance fyziologického rozmezí. Nebyl zaznamenán jednoznačný vliv krmného doplňku Silyfeed - L na celkové počty erytrocytů a leukocytů a množství hemoglobinu. V řadě studií byla potvrzena pozitivní korelace mezi počtem leukocytů a mírou produkce ROS (Aitken et al., 1994).

Mimo fyziologické rozmezí se při třetím odběru dostaly pouze hodnoty hematokritu. Hematokrit je poměr obsahu erytrocytů a krevní plazmy (graf č. 18). Zvýšené hodnoty se vyskytují zejména při dehydrataci organismu, přehřátí, po zátěži nebo při přetřénování (Hanák, 1996).

Statisticky průkazné na hladině významnosti 0,05 se projevily pouze hodnoty MPV při druhém odběru. Jakl (2010) definuje MPV jako střední objem destiček, který je ukazatelem aktivace a obměny trombocytů.

6. 5 Subjektivní ukazatele vlivu doplňku Silyfeed - L

Při subjektivním posouzení příjmu krmné dávky se rozdíly mezi pokusnou skupinou a kontrolní skupinou významně nelišily. U pokusné skupiny se bodové hodnocení mírně zvyšuje na rozdíl od skupiny kontrolní, kde příjem krmiva zůstává prakticky beze změny. Můžeme tedy konstatovat, že skupina, které byl do krmné dávky přidán krmný doplněk Silyfeed – L, přijímala potravu ochotněji a s větší chutí.

Stejné tendence jako příjem krmné dávky byly sledovány i u dalších subjektivních ukazatelů, kterými byli aktivita a welfare. U žádného z těchto ukazatelů se neprojevil statisticky významný rozdíl mezi skupinou pokusnou a kontrolní. Můžeme však konstatovat, že Silyfeed – L měl pozitivní vliv na jednotlivé ukazatele a trend byl postupně zvyšování bodové ho hodnocení u pokusné skupiny, zatímco u skupiny kontrolní bodové hodnocení stagnovalo nebo se snižovalo.

V průběhu šedesátidenní testace vlivu krmného doplňku Silyfeed - L se neprojevila žádná alergická reakce u pokusné skupiny koní.

6. 6 Rozbor spermatu

Hodnocení spermií vycházelo ze záznamů prováděných v Equnním reprodukčním centru v Mněticích. Při každodenním odběru spermatu pro účely inseminace zde probíhá vyhodnocení kvality spermatu, které se skládá za tři ukazatelů. Hodnotí se zde objem ejakulátu v mililitrech (ml), koncentrace tj. počet spermií v milimetrech krychlových (mm^3) a motilita neboli pohyblivost spermií v procentech (%).

Dle grafu č. 23 se objem ejakulátu u pokusné a kontrolní skupiny výrazně nelišil. Druhý kvantitativní ukazatel, hustota (koncentrace) spermií, vykazoval značné rozdíly mezi skupinou pokusnou a kontrolní. Tento rozdíl, viditelný v grafu č. 22, byl v prvním a druhém odběru statisticky průkazný na hladině významnosti 0, 05. Ve třetím odběru byla koncentrace spermií u pokusné skupiny stále významně vyšší, ale už statisticky neprůkazná. Pavlík and Sláma (2011) jako průměrnou koncentraci uvádí 130 000 spermií v 1mm^3 .

Hřebci v inseminačním centru ERC Mnětice byly odebíráni s ohledem na počet inseminačních dávek, objednaných toho dne chovateli. Toto se mohlo promítnout do kvantitativních ukazatelů spermatu. Jednotlivé frakce ejakulátu mají různou koncentraci spermií, tudíž při odběru zejména prostřední frakce, mohlo dojít ke zkreslení výsledků, kdy celková koncentrace spermií by se ukazovala jako vyšší než při standardním odběru všech frakcí ejakulátu. Stejný problém provází i zhodnocení objemu spermatu. V případě nižšího počtu objednaných inseminačních dávek se neodebíral všechen vyprodukovaný ejakulát, ale pouze jeho prostřední nejkvalitnější frakce. Tento postup byl zvolen z důvodu zkvalitnění služeb chovatelům a zvýšení pravděpodobnosti zabřezávání klisen.

Nejprůkazněji se v rámci testace jeví motilita neboli pohyblivost spermií. Věžník (2004) uvádí, že motilita spermií, její posuzování a kvalitativní hodnocení, patří na přední místa spermatoanalytických metod. V grafu č. 22 je patrný rozdíl mezi skupinou pokusnou

a kontrolní. Tento rozdíl je ve všech odběrech po dobu testace statisticky významný na hladině 0,05. Hodnoty pokusné skupiny se v průběhu testace významně nemění oproti skupině kontrolní, kde je patrný trend poklesu aktivity spermií.

Skutečnost, že výsledné hodnoty motility u pokusné skupiny, ač statisticky průkazné, nevykazují zvyšující se trend, ale spíše setrvávají ve vyšších hodnotách a naopak skupina kontrolní vykazuje vůči skupině pokusné v průběhu testace pokles, budou pravděpodobně způsobeny tím, že se doba začátku odběru spermatu přesně nepřekrývala se začátkem podávání krmného přípravku Silyfeed- L. To způsobilo, že se hodnoty nezvyšovaly, ale pouze dosáhly poměrně vysokých dále stagnujících hodnot.

Průměrné dosahované hodnoty aktivity spermií u pokusné skupiny při testaci krmného doplňku Silyfeed – L můžeme konstatovat jako poměrně vysoké, když vezmeme v úvahu fyzickou zátěž hřebců a jejich pravidelné odebírání ejakulátu za účelem inseminace.

7 Závěr

Umělá inseminace koní se v současné době stává stále populárnější. Jedná se o techniku, při které se eliminuje několik negativních faktorů doprovázejících přirozenou plemenitbu (např. poranění klisny nebo hřebce, přenos chorob, transport klisny ke hřebci na velké vzdálenosti, nadměrné využívání hřebce) a současně stoupá efektivita plemeníka (z jednoho odběru je možné vyrobit více inseminačních dávek). I to je důvodem proč se chovatelé snaží najít co nejefektivnější krmné doplňky, které budou mít vliv nejen na sportovní výkonnost, ale u plemenných hřebců i na kvalitu spermatu.

Na základě poznatků z prostudované literatury a vlastních výsledků z pokusných pozorování lze vyvodit některé obecně platné závěry.

Krmný doplněk Silyfeed - L prokázal hepatoprotektivní a regenerační účinky. To bylo prokázáno snížením některých hladin jaterních enzymů (AST, ALT, GMT, bilirubin) a dalších ukazatelů ovlivňujících jaterní metabolismus. Některé jaterní enzymy u koní mají také vliv na svalový metabolismus. Jejich pokles u skupiny pokusné vůči kontrolní prokazují schopnost přípravku Silyfeed – L optimalizovat a regenerovat svalový metabolismus. Tyto účinky nemají vliv pouze na sportovní využití koní, ale úspěšně mohou být užívány i v reprodukci, kde je vyvíjen tlak nejen na pohlavní soustavu koně, ale zejména u plemenných hřebců využívaných k pravidelné inseminaci, právě i na svalovou soustavu.

Tento krmný expeler díky svému specifickému složení s vysokým obsahem látek flavonoidní a flavonolignanové povahy s významnými antioxidačními účinky, také pozitivně ovlivňuje úroveň tzv. oxidativního stresu. Produkce ROS v reprodukčním systému samců je součástí fyziologických procesů, avšak nerovnováha mezi generováním a odstraňováním ROS vede k poškození spermií a je jednou z příčin neplodnosti.

Z výsledků rozborů spermatu jde usoudit, že krmný doplněk Silyfeed – L má vliv na kvalitu spermatu hřebců. Ovlivnění jsme mohli pozorovat zejména u motility spermií. Kvalita ejakulátu a jeho fertilizační potenciál však závisí na mnoha faktorech, z nichž nejdůležitější je kvalita samotných gamet – spermií a složení semenné plazmy. Semenná plazma poskytuje spermiím ochranu proti nepříznivému vlivu prostředí, obsahuje zdroje energie pro spermie a podněcuje je k pohybu.

K významnějšímu posouzení vlivů krmného expeleru Silyfeed - L na kvalitativní a kvantitativní ukazatele ejakulátu hřebců by bylo vhodné provést další testace, kde by bylo pozorováno více jedinců a biochemické a hematologické rozborů by měly díky více naměřeným hodnotám větší statistickou průkaznost. Dále bych doporučovala provést rozmanitější laboratorní rozborů, které se orientovaly spíše na fertilitu a motilitu spermií než na objem a koncentraci, která není pro testaci podávání krmného přípravku přímo průkazná.

8 Použitá literatura

AGARWAL, A. 2003. Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: A prospective observational study. Elsevier. 2 (80). DOI: 10.1016/S0015-0282(03)00983-X

AITKEN, R. J., GORDON, E., HARKISS, D., TWIGG, J. P., MILNE, P., JENNINGS, Z., IRVINE, D. S. 1998. Relative Impact of Oxidative Stress on the Functional Competence and Genomic Integrity of Human Spermatozoa. *Biology of reproduction*. 59. 1037 – 1046 p. ISSN: 1529-7268.

AITKEN, R. J., WEST, K., BUCKINGHAM, D. 1994. Leukocytic infiltration into the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress, and sperm function. *International journal of andrology*. 15. ISSN: 0105-6263.

AUSTIN, C. R. 1951. *Australian journal of scientific research. Biological sciences*. csiro publishing. Australia. ISSN: 0365-365X.

BROWN, D. J. 1997. *Herbal prescriptions for better health: Your up-to-date guide to the most effective herbal treatments*. Rocklin. Prima Lifestyles. 368 p. ISBN: 076151001X

BUCHTA, M., J. RAŠKA, T. KONEČNÝ. 2010. *Sborník XVI. odborného semináře s mezinárodní účastí aktuální otázky pěstování, zpracování a využití léčivých, aromatických a kořeninových rostlin: Ostropestřec mariánský – zdroj esenciálních mastných kyselin*. ČZU Praha, FAPPZ. Power print s.r.o. 250 s. ISBN: 978 -80-213-2121-2.

CIBULKA, T. 2006. *Vliv imunizace na aktivitu jaterních enzymů*. Diplomová práce. Masarykova univerzita v Brně. Ústav experimentální biologie. Brno. 99 s.

CLARK, J. 1998. *The human body: a comprehensive atlas of the structures of the human body*. Marshall visual guide. Marshall Pub. London. 338 s. ISBN: 18-402-8055-7.

- COSSON, J. 1996. A moving image of flagella: news and views on the mechanisms involved in axonemal beating. *Cell Biology International*. 20 (2). 83-94. ISSN: 1095-8355.
- DOVALIL, J. 2002. Výkon a trénink ve sportu. Olympia. Praha. 331 s. ISBN: 80-703-3760-5.
- DUŠEK, J. 2007. Chov koní. Praha, Brázda, 400 s. ISBN: 978-80-209-0352-5.
- ELLIS, H., LOGAN, B., DIXON, A. K. 2007. Human sectional anatomy: atlas of body sections, CT and MRI images. Hodder-Arnold. London. 267 s. ISBN: 978-034-0912-225.
- FIERS, W., BEYAERT, R., DECLERCQ, P., VANDENABEELEW, P. 1999. More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. *Oncogene*. NPG. 18 (54). ISSN: 0950-9232
- FLOHÉ, L., BRIGELIUS – FLOHÉ, R., SALIOU, C., TRABER, M. G., PACKER, L. 1997. Redox regulativ of NF-kappa B activation. *Free Radic Biol Med*. Elsevier. Berkeley. 22 (6). 1115 - 1126 p. ISSN: 0891-5849
- GAMČÍK, P., KOZUMPLÍK, J. a kol. 1992. Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat. *Príroda*. Bratislava. 299 s. ISBN: 80-07-00540-4.
- GARY, C. W. 2005. Fertility &obstetrics in the horse. Blackwell Science Ltd. England. 307 s. ISBN: 101- 4051-2095-9.
- GRANDJEAN, D., HAYMANN, F., 2010: The dog encyclopaedia, Royal Canin. Diffo print Italia. Torino. 1004 s.
- GUTTERIDGE, J.M.C., HALLIWELL, B. 2010. Biochemical and Biophysical Research Communications: Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. Potters Bar. Hertfordshire. 4 (393). ISSN: 0006-291X.

HÄRTLOVÁ, H., FUČÍKOVÁ, A. 2009. Fyziologie a hygiena výživy a alimentární onemocnění hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita. Praha. 212 s. ISBN: 978-80-213-1885-4.

HAYES, J. D. A McLELLAN, L. I. 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. Free Radical Research. 4 (31). ISSN: 1071 – 5762

INDRÁK, P., CHYTILOVÁ, D. K. 1992. K problematice stanovení silybinu v droze ostropestřce mariánského (*Silybum marianum* L. Gaertn.). Zahradnictví. 19 (4). 309 - 313 s. ISSN: 1213-7596

JAKL, M. 2010. Vztah mezi středním objemem destičky, počtem destiček, odpovědí na protideštičkovou léčbu a dvouletou letalitou u pacientů s akutním koronárním syndromem. In: [online]. 2010 [cit. 2013-04-08]. Dostupné z: <http://www.cksonline.cz/19-vyrocní-sjezd-cks/>

JANČÍK, J., ZÁVODNÁ, E., NOVOTNÁ, M. Fyziologie tělesné zátěže – vybrané kapitoly [online]. Is.muni [cit.2013-03-08]. Dostupné z: <http://is.muni.cz/elportal/estud/fsps/js07/fyziology/texty/index.html>

JEGEROV, A. 1996. Flavanolignany - novověká chemie léčivé rostliny známé již před Kristem. Chemické listy. 90. 859 – 862 s.

JI, B. T., SHU, X. O., ZHENG, W., WACHOLDER, S., GAO, Y. T., YING, D. M. a JIN, F. 1997. Journal of the National Cancer Institute: Paternal cigarette smoking and the risk of childhood cancer among offspring of nonsmoking mothers. JNCI. 3 (89). ISSN: 0027-8874.

JIRKA, Z. 1990. Regenerace a sport. Praha. Olympia. 253 s. ISBN: 80-703-3052-X.

KALAC, P. 2003. Funkční potraviny: kroky ke zdraví. Dona. České Budějovice. 130 s. ISBN: 80-732-2029-6.

KODÍČEK, M. Kyseliny žlučové. Biochemické pojmy : výkladový slovník [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2007 [cit. 2012-03-12]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=kyseliny_zlucove

KŘEN V., KUBISCH, J., SEDMERA, P., HALADA, P., PŘIKRYLOVÁ, V., JEGOROV, A., CVAK, L., GEBHARDT, R., ULRICHOVÁ, J., ŠIMÁNEK, V. 1997. Glycosylation of silybin. *Journal of the Chemical Society*. 1 (17). 2467-2474 s.

KUBISZ, P. a DOBROTOVÁ, M. 2006. Hematológia a transfuziológia. Grada Slovakia. Bratislava. 323s. ISBN: 80-247-1779-4.

LECLERC, P., LAMIRANDE, E., GAGNON, C. 1997.: Regulation of protein - tyrosine phosphorylation and human sperm capacitation by reactive oxygen derivatives. *Free radical biology*. 22. 643 -656 p. ISSN: 0891-5849.

LEFEBVRE, R., SUAREZ, S. S. 1996. Effect of Capacitation on Bull Sperm Binding to Homologous Oviductal Epithelium. *Biology of reproduction*. 54 (3) 575-582p. ISSN: 0006-3363

MANN, T. 1981. Male reproductive function and semen: themes and trends in physiology, biochemistry and investigative andrology. Berlin. Springer. 493 s. ISBN: 35-401-0383-X.

MARTIROSYAN, D. M. 2006. Functional Foods for Chronic Diseases. D&A Inc. ISBN: 9780976753520.

MURRAY, R. K. 2002. Harperova biochemie. H & H. Jinočany. 872 s. ISBN: 80-731-9013-3

NEILL, J.D., Knobil, E. 2006. Knobil and Neill's physiology of reproduction. Elsevier. Amsterdam. 3230 s. ISBN: 01-251-5401-1.

OPLETAL, L. a VOLÁK, J. 1999. Rostliny pro zdraví. Aventinum. Praha. 176 s. ISBN: 80-715-1074-2.

- OPLETAL, L., ŠIMERDA, B. 2010. Přírodní látky a jejich biologická aktivita: Fytoestrogeny přírodního původu, výskyt v krmivovém (potravním) řetězci, pozitivní a negativní účinky. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha. 120 s. ISBN: 9788074030673
- PAVELA, R. 2006. Rostlinné insekticidy: hubíme hmyz bez chemie. Grada. Praha. 75 s. Česká zahrada. ISBN: 80-247-1019-6.
- PAVLÍK, A. a SLÁMA, P. 2011. Morfologie a fyziologie hospodářských zvířat. Mendelova univerzita. Brno. 142 s. ISBN: 978-80-7375-479-2.
- RADA, V. a HAVLÍK, J. 2010. Enzymy ve výživě hospodářských zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha. 37 s. ISBN: 978-80-7403-065-9.
- RAMAWAT, K. a MERILLON, J. 2008. Bioactive molecules and medicinal plants. Springer. Berlin. 379 s. ISBN 35-407-4600-5.
- REECE, W. O. 1998. Fyziologie domácích zvířat. Grada. Praha. 449 s. ISBN 80-716-9547-5
- RODER, J. D. 2001. Veterinary Toxicology. Butterworth Heinemann. Boston. 403 p.
- ROZTOČIL, A. 2008. Moderní porodnictví. Praha. Grada. 405 s. ISBN: 80-247-1941-X.
- SAASTAMOINEN, M. T., ROSSET, M. W. 2008. Nutrition of the exercising horse. Wageningen. Wageningen Academic Publishers. 432 s. ISBN: 978-908-6860-715.
- STOCKER, R., YAMAMOTO, Y., McDONAGH, A. F., GLAZER, A. N., AMES, B. N. 1987. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. American Association for the Advancement of Science. 235 (4792). 1043-1046 p.
- ŠÍPEK, S. 2000. Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Praha. Grada. 314 s. ISBN: 80-716-9704-4.
- ŠÍŠKOVÁ, M. 2009. Známe referenční interval glutamátdehydrogenázy? Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně. Lékařská fakulta. Brno. 47 s.

TLUČHOŘ , V. 10. května 2011. pers. comm.

VĚŽNÍK, Z., ŠVECOVÁ, D., ZAJÍCOVÁ, A., REČKOVÁ, Z., RUBEŠ, J. 2007. The interrelationship between quality parameters of sperm before and after separation by gradient centrifugation. *Veterinární medicína*. 52 (10). 423 - 429. ISSN: 0375-8427

WANG, X, SHARMA, R. K., GUPTA, A., GEORGE, V., THOMAS, A. J., FALCONE, T., ACKERMAN, S. 1992. *Discovering the brain*. Washington D.C. National Academy Press. ISSN: 0006-3363.

WAGNER, H., HÖRHAMMER, L., MÜNSTER, R. 1968. On the chemistry of silymarin (silybin), the active principle of the fruits from *Silybum marianum*. *Arzneimittelforschung*. 18 (6). 688-96 p. 196

WILHELM, Z. 2007. Fyziologie jater. *Praktické lékařství*. 3 (5). 242 – 245. ISSN: 1803 - 5329

9 Seznam použitých zkratek

ALPalkalická fosfatáza
ALTalaninaminotransferáza
ASTaspartátaminotransferáza
ATPadenosintrifostát
BNVLbezdušikaté látky výtažkové
Cavápník
CKkreatinkináza
Clchlór
CoAkoenzym A
Cuměď
ERCequinní Reprodukční Centrum
Feželezo
GGTgama-glutamyltransferáza
GMDglutamátdehydrogenáza
GMTgamaglutamyltransferáza
Kdraslík
LDHlaktátdehydrogenáza
Mghořčík
Mnmangan
MPVstřední objem destiček
Nasodík
NADPHnikotinamid adenin dinukleotid
NTS	
NKnukleové kyseliny
NLdušikaté látky
NOoxid dusnatý
O ₂kyslík
Pfosfor
RNSreaktivní formy dusíku
ROSreaktivní formy kyslíku
Seselen
SNLstravitelné dusíkaté látky
SODsuperoxiddismutáza
TAGtriacylglyceroly
TNFfaktor způsobující nekrózu nádorů (tumor necrosis factor)
Znzinek

Přílohy

Biochemické hodnoty (přílohy 1 – 11), které mají žluté pozadí se nacházejí v rámci fyziologického rozmezí. Hodnoty pod dolní mezí (DM) fyziologického rozmezí mají světle pozadí. Hodnoty nad horní mezí (HM) fyziologického rozmezí mají světle červené pozadí.

V tabulkách se statickým zpracováním dat (přílohy 12 - 17) jsou červeně vyznačeny data se statistickou významností na hladině 0,05.

Příloha 1 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr (den 0), skupina pokusná (P), 1. část

L.odběr P	počet	5			Hřebci - pokus					f	r	DM	95% interval spolehlivosti rozpětí	HM	f-norma
		fyziologické rozmezí			Artist	Carpalo	Comero	Quirado	Mineral						
		DM	HM	f norma	1	2	3	4	5						
Celková bílkovina g/l	57,00	79,00	68,00	78,98	76,54	81,48	82,55	88,16	81,54	4,37	74,59	13,91	88,50	13,54	
Albumin g/l	26,00	37,00	31,50	42,83	37,59	40,89	40,98	42,64	40,99	2,10	37,64	6,69	44,33	9,49	
Urea mM/l	3,70	8,80	6,25	5,92	6,00	5,75	5,58	6,58	5,97	0,38	5,53	0,88	6,40	-0,28	
Glukóza mM/l	4,16	6,38	5,27	7,38	3,70	6,91	8,13	6,13	6,45	1,70	4,49	3,92	8,41	1,18	
Triglyceridy mM/l	0,15	0,57	0,36	0,33	0,22	0,32	0,40	0,28	0,31	0,07	0,23	0,15	0,39	-0,05	
Cholesterol mM/l	1,80	3,70	2,75	3,13	2,97	2,92	2,91	2,51	2,89	0,23	2,62	0,53	3,15	0,14	
Kreatinin µM/l	77,00	175,00	126,00	115,70	65,40	112,50	107,00	152,40	110,60	30,96	74,91	71,38	146,29	-15,40	
AST µkat/l	1,90	4,50	3,20	6,46	2,81	8,89	7,23	8,58	6,79	2,44	3,98	5,62	9,60	3,59	
ALT µkat/l	0,00	0,40	0,20	0,13	0,16	0,23	0,23	0,22	0,19	0,05	0,14	0,11	0,25	-0,01	
GMT µkat/l	0,00	0,40	0,20	0,34	0,21	0,50	0,37	0,70	0,42	0,19	0,21	0,43	0,64	0,22	
Bilirubin Total µM/l	15,00	34,00	24,50	41,78	17,35	62,04	37,11	29,11	37,48	16,56	18,38	38,19	56,57	12,98	
Žluč. kyseliny µM/l	0,00	12,00	6,00	10,64	6,44	10,88	10,02	12,33	10,06	2,19	7,53	5,06	12,59	4,06	
ALP µkat/l	1,70	3,50	2,60	1,42	1,57	2,27	1,79	2,07	1,82	0,35	1,42	0,81	2,23	-0,78	
Ca mM/l	2,00	3,24	2,62	2,98	2,82	3,10	3,17	3,38	3,09	0,21	2,85	0,48	3,33	0,47	
P mM/l	1,00	1,81	1,41	0,93	0,61	1,12	0,80	0,78	0,85	0,19	0,63	0,44	1,07	-0,56	
Mg mM/l	0,90	1,15	1,03	1,07	1,09	1,06	1,20	1,06	1,10	0,06	1,03	0,14	1,16	0,07	
Na mM/l	133,00	147,00	140,00	139,30	144,60	137,50	140,20	140,50	140,42	2,61	137,41	6,03	143,43	0,42	
K mM/l	3,50	5,50	4,50	4,13	3,41	4,07	3,54	3,66	3,76	0,32	3,39	0,74	4,13	-0,74	
Cl mM/l	97,00	110,00	103,50	103,00	107,80	101,90	106,10	104,50	104,66	2,36	101,94	5,45	107,38	1,16	
Cu µM/l	16,00	39,00	27,50	15,12	13,73	16,15	19,00	18,59	16,52	2,25	13,92	5,20	19,12	-10,98	
Fe µM/l	13,10	25,10	19,10	19,04	22,78	30,69	26,04	22,30	24,17	4,41	19,09	10,17	29,25	5,07	
Zn µM/l	14,90	29,20	22,05	6,79	5,69	7,30	10,37	6,16	7,26	1,84	5,14	4,25	9,39	-14,79	
GSH-Px µkat/l	300,00	600,00	450,00	356,00	320,00	280,00	295,00	291,00	308,40	30,37	273,38	70,03	343,42	-141,60	
Betakaroten µM/l	27,00	55,00	41,00	17,00	23,00	16,20	16,50	13,10	17,16	3,60	13,00	8,31	21,32	-23,84	
CK µkat/l	0,50	2,80	1,65	2,98	1,98	4,12	3,93	6,31	3,86	1,61	2,01	3,72	5,72	2,21	
Laktát mM/l	1,11	1,80	1,46	0,97	1,26	1,58	1,62	1,37	1,36	0,26	1,06	0,61	1,66	-0,10	
LDH µkat/l	1,70	6,68	4,19	2,35	2,42	3,08	3,61	4,00	3,09	0,72	2,26	1,67	3,93	-1,10	

Příloha 2 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr (den 0), skupina pokusná (P),

2. část

1. odběr P	počet	5		Hřebci - pokus					ϕ	r	DM	95% interval spolehlivosti	HM	ϕ -norma
Sledované faktory	fyziologické rozmezí			Artist	Carpa-lo	Come-ro	Quira-do	Mine-ral				rozpětí		
	DM	HM	ϕ norma	1	2	3	4	5						
Leukocyty $10^9/l$ x	5,50	13,00	9,25	5,20	5,90	6,20	5,60	6,40	5,86	0,48	5,31	1,10	6,41	-3,39
Erytrocyty $10^{12}/l$ x	6,80	12,90	9,85	10,50	9,38	8,40	9,73	9,73	9,55	0,76	8,67	1,76	10,43	-0,30
Hemoglobin g/l	110,00	190,00	150,00	154,0	143,00	139,00	151,00	149,00	147,20	6,10	140,17	14,06	154,23	-2,80
Hematokrit l/l	0,30	0,50	0,40	0,44	0,41	0,39	0,43	0,42	0,42	0,02	0,39	0,05	0,44	0,02
LYM $\times 10^9/l$	1,50	7,70	4,60	1,40	1,00	2,40	1,30	1,70	1,56	0,53	0,95	1,23	2,17	-3,04
MON $10^9/l$ x	0,00	1,00	0,50	0,30	0,30	0,60	0,30	0,40	0,38	0,13	0,23	0,30	0,53	-0,12
MPV fl	4,60	7,30	5,95	5,70	5,60	5,50	5,70	5,70	5,64	0,09	5,54	0,21	5,74	-0,31
Příjem	5,00	10,00	7,50	8,00	7,00	7,00	9,00	7,00	7,60	0,89	6,57	2,06	8,63	0,10
Aktivita	5,00	10,00	7,50	7,00	8,00	7,00	8,00	7,00	7,40	0,55	6,77	1,26	8,03	-0,10
Alergická reakce	0,00	10,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-5,00
Welfare	5,00	10,00	7,50	9,00	9,00	8,00	9,00	9,00	8,80	0,45	8,28	1,03	9,32	1,30

Příloha 3 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr (den 0), kontrolní skupina (K),

1. část

1.odběr K	počet	5		Hřebci kontrola					ϕ	r	DM	95% interval spolehlivost rozpětí	HM	ϕ -norm a	
		fyziologické rozmezí			Rubi- con	Nacho S.	Conme	Cyri- l							Gin- fizz
		DM	HM	ϕ norm a	6	7	8	9							10
Celková bílkovina g/l	57,00	79,00	68,00	71,96	80,00	89,27	81,61	72,03	78,97	7,27	67,41	23,14	90,54	10,97	
Albumin g/l	26,00	37,00	31,50	38,16	40,98	40,56	43,43	38,34	40,29	2,16	36,85	6,89	43,74	8,79	
Urea mM/l	3,70	8,80	6,25	6,27	4,51	7,00	9,32	4,44	6,31	2,02	3,98	4,65	8,63	0,06	
Glukóza mM/l	4,16	6,38	5,27	7,15	7,13	6,70	6,53	6,85	6,87	0,27	6,56	0,62	7,18	1,60	
Triglyceridy mM/l	0,15	0,57	0,36	0,22	0,18	0,25	0,28	0,27	0,24	0,04	0,19	0,09	0,29	-0,12	
Cholesterol mM/l	1,80	3,70	2,75	3,14	2,71	2,19	2,71	1,97	2,54	0,47	2,01	1,07	3,08	-0,21	
Kreatinin μ M/l	77,00	175,0	126,00	115,40	125,60	124,80	155,40	125,80	129,40	15,17	111,91	34,98	146,89	3,40	
AST μ kat/l	1,90	4,50	3,20	8,20	8,76	4,86	8,14	5,79	7,15	1,72	5,17	3,96	9,13	3,95	
ALT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,24	0,15	0,13	0,48	0,25	0,25	0,14	0,09	0,32	0,41	0,05	
GMT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,42	0,40	0,60	0,56	0,35	0,47	0,11	0,34	0,25	0,59	0,27	
Bilirubin Total μ M/l	15,00	34,00	24,50	19,21	26,36	37,41	33,97	33,67	30,12	7,31	21,70	16,86	38,55	5,62	
Zluč. kyseliny μ M/l	0,00	12,00	6,00	9,64	9,23	8,18	10,61	10,55	9,64	1,01	8,48	2,33	10,80	3,64	
ALP μ kat/l	1,70	3,50	2,60	2,10	2,61	1,95	1,63	1,90	2,04	0,36	1,62	0,83	2,46	-0,56	
Ca mM/l	2,00	3,24	2,62	2,86	3,07	2,93	3,03	2,89	2,96	0,09	2,85	0,21	3,06	2,00	
P mM/l	1,00	1,81	1,41	0,80	0,92	0,81	1,13	0,78	0,89	0,15	0,72	0,34	1,06	-0,52	
Mg mM/l	0,90	1,15	1,03	1,10	1,09	1,01	1,09	1,10	1,08	0,04	1,03	0,09	1,12	0,05	
Na mM/l	133,00	147,0	140,00	140,10	137,80	139,40	140,00	140,20	139,50	1,00	138,35	2,31	140,65	-0,50	
K mM/l	3,50	5,50	4,50	3,07	3,75	3,96	4,53	4,06	3,87	0,53	3,26	1,23	4,49	-0,63	
Cl mM/l	97,00	110,0	103,50	104,80	103,80	103,20	104,80	102,60	103,84	0,97	102,72	2,25	104,96	0,34	
Cu μ M/l	16,00	39,00	27,50	14,17	10,61	22,47	14,08	12,96	14,86	4,49	9,68	10,36	20,04	-12,64	
Fe μ M/l	13,10	25,10	19,10	37,93	23,21	20,03	17,02	18,84	23,41	8,43	13,69	19,43	33,12	4,31	
Zn μ M/l	14,90	29,20	22,05	6,26	7,93	7,93	7,48	5,01	6,92	1,27	5,46	2,93	8,38	-15,13	
GSH-Px μ kat/l	300,00	600,0	450,00	284,00	362,00	333,00	290,00	295,00	312,80	33,52	274,15	77,30	351,45	-137,20	
Betakaroten μ M/l	27,00	55,00	41,00	12,50	13,28	14,70	16,20	13,90	14,12	1,42	12,48	3,27	15,75	-26,88	
CK μ kat/l	0,50	2,80	1,65	5,40	4,42	5,46	11,02	2,54	5,77	3,16	2,12	7,30	9,42	4,12	
Laktát mM/l	1,11	1,80	1,46	1,54	1,89	1,72	0,90	1,43	1,50	0,38	1,06	0,87	1,93	0,04	
LDH μ kat/l	1,70	6,68	4,19	3,40	4,48	3,16	3,14	2,29	3,29	0,79	2,39	1,81	4,20	-0,90	

Příloha 4 Naměřená data a základní vyhodnocení, 1. odběr (den 0), kontrolní skupina (K),

2. část

NH K kontrola	počet	5			Hřebci kontrola					ϕ	r	95% interval spolehlivosti	DM	HM	ϕ -norma
		fyziologické rozmezí			Rubi-con	Nacho S.	Conme	CyriI	Gin-fizz						
		DM	HM	ϕ norma	6	7	8	9	10						
Leukocyty $\times 10^9/l$	5,50	13,00	9,25	5,50	6,50	5,50	6,20	6,60	6,06	0,53	5,45	1,23	6,67	-3,19	
Erytrocyty $\times 10^{12}/l$	6,80	12,90	9,85	10,34	9,30	7,78	8,75	7,95	8,82	1,05	7,62	2,41	10,03	-1,03	
Hemoglobin g/l	110,00	190,0	150,00	155,00	144,00	124,00	141,0	118,00	136,40	15,14	118,94	34,92	153,86	-13,60	
Hematokrit l/l	0,30	0,50	0,40	0,44	0,40	0,34	0,40	0,33	0,38	0,05	0,33	0,11	0,43	-0,02	
GRAN $\times 10^9/l$	2,26	9,08	5,67	3,80	5,20	3,50	4,20	4,40	4,22	0,65	3,47	1,50	4,97	-1,45	
LYM $\times 10^9/l$	1,50	7,70	4,60	1,40	1,10	1,70	1,70	1,70	1,52	0,27	1,21	0,62	1,83	-3,08	
MON $\times 10^9/l$	0,00	1,00	0,50	0,30	0,20	0,30	0,30	0,50	0,32	0,11	0,19	0,25	0,45	-0,18	
MPV fl	4,60	7,30	5,95	5,90	5,90	6,20	5,70	5,60	5,86	0,23	5,59	0,53	6,13	-0,09	
Příjem	5,00	10,00	7,50	8,00	8,00	7,00	8,00	8,00	7,80	0,45	7,28	1,03	8,32	0,30	
Aktivita	5,00	10,00	7,50	8,00	8,00	8,00	7,00	8,00	7,80	0,45	7,28	1,03	8,32	0,30	
Alergická reakce	0,00	10,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-5,00	
Welfare	5,00	10,00	7,50	9,00	9,00	8,00	9,00	9,00	8,80	0,45	8,28	1,03	9,32	1,30	

Příloha 5 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr (den 30), skupina pokusná (P),

1. část

2.odběr P	počet	5			Hřebci - pokus					ϕ	r	95% interval spolehlivosti	DM	HM	ϕ -norma
		fyziologické rozmezí			Artist	Carpalo	Comero	Quirado	Mine-ral						
		DM	HM	ϕ norma	11	12	13	14	15						
Celková bílkovina g/l	57,00	79,00	68,00	80,21	71,78	80,00	70,72	76,95	75,93	4,48	68,80	14,26	83,06	7,93	
Albumin g/l	26,00	37,00	31,50	38,94	33,83	36,27	35,72	39,91	36,93	2,47	33,00	7,86	40,87	5,43	
Urea mM/l	3,70	8,80	6,25	4,59	6,06	5,85	4,45	5,80	5,35	0,77	4,47	1,77	6,23	-0,90	
Glukóza mM/l	4,16	6,38	5,27	4,99	5,01	5,34	4,89	5,92	5,23	0,42	4,74	0,97	5,72	-0,04	
Triglyceridy mM/l	0,15	0,57	0,36	0,31	0,22	0,22	0,30	0,25	0,26	0,04	0,21	0,10	0,31	-0,10	
Cholesterol mM/l	1,80	3,70	2,75	2,32	2,31	1,87	1,71	2,65	2,17	0,38	1,74	0,87	2,61	-0,58	
Kreatinin μ M/l	77,00	175,00	126,00	118,5	134,40	148,10	137,10	136,30	134,88	10,61	122,65	24,47	147,11	8,88	
AST μ kat/l	1,90	4,50	3,20	14,26	11,51	10,04	9,13	7,82	10,55	2,47	7,70	5,70	13,40	7,35	
ALT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,25	0,28	0,20	0,14	0,18	0,21	0,06	0,15	0,13	0,27	0,01	
GMT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	1,59	0,56	0,52	0,74	0,42	0,77	0,47	0,22	1,10	1,31	0,57	
Bilirubin Total μ M/l	15,00	34,00	24,50	64,58	34,42	50,69	42,18	57,53	49,88	11,97	36,07	27,61	63,69	25,38	
Žluč. kyseliny μ M/l	0,00	12,00	6,00	20,42	14,27	17,22	14,23	17,07	16,64	2,56	13,69	5,91	19,59	10,64	
ALP μ kat/l	1,70	3,50	2,60	3,73	1,92	2,15	2,63	1,70	2,43	0,81	1,50	1,86	3,36	-0,17	
Ca mM/l	2,00	3,24	2,62	2,33	2,11	2,27	1,94	2,66	2,26	0,27	1,95	0,62	2,57	-0,36	
P mM/l	1,00	1,81	1,41	1,02	1,04	0,82	0,94	1,08	0,98	0,10	0,86	0,24	1,10	-0,43	
Mg mM/l	0,90	1,15	1,03	0,78	0,84	0,77	0,85	0,95	0,84	0,07	0,76	0,17	0,92	-0,19	
Na mM/l	133,00	147,00	140,00	139,0	137,10	134,90	133,30	138,00	136,46	2,33	133,78	5,37	139,14	-3,54	
K mM/l	3,50	5,50	4,50	4,62	2,51	3,89	3,67	2,83	3,50	0,85	2,53	1,95	4,48	-1,00	
Cl mM/l	97,00	110,00	103,50	101,5	100,10	100,90	98,80	101,00	100,46	1,05	99,24	2,43	101,68	-3,04	
Cu μ M/l	16,00	39,00	27,50	15,93	13,29	15,11	11,59	14,25	14,03	1,68	12,09	3,88	15,97	-13,47	
Fe μ M/l	13,10	25,10	19,10	26,03	24,51	18,18	14,88	32,06	23,13	6,76	15,34	15,58	30,92	4,03	
Zn μ M/l	14,90	29,20	22,05	5,76	6,41	4,79	5,35	6,57	5,78	0,74	4,92	1,70	6,63	-16,27	
GSH-Px μ kat/l	300,00	600,00	450,00	325,6	330,10	300,10	274,60	290,30	304,14	23,53	277,01	54,26	331,27	-145,86	
Betakaroten μ M/l	27,00	55,00	41,00	12,30	11,60	16,20	14,70	19,50	14,86	3,18	11,19	7,34	18,53	-26,14	
CK μ kat/l	0,50	2,80	1,65	6,64	5,05	7,21	8,52	4,10	6,30	1,75	4,28	4,04	8,32	4,65	
Laktát mM/l	1,11	1,80	1,46	6,00	2,49	3,04	2,61	2,71	3,37	1,48	1,66	3,42	5,08	1,92	
LDH μ kat/l	1,70	6,68	4,19	3,21	2,89	3,48	2,13	2,46	2,83	0,55	2,20	1,26	3,46	-1,36	

Příloha 6 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr (den 30), skupina pokusná (P),

2. část

2. odběr P	počet	5			Hřebci - pokus					ϕ	r	DM	95% interval spolehlivost rozpětí	HM	ϕ -norm a
		fyziologické rozmezí			Artist	Carpa- lo	Come- ro	Quira- do	Mine- ral						
		DM	HM	ϕ norma	2	3	4	5	6						
Leukocyty $10^9/l$	x	5,50	13,00	9,25	8,20	5,70	7,20	7,50	5,50	6,82	1,17	5,47	2,71	8,17	-2,43
Erytrocyty $10^{12}/l$	x	6,80	12,90	9,85	10,29	8,66	9,79	7,84	10,13	9,34	1,05	8,13	2,43	10,56	-0,51
Hemoglobin g/l		110,00	190,00	150,00	172,0	150,00	155,00	115,00	156,00	149,60	21,03	125,35	48,50	173,85	-0,40
Hematokrit l/l		0,30	0,50	0,40	0,47	0,37	0,43	0,32	0,42	0,40	0,06	0,34	0,13	0,47	0,00
GRAN $10^9/l$	x	2,26	9,08	5,67	5,80	4,70	5,70	6,00	4,20	5,28	0,79	4,37	1,81	6,19	-0,39
LYM $10^9/l$	x	1,50	7,70	4,60	2,00	0,90	1,30	1,20	1,10	1,30	0,42	0,82	0,96	1,78	-3,30
MON $10^9/l$	x	0,00	1,00	0,50	0,40	0,10	0,20	0,30	0,20	0,24	0,11	0,11	0,26	0,37	-0,26
MPV fl		4,60	7,30	5,95	5,30	5,20	5,60	5,80	5,50	5,48	0,24	5,20	0,55	5,76	-0,47
Přijem		5,00	10,00	7,50	8,00	8,00	8,00	9,00	7,00	8,00	0,71	7,18	1,63	8,82	0,50
Aktivita		5,00	10,00	7,50	8,00	8,00	8,00	8,00	7,00	7,80	0,45	7,28	1,03	8,32	0,30
Alergická reakce		0,00	10,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-5,00
Welfare		5,00	10,00	7,50	9,00	9,00	8,00	9,00	9,00	8,80	0,45	8,28	1,03	9,32	2,85

Příloha 7 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr (den 30), kontrolní skupina (K),

1. část

2.odběr K	počet	5			hřebci - kontrola					ϕ	r	95% interval spolehlivost	DM	rozpětí	HM	ϕ -norma
		fyziologické rozmezí			Rubi-con	Nacho S.	Conme	Cyril	Ginfizz							
		DM	HM	ϕ norma	16	17	18	19	20							
Celková bílkovina g/l	57,00	79,00	68,00	64,83	68,99	73,71	79,53	73,40	72,09	5,52	63,30	17,58	80,88	4,09		
Albumin g/l	26,00	37,00	31,50	33,59	32,52	37,66	34,14	38,17	35,22	2,54	31,18	8,08	39,25	3,72		
Urea mM/l	3,70	8,80	6,25	5,10	4,18	4,05	6,07	6,58	5,20	1,12	3,90	2,59	6,49	-1,05		
Glukóza mM/l	4,16	6,38	5,27	4,73	5,03	6,88	4,91	4,36	5,18	0,98	4,05	2,27	6,31	-0,09		
Triglyceridy mM/l	0,15	0,57	0,36	0,22	0,18	0,19	0,22	0,31	0,22	0,05	0,16	0,12	0,28	-0,14		
Cholesterol mM/l	1,80	3,70	2,75	1,89	1,87	1,81	1,67	1,97	1,84	0,11	1,71	0,26	1,97	-0,91		
Kreatinin μ M/l	77,00	175,00	126,00	116,60	103,30	109,70	121,80	151,00	120,48	18,44	99,22	42,51	141,74	-5,52		
AST μ kat/l	1,90	4,50	3,20	13,92	14,87	14,65	13,64	12,42	13,90	0,97	12,78	2,24	15,02	10,70		
ALT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,30	0,37	0,26	0,35	0,20	0,30	0,07	0,22	0,16	0,38	0,10		
GMT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,76	1,18	1,82	1,87	1,13	1,35	0,48	0,80	1,10	1,90	1,15		
Bilirubin Total μ M/l	15,00	34,00	24,50	36,97	32,57	44,27	38,38	42,36	38,91	4,61	33,60	10,62	44,22	14,41		
Žluč. kyseliny μ M/l	0,00	12,00	6,00	14,54	21,08	16,20	17,84	18,32	17,60	2,45	14,77	5,65	20,42	11,60		
ALP μ kat/l	1,70	3,50	2,60	2,82	3,45	3,24	2,94	2,13	2,92	0,50	2,33	1,16	3,50	0,32		
Ca mM/l	2,00	3,24	2,62	2,89	2,87	2,41	2,95	2,56	2,74	0,24	2,46	0,55	3,01	0,12		
P mM/l	1,00	1,81	1,41	1,03	1,00	0,92	0,66	0,99	0,92	0,15	0,75	0,35	1,09	-0,49		
Mg mM/l	0,90	1,15	1,03	0,81	0,77	0,73	0,84	0,75	0,78	0,04	0,73	0,10	0,83	-0,25		
Na mM/l	133,00	147,00	140,00	138,30	136,30	136,30	136,50	136,00	136,68	0,92	135,62	2,13	137,74	-3,32		
K mM/l	3,50	5,50	4,50	4,13	3,69	2,65	3,54	4,18	3,64	0,62	2,93	1,42	4,35	-0,86		
Cl mM/l	97,00	110,00	103,50	103,50	100,80	100,10	102,00	103,30	101,94	1,50	100,21	3,45	103,67	-1,56		
Cu μ M/l	16,00	39,00	27,50	14,46	10,13	20,72	17,85	10,45	14,72	4,61	9,40	10,64	20,04	-12,78		
Fe μ M/l	13,10	25,10	19,10	22,09	20,22	26,06	16,67	24,86	21,98	3,75	17,66	8,65	26,30	2,88		
Zn μ M/l	14,90	29,20	22,05	6,37	4,65	5,86	4,37	6,34	5,52	0,95	4,43	2,18	6,61	-16,53		
GSH-Px μ kat/l	300,00	600,00	450,00	294,10	324,30	310,60	285,30	297,80	302,42	15,24	284,85	35,15	319,99	-147,58		
Betakaroten μ M/l	27,00	55,00	41,00	13,90	16,80	15,50	13,10	12,30	14,32	1,82	12,22	4,20	16,42	-26,68		
CK μ kat/l	0,50	2,80	1,65	8,16	5,04	5,52	4,55	3,86	5,43	1,65	3,53	3,80	7,33	3,78		
Laktát mM/l	1,11	1,80	1,46	2,93	2,94	2,95	3,20	2,99	3,00	0,11	2,87	0,26	3,13	1,55		
LDH μ kat/l	1,70	6,68	4,19	2,62	4,09	3,28	2,82	2,06	2,97	0,76	2,10	1,76	3,85	-1,22		

Příloha 8 Naměřená data a základní vyhodnocení, 2. odběr (den 30), kontrolní skupina (K),

2. část

2.odběr K	počet	5			hřebci - kontrola					ϕ	r	95% interval spolehlivosti			ϕ -norma
		fyziologické rozmezí			Rubicon	Nacho S	Conme	Cyrl	Ginfizz			DM	rozpětí	HM	
		DM	HM	ϕ norma	3	4	5	6	7						
Leukocyty x 10 ⁹ /l	5,50	13,00	9,25	6,30	6,40	7,60	6,90	6,20	6,68	0,58	6,01	1,34	7,35	-2,57	
Erytrocyty x 10 ¹² /l	6,80	12,90	9,85	9,76	7,82	8,72	7,78	8,42	8,50	0,81	7,57	1,87	9,43	-1,35	
Hemoglobin g/l	110,00	190,00	150,00	139,00	123,00	119,00	126,00	136,00	128,60	8,56	118,73	19,74	138,47	-21,40	
Hematokrit l/l	0,30	0,50	0,40	0,40	0,34	0,33	0,34	0,38	0,36	0,03	0,32	0,07	0,39	-0,04	
GRAN x 10 ⁹ /l	2,26	9,08	5,67	4,70	5,40	5,20	5,50	4,60	5,08	0,41	4,61	0,94	5,55	-0,59	
LYM x 10 ⁹ /l	1,50	7,70	4,60	1,40	0,90	2,00	1,20	1,30	1,36	0,40	0,89	0,93	1,83	-3,24	
MON x 10 ⁹ /l	0,00	1,00	0,50	0,20	0,10	0,40	0,20	0,30	0,24	0,11	0,11	0,26	0,37	-0,26	
MPV fl	4,60	7,30	5,95	5,70	6,00	6,00	5,70	5,60	5,80	0,19	5,58	0,43	6,02	-0,15	
Přijem	5,00	10,00	7,50	8,00	7,00	8,00	8,00	8,00	7,80	0,45	7,28	1,03	8,32	0,30	
Aktivita	5,00	10,00	7,50	8,00	8,00	7,00	8,00	8,00	7,80	0,45	7,28	1,03	8,32	0,30	
Alergická reakce	0,00	10,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-5,00	
Welfare	5,00	10,00	7,50	9,00	9,00	8,00	9,00	9,00	8,80	0,45	8,28	1,03	9,32	1,30	

Příloha 9 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr (den 60), skupina pokusná (P),

1. část

3.odběr P	počet	5			3.ODBĚR POKUS SILYFEED L					ϕ	r	DM	95% interval spolehlivosti	HM	ϕ -norma
		fyziologické rozmezí			Artist	Carpalo	Comero	Quirado	Mineral						
		DM	HM	ϕ norma	21	22	23	24	25						
Celková bílkovina g/l	57,00	79,00	68,00	61,14	65,36	79,36	74,58	63,13	68,71	7,87	56,20	25,04	81,23	0,71	
Albumin g/l	26,00	37,00	31,50	32,31	33,04	33,87	33,01	30,04	32,45	1,46	30,13	4,64	34,77	0,95	
Urea mM/l	3,70	8,80	6,25	6,32	5,53	7,63	5,76	4,85	6,02	1,04	4,81	2,41	7,22	-0,23	
Glukóza mM/l	4,16	6,38	5,27	6,26	5,88	6,05	6,38	7,55	6,42	0,66	5,67	1,52	7,18	1,15	
Triglyceridy mM/l	0,15	0,57	0,36	0,41	0,75	0,34	0,50	0,38	0,48	0,16	0,29	0,38	0,67	0,12	
Cholesterol mM/l	1,80	3,70	2,75	2,11	1,66	1,85	2,05	2,22	1,98	0,22	1,72	0,51	2,23	-0,77	
Kreatinin μ M/l	77,00	175,00	126,00	118,7	133,60	135,20	127,20	125,10	127,96	6,68	120,25	15,41	135,67	1,96	
AST μ kat/l	1,90	4,50	3,20	3,77	3,85	4,41	5,73	5,16	4,58	0,85	3,61	1,96	5,56	1,38	
ALT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,10	0,10	0,14	0,26	0,17	0,15	0,07	0,08	0,15	0,23	-0,05	
GMT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,30	0,32	0,48	0,29	0,41	0,36	0,08	0,27	0,19	0,45	0,16	
Bilirubin Total μ M/l	15,00	34,00	24,50	42,99	28,83	29,77	19,06	19,28	27,99	9,80	16,68	22,61	39,29	3,49	
Žluč. kyseliny μ M/l	0,00	12,00	6,00	8,79	8,51	8,78	8,76	8,70	8,71	0,12	8,57	0,27	8,84	2,71	
ALP μ kat/l	1,70	3,50	2,60	2,99	3,88	4,12	3,32	4,91	3,84	0,74	2,99	1,72	4,70	1,24	
Ca mM/l	2,00	3,24	2,62	2,16	2,08	2,15	2,38	2,16	2,19	0,11	2,06	0,26	2,32	-0,43	
P mM/l	1,00	1,81	1,41	1,02	0,75	0,79	0,74	0,68	0,80	0,13	0,64	0,30	0,95	-0,61	
Mg mM/l	0,90	1,15	1,03	0,84	0,83	0,89	0,95	0,81	0,86	0,06	0,80	0,13	0,93	-0,16	
Na mM/l	133,00	147,00	140,00	137,4	138,70	139,10	136,60	140,90	138,54	1,66	136,63	3,82	140,45	-1,46	
K mM/l	3,50	5,50	4,50	3,70	3,69	3,72	3,69	3,28	3,62	0,19	3,40	0,43	3,83	-0,88	
Cl mM/l	97,00	110,00	103,50	106,9	107,00	108,70	106,90	108,70	107,64	0,97	106,52	2,23	108,76	4,14	
Cu μ M/l	16,00	39,00	27,50	11,77	10,58	13,91	14,72	10,74	12,34	1,88	10,18	4,33	14,51	-15,16	
Fe μ M/l	13,10	25,10	19,10	10,56	7,26	8,59	21,94	15,10	12,69	5,96	5,82	13,75	19,56	-6,41	
Zn μ M/l	14,90	29,20	22,05	8,50	8,15	9,72	7,05	7,01	8,09	1,13	6,79	2,60	9,38	-13,96	
GSH-Px μ kat/l	300,00	600,00	450,00	305,3	345,90	286,20	302,60	298,20	307,64	22,60	281,58	52,12	333,70	-142,36	
Betakaroten μ M/l	27,00	55,00	41,00	18,20	14,70	16,80	15,70	19,40	16,96	1,88	14,79	4,35	19,13	-24,04	
CK μ kat/l	0,50	2,80	1,65	2,71	2,63	3,05	4,36	3,31	3,21	0,70	2,41	1,61	4,02	1,56	
Laktát mM/l	1,11	1,80	1,46	1,23	1,56	1,51	1,80	1,58	1,54	0,20	1,30	0,47	1,77	0,08	
LDH μ kat/l	1,70	6,68	4,19	6,93	6,85	9,83	12,66	8,64	8,98	2,40	6,21	5,54	11,75	4,79	

Příloha 10 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr (den 60), skupina pokusná (P),

2. část

3.odběr P	počet	5		3.ODBĚR POKUS SILYFEED L					ϕ	r	DM	95% interval	HM	ϕ -norma
Sledované faktory	fyziologické rozmezí			1	2	3	4	5				spolehlivost		
	DM	HM	ϕ norma	21	22	23	24	25						
Leukocyty $10^9/l$ x	5,50	13,00	9,25	6,40	8,50	9,00	7,20	9,10	8,04	1,19	6,67	2,74	9,41	-1,21
Erytrocyty $10^{12}/l$ x	6,80	12,90	9,85	13,17	11,93	12,84	12,14	10,70	12,16	0,96	11,05	2,21	13,26	2,31
Hemoglobin g/l	110,00	190,00	150,00	171,00	154,00	171,00	156,00	138,00	158,00	13,77	142,13	31,74	173,87	8,00
Hematokrit l/l	0,30	0,50	0,40	0,55	0,51	0,58	0,53	0,47	0,53	0,04	0,48	0,10	0,58	0,13
GRAN $10^9/l$ x	2,26	9,08	5,67	4,20	5,80	6,00	4,80	6,10	5,38	0,84	4,41	1,93	6,35	-0,29
LYM $10^9/l$ x	1,50	7,70	4,60	1,90	2,30	2,70	2,00	2,40	2,26	0,32	1,89	0,74	2,63	-2,34
MON $10^9/l$ x	0,00	1,00	0,50	0,30	0,40	0,30	0,40	0,60	0,40	0,12	0,26	0,28	0,54	-0,10
MPV fl	4,60	7,30	5,95	5,90	6,00	6,30	6,10	5,90	6,04	0,17	5,85	0,39	6,23	0,09
Příjem	5,00	10,00	7,50	9,00	9,00	9,00	9,00	8,00	8,80	0,45	8,28	1,03	9,32	1,30
Aktivita	5,00	10,00	7,50	8,00	8,00	9,00	8,00	8,00	8,20	0,45	7,68	1,03	8,72	0,70
Alergická reakce	0,00	10,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-5,00
Welfare	5,00	10,00	7,50	9,00	9,00	9,00	8,00	9,00	8,80	0,45	8,28	1,03	9,32	1,30

Příloha 11 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr (den 60), kontrolní skupina (K),

1. část

3.odběr K	počet	5		3.odběr hřebci - kontrola					ϕ	r	DM	95% interval spolehlivosti rozpětí	HM	ϕ -norma	
		Fyziologické rozmezí			Rubi- con	Nacho S.	Conme	Cyri- l							Gin- fizz
		DM	HM	ϕ norma	26	27	28	29							30
Celková bílkovina g/l	57,00	79,00	68,00	73,11	57,87	77,01	66,33	71,49	69,16	7,38	57,41	23,50	80,91	1,16	
Albumin g/l	26,00	37,00	31,50	33,83	27,99	33,28	32,42	34,16	32,34	2,52	28,33	8,01	36,34	0,84	
Urea mM/l	3,70	8,80	6,25	6,76	4,89	4,77	8,24	5,99	6,13	1,44	4,47	3,31	7,79	-0,12	
Glukóza mM/l	4,16	6,38	5,27	5,60	5,57	6,13	6,16	7,18	6,13	0,65	5,38	1,50	6,88	0,86	
Triglyceridy mM/l	0,15	0,57	0,36	0,39	0,33	0,48	0,42	0,54	0,43	0,08	0,34	0,19	0,53	0,07	
Cholesterol mM/l	1,80	3,70	2,75	2,01	2,05	2,19	2,27	2,24	2,15	0,12	2,02	0,27	2,29	-0,60	
Kreatinin μ M/l	77,00	175,0	126,00	105,90	111,60	121,90	120,00	109,50	113,78	6,89	105,84	15,88	121,72	-12,22	
AST μ kat/l	1,90	4,50	3,20	7,01	5,70	6,34	8,32	9,83	7,44	1,65	5,54	3,81	9,34	4,24	
ALT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,22	0,07	0,20	0,16	0,19	0,17	0,06	0,10	0,14	0,24	-0,03	
GMT μ kat/l	0,00	0,40	0,20	0,54	0,35	0,48	0,38	0,37	0,42	0,08	0,33	0,19	0,52	0,22	
Bilirubin Total μ M/l	15,00	34,00	24,50	15,83	18,28	54,55	15,44	19,86	24,79	16,73	5,50	38,59	44,09	0,29	
Zluč. kyseliny μ M/l	0,00	12,00	6,00	8,47	8,75	10,48	9,03	12,37	9,82	1,62	7,95	3,74	11,69	3,82	
ALP μ kat/l	1,70	3,50	2,60	4,68	3,33	4,08	4,73	5,34	4,43	0,76	3,56	1,75	5,31	1,83	
Ca mM/l	2,00	3,24	2,62	2,03	2,02	2,21	2,23	2,27	2,15	0,12	2,02	0,27	2,29	-0,47	
P mM/l	1,00	1,81	1,41	0,71	0,79	0,70	0,85	1,05	0,82	0,14	0,66	0,33	0,98	-0,59	
Mg mM/l	0,90	1,15	1,03	0,89	0,93	0,86	0,84	0,83	0,87	0,04	0,82	0,09	0,92	-0,16	
Na mM/l	133,00	147,0	140,00	139,70	135,00	135,90	137,20	138,10	137,18	1,84	135,05	4,25	139,31	-2,82	
K mM/l	3,50	5,50	4,50	2,75	3,24	2,99	3,01	2,95	2,99	0,17	2,79	0,40	3,19	-1,51	
Cl mM/l	97,00	110,0	103,50	109,30	104,00	103,80	105,90	106,30	105,86	2,22	103,30	5,12	108,42	2,36	
Cu μ M/l	16,00	39,00	27,50	11,11	10,71	20,25	14,99	15,68	14,55	3,89	10,06	8,97	19,03	-12,95	
Fe μ M/l	13,10	25,10	19,10	6,88	15,78	22,39	22,21	18,36	17,12	6,36	9,79	14,67	24,46	-1,98	
Zn μ M/l	14,90	29,20	22,05	10,63	6,28	22,02	7,87	8,93	11,15	6,28	3,90	14,49	18,39	-10,90	
GSH-Px μ kat/l	300,00	600,0	450,00	355,60	310,70	294,60	297,40	297,80	311,22	25,58	281,73	58,99	340,71	-138,78	
Betakaroten μ M/l	27,00	55,00	41,00	13,62	14,19	16,82	13,65	14,61	14,58	1,32	13,06	3,04	16,10	-26,42	
CK μ kat/l	0,50	2,80	1,65	3,62	4,19	6,82	3,65	4,61	4,58	1,32	3,06	3,04	6,10	2,93	
Laktát mM/l	1,11	1,80	1,46	1,55	1,41	1,71	1,59	1,69	1,59	0,12	1,45	0,28	1,73	0,14	
LDH μ kat/l	1,70	6,68	4,19	8,52	9,59	13,07	9,71	12,36	10,65	1,96	8,39	4,51	12,91	6,46	

Příloha 12 Naměřená data a základní vyhodnocení, 3. odběr (den 60), kontrolní skupina (K),

2. část

3.odběr K	počet	5			3.odběr hřebci - kontrola					ϕ	r	95% interval spolehlivosti	DM	rozpětí	HM	ϕ -norma
		Fyziologické rozmezí			Rubicon	Nacho S.	Conme	Cyril	Ginfizz							
		DM	HM	ϕ norma	26	27	28	29	30							
Leukocyty x 10 ⁹ /l	5,50	13,00	9,25	10,80	6,10	8,70	7,50	9,30	8,48	1,78	6,42	4,11	10,54	-0,77		
Erytrocyty x 10 ¹² /l	6,80	12,90	9,85	11,96	12,29	11,12	11,50	11,98	11,77	0,46	11,24	1,06	12,30	1,92		
Hemoglobin g/l	110,0	190,0 0	150,00	162,00	149,00	158,00	139,00	152,00	152,00	8,86	141,78	20,43	162,22	2,00		
Hematokrit l/l	0,30	0,50	0,40	0,56	0,52	0,51	0,47	0,50	0,51	0,03	0,47	0,08	0,55	0,11		
GRAN x 10 ⁹ /l	2,26	9,08	5,67	7,90	3,90	4,80	4,70	5,50	5,36	1,53	3,60	3,53	7,12	-0,31		
LYM x 10 ⁹ /l	1,50	7,70	4,60	2,50	1,90	3,40	2,50	3,10	2,68	0,58	2,01	1,35	3,35	-1,92		
MON x 10 ⁹ /l	0,00	1,00	0,50	0,40	0,30	0,50	0,30	0,70	0,44	0,17	0,25	0,39	0,63	-0,06		
MPV fl	4,60	7,30	5,95	5,90	5,96	6,00	5,90	6,20	5,99	0,12	5,85	0,29	6,13	0,04		
Příjem	5,00	10,00	7,50	8,00	8,00	9,00	8,00	7,00	8,00	0,71	7,18	1,63	8,82	0,50		
Aktivita	5,00	10,00	7,50	9,00	8,00	8,00	7,00	7,00	7,80	0,84	6,84	1,93	8,76	0,30		
Alergická reakce	0,00	10,00	5,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-5,00		
Welfare	5,00	10,00	7,50	9,00	9,00	8,00	9,00	8,00	8,60	0,55	7,97	1,26	9,23	1,10		

Příloha 13 Statistické zpracování naměřených biochemických a hematologických dat, dvouvýběrový nezávislý t-test, 1. odběr (den 0)

	Průměr (skup. 1)	Průměr (skup. 2)	Hodnota t	sv	p	n1	n2	Sm.odch. (skup. 1)	Sm.odch. (skup. 2)	F	p (Rozptyly)
Celková bílkovina g/l	81,5420	78,9740	0,677	8	0,517540	5	5	4,3704	7,27022	3	0,347950
Albumin g/l	40,9860	40,2940	0,513	8	0,621973	5	5	2,1023	2,16494	1	0,955959
Urea mM/l	5,9660	6,3080	-0,373	8	0,719130	5	5	0,3794	2,01709	28	0,006849
Glukóza mM/l	6,4500	6,8720	-0,548	8	0,598561	5	5	1,7003	0,26967	40	0,003553
Triglyceridy mM/l	0,3100	0,2400	2,012	8	0,078989	5	5	0,0663	0,04062	3	0,365139
Cholesterol mM/l	2,8880	2,5440	1,484	8	0,176124	5	5	0,2290	0,46506	4	0,198655
Kreatinin μM/l	110,6000	129,4000	-1,219	8	0,257398	5	5	30,9550	15,17037	4	0,195978
AST μkat/l	6,7940	7,1500	-0,267	8	0,796138	5	5	2,4371	1,71526	2	0,513019
ALT μkat/l	0,1940	0,2500	-0,854	8	0,417738	5	5	0,0462	0,13910	9	0,055098
GMT μkat/l	0,4240	0,4660	-0,437	8	0,673418	5	5	0,1856	0,10807	3	0,319974
Bilirubin Total μM/l	37,4780	30,1240	0,908	8	0,390223	5	5	16,5612	7,30983	5	0,142178
Žluč. kyseliny μM/l	10,0620	9,6420	0,389	8	0,707554	5	5	2,1947	1,00855	5	0,161187
ALP μkat/l	1,8240	2,0380	-0,951	8	0,369417	5	5	0,3494	0,36204	1	0,946754
Ca mM/l	3,0900	2,9560	1,313	8	0,225603	5	5	0,2095	0,09044	5	0,132519
P mM/l	0,8480	0,8880	-0,374	8	0,718464	5	5	0,1899	0,14584	2	0,621433
Mg mM/l	1,0960	1,0780	0,569	8	0,584836	5	5	0,0594	0,03834	2	0,416967
Na mM/l	140,4200	139,5000	0,735	8	0,483143	5	5	2,6129	1,00000	7	0,089598
K mM/l	3,7620	3,8740	-0,403	8	0,697803	5	5	0,3217	0,53248	3	0,352453
Cl mM/l	104,6600	103,8400	0,717	8	0,493493	5	5	2,3628	0,97365	6	0,114185
Cu μM/l	16,5180	14,8580	0,739	8	0,481172	5	5	2,2537	4,49080	4	0,210271
Fe μM/l	24,1700	23,4060	0,180	8	0,861904	5	5	4,4089	8,42632	4	0,237450
Zn μM/l	7,2620	6,9220	0,340	8	0,742654	5	5	1,8418	1,26861	2	0,487936
GSH-Px μkat/l	308,4000	312,8000	-0,218	8	0,833254	5	5	30,3694	33,52164	1	0,852823
Betakaroten μM/l	17,1600	14,1160	1,757	8	0,116933	5	5	3,6046	1,41784	6	0,098097
CK μkat/l	3,8640	5,7680	-1,199	8	0,264836	5	5	1,6112	3,16429	4	0,219423
Laktát mM/l	1,3600	1,4960	-0,662	8	0,526821	5	5	0,2637	0,37647	2	0,507488
LDH μkat/l	3,0920	3,2940	-0,423	8	0,683491	5	5	0,7237	0,78542	1	0,877829
Leukocyty x 10 ⁹ /l	5,8600	6,0600	-0,626	8	0,548997	5	5	0,4775	0,53198	1	0,839175
Erytrocyty x 10 ¹² /l	9,5480	8,8240	1,251	8	0,246411	5	5	0,7614	1,04692	2	0,552411
Hemoglobin g/l	147,2000	136,4000	1,479	8	0,177320	5	5	6,0992	15,14266	6	0,106028
Hematokrit l/l	0,4172	0,3812	1,587	8	0,151175	5	5	0,0209	0,04621	5	0,153950

GRAN x 10 ⁹ /l	3,9200	4,2200	-0,775	8	0,460567	5	5	0,5718	0,64962	1	0,810767
LYM x 10 ⁹ /l	1,5600	1,5200	0,150	8	0,884388	5	5	0,5320	0,26833	4	0,213437
MON x 10 ⁹ /l	0,3800	0,3200	0,788	8	0,453499	5	5	0,1304	0,10955	1	0,743942
MPV fl	5,6400	5,8600	-1,992	8	0,081547	5	5	0,0894	0,23022	7	0,094175
Příjem	7,6000	7,8000	-0,447	8	0,666581	5	5	0,8944	0,44721	4	0,208000
Aktivita	7,4000	7,8000	-1,265	8	0,241504	5	5	0,5477	0,44721	2	0,704000
Alergická reakce	0,0000	0,0000		8		5	5	0,0000	0,00000		
Welfare	8,8000	8,8000	0,000	8	1,000000	5	5	0,4472	0,44721	1	1,000000

Příloha 14 Statistické zpracování naměřených biochemických a hematologických dat, dvouvýběrový nezávislý t-test, 2. odběr (30. den)

	Průměr (skup. 1)	Průměr (skup. 2)	Hodnota t	sv	p	n1	n2	Sm.odch. (skup. 1)	Sm.odch. (skup. 2)	F	p (Rozptyly)
Celková bílkovina g/l	75,9320	72,0920	1,207	8	0,261766	5	5	4,4802	5,5229	2	0,695036
Albumin g/l	36,9340	35,2160	1,084	8	0,309784	5	5	2,4713	2,5382	1	0,959993
Urea mM/l	5,3500	5,1960	0,254	8	0,806241	5	5	0,7655	1,1218	2	0,477372
Glukóza mM/l	5,2300	5,1820	0,100	8	0,922487	5	5	0,4212	0,9824	5	0,129749
Triglyceridy mM/l	0,2600	0,2240	1,203	8	0,263486	5	5	0,0430	0,0513	1	0,741478
Cholesterol mM/l	2,1720	1,8420	1,868	8	0,098707	5	5	0,3788	0,1119	11	0,036561
Kreatinin μM/l	134,8800	120,4800	1,514	8	0,168549	5	5	10,6095	18,4366	3	0,309743
AST μkat/l	10,5520	13,9000	-2,821	8	0,022470	5	5	2,4706	0,9698	6	0,097426
ALT μkat/l	0,2100	0,2960	-2,173	8	0,061510	5	5	0,0557	0,0688	2	0,692250
GMT μkat/l	0,7660	1,3520	-1,943	8	0,087924	5	5	0,4750	0,4787	1	0,988159
Bilirubin Total μM/l	49,8800	38,9100	1,912	8	0,092262	5	5	11,9747	4,6063	7	0,091122
Žluč. kyseliny μM/l	16,6420	17,5960	-0,602	8	0,563910	5	5	2,5610	2,4500	1	0,933626
ALP μkat/l	2,4260	2,9160	-1,152	8	0,282621	5	5	0,8064	0,5044	3	0,385530
Ca mM/l	2,2620	2,7360	-2,955	8	0,018285	5	5	0,2692	0,2370	1	0,811081
P mM/l	0,9800	0,9200	0,735	8	0,483520	5	5	0,1030	0,1508	2	0,477701
Mg mM/l	0,8380	0,7800	1,532	8	0,164150	5	5	0,0719	0,0447	3	0,380031
Na mM/l	136,4600	136,6800	-0,197	8	0,849090	5	5	2,3266	0,9230	6	0,100905
K mM/l	3,5040	3,6380	-0,286	8	0,782100	5	5	0,8462	0,6173	2	0,556216
Cl mM/l	100,4600	101,9400	-1,806	8	0,108471	5	5	1,0550	1,4977	2	0,514022
Cu μM/l	14,0340	14,7220	-0,313	8	0,762119	5	5	1,6827	4,6143	8	0,076196
Fe μM/l	23,1320	21,9800	0,333	8	0,747447	5	5	6,7569	3,7499	3	0,280450
Zn μM/l	5,7760	5,5180	0,480	8	0,644022	5	5	0,7393	0,9473	2	0,642688
GSH-Px μkat/l	304,1400	302,4200	0,137	8	0,894279	5	5	23,5315	15,2423	2	0,420856
Betakaroten μM/l	14,8600	14,3200	0,329	8	0,750470	5	5	3,1832	1,8226	3	0,305547
CK μkat/l	6,3040	5,4260	0,816	8	0,437855	5	5	1,7518	1,6471	1	0,907873
Laktát mM/l	3,3700	3,0020	0,553	8	0,595531	5	5	1,4844	0,1130	173	0,000198
LDH μkat/l	2,8340	2,9740	-0,334	8	0,747205	5	5	0,5471	0,7622	2	0,536563
Leukocyty x 10 ⁹ /l	6,8200	6,6800	0,239	8	0,817028	5	5	1,1735	0,5805	4	0,201544
Erytrocyty x 10 ¹² /l	9,3420	8,5000	1,417	8	0,194309	5	5	1,0537	0,8098	2	0,622460
Hemoglobin g/l	149,6000	128,6000	2,068	8	0,072455	5	5	21,0309	8,5615	6	0,109771

Hematokrit l/l	0,4016	0,3570	1,572	8	0,154688	5	5	0,0567	0,0284	4	0,208544
GRAN x 10 ⁹ /l	5,2800	5,0800	0,505	8	0,627123	5	5	0,7855	0,4087	4	0,233580
LYM x 10 ⁹ /l	1,3000	1,3600	-0,231	8	0,823286	5	5	0,4183	0,4037	1	0,946768
MON x 10 ⁹ /l	0,2400	0,2400	0,000	8	1,000000	5	5	0,1140	0,1140	1	1,000000
MPV fl	5,4800	5,8000	-2,359	8	0,046025	5	5	0,2387	0,1871	2	0,648141
Přijem	8,0000	7,8000	0,535	8	0,607511	5	5	0,7071	0,4472	3	0,396501
Aktivita	7,8000	7,8000	0,000	8	1,000000	5	5	0,4472	0,4472	1	1,000000
Alergická reakce	0,0000	0,0000		8		5	5	0,0000	0,0000		
Welfare	8,8000	8,8000	0,000	8	1,000000	5	5	0,4472	0,4472	1	1,000000

Příloha 15 Statistické zpracování naměřených biochemických a hematologických dat, dvouvýběrový nezávislý t-test, 3. odběr (60.den)

	Průměr (skup. 1)	Průměr (skup. 2)	Hodnota t	sv	p	n1	n2	Sm.odch. (skup. 1)	Sm.odch. (skup. 2)	F	p (Rozptyly)
Celková bílkovina g/l	68,7140	69,1620	-0,093	8	0,928310	5	5	7,86675	7,38456	1	0,905371
Albumin g/l	32,4540	32,3360	0,091	8	0,929960	5	5	1,45823	2,51719	3	0,315367
Urea mM/l	6,0180	6,1300	-0,141	8	0,891336	5	5	1,04387	1,43665	2	0,551333
Glukóza mM/l	6,4240	6,1280	0,715	8	0,495108	5	5	0,65813	0,65151	1	0,984854
Triglyceridy mM/l	0,4760	0,4320	0,538	8	0,605516	5	5	0,16410	0,08106	4	0,200604
Cholesterol mM/l	1,9780	2,1520	-1,549	8	0,159972	5	5	0,22287	0,11585	4	0,232981
Kreatinin μM/l	127,9600	113,7800	3,303	8	0,010804	5	5	6,68453	6,88818	1	0,955012
AST μkat/l	4,5840	7,4400	-3,440	8	0,008824	5	5	0,84805	1,65144	4	0,224922
ALT μkat/l	0,1540	0,1680	-0,353	8	0,732972	5	5	0,06618	0,05891	1	0,826894
GMT μkat/l	0,3600	0,4240	-1,233	8	0,252720	5	5	0,08216	0,08204	1	0,997774
Bilirubin Total μM/l	27,9860	24,7920	0,368	8	0,722236	5	5	9,80412	16,73355	3	0,325080
Žluč. kyseliny μM/l	8,7080	9,8200	-1,529	8	0,164877	5	5	0,11606	1,62247	195	0,000155
ALP μkat/l	3,8440	4,4320	-1,235	8	0,251731	5	5	0,74460	0,76044	1	0,968434
Ca mM/l	2,1860	2,1520	0,464	8	0,654735	5	5	0,11349	0,11798	1	0,941820
P mM/l	0,7960	0,8200	-0,277	8	0,788790	5	5	0,13126	0,14248	1	0,877572
Mg mM/l	0,8640	0,8700	-0,193	8	0,851733	5	5	0,05639	0,04062	2	0,540738
Na mM/l	138,5400	137,1800	1,227	8	0,254609	5	5	1,65620	1,84310	1	0,840832
K mM/l	3,6160	2,9880	5,468	8	0,000596	5	5	0,18823	0,17470	1	0,888531
Cl mM/l	107,6400	105,8600	1,643	8	0,139077	5	5	0,96850	2,22104	5	0,136843
Cu μM/l	12,3440	14,5480	-1,141	8	0,286953	5	5	1,87828	3,89036	4	0,187385
Fe μM/l	12,6900	17,1240	-1,137	8	0,288383	5	5	5,96243	6,36144	1	0,903106
Zn μM/l	8,0860	11,1460	-1,072	8	0,314916	5	5	1,12656	6,28154	31	0,005705
GSH-Px μkat/l	307,6400	311,2200	-0,235	8	0,820474	5	5	22,60250	25,57913	1	0,816299
Betakaroten μM/l	16,9600	14,5780	2,315	8	0,549280	5	5	1,88494	1,31881	2	0,506057
CK μkat/l	3,2120	4,5780	-2,048	8	0,074793	5	5	0,69722	1,31881	4	0,244609
Laktát mM/l	1,5360	1,5900	-0,509	8	0,624352	5	5	0,20403	0,12083	3	0,334483
LDH μkat/l	8,9820	10,6500	-1,203	8	0,263339	5	5	2,40416	1,95733	2	0,700018
Leukocyty x 10 ⁹ /l	8,0400	8,4800	-0,459	8	0,658461	5	5	1,18870	1,78382	2	0,451054
Erytrocyty x 10 ¹² /l	12,1560	11,7700	0,813	8	0,439980	5	5	0,95751	0,45989	4	0,184470

Hemoblo- bin g/l	158,0000	152,0000	0,820	8	0,436213	5	5	13,76590	8,86002	2	0,414256
Hematokrit l/l	0,5282	0,5118	0,682	8	0,514787	5	5	0,04186	0,03381	2	0,689152
GRAN x 10 ⁹ /l	5,3800	5,3600	0,026	8	0,980165	5	5	0,83785	1,52905	3	0,270692
LYM x 10 ⁹ /l	2,2600	2,6800	-1,408	8	0,196828	5	5	0,32094	0,58481	3	0,271843
MON x 10 ⁹ /l	0,4000	0,4400	-0,431	8	0,677615	5	5	0,12247	0,16733	2	0,560328
MPV fl	6,0400	5,9920	0,516	8	0,620021	5	5	0,16733	0,12377	2	0,573481
Příjem	8,8000	8,0000	2,138	8	0,064969	5	5	0,44721	0,70711	3	0,396501
Aktivita	8,2000	7,8000	0,943	8	0,373375	5	5	0,44721	0,83666	4	0,252401
Alergická reakce	0,0000	0,0000		8		5	5	0,00000	0,00000		
Welfare	8,8000	8,6000	0,632	8	0,544737	5	5	0,44721	0,54772	2	0,704000

Příloha 16 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, dvouvýběrový nezávislý t-test, 1. odběr (den 0)

	Průměr (sku. 1)	Průměr (sku. 2)	Hodnota t	sv	p	n1	n2	Sm.odch. (sk. 1)	Sm.odch. (sk. 2)	F	p (Rozptyly)
Množství	15,0	16,2	-0,8418	161	0,401168	81	82	8,73	9,91	1	0,260087
Hustota	323159,4	302315,1	2,5198	140	0,012867	69	73	39213,45	57163,72	2	0,001989
Motilita	69,4	67,5	2,9954	158	0,003183	79	81	2,58	4,82	3	0,000000

Příloha 17 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, dvouvýběrový nezávislý t-test, 2. odběr (30. den)

	Průměr (sku. 1)	Průměr (sku. 2)	Hodnota t	sv	p	n1	n2	Sm.odch. (skup. 1)	Sm.odch. (skup. 2)	F	p (Rozptyly)
Množství	15,7	15,7	-0,0364	156	0,970975	80	78	7,91	7,09	1	0,338741
Hustota	328821,9	310417,9	2,5106	138	0,013206	73	67	38852,05	47734,48	2	0,088181
Motilita	69,2	68,1	2,6825	152	0,008116	77	77	1,83	3,36	3	0,000000

Příloha 18 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, dvouvýběrový nezávislý t-test, 3. odběr (60. den)

	Průměr (skup. 1)	Průměr (skup. 2)	Hodnota t	sv	p	n1	n2	Sm.odch. (sk.1)	Sm.odch. (sk. 2)	F	p (Rozptyly)
Množství	13,9	14,6	-0,6272	125	0,531684	71	56	7,20	6,42	1	0,376934
Hustota	323236,5	309773,6	1,3376	120	0,183560	69	53	47125,44	64059,36	2	0,017678
Motilita	69,3	66,9	2,8476	123	0,005164	70	55	5,06	4,02	2	0,082543

Příloha 19 Statistické zpracování dat získaných odběrem spermatu, dvouvýběrový nezávislý t-test, srovnání pokusné i kontrolní skupiny ze všech odběrů

	Průměr (sku. 1)	Průměr (sku. 2)	Hodnota t	sv	p	n1	n2	Sm. odch. (sk. 1)	Sm. odch. (sk. 2)	F	p (Rozptyly)
Množství	15,0	15,6	-0,8866	447	0,375757	233	216	8,06	8,12	1	0,905826
Hustota	325180,8	307176,2	3,6931	403	0,000252	212	193	41638,97	55987,07	2	0,000029
Motilita	69,3	67,6	4,8508	438	0,000002	227	213	3,35	4,14	2	0,001832