

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Hladiny kortizolu ve slinách služebních psů jako součást
hodnocení jejich welfare**

Diplomová práce

Bc. Karolína Menšíková

Management zdraví a welfare zvířat

Ing. Adéla Dokoupilová, Ph. D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Hladiny kortizolu ve slinách služebních psů jako součást hodnocení jejich welfare" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18. 4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Adéle Dokoupilové, Ph. D. za velkou ochotu, trpělivost a cenné rady, které mi poskytla při vedení mé diplomové práce. Můj dík patří také všem kynologickým pátracím týmům, které se do studie zapojily. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a partnerovi za podporu, které se mi od nich dostávalo po celou dobu mého studia.

Hladiny kortizolu ve slinách služebních psů jako součást hodnocení jejich welfare

Souhrn

Psi jsou člověkem dlouhodobě využíváni k pracovním účelům. První zmínky o psech v pracovní roli pocházejí již z dob před 9 tisíci let. Tehdy byli využíváni k lovu. Od té doby se jejich pracovní využití značně rozšířilo. Se zvětšujícím se polem působnosti psů v pracovním sektoru se lidé začali více zajímat o jejich welfare. Je prokázáno, že se zhoršujícími se životními podmínkami (welfare) klesá i pracovní výkon psů. Vzhledem k tomu, že stres negativně ovlivňuje jejich welfare, je vhodné ho minimalizovat. Aby to však bylo možné, je nutné umět stres u psů správně vyhodnotit. Indikátorů pro hodnocení životních podmínek psů je celá řada včetně hladiny slinného kortizolu. Slinný kortizol spolu s dalšími pozorování (fyziologické, behaviorální ukazatele atd.) se zdá být v dnešní době jedním z nejvhodnějších indikátorů stresu u psů. Důvodem je jeho vysoká korelace s úrovní stresu a také možnost odběru slin neinvazivní metodou.

Cílem této diplomové práce bylo zjistit míru kolísání hladiny kortizolu ve slinách služebních psů v pracovním a klidovém režimu s odkazem na jejich welfare. Celkem bylo do studie zapojeno 8 psů, přičemž u každého z nich proběhlo 9 odběrů experimentálních vzorků slin ke stanovení kolísání hladiny kortizolu v pracovním režimu na simulované pátrací akci a následně 5 odběrů v klidovém režimu domácího prostředí psa. Koncentrace kortizolu v jednotlivých vzorcích byla měřena ELISA metodou v laboratoři České zemědělské univerzity. Výsledky byly zpracovány statistickým programem STATISTICA, verze 12, metodou neparametrického testu, konkrétně Kruskal-Wallis test a Wilcoxonovým párovým testem.

Z výsledků této práce vyplynulo, že koncentrace kortizolu ve slinách psů vykazovala tendenci jeho sekrece v cirkadiánním rytmu s přítomností awakening efektu, nejvyššími hodnotami po hodině od probuzení, následným snížením hladiny v průběhu zátěže a mírným zvýšením po označení osob, až k nejnižším naměřeným hodnotám ve večerních hodinách. Hladiny slinného kortizolu vykazovaly výrazné rozdíly dané zřejmě individualitou každého jedince, proto rozdílnost jejich průměrných hodnot v jednotlivých fázích dne nebylo možné statisticky prokázat. Zaznamenané zvýšení průměrné hodnoty hladin kortizolu ve slinách psů v zátěži v porovnání s hodnotami naměřenými v klidovém režimu nebylo statisticky průkazné. U jednoho psa plemene belgický ovčák byly naměřené hodnoty v klidovém režimu dokonce vyšší než v pracovním režimu.

Závěrem tak lze konstatovat, že pracovní zatížení psy, speciálně cvičené pro práci v terénu, nijak výrazně nestresuje a nemá tak vliv na zhoršení jejich welfare. Zároveň se zdá, že plemena psů, vyšlechtěná pro práci, jsou více stresována dny v klidovém režimu bez zátěže, než když jsou v pracovním režimu.

Klíčová slova: pes, slinný kortizol, stres, welfare

Cortisol levels in the saliva of service dogs as part of their welfare assessment

Summary

Dogs have been used by humans for a long time for working purposes. The first mentions of dogs in a working role date back to 9,000 years ago. Back then they were used for hunting. Since then, their work use has expanded significantly. With the increasing scope of dogs in the working environment, people have become more interested in the sector of their welfare. It has been proven that with deteriorating living conditions (welfare) work performance of the dogs also decreases. Considering that stress negatively affects their welfare, it is advisable to minimize it. However, in order for this to be possible, it is necessary to be able to correctly evaluate stress in dogs. There are a number of indicators for evaluating the living conditions of dogs, including the level of salivary cortisol. Salivary cortisol, along with other observations (physiological, behavioral indicators, etc.) seems to be one of the appropriate indicators of stress in dogs these days. The reason is its high correlation with stress levels, as well as the possibility of collecting saliva using a non-invasive method.

The aim of this thesis was to determine the level of cortisol fluctuations in the saliva of service dogs in work and rest mode with reference to their welfare. A total of 8 dogs were involved in the study, with each of them taking 9 experimental saliva samples to determine the fluctuation of the cortisol level in the work mode during a simulated search action, followed by 5 samples in the rest mode at dog's home. Cortisol concentration in individual samples was measured by the ELISA method in the laboratory of the Czech University of Life Sciences. The results were processed with the statistical program STATISTICA, version 12, using the non-parametric test method, namely the Kruskal-Wallis test and the Wilcoxon paired test.

The results of this work showed that the concentration of cortisol in the saliva of dogs showed a tendency to secretion in a circadian rhythm with the presence of an awakening effect, the highest values an hour after waking up, a subsequent decrease in the level during exercise and a slight increase after marking people, down to the lowest measured values in the evening hours. Salivary cortisol levels showed significant differences, probably due to the individuality of each individual, therefore the difference in their average values in individual phases of the day could not be statistically proven. The recorded increase in the average value of cortisol levels in the saliva of dogs under stress compared to the values measured in the resting mode was not statistically significant. For one dog of the Belgian Shepherd breed, the measured values in resting mode were even higher than in working mode.

In conclusion, it can be concluded that the workload of dogs, specially trained for work in the field, does not significantly stress them and thus does not affect their welfare. At the same time, breeds of dogs bred for work seem to be more stressed on days in rest mode without load than when they are in work mode.

Keywords: dog, salivary cortisol, stress, welfare

Obsah

1	Úvod	9
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3	Literární rešerše	11
3.1	Welfare zvířat	11
3.1.1	Základní svobody pro hodnocení welfare zvířat.....	12
3.1.2	Způsoby hodnocení welfare.....	13
3.2	Stres jako původce špatného welfare	13
3.2.1	Vyrovňávání se se stresem.....	15
3.2.2	Kortizol a jeho vliv na welfare	15
	Odběry vzorků slinného kortizolu u psů	17
	Laboratorní diagnostika koncentrace kortizolu	19
	Cirkadiánní rytmus kortizolu	19
3.2.3	Ostatní indikátory špatného welfare psů.....	20
	Srdeční frekvence	20
	Tělesná teplota	20
	Oslabená imunita	20
	Behaviorální indikátory	21
3.3	Služební psi pro záchranné akce	22
3.3.1	Historie využití služebních psů.....	22
3.3.2	Vhodné predispozice pátracích služebních psů	22
3.3.3	Vlivy působící na kvalitu pátrání služebních psů	23
	Působení psovoda na psa	23
3.3.4	Stresory ovlivňující pracovní využití psa	24
	Venkovní teplota	25
	Nadmořská výška	25
	Doba trvání akce	25
	Ustájení pátracích psů	25
	Transport	26
4	Metodika	27
4.1	Materiál a metody	27
4.1.1	Testování psi	27
4.1.2	Průběh sběru dat.....	27
4.1.3	Odběrová sada.....	28
4.1.4	Odběr vzorků slinného kortizolu	28
4.1.5	Laboratorní rozbor vzorků	30

4.1.6	Statistické zpracování dat	31
5	Výsledky	32
5.1	Cirkadiánní rytmus hladiny kortizolu ve slinách psů	32
5.2	Hladina kortizolu ve slinách služebních psů v pracovním a v klidovém režimu	38
6	Diskuze	41
7	Závěr	44
8	Literatura	45
9	Seznam použitých zkratk a symbolů	61

1 Úvod

Psi ve společnosti člověka a v roli jeho společníka žijí po tisíce let (Glenk 2017). Není proto překvapivé, že je snahou člověka psům navodit co nejvhodnější podmínky k životu. Pro tyto účely byl zaveden vědecký termín welfare, jímž se člověk snaží měřit kvalitu života zvířat v jeho péči (Broom 2003). Cílem člověka je navodit co nejlepší welfare psa, tedy jeho dobrý fyzický i psychický stav, čemuž se říká blahobyť (Broom 1986).

Zájem široké veřejnosti o životní pohodu psů roste. A to nejen u psů v roli domácích mazlíčků, ale i u psů pracovních (Beerda et al. 1998).

Pro posuzování kvality welfare psa je dobré pozorovat, zda vykazuje nějaké známky utrpení (Yeates & Main 2008), je-li zdravý a má-li to, co chce a potřebuje (Dawkins 2004).

Prožívá-li pes stres, následkem může být nepohodlí, bolest, nemoc či úzkost. Takový pes strádá a jeho životní podmínky jsou špatné. V tom případě welfare psa nelze hodnotit kladně (Rooney et al. 2009).

Pracovní psi se špatným welfare bývají častěji nemocní a jejich schopnost učit se je snižena (Hiby 2005). Obecně jsou tak tito psi méně výkonní v provádění své práce (Rooney et al. 2005). Proto by mělo být cílem psovoda zajistit co nejlepší životní podmínky psa (Clark et al. 1997).

Posuzování welfare psů je obtížné, vzhledem k tomu, že každý jedinec může projevovat známky stresu jiným způsobem (Gaines et al. 2007). Avšak existují indikátory, podle nichž je alespoň částečně možné usuzovat o životních podmínkách psů (Rooney et al. 2007).

Z výzkumu vyplývá, že nejpoužitelnějším indikátorem stresu u psů se zdá být měření hladin kortizolu ze slin. Jedná se totiž o neinvazivní metodu, tedy nestresuje psa již samotným odběrem. Zároveň hladiny kortizolu vysoce korelují s kortizolem v krevní plazmě, jejíž odběr je však invazivní (Beerda et al. 1996). V neposlední řadě odběr slin u psů není složitý proces, tedy obejde se bez přítomnosti zdravotního personálu (Gatti et al. 2009).

Slinný kortizol, jako indikátor stresu u psů, se poslední dobou čím dál tím častěji používá ve studiích zaměřených na welfare psů (Coppola et al. 2005).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce bylo zjistit míru kolísání hladiny kortizolu ve slinách služebních psů v pracovním a klidovém režimu s odkazem na jejich welfare.

Hypotézy:

H1: Hladina kortizolu ve slinách služebních psů bude vykazovat cirkadiánní rytmus.

H2: Hladina kortizolu ve slinách bude v průběhu dne vykazovat větší výkyvy u služebních psů v pracovním režimu než v klidovém režimu.

3 Literární rešerše

3.1 Welfare zvířat

Welfare zvířat je vědecký termín, jenž popisuje potenciálně měřitelnou kvalitu života zvířat za určité časové období. Nejčastěji se welfare používá ve smyslu toho, co by se mělo zlepšit na životních podmínkách zvířat, která jsou chována lidmi (Broom 2003). Welfare lze definovat jako blahobyt zvířat na základě jejich dobrého fyzického a duševního stavu (Broom 1986).

Blahobyt je stav jedince, kdy se jedinec snaží vyrovnat se se svým prostředím. Blahobyt je možné posuzovat od velmi dobrého po velmi špatný. Za špatný blahobyt lze považovat stav, kdy jedinec není schopen vyrovnat se se svým prostředím.

Zvířata se s podmínkami prostředí vyrovnávají prostřednictvím různých strategií, mezi něž patří strategie behaviorální, fyziologické, či třeba imunologické. Strach, bolest či potěšení jsou pocity, které mohou být komponenty těchto strategií blahobytu.

Pro posouzení blahobytu jsou zapotřebí měřítka welfare. Aby byl blahobyt zvířete co nejlepší, je nezbytnou součástí zdraví zvířete (Broom 1986).

Pocity jednotlivce jsou dalším aspektem blahobytu (Dawkins 1990). Pocit lze definovat jako konstrukt mozku, jež je reakcí na vjemové uvědomění. Jedinec si pocit uvědomuje a když se pocit opakuje, může ovlivňovat a měnit chování jedince, či toto chování posilovat (Broom 1998). Pozitivní pocity jako spokojenost a potěšení jsou součástí dobrého blahobytu (Dawkins 1990). Naopak negativní pocity přetrvávající déle, než pár sekund jsou hodnoceny jako utrpení (Broom 1998).

Špatný welfare zvířat vychází z jejich nevhodných životních podmínek a je možné ho popsat sníženou kondicí (například zhoršeným růstem a reprodukcí) a neschopností zvířete vyrovnat se s prostředím, ve kterém žije (Barnett & Hemsworth 1990).

Termín welfare lze uplatnit pro definování životních podmínek všech zvířata, nejen těch držených v zajetí (Broom 2002).

Hlavním problémem studia a hodnocení dobrých životních podmínek zvířat je způsob, jakým lze objektivně a vědecky měřit stav pohody zvířat. Stav pohody zvířat je schopnost si udržet fyzickou a psychickou zdatnost a zároveň se vyhnout strádání. Nejzřejmějším měřítkem dobrých životních podmínek zvířat je fyzické zdraví. Nejčastěji společnost posuzuje welfare dle toho, zda zvíře netrpí nemocí, zraněním či podvýživou (Fraser et al. 1997). Welfare však znamená více než jen to, že zvíře netrpí po fyzické stránce. Dalšími důležitými faktory welfare jsou psychické zdraví, frustrace, strach a celkově subjektivní pocity zvířete (Dawkins 1998).

Avšak neexistuje žádná metoda či měřítko, kterými by bylo možné bezchybně určit, zda zvíře strádá (Mendl 2001). Na základě stresových hormonů, nebo behaviorálních projevů lze alespoň částečně usuzovat o stavu pohody zvířete (Dawkins 2003). Fyziologické reakce, ať už krátkodobé, jako je zvýšení srdeční a dechové frekvence, zvýšení sekrece adrenalinu a vyšší vylučování kortikosteroidů (Broom & Johnson 1993), nebo dlouhodobé, například zvětšení nadledvin a zhoršená imunitní reakce (Moberg 1985), mohou signalizovat ohrožení pohody zvířete. Avšak je nutné je dobře interpretovat, protože některé fyziologické reakce mohou nastat i při koitu, fyzické zátěži nebo třeba očekávání jídla, což nelze považovat za stresující vlivy. Také jsou ovlivňovány například denní dobou nebo teplotou prostředí (Wingfield et al. 1997).

Welfare souvisí i se schopností zvířat vyrovnávat se s vlivy okolního prostředí. Tedy pohodu zvířat ovlivňuje více faktorů, jako je možnost projevit druhově specifické chování, vhodná výživa a kvalitní veterinární péče. Bracke et al. (1999) uvádí, že welfare je také kvalita života zvířete tak, jak ji vnímá ono samotné.

Schopnost adaptace hraje další velkou roli v životě zvířat. Adaptace je schopnost zvířete přizpůsobit se podnětům, které na něj působí. Není-li zvíře schopno se dostatečně adaptovat vůči averzivním podnětům, může docházet k senzibilizaci, generalizaci či patologickým stavům, jež ohrožují jeho blahobyt (Ohl et al. 2008). Výsledkem neschopnosti se adaptovat je většinou úzkostná reakce zvířete na podnět, ale může nastat až smrt (Salomons et al. 2010). Každý jedinec má jinou míru adaptability, avšak lépe se přizpůsobují ti jedinci, jejichž potřeby jsou uspokojeny. Ale ani dobrá schopnost adaptace jedince na podmínky prostředí nemusí nutně znamenat jeho dobré životní podmínky (Moberg 1985)

Velkým problémem může být selektování zvířat k zisku specifických vlastností, například vysoké užitkovosti. Zvířata nejsou schopna se přizpůsobit prostředí a dosáhnout pozitivního vnímání svého stavu. V tomto případě je pravděpodobně narušena jejich adaptační schopnost a zhoršuje se jejich welfare (Jensen 2010). Pro kvalitní zhodnocení životních podmínek zvířat je tak velmi důležité zjistit adaptační schopnosti zvířat a zároveň zda jsou podmínky, ve kterých žijí adekvátní pro schopnost adaptace (Salomons et al. 2010).

Definice dobrých životních podmínek zvířat vždy závisí na morálních a etických standardech společnosti (Ohl & van der Staay 2012). Interpretace blahobytu zvířat se tedy liší nejen mezi kulturami, ale i v čase (Stafleu et al. 1996). Zároveň se může měnit i v závislosti na kontextu. Záleží, jak se na daný druh zvířete, u kterého jsou životní podmínky hodnoceny, pohlíží. Zda ho hodnotitel považuje za zvíře společenské, či škůdce, je-li chováno jako zájmové zvíře, nebo v laboratoři (Kupper 2009).

3.1.1 Základní svobody pro hodnocení welfare zvířat

Pět svobod je praktické pro hodnocení dobrého welfare zvířat, avšak nelze je považovat za jediné měřítko blahobytu (FAWC 1992).

Mezi těchto pět svobod patří svoboda od hladu, žízně a podvýživy, která by měla zvířeti zajišťovat dostatek vhodné a kvalitní potravy, snadný přístup k vodě, nejlépe ad libitum a celkově by zvíře nemělo trpět podvýživou. Také by mělo být zvířeti umožněno vyhledávat potravu a uspokojit tak jeho biologické potřeby (Appleby 1999).

Druhou svobodou je svoboda od nepohodlí, která je naplněna, pokud zvíře netrpí fyzickým ani tepelným nepohodlím a je mu poskytnut bezpečný úkryt či přístřešek a pohodlný prostor pro odpočinek (Appleby 1999; FAWC 1992).

Další je svoboda od bolesti, zranění a nemoci. Zvíře by nemělo pociťovat bolest ani nemoc a nemělo by být zraněné. Tomu lze předcházet prostřednictvím vhodné prevence. Pokud dojde ke zranění či nemoci, je nutné provést okamžitou diagnostiku a poskytnout léčbu.

Čtvrtou svobodou je svoboda uskutečnit přirozené chování. Ta by měla zvířeti umožnit projevovat normální chování prostřednictvím dostatku prostoru, vhodného prostředí a ustájení s dalšími jedinci téhož druhu (FAWC 1992).

Poslední, pátou, svobodou je svoboda od strachu a úzkosti. Zvíře je zproštěno strachu i úzkosti vlivem zajištění vhodného prostředí bez stresujících faktorů. Pocit strachu lze redukovat

obohacením prostředí, lidskou stimulací, nebo například genetickou selekcí (Appleby 1999; FAWC 1992). Dále by zvíře nemělo zažívat ani frustraci nebo jiný negativní emocionální stav (Fraser et al. 1997).

Výše zmíněných pět svobod bylo ustanoveno Brambellovým výborem (Brambell Committee 1965) původně pouze pro hodnocení welfare hospodářských zvířat, avšak později se tyto svobody začaly rozšiřovat do sfér hodnocení welfare zvířat chovaných v zájmových chovech. Jak již název napovídá, blahobyt by měl podle Brambellova výboru záviset na svobodě zvířete adekvátně reagovat (Ohl & van der Staay 2012).

Jedním z členů zasedání Brambellova výboru byl etolog W.H. Thorpe, který zdůraznil důležitost porozumění biologii zvířat a přiznání si, že zvířata mají své potřeby. A pokud by tyto potřeby nebyly vyslyšeny, může u zvířat dojít k frustraci (Thorpe 1965). Toto tvrzení se stalo základem pro ustanovení pěti svobod (Broom 2003).

Modernějším způsobem hodnocení welfare zvířat je pět domén, které kladou větší důraz na pocity zvířat a jejich duševní stav. Hodnocení prostřednictvím pěti domén závisí na dobrých znalostech biologie a chování druhu a také na zdrojích, které mají zvířata k dispozici (Mellor & Beausoleil 2015).

3.1.2 Způsoby hodnocení welfare

Současné postoje k hodnocení blahobytu zvířat byly formovány kulturou a společností po mnoho let. Vyvinuly se ze zájmu lidstva o to, jak se zachází se zvířaty. Byť zmínky o dobrých životních podmínkách pocházejí již z dávné historie, vědní obor, zabývající se blahobytem zvířat se plně rozvinul až v 60. letech 20. století (Young 2003). Testy preference jsou klíčovou technikou, již je používána k hodnocení welfare (Dawkins 2004).

Hodnocení welfare by mělo být co nejvíce objektivní, nelze ho tedy měřit pouze z okolního prostředí zvířete, ale mělo by docházet i k získání informací od zvířete samotného (Green & Mellor 2011). Pocity zvířat jsou totiž stavebním kamenem jejich blahobytu (Broom 1988).

Welfare nelze hodnotit jako statický pojem, měla by být brána v úvahu dynamika interakce zvířete s jeho prostředím v čase (Ohl & van der Staay 2012).

Preferenci zvířat lze zjišťovat testy, kdy je zvířatům poskytnuto více možností a sama si mohou zvolit dle své preference. Operantní podmiňování je druhým způsobem pro určení, co zvíře preferuje. Nejdříve jsou zvířata cvičena k vykonávání určitého chování (například stlačení páky), aby získala odměnu, či se vyhnula negativnímu podnětu (Kirkden & Pajor 2006). Jakmile se tomuto zvířeti naučí, lze naučené chování využít ke zjištění toho, jaké náklady je ochotno vynaložit pro získání odměny (například pro přístup k sociálnímu partnerovi). Pokud zvíře vynakládá úsilí pro získání odměny i po navýšení nákladů, lze konstatovat, že odměna pro něj má vysokou hodnotu. Experimentátor prostřednictvím tohoto testu dokáže zjistit, jak velkou hodnotu má pro zvíře určitý zdroj (Jensen et al. 2004).

3.2 Stres jako původce špatného welfare

Stres lze definovat jako environmentální vliv působící na jedince, způsobuje přetížení

jeho kontrolního systému a může mít nepříznivé následky (Broom & Johnson 1993). Jedná se tedy o reakci organismu jedince na stresory, jež by mohly potenciálně narušit jeho přirozenou homeostázu (Laugero & Moberg 2000).

Stres je součástí každého života. Živočichové si potřebují zajistit přežití a rozmnožení se v nestabilním prostředí, jehož jsou součástí (Mills et al. 2014), proto mají vyvinuté své vlastní mechanismy, jak se se stresem vyrovnat (Moberg 1985). Za jeden z nejúčinnějších obranných mechanismů lze považovat behaviorální odpověď, již vede k vyřešení situace a opětovné homeostáze (Mills et al. 2014).

O stresu se nejčastěji mluví v negativním slova smyslu, avšak existuje i jeho pozitivní význam. Jedná se o eustres, tedy takový stres, který jedince motivuje k dosažení cílů a po jejich dosažení přichází pocit štěstí (Bienertova-Vasku et al. 2020). Eustres se projevuje zvýšením vzrušení, čímž dochází u jedince k větší pozornosti a přípravě na akci (McVicar 2003). Zároveň jedinec situaci vnímá jako pozitivní a zvyšuje se jeho výkonnost (Balters et al. 2020).

Distres je stres, jenž poškozuje organismus jedince (McVicar 2003). Jedinec není schopen vyřešit situaci ani se adaptovat na stresor. Situace je jedincem vnímána jako negativní a klesá jeho výkonnost (Bienertova-Vasku et al. 2020).

Pojmy eustres a distres zavedl Hans Selye pro rozlišení, zda je stresová reakce vyvolána pozitivním nebo negativním faktorem. Zároveň zdůraznil, že stres je kromě situace, která se jedinci stala, i reakce, jak na tuto situaci zareagoval (Bienertova-Vasku et al. 2020).

Pro udržení pohody zvířat je důležité rozlišovat mezi neohrožujícím životním stresem a stresem, který může pohodu nepříznivě ovlivňovat (Moberg 1985).

Dále se stres dělí dle délky působení stresoru na akutní a chronický (Mesarcova et al. 2017).

Akutní stres je ten, jenž je vyvolán krátkodobým působením stresoru (Moberg & Mench 2000). Po odeznění stresoru dochází k obnovení fyziologické rovnováhy (Trevis & Bertoni 2009). Akutní stres nemusí být nutně negativní. Vlivem krátkého působení malého stresoru může dojít u jedince například k posílení imunity proti patogenům (Mills et al. 2014).

Co se týče chronického stresu, na jedince působí dlouhodobé stresory (Mesarcova et al. 2017; Moberg & Mench 2000). Jedinec se z tohoto stresu nemůže zcela zotavit. Chronický stres je negativní a u jedince může způsobit různé patologie, čímž dochází ke zhoršení welfare (Trevis & Bertoni 2009).

Vlivem fyzické či emoční nerovnováhy jedinec reaguje na stres behaviorálními či fyziologickými projevy. Dle intenzity těchto projevů lze odhadovat jeho úroveň stresu (Corsetti et al. 2019).

Vnější a vnitřní vlivy, jež vyvolávají stres, jsou nazývány stresory (Corsetti et al. 2019). Stresory lze rozdělit na fyzické (např. transport, nevyhovující teplota, poranění atd.), biologické (např. žízeň), sociální (nedostatek nebo nadbytek sociálních partnerů) a psychické. Psi, jakožto velmi sociální zvířata, jsou vystavena mnoha stresorům v podobě nesplnitelného očekávání psovoda, nepřítomnosti majitelů, nepříjemných zvuků atd. (Beerda et al. 1998).

Stres je subjektivní jev, tedy každý ho vnímá s jinou intenzitou. Cílem majitelů či ošetřovatelů psů by mělo být u svých svěřenců dosahovat co nejmenšího utrpení (Chmelíková et al. 2019).

O stresu u psů lze usuzovat i z dalších indikátorů, mezi něž patří například ty

behaviorální, jako je olizování tlamy, třes těla, zívání, nízké držení těla či očichávání země (Beerda et al. 1997). Avšak každý jedinec může projevovat stres svým jedinečným způsobem. Vliv na to má věk, plemeno, předchozí zkušenost či třeba temperament psa (Rooney et al. 2007).

Porozumění indikátorům stresu u psů a tomu, proč určité situace vnímají jako stresující je zásadní pro udržení dobrého welfare psů. Protože stres může mít negativní dopad na jejich pohodu (Mills et al. 2014).

3.2.1 Vyrovnávání se se stresem

Hlavním faktorem, který ovlivňuje úspěšnost jedince ve snaze vyrovnat se stresem je to, jak samotný jedinec danou stresovou situací vnímá (Ursin & Eriksen 2004). Vnímá-li jedinec stresovou situací spíše pozitivně, očekává, že se se stresorem zvládne vyrovnat. Zároveň důvěra ve své vlastní schopnosti vede ke snížení stresu (Blum et al. 2012).

Opakem zvládnutí stresu je beznaděj, kdy jedinec předvídá negativní výsledek. Jedinec se sice snaží kontrolovat situaci, ale odezva je vždy negativní (Lee et al. 2018). Beznaděj může skončit depresí (Ursin & Eriksen 2004).

Bezmocnost je stav, kdy jedinec smýšlí spíše negativně a nevěří v úspěšné zvládnutí situace. Bezmocnost projevují jedinci, již se ocitnou v situaci s nepředvídatelnými událostmi, jež nejsou schopni ovlivnit (Lee et al. 2018).

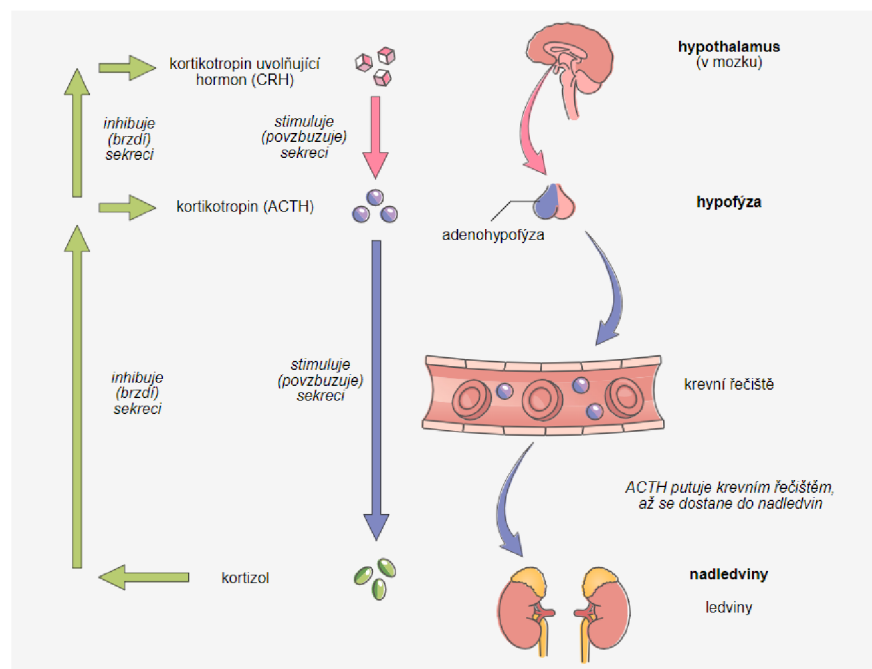
3.2.2 Kortizol a jeho vliv na welfare

Nadledviny hrají velkou roli při reakci organismu na stres. Vylučují katecholaminy a glukokortikoidy, prostřednictvím jejichž působení jsou vytvářeny stresové reakce (Palme et al. 2005).

Stresory aktivují stresové osy SAM (sympato-adreno-medulární) a HPA (hypotalamo-pituitárně-adrenální, nebo-li hypothalamo-hypofýzo-nadledvinovou osu). Působením SAM osy, která je řízena autonomním nervovým systémem je stimulována dřeň nadledvin, jež následně produkuje katecholaminy (adrenalin a noradrenalin). Adrenalin zvyšuje srdeční tepovou frekvenci a sílu stahů srdce. Noradrenalin vyvolává vazokonstrikci periférií, a tedy zvyšuje krevní tlak. Působení SAM je rychlé a efekt lze pozorovat do pár sekund po působení stresoru (Fontana et al. 2014).

U HPA osy je hypotalamus stimulován autonomním systémem při aktivaci SAM. Pro aktivaci HPA však nemusí být vždy aktivována SAM osa. Detekuje-li mozek hrozbu, dochází k fyziologické reakci, která aktivuje autonomní, neuroendokrinní, imunitní a metabolické systémy. HPA osa je aktivována a dochází ke komunikaci hypotalamu, hypofýzy a nadledvin. Hypotalamus zpracovává psychické a fyzické vjemy z periferie (například zranění, přílišná námaha, úlek) (Lupien et al. 2009). Následně vylučuje CRH (kortikotropin uvolňující hormon), jež stimuluje sekreční buňky adenohipofýzy (předního laloku hypofýzy) a začíná se uvolňovat ACTH (adrenokortikotropin) do krevního řečiště. Krevním řečištěm doputuje ACTH do kůry nadledvin, kde stimuluje vylučování kortizolu navázáním se na receptor (viz obrázek č. 1) (Lupien et al. 2009; Národní zdravotnický informační portál 2024). K tomuto dochází bez aktivace SAM. HPA osa řídí v těle fyziologické a metabolické pochody. Jedná se o velmi

důležitou neuroendokrinní soustavu, jelikož udržuje homeostázu organismu vyrovnáváním vlivů vnitřního a vnějšího prostředí (Adam et al. 2017). Protože osa HPA působí na glukokortikoidové receptory (Mesarcova et al. 2017), jež se nachází skoro ve všech tkáních, ovlivňuje téměř všechny orgánové soustavy (Maimon et al. 2020). HPA osa je pomalejší než SAM osa, avšak s déle trvajícím účinkem (Fontana et al. 2014; Sapolsky 2000).



Obrázek č. 1: Osa HPA

(dostupné z: <https://www.nzip.cz/rejstrikovy-pojem/6125>)

Kortizol je glukokortikoid, steroidní hormon, jenž je, jak již bylo zmíněno výše, produkován kůrou nadledvin (Adam et al. 2017).

Kortizol lze považovat za významný biomarker stresu (Helton 2009; Roberts 2007). Na hladiny kortizolu působí akutní, ale i chronický stres (Adam 2012) a zároveň jsou jeho hladiny ovlivňovány předchozí zkušeností jedince (Lupien et al. 2009).

Koncentrace kortizolu významně působí na duševní a fyzické zdraví jedince (Chrousos & Gold 1992). V hodnocení dobrých životních podmínek psů se tak kortizol zdá být jedním z nejlepších indikátorů (Busch & Hayward 2009; Miller et al. 2022).

Avšak kortizol nemá pouze funkci zajištění odpovědi organismu na stres, ale především slouží k regulaci energie a jejích zásob, kdy dokáže energii získávat a ukládat, ale i uvolňovat (Busch & Hayward 2009). Regulace energetického metabolismu kortizolem má za následek zvýšení hladiny glukózy v krvi. Glukóza je důležitým energetickým zdrojem pro mozek a svaly (Legouis et al. 2022).

Působením kortizolu dochází také ke zvýšení krevního tlaku a tepové frekvence, čímž se zlepšuje průtok krve v orgánech a přenos energie je účinnější. Mozek je lépe prokrven. Tyto reakce jsou přechodné a mají za cíl jedinci co nejvíce zvýšit šance na přežití (Kyrou & Tsigos 2009).

Dále má kortizol funkci rozkladu proteinů a sacharidů a štěpí a ukládá tuky

(Buckingham 2006). Glycerol a mastné kyseliny jsou tak uvolňovány pro další využití (Newton 2000).

V neposlední řadě kortizol působí protizánětlivě (Sapolsky et al. 2000; Society for Endocrinology 2017).

Co se týče imunitní reakce, krátkodobý stres zvyšuje nespecifickou imunitu, zatímco při dlouhodobém stresu je vlivem kortizolu snížena rezistence organismu jedince proti infekcím. Důvodem je katabolismus bílkovin způsobený kortizolem, který znemožňuje tvorbu protilátek či dělení buněk (Bernášková & Polách 2016).

Hladina kortizolu v průběhu stresové reakce stoupá, a to v případě působení psychického, ale i fyzického stresoru. Hladina kortizolu stoupá při krátkodobém stresu a může zůstat zvýšená po dlouhou dobu. Vysoké hladiny může způsobit například reakce „boj nebo útek“, kdy se zrychluje srdeční frekvence, motilita žaludku a zvíře se dostává do panického útěku či do boje. Avšak dlouhodobý stres může naopak snižovat kortizol do netypicky nízkých hladin. Tedy vysoké i velmi nízké hladiny kortizolu mohou signalizovat špatné fyzické či psychické zdraví. Vysoké i atypicky nízké hladiny kortizolu jsou spojeny s vyšším rizikem srdečních onemocnění, depresí a úmrtností (Allen et al. 2014).

Přestože je kortizol dobrým indikátorem stresu, jeho hladiny vzrůstají při jakémkoliv vzrušení, a to i v pozitivním smyslu. Proto při hodnocení míry stresu jedince nelze usuzovat jen ze získaných hodnot kortizolu, ale musí se jednat o kombinaci více indikátorů, například ještě behaviorálních projevů (Mills et al. 2014).

Koncentrace glukokortikoidů, které cirkulují v organismu v průběhu stresové reakce se mezidruhově liší. Kortizol převládá u větších savců, tedy u psů, krav, koček, prasat či třeba primátů, zatímco u menších savců, jimiž jsou například myši, potkani a králíci převládá kortikosteron (Palme et al. 2005).

Kortizol u psů lze izolovat z krevní plazmy (Steiss et al. 2007), slin, moči (Beerda et al. 1996), stolice a srsti (Accorsi et al. 2008). Kortizol v krvi je většinou v biologicky neaktivní formě, je vázán na transkortin a to až z 92 %. Biologicky aktivní, tedy volně se vyskytující kortizol, je v krvi pouze z 8 % (Ledvina et al. 2009). Ve slinách se vyskytuje kortizol pouze volně, protože vázaný na proteiny není schopen projít membránou z krve do slin pasivní difúzí (Oyama et al. 2014).

Kortizol, jenž obsahují srst a výkaly promítá dlouhodobější vystavení jedince stresu. Naopak kortizol v krevní plazmě a slinách ukazuje spíše na aktuální stres organismu (Hennessy 2013).

Odběry vzorků slinného kortizolu u psů

Získ vzorků kortizolu u zvířat je náročný, je proto dobré zvolit co nejefektivnější metodu, tedy tu, při které se co nejméně manipuluje se zvířetem a zároveň je technicky snadno proveditelná. Vhodnější metodou odběru je ta neinvazivní (Dreschel & Granger 2009).

Odběry vzorků moči a výkalů u psů jsou sice neinvazivní metodou, avšak není možné provádět odběry v přesně stanovený čas vícekrát za sebou, čímž se stává měření nepřesné (Beerda et al. 1996).

Odběry krve jsou pro měření hladiny kortizolu mnohem přesnější, jde však o invazivní metodu, která může zhoršovat dobré životní podmínky psa (Haverbeke et al. 2008).

Odběr slin se tak zdá jako nejvhodnější metoda, protože se nejedná o bolestivou techniku a zároveň lze vzorky odebírat ve stále stejný čas (Haverbeke et al. 2008). Hladiny kortizolu ve slinách vysoce korelují s plazmatickým kortizolem (Beerda et al. 1996). Změna hladiny kortizolu ve slinách psů se projeví nejdříve za 5 minut od změny hladiny kortizolu v plazmě, díky čemuž nejsou vzorky ovlivněny případným stresem z manipulace při odběru (Vincent & Mitchell 1992). Metoda odběru slinného kortizolu není invazivní a výzkum prokázal, že odběr slin může trvat až 4 minuty, aniž by měl vliv na hladiny kortizolu ve slinách psa, u něž byl odběr proveden (Kobelt et al. 2003).

Hladina kortizolu ve slinách psů stoupá pozvolně a vrcholu dosahuje po 10-30 minutách od konce zátěže (Foley & Kirschbaum 2010).

Byť se zdá tato metoda nejvhodnější, stále obnáší řadu omezení spojenou se sběrem slin a následným vyhodnocením. Zejména druh odběrového materiálu, objem odebraných slin a použité stimulanty mohou ovlivnit měření a navodit falešné výsledky (Granger et al. 2007). Také nemoc a podávané léky ovlivňují koncentrace kortizolu ve slinách (Hellhammer et al. 2009).

Objem slin pro řadu testů není vyžadován velký, pro některé testy stačí již 25 μ l, avšak i tento objem slin může být problematické získat od malých plemen psů (Harmon et al. 2007). Pro získání většího množství slin je možné použít různé stimulanty, třeba kyselinu citrónovou. Tu lze aplikovat několika způsoby, buď na jazyk psa, nebo jí napustit odběrový materiál (Kobelt et al. 2003). Avšak například u člověka bylo zjištěno, že kyselina citrónová může uměle zvyšovat hladiny kortizolu ve slinách svojí kyselostí (Granger et al. 2004). Nicméně vzhledem k tomu, že sliny psů oproti lidským mají schopnost chránit jedince před kyselějšími látkami, mají takzvanou pufovací schopnost, není u psů vliv kyseliny citrónové na hladiny kortizolu ve slinách pozorován (Reece 1994).

Odběry lze doplnit také o přítomnost lákavé potravy pro psa, jako je například maso (Batt et al. 2008). Pes je tak vizuálně či olfaktoricky stimulován a zvyšuje se salivace (Lensen et al. 2015). Jako další stimulanty slin, kromě již zmiňované kyseliny citrónové, lze použít kyselinu octovou, sacharózu či třeba chlorid sodný (Damian et al. 2018).

Odběr slin k měření hladin kortizolu u psů se začíná čím dál častěji využívat pro hodnocení stresu u pracovních psů ve studiích zaměřených na welfare (Beerda et al. 1999).

Sběr slin se většinou provádí tak, že je odběrový materiál držen v tlamě psa po dobu 90-120 sekund. Za tuto dobu by měl odběrový materiál dostatečně absorbovat sliny z tlamy psa. Následně jsou sliny z odběrového materiálu odstředěny v zařízení Salivette (Sandri et al. 2015; Shirtcliff et al. 2001).

Samotný odběr se provádí většinou bavlněným absorpčním materiálem (Parra et al. 2005), popřípadě filtračním papírem (Oyama et al. 2014) či polypropylenovou gázou (Parra et al. 2005). Sliny lze u psů odebírat výtěrem lícních vaků, dásní či z jazyka (Kobelt et al. 2003). 20 minut před odběrem slin by psům neměla být podávána potrava ani voda (Colussi et al. 2018).

Vzhledem k tomu, že fenyl reagují silněji vůči stresorům, je důležité uvádět při měření hladin kortizolu pohlaví jedince, u něž byly odběry provedeny (Chmelikova et al. 2019). Zároveň věk psa hraje roli, protože se liší koncentrace kortizolu u psů s věkem. U štěňat, v kritickém období učení do 6 měsíců, jsou koncentrace nižší, než například u ročních psů. (Cobb et al. 2016; Fratkin et al. 2013).

Laboratorní diagnostika koncentrace kortizolu

Mezi nepoužívanější metody měření koncentrace kortizolu ze slin patří metoda RIA (radioimunotest) a EIA (enzymový imunotest) (Gan & Patel 2013). Dále se používají například metody fluoroimunoanalýza či chemiluminiscence (Koivunen et al. 2006).

Metodou RIA se začala využívat jako první. Prostřednictvím RIA metody je možné detekovat molekuly již v malém množství (Gan & Patel 2013). Je založena na principu využití radiotopů, například tritia či jódu pro získání radioaktivních signálů (Sheriff et al. 2011). Avšak nejedná se o zcela bezpečnou metodu a zároveň je složitá likvidace radioaktivních látek, které byly použity. Proto byl radiotop metody RIA zaměněn za enzym a vznikla nová metoda ELISA.

ELISA metoda, využívá soutěž o vazbu na protilátky mezi antigenem (kortizolem) a antigenem označeným enzymem (Darwish 2006). Antigen je imobilizován na mikrotitrační destičce a dochází k reakci antigenu a protilátky s konjugovaným enzymem (většinou křenuvová peroxidáza), kdy se protilátka naváže na antigen. Přítomnost antigenu je prokázána viditelnou změnou barvy (Gan & Patel 2013).

Fluoroimunoanalýza používá fluorescenční látku (například fluorescein) ke značení a u chemiluminiscenční metody dochází k emisi světla během chemické reakce (v momentě, kdy substrát přejde z excitovaného stavu do základního (Koivunen & Krogsrud 2006).

Cirkadiánní rytmus kortizolu

Výzkum cirkadiánního rytmu sekrece kortizolu je rozsáhlý, avšak týká se především lidí, opic a krys (Czeisler et al. 1991; Ader & Friedman 1968). Dále jsou cirkadiánní změny hladin kortizolu popsány například u skotu (Thun et al. 1981), ovcí (Fulkerson & Tang 1979) či třeba prasat (Klemcke et al. 1989).

Cirkadiánní sekrece kortizolu znamená vylučování tohoto hormonu v určitém rytmu po celý den. Tento proces je řízen světlem (Czeisler et al. 1991; Ader & Friedman 1968).

Z výzkumů vyplývá, že kortizol u lidí a opic je vylučován cirkadiánně, tedy s rytmem po celý den. Vyšší hodnoty kortizolu jsou u lidí a opic pozorovány ráno kolem 8. hodiny a nejnižší jsou pozorovány kolem 20. hodiny večerní. Naopak u krys jsou hladiny nejvyšší večer a nejnižší ráno (Ader & Friedman 1968; Orth & Kovacs 1998).

Oproti rozsáhlým výzkumům u člověka se u psů stále vedou diskuze, zda je kortizol vylučován v cirkadiánním rytmu (Castillo et al. 2009). Jako první provedl výzkum sekrece kortizolu u psů Egdahl (1962), který studoval změny hladin kortizolu po chirurgických zákrocích. Avšak jeho výsledky byly později zpochybněny, protože při zákrocích došlo k nekróze adenohipofýzy i neurohipofýzy (Engler et al. 1999).

Z dalších výzkumů vyplývá, že hladiny kortizolu u psů jsou pravděpodobně ovlivňovány cirkadiánním rytmem. Koncentrace kortizolu vrcholí v ranních hodinách (Horvath et al. 2007), kdy dochází 20-45 minut po probuzení k nárůstu o 50-60 %, čemuž se říká awakening effect (Clow et al. 2004; Pruessner et al. 1997; Adam & Kumari 2009). V průběhu dne se poté hladiny snižují s minimem večer (Horvath et al. 2007).

Zdá se tedy, že by tomu u psů mohlo být stejně jako u člověka, u něhož jsou výzkumy cirkadiánního rytmu hladiny kortizolu rozsáhlejší (Adam et al. 2017).

Ke stejným výsledkům došel i Castillo s kolegy (2009). Ve svém výzkumu potvrdili, že

existují rozdíly v hladinách kortizolu psů, avšak jsou tyto rozdíly menší, než třeba u lidí či potkanů. Zvýšenou hladinu kortizolu přičítali autoři především zvýšené aktivitě jedinců, tedy v 8 hodin ráno byly hladiny vyšší vlivem vzrušení psů a klesaly mezi 10.00-12.00 z důvodu, že se psi zklidnili a věnovali se odpočinku po průzkumu prostředí.

I Beerda s kolegy (1999) ve svém výzkumu zaznamenali mnohem vyšší hladinu kortizolu u psů ráno než v průběhu dne.

Naopak Cobb s kolegy (2016) zjistili, že ve vzorcích slin odebraných psům mezi 6:00 a 8:00 ráno byly mnohem nižší koncentrace kortizolu než ve vzorcích odebraných v průběhu dne. Lze tak konstatovat, že hladiny kortizolu jsou vysoce individuální u každého jedince (Cobb et al. 2016; Kudielka et al. 2009).

3.2.3 Ostatní indikátory špatného welfare psů

Zájem veřejnosti o dobré životní podmínky psů se v poslední době zvyšuje. Aby bylo možné dosáhnout životní pohody psů, je nutné odhalit indikátory, jež by mohly signalizovat stres a špatné životní podmínky psů (Stafleu et al. 1992).

Mezi tyto indikátory lze zařadit, kromě již výše zmiňovaného nárůstu hladin hormonu kortizolu, například zvýšenou srdeční frekvenci a variabilitu srdeční frekvence, zvýšenou teplotu, oslabenou imunitu či behaviorální indikátory (Beerda et al. 2000).

Srdeční frekvence

Srdeční frekvence může být indikátorem stresu či utrpení. Při střetnutí se se stresorem se aktivuje sympatická část nervového systému, čímž se zvyšuje srdeční frekvence a organismus se tak připravuje na případnou reakci boje či útěku (von Borell et al. 2007).

Pro hodnocení kvality welfare se používají neinvazivní metody měření srdeční frekvence a variability srdeční frekvence. Srdeční frekvence udává počet tepů za minutu a variabilita srdeční frekvence udává časové změny mezi jednotlivými údery srdce. Variabilita srdeční frekvence klesá při stresující události (von Borell et al. 2007). Avšak nelze ji používat jako jediné měřítko, protože jak vyplývá z výzkumu Zupan a kolegů (2016) variabilita srdeční frekvence klesá i při pozitivních emocích, například při hlazení či podání pamlsku.

Tělesná teplota

Při akutním stresu se zvyšuje teplota jádra těla (rektální) a zároveň se snižuje teplota periférií (Ogata et al. 2006). Teplotu u psů lze měřit pomocí teploměru zavedeného do rekta, avšak tato metoda může být pro zvířata velmi stresující. Další možností je termovize, která je neinvazivní a je možné ji provádět i bez přítomnosti člověka, a tedy zvíře nestresuje (Riemer et al. 2016).

Oslabená imunita

Reakce na stres vyžaduje hodně energie, čímž se organismus stává náchylnějším. Oslabená imunita je tak dalším indikátorem stresu, a to především chronického (Protopopova 2016).

Imunitní funkci lze měřit množstvím bílých krvinek a protilátek v krvi. Avšak odběry

krve jsou invazivní metodou, což může mít významný dopad na výsledky. Také denní doba odběru může mít velký vliv na výsledek (Kikkawa & Uchida 2003).

Co se týče neinvazivní metody pro zjišťování oslabené imunity, lze usuzovat z úbytku hmotnosti zvířete. Obecně snížení hmotnosti může signalizovat stresovaného psa, který má menší chuť k jídlu právě vlivem nějakého působícího stresoru (Broom & Johnson 1993).

Behaviorální indikátory

Chování je lehce pozorovatelným ukazatelem případného stresu a poskytuje informace o tom, co pes potřebuje, preferuje a jak je vnitřně vyladěn (Mench & Mason 1997). Výhodou pozorování je také fakt, že se jedná o neinvazivní metodu zjišťování kvality welfare (Dawkins 2004).

Pro hodnocení welfare psů je nutné každého psa posuzovat individuálně. Mohou být totiž rozdíly mezi jedinci, kdy jeden pes projevuje stres apatií, zatímco druhý, stejně stresovaný, může být velice aktivní. Pro kvalitní posouzení welfare je nutné psa pozorovat často a usuzovat o jeho životních pohodách na základě změn v jeho chování (Hiby et al. 2006).

Pokud jsou psi stresováni, může se stát, že přestanou projevovat některé z přirozených chování. Často je stresem potlačeno především pátrací a hravé chování (Mench & Mason 1997).

Nejvíce nápadným indikátorem stresu u psů je abnormální chování (Mason & Latham 2004). Abnormální chování je takové chování, které není pro zvíře přirozené a nemělo by ho provádět. Většinou vzniká působením dlouhodobého stresu. Příkladem takového chování u psů může být koprofágie. Z výzkumu vyplývá, že ke koprofáгии dochází především, jsou-li psi uzavřeni na příliš malém prostoru s nízkou intenzitou sociálního kontaktu (Beerda et al. 1999).

Pokud se abnormální chování začne opakovat, nazývá se stereotypie. Ke stereotypnímu chování u psů může docházet například při nedostatku příležitostí k očichávání prostředí. Biologickou přirozeností psů je totiž prozkoumávání čichem. Je proto důležité, aby měli psi možnost očichávání i mimo známá místa, a to co nejčastěji (Gaines et al. 2008). U psů lze pozorovat stereotypní chování například v podobě přecházení z jedné strany kotce na druhou, točení se za ocasem (Denham 2007), opakované vyskakování na stěny kotce, okusování předmětů či sebepoškození (Stephen & Ledger 2005).

Dalším indikátorem stresu je náhlá, neočekávaná agrese (Lockwood 1995). Agrese bývá spojena s působícím stresorem a naznačuje zhoršené welfare psa (Taylor & Mills 2007).

Sebepoškození, tedy nadměrné olizování či okusování vlastních částí těla, také značí nepohodu či stres, jež se pes snaží tímto způsobem zmenšit (Mason 1991). Sebepoškození psů lze alespoň částečně řešit, dle studie, poskytnutím kongu (hračky naplněné krmivem), který snižuje stres vlivem alternativní aktivity (Gaines et al. 2008).

Ničení vybavení v ustájení či transportního boxu (kennelky) je dalším signálem pro zhoršené welfare psů. Pravděpodobně je důsledkem frustrace psa z uzavření do individuální ubikace a nemožnosti sociálního kontaktu. Pes tak při snaze dostat se k ostatním psům rozžvýká část vybavení či kennelky. Ničení předmětů může být také důsledkem nedostatku žvýkacích materiálů, jako jsou kosti nebo žvýkací hračky (Rooney et al. 2009).

Prostřednictvím vokalizace psi dokáží projevit bolest, což má velký vliv na hodnocení bolesti, ale i blahobytu (Noonan et al. 1996). Vytlí, štěkání, či kňučení je nejen známkou frustrace či úzkosti, ale zároveň může zhoršovat životní pohodu ostatních psů ustájených v

blízkosti. Těmto psům může hluk narušovat jejich odpočinek, a tedy i jejich welfare (Gaines et al. 2005).

Pokud je stres dlouhotrvající, může u psů dojít k apatii nebo naučené bezmocnosti (Mason & Latham 2004).

3.3 Služební psi pro záchranné akce

3.3.1 Historie využití služebních psů

Psi jsou dlouhodobě využíváni člověkem jakožto spolupracovníci. Především díky jejich ochotě kooperovat s člověkem. Využití psů je široké, od strážení a nahánění hospodářských zvířat na pastvách, přes terapeutické asistenty nebo hlídače objektů, až po profesní využití (Hole & Wyllie 2007).

První záznamy o využití psů v pracovní roli pochází z dob nejméně před 9 tisíci let, kdy byli psi používáni k lovu (Guagnin et al. 2018; Hole & Wyllie 2007). Na jeskynních malbách, které se dochovaly z dob před 5 tisíci let se našla vyobrazení siluet psů strážních a honáckých. Je tedy očividné, že psi byli lidskými společníky již za dob před naším letopočtem (Fenton 1992).

První zmínky o využití psů v oblasti vyhledávání pohřešovaných osob pochází z období 17. století. Psi byli využíváni mnichy z hospice sv. Bernarda pro vyhledávání a záchranu ztracených osob v horských průsmycích Alp (Greatbatch et al. 2015).

K značnému rozšíření využití psů došlo na začátku devatenáctého století za první světové války. Tito psi pracovali pod Červeným křížem a sloužili nejen k donášení zpráv a potravin na bojiště, ale i k lokalizaci zraněných vojáků a dovedení k nim zdravotníků (Jones et al. 2004).

K dalšímu rozvoji výcviku a využití pátracích psů došlo za 2. světové války (Hall et al. 2021).

3.3.2 Vhodné predispozice pátracích služebních psů

Pes vhodný pro pátrací účely by měl být učenlivý, energický, přátelský a zvědavý (Rebmann et al. 2000). Zároveň je důležité, aby byl fyzicky zdatný a schopný adaptace na různé podmínky prostředí (Gerritsen 2007).

Další vlastností, kterou by měl pátrací pes mít je lovecký pud, díky němuž má pes delší výdrž při hledání. Avšak nejdůležitějšími předpoklady pro tyto psy jsou ochota pracovat a velmi dobrý čich. Čich je u psů nejvyspělejším smyslem. Oproti člověku mají psi mnohem více čichových buněk. Člověk má zhruba 50 milionů čichových buněk, kdežto například německý ovčák jich má cca 220 milionů. Výbornému čichu jsou psi přizpůsobeni prodloužením čenichové partie, v níž se nachází skořepky pokryté čichovou sliznicí. U psů krátkolebých je množství čichových buněk značně omezeno (Rebmann et al. 2000; Syrotuck 1972).

Pátrací psi jsou užíváni k identifikaci lidského pachu. Každý člověk vylučuje svůj individuální pach. Tento pach se do prostředí dostává potem, ale i třeba vydechovaným vzduchem. Rozptyl pachu v prostředí závisí na vlhkosti, terénu, teplotě a rychlosti a směru větru (Syrotuck 1972). Lidský pach se otiskuje i do oblečení. Po smrti se pach okamžitě mění. Psi

jsou schopni nejen vyhledat člověka dle pachu, ale i určit, zda je naživu. Psy lze naučit mnoha druhům pachů, které jsou vzápětí schopni identifikovat (Rebmann et al. 2000).

Avšak v dnešní době jsou pátrací psi využíváni nejen pro vyhledávání pohřešovaných osob, ale často se používají i pro detekování výbušnin, pašovaných drog či tabáku (Fjellanger et al. 2000). Výčet všech schopností těchto psů je však mnohem širší, mimo jiné dokáží někteří psi svým čichem odhalit i rakovinné buňky (Pickel et al. 2004).

Plemena psů pro záchranářskou práci nejsou specifikována a může se jednat i o křížence (Rebmann et al. 2000).

3.3.3 Vlivy působící na kvalitu pátrání služebních psů

Pátrací psi jsou trénováni k odhalení pachu (většinou lidského) ze vzduchu a jeho následování ke zdroji koncentrace. Využívají k tomu čichání, při kterém je vzduch nasáván nozdrami krátkými aspiracemi, přičemž tlama je zavřená (Neuhaus 1981).

Nevýhodou pátracích psů je fakt, že se nejedná o senzory se 100% spolehlivostí. Každý pes se může zmýlit a minout cíl. Zároveň hrají velikou roli v pátrání psů environmentální faktory, především směr a rychlost větru. Ale také vlhkost či teplota mají vliv na kvalitu výsledků (Wright & Thomson 2005).

Při vyšších teplotách se psi musí ochlazovat intenzivním dýcháním tlamou. Čichání však není možné zároveň s dýcháním tlamou, snižuje se tak účinnost čichu. Důsledkem přehřátí se koncentrace psa odkloní od pátrání k ochlazování těla (Schmidt-Nielsen et al. 1970).

Při pátrání v terénu mohou psa zmást i pachy zvířat nebo jiných lidí (Greatbatch et al. 2015).

Spekuluje se také, že by psi při pátrání mohli demonstrovat „Clever Hans effect“, tedy že jsou psovi psovodovým vědomým i nevědomým chováním podávány indicie o existenci a umístění hledaného cíle. (Lit et al. 2011).

Působení psovoda na psa

Psi a lidé jsou sociální druhy, které mají mezi sebou jedinečný mezidruhový vztah. Je tomu tak důsledkem soužití, jež trvá minimálně 15 000 let (Sümegei et al. 2014; Vilà et al. 1997). Důvodem soužití byla pravděpodobně oboustranná prospěšnost (Coppinger & Coppinger 2001). Rané psovité šelmy měly v blízkosti lidských obydlí bohatý zdroj potravy (vyhozené jídlo, fekální zbytky) a naopak lidé tyto šelmy využívali k odstranění odpadu, jehož hromadění by mohlo vést k různým nemocem. Vlivem tohoto soužití si psi pravděpodobně vyvinuli specializované dovednosti pro porozumění lidským komunikačním signálům ve snaze usnadnit si získání potravy (Miklósi et al. 2004).

Nyní spolu lidé a psi žijí většinou v jedné domácnosti, sdílejí nejen společný prostor, ale i každodenní život a komunikují na denní bázi (Sümegei et al. 2014).

Psi jsou experty v mezidruhové komunikaci s člověkem. Nejenže jsou sami schopni vysílat komunikační signály směrem k člověku (Gaunet 2008), ale zároveň se u nich vlivem evolučních tlaků zformovala perfektní citlivost pro pochopení komunikačních signálů člověka (Hare et al. 2002; Miklósi et al. 2003). Tuto psí schopnost lze demonstrovat například nalezením potravy prostřednictvím lidských gest. Psovi je podáno několik neprůhledných misek, přičemž pod jednou z nich se nachází potrava. Demonstrátor některým ze svých gest

(ukazování, pohledem atd.) naznačuje psovi, kde je potrava ukryta. Pes má poté možnost výběru z misek a pokud si vybere správně (misku s ukrytou potravou) je odměněn svým nálezem (Reid 2009).

Pro kvalitní výkon pátracího týmu (psovod a pes) je nezbytný silný partnerský vztah mezi psovodem a jeho psem. Avšak síla tohoto partnerství může zajít až tak daleko, že efektivita pátracího psa je nejen výsledkem psa samotného, ale i výsledkem působení psovoda. Psovod může psa ovlivňovat svým chováním, například přílišným povzbuzováním psa, kdy může dojít k falešnému poplachu (Hebard 1993).

Bylo prokázáno, že psi přikládají větší hodnotu signálům vysílaným člověkem, než svému čichu. Szetei a spol. (2003) provedli výzkum, z něhož vyplynulo, že psi při výběru mezi plnou a prázdnou miskou, které ani jedna nejsou vidět, upřednostňovali ukazování psovoda na prázdnou misku před svým čichem.

Dále může být psí vyhledávání ovlivněno i tréninkem, kdy zprvu psovod psa učí vyhledávat prostřednictvím slovních příkazů či ukazování a následně odměňuje reakci na vyhledávaný pach svým nadšením. Pes tak v terénu může být ovlivněn psovodovým očekáváním (být mylným) a chováním (pohyb hlavy, přiblížení se ke psu atd.) (Marshall-Pescini et al. 2009).

Je tedy pravděpodobné, že psi, a to i ti vysoce trénovaní, by mohli reagovat na neúmyslné podněty psovodů (Erdohegyi et al. 2007).

Také zrcadlení emocionálních stavů bylo prokázáno mezi psy a lidmi (Sümegei et al. 2014), což může způsobovat přenos stresu mezi psovodem a jeho psem. Je-li narušena pohoda psovoda, může to mít vliv na pohodu psa. Takže pokud je psovod během pátrání například nervózní, jeho stav se může přenést na psa (Slotta-Bachmayr & Schwarzenberger 2007). Jedná se však o obousměrný proces, tedy i stres psa může způsobit stres u psovoda (Hunt et al. 2012).

Z výzkumu vyplývá, že pokud se psovod se psem dostanou do zátěže (například provozují nějaký sport) mohou se synchronizovat hladiny kortizolu obou zúčastněných (Buttner et al. 2015).

Vliv na hormonální zrcadlení psovoda psem má, mimo jiné, pohlaví psů. Feny projevují vyšší emoční odezvu na psovoda než psi (Sundman et al. 2019). Co se týče psovodů, Schöberl s kolegy (2017) zjistil, že hladiny kortizolu byly nižší u žen, které vlastní psa samce.

Také trénink může zvýšit emocionální blízkost a vytvořit větší synchronizaci kortizolových hladin (Meyer & Forkman 2014).

Celkově se však zdá, že psi spíše odráží stres svých vlastníků, než naopak (Sundman et al. 2019; Kotrschal et al. 2009; Beetz et al. 2017).

3.3.4 Stresory ovlivňující pracovní využití psa

Adaptabilita pátracích psů je jedním ze základních měřítek při výběru pátracího psa. Pátrací akce totiž probíhají v různých podmínkách a terénech, jimž musí psi čelit (Immelmann 1982).

Ve své studii Wilhelm (2007) uvedl, že mezi hlavní stresory působící na pátrací psy při vyhledávání v terénu patří venkovní teplota, typ terénu, nadmořská výška a doba trvání akce. Dalším stresorem působícím na pátrací psy může být transport na místo akce a

případně i způsob ustájení (Hetts 1991). Tyto psychické a fyzické stresory mohou narušit pohodu psů (Immelmann 1982).

Zdravotní stav psa a jeho schopnost vyrovnávat se se stresem jsou hlavní parametry pro úspěšnost při pátrání (Murphy et al. 1997).

Venkovní teplota

Běžná tělesná teplota psů se pohybuje mezi 37,5 až 39 °C (Helton 2009).

Bylo zjištěno, že tělesná teplota psů se zvyšuje vlivem pátrání a závisí na úrovni aktivity psů, ale i venkovní teplotě (Helton 2009; Wilhelm 2007). Čím vyšší je aktivita psů v průběhu pátrací akce, tím více se zvyšuje jejich tělesná teplota. Důvodem je zvýšená svalová aktivita psů, která souvisí s tvorbou tepla. Toto teplo, jenž je generováno svalovou prací, musí být rozptýleno do prostředí. Avšak za vysokých okolních teplot, kdy je velké sluneční záření, dochází k menšímu rozptýlení tělesného tepla psů do prostředí. Za takových podmínek dochází u psů k přehřívání (Helton 2009).

Nadmořská výška

Fyzický výkon je ovlivňován nadmořskou výškou. Zásoby kyslíku se snižují se vzrůstající nadmořskou výškou vlivem nižšího parciálního tlaku kyslíku. Aby však zůstaly tkáně dostatečně okysličené, zvyšuje se srdeční frekvence. Práce ve vyšších nadmořských výškách tak má vliv na kardiovaskulární systém psů. Tento fakt lze nejlépe pozorovat u psů v klidu (Wust 2006).

Doba trvání akce

O stupni svalové únavy lze usuzovat z koncentrace laktátu v krvi. Koncentrace laktátu v krvi je indikátorem kyslíkového dluhu ve svalech v průběhu zátěže. Při vysoké zátěži dochází ke zvýšené tvorbě laktátu ve svalech. Avšak u trénovaných psů dochází k menší produkci laktátu, protože cvičením se zvyšuje přísun kyslíku do svalů (Wilhelm 2007).

Ustájení pátracích psů

Pro dobré welfare záchranářských psů je důležité nejen fyzické zdraví, ale i psychická pohoda (Hiby et al. 2006). Jejich ustájení by mělo být zařízeno tak, aby bylo psům umožněno vykonávat širokou škálu přirozeného chování (Taylor et Mills 2007). Nevhodné ustájení může mít za následek nepohodlí, bolest, úzkost a pes může přestat projevovat přirozené chování (Rooney et al. 2005). Nevyhovující podmínky vedou ke zhoršenému zdraví (Clark et al. 1997), což může negativně ovlivnit výkon psa. Je tedy v zájmu psovoda či dalších ošetřovatelů maximalizovat pohodu psů a minimalizovat jejich utrpení. Pokud pes zažívá dlouhodobý stres, snižuje se také jeho schopnost učit se (Hiby 2005).

Pro pracovní psy je velmi důležitý co nejčastější kontakt s psovodem, případně ošetřovatelem. Kontakt psa s člověkem je pro psa velmi důležitý a obohacující a k vytvoření silného pouta mezi psovodem a psem naprosto nezbytný. Kontakt se psem lze zvýšit prostřednictvím různých společných aktivit, jako je péče o psa, hraní si s ním, jeho výcvik či mazlení (Gaines et al. 2005). Separační úzkost psů ukazuje na nevhodné životní podmínky

(Bradshaw et al. 2002). Může být způsobena, mimo jiné, přílišně dlouhými intervaly mezi jednotlivými návštěvami psa člověkem (Fallani et al. 2007).

Vlivem praktičnosti, bývají boxy, v nichž psi přebývají na terénních výjezdech v časech mezi akcemi, velikostně omezené a často jsou zde psi umístěni jen s minimálním kontaktem s člověkem i okolním prostředím (Hetts 1991). Individuální ustájení psů je voleno častěji než skupinové, a to především z důvodu prostoru k odpočinku psů mezi akcemi. Avšak takový způsob ustájení může kolidovat s přirozeností psů, jakožto sociálních zvířat, (Wells 2004) se sdružovat do skupin (Boitani et al. 1995).

Existuje řada aspektů, které mohou pozitivně, ale i negativně ovlivnit pohodu psů v ustájení. Jedná se například o velikost a vybavení ubikace či sociální stimulace. Jsou-li psi ustájení v nedostatečně prostorných klecích, mají větší tendenci k stereotypnímu a abnormálnímu chování (Hubrecht et al. 1992). Vhodným vybavením boxu na ustájení psů v terénu je pelech, díky němuž se pes může cítit komfortněji a bezpečněji (Hubrecht 1995). Je-li pes ustájen venku v období zimy a není-li box dobře ošetřen proti zimě, mohou mít nízké teploty velký vliv na blahobyt psa (Hiby 2005). Obecně se doporučuje udržovat teploty v ubikacích pro psy v rozmezí 10-26°C. Pokud není možné tyto teploty zajistit, je nutné při příznacích nepohody (třes) zvýšit podestýlku v ubikaci, aby pes zbytečně neplýtval energií (Bergeron et al. 2002). Poskytnutí látek jako podestýlkového materiálu se snižuje možnost vzniku pohmožděnin z dlouhého ležení na tvrdé podlaze. Zároveň se tak snižuje pravděpodobnost vzniku sebepoškozování při opakovaném lízání pohmožděných částí těla. V neposlední řadě má podestýlka z látky i termoizolační vlastnosti a pes dosahuje snáze tepelného komfortu (Prescott et al. 2004).

Udržování ubikace v čistotě je základ, především je nutné dbát na to, aby psi nestáli na mokré podlaze delší dobu. V opačném případě by jim mohly zvrvedovatět polštářky na tlapkách (Jennings 1991).

Transport

Doprava může být pro psy, a to i ty pracovní, velmi stresujícím faktorem (Bergeron et al. 2002).

Pro snížení stresu se doporučuje psa nekrmit alespoň 2 hodiny před jízdou a zároveň mu dát prostor se vymočit a vykálet před umístěním do transportního boxu (Rooney et al. 2009).

Transportní box by měl být tak velký, aby bylo psovi umožněno ležet, sedět, popřípadě stát s narovnanou hlavou (Prescott et al. 2004).

Zastávky během jízdy by měly být prováděny každé 4 hodiny, přičemž by měla být psovi podána voda. Transportní box musí být dobře odvětrávaný. Box lze obohatit pelechem či známou hračkou, která může snížit stres z transportu (Rooney et al. 2009).

4 Metodika

Sběr dat pro zpracování této diplomové práce byl proveden během simulované pátrací akce (terénního cvičení) v Hamrech u Plumlova. Terénní cvičení (TC) bylo naplánováno tak, aby co nejvíce napodobilo reálnou pátrací akci.

TC se konalo pod vedením kpt. Ing. Vladimíra Makeše z Krajského ředitelství policie Královohradeckého kraje ve spolupráci s Horskou službou ČR (HS), Policií ČR (PČR) a kynologickými záchrannými brigádami. Tato diplomová práce zpracovala dílčí část měřených veličin na TC.

Druhá část sběru dat proběhla v klidovém režimu psů v domácím prostředí.

Zpracování odebraných vzorků slinného kortizolu následně bylo provedeno v laboratoři České zemědělské univerzity.

4.1 Materiál a metody

4.1.1 Testování psi

Do experimentu bylo zapojeno celkem 8 psů speciálně cvičených k vyhledávání pohřešovaných osob, u nichž byly měřeny hladiny slinného kortizolu. Z celkového počtu 8 psů se jednalo o 6 samců a 2 samice. Seznam testovaných psů je přehledně shrnut v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1- Testování psi

Označení	pohlaví	věk	plemeno
1	pes	6	německý krátkosrstý ohař
2	pes	5	auvergueský krátkosrstý ohař
3	pes	3	německý ovčák
4	pes	9	australská kelpie
5	pes	7	německý krátkosrstý ohař
6	fena	4	louisianský leopardí pes
7	fena	2	belgický ovčák
8	pes	5	knírač velký

Výsledky experimentu nebyly ovlivněny žádnou chorobou psů, způsobující krvácení v dutině ústní, protože žádný z testovaných psů netrpěl paradontitidou ani jiným podobným onemocněním. Zároveň byli všichni psi klinicky zdraví.

Sliny byly psům odebírány výhradně psovody.

4.1.2 Průběh sběru dat

Sběr dat proběhl ve dvou fázích, aby bylo možné zjistit, jak budou kolísat hladiny kortizolu ve slinách služebních psů v režimu pracovním a klidovém a zároveň zda bude hladina kortizolu ve slinách služebních psů vykazovat cirkadiánní rytmus. První fáze sběru dat proběhla v pracovním režimu na TC. Druhá fáze odběru dat se poté konala v klidovém režimu v domácím prostředí psů.

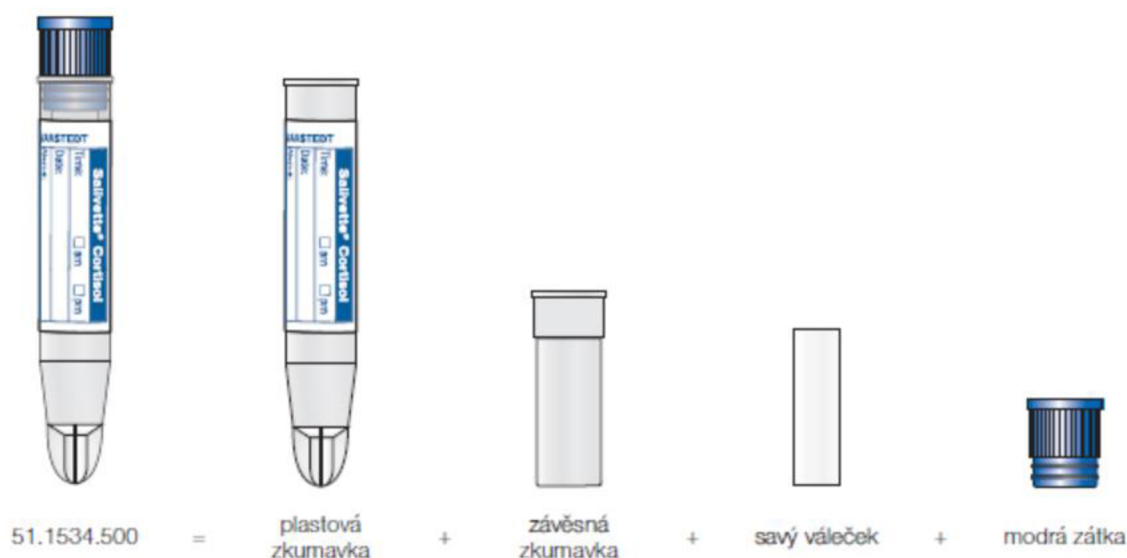
V den sběru dat v pracovním režimu probíhala pátrací akce po pohřešovaných osobách (studenti ČZU v roli figurantů) v čase od 7 hodin a 30 minut ráno do 14 hodin a 50 minut odpoledne. Kynologické pátrací týmy (KPT), vždy ve složení jeden pes a jeden psovod, vycházely do terénu individuálně. Rozestupy mezi jednotlivými starty KPT byly vždy 25 minut. Pátrání bylo prováděno v různorodém terénu – hustý porost lesních školek, smrkové mláží s podrostem ostružin, svažité listnatý les, palouk. Pátrání jednoho KPT v terénu trvalo přibližně 3 hodiny.

V průběhu akce byly psům odebírány sliny za účelem stanovení hladiny kortizolu. Přesný popis sběru slinných vzorků na TC viz kapitola 4.1.4.

Sběr dat v klidovém režimu v domácím prostředí psů probíhal bez pracovní zátěže. Psovodi byli přesně metodicky instruováni k provedení domácích odběrů a uskladnění odebraných vzorků.

4.1.3 Odběrová sada

Sliny byly odebírány prostřednictvím speciální sady Salivette® Cortisol od společnosti Sarstedt. Tato sada byla složena z tampónu a 2 zkumavek v sobě (viz obrázek č. 2). Tampón byl určen k nasáknutí slin. Nasáklý tampón se poté vložil do vnitřní závěsné zkumavky. Důvodem zdvojení zkumavek byla centrifugace, v jejímž průběhu odcházely sliny otvorem v závěsné zkumavce do vnější plastové zkumavky. Takto byly sliny připraveny pro další analýzu.



Obrázek č. 2: Sada Salivette® Cortisol (dostupné z: <https://www.medplus.cz/zkumavka-salivette-cortisol-odber-slin-100-ks/>)

4.1.4 Odběr vzorků slinného kortizolu

U každého testovaného jedince bylo provedeno devět odběrů v pracovním režimu. Jednalo se o odběr dvou vzorků před začátkem zátěže, konkrétně byl proveden jeden odběr po probuzení a jeden po hodině od probuzení, následně byly provedeny čtyři odběry v průběhu zátěže, konkrétně se jednalo o odběry po hodině od začátku zátěže, 15-20 minut od prvního označení osoby, po 2,5 hodinách v zátěži a 15-20 minut od druhého označení osoby.

Následovaly tři odběry v klidovém režimu po ukončení zátěže, konkrétně byly tyto odběry provedeny hodinu po ukončení zátěže, v 18:00 a ve 22:00.

Následně bylo u každého psa provedeno pět odběrů v klidovém režimu v domácím prostředí. Tyto odběry byly u psů provedeny v časech 9:00, 12:00, 16:00, 18:00 a 22:00.

V pracovním i klidovém režimu byly odběry slin provedeny tampónem, který byl psovi vložen z boku do lícních vaků a po dobu 90 sekund držen v tlamě za občasného střídání stran (viz obrázek č.3).



Obrázek č. 3: Odběr vzorku slin z levého lícního vaku psa (soukromé foto autorky)

Poté byl tampón z tlamy psa vyjmut a vložen do odběrové zkumavky. Každá zkumavka byla popsána přesným časem odběru a přiděleným číslem psa a písmenem značícím pořadí odběru (viz obrázek č. 4).



Obrázek č. 4: Ukázka označení zkumavek psa č. 1, odběr vzorku slin v pořadí 4. (značen písmenem D) a odběr vzorku slin v pořadí 5. (značen písmenem E) (soukromé foto autorky)

V terénu byly řádně označené zkumavky vkládány do termosky s ledem a po příchodu KPT na OM předány odbornému personálu, jenž zkumavky vložil do hlubokomrazícího boxu a zamrazil na teplotu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

V domácím prostředí psůvodi řádně označené zkumavky skladovali v mrazicím boxu o teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Obrázek č. 5: Termosky na řádně označené zkumavky se vzorky slin odebranými v terénu-přiřazeny psům dle čísla psa (soukromé foto autorky)

4.1.5 Laboratorní rozbor vzorků

Vzorky byly zpracovány metodou ELISA. Analýza hladiny koncentrace slinného kortizolu byla provedena kitem Salivary Cortisol ELISA SLV-2930 od firmy DRG Instruments GmbH (Německo).

Tato metoda funguje na principu vazby protilátky proti hormonu a následného vzniku barvy produktu.

Na mikrotitračních jamkách jsou antikortizolové protilátky. Vzorky (v tomto případě sliny obsahující kortizol) jsou pipetou přemístěny do mikrotitračních jamek. Napipetovaný kortizol soutěží o vazbu na protilátku s konjugátem kortizol-křenovou peroxidázou. Následuje inkubace, po níž dochází k promytí, čímž je odstraněn nenavázaný konjugát. Množství navázaného konjugátu je poté nepřímo úměrné koncentraci kortizolu ve vzorku. Na závěr se přidá roztok substrátu čímž je vyvinuta barva. Intenzita vyvinuté barvy je nepřímo úměrná koncentraci kortizolu ve vzorku.

Barevný produkt se měří spektrofotometrem na průchodnost paprsků světla skrz vzorek. Tmavší vzorky mají vyšší koncentrace kortizolu, což způsobuje horší průchod paprsků vzorkem.

Vzorky slin je možné skladovat až 1 týden při teplotách 2-8 °C, v případě delšího skladování by měly být zmrazeny na teplotu -20 °C. Před zahájením testu musí mít všechny vzorky pokojovou teplotu. Po rozmražení vzorku by se měl vzorek odstředit pro oddělení mucinu. Před pipetováním je nutné vzorek centrifugovat po dobu 5-10 minut.

ELISA test byl proveden dle návodu v balení.

Byl připraven požadovaný počet mikrotitračních jamek, které byly umístěny do rámečku.

Do každé jamky bylo napipetováno 100 µl vzorku, přičemž každý vzorek byl pipetován jednorázovou špičkou, aby nedošlo ke kontaminaci jednotlivých vzorků. Poté byl přidán do každé mikrotitrační jamky enzymový konjugát o objemu 200 µl. Následně byly vzorky po dobu 10 sekund promíchávány. Po promíchání byly vzorky inkubovány při pokojové teplotě po dobu 60 minut. Po inkubaci byl obsah mikrotitračních jamek vyklepán a pětkrát propláchnut promývacím roztokem. Následně se jamky vytřepaly, aby v nich nezůstaly kapičky, které by mohly ovlivnit přesnost testu. Po vytřepání se do každé jamky přidalo 200 µl substrátového roztoku. Následovala inkubace po dobu 30 minut, která byla ukončena 100 µl zastavovacího roztoku do každé jamky. Poté se absorbce každé jamky stanovila čtečkou mikrotitračních destiček (BioTek™ Elx800™).

4.1.6 Statistické zpracování dat

Data v této práci byla zpracována v programu STATISTICA, verze 12.

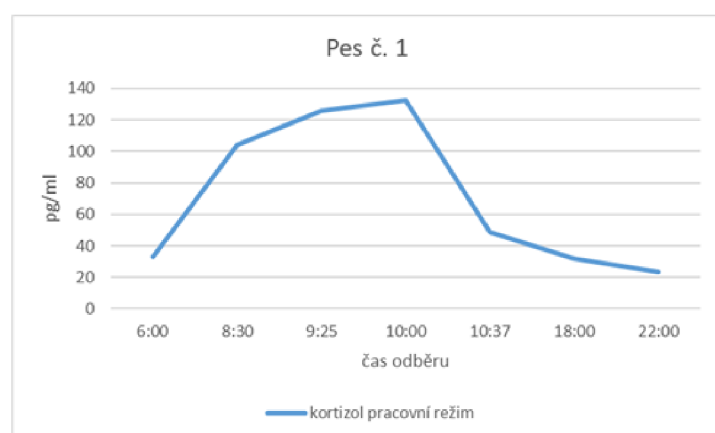
Vliv zátěže na cirkadiánní rytmus hladiny kortizolu ve slinách služebních psů byl stanoven pomocí neparametrické obdoby analýzy rozptylu, prostřednictvím Kruskal-Wallisova testu.

Ke stanovení rozdílů v hodnotách hladiny slinného kortizolu psů v zátěži a v klidovém režimu byl použit párový neparametrický test, konkrétně Wilcoxonův párový test.

5 Výsledky

5.1 Cirkadiánní rytmus hladiny kortizolu ve slinách psů

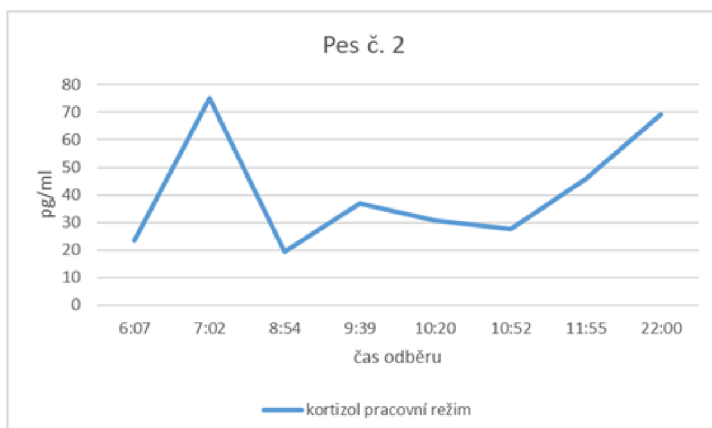
Hladina slinného kortizolu (HSK) psa č. 1 (viz graf č. 1) vykazovala ranní vzestup z hodnot 33,2 pg/ml naměřených hned po probuzení na hodnoty 104,1 pg/ml po 90 minutách od prvního měření. Při dalším odběru slin, který byl proveden hodinu po prvním odběru, se vzhledem k malému množství zachycených slin nepodařilo stanovit hladinu kortizolu. V 7:30 vyrazil pes č. 1 do terénu a po 60 minutách v zátěži vykazovaly naměřené hodnoty HSK zvýšení o 213,6 % v porovnání s odběrem po probuzení. Po dalších 35 minutách pes označil osobu v terénu a 20 minut od označení mu byly naměřeny hodnoty HSK 125,5 pg/ml. Měření po 2,5 hodinách v zátěži ukázalo zvýšení HSK na hodnotu 132,3 pg/ml. Zároveň tato hodnota byla nejvyšší z denního měření u psa č. 1. V 10:20 označil pes č. 1 druhou osobu v terénu a po 17 minutách u něj byla naměřena HSK 48,7 pg/ml, tedy došlo ke snížení o 63,2 % v porovnání s HSK naměřenou po 150 minutách v zátěži. Následně byla u psa zátěž ukončena. Po hodině odpočinku se u psa nepodařilo sliny odebrat. V 18:00, kdy byl pes 7 hodin a 20 minut v klidovém režimu, klesla HSK o 34,1 % v porovnání s poslední naměřenou hodnotou v zátěži. Při závěrečném měření se HSK ještě snížila, a to na hodnotu 23,3 pg/ml, což bylo u psa č. 1 denní minimum.



Graf č. 1: Pes č. 1-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

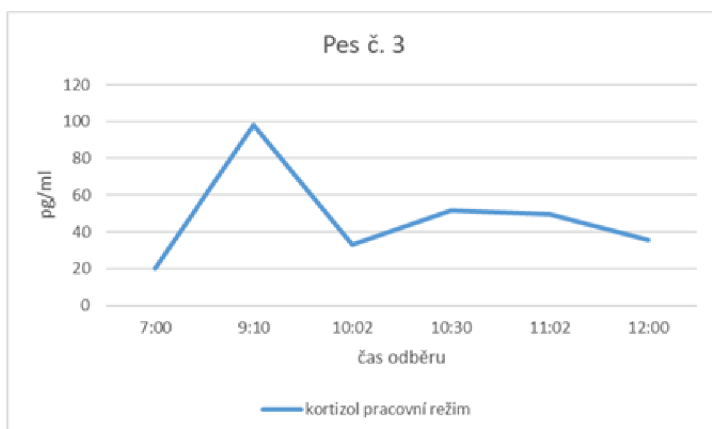
HSK psa č. 2 (viz graf č. 2) vykazovala ranní vzestup z hodnot 23,7 pg/ml naměřených hned po probuzení na hodnoty 75,2 pg/ml po dalších 85 minutách, které byl pes č. 2 mimo pracovní zátěž. Zároveň hodnota naměřená v 7:02 byla u psa č. 2 jeho denním maximem. V 7:54 pes č. 2 vyrazil do terénu a po 1 hodině v zátěži se u něj HSK snížila na hodnotu 19,4 pg/ml. V porovnání s posledním měřením mimo zátěž se jednalo o pokles o 74,2 %. Po dalších 31 minutách pes č. 2 označil osobu a po 14 minutách od označení u něj byly naměřeny hodnoty 37 pg/ml. Měření, kdy byl pes 2,5 hodiny v terénu, prokázalo snížení HSK na 30,8 pg/ml. Druhou osobu pes č. 2 označil v 10:35, přičemž 17 minut od označení jeho HSK dosahovala hodnoty 27,8 pg/ml. Došlo tak k mírnému poklesu o 9,7 %. Následně byla zátěž u psa č. 2 ukončena. Měření po hodině od ukončení zátěže prokázalo zvýšení naměřené hodnoty na hodnotu 46 pg/ml, tedy došlo k nárůstu o 65,5 % v porovnání s hodnotou po druhém označení osoby. Druhý odběr slin v klidovém režimu psa po zátěži se nepodařilo provést, avšak oproti

našemu očekávání se po 10 hodinách a 5 minutách bez zátěže HSK ještě zvýšila oproti hodnotě naměřené po hodině od ukončení zátěže, a to na hodnotu 69,2 pg/ml.



Graf č. 2: Pes č. 2-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

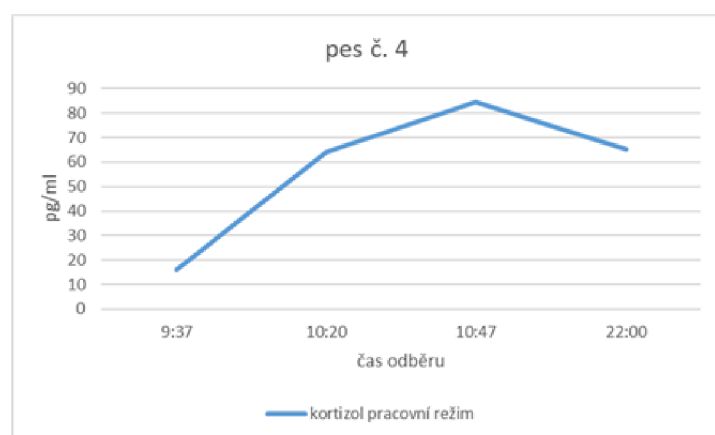
U psa č. 3 se nepodařilo stanovit HSK po hodině od probuzení z důvodu malého objemu odebraných slin. Z výsledků HSK psa č. 3 (viz graf č. 3) je patrné, že došlo k nárůstu HSK o 384,2 % 190 minut po probuzení v porovnání s hodnotou naměřenou po probuzení. Vzhledem k tomu, že pes č. 3 vyrazil do terénu v 8:10, nejvyšší denní nárůstu HSK byl u něj po hodině v zátěži, kdy naměřená hodnota byla 97,8 pg/ml. Po dalších 37 minutách označil první osobu. Z hodnot naměřených 15 minut po označení osoby je patrné, že u psa č. 3 HSK klesla na hodnotu 33 pg/ml. Následně došlo k nárůstu HSK po 2,5 hodinách v zátěži o 56,4 % v porovnání s hodnotou po prvním označení osoby. V 10:46 byla označena druhá osoba a při měření po 16 minutách od označení byl zjištěn mírný pokles HSK na hodnotu 49,6 pg/ml. Následně byla zátěž u psa č. 3 ukončena. Vzhledem k tomu, že ze 3 odběrů HSK v klidovém režimu po zátěži se psodovovi podařilo odebrat pouze jeden odběr, konkrétně ten po jedné hodině od ukončení zátěže, bylo možné předchozí naměřená data porovnat pouze s tímto měřením. Po hodině od ukončení zátěže byla u psa č. 3 naměřena HSK kortizolu 35,5 pg/ml, která byla o 28,4 % nižší než hodnota naměřená po druhém označení osoby.



Graf č. 3: Pes č. 3-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

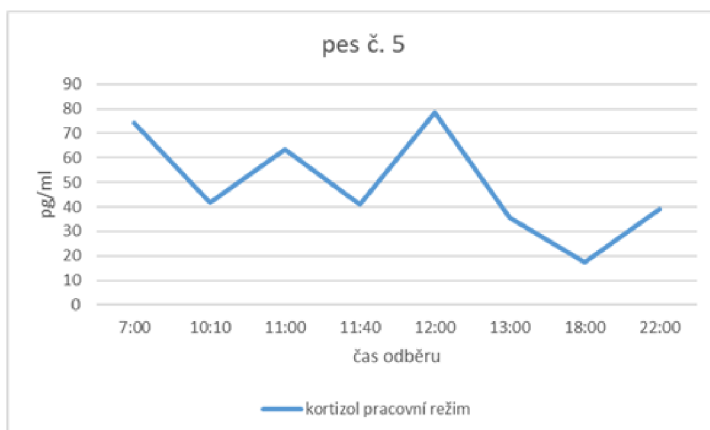
U psa č. 4 bylo odebráno příliš malé množství slin při odběru bezprostředně po

probuzení a při odběru po hodině od probuzení, nebylo tak možné ani u jednoho odběru stanovit HSK, proto jsou u psa č. 4 zaznamenány hodnoty až od měření po hodině v zátěži. Pes č. 4 nastoupil do terénu v 8:37. Po hodině zátěže u něj byla naměřena HSK 15,9 pg/ml. Po dalších 31 minutách označil první osobu. Hodnota naměřená po 14 minutách od označení osoby ukázala zvýšení HSK na hodnotu 64 pg/ml. Po 2,5 hodině v zátěži se HSK ještě zvýšila, a to konkrétně na hodnotu 84,6 pg/ml, přičemž tato hodnota byla u psa č. 4 nejvyšší v porovnání s ostatními naměřenými hodnotami u tohoto psa. Po druhém označení osoby, které proběhlo v 11:07 se nepodařilo u psa odebrat dostatečný objem slin. V 11:30 byla u psa č. 4 zátěž ukončena. Vzorky slin odebrané po hodině od ukončení zátěže a v 18:00 nebyly odebrány v dostatečném množství, nebylo tak možné v těchto časech stanovit HSK psa. Při posledním odběru, ve 22:00, dosahovala HSK hodnoty 65,3 pg/ml, tedy došlo k jejímu snížení o 22,8 % v porovnání s hodnotou naměřenou po 2,5 hodině v zátěži (viz graf č. 4).



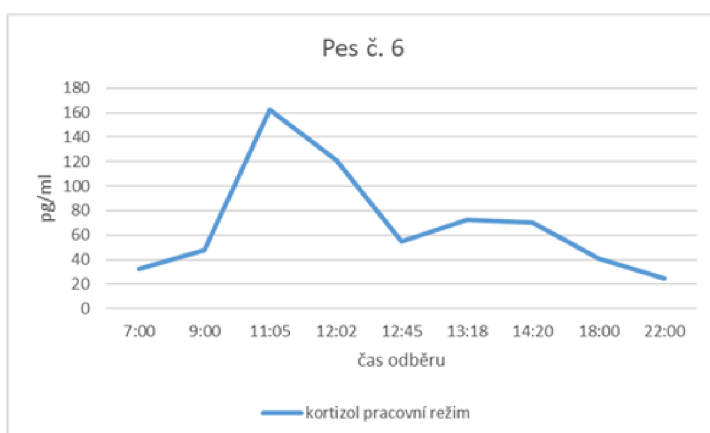
Graf č. 4: Pes č. 4-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

HSK psa č. 5 (viz graf č. 5) vykazovala ranní pokles z hodnot 74,3 pg/ml naměřených hned po probuzení na hodnoty 41,6 pg/ml naměřených po 1 hodině v zátěži. Odběr po hodině od probuzení nebyl psododem proveden, proto byla hodnota naměřená bezprostředně po probuzení porovnána s hodnotou ze zátěže. V 10:38 pes č. 5 označil osobu, přičemž měření 22 minut od označení ukázalo zvýšení HSK na 63,5 pg/ml. Po 2,5 hodinách v zátěži, se HSK snížila, a to o 35,6 % na hodnotu 40,9 pg/ml. V 11:35 pes označil druhou osobu, přičemž měření 25 minut po označení prokázalo nárůst HSK na hodnotu 78,5 pg/ml. Tato hodnota byla v denním měření psa č. 5 nejvyšší. Poté byla zátěž u psa ukončena. Po hodině od ukončení zátěže dosahovala HSK u psa 35,6 pg/ml, tedy byl zde pokles o 54,6 % oproti poslední naměřené hodnotě v zátěži. Po dalších 6 hodinách v klidovém režimu naměřená hodnota ještě klesla, a to na hodnotu 17,2 pg/ml. Jednalo se o nejnižší naměřenou hodnotu v denním měření psa č. 5. Oproti našemu očekávání se při posledním měření, které proběhlo 10 hodin od ukončení zátěže, HSK zvýšila o 127,3 % oproti hodnotě naměřené po 6 hodinách bez zátěže.



Graf č. 5: Pes č. 5-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

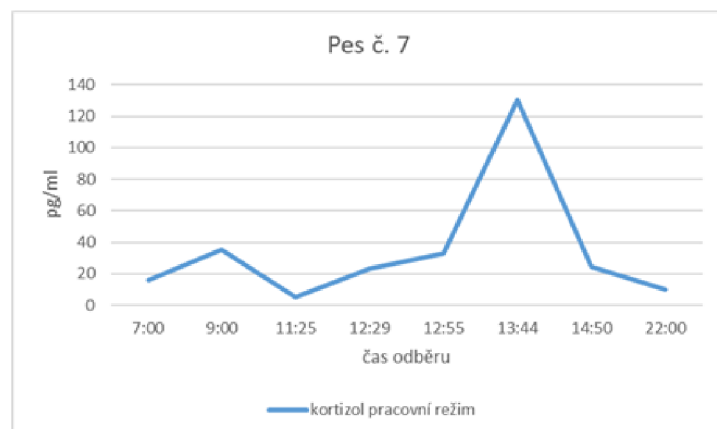
HSK psa č. 6 (viz graf č. 6) vykazovala ranní vzestup z hodnot 32,3 pg/ml naměřených hned po probuzení na hodnoty 48,2 pg/ml po dalších 2 hodinách, během kterých byl pes č. 6 mimo pracovní zátěž. V 10:05 vyrazil pes č. 6 do terénu a po 60 minutách zátěže se hodnoty HSK zvýšily o 114,2 pg/ml na hodnotu 162,4 pg/ml. Po první hodině zátěže byly HSK psa č. 6 na maximální naměřené denní hodnotě u tohoto psa. Po dalších 42 minutách pes označil osobu, přičemž měření po 15 minutách od označení osoby prokázalo pokles na 121,1 pg/ml. Při dalším měření, kdy byl pes 2,5 hodině v zátěži, se u něj HSK ještě snížily o 54,6 % oproti hodnotě po označení osoby. Ve 13:00 byla psem označena druhá osoba a měření po 18 minutách od označení osoby ukázalo nárůst hladiny na 72,7 pg/ml oproti hodnotě 55 pg/ml, která byla naměřena po 2,5 hodině v zátěži. Ve 13:20 se u psa zátěž ukončila. Měření hodinu od ukončení zátěže ukázalo na pokles o 2,7 pg/ml oproti hodnotě naměřené po druhém označení osoby. 4 hodiny a 40 minut od konce zátěže HSK ještě klesla na hodnotu 41 pg/ml a po 6 hodinách a 40 minutách od ukončení zátěže klesla na 24,7 pg/ml, což bylo denní minimum naměřených hodnot u psa č. 6.



Graf č. 6: Pes č. 6-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

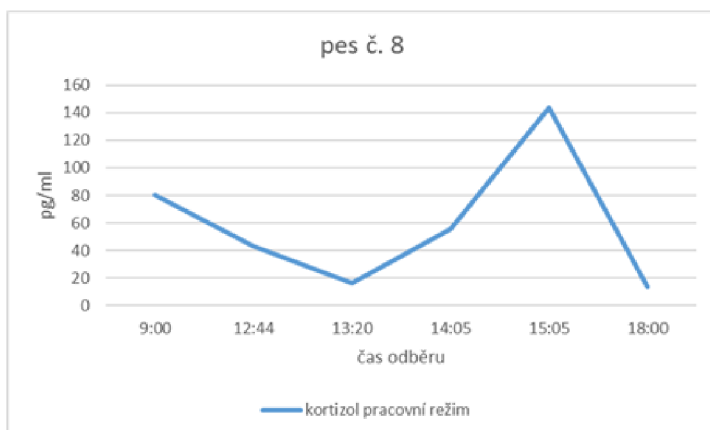
HSK psa č. 7 (viz graf č. 7) vykazovala ranní vzestup z hodnot 16 pg/ml naměřených hned po probuzení na hodnoty 35,2 pg/ml po 2 hodinách, během kterých byl pes č. 7 mimo pracovní zátěž. V 10:25 pes vyrazil do terénu, přičemž po hodině od začátku zátěže byly u psa naměřeny nejnižší denní hodnoty, a to 5,4 pg/ml. Po následujících 46 minutách pes označil

osobu. 18 minut od označení osoby HSK u psa č. 7 vzrostla o 17,9 pg/ml. Měření po 2,5 hodinách v zátěži prokázalo další nárůst HSK na hodnotu 32,9 pg/ml. Ve 13:27 byla označena druhá osoba. Měření provedené po 17 minutách od označení druhé osoby ukázalo výrazný nárůst měřené hodnoty, a to o 296,4 % oproti hodnotě po 150 minutách v terénu. Zároveň tato hodnota dosáhla denního maxima u psa č. 7. Po druhém označení osoby skončila u tohoto psa zátěž. Hodinu od ukončení zátěže HSK výrazně klesla na hodnotu 24,4 pg/ml. V 18:00 se psovodovi nepodařilo odebrat sliny v dostatečném množství, a tak nebylo možné v tomto čase danou hodnotu změřit. Při závěrečném měření, 8,5 hodiny od ukončení zátěže, se ukázalo, že HSK ještě klesla, a to na hodnotu 9,9 pg/ml.



Graf č. 7: Pes č. 7-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

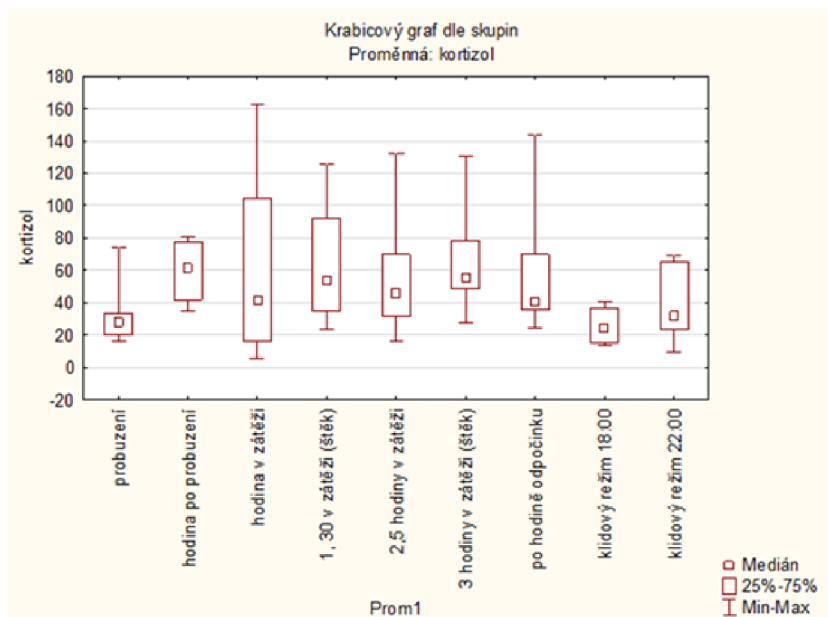
Vzhledem k tomu, že hned po probuzení psovod odebral psovi málo slin, nebylo možné HSK stanovit, proto je první hodnota zaznamenána až v 9:00. Ranní hodnota HSK psa č. 8 v klidovém režimu před zátěží byla 80,4 pg/ml. Do zátěže pes nastoupil v 10:45. Odběr hodinu v zátěži se u tohoto psa nepodařilo provést, protože byl odběrový materiál psem pozřen. Po 100 minutách od začátku zátěže pes označil první osobu. 19 minut od označení osoby měření prokázalo pokles HSK o 37,1 pg/ml oproti hodnotě naměřené před zátěží. 2,5 hodiny v zátěži přinesly další snížení naměřené hodnoty na hodnotu 16,5 pg/ml. Ve 13:42 byla psem č. 8 označena druhá osoba a po 23 minutách naměřené hodnoty prokázaly nárůst o 235,8 % v porovnání s hodnotou po 2,5 hodině v zátěži. Následně byla zátěž u psa č. 8 ukončena. Oproti očekávání došlo u psa k výraznému nárůstu HSK po hodině od ukončení zátěže, a to na hodnotu 143,6 pg/ml. Měření po 4 hodinách od ukončení zátěže však ukázalo snížení HSK o 130,2 pg/ml oproti hodnotě naměřené po 1 hodině od ukončení zátěže. Při posledním odběru nebylo odebráno dostatečné množství slin pro následnou analýzu.



Graf č. 8: Pes č. 8-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v časových fázích v pracovním režimu

Z grafu č. 9 je zřejmé, že HSK psů, měřené v průběhu terénního cvičení, mají tendenci kolísat v cirkadiánním rytmu. Průměrná hodnota HSK psů po probuzení byla 33,28 pg/ml. Hodinu poté, kdy psi ještě nebyli v pracovní zátěži, došlo ke zvýšení průměrné hodnoty na 59,75 pg/ml. Následně psi nastoupili do terénu. Nejvyšší hodnoty HSK byly zaznamenány po hodině v zátěži, kdy se organismus vyrovnával se zatížením. Jak je z grafu č. 9 patrné, v průběhu zátěže došlo k adaptaci organismu, což dokládají naměřené hodnoty po 2,5 hodinách v zátěži, kdy se již v měření nevyskytovaly tak vysoké hodnoty jako po první hodině zátěže. K mírnému zvýšení HSK u psů došlo u hodnot změřených po obou označeních osob, avšak mezi jednotlivými hodnotami byly velké rozdíly. Vzhledem k tomu, že byl pozorován značný rozptyl hodnot u všech měření z terénu, je patrné, že na výsledky působila individualita každého jedince. První odběr po zátěži ukázal na pokles HSK psů oproti HSK v zátěži, avšak i v tomto měření byl rozptyl hodnot velký. Následující odběr v klidovém režimu již neprokázal žádné větší rozptyly a průměrná hodnota tohoto měření byla 25,93 pg/ml. V pozdní večerní hodině se poté HSK u psů průměrně pohybovala kolem 38,58 pg/ml.

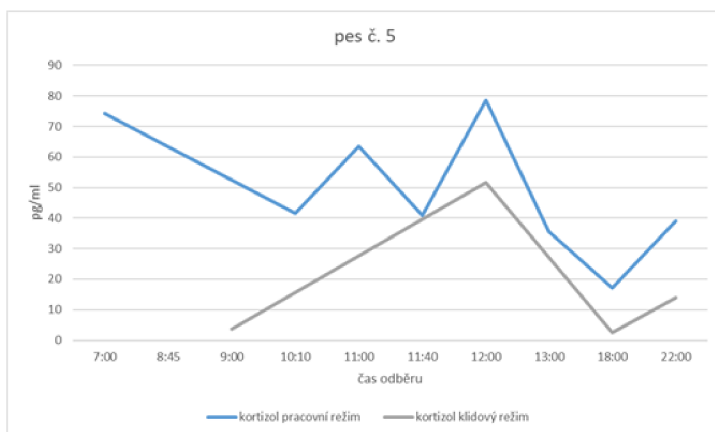
Přestože je z grafu č. 9 patrný cirkadiánní rytmus, rozdíly mezi průměrnými hodnotami HSK služebních psů v terénu naměřenými v devíti intervalech v průběhu dne nebyly statisticky průkazné ($p=0,2329$). Na základě těchto výsledků nebyla hypotéza č. 1 potvrzena.



Graf č. 9: Hladiny slinného kortizolu (pg/ml) služebních psů v časových fázích v pracovním režimu

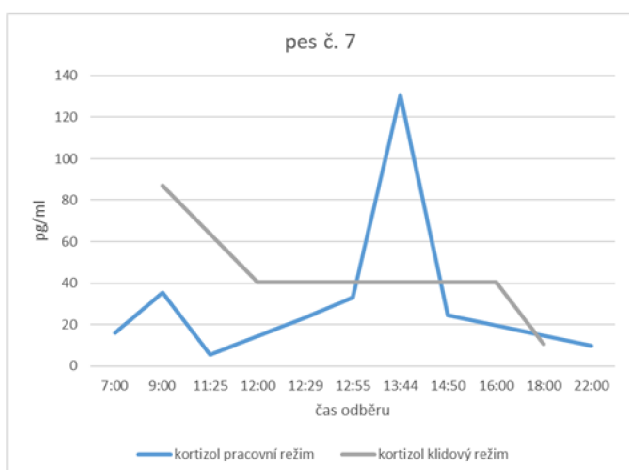
5.2 Hladina kortizolu ve slinách služebních psů v pracovním a v klidovém režimu

HSK u psa č. 5 byla v dopoledních hodinách v klidovém režimu před zátěží zvýšená oproti hodnotám naměřeným v domácím prostředí bez zátěže. Konkrétně první ranní odběr v klidovém režimu doma prokázal, že HSK byla o 70,6 pg/ml nižší než hodnota naměřená bezprostředně po probuzení v pracovním režimu. Nejvyšších hodnot v pracovním i klidovém režimu dosahovala HSK u psa č. 5 ve 12:00 (viz graf č. 10). Avšak i v tomto čase byla naměřená hodnota v pracovním režimu o 52,1 % vyšší než hodnota naměřená ve stejný čas v režimu bez zátěže. Vzhledem k tomu, že odběr slinného kortizolu v 16:00 nebyl psododem proveden v dostatečném objemu slin, nemohlo být toto měření zařazeno do výsledků a porovnáno s hodnotami z pracovního režimu. Měření v 18:00, kdy byl pes již v odpočinkovém režimu po zátěži prokázalo snížení hodnoty na 17,2 pg/ml. Měření ve stejný čas v klidovém režimu psa v domácím prostředí také prokázalo pokles HSK, a to na hodnotu 2,6 pg/ml. Z grafu č. 10 je tak patrné snížení obou hodnot v tuto dobu, přičemž však hladina v pracovním režimu byla o 14,6 pg/ml vyšší než v klidovém režimu v domácím prostředí. Poslední odběr ve 22:00 naopak ukázal na nárůst HSK v obou režimech. V pracovním režimu to bylo na hodnotu 39,1 pg/ml a v klidovém režimu na hodnotu 14 pg/ml.



Graf č. 10: Pes č. 5-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v pracovním a klidovém režimu

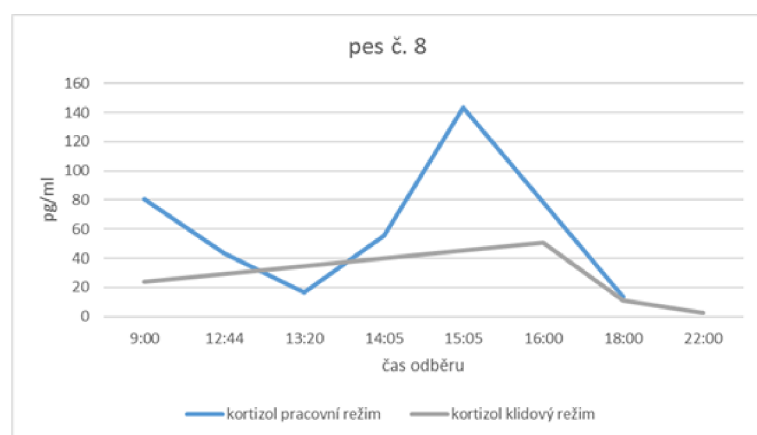
Oproti očekávání byly HSK u psa č. 7 v dopoledních hodinách nižší v pracovním režimu než v režimu bez zátěže. Konkrétně v 9:00 dosahovaly naměřené hodnoty v klidovém režimu v domácím prostředí 86,8 pg/ml, kdežto hodnoty slinného kortizolu naměřené před zátěží byly pouze 35,2 pg/ml, tedy o 59,2 % nižší. I průběžná měření během zátěže ukázala na nižší hodnoty, než byly změřeny v podobný čas v klidovém režimu. Naměřené hodnoty po 2,5 hodinách v zátěži byly o 7,5 pg/ml nižší, než hodnoty naměřené ve 12:00 v klidovém režimu. K velkému nárůstu HSK došlo po druhém označení osoby psem v zátěži, kdy naměřená hladina byla 130,4 pg/ml. Avšak další měření po hodině od ukončení zátěže ukázalo výrazný pokles slinného kortizolu na hodnotu 24,4 pg/ml. V porovnání s hodnotou naměřenou v 16:00 v klidovém režimu tak byla HSK psa č. 7 v pracovním režimu o 16 pg/ml nižší. Hodnoty naměřené v 18:00 a ve 22:00 v klidovém a pracovním režimu nebylo možné porovnat, protože sliny odebrané v pracovním režimu v 18:00 ani sliny z klidového režimu v domácím prostředí odebrané ve 22:00 nebyly v dostatečném množství pro analýzu. Avšak HSK naměřená v 18:00 v klidovém režimu byla o 0,5 pg/ml vyšší v porovnání s hodnotou naměřenou ve 22:00 v pracovním režimu (viz graf č. 11).



Graf č. 11: Pes č. 7-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v pracovním a klidovém režimu

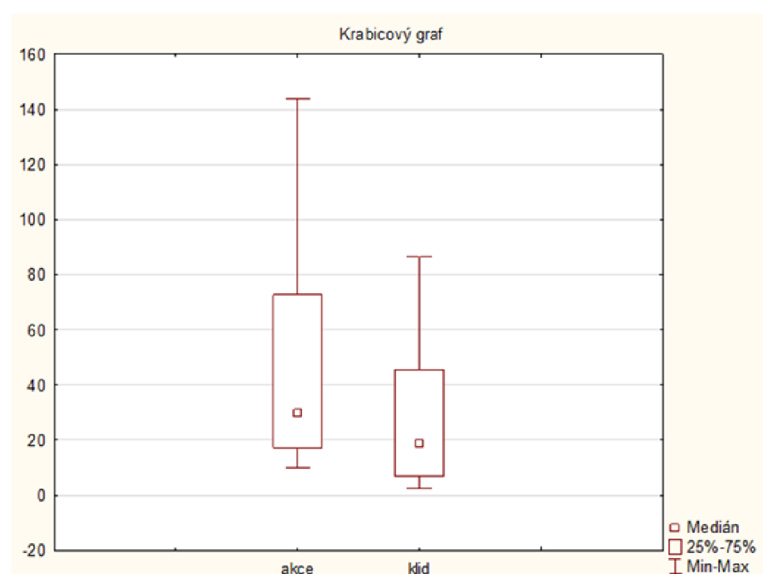
Hodnoty HSK naměřené u psa č. 8 v 9:00 v klidovém režimu v domácím prostředí byly o 70,1 % nižší než hodnoty naměřené ve stejný čas v klidovém režimu před zátěží (viz graf č. 12). HSK ve 12:00 v režimu bez zátěže nebylo možné porovnat s hodnotami z pracovního režimu, protože nebylo odebráno dostatečné množství slin psůvodem v domácím prostředí.

Avšak hodinu po zátěži hodnota slinného kortizolu výrazně stoupla v porovnání s poslední naměřenou hodnotou v zátěži, a to na hodnotu 143,6 pg/ml. Byla tak o 93 pg/ml vyšší než v klidovém režimu. Další měření, v 18:00, ukázalo snížení HSK psa č. 8 na hodnotu 13,4 pg/ml. Jak je patrné z grafu č. 12, v tento čas se hodnoty naměřené v klidovém a pracovním režimu od sebe lišily pouze o 2,2 pg/ml, přičemž vyšší byla hodnota měřená v pracovním režimu. Poslední odběr ve 22:00 v pracovním režimu nebyl odebrán v dostatečném množství, a tak ho nebylo možné ho porovnat s naměřenou hodnotou v režimu bez zátěže, která činila 2,6 pg/ml.



Graf č. 12: Pes č. 8-hladiny slinného kortizolu (pg/ml) v pracovním a klidovém režimu

Z důvodu malého objemu odebraných slin musely být ze statistické analýzy vyřazeny hodnoty naměřené v klidovém režimu u psů č. 1, 2, 3, 4 a 6. Přestože nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi HSK v pracovním a klidovém režimu psů ($p=0,332880$), při grafickém porovnání naměřených hodnot bylo patrné, že hladiny kortizolu ve slinách služebních psů vykazovaly v průběhu dne v pracovním režimu větší výkyvy v porovnání s hodnotami naměřenými u psů v klidovém režimu (viz. graf č. 13). Zároveň byl průměr naměřených hodnot v klidovém režimu nižší než v pracovním režimu. Na základě těchto výsledků nebyla hypotéza č. 2 potvrzena.



Graf č. 13: Porovnání hladiny slinného kortizolu (pg/ml) služebních psů v pracovním a klidovém režimu

6 Diskuze

Hladiny slinného kortizolu u zdravých psů se pohybují v rozmezí 7-12 % plazmatického kortizolu (Beerda et al. 1996). Odběr slinného kortizolu lze u psů provádět snadněji a neinvazivně oproti sérovému. Proto se zdá být hodnocení hladiny slinného kortizolu vhodnou metodou s ohledem na welfare psů (Haverbeke et al. 2008). Nicméně i slinný kortizol má řadu omezení, která mohou ovlivnit interpretaci výsledků. Především je důležité dodržovat standardizovaný odběr vzorků a jejich vyhodnocení. Avšak i druh odběrového materiálu, množství odebraných slin nebo třeba použitý stimulant slin mohou mít vliv na výsledky (Granger et al. 2007).

Jelikož je dostupnost referenčních hodnot pro slinný kortizol u psů velmi malá, výsledky se většinou porovnávají s ostatními studiemi podobného zaměření. Avšak i porovnávání studií mezi sebou je ztíženo vlivem použití různých měrných jednotek (Chmelíková et al. 2019).

Komplikace při zisku vzorků kortizolu ze slin psů v této práci představoval lidský faktor. Při zpracování vzorků bylo zjištěno, že některé odběry nebyly provedeny v dostatečném objemu, a proto je nebylo možné analyzovat a následně zařadit mezi výsledky.

Z výsledků v této práci byl u většiny psů zřejmý awakening efekt, tedy zvýšení hladiny slinného kortizolu po probuzení, kdy se průměr naměřených hodnot po probuzení zvýšil z hodnoty 33,28 pg/ml na hodnotu 59,75 pg/ml po hodině od probuzení. Nárůst koncentrace kortizolu u psů v ranních hodinách popisuje ve svých studiích hned několik autorů, kteří toto zvýšení pozorovali 20-45 minut po probuzení psů (Clow et al. 2004; Horvath et al. 2007; Pruessner et al. 1997; Adam & Kumari 2009). Naopak jiní autoři popírali cirkadiánní sekreci tohoto hormonu u psů (Gröschl 2008; Cobb et al. 2016), nebo tvrdili, že cirkadiánní rytmus kortizolu nevykazují pouze pracovní psi, a naopak psi bez pracovního výcviku tento trend vykazují (Fratkin et al. 2013; Kolevská et al. 2003). Avšak problém v porovnání různých studií mezi sebou pramení z nejednotné metodiky odběru vzorků, kdy některé studie pracují s průměrnými hodnotami denního měření, jiné se odkazují na výsledek jednoho měření a další uvádějí data z kontinuálního měření. Bylo by tak vhodnější srovnávat mezi sebou pouze studie pracující se stejnými časy odběrů vzorků. Po první hodině v zátěži se hladiny kortizolu ve slinách psů velmi lišily, což lze přičítat různým schopnostem adaptace organismu psů na zátěž. Avšak v porovnání s měřením před zátěží se průměrná hodnota koncentrace kortizolu po hodině zátěže snížila, a to na hodnotu 41,6 pg/ml. Toto zjištění bylo v souladu s prací Rovira a jeho kolegů (2008), kteří ve své studii tvrdili, že v průběhu zátěže dochází u trénovaných psů k poklesu koncentrace kortizolu, přičemž toto snížení pozorovali po 20 minutách v zátěži. Zvýšené hodnoty kortizolu po označení osob v terénu lze přičítat vzrušení psů z nečekaného podnětu v prostředí. Pozdější měření, po 2,5 hodinách v zátěži, u většiny psů prokázalo pokles naměřených hodnot, tedy u psů pravděpodobně nastala adaptace na zátěž. Také Rovira s kolegy (2008) ve své studii popsal schopnost adaptace pátracích psů v pracovní zátěži vlivem dlouhodobého tréninku v těžkých podmínkách. V klidovém režimu po zátěži pak bylo patrné snížení hladin kortizolu. Tyto výsledky byly v souladu s některými autory, kteří pozorovali snížení hladiny kortizolu ve slinách psů v pozdních odpoledních až večerních hodinách (Horváth et al. 2007; Rijnberk et al. 1968) Pouze při posledním měření, před usnutím, se

hodnoty zvýšily o 29,4 %. Pravděpodobně na to mělo vliv vytržení psů z odpočinku z důvodu venčení před spánkem.

Jak je patrné z výsledků této práce, v hladinách slinného kortizolu psů byl zřejmý cirkadiánní rytmus, avšak rozdíly hodnot stanovené v jednotlivých denních dobách nebyly statisticky průkazné. Důvodem mohly být odchylky v naměřených hodnotách jednotlivých psů způsobené jejich individualitou a snížením počtu vzorků odběrem malého množství slin. Také zde mohla hrát roli odlišná plemena psů, což popsali také Netto & Planta (1997) kdy ve své studii potvrdili vliv plemene na osobnost psa a zároveň na schopnost adaptace v pracovním režimu.

Experimenty dále potvrdily, že ke změně koncentrace slinného kortizolu dochází vlivem pracovní zátěže a že větších hodnot dosahovaly hodnoty naměřené v pracovním režimu v porovnání s hodnotami získanými v průběhu klidového režimu psů. Podobných výsledků se dobrali i někteří autoři, kteří prokázali, že hladina kortizolu po fyzické aktivitě u psů stoupá. Například Jahr s kolegy (2019) pozorovali zvýšené hladiny kortizolu po několikadenní fyzické zátěži u saňových psů. Dále byla popisována zvýšená hladina kortizolu u psů při závodech agility (Pastore et al. 2011). Studií sledujících hladiny kortizolu u pracovních psů po zátěži je nedostatek, ale většina z nich se shoduje na zvýšení hladiny kortizolu po zátěži (Diverio et al. 2016; Wojtaš et al. 2020). Ovšem žádná z těchto prací se přímo netýkala slinného kortizolu u psů v simulovaných záchranných akcích.

Malé rozdíly v hodnotách kortizolu ve slinách psů v pracovním a klidovém režimu, naměřených v této práci, poukazují na fakt, že služební psi jsou navyklí pracovat pod zátěží a práce v terénu jim nezpůsobuje žádný výrazný stres. Zároveň je pravděpodobné, že zvýšené hladiny slinného kortizolu v pracovním režimu signalizují na eustres, tedy pozitivní vzrušení psů, které je motivuje k vyšší výkonnosti (Haverbeke et al. 2008; McVicar 2003).

Zajímavé bylo zaznamenání vyšších hodnot u psa plemene belgický ovčák v klidovém režimu než v pracovním režimu. Pravděpodobně zde hrálo roli plemeno psa. Toto plemeno je považováno za pracovní a bylo vyšlechtěno k lepšímu zvládnutí zátěže i stresu (Courreau & Langlois 2005; Sinn et al. 2010). Je tak možné, že pes pracovního plemene je mnohem více stresován, pokud není nijak pracovní zátěžen. Další vliv na zvýšené hodnoty v domácím (klidovém) režimu mohly mít i případné nenadálé události v domácím prostředí psa, které se projeví právě zvýšením hladiny slinného kortizolu.

Zaznamenané zvýšení koncentrace slinného kortizolu u psů v zátěži v porovnání s hodnotami naměřenými v klidovém režimu psů nebylo možné statisticky prokázat. Roli zde pravděpodobně hrála individualita jedince a jeho schopnost adaptace.

Z výsledků této práce je zřejmé, že psi navyklí na fyzickou pracovní zátěž nevykazují výrazné rozdíly hladiny slinného kortizolu v době klidového režimu a v terénu. To by mohlo ukazovat na schopnost adaptace na stres.

Přesto, že lze slinný kortizol považovat za marker stresu, vždy by mělo být při hodnocení welfare porovnáváno více různých indikátorů dohromady. Z novějších výzkumů vyplývá, že chromogranin A se jeví jako další možný ukazatel stresu (Ryan et al. 2019). Avšak chromogranin A se využívá především jako ukazatel stresu v humánní medicíně a u psů se o něm jako o vhodném indikátoru začíná teprve mluvit v prvních studiích. Také vasostatin se zdá být vhodným markerem stresu, protože ho, na rozdíl od kortizolu, neovlivňuje pohlaví ani denní doba (Srithunyarat et al. 2017). O kvalitě welfare psů lze usuzovat i pozorováním

behaviorálních indikátorů, jako je například nadměrné olizování se, vyhýbání se kontaktu s lidmi, koprofágie (Beerda et al. 1999), agrese (Taylor & Mills 2007) či třeba sebepoškozování (Mason 1991). Ideální tak je při hodnocení welfare psů kombinovat behaviorální a hormonální stresové symptomy.

Tato práce byla jedinečná v počtu psů, u nichž se podařilo vytvořit naprosto stejné podmínky (standardizované prostředí) pro odběr vzorků. Do dalších výzkumů by bylo vhodné rozšířit počet jedinců, což je velmi problematické realizovat, protože pro nezkreslené výsledky je důležité standardizovat podmínky a tím vyloučit vlivy na statistické vyhodnocení.

7 Závěr

Pracovní psi jsou po celém světě využíváni pro různé účely. Jejich práce je nesmírně náročná, střetávají se v ní se spoustou stresorů. Je proto důležité, aby psovodi měli povědomí o možných projevech stresu u psů a negativních vlivech působících na jejich welfare. Jen tak lze zamezit působení negativních vlivů a mít spokojeného jedince, jenž kvalitně a s radostí odvádí svoji práci.

Přestože výsledky této práce neprokázaly žádné statisticky významné rozdíly, byla z nich patrná tendence cirkadiálního rytmu sekrece slinného kortizolu v podobě zvýšení jeho hladiny po probuzení (awakening efektu), který byl u většiny psů zaznamenán a snížení hladiny v pozdějších (večerních) hodinách.

Zároveň bylo zjištěno, že zátěž zvyšuje u pracovních psů hladiny kortizolu, i když se zdá, že s dobou trvání zátěže se tělo adaptuje na stres a koncentrace slinného kortizolu klesají.

Hodnoty naměřené v terénu byly vyšší v porovnání s hodnotami získanými z domácích odběrů v klidovém režimu, avšak tato zvýšení nebyla statisticky průkazná. Mírné zvýšení koncentrace kortizolu ve srovnání s klidovým režimem poukazuje na možnost adaptace služebních psů na zátěž. U psa plemene belgický ovčák byly naměřené hodnoty v klidovém terénu dokonce výrazně vyšší, než v pracovním režimu, což lze vysvětlit vyšlechtením tohoto plemene pro pracovní účely a zároveň vyšší adaptabilitě k případnému stresu.

Závěrem tak lze konstatovat, že psi, speciálně cvičení pro práci v terénu, nejsou nijak významně stresováni a tato práce nemá vliv na jejich zhoršení welfare. Zároveň je pravděpodobné, že ta plemena psů, která byla vyšlechtěna pro práci, více stresuje klidový režim bez zátěže, než když jsou v pracovním výkonu.

8 Literatura

- Accorsi P. A., Carloni E., Valsecchi P., Viggiani R., Garnberoni M., Tarnanini C., Seren E. 2008. Cortisol determination in hair and faeces from domestic cats and dogs. *General and Comparative Endocrinology* **155**: 398–402.
- Adam E. K. 2012. Emotion-cortisol transaction occurs over multiple scales in development: Implications for research on emotion and the development of emotional disorders. *Monographs of the Society for Research in Child Development* **77**: 17–27.
- Adam E. K., Quinn M., Tavernier R., McQuillan M., Dahlke K., Gilbert K. 2017. Diurnal cortisol slopes and mental and physical health outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* **83**: 25–41.
- Adam E. K., Kumari M., 2009. Assessing salivary cortisol in large-scale, epidemiological research. *Psychoneuroendocrinology* **34**: 1423–1436.
- Ader R., Friedman S. B. 1968. Plasma corticosterone response to environmental stimulation: effects of duration of stimulation and the 24-hour adrenocortical rhythm. *Neuroendocrinology* **3**: 378–386.
- Allen A., Kennedy P. J., Cryan J. F., Dinan T. G., Clarke G. 2014. Biological and psychological markers of stress in humans: Focus on the Trier Social Stress Test. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews, Supplement C* **38**: 94–124.
- Appleby M. C. 1999. *What Should We Do About Animal Welfare?* Blackwell Science. Oxford, UK.
- Balters S., Geeseman J. W., Tveten A.-K., Hildre H. P., Ju W., Steinert M. 2020. Mayday, Mayday, Mayday: Using salivary cortisol to detect distress (and eustress!) in critical incident training. *International Journal of Industrial Ergonomics* **78**:102975.
- Barnett J. L., Hemsworth P. H. 1990. The validity of physiological and behavioural measures of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* **25**: 177–187.
- Batt L. S., Batt M. S., Baguley J. A., McGreevy P. D. 2008. Factors associated with success in guide dog training. *Journal of Veterinary Behavior* **3**:143–51.
- Beerda B., Schilder M. B., Janssen N. S., Mol J. A. 1996. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Hormones and Behavior* **30**: 272–279.
- Beerda B., Schilder M. B. H., vanHooff J., deVries H. W. 1997. Manifestations of chronic and acute stress in dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **52**: 307–19.
- Beerda B., Schilder M. B. H., van Hooff J., de Vries H. W., Mol J. A. 1998. Behavioural, saliva

cortisol and heart rate responses to different types of stimuli in dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **58**: 365–81.

Beerda B., Schilder M. B., Bernadina W., Van Hooff J., De Vries H., Mol J. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. II. Hormonal and immunological responses. *Physiology & Behavior* **66**: 243–54.

Beerda B., Schilder M. B., van Hooff J. A., De Vries H. W., Mol J. A. 1999. Chronic stress in dogs subjected to social and spatial restriction. I. Behavioral responses. *Physiology & Behavior* **66**: 233-242.

Beerda B., Schilder M. B. H., van Hooff A. R. A. M., de Vries H. W., Mol J. A. 2000. Behavioural and hormonal indicators of enduring environmental stress in dogs. *Animal Welfare* **9**: 49-62.

Bergeron R., Scott S. L., Emond J. P., Mercier F., Cook N. J., Schaefer A. L. 2002. Physiology and behavior of dogs during air transport. *Canadian Journal of Veterinary Research* **66**: 211-216.

Bernášková K., Polách J. 2016. Vegetativní nervový systém a jeho poruchy, krátkodobý a dlouhodobý stres. *Obecná patologická fyziologie*. 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy. Praha.

Bienertova-Vasku J., Lenart P., Scherlinger M. 2020. Eustress and Distress: Neither Good Nor Bad, but Rather the Same? *BioEssays* **42**:1900238.

Blum S., Brow M., Silver R. C. 2012. Coping. Pages 596–601 in Ramachandran VS, editor. *Encyclopedia of Human Behavior (Second Edition)*. Academic Press, San Diego.

Boitani L., Francisci F., Ciucci P., Andreoli G. 1995. Population biology and ecology of feral dogs in central Italy. In: Serpell J (ed) *The Domestic Dog: its Evolution, Behaviour and Interactions with People* pp 217-244. Cambridge University Press: Cambridge, UK.

Bracke M. B. M., Spruijt B. M., Metz J. H. M. 1999. Overall welfare reviewed. Part 3: Welfare assessment based on needs and supported by expert opinion. Netherlands. *Journal of Agricultural Science* **47**: 307–322.

Bradshaw J. W. S., McPherson J. A., Casey R. A., Larter I. S. 2002. Aetiology of separation-related behaviour in domestic dogs. *Veterinary Record* **151**: 43.

Brambell Committee. 1965. Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems, The Brambell Report, December 1965. London: HMSO. ISBN 0 10 850286 4.

Broom D.M. 1986. Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal* **142**: 524–526.

- Broom D. M. 1988. The scientific assessment of animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* **20**: 5-19.
- Broom D. M., Johnson K. 1993. *Stress and Animal Welfare*. Springer Science & Business Media.
- Broom D. M., Johnson K.G. 1993. *Stress and Animal Welfare*. Chapman & Hall, London.
- Broom D. M. 1998. Welfare, stress and the evolution of feelings. *Advances in the Study of Behavior* **27**: 371–403.
- Broom D. M. 2002. Coping, Stress and Welfare. In Broom OM (eds) *Coping with Challenge. Welfare in Animals including Humans*. Dahlem Workshop Report **87**: 1-10.
- Broom D. M. 2003. *The evolution of morality and religion*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 259.
- Buckingham J. C. 2006. Glucocorticoids: exemplars of multi-tasking. *British Journal of Pharmacology* **147**: S258–S268.
- Busch D. S., Hayward L. S. 2009. Stress in a conservation context: A discussion of glucocorticoid actions and how levels change with conservation-relevant variables. *Biological Conservation* **142**:2844–2853.
- Buttner A. P., Tompson B., Strasser R., Santo J. Evidence for a synchronization of hormonal states between humans and dogs during competition. *Physiology & Behavior* **147**: 54–62.
- Castillo V. A., Cabrera Blatter M. F., Gómez N. V., Sinatra V., Gallelli M. F., Ghersevich M. C. 2009. Diurnal ACTH and plasma cortisol variations in healthy dogs and in those with pituitary-dependent Cushing's syndrome before and after treatment with retinoic acid. *Research in Veterinary Science* **86**: 223–229.
- Clark J. D., Rager D. R., Crowell-Davis S., Evans D. L. 1997. Housing and exercise of dogs: Effects on behaviour, immune function and cortisol concentration. *Laboratory Animal Science* **47**: 500-510.
- Clow A., Thorn L., Evans P., Hucklebridge F. 2004. The awakening cortisol response: methodological issues and significance. *Stress* **7**: 29–37.
- Cobb M. L., Iskandarani K., Chinchilli V. M., Dreschel N. A. 2016. A systematic review and meta-analysis of salivary cortisol measurement in domestic canines. *Domestic Animal Endocrinology* **57**: 31–42.

- Colussi A., Stefanon B., Adorini C., Sandri M. 2018. Variations of salivary cortisol in dogs exposed to different cognitive and physical activities. *Italian Journal of Animal Science* **17**:1030–7.
- Coppinger R., Coppinger L. 2001. *Dogs: A Startling New Understanding of Canine Origin, Behaviour, and Evolution*. Scribner, NY.
- Coppola C. L., Grandin T., Enns R. M. 2005. Human interaction and cortisol: can human contact reduce stress for shelter dogs? *Physiology & Behavior* **87**: 537–541.
- Corsetti S., Ferrara M., Natoli E. 2019. Evaluating Stress in Dogs Involved in Animal-Assisted Interventions. *Animals* **9**: 833.
- Courreau J. F., Langlois B. 2005. Genetic parameters and environmental effects which characterise the defence ability of the Belgian shepherd dog. *Applied Animal Behaviour Science* **9**: 233–245.
- Czeisler C. A., Chiasera A. J., Duffy J. F., 1991. Research on sleep, circadian rhythms and aging: applications to manned spaceflight. *Experimental Gerontology* **26**: 217–232.
- Damian J. P., Bengoa L., Pessina P., Martinez S., Fumagalli F. 2018. Serial collection method of dog saliva: effects of different chemical stimulants on behaviour, volume and saliva composition. *Open Veterinary Journal* **8**: 229–35.
- Darwish I. 2006. *Immunoassay Methods and their Applications in Pharmaceutical Analysis: Basic Methodology and Recent Advances*. *International Journal of Biomedical Science*. **2**: 217-235.
- Dawkins M. S. 1990. From an animal's point of view: Motivation, fitness, and animal welfare. *Behavioral and Brain Sciences* **13**: 1-9.
- Dawkins M. S. 1998. Evolution and animal welfare. *The Quarterly Review of Biology* **73**: 305–328.
- Dawkins M. S. 2003. Behaviour as a tool in the assessment of animal welfare. *Zoology*, **106**: 383–387.
- Dawkins M.S. 2004. Using behaviour to assess animal welfare. *Animal Welfare* **13**: S3-7.
- Denham H. D. C. 2007. Repetitive behaviours in kennelled working dogs and their relationship to Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis activity. MSc dissertation, University of Edinburgh.
- Diverio S., Barbato O., Cavallina R., Guelfi G., Laboni M., Zasso R., Di Mari W., Santoro M.,

- Knowles T. 2016. A Simulated Avalanche Search and Rescue Mission Induces Temporary Physiological and Behavioural Changes in Military Dogs. *Physiology and Behavior* **163**: 193-202.
- Dreschel N. A., Granger D. A. 2009. Methods of collection for salivary cortisol measurement in dogs. *Hormones and Behavior* **55**: 163-168.
- Egdahl R. H. 1962. Further studies on adrenal cortical function in dog with isolated pituitaries. *Endocrinology* **71**: 926–935.
- Engler D., Redei E., Kola I., 1999. The corticotropin-release inhibitory factor hypothesis: a review of the evidence for existence of inhibitory as well as stimulatory hypophysiotropic regulation of adrenocorticotropin secretion and biosynthesis. *Endocrinology Review* **20**: 460–500.
- Erdohegyi Á., Topál J., Virányi Z., Miklósi Á. 2007. Dog-logic: inferential reasoning in a two-way choice task and its restricted use. *Animal Behaviour* **74**: 725–737.
- Fallan G., Previde E. P., Valsecchi P. 2007. Behavioral and physiological responses of guide dogs to a situation of emotional distress. *Physiology & Behavior* **90**: 648-655.
- Farm Animal Welfare Council, 1992. FAWC updates the five freedoms. *Veterinary Record* **131**, 357.
- Fenton V. 1992. The use of dogs in search, rescue and recovery. *Journal of Wilderness Medicine* **3**: 292–300.
- Fjellanger R., Andersen E. K., McLean I. 2000. A training program for filter-search mine detection dogs. *International Journal of Comparative Psychology* **15**: 277–286.
- Foley P., Kirschbaum C. 2010. Human hypothalamus–pituitary–adrenal axis responses to acute psychosocial stress in laboratory settings. *Neuroscience And Biobehavioral Reviews* **35**:91-96.
- Fontana J., Trnka J., Maďa P., Ivák P. et al. 2014: *Function of Cells and Human Body.: Multimedia Textbook*. 3rd Faculty of Medicine, Charles University in Prague.
- Fraser D., Weary D. M., Pajor E. A., Milligan B. N. 1997. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns *Animal Welfare* **6**: 187-205.
- Fratkin J. L., Sinn D. L., Patall E. A., Gosling S. D. 2013. Personality consistency in dogs: a meta-analysis. *PLoS One* **8**:e54907.
- Fratkin J. L., Sinnott R. Q., Patronek G. J. 2013. Understanding support for animal hoarding

legislation: A qualitative study. *Society & Animals*, [online]. roč. 21, č. 2, s. 160-180. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1163/15685306-12341236>.

- Fulkerson W. J., Tang B. Y. 1979. Ultradian and circadian rhythm in the plasma concentration of cortisol in sheep. *Journal of Endocrinology* **81**: 135 – 141.
- Gaines S. A., Rooney N. J., Bradshaw J. W. S. 2005. Investigating the relationship between different housing and husbandry regimes and the behaviour and physiology of working police dogs. Abstract from 6th International Seminar on Detection Dogs. Kincardine, Scotland, UK.
- Gaines S. A., Rooney N. J., Bradshaw J. W. S. 2007. The effects of the presence of an observer, and time of day, on welfare indicators for working police dogs. *Animal Welfare* **16**: 169.
- Gaines S.A., Rooney N. J., Bradshaw J.W.S. 2008. The effect of feeding enrichment upon reported working ability and behavior of kenneled working dogs. *Journal Forensic Sciences* **53**: 1400–1404.
- Gan S. D., Patel K. R. 2013. Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Investigative Dermatology* **133**: 12.
- Gatti R., Antonelli G., Prearo M., Spinella P., Cappellin E. De Palo E. 2009 Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. *Clinical Biochemistry* **42**: 1205–1217.
- Gaunet F. 2008. How do guide dogs of blind owners and pet dogs of sighted owners (*Canis familiaris*) ask their owners for food? *Animal Cognition* **11**: 475–483.
- Gerritsen R. 2007. Basic physical qualities of a search and rescue dog. The search and rescue dog. Dog handler's manual (D. Grandjean, ed.). Aniwa SAS, Paris, France, 20–23.
- Granger D. A., Shirtcliff E. A., Booth A., Kivlighan K. T., Schwartz E. B. 2004. The “trouble” with salivary testosterone. *Psychoneuroendocrinology* **29**: 1229–1240.
- Granger D. A., Kivlighan K. T., Fortunato C., Harmon A. G., Hibel L. D., Schwartz E. B., Whembolua G. L. 2007. Integration of salivary biomarkers into developmental and behaviorally-oriented research: problems and solutions for collecting specimens. *Physiology & Behavior* **92**: 583–590.
- Greatbatch I., Gosling R. J., Allen S. 2015. Quantifying Search Dog Effectiveness in a Terrestrial Search and Rescue Environment. *Wilderness & Environmental Medicine* **26**: 327–334.
- Green T. C., Mellor D. J. 2011. Extending ideas about animal welfare assessment to include ‘quality of life’ and related concepts. *New Zealand Veterinary Journal* **59**: 263-271.

- Gröschl M. 2008. Current status of salivary hormone analysis. *Clinical Chemistry*.
- Guagnin M., Perrib A. R., Petragliaa M. D. 2018. Pre-neolithic evidence for dog-assisted hunting strategies in Arabia. *Journal of Anthropological Archaeology* **49**: 225–36.
- Hall N. J., Johnston A. M., Bray E. E., Otto C. M., MacLean E. L., Udell M. A. R. 2021. Working Dog Training for the Twenty-First Century. *Frontiers in Veterinary Science*.
- Hare B., Brown M., Williamson C., Tomasello M. 2002 The domestication of social cognition in dogs. *Science* **298**:1634–1636.
- Harmon A., Hibel L.C., Rummyantseva O., Granger D. A. 2007. Measuring salivary cortisol in studies of child development: watch out—what goes in may not come out of commonly used saliva collection devices. *Developmental Psychobiology* **49**: 495–500.
- Haverbeke A., Diederich C., Depiereux E., Giffroy J. M. 2008. Cortisol and behavioral responses of working dogs to environmental challenges. *Physiology & Behavior* **93**: 59–67.
- Hebard C. 1993. Use of search and rescue dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **203**: 999–1001.
- Hellhammer D., Wüst S., Kudielka B. 2009. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* **34**: 163-171.
- Helton W.S. 2009. *Canine Ergonomic: The Science of Working Dogs*. CRC Press, London, pp. 175-194.
- Hennessy M. B. 2013. Using hypothalamic-pituitary-adrenal measures for assessing and reducing the stress of dogs in shelters: a review. *Applied Animal Behaviour Science* **149**: 1–12.
- Hetts S. 1991. Psychologic well-being: Conceptual issues, behavioural measures and implications for dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* **21**: 369-387.
- Hiby E. F. 2005. The welfare of kennelled domestic dogs. University of Bristol, PhD Thesis.
- Hiby E. F., Rooney N. J., Bradshaw J. W. S. 2006. Behavioural and physiological responses of dogs entering re-homing kennels. *Physiology & Behavior* **89**: 385-391.
- Hole F., Wyllie C. 2007. The oldest depictions of canines and a possible early breed of dog in Iran. *Paléorient* **33**:175–85.
- Horváth Z., Igyarto B. Z., Magyar A., Miklosi A. 2007. Three different coping styles in police

- dogs exposed to a short-term challenge. *Hormones and Behavior* **52**: 621–30.
- Hubrecht R. C. 1995. The welfare of dogs in human care. In: Serpell J (ed) *The Domestic Dog: its Evolution, Behaviour and Interactions with People* pp 180-198. Cambridge University Press: Cambridge, UK.
- Hubrecht R. C., Serpell J. A., Poole T.B. 1992. Correlates of pen size and housing conditions on the behaviour of kennelled dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **34**: 365-383.
- Hunt M., Otto C. M., Serpell J. A., Alvarez J. 2012. Interactions between Handler Well-Being and Canine Health and Behavior in Search and Rescue Teams. *Anthrozoös* **25**: 323–335.
- Chmelíková E., Bolechová P., Chaloupková H., Svobodová I., Jovičić M., Sedmíková M. 2019. Salivary cortisol as a marker of acute stress in dogs. A review. *Domestic Animal Endocrinology*, 106428.
- Chrousos G.P., Gold P.W. 1992. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *Journal of American Medical Association* **267**: 1244-1252.
- Immelmann K. 1982. *Wörterbuch der Verhaltensforschung*. 1. Berlin: Paul Paray, 230–232.
- Jennings P. B. 1991. Veterinary care of the Belgian Malinois militan working dog. *Military Medicine* **156**: 36-38.
- Jahr T., Fergestad M., Brynildsrud O., Brun-Hansen H., Skancke E. 2019. Haematological and serum biochemical values in Norwegian sled dogs before and after competing in a 600 km race. *Acta Veterinaria Scandinavica* 61 (1).
- Jensen P. 2010. Domestication, selection, behaviour and welfare of animals – Genetic mechanisms for rapid responses. *Animal Welfare* **19**: 7–9.
- Jensen M. B., Pedersen L. J., Ladewig J. 2004. The use of demand functions to assess behavioural priorities in farm animals. *Animal Welfare* **13**: S27-32.
- Jones K. E., Dashfield K., Downend A. B., Otto C. M. 2004. Search-and-rescue dogs: an overview for veterinarians. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **225**: 854–860.
- Kikkawa A., Uchida Y. 2003. Salivary secretory IgA concentrations in beagle dogs. *Journal of Veterinary Medical Science* **65**: 689–693.
- Kirschbaum C., Hellhammer D. H. 1989. Salivary cortisol in psychobiological research: An overview. *Neuropsychobiology* **22**: 150 – 169.

- Klemcke H. G., Nienaber J. A., Hahn G. L. 1989. Plasma adrenocorticotrophic hormone and cortisol in pigs: effects of time of day on basal and stressor-altered concentrations. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **190**: 42 – 53.
- Kobelt A., Hemsworth P. H., Barnett J. L., Butler K. L. 2003. Sources of sampling variation in saliva cortisol in dogs. *Research in Veterinary Science* **75**: 157–161.
- Koivunen M. E., Krogsrud R. L. 2006. Principles of immunochemical techniques used in clinical laboratories. *Labmedicine* **37**:490-497.
- Kolevská J., Brunclík V., Svoboda M. 2003. Circadian rhythm of cortisol secretion in dogs of different daily activities. *Acta Vet Brno* **72**:599–605.
- Kotrschal K., Schöberl I., Bauer B., Tibeaut A. M., Wedl M. 2009. Dyadic relationships and operational performance of male and female owners and their male dogs. *Behavioural Processes* **81**: 383–391.
- Kudielka B. M., Hellhammer D. H., Wust S. 2009. Why do we respond so differently? Reviewing determinants of human salivary cortisol responses to challenge. *Psychoneuroendocrinology* **34**: 2–18.
- Kupper F. 2009. *Democratizing Animal Biotechnology: Inquiry and Deliberation in Ethics and Governance*, Thesis, Amsterdam. ISBN 978-90-8891-103-3.
- Kyrou I., Tsigos C. 2009. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology* **6**:787-793.
- Laugero K. D., Moberg G. P. 2000. Energetic response to repeated restraint stress in rapidly growing mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* **279**: E33–43.
- Ledvina M., Stoklasová A., Cerman J. 2009. *Biochemie pro studující medicíny I*. Karolinum, Praha.
- Lee C., Colditz I. G., Campbell D. L. M. 2018. A Framework to Assess the Impact of New Animal Management Technologies on Welfare: A Case Study of Virtual Fencing. *Frontiers in Veterinary Science* **5**: 187.
- Legouis D., Faivre A., Cippà P. E., de Seigneux S. 2022. Renal gluconeogenesis: an underestimated role of the kidney in systemic glucose metabolism. *Nephrology Dialysis Transplantation* **37**:1417–1425.
- Lensen C. M. M., Moons C. P. H., Diederich C. 2015. Saliva sampling in dogs: how to select the most appropriate procedure for your study. *Journal of Veterinary Behavior* **10**: 504–12.

- Lit L., Schweitzer J. B., Oberbauer A. M. 2011. Handler beliefs affect scent detection dog outcomes. *Animal Cognition* **14**: 387–394.
- Lockwood R. 1995. The ethology and epidemiology of canine aggression. In: Serpell, J.A. (Ed.), *The Domestic Dog: Its Evolution, Behaviour and Interactions With People*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 131-138.
- Lupien S. J., McEwen B. S., Gunnar M. R., Heim C. 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nature Reviews Neuroscience* **10**: 434-445.
- Maimon L., Milo T., Moyal R. S., Mayo A., Danon T., Bren A., Alon U. 2020. Timescales of Human Hair Cortisol Dynamics. *iScience* **23**:1-24.
- Mason G. J. 1991. Stereotypies: A critical review. *Animal Behavior* **41**: 1015-1037.
- Mason G. J., Latham N. R. 2004. Can't stop, won't stop: Is stereotypy a reliable animal welfare indicator? *Animal Welfare* **13**: 57–69.
- Marshall-Pescini S., Passalacqua C., Barnard S., Valsecchi P., PratoPrevide E. 2009. Agility and search and rescue training differently affects pet dogs' behaviour in socio-cognitive tasks. *Behavioural Processes* **81**: 416–422.
- McVicar A. 2003. Workplace stress in nursing: a literature review. *Journal of Advanced Nursing* **44**: 633–42.
- Mellor D. J., Beausoleil N. J. 2015. Extending the 'Five Domains' model for animal welfare assessment to incorporate positive welfare states. *Animal Welfare* **24**: 241-253.
- Mendl M. 2001. Animal husbandry: assessing the welfare state. *Nature* **410**: 31–32.
- Mench J.A., Mason G. J. 1997. Behaviour. In: Appleby, M.C., Hughes, B.O., (Eds) *Animal Welfare*, CABI Oxon, UK. pp 143-145.
- Mesarcova L., Kottferova J., Skurkova L., Leskova L., Kmecova N. 2017. Analysis of cortisol in dog hair -a potential biomarker of chronic stress: a review. *Veterinární Medicína* **62**:363–376.
- Meyer I., Forkman B. 2014. Dog and owner characteristics affecting the dog–owner relationship. *J. Vet. Behav.* **9**: 143–150.
- Miklósi Á., Kubinyi E., Topál J., Gácsi M., Virányi Z., Csányi V. 2003. A simple reason for a big difference: wolves do not look back at humans, but dogs do. *Current Biology* **13**:763–766.

- Miklósi Á., Topál J., Csányi V. 2004. Comparative social cognition: what can dogs teach us? *Animal Behaviour* **67**: 995–1004.
- Miller S. L., Serpell J. A., Dalton K. R., Waite K. B., Morris D. O., Redding L. E., Dreschel N. A., Davis M. F. 2022. The Importance of Evaluating Positive Welfare Characteristics and Temperament in Working Therapy Dogs. *Frontiers in Veterinary Science* **9**:844252.
- Mills D., Karagiannis C., Zulch H. 2014. Stress--its effects on health and behavior: a guide for practitioners. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* **44**:525–541.
- Moberg G. P. 1985. Biological response to stress: key assessment of animal well-being. In: *Animal Stress* (G.P. Moberg, ed.). American Physiological Society, Bethesda, Maryland, pp. 27–49.
- Moberg G. P., Mench J. A. 2000. The biology of animal stress: basic principles and Implications for animal welfare. Wallingford, UK: CAB International; p. 377.
- Murphy M.G., Conroy S., Lowe J.A. 1997. Aspects of exercise physiology in the dog. *Irish Veterinary Journal* **50**: 65–69.
- Národní zdravotnický informační portál. 2024. Hypothalamo-hypofýzo-nadledvinová osa. Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, Praha. Available from <https://www.nzip.cz/rejstrikovy-pojem/6125> (accessed February 2024).
- Netto W. J., Planta D. J. U. 1997. Behavioural testing for aggression in the domestic dog. *Applied Animal Behaviour Science* **52**: 243-63.
- Neuhaus V. W. 1981. The importance of sniffing to the olfaction of the dog. *Zeitschrift für Säugetierkunde* **46**: 301-310.
- Newton R. 2000. Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? *Thorax* **55**: 603-613.
- Noonan G. J., Rand J. S., Blackshaw J. K, Priest J. 1996. Behavioural observations of puppies undergoing tail docking. *Applied Animal Behaviour Science* **49**: 335-342.
- Ogata N., Kikusui T., Takeuchi Y., Mori Y. 2006. Objective measurement of fear-associated learning in dogs. *Journal of Veterinary Behavior* **1**: 55–61.
- Ohl F., Arndt S. S., van der Staay F. J. 2008. Pathological anxiety in animals. *The Veterinary Journal* **175**: 18–26.
- Ohl F., van der Staay F. J. 2012. Animal welfare: At the interface between science and society. *The Veterinary Journal* **192**: 13–19.

- Orth D., Kovacs W. 1998. The Adrenal Cortex. Williams Textbooks of Endocrinology, second ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 569–572.
- Oyama D., Hyodo M., Doi H., Kurachi T., Takata M., Koyama S., Satoh T., Watanabe G. 2014. Saliva collection by using filter paper for measuring cortisol levels in dogs. *Domestic Animal Endocrinology* **46**: 20-25.
- Palme R., Rettenbacher S., Touma C., El-Bahr S. M., Mostl E. 2005. Stress hormones in mammals and birds -comparative aspects regarding metabolism, excretion, and noninvasive measurement in fecal samples. In: Vaudry H., Roubos E., Schoofs L., Fiik G., Larhammar D., editors. *Trends in Comparative Endocrinology and Neurobiology*. New York: Annals of the New York Academy of Sciences; p. 162–71.
- Parra M., Väisänen V., Cerón J. 2005. Development of a time-resolved fluorometry based immunoassay for the determination of canine haptoglobin in various body fluids. *Veterinary Research* **36**: 117-129.
- Pastore C., Pirrone F., Balzarotti F., Faustini M., Pierantoni L., Albertini M. 2011. Evaluation of physiological and behavioral stress-dependent parameters in agility dogs. *Journal of Veterinary Behavior* **6**: 188-194.
- Pickel D., Manucy G. P., Walker D. B., Hall S. B., Walker J. C. 2004. Evidence for canine olfactory detection of melanoma. *Applied Animal Behaviour Science* **89**: 107–116.
- Prescott M. J., Morton D. B., Anderson D., Buckwell A., Heath S., Hubrecht R., Jennings M., Robb D., Ruane B., Swallow J., Thompson P. 2004. Refining dog husbandry and care. *Laboratory Animals* **38**: S1-S94.
- Protopopova A. 2016. Effects of sheltering on physiology, immune function, behavior, and the welfare of dogs. *Physiology & Behavior* **159**: 95–103.
- Pruessner J. C., Wolf O. T., Hellhammer D. H., Buske-Kirschbaum A., von Auer K., Jobst S., Kaspers F., Kirschbaum C. 1997. Free cortisol levels after awakening: A reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity. *Life Sciences* **61**: 2539-2549.
- Rebmann A., Koenig M., David E., et al. 2000. *Cadaver dog handbook*. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc, **195**: 5-22.
- Reece W. O. 1994. *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Reid P. J. 2009. Adapting to the human world: Dogs' responsiveness to our social cues. *Behavioural Processes* **80**: 325–333.
- Riemer S., Assis L., Pike T. W., Mills D. S. 2016. Dynamic changes in ear temperature in

- relation to separation distress in dogs. *Physiology & Behavior* **167**: 86–91.
- Rijnberk A., Derkinderen P. J., Thijssen J. H. 1968. Investigations on adrenocortical function of normal dogs. *Journal of Endocrinology* **41**:387–95.
- Roberts C. 2007. *Messengers of Sex: Hormones, biomedicine and feminism*. Cambridge University Press.
- Rooney N. J., Bradshaw J. W. S., Gaines S. A. 2005. UK Detection Dog Rearing ProjectdAn investigation into factors affecting search ability. Abstract from 6th International Seminar on Detection Dogs. Kincardine, Scotland, UK.
- Rooney N. J., Gaines S. A., Bradshaw J. W. S. 2007. Behavioural and glucocorticoid responses of dogs (*canis familiaris*) to kennelling: investigating mitigation of stress by prior habituation. *Physiology & Behavior* **92**: 847–54.
- Rooney N., Gaines S., Hiby E. 2009. A practitioner’s guide to working dog welfare. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research* **4**: 127–134.
- Rovira S., Munoz A., Benito M. 2008. Effect of exercise on physiological, blood and endocrine parameters in search and rescue-trained dogs. *Veterinari Medicina* **53**: 333-346.
- Ryan M. G., Storey A. E., Anderson R. E., Walsh C. J., Walsh C. J. 2019. Physiological indicators of attachment in domestic dogs (*Canis familiaris*) and their owners in the strange situation test. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* **13**:162.
- Salomons A. R., van Luijk J. A., Reinders N. R., Kirchhoff S., Arndt S. S., Ohl F. 2010. Identifying emotional adaptation: Behavioural habituation to novelty and immediate early gene expression in two inbred mouse strains. *Genes Brain and Behaviour* **9**: 1–10.
- Sandri M., Colussi A., Perrotta M. G., Stefanon B. 2015. Salivary cortisol concentration in healthy dogs is affected by size, sex, and housing context. *Journal of Veterinary Behavior* **10**: 302–6.
- Sapolsky R. M. 2000. Stress hormones: good and bad. *Neurobiology and Disease* **7**: 540–2.
- Sapolsky R. M., Romero L. M., Munck A. U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocrine Reviews* **21**: 55-89.
- Sheriff M., Dantzer B., Delehanty B., Palme R., Boonstra R. 2011. Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia* **166**: 869-887.
- Shirtcliff E. A., Granger D. A., Schwartz E., Curran M. 2001. Use of salivary biomarkers in

biobehavioral research: cotton based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. *Psychoneuroendocrinology* **26**: 165–173.

Schmidt-Nielsen K., Bretz W. L., Taylor C. R. 1970. Panting in dogs: unidirectional air flow over evaporative surface. *Science* **169**: 1102-1104.

Schöberl I., Wedl M., Beetz A., Kotrschal K. 2017. Psychobiological Factors Affecting Cortisol Variability in Human-Dog Dyads. *PLOS ONE* **12**, e0170707.

Sinn D. L., Gosund S. D., Hilliard S. 2010. Personality and performance in military working dogs. *Applied Animal Behaviour Science* **127**: 51-65.

Slotta-Bachmayr L., Schwarzenberger F. 2007. Faecal cortisol metabolites as indicators of stress during training and search missions in avalanche dogs. *Veterinary Medicine Austria* **94**: 110–117.

Society for Endocrinology 2017. Cortisol, You and Your Hormones: An Education Resource from the Society for Endocrinology <http://www.yourhormones.info/hormones/cortisol/>

Srithunyarat T., Hagman R., Höglund O. V., Olsson U., Stridsberg M., Jitpean S., Lagerstedt A. S., Pettersson A. 2017. Catestatin and vasostatin concentrations in healthy dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica* **59**:74-80.

Stafleu F.R., Grommers F.J., Vorstenbosch J. 1996. Animal welfare: Evolution and erosion of a moral concept. *Animal welfare* **5**: 225–234.

Stafleu F. R., Rivas E., Rivas T., Vorstenbosch J., Heeger F. R., Beynen A. C. 1992. The use of analogous reasoning for assessing discomfort in laboratory animals. *Animal Welfare* **1**: 77–84.

Steiss J. E., Schaffer C., Ahmad H. A., Voith V. L. 2007. Evaluation of plasma cortisol levels and behavior in dogs wearing bark control collars. *Applied Animal Behaviour Science* **106**: 96–106.

Stephen J. M., Ledger R. A. 2005. An Audit of Behavioral Indicators of Poor Welfare in Kennelled Dogs in the United Kingdom. *Journal of Applied Animal Welfare Science* **8**: 79–95.

Sundman A. S., Van Poucke E., Svensson Holm A. C., Faresjö Å., Theodorsson E., Jensen P., Roth L. S. V. 2019. Long-term stress levels are synchronized in dogs and their owners. *Scientific Reports* **9**.

Sümeği Z., Oláh K., Topál J. 2014. Emotional contagion in dogs as measured by change in cognitive task performance. *Applied Animal Behaviour Science* **160**: 106–115.

Syrotuck W. 1972. *Scent and the Scenting Dog*. Arner Publications, NY.

- Szetei V., Miklósi Á., Topál J., Csányi V. 2003. When dogs seem to lose their nose: an investigation on the use of visual and olfactory cues in communicative context between dog and owner. *Applied Animal Behaviour Science* **83**:141–152.
- Taylor K. D., Mills D. S. 2007. The effect of the kennel environment on canine welfare: A critical review of experimental studies. *Animal Welfare* **16**: 435-447.
- Taylor S. E., Saphire-Bernstein S., Seeman T. E. 2009. Are Plasma Oxytocin in Women and Plasma Vasopressin in Men Biomarkers of Distressed Pair-Bond Relationships? *Psychological Science* **21**: 3–7
- Thorpe W. H. 1965. The assessment of pain and distress in animals. Appendix III in report of the technical committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive husbandry conditions, F.W.R. Brambell (chairman). H.M.S.O., London.
- Thun R., Eggenberger E., Zerobin K., Luscher T., Vetter W. 1981. Twenty-fourhour secretory pattern of cortisol in the bull: evidence of episodic secretion and circadian rhythm. *Endocrinology* **109**: 2208 – 2212.
- Ursin H., Eriksen H. R. 2004. The cognitive activation theory of stress. *Psychoneuroendocrinology* **29**: 567–592.
- Vilà C., Savolainen P., Maldonado J. E., Amorim I. R., Rice J. E., Honeycutt R. L., Crandall K. A., Lundeberg J., Wayne R. K. 1997. Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science* **276**: 1687–1690.
- Vincent I. C., Michell A. R. 1992. Comparison of cortisol concentrations in saliva and plasma of dogs. *Research in Veterinary Science* **53**: 342 – 345.
- von Borell E., Langbein J., Després G., Hansen S., Leterrier C., Marchant-Forde J., Marchant-Forde R., Minero M., Mohr E., Prunier A., Valance D., Veissier I. 2007. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals – a review. *Physiology & Behavior* **92**: 293–316.
- Wells D. L. 2004. A review of environmental enrichment for kennelled dogs, *Canis familiaris*. *Applied Animal Behaviour Science* **85**: 307-317.
- Wingfield J. C., Hunt K., Breune C., Dunlap K., Fowler G. S., Freed L., Lepson J. 1997. Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. In: *Behavioral Approaches to Conservation in the Wild* (J.R. Clemmons and R. Buckholz, eds.). Cambridge University Press, pp. 95–131.
- Wojtaś J., Karpiński M., Czyżowski P. 2020. Salivary Cortisol Interactions in Search and Rescue Dogs and Their Handlers. *Animals* 10 (4).

- Wright G. A., Thomson M. G. A. 2005. Odor perception and the variability in natural odor scenes. In: Romeo J. T., ed. *Chemical Ecology and Phytochemistry of Forest Ecosystems*. Oxford, UK: Elsevier Ltd: 191–226.
- Wust C. 2006. Einfluss der Höhenlage und Geländebeschaffenheit auf die leistungsphysiologischen Parameter von alpinen Rettungshunden. Ludwig Maximilians Universität, München, dissertation.
- Yeates J. W., Main D. C. J. 2008. Assessment of positive welfare: A review. *The Veterinary Journal* **175**: 293-300.
- Young R. J. 2003. *Environmental enrichment for captive animals*. UFAW Animal Welfare Series Blackwell Publishing, Oxford UK.
- Zupan M., Buskas J., Altimiras J., Keeling L. J. 2016. Assessing positive emotional states in dogs using heart rate and heart rate variability. *Physiology & Behavior* **155**: 102–111.

9 Seznam použitých zkratk a symbolů

HS-Horská služba ČR
HSK-hladina slinného kortizolu
KPT-kynologické pátrací týmy
OM-odběrné místo
PČR-Policie ČR
TC-terénní cvičení

