

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Vliv krmné směsi HORSAL Run na kožní deriváty u  
dostihových koní**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Alexandra Slámová, DiS.**

**Obor studia: Výživa zvířat a dietetika**

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

© 2021 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv krmné směsi HORSAL Run na kožní deriváty u dostihových koní" 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 26.4.2021

\_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala panu doc. Ing. Borisi Hučkovi, CSc. za trpělivost, ochotu a poskytnuté rady. Dále bych chtěla poděkovat panu Ing. Dušanu Kořínkovi, Ph.D. za poskytnutí krmné směsi pro experiment a dostihové trenérce Pavlíně Sůrové za umožnění experimentu v její stáji. Také děkuji za ochotu, trpělivost a pomoc při analýzách Ing. Daně Homolkové a Ing. Kateřině Vejvodové. Dále bych chtěla poděkovat panu doc. Ing. Ondřeji Drábkovi, Ph.D. za umožnění analýzy v laboratořích katedry pedologie a ochrany půd. Děkuji trenérce Kateřině Bernardové za pomoc při hodnocení tělesné kondice. V neposlední řadě děkuji Ing. Lence Kořínkové za půjčení publikací. Poděkování patří také mé rodině za podporu a trpělivost při studiu a psaní diplomové práce. Speciální poděkování patří mé sestře Ing. Dominice Slámové, DiS za poskytnuté rady.

# Vliv krmné směsi HOSAL Run na kožní deriváty u dostihových koní

## Souhrn

Cílem práce bylo zhodnotit přidavek krmné směsi HORSAL Run obsahující zvýšenou koncentraci minerálních látek a její vliv na kožní deriváty u dostihových koní a vyhodnotit vyslovené hypotézy. Do experimentu bylo zařazeno 8 dostihových koní, kteří se nacházeli v přípravném období tréninku. Po 4 dny byly odebrány vzorky výkalů pro stanovení stravitelnosti krmné směsi. Byly provedeny 3 odběry žíní – před, v průběhu a na konci krmení krmné směsi (KS).

Používaná krmiva v krmné dávce a výkaly byly laboratorně analyzovány pomocí Weendeské analýzy. Dále byla stanovena stravitelnost krmné směsi pomocí indikátorové metody za použití tzv. písku. Za účelem vyhodnocení hypotéz byla provedena analýza žíní vybraných prvků (Ca, P, Mg; Cu, Mn, Zn) za použití emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). U jednotlivých koní byla vypočítána jejich hmotnost na základě změřených mír a vyhodnocen stupeň odhadu skóre tělesné kondice (BCS).

Na základě použití indikátorové metody byly spočítány koeficienty bilanční stravitelnosti (KSb). Nejvyšší hodnota KSb byla spočítána u hrubého tuku (94,98 %) s variačním koeficientem 0,83 %. Naopak nejnižší hodnota stravitelnosti a největší variabilita byla zaznamenána u hrubé vlákniny s KSb 12,69 % a variačním koeficientem 74,20 %.

Ukázalo se, že přidávání krmné směsi nemělo vliv na minerální profil žíní ani u jednoho zkoumaného prvku. Vliv pohlaví na ukládání minerálních prvků do kožních derivátů byl potvrzen jen v případě vápníku ( $p = 0,031$ ). U ostatních prvků byla tato hypotéza zamítnuta. Jako poslední se hodnotil vliv věku na hladinu minerálních prvků. Tato hypotéza se nepotvrdila u žádného prvku.

Žíně svými vlastnostmi a strukturou představují extrémně stabilní médium. V porovnání s ostatními biologickými materiály (krev, moč...) je odběr, přeprava a skladování daleko snazší a také levnější. Koncentrace stopových prvků je v žíních vyšší oproti ostatním biologickým materiálům, a proto se v žíních dobře detekují. I když díky svým vlastnostem a struktuře se zdá, že žíně reflektují spíše dlouhodobé změny. Z těchto důvodů jsme se rozhodli využít tuto méně používanou metodu. Analýza žíní by se v budoucnosti mohla využít ke stanovení dopingových látek, reziduí léčiv, těžkých kovů nebo i v případě intoxikace organismu rostlinami.

**Klíčová slova:** dostihový kůň; výživa; přípravné období; krmná dávka; HORSAL Run

# Effect of feed compound HORSAL Run on outgrowths of racehorses

## Summary

The aim of the thesis was to evaluate the supplement of the feed compound HORSAL Run with increased concentration of mineral elements and their effect on outgrowths of racehorses and to evaluate stated hypotheses. The experiment used 8 racehorses that were in the preparation period of their training. Faeces were gathered for 4 days to determine digestibility of the feed compound. 3 samples of horsehair were taken – before, during and after the period of feeding with feed compound (FC).

The feedstuffs used in the feed ration and faeces were analyzed in the laboratory using the Weende analysis. Furthermore, the digestibility of the feed compound was determined using the indicator method using the so-called sand. In order to evaluate the hypothesis, the analysis of horsehair for selected elements (Ca, P, Mg; Cu, Mn, Zn) was demonstrated using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). The weight of individual horses was calculated based on the taken measurements and the degree of estimation of the body condition score (BCS) was evaluated.

Using the indicator method the apparent digestibility coefficients (ADC) were calculated. The highest ADC was calculated in crude fat (94,98 %) with variable coefficient 0,83 %. The lowest value of digestibility and highest variability was found in crude fiber with ADC 12,69 % and variability coefficient 74,20 %.

It turned out that adding feed compound have no effect on the mineral profil of horse hair in any examined elements. The effect of gender on storing mineral elements to the outgrowths was confirmed only in the case of calcium ( $p = 0,031$ ). For the other elements, this hypothesis was rejected. The effect of age on the level of mineral elements was evaluated last. This hypothesis was not confirmed with any elements.

Horsehair is extremely stable medium with its properties and structure. In comparison with other biological materials (blood, urine...) taking a sample, transportation and storage of horsehair is easier and cheaper. The concentration of trace elements is also higher in horsehair compared to other biological materials, and therefore they are well detected in horsehair. Even though it seems horsehair reflect better on longterm changes. These are the reasons, we decided to use this less used method. Horsehair analysis could be used in the future for tests of doping substances, medical residues, heavy metals or in the case of plant intoxication.

**Keywords:** racehorse; nutrition; preparation period; feed ration; HORSAL Run

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>Stavba kůže, kožních derivátů a jejich funkce</b> .....	<b>9</b>
3.1.1	Kůže.....	9
3.1.2	Chlupy .....	11
<b>3.2</b>	<b>Analýza žíní a faktory ovlivňující ukládání prvků v žíních</b> .....	<b>13</b>
3.2.1	Analýza žíní.....	13
3.2.2	Faktory ovlivňující ukládání prvků .....	15
<b>3.3</b>	<b>Vybrané makro a mikroprvky</b> .....	<b>19</b>
3.3.1	Makroprvky .....	19
3.3.2	Mikroprvky.....	21
<b>4</b>	<b>Materiál a metody</b> .....	<b>24</b>
<b>4.1</b>	<b>Charakteristika místa, koní, krmné směsi</b> .....	<b>24</b>
4.1.1	Charakteristika areálu a vybavení .....	24
4.1.2	Charakteristika koní .....	25
4.1.3	Charakteristika krmné směsi HORSAL Run.....	27
<b>4.2</b>	<b>Metodika chemického rozboru</b> .....	<b>28</b>
4.2.1	Příprava vzorků krmiv a výkalů .....	28
4.2.2	Weendeská analýza .....	28
<b>4.3</b>	<b>Stanovení stravitelnosti KS indikátorovou metodou pomocí písku ...</b>	<b>30</b>
<b>4.4</b>	<b>Analýza žíní na minerální profil</b> .....	<b>31</b>
4.4.1	Odběr a uskladnění vzorků.....	32
4.4.2	Příprava vzorků na analýzu .....	32
4.4.3	Analýza.....	33
<b>4.5</b>	<b>Statistická analýza</b> .....	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>34</b>
<b>5.1</b>	<b>První hypotéza</b> .....	<b>34</b>
<b>5.2</b>	<b>Druhá hypotéza</b> .....	<b>36</b>
<b>5.3</b>	<b>Třetí hypotéza</b> .....	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze</b> .....	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>43</b>
<b>8</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>44</b>

# 1 Úvod

V současné době, kdy se vyrábí desítky krmných směsí pro koně, je čím dál těžší se orientovat v nabídce a učinit správnou volbu při výběru. Dostihoví koně představují vrcholové sportovce, kteří potřebují přijímat co nejkvalitnější krmivo.

Krmná směs HORSAL Run byla vybrána na základě doporučení od výživového poradce pana Ing. Dušana Kořínka, Ph.D. Je doporučována pro koně ve střední a těžké zátěži. Předpokládali jsme, že by tato směs mohla zvýšit ukládání prvků v žíních a zlepšit kvalitu srsti a kožních derivátů. Zároveň by také měla sloužit k udržení či zlepšení stupně kondice dostihového koně. Na základě složení krmné směsi byly zvoleny prvky, které měly ve směsi nejvyšší zastoupení. Tím pádem byla u nich největší pravděpodobnost, že se u nich statisticky projeví vliv této směsi. Byly zvoleny 3 makroprvky (Ca, P, Mg) a 3 mikroprvky (Cu, Mn, Zn) pro zhodnocení minerálního profilu žíní.

Analýza žíní je doporučována pro stanovení minerálního, nutričního a zdravotního stavu. Výhodou této analýzy je snadný odběr a skladování bez nutnosti chlazení. Žíně představují extrémně stabilní médium, které může být analyzováno i retrospektivně po několika letech (Asano et al. 2002; Dunnett 2008; Ghorbani et al. 2015). Navíc stopové prvky nebo látky o velmi malých koncentracích (rezidua léčiv, dopingové látky) lze velmi dobře v žíních detekovat, protože se tyto ukládají v žíních ve větším množství než v jiných orgánech a tekutinách. Oproti krvi a moči je koncentrace stopových látek v žíních 10–15krát vyšší (Asano et al. 2002; Ghorbani et al. 2013).

Pro majitele a trenéry dostihových koní by mohl odběr a analýza žíní představovat jednodušší alternativu například pro ověření zdravotního stavu při snížené výkonnosti v porovnání s odběrem a testováním krve. Nicméně přese všechny pozitiva zůstává otázkou na kolik odráží tato metoda aktuální stav jedince a také její spolehlivost, protože minerální profil žíní může být ovlivněn mnoha faktory (pohlaví, věk, zbarvení apod.).

## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

V ČR se zvyšují stavy zejména sportovních koní. Na trhu s krmivy je mnoho firem vyrábějících nejrůznější krmné směsi a doplňky. Cílem práce bylo zhodnotit přídavek krmné směsi HORSAL Run u dostihových koní.

Hypotézy:

- I. Přídavek krmné směsi HORSAL Run pozitivně ovlivní minerální profil žíní.
- II. Ukládání minerálních prvků do kožních derivátů se liší v závislosti na pohlaví.
- III. Hladina minerálních prvků deponovaných v žíních se bude odlišovat v souvislosti s věkem.



## 3 Literární rešerše

### 3.1 Stavba kůže, kožních derivátů a jejich funkce

#### 3.1.1 Kůže

Kůže je někdy také nazývána integument neboli tělní pokryv. Kůže je největším orgánem, protože pokrývá celé tělo koně (Davies 2005). Kůže představuje ochranný obal; sekreční, vylučovací a smyslový orgán a zároveň také působí jako regulátor teploty (Davies 2018). Její tloušťka se pohybuje od 1 až po 5 mm podle oblasti těla. Kůže je nejsilnější na čele, v oblasti hřbetu (krk, hrudník) a u kořene ocasu, zatímco nejslabší je na uších a v oblasti podpaží, třísel a řitního otvoru (Rees 2010). Průměrná tloušťka kůže je 3,8 mm, zatímco v oblasti hřívky je to 6,2 mm a u ocasu 5,3 mm. Normální pH kůže je většinou neutrální, ale zvyšuje se pocením na 7,9 (Scott & Miller 2011).

Kůže zajišťuje pro organismus mnoho důležitých funkcí. Udržuje stálý tvar díky své pružnosti, která se projevuje při ohnutí a narovnání končetiny. Buňky jsou neustále obnovovány, aby nedocházelo k opotřebení (Davies 2018). Slouží jako obrana proti patogenním mikroorganismům kombinací slizniční imunity a normální mikroflóry osídlené bakteriemi (*Micrococcus*, *Aerococcus*, *Aeromonas*...) a s více než 30 druhy mikroskopických hub (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Candida*...) (Long 2010). Chrání koně proti zranění a vůči klimatickým vlivům prostředí. Zajišťuje termoregulaci, která pomáhá udržovat stálou tělesnou teplotu. Zabraňuje nekontrolovatelné ztrátě vody, ale na druhou stranu je odolná vůči vodě, takže zabraňuje promoknutí. Ze slunečního (UV) záření syntetizuje vitamín D a zároveň ochraňuje organismus před škodlivými účinky UV záření (Davies 2005; Davies 2018). Dále produkuje pigment melanin, který je důležitý pro zbarvení. Jako odpadní produkt vylučuje pot a močovinu (Davies 2005). Kůže se skládá ze 3 vrstev: pokožka, škára a podkoží.

#### Pokožka

Pokožka (*epidermis*) je povrchová a ochranná vrstva (Budras et al. 2011). Vznikla z ektodermu a má schopnost regenerovat (Stashak & Theoret 2014). Skládá se z vícevrstevnatého, zrohovatělého, dlaždicového epitelu. Pokožku lze rozdělit na rohovatějící a zárodečnou vrstvu.

**Rohovatějící část** se nachází na povrchu a skládá se z rohové, světlé a zrnité vrstvy. V této části se buňky nemnoží. Světlá vrstva je však jen zřídka přítomna a nachází se jen v silnějších, bezsrstých oblastech kůže (Budras et al. 2011; Stashak & Theoret 2014; Davies 2018). Dohromady tvoří tzv. kožní vrstvu (Budras et al. 2011). Rohová vrstva se skládá z plochých odumřelých buněk (25–30 vrstev), které se neustále odlupují (korneocyty). Korneocyty jsou nahrazovány ze spodních vrstev, a tak je tato vrstva neustále obnovována. Tento proces se nazývá deskvamace (Davies 2005; Davies 2018). Tato vrstva nejen poskytuje ochranu, ale zadržuje vlhkost a brání vstupu mikroorganismům (Davies 2018).

Zrnitá vrstva obsahuje 3–5 vrstev zploštělých keratinocytů a lamelární tělíska. V buňkách se nachází keratohyalinová granula (histidiny, cysteiny), kterou zřejmě vážou dohromady keratinová vlákna. Při přechodu mezi trnitou a zrnitou vrstvou vylučují buňky lamelární tělíska

(lipidy, proteiny), která tvoří lipidový obal. Tento obal je hydrofobní a zajišťuje nepromokavost pokožky. Současně buňky ztrácejí jádra a organely, čímž se z nich stávají odumřelé keratinocyty v rohové vrstvě (Davies et al. 2018).

**Zárodečnou část** tvoří trnovitá a základní (bazální) vrstva (Budras et al. 2011). Trnovitou vrstvu tvoří 8–10 vrstev různě tvarovaných keratinocytů, které jsou navzájem propojeny desmozomálními mezibuněčnými vlákny a poskytují pokožce pružnost a pevnost (Davies 2018).

Základní vrstva produkuje buňky, které se postupně pohybují k povrchu. Při tom se naplní keratinem, zplošťují se a odumírají (Davies 2005). Základní vrstva je nejhlubší vrstvou pokožky a je uložena na bazální membráně. V základní vrstvě se nachází keratinocyty, melanocyty a kmenové buňky. Ty se aktivně dělí a neustále produkují nové keratinocyty (Davies 2005; Davies 2018). Melanocyty jsou úzce spojeny s keratinocyty a tvoří epidermální melaninovou jednotku pro přenos melaninu do keratinocytů. Melanocyty vytváří melanin, který určuje zbarvení pokožky a chlupů (černá, hnědá, červená) (Davies 2018). Dále slouží jako ochrana před UV zářením (Budras et al. 2011). Langerhansovy buňky vznikají v kostní dřeni. Dále se pomocí krevního oběhu dostanou do kůže, kde se nacházejí v bazální i v trnité vrstvě. Tyto buňky jsou důležité pro imunitní systém, protože na sebe vážají antigeny a ty pak prezentují T-lymfocytům (Budras et al. 2011; Davies 2018).

## Škára

Škára (*dermis*) zajišťuje krevní a nervové zásobení. Škára vznikla z mezodermu a nemůže se zcela regenerovat. Škára se dělí na papilární vrstvu a síťovitou (retikulární) vrstvu. Papilární vrstva se nachází přímo pod pokožkou. Škára se skládá z pojivové tkáně, která obsahuje v papilární vrstvě řídké kolagenní vazivo a v síťovité vrstvě hrubší, síťovitě spojené svazky kolagenních a elastických vláken (Budras et al. 2011; Stashak & Theoret 2014). Díky směsi kolagenních a elastických vláken je pokožka pružná, takže se může napínat v průběhu březosti. Dále se zde nachází cirkulující bílé krvinky, krevní cévy a nervy (Davies 2018). Krevní cévy zásobují tkáň živinami a kyslíkem, a kromě toho mají také termoregulační funkci. Škára u koně je tenčí než u skotu (Budras et al. 2011).

**Nervové zásobení** je realizováno senzitivními a sympatickými vlákny. Sympatická inervace cév a potních žláz souvisí nejen s termoregulací, ale odráží různé stavy vzrušení (např. pocení). Díky sensitivní inervaci se kůže stává největším smyslovým orgánem. Nacházejí se zde volná nervová zakončení sloužící jako receptory bolesti (nociceptory) a termoreceptory (Budras et al. 2011). Dále jsou v kůži umístěny speciální receptorové buňky – Merkelovy buňky, které se nacházejí v bazální vrstvě pokožky a působí jako mechanoreceptory doteku (např. ostrá hrana nebo poloha předmětů) (Budras et al. 2011; Davies 2018). Speciálně strukturovaná nervová zakončení (Ruffiniho tělíska, Vater-Paciniho tělíska) fungují jako receptory tlaku, napětí, vibrace a pohybu (Budras et al. 2011). V případě Ruffiniho tělíska slouží i jako termoreceptory. Koním chybí Meisnerovo tělíska. Jejich funkce (vnímání pohybu a vibrací na chlupu) přejímají Lanceolátová zakončení (Davies 2018).

**Mazové žlázy** jsou holokrinní kožní sekreční žlázy, které uvolňují apoptické buňky s tukem do vlasového folikulu. Takto vylučovaný kožní maz vytváří tenký tukový film na pokožce a chlupcích, a díky tomu je srst lesklá (Budras et al. 2011). Kožní maz zabraňuje

vysychání kůže, nadměrné ztrátě vody a udržuje pokožku vláčnou. Maz omezuje růst některých bakterií (Davies 2018). Dále slouží jako vodotěsná vrstva a způsobuje, že jednotlivé chlupy leží na plocho (Gore et al. 2008).

**Potní žlázy** mají většinou apokrinní sekreci, kde dochází k sekreci do vlasového folikulu. Apokrinní žlázy jsou obaleny cholinergním sympatickým nervovým vláknem. Ekrinní sekrece se volně vylučuje nezávisle na chlupech, nicméně jsou velmi vzácné (např. patka kopyta). Potní žlázy jsou nejpočetnější za ušima, na krku, hrudi a bocích (Gore et al. 2008). Pot se skládá z 97-99 % vody, elektrolytů a bílkovin. Kůň ve stresu může vyloučit až 10 ml potu na kg tělesné hmotnosti (např. 500 kg kůň vyloučí 5 litrů potu za hodinu), čímž může dojít ke značným ztrátám vody (Budras et al. 2011). Při mírném pocení se ztráta vody může kompenzovat její absorpcí z tlustého střeva, ale při ztrátě větší (3–4 % tělesné hmotnosti) dochází ke ztrátě pružnosti pokožky. Množství produkovaného potu se odvíjí podle podmínek prostředí, intenzity práce a kondice koně (Harris et al. 2006). Pot má charakter pěny díky obsahu bílkovin (Budras et al. 2011). V potu se nachází nízká hladina vápníku, hořčíku a fosfátu, zato obsahuje velkou koncentraci elektrolytů (sodík, draslík, chlor ve formě chloridu). Také se zde v malém množství vyskytuje zinek a železo (Harris et al. 2006).

### Podkoží

Podkoží (*hypodermis*) se skládá z řídkého kolagenního vaziva (pevně fixované a volně pohyblivé buňky), tukové tkáně (u koně je nažloutlá) a větších krevních cév (Budras et al. 2011). Řídké vazivo umožňuje pohyb kůže při kontrakci svalů. Podkožní tuk chrání koně před chladem a zároveň jako zásoba energie (Davies 2005). Podkoží spojuje kůži s podkladem (svalová povázka, okostice nebo ochrustavice). U koně je tato vrstva výrazně slabší než u psa. V některých oblastech těla zcela podkoží chybí (např. pysky, víčka, tváře, struky) (Budras et al. 2011).

### **3.1.2 Chlupy**

Chlupy patří mezi kožní deriváty a jsou tvořeny odumřelými keratinocyty. Koně produkují pouze primární chlupy na rozdíl od psa a kočky (Dunnett 2005; Rees et al. 2010). Chlupy dohromady tvoří celistvý povrch těla neboli srst. Srst je důležitá pro termoregulaci, ochranu před vnějšími faktory (hmyz, zranění, klimatické vlivy prostředí, elektromagnetické záření). Její zbarvení slouží jako „dekorace“ k přilákání ostatních zvířat. Srst také slouží k sociální komunikaci (feromony) a maskování. Péčí o srst (válení, vzájemné drbání koní, vykusování) se koně zbavují šupinek kůže, parazitů a nečistot (Stenn & Paus 2001; Rees et al. 2010).

### Vnitřní a vnější stavba chlupu

Viditelnou část chlupu tvoří stvol a hrot. Pokožka je na mnoha místech vchlípená. V místě vchlípení se tvoří chlupový váček (folikul), který přechází do chlupové cibulky (Davies 2005; Davies 2018). Cibulka nasedá na chlupovou bradavku, která je tvořena vazivem a vlasečnicemi. Chlupový folikul se skládá z vnitřní, vnější epitelové a vazivové pochvy a je v něm uložen kořen chlupu (Marvan et al. 1992). Folikuly jsou přítomny všude kromě oblasti pohlavních

orgánů, vnitřní strany stehen a pod ocasem (Gore et al. 2008). Hustota srsti se liší podle oblasti těla. Nej hustší je na hlavě a nejméně hustá je v břišní a tříselné krajině (Budras et al. 2011).

Mikroskopicky lze chlup rozdělit na povrchovou kutikulu, kůru a centrální dřev. Chlupová kutikula je tvořena vrstvou překrývajících se zrohovatělých buněk, které fixují stvol chlupu k folikulu vzájemným propojením s buňkami vnitřní epitelové pochvy. Největší část chlupu je tvořena kůrou obsahující podélné, vřetenovité keratinocyty. Buňky jsou složeny z makrofibril nebo keratinových svazků, které tvoří přibližně 85 % kůry. V kůře se nachází granule melaninu (eumelanin – černá, hnědá barva; feomelanin – červená, žlutá barva). Melanin je více odolný vůči enzymatickým a mikrobiálním útokům než keratin (Dunnett & Lees 2008). Dřev obsahuje náhodně orientované, obdélníkové buňky, které se při dehydrataci scvrkávají a zanechávají prázdné mezery (vakuoly) podél centrální osy chlupu (Dunnett 2005). Tyto buňky jsou bohaté na trichohyalin, který je méně odolný než keratin (Dunnett & Lees 2003). Vzduchové mezery mezi dřevnými buňkami dávají vlasům bílou nebo stříbrnou barvu, pokud v kůře chybí pigment (Davies 2018). Počet dřevných buněk a tím pádem i plocha se zvyšují se zvětšujícím se průměrem vlasových vláken. Jemné chlupy koňské srsti jsou tvořeny převážně buňkami kutikuly a kůry, zatímco žíně hřív a ocasu obsahují větší počet a podíl dřevných buněk (Dunnett & Lees 2003). Chlupy se vztyčují kontrakcí buněk hladkého svalstva (vzprímovače chlupů), které jsou inervovány sympatickými nervy (Budras et al. 2011).

### Typy chlupů

Chlupy je možné rozdělit podle délky životnosti na trvalé a dočasné. Mezi trvalé chlupy patří ocas, hřív, rousy (zadní strana spěnek) a řasy. Někdy se také nazývají ochranné chlupy (Zeman et al. 2006; Davies 2018). Dočasné chlupy tvoří většinu srsti. Skládají se z delších chlupů, který kryjí hustou podsadu zabalených kratších chlupů. Každé jaro a podzim je koně shazují a vyměňují v procesu zvaném „línání“ v reakci na metabolické a hormonální změny, které jsou vyvolány změnou délky dne a teplotou prostředí (Davies 2005).

Nebo lze chlupy rozlišit dle stavby na vlasiny, štětiny, krycí, hmatové a chlupy podsady. Vlasiny neboli žíně se vyskytují na hlavě jako kštice, na krku jako hřív a na ocase jako ocasní žíně. Žíně jsou umístěny a utvářeny tak, aby napomáhaly odstraňovat vodu (Davies 2018). Nejhrubší a nejdelší žíně se nacházejí v oblasti týlu, zatímco směrem ke kohoutku se žíně zjemňují a zkracují. Žíně ohonu narůstají nejdelší v jeho dolní polovině, v horní polovině jsou kratší (Zeman et al. 2006). Mezi štětiny patří řasy, ušní a nosní chloupky. Jedná se o dlouhé, tlusté chlupy. Jejich cibulky se nachází až v podkoží. Krycí chlupy jsou dlouhé a silné. U koní se vyskytují pouze vůdčí krycí chlupy nikoliv pesíky. Vždy obsahují dřev (Marvan et al. 1992). Hmatové (sinusové) chlupy jsou přítomny na horním, spodním pysku a na víčkách. Tyto chlupy jsou delší než normální chlupy. Kořen chlupu zasahuje hluboko do síťovité vrstvy škáry a je v kontaktu s vláknem pruhované svaloviny (Budras et al. 2011). Folikul je obklopen nervovými zakončeními, která reagují na mechanické podněty (dotek, pohyb) a poskytují smyslové informace z prostředí (Aspinall & Cappello 2015). Chlupy podsady jsou tenké a jemné, ale tvoří hustý povrch těla. Většinou nemají dřev nebo jí mají malé množství. Vyměňují se 2× ročně při línání (Marvan et al. 1992; Gore et al. 2008). Chlupy nevypadávají najednou, ale postupně v různých oblastech těla v mozaikovitých vzorech, protože se chlupové folikuly nacházejí v různých růstových stádiích (Rees et al. 2010; Scott & Miller 2011).

## Chemické složení chlupu

Chlupy jsou tvořeny bílkovinami, lipidy, melaniny, vodou a stopovými prvky. Bílkoviny jsou primárně zastoupeny kombinací 3 typů keratinů. Keratiny s nízkým a vysokým obsahem síry, vysokým obsahem tyrosinu a glycinu. Lipidy se zde nachází ve formě mastných kyselin a triglyceridů. Melaniny vznikají oxidací aminokyseliny tyrosinu působením tyrozinázy. Voda v chlupcích pochází z atmosférické vlhkosti a potu. Obsah vody se mění přímo dle relativní vlhkosti prostředí. Množství stopových prvků, aminokyselin a lipidů v chlupcích se odvíjí podle různých faktorů (např. genetika, výživa, zdravotní stav, životní prostředí, péče o srst atd.) (Dunnett 2005).

## Růstový cyklus chlupu

Chlupy rostou v cyklech. V momentě, kdy dojde k vypadnutí chlupu, vytvoří se nový folikul a začne růst nový chlup (Aspinall & Capello 2015). Cyklus je ovlivněn fotoperiodou, okolní teplotou, výživou, hormony, zdravotním stavem, genetikou a dalšími vnitřními faktory (cytokiny, růstové faktory) (Scott & Miller 2011). Dunnett (2005) uvádí, že růst hřívy i ocasu je relativně konstantní. Za měsíc kontinuálně naroste přibližně 17–25 mm hřívy v závislosti na plemeni (Dunnett 2008). Podle Scott & Miller (2011) každý den hříva naroste o 0,59 mm. Růstový cyklus sestává ze tří částí – anagen, katagen, telogen. Někdy se jako čtvrtá část uvádí exogen. Délka těchto fází se mění s věkem, plemenem, pohlavím, oblastí těla a individualitou jedince (Scott & Miller 2011). Tato cyklická aktivita představuje mechanismus, díky kterému mění koně svou srst, aby se vyrovnali s růstem a sezónními klimatickými výkyvy (Dunnett 2005). Zároveň by tento cyklus měl chránit před nesprávnou tvorbou chlupových váčků a maligní degenerací (Stenn & Paus 2001).

Anagen označuje relativně dlouhé období aktivního růstu (Dunnett 2005). V této fázi je chlup produkován mitózou v buňkách papily. Dále dochází ke zúžení chlupové cibulky (Scott & Miller 2011). Buňky cibulky generují nový vlas, který se tlačí směrem nahoru (Rees et al. 2010). Anagen má 6 fází.

Jako katagenní fáze se označuje krátké přechodné období pomalého růstu. Dochází k ustání růstu, zmenšování folikulu a oddělení starého chlupu. Starý chlup oddělený od přívodu živin postupně odumírá. Katagen se skládá z 8 fází (Stenn & Paus 2001; Dunnett 2005; Scott & Miller 2011).

Telogen je doba odpočinku, kdy chlupy nerostou a jsou neaktivní. Znova nastupuje další anagenní fáze, kdy dochází k zregenerování chlupové cibulky z kmenových buněk folikulu, což regulují papily ve škáře. Tím dochází k tvorbě nového chlupu, který způsobí vypadnutí předchozího chlupu (exogen) (Stenn & Paus 2001; Dunnett & Lees 2003).

## **3.2 Analýza žíní a faktory ovlivňující ukládání prvků v žíních**

### **3.2.1 Analýza žíní**

V 19. století byla analýza vlasů použita k detekování přítomnosti arsenu v tělech obětí vraždy, což vedlo k usvědčení pachatelů až 11 let po spáchání zločinu. V šedesátých letech

posmrtná analýza identifikovala arsen ve vlasech Napoleona Bonaparte, který zemřel v roce 1821. Ačkoliv analýza vlasů pro identifikaci užívání drog u lidí začala před více než 25 lety, tak vývoj techniky pro koně začal až v pozdních 90. letech. První výzkumné publikace se objevily v roce 2000 (Dunnett 2008).

Analýza žíní je preferována pro stanovení zdravotního a nutričního stavu, metabolických poruch a hladiny minerálních prvků (nedostatek, nadbytek) u koní (Asano et al. 2002; Dobrzanski et al. 2005; Davidson & Orsini 2014). I když podle Jančíkové et al. (2012) nejsou žíně spolehlivým indikátorem nutričního stavu. Dále je možné určit přítomnost a množství těžkých, toxických kovů (kadmium, rtuť, arsen...), léčiv a dopingových látek (Asano et al. 2002). Další potenciální aplikace analýzy žíní je u intoxikace rostlinami u koní (Ghorbani et al. 2015). Ačkoliv jsou žíně živou tkání, tak se jedná o fyzicky robustní, téměř bezvodé a extrémně stabilní biologické médium (Dunnett 2008). Složení žíní odráží hladiny mikroprvků, které se kumulují ve struktuře žíní prostřednictvím výživného průtoku krve (Ghorbani et al. 2015).

Koncentrace stopových prvků je vyšší v žíních než jiných orgánech a tekutinách (Asano et al. 2002). Například koncentrace v žíních je 10 - 15krát vyšší než v krvi nebo moči (Ghorbani et al. 2013). Stopové prvky jsou v žíních dobře detekovatelné, protože žíně představují velmi mineralizovanou tkáň (Ghorbani et al. 2015). Navíc odběr vzorku lze uskutečnit v relativně velkém množství a také přeprava a skladování (bez nutnosti chlazení) je daleko jednodušší než u ostatních biologických materiálů (Asano et al. 2002; Dunnett 2008; Ghorbani et al. 2015). Mezi hlavní výhody analýzy žíní patří: opakovatelnost, retrospektivní detekce (po celé týdny, měsíce, roky) a schopnost profilovat používání léčiv či dopingových látek (jednorázové, opakované či kontinuální užívání) (Dunnett 2008). Kromě toho analýza představuje bezpečné, bezbolestné a neinvazivní testování. Analýza neposkytuje hodnocení obsahu minerálních látek v jiných tkáních, ale testování žíní umožňuje odvodit, co v daném orgánu probíhá (Ghorbani et al. 2013). Pro pochopení analýzy žíní je důležité si uvědomit, že minerální látky musí projít komplexními systémy – od přijmutí, vstřebávání až po cirkulaci před uložením do chlupů (Wells et al. 1990).

Vzhledem k původu stopových minerálů v žíních se rozlišují dva zdroje – exogenní a endogenní. Exogenní zdroj vznikl přímým kontaktem s prostředím poté, co byly vytvořeny žíně. Exogenní koncentrace lze snadno odstranit vymytím. Endogenní zdroj představuje množství zabudované do struktury žíní během jejich vzniku. Tento zdroj je považován za metabolicky inertní, nevratný a zcela pevný (Asano et al. 2002). Významné množství makroprvků i mikroprvků endogenního původu je absorbováno skrze povrch chlupů prostřednictvím sekretů z potních a mazových žláz (Asano et al. 2005). Podle Ghorbani et al. (2015) se ukázalo, že žíně jsou lepším biologickým indikátorem minerálního stavu u koní než sérum. Minerální látky v krvi procházejí kontrolami homeostázy, takže jsou rozsahy koncentrací úzké, zatímco koncentrace v žíních jsou široké a reflektují dlouhodobé metabolické změny. Opakovaně byl prokázán inverzní vztah pro vápník, hořčík, zinek, železo a měď v žíních s obezitou, cukrovkou a metabolickým syndromem, zatímco hladina sodíku v žíních se za těchto podmínek zvýšila. U koní obsahy mědi, železa a zinku lze využít jako prevenci, diagnostiku a léčbu pro equinní metabolický syndrom, což je inzulinová rezistence (Ghorbani et al. 2015).

### 3.2.2 Faktory ovlivňující ukládání prvků

#### Plemeno

Podle Wells et al. (1990) byly prokázány statisticky významné rozdíly v obsahu vápníku, hořčíku, fosforu, mědi, zinku, manganu mezi 7 různými plemeny (anglický a arabský plnokrevník, quarter horse, morgan, conemmarský pony, appaloosa, americký klusák). Koncentrace prvků v žíních jsou významně nižší u polského konika v porovnání se zdravými koňmi ostatních plemen. Hladina vápníku, zinku a manganu je o 50 % nižší než u jiných plemen. Rozdíly v obsahu minerálních prvků mohou naznačovat větší odolnost vůči nemocem a větší adaptibilitu vůči měnícím se podmínkám prostředí oproti jiným plemenům (Siwinska et al. 2018).

#### Věk

Asano et al. (2002) uvádějí, že významně negativní korelace s věkem byla pozorována u koncentrace manganu u anglických plnokrevníků. Věkové rozmezí se pohybovalo od 2 do 5 let. Ve studii od Ghorbani et al. (2015) autoři popisují, že vliv stáří na žíně s výjimkou fosforu nebyl statisticky významný u vápníku, mědi, hořčíku, manganu a ani zinku. Studie byla prováděna na 12 kaspických ponících. Věkové skupiny byly rozděleny na koně do věku 3 let a na koně starší 3 let. Brummer-Holder et al. (2020) popisují korelaci mezi věkem a koncentrací mědi jako slabou a negativní. Studie byla provedena u 59 koní s věkovým rozmezím od 2 měsíců do 26 let. Předchozí studie těchto autorů také poukazovala na pokles mědi v průběhu času u klisen a hříbat. V této studii byl nalezen opět negativní vztah u manganu, ale pouze při zahrnutí i odlehlých hodnot (Brummer-Holder et al. 2020).

#### Pohlaví

Dle Asano et al. (2002) nebyly pozorovány významné rozdíly mezi samčím a samičím pohlavím v průměrné koncentraci minerálních prvků. Kalashnikov et al. (2019a) zjistili, že koncentrace manganu u klisen byla vyšší o 64 % oproti hřebcům. zatímco obsah zinku byl o 5 % vyšší u hřebců než u klisen. U mědi nebyl pozorován žádný významný rozdíl. Rozdíly mezi stopovými prvky (Zn, Cu) u pohlaví mohou souviset s metabolismem metalothioneinu, o kterém je známo, že je regulován pohlavními hormony. Metalothioneiny jsou cytoplazmatické proteiny, které na sebe váží nadbytečné ionty zinku, mědi a dalších dvojmocných kovů (těžké kovy) a usnadňují jejich vylučování výkaly, slinami a žlučí (Talcott 2010). Snížená hladina testosteronu je spojena s vyšší koncentrací mědi a poměrem mědi k zinku (Kalashnikov et al. 2019a).

#### Zbarvení koní a barva žíní

Brummer-Holder et al. (2020) poukazují na to, že barva hřívy neovlivnila koncentraci stopových prvků, ačkoliv byla zaznamenána větší variabilita u vzorků s černou hřívou. Studie od Szpognanicz et al. (2002) poukázala na to, že měď i zinek na sebe navazují melanin. Nicméně měď měla vyšší afinitu než zinek při neutrálním pH. Wells et al. (1990) uvádějí, že existují významné rozdíly v obsahu minerálních prvků v žíních u různě zbarvených koní

(ryzák, hnědák, vraník a bělouš). Asano et al. (2005) uvádějí, že šedivé žíně u běloušů obsahují největší množství mědi a zinku. Druhé nejvyšší hodnoty mědi a zinku byly naměřeny u ryzáků. Nejnižší množství vápníku se prokázalo u šedivých žíní běloušů. Obecně bylo prokázáno, že bílé žíně obsahují nejmenší množství vápníku. Čím jsou žíně tmavší, tím víc se v nich nachází vápníku. Zároveň autoři sdělují, že nezjistili žádné souvislosti se zbarvením koní u hořčíku, manganu a fosforu (Asano et al. 2005).

### Prostředí a ustájení

Dle Dobrzanski et al. (2005) nemělo odlišné prostředí a různé minerální doplňkové látky vliv na hladiny testovaných prvků. Vyšší byla pouze koncentrace zinku u koní, kterým byla v zimě podávána minerálně vitamínová aditiva. Kalashnikov et al. (2019b) pozorovali regionální rozdíly (oblast Stavropolu, Kasnodaru, Volgogradu, Rostova) koncentrací prvků v hřívě hřebců anglického plnokrevníka. Ve všech regionech byly překročeny normy pro těžké kovy. Alespoň 50 % koní ve všech regionech splňovalo stanovenou fyziologickou normu pro zinek. Koně z Krasnodarské oblasti měli nedostatečnou koncentraci zinku. Rozdílné hodnoty u zinku mohou být vysvětleny odlišnou biologickou dostupností zinku v důsledku regionální variability vody. Navíc dřívější studie prokázaly, že nadměrné množství těžkých kovů může komplikovat absorpci zinku. Minimální hodnoty manganu byly naměřeny u oblasti Volgogradu (Kalashnikov et al. 2019b).

Průměrný obsah minerálních látek byl stejný jak u pastevně ustájených koní i u koní, co byli ustájeni ve stáji. To naznačuje, že na morfologii a koncentraci stopových prvků v žíních nemělo vliv ani prostředí, ustájení či výživa. Nízké obsahy prvků v žíních mohou být důsledkem nízké koncentrace prvků v rostlinách, což je velmi ovlivněno půdou a geologií v dané lokalitě (Siwinska et al. 2018).

### Roční období

Podle Dunnett (2005) se jeví, že největší růst žíní nastává na podzim. Nicméně tento jev nebyl statisticky prokázán. Bylo také prokázáno, že na podzim jsou v travnatých porostech vyšší koncentrace stopových prvků (Topcewska 2012). Nicméně Birick et al. (2005) popisují, že minerální koncentrace krmiv byla vyšší v létě a nižší na podzim oproti jiným ročním obdobím. S výjimkou mědi byly obsahy ostatních minerálních látek (mangan, zinek) v žíních v zimě výrazně nižší než v létě (Biricik et al. 2005).

### Rychlost růstu žíní

Vyšší rychlost růstu žíní u koní v experimentální skupině, kterým byl podáván minerálně-vitamínový doplněk, způsobila ukládání nižšího množství prvků v žíních. Celkový přírůstek v experimentální skupině byl přibližně 138,5 mm, zatímco u kontrolní skupiny to bylo 120 mm za 9 měsíců. Průměrný denní přírůstek u koní z experimentální skupiny činil 0,663 mm. U experimentální skupiny měl nárůst hřívy o 1 mm za následek snížení koncentrace mědi o 0,153 mg/kg v žíních, které nebylo statisticky významné. Zatímco u kontrolní skupiny byla nalezena významná korelace, kdy depozice mědi klesala o 0,324 mg/kg (Jančíková et al. 2012a). Rychlost růstu žíní může být také mírně ovlivněna podle lokalizace na krku. Bylo



prokázáno, že hříva v oblasti týlu roste nejrychleji, oproti tomu u kohoutku roste nejpomaleji. Dalším faktorem ovlivňujícím rychlost růstu žíní i následné ukládání prvků je plemenná příslušnost. Vyšší rychlost růstu hřívy i ocasu se prokázala u poníků než u plnokrevníků. Růst u kříženců se pohyboval mezi poníky a plnokrevníky (Dunnett 2005).

### Výživa

Výživa ovlivňuje rychlost růstu chlupů, ale i jejich kvalitu a množství. Špatná výživa může mít za následek matné, suché, křehké nebo depigmentované chlupy (Siwinska et al. 2018). Podle Wells et al. (1990) ukládání minerálních prvků v žíních je z méně než 30 % odchylek ovlivněno příjmem minerálů v potravě, zatímco zbylých více než 70 % odchylek představují interakce mezi jednotlivými prvky a neznámé metabolické faktory způsobené např. stravitelností krmiva.

Dřívější studie prokázaly, že suplementace zinku v chelátové formě s glycinem vedla k významnému zvýšení jeho koncentrace v koňských žíních. Obsah mědi reagoval nejen na celkovou dávku mědi, ale také na její konkrétní formu (Kalashnikov et al. 2019a). Celkově se jeví, že měď je pro organismus koní lépe přístupná v organické formě než v anorganické formě (Jančíková et al. 2012b). Navzdory širokému rozmezí příjmu, tak pouze koncentrace vápníku a fosforu v žíních odhalily slabé, negativní korelace s příjmem těchto minerálů (Wells et al. 1990). Jančíková et al. (2012a) uvádějí snížené množství manganu a vápníku v žíních koní z experimentální skupiny, kteří měli obohacenou krmnou dávku o minerálně-vitaminový doplněk. Naproti tomu Marycz et al. (2009) uvádí ve své studii ročků anglického plnokrevníka přesně opačný efekt, kdy v experimentální skupině krmené krmnou směsí bohatou na zinek a měď došlo k navýšení zinku, mědi, hořčíku a fosforu v žíních.

### Zdravotní stav

Zdravotní stav může velmi úzce souviset s výživou. Krmná dávka obohacená o specifické prvky (např. zinek, měď) může pozitivně ovlivnit morfologii, mechanické vlastnosti a složení chlupů. Subklinické minerální nedostatky mohou způsobit drsnou, nekvalitní srst a špatný růst chlupů (Siwinska et al. 2018). Minerální profil žíní a jejich kvalita může být nejen ukazatel nedostatku či nadbytku určitého prvku, ale může poukázat na metabolické poruchy nebo pokud je v určitém orgánu zdravotní problém (Asano et al. 2002, Ghorbani et al. 2015).

Rhabdomyolýza je spojená s pozměněným stavem stopových prvků u arabských plnokrevníků (Kalashnikov et al. 2019a). Rhabdomyolýza je epizodická porucha charakterizovaná ztuhlostí, svalovými křečemi a diskomfortem během nebo po cvičení. Postihuje hlavně zadní končetiny, ale příležitostně k ní může docházet i u svalů předních končetin nebo na boku. Rhabdomyolýza může být způsobena narušením transportu vápníku ve svalové buňce, dědičností nebo selektivním šlechtěním plemen pro lepší výkon. Typicky k tomuto stavu dochází, když se zintenzivňuje trénink po období relativní nečinnosti (odpočinek způsobený nemocí, zraněním, špatným počasím...) (Ramzan 2014).

Těžké, toxické kovy (hliník, kadmium, olovo, cín, rtuť, stroncium) mohou způsobit zdravotní problémy a snížit produktivitu zvířat. Vysoké koncentrace těchto prvků mohou vyvolat fyziologické a biochemické poruchy navozením oxidačního stresu v cílových buňkách a tvorbou reaktivních forem kyslíku (ROS), poškozením DNA a apoptózou atd. Bylo zjištěno,

že zvýšení toxické zátěže těžkými kovy vedlo k nárůstu koncentrace vápníku, fosforu, manganu v koňských žíních, zatímco kleslo množství křemíku a boru. U hořčíku, mědi ani zinku nebyla odhalena žádná souvislost mezi toxickou zátěží na organismus a změněnou koncentrací těchto prvků v žíních (Kalashnikov et al. 2019c).

### Výkonnost a rychlost

Svalový a fyzický stres vyžaduje zvýšenou potřebu makro a mikroprvků. Vitální prvky (např. vápník, hořčík, železo...) jsou nezbytné pro různé fyziologické procesy (kontrakce svalů, transport kyslíku, vedení nervových vzruchů, imunita atd.) Byla provedena studie na koních ruských klusáckých plemen, aby se posoudil dopad sportovních výsledků a stupeň akumulace chemických prvků v žíních. Nedostatek životně důležitých prvků může vést ke zhoršení výkonnosti v dostizích i k rozvoji patologických stavů. Bylo zjištěno, že existují souvislosti mezi koncentrací prvků v biologických vzorcích (krev, sliny, žíně) a vytrvalostí, fyzickým výkonem a odolností vůči stresu (Kalashnikov et al. 2018).

Žíně koní s nejlepšími výsledky měly snížené množství u řady prvků (jódu, chrom, kobalt, lithium...) a zvýšenou koncentraci křemíku oproti koním s nízkou výkonností. Také byla nalezena negativní korelace mezi akumulací těžkých kovů v žíních a rychlostí. Rychlost byla změřena na vzdálenost 1600 m, kterou koně zaběhli v různých časech (121 s, 127 s, 138 s). Zároveň se nepotvrdila aktivace metabolismu vápníku, hořčíku, fosforu a zinku při sportovním výkonu jako je tomu u atletů. U klisen s průměrnou či nízkou rychlostí došlo k odchýlkám od fyziologického standardu u několika prvků (fosfor, mangan, měď, železo...). Čím byli koně pomalejší, tak tím přibývalo více prvků, které se nacházely mimo fyziologické normy (Kalashnikov et al. 2018).

### 3.3 Vybrané makro a mikroprvky

#### 3.3.1 Makroprvky

##### Vápník (Ca)

Vápník se nachází z 99 % v kostech a zubech, přičemž samotnou kost tvoří 35 % Ca a pouhé 1 % se nachází v tělních tekutinách (NRC 2007). Kosti slouží jako rezervoár vápníku a fosforu, pokud krmná dávka nespňuje požadavky na Ca a P (Frape 2010). Vápník je nezbytný pro svalovou kontrakci, propustnost a správnou funkci buněčných membrán, srážení krve, činnost nervových buněk (uvolňování neurotransmiteru acetylcholinu), uvolňování hormonů a také reguluje mnoho enzymů (Greco & Stabenfeldt 2013). Vápník se úspěšně absorbuje v tenkém střevě z 50 % u všech věkových kategorií (NRC 2007; Novak & Shoveller 2008). U mladých koní může být skutečná absorpce až 70 %, nicméně s dospíváním postupně klesá. Zdánlivá stravitelnost Ca se uvádí jako 50%, nicméně skutečná stravitelnost je ve většině krmiv daleko vyšší (Pratt-Phillips & Lawrence 2014). Endogenní ztráty vápníku byly odhadnuty na 0,02 g/kg ž. hm. (živá hmotnost) / den (NRC 2007). Dostupnost vápníku u různých krmiv bývá odhadována mezi 45–70 %, pokud se v krmivu nenachází kyselina šťavelová. Kyselina šťavelová snižuje dostupnost krmiva, protože vyvazuje Ca do nerozpustné soli (oxalát vápenatý) a může způsobit ledvinové kameny (Frape 2010). Využitelnost vápníku může být ovlivněna v případě, pokud se vápník naváže na fluor. Společně vytvoří nerozpustné komplexy uvnitř gastrointestinálního traktu, které jsou vylučovány výkaly (Ranjan & Ranjan 2015).

Doporučené množství na záchovu je 0,04 g Ca/ kg ž. hm./den, což by bylo u 500 kg koně 20 g Ca. Podle intenzity práce se zvyšuje požadavek na vápník. U lehké a středně intenzivní práci se zvýší denní potřeba na 0,06 g a 0,07 g na kg ž. hm. (NRC 2007). Gibbs et al. (2002) uvádějí, že dvouletí koně v počáteční fázi tréninku mají zvýšené požadavky na Ca oproti doporučením NRC. Tyto zvýšené požadavky jsou způsobeny přestavbou kostí v reakci na trénink. Dvouletý kůň v rané etapě tréninku potřebuje denně přijmout 0,13 g Ca/kg ž. hm. Oproti tomu mladí koně (3–5 let), kteří jsou fyziologicky adaptovaní na trénink, vyžadují 0,6 % v krmné dávce (Gibbs et al. 2002). Nicméně Nielsen (2001) tvrdí, že krmení 0,6 % Ca nepřináší žádný přínos a jako ideální koncentraci Ca v krmení uvádí 0,40 %. Bylo také prokázáno, že koně vyřazení z tréninku („důchod“) měli nižší hustotu kostí oproti koním v tréninku bez ohledu na množství Ca v krmné dávce (Pratt-Phillips & Lawrence 2014).

Homeostáza Ca je řízena pomocí kalcitoninu a parathormonu. Kalcitonin je hormon, který je syntetizován štítnou žlázou. Kalcitonin inhibuje aktivitu osteoklastů (zadržování Ca v kostech), zpětnou resorpci v renálních tubulech v ledvinách, což má za následek snížení hladiny Ca v krvi. Jeho antagonistou je parathormon (PTH), který je produkován příštítnými tělísky. Zvyšuje hladinu Ca v krvi tím, že uvolňuje Ca z kostí, stimuluje zpětnou resorpci v ledvinách a vylučuje z nich fosfáty. Také stimuluje intestinální absorpci Ca pomocí enzymatické přeměny prekurzoru vitamínu D na jeho aktivní formu (McKeever et al. 2014). Vitamín D stimuluje střevní absorpci Ca a renální reabsorpci Ca a P, takže také zvyšuje hladinu Ca v krvi. Nicméně se zdá, že u koní za normálních, fyziologických podmínek nehraje takovou roli pro udržení homeostázy Ca jako je tomu u jiných hospodářských zvířat (Zeyner & Harris 2013).

Důležité je také dodržet správný poměr vápníku ku fosforu. Ramzan (2014) uvádí jako optimální poměr 1,2 – 2 : 1. Brown-Douglas (2009) doporučuje 1,5 : 1 jako ideální poměr pro mladé koně. Zároveň by nikdy neměl tento poměr klesnout pod 1 : 1 a ani překročit hranici 2,5 : 1. Vysoké dávky hliníku ve krmné dávce mohou způsobit negativní bilanci vápníku, protože způsobuje zvýšené vylučování vápníku močí (Asano et al. 2002). Hypokalcémie (snížená hladina Ca v krvi) inhibuje uvolňování acetylcholinu, což může způsobit paralýzu (Greco & Stabenfeldt 2013). Nedostatek vápníku bývá způsoben nesprávným poměrem mezi Ca a P. U mladých koní způsobuje DOD (development orthopedic disease = vývojová ortopedická onemocnění) a sníženou hustotu kostí, což může způsobit křivici. U ostatních koní může způsobit ztuhlou chůzi či kulhání, osteomalacii (oslabení, měknutí kostí), která může vést k frakturám kostí (Novak & Shoveller 2008). Nadměrný příjem fosforu vede ke snížení absorpce a chronickému nedostatku vápníku a k sekundární hyperparatyreóze (zvýšená funkce příštítných tělísek) (Parker 2013). Nadbytek vápníku bývá způsobena toxicitou vitamínu D, což vede ke snížené aktivitě a velikosti příštítných tělísek a štítné žlázy (Frape 2010).

Referenční hodnota vápníku v žíních u zdravých dostihových koní je  $1309,0 \pm 523,0$   $\mu\text{g/g}$ . U klisen je tato referenční hodnota  $1597,0 \pm 484,0$   $\mu\text{g/g}$ , u hřebců a valachů  $1196,0 \pm 538,0$   $\mu\text{g/g}$  (Asano et al. 2002).

### Fosfor (P)

Fosfor je důležitý pro stavbu kostí (tvoří 14–17 % kostry) a zubů; syntézu fosfolipidů, fosfoproteinů, nukleových kyselin (DNA, RNA) a energetický metabolismus adenosin difosfátu (ADP) a adenosin trifosfátu (ATP) (NRC 2007; Greco & Stabenfeldt 2013; Parker 2013). Skutečná absorpce fosforu v tlustém střevě se pohybuje od 35 do 55 %. Předpokládá se, že u hříbat je fosfor lépe vstřebáván než u dospělých koní (NRC 2007). Zdánlivá stravitelnost P bývá 45 %, ale skutečná stravitelnost v klasických krmivech může být velmi variabilní (Pratt-Phillips & Lawrence 2014).

NRC (2007) doporučuje denní množství fosforu 0,028 g/kg ž. hm. potřebné pro záchovu, zatímco pro lehkou a středně těžkou práci uvádí denní potřebu 0,036 g a 0,042 g P/kg ž.hm. Dvouletí koně by měli přijímat přibližně 0,07 mg P/kg ž. hm./den. Tříletým a starším koním stačí 0,35 % P v krmné dávce (Gibbs et al. 2002). Velké množství vápníku, kyseliny šťavelové a fytové (fytát) v krmné dávce může snížit vstřebávání fosforu. Velké množství fytátů se nachází v obilí, což může mít za následek až 2 × snížení stravitelnosti. Endogenní ztráty fosforu dospělých koní jsou odhadnuty na 0,01 mg/kg ž. hm./den (NRC 2007; Martin-Rosset 2015). Fosfor se velkým množstvím nachází v obilovinách, zatímco vápníku je zde minimálně. Oproti tomu v jetelovém či vojtěškovém seně je velké množství vápníku a pouze minimální množství fosforu. Travní seno obsahuje podobné nízké až střední množství fosforu i vápníku. Tyto skutečnosti je důležité si uvědomit, aby byl dodržen správný poměr mezi těmito prvky.

Nadbytek P je vyvolán špatným poměrem Ca ku P a projevuje se sekundární hyperparatyreózou (syndrom „velké hlavy“), která může v extrémních případech způsobit demineralizaci kostí a kulhání (NRC 2007). Nedostatek fosforu se projevuje křivicí u mladých koní a osteomalacií u dospělého koně podobně jako je tomu u nedostatku vápníku a vitamínu D (Parker 2013).

Bylo zjištěno, že nedostatek fosforu se neodráží v obsahu fosforu v žíních. Koně měli nedostatek tohoto minerálu, ale hodnoty v žíních se neměnily ani s příjmem fosforu v krmné dávce. Nedostatek klinických příznaků deficitu fosforu, zinku a mědi naznačují, že doporučené denní dávky od NRC jsou nadhodnocené nebo byly tyto příznaky subklinické a zůstaly nepovšimnuty (Wells et al. 1990). Asano et al. (2002) uvádějí jako referenční hodnotu  $324,9 \pm 132,8$   $\mu\text{g/g}$  fosforu v žíních (klisny  $331,0 \pm 98,0$   $\mu\text{g/g}$ ; valaši, hřebci  $346,0 \pm 162,0$   $\mu\text{g/g}$ ).

### Hořčík (Mg)

Hořčík tvoří přibližně 60 % kostry a 30 % svalů a slouží jako aktivátor mnoha enzymů (NRC 2007; Parker 2013). Hořčík je nepostradatelný pro mineralizaci kostí, metabolické pochody (syntéza proteinů, oxidační fosforylace), správnou funkci mozku a podílí se na kontrakci svalů (Frape 2010; Coenen 2013). Mg je vstřebáván z 40–60 % z tenkého i tlustého střeva, i když většina je absorbována z tenkého střeva. Míra jeho absorpce klesá, pokud krmná dávka obsahuje nadbytek fosforu. Kyselina šťavelová ani fytoová nemají vliv na dostupnost a ani na vstřebávání hořčíku (NRC 2007). Snížená využitelnost hořčíku může nastat, pokud se hořčík naváže na draslík či vápník (Frape 2010). Denní endogenní exkrece hořčíku činí přibližně 0,006 g/kg ž. hm (NRC 2007).

Doporučená denní dávka na záchovu je 0,015 g/kg ž. hm., zatímco pro lehkou práci a středně intenzivní práci se zvyšuje množství 0,019 g a 0,023 g/kg ž. hm (NRC 2007). Dvouletí koně by měli denně dostávat 0,04 g Mg/kg ž. hm (Gibs et al. 2002). V běžných krmivech se nachází 0,1 – 0,3 % hořčíku, což je dostatečné pro mladé koně (potřeba 0,2 % Mg) (Gibs et al. 2002; Parker 2013). Koncentrace Mg klesá v rostlinách na jaře a jeho nedostatek může způsobit pastevní tetanii, která je častější u skotu než u koní. Pastevní tetanie může nastat u klisen ve vrcholné laktaci (Sharpe 2019). Klinické příznaky nedostatku hořčíku se projevují nervozitou, svalovým třesem, ataxií, hyperpnoí (prohloubené dýchání) a tendencí ke kolapsu (NRC 2007). Karence Mg způsobuje abnormální mineralizaci v měkkých tkáních (aorta) a větší riziko lámavosti kostí. Vysoké dávky Mg mohou vyvolat anestetické účinky. Maximální množství Mg bylo stanoveno na 0,8 %. Přebytky Mg je vylučováno močí, což může být důvodem, proč dosud neexistuje případ nadbytku Mg u koní (NRC 2007; Coenen 2013).

Dle Asano et al. (2002) činí koncentrace hořčíku v koňských žíních  $396,0 \pm 336,0$   $\mu\text{g/g}$  (klisny  $548,0 \pm 520,0$   $\mu\text{g/g}$ ; valaši a hřebci  $300,0 \pm 153,0$   $\mu\text{g/g}$ ).

### **3.3.2 Mikroprvky**

#### Zinek (Zn)

Zinek se podílí na mnoha enzymatických funkcích a tvorbě tělesných bílkovin. Zinek reguluje činnost mazových žláz a hojení ran. Také je velmi důležitý pro optimální funkci imunitního systému, správný a zdravý vzhled pokožky a srsti, což je nejžádanější vlastnost u exteriéru koně (Marycz et al. 2009; Pratt-Phillips & Lawrence 2014). Největší množství zinku se nachází v cévnatce a duhovce v oku, slinivce břišní a v prostatě. Střední koncentrace je přítomna v kůži, rohovině kopyt, játrech, kostech a svalech a nejmenší množství se nachází v krvi, mléku, plicích, a mozku. Absorpce zinku se pohybuje mezi 5–15 % a probíhá hlavně

v tenkém střevě (NRC 2007; Coenen 2013). Stravitelnost Zn v krmivech je přibližně 20 %. Nicméně vliv organického či anorganického zdroje na stravitelnost je dost kontroverzní (Martin-Rosset 2015). Endogenní ztráty jsou odhadnuty na 0,1 mg/kg ž. hm (NRC 2007).

Doporučená denní koncentrace zinku v krmné dávce je 40 mg/ kg sušiny (NRC 2007). Vysoká hladina bílkovin, fytátů a vápníku v krmné dávce významně znásobuje požadavek na zinek (Marycz et al. 2009). Koně chovaní na pastvinách mají menší potřebu Zn (15–20 mg/kg sušiny), protože nepřijímají koncentrovaná krmiva obsahující fytáty (Suttle 2010). Nadbytek vápníku v krmné dávce způsobuje pokles zinku v organismu. Změny koncentrace zinku v žíních indikuje antagonismus zinku a vápníku při absorpci z trávicího traktu (Dobzanski et al. 2005). Zinek v žíních vzájemně souvisí se zinkem v kostech (Ghorbani et al. 2015). Zinek hraje klíčovou roli při množení epidermálních buněk a při tvorbě strukturálních proteinů během procesu keratinizace. Zinek a měď jsou součástí superoxid dismutázy (SOD), která zabraňuje peroxidaci lipidů a jinému poškození buněk a tkání (Jančíková et al. 2012a). Nadměrné množství zinku stimuluje produkci metalothioneinu (Talcott 2010). Nicméně koně jsou vůči nadbytku Zn docela odolní. Maximální množství Zn bylo stanoveno na 500 mg/kg sušiny (NRC 2007). Nadbytek Zn může být způsoben kontaminací pastvin průmyslovou činností, což může vyvolat DOD u hříbat a osteochondrózu (degenerativní porucha osifikací kostí a chrupavek) (Coenen 2013). Nedostatek zinku v krmné dávce může vést k parakeratóze (porucha rohovatění kůže), náchylnosti k infekcím u hříbat; pomalému růstu, šedivění chlupů, DOD u rostoucích koní; snížení kvality spermatu u hřebců; opožděné ovulaci u klisen a celkově k prodlouženému hojení ran, zhoršené kvalitě kopyt a neochotě přijímat krmivo (Birick et al. 2005; Harris et al. 2006; Marycz et al. 2009; Coenen 2013). I mírný nedostatek může mít za následek opravdu špatnou kvalitu srsti a pokožky. Odpovídající poměr zinku ku mědi v krmné dávce by měl být 3–4 : 1 (Marycz et al. 2009).

Kalashnikov et al. (2019a) uvádějí referenční rozmezí zinku v žíních 97,43 – 167 µg/g (klisny 93,95 – 166,7 µg/g; hřebci 100,7 – 170,8 µg/g) v žíních podle ASVCP (American Society for Veterinary Clinical Pathology Quality Assurance and Laboratory Standard Guidelines). Zatímco podle Asano et al. (2002) je toto rozmezí 86,0 ± 24,0 µg/g (klisny 92,0 ± 25,0 µg/g; hřebci a valaši 88,0 ± 31,0 µg/g).

### Měď (Cu)

Měď je potřebná pro absorpci železa z gastrointestinálního traktu, metabolismus kůže a pojivové tkáně. Pomáhá při tvorbě hemoglobinu a červených krvinek, myelinizaci neuronů a kooperuje s vitamínem C a zinkem při tvorbě elastinu a kolagenu. Dále se podílí na procesu hojení, detoxikaci superoxidů, zachování integrity mitochondrií a pigmentaci kůže a chlupů (syntéza melaninu). Třičtvrtě celkového obsahu mědi se nachází ve svalech, játrech a krvi. Absorpce a stravitelnost mědi se pohybuje od 24 do 48 %. Absorpce probíhá v tenkém střevě. Endogenní ztráty jsou odhadovány na 0,069 mg/kg ž. hm (NRC 2007; Marycz et al. 2009; Coenen 2013; Martin-Rosset 2015).

Doporučený denní příjem Cu na záchovu je 0,172 mg/kg ž. hm. Pro lehkou a střední práci jsou doporučené denní dávky 0,2 a 0,225 mg/kg ž. hm. (NRC 2007). Dostupnost mědi může být ovlivněna molybdenem, který zvyšuje vylučování mědi močí (Ranjan & Ranjan 2015; Sharpe 2019). Asano et al. (2002) uvádí, že zvýšená biologická hladina mědi vyvolala

onemocnění motorických neuronů (EMND) a přecitlivělost na pokousání pakomárcem (*Culicoides spp.*) označující se jako „letní vyrážka“. Nicméně koně jsou mimořádně tolerantní vůči nadbytku mědi (Parker 2013). Limitující množství je 50 mg/kg sušiny, protože vyšší koncentrace by mohly ovlivnit ukládání zinku a poškodit játra, kam se měď ukládá (Meyer & Coenen 2003). Měď má vyšší afinitu k metalothioneinu než zinek. Zvýšená produkce metalothioneinu s následnou vazbou na měď může vést k jejímu nedostatku kvůli zvýšenému vylučování mědi (Talcott 2010). Nízké koncentrace Cu mohou vyvolat osteochondrózu a epifyzitu spěnkového kloubu (forma osteochondrózy) u odstavených hříbat (Nielsen 2001). Nedostatek mědi může vést k anémii, celkové slabosti a k vyblednutí hnědě či černých pigmentovaných chlupů. U hříbat může být karence mědi důvodem pro některá DOD (Marycz et al. 2009).

Bylo prokázáno, že měď v žíních významně koreluje s mědí v játrech, srdci a ledvinách (Ghorbani et al. 2015). Podle ASVCP se referenční interval mědi v žíních pohybuje od 4,17 po 6,84  $\mu\text{g/g}$  (klisny 4,06 - 7,88  $\mu\text{g/g}$ ; hřebci 4,29 – 6,78  $\mu\text{g/g}$ ) (Kalashnikov et al. 2019a). Asano et al. (2002) uvádějí referenční hodnotu  $4,8 \pm 1,3 \mu\text{g/g}$  (klisny  $5,0 \pm 1,4 \mu\text{g/g}$ ; hřebci a valaši  $5,0 \pm 1,7 \mu\text{g/g}$ ).

### Mangan (Mn)

Mangan je nezbytný pro metabolismus tuků, sacharidů, cholesterolu a pro tvorbu kostí a chrupavek (syntéza chondroitin sulfátu) (NRC 2007; Parker 2013). Také některé enzymy obsahují Mn, zatímco jiné enzymy jsou jím aktivovány. Mn – SOD zajišťuje ochranu DNA před superoxidy a nachází se v mitochondriích a jaterní tkáni.  $\text{Mn}^{3+}$  se hromadí v mitochondriích astrocytů (podpůrné buňky nervové soustavy), kde podporuje jejich antioxidační funkci. Většina Mn se nachází ve svalech, kostech a kůži. Primárně je Mn vstřebáván v tenkém střevě. Zde se Mn účinně absorbuje ze 30 % příjmu, zatímco skutečná míra absorpce se pohybuje od 32–37 % (Coenen 2013). Skutečná stravitelnost manganu je 28,5 %. Ukázalo se, že práce v tréninku snižuje skutečnou stravitelnost z 58 na 40 %. Endogenní ztráty manganu jsou odhadovány na 0,2 mg/kg ž. hm (NRC 2007).

Doporučená denní dávka nebyla na pevně stanovena, ale prozatím tato potřeba zůstává na 40 mg/ kg sušiny nebo 0,3 mg/kg ž. hm./den (NRC 2007; Coenen 2013). Nedostatek manganu způsobuje problémy s reprodukcí (opožděné říje, snížená plodnost, spontánní potraty, kostní deformity u novorozeneých hříbat) (Parker 2013). Jedním z důvodů nedostatku manganu může být zapříčiněno vápněním půdy, což může snížit dostupnost manganu. Toxicita manganu byla popsána u jiných zvířat, ale u koně nebyla pozorována, a proto nejsou známé škodlivé koncentrace pro koně (Lewis 2005). Navíc přebytek Mn lze částečně vyloučit žlučí, protože při vysokém příjmu Mn se málo vstřebává (Suttle 2010). Koně s chronickým onemocněním jater mají zvýšenou koncentraci Mn v krvi a mozku. Chronická expozice Mn způsobuje ztráty neuronů a gliových buněk (Barton 2010).

ASVCP uvádějí referenční hodnoty manganu 0,551 – 12,55  $\mu\text{g/g}$  v koňských žíních (klisny 0,6136 – 14,6  $\mu\text{g/g}$ ; hřebci 0,48 – 9,35  $\mu\text{g/g}$ ) (Kalashnikov et al. 2019a). Asano et al. (2002) popisují referenční hodnotu  $5,20 \pm 3,35 \mu\text{g/g}$  (klisny  $4,86 \pm 2,73 \mu\text{g/g}$ ; hřebci, valaši  $5,06 \pm 3,77 \mu\text{g/g}$ ). Koncentrace manganu v žíních se neosvědčila jako vhodný ukazatel jeho celkového stavu v těle koně (Biricik et al. 2005).

## 4 Materiál a metody

Experiment probíhal v Kolesách u Kladrub nad Labem u dostihové trenérky Pavlína Sůrové. Do pokusu bylo zařazeno 8 dospělých koní plemene anglický plnokrevník (A1/1) ve věku od 3 do 13 let. Krmná směs HORSAL Run ve formě granulí byla krmena od 9.1.-18.2.2020. Přípravné období trvá většinou 5–15 dní, než se trávicí trakt zbaví vlivu předchozích krmiv (Zeman et al. 2006). V tomto případě byly odebrány vzorky výkalů po měsíci, takže gastrointestinální trakt už byl zcela navyknutý nové krmné dávce. Odběry vzorků krmiv a výkalů proběhly dle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 124/2001 stanovující kritéria pro odběr vzorků, uchovávání a principy metod laboratorního zkoušení krmiv.

### 4.1 Charakteristika místa, koní, krmné směsi

#### 4.1.1 Charakteristika areálu a vybavení

Jezdecký areál Kolesa disponuje dostihovým závodistištěm s 28 skoky. Dostihová dráha měří cca 1420 m. Cvalová písčité dráha má 1600 m. V těsné blízkosti dráhy se nachází pískové opracoviště s rozměry 100 × 60 m. Do nedalekého lesa chodí koně trénovat na tzv. „rajpon“, což je cvalová písková dráha s délkou 2500 m. V zimním období je také hojně využívána krytá hala (20 × 60 m). Dostihy se zde obvykle pořádají 1–2 × ročně. Tento rok (2020) nebyl pro pořadatele příznivý, takže se nekonal ani jeden dostihový den. Kromě dostihů se zde pořádají také soutěže ve všestrannosti, parkuru, drezuře a vytrvalosti, pro které jsou k dispozici drezurní obdélník, travnaté kolbiště, cross-country dráha a již zmíněné opracoviště. Areál nabízí veškeré zázemí potřebné pro konání těchto disciplín.

V areálu se nachází 2 stájová střediska. Vzdálenější středisko zahrnuje stáj s 38 boxy a 31 venkovních boxů. Tento prostor slouží pro nájemné koně a také jako ustájení, když se konají závody. Dostihoví koně jsou ustájeni ve druhém stájovém středisku. V této stáji je 24 boxů. Každý box měří 4 × 4 m a je vybaven automatickou napáječkou. V každém boxu se nachází kostka solného lizu. Koně jsou podestýláni slámou či pilinami podle dostupnosti. Ve stáji se také nachází solární panel. Hned vedle stáje je prostor na sprchování koní. Kousek od stáje se nachází zastřešený kolotoč s kapacitou na 6 koní. Koně mají také možnost chodit denně do výběhů.

Pro koně v rekonvalescenci či pro zlepšení kondice lze využít Centrum rehabilitace koní V&E, které zde funguje od roku 2019. Centrum nabízí například vodní trenažer, vodní lázeň, infračervenou saunu a spoustu dalších speciálních přístrojů.



## 4.1.2 Charakteristika koní

### Jednotliví koně

Tab. č. 1 - Charakteristika skupiny dostihových koní (JCČR n. d.)

Jméno	Datum narození	Věk	Pohlaví	Barva	Kariéra	Zisk
Dominátor	13.02.2017	3	Valach	Ryzák	–	–
Angel (POL)	02.04.2017	3	Valach	Tmavý Hnědák	–	–
Protocolar (FR)	11.05.2017	3	Klisna	Hnědka	–	–
Sauvageonne	10.03.2017	3	Klisna	Hnědka	–	–
Mlody pan (IRE)	03.03.2016	4	Valach	Hnědák	–	–
Worth choice (IRE)	31.01.2016	4	Valach	Hnědák	–	–
Kremonna	26.02.2013	7	Klisna	Černá hnědka	Překážky	7 startů 12 000 Kč
Malq (FR)	06.04.2007	13	Valach	Hnědák	Roviny	47 startů 532 250 Kč

### Výživa

Koně byli krmeni před začátkem pokusu 3 kg ovsa a 2 kg Premin Horse Pellets STANDARD. 2–3× týdně bylo také koním podáváno 2 kg vařeného ječmene (mash). Luční seno bylo každý den doplňováno do sítky 2 – 3krát denně. Maximální množství v síťce bylo zváženo na cca 6 kg.

V době experimentu byli koně krmeni kromě sena také 2–3 kg senáže. Jádru se krmilo 3× denně (ráno, odpoledne, večer) 3,15 kg klasického či černého ovsa. V rámci postupného návky na jinou krmnou dávku bylo koním 1. týden podáváno 1,5 kg HORSAL Run. Maximální množství krmné směsi v krmné dávkce bylo 3 kg. Mash se podával 3× týdně ve stejném množství jako před experimentem. Koně, kteří byli podestláni slámou ji i mohli z části zkonzumovat (maximálně 1 kg). Management výživy dostihových koní byl v režii trenérky Pavlína Šůrové, která má mnohaleté zkušenosti s trénováním koní a dobře ví, co její svěřenci potřebují.

### Výpočet hmotnosti

Pro stanovení tělesné hmotnosti byl změřen obvod hrudníku a délka těla. Obvod hrudníku se měří při výdechu za kohoutkem v oblasti podbřišníku pomocí páskové míry. Délka těla bývá většinou měřena hůlkovou mírou od ramenního kloubu po zadní výčnělek sedacího hrbolu. Jedná se o šikmou délku těla. Změřené míry byly dosazeny do vzorce pro spočítání hmotnosti

koně podle Carroll & Huntington (1988). Tato nepřímá metoda není tak přesná jako digitální, váha, ale stačí pro orientační představu o aktuální hmotnosti koně (Carter et al. 2013).

$$\text{Aktuální hmotnost} = (\text{obvod hrudníku}^2 \times \text{délka těla}) / 11877$$

### Odhad skóre tělesné kondice

Odhad skóre tělesné hmotnosti neboli body condition score (BCS) je nejčastěji používaná metoda odhadu tukové tkáně u koní. Kůň je hodnocen podle číselné škály pohmatem a vizuálně. Nejčastěji se používá metoda podle Henneke et al. (1983), kde se hodnotí 6 oblastí těla (krk, kohoutek, záď, kořen ocasu, žebra a ramena). Bodové hodnocení se pohybuje od 1 (podvýživa) do 9 (extrémní obezita). Každá oblast je hodnocena zvlášť a potom se všechny hodnoty zprůměrují, aby se určilo celkové skóre tělesné kondice. Tato metoda je nejvhodnější pro lehká plemena (arabský a anglický plnokrevník, quarter horse), protože mají podobný typ těla a také ukládání tuku (Carter et al. 2013). Optimální hodnota BCS je 5, nicméně u dostihových koní bývá odpovídající i stupně 3 a 4 (NRC 2007). Individuální odhad BCS může být ovlivněn naplněním trávicí soustavy, délkou srsti, svalovinou a subjektivním názorem hodnotitele (Carter et al. 2013).

Tab. č. 2 – Hmotnost a BCS koní u jednotlivých měření (autorka 2021)

	1. Měření		2. měření		3. měření	
	Hmotnost [kg]	BCS	Hmotnost [kg]	BCS	Hmotnost [kg]	BCS
Dominátor	459	4	482	4-5	456	5
Angel (POL)	437	5	451	5	417	4
Protocolar (FR)	463	5	463	4-5	446	5
Sauvageonne	436	4	391	4	409	4-5
Mlody pan (IRE)	472	4-5	454	5	445	5
Worth choice (IRE)	491	6	477	5	470	4-5
Kremonna	555	5	587	5	550	5
Malq (FR)	512	4-5	495	5	435	5

Rozdílné hmotnosti v rámci měření mohly být způsobeny intenzitou práce (větší osvalení, redukce hmotnosti v důsledku nižšího stupně BCS...) nebo také chybou měření, protože pravděpodobně nebyly míry změřeny přesně na stejném místě. Zhodnocení BCS proběhlo ve spolupráci s trenérkou Kateřinou Bernardovou.

## Trénink

Trénink koní probíhal v přípravném období. Toto období je charakteristické nabíráním objemu a svalové hmoty, takže se s koňmi klušou dlouhé úseky a cválá se v pomalém tempu (300–500 m/min). Toto období je založeno zejména na kvantitativní práci, která rozvíjí jak vytrvalost, tak i obratnost při práci na jízdárně či hale. Postupně se prodlužují úseky klusové práce a pomalé cvalové práce v hlubším povrchu, což pomáhá rozvíjet aerobní kapacitu. Cílem je dosáhnout objemu představující dvojnásobek délky prvního dostihu ve cvalu o intenzitě 50 %. Jakmile je tohoto cíle dosaženo, dopřede se koním 1-2 týdny odpočinku. Je potřeba brát ohled také na jarní přelínání, které by mělo být dokončeno před zahájením rychlostního tréninku (Hanák & Olehla 2010).

Trénink v Kolesách byl velmi negativně ovlivněn počasím. V lednu a únoru vytrvale přišlo, takže s koňmi nebylo možné pracovat v terénu z důvodu bezpečnosti pracovních jezdců a koní. K tréninku byl hojně využíván kolotoč a hala. Koně pracovali 6 dní v týdnu a v neděli měli volno.

Ráno koně krokovali hodinu na kolotoči. Poté byly ježděny hodinu na hale. Z toho 30 minut klusali. Poté chvíli krokovali. Potom cválali celkem 10 minut na obě ruce v přibližném tempu 350–374 m/min. Večer opět krokovali na kolotoči.

### **4.1.3 Charakteristika krmné směsi HORSAL Run**

Granulovaná doplňková krmná směs HORSAL Run je určena pro sportovní koně ve střední až těžké práci. Neobsahuje oves, který někteří koně nemohou přijímat. Tato směs poskytuje kompletní zásobení makroprvky, mikroprvky a vitaminy. Krmná směs je se zvýšeným obsahem minerálních látek, a proto by se neměla krmit s žádným jiným minerálním krmivem. Pro koně trénované v přípravném období by toto krmivo mělo být ideální nejen svým složením, ale i z hlediska obsaženého množství energie.

Pro účel experimentu bylo vybráno 6 prvků (Ca, P, Mg; Cu, Mn, Zn), které zde byly zastoupeny v největším množství a byla u nich větší pravděpodobnost, že se projeví při ukládání prvků do žil. Ca je důležitý pro správnou mineralizaci kostí, svalovou kontrakci a činnost nervových buněk (Greco & Stabenfeldt 2013). P se také podílí na stavbě kosti a syntetizuje ADP a ATP, které jsou důležité pro energetický metabolismus dostihových koní (Parker 2013). Mg je třetí prvek podílející se na mineralizaci kostí, na kontrakci svalů a zajišťuje správnou funkci mozku (Frape 2010; Coenen 2013). Mg může mít zklidňující účinky na nervózní či nevyrovnané koně. Cu je nezbytná pro krvetvorbu, absorpci železa z trávicího traktu a pigmentaci kůže a chlupů (NRC 2007; Coenen 2013). Zn je důležitý pro optimální funkci imunitního systému (hojení ran) a pro zdravý vzhled kůže a kožních derivátů (Marycz et al. 2009; Pratt-Phillips & Lawrence 2014). Mn je nezbytný pro tvorbu kostí a chrupavek, metabolismus cholesterolu a chrání DNA před poškozením superoxydy (NRC 2007; Parker 2013; Coenen 2013). Sodík byl sice v HORSAL Run zastoupen ve stejné koncentraci jako hořčík, ale koně z experimentu měli možnost přijímat sodík ze solného lizu, což by potom znemožňovalo pozorovat vliv krmné směsi.

Tab. č. 3 - Vybrané složky krmné směsi HORSAL Run (Schaumann n. d.)

Základní složky					Makroprvky			Mikroprvky		
Vlhkost	Hrubý protein	Hrubý tuk	Hrubá vláknina	Hrubý popel	Ca	P	Mg	Cu	Mn	Zn
[%]					[%]			[mg/kg]		
12,0	13,5	7,0	3,5	5,5	0,9	0,5	0,2	12,0	53,0	67,0

Výrobce: AGROSERVIS

Dodavatel: Schaumann ČR s. r. o.

## 4.2 Metodika chemického rozboru

### 4.2.1 Příprava vzorků krmiv a výkalů

Vzorky objemných krmiv (sláma, seno, senáž) se nůžkami nastříhaly na 1–2 cm kusy do kovových vaniček. Na každý komponent těchto krmiv se použily 2 vaničky. Dále byl postup shodný jako u koncentrovaných krmiv. Vzorky se namlely skrz 1 mm síto mlýnkem a přesypaly přes trychtýř do předem popsáných vzorkovnic. Vzorky se zvážily do požadované hmotnosti analytickou vahou METTLER AE 2000. Ke stanovení živin byla použita Weendeská metoda analýzy vzorků, která zahrnuje stanovení sušiny, popelovin, hrubé vlákniny, hrubého tuku, hrubého proteinu a bezdusíkaté látky výťažkové (BNLV). Vzorky byly analyzovány v laboratoři na katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky na ČZU.

Vzorky výkalů byly uskladněny v mrazáku při – 78 °C. Vzorky pocházely ze 4 dnů (3.-6. 2. 2020). Téměř měsíc poté, co byli koně krmeni granulemi. Poté se rozmrazily, dosušily a rozdrobily na menší kousky. Dále se namlely a vzorek představující každý den se nasypal do vzorkovnice. Poté se smíchal směsný vzorek pro každého koně, který byl rozdělen do 2 vzorkovnic. Na chemickou analýzu byla použita Weendeská metoda a bylo provedeno stanovení stravitelnosti živin indikátorovou metodou.

### 4.2.2 Weendeská analýza

#### Stanovení sušiny

Vzorky se zvážily do keramických kelímků. V kelímcích se nacházelo přibližně 2 × 5 g vzorku. Navážené vzorky byly uloženy na 24 hodin do sušárny Memmert a sušily se při teplotě 103±2 °C. Poté se vzorky vložily do exsikátoru, kde postupně vychladly. Po vychladnutí byly vzorky opět zváženy. Výsledná hmotnost představovala hmotnost po úbytku vlhkosti.

#### Stanovení hrubého tuku dle Soxhleta

Nejprve se zvážily baňky, do kterých se přidaly celulózové tuby (extrakční patrony). Výsledek se vynuloval a do extrakčních patron se navázilo 2 × 5 g vzorku. Do každé patrony se vložila vata a na ni se umístil adaptér (kroužek). Do každé baňky se přidalo 0,75 l extrakčního činidla (petroléther). Patrony byly adaptéry přichyceny na magnety v přístroji Soxtec (firma

Mezos spol. s. r. o.). Extrakce probíhala ve 3 fázích: I (Imersion = ponoření), W (Washing = promytí), R (Recover = odpařování). Ponoření trvalo 20 minut. Dalších 45 minut probíhalo promývání a poslední fáze probíhala po stejnou dobu. Za tuto dobu se oddestilovalo extrakční činidlo. Celý proces probíhal při teplotě 109 °C. Poté se baňky vyjmuly a sušily 20 minut v sušárně při 103 °C. Po vychladnutí v exsikátoru se baňky opět zvážily.

#### Stanovení hrubého proteinu dle Kjeldahla

Nejdříve se navážily vzorky do skleněných tub v množství  $2 \times 0,5$  g. Do každé tuby se vhodila 1 modrá tableta Kjeltabs CK (Potassium sulphate, Copper sulphate). Pak se přidalo 10 ml 98% kyseliny sírové. Ve spalovacím hníždě se přidalo  $2 \times 5$  ml peroxidu vodíku. Spalování probíhalo při 420 °C po dobu 45 minut. Po uplynulé době se nechaly vzorky zchladnout a poté se do nich přidalo 10 ml destilované vody. Tímto skončila fáze mineralizace, při níž byl dusík zmineralizován na síran amonný roztokem kyseliny sírové a katalyzátorem (Kjeltabs CK).

Pro další postup se použil přístroj Kjeltec 2400 (firma Foss), ve kterém se nejdříve zanalyzoval slepý vzorek. Do přístroje se postupně napsaly hmotnosti vzorků. Poté se postupně vložily další vzorky. V přístroji proběhla destilace a titrace. Při destilaci se amoniak uvolnil ze síranu amonného pomocí kyseliny borité a následně NaOH. Poslední fázi představovalo stanovení dusíku titrací za použití roztoku kyseliny chlorovodíkové. V přístroji automaticky proběhlo vynásobení koeficientem 6,25. Výsledné hodnoty u každého vzorku se zprůměrovaly. Výsledek představoval obsah dusíkatých látek v procentech.

#### Stanovení hrubé vlákniny dle Henneberg-Stohmana

Prázdné sáčky se předem zvážily a poté se do nich navážilo  $2 \times 1$  g vzorku. Každý sáček se svařil a umístil do karuselu, který se vložil do přístroje Ankom Fiber Analyzer 200/220 (BioPro O. K. SERVIS). Do přístroje se nalil roztok kyseliny sírové (2 l), který byl přiveden k varu a vařil se 45 minut při 100 °C. Poté bylo potřeba 3krát přístroj propláchnout vroucí destilovanou vodou (1,8 l) po 5 minutách. Následný postup u hydrolýzy roztoku hydroxidu sodného byl shodný jako v předchozím kroku. Poté se sáčky vyjmuly a po dobu 2 minut se ponořily do acetonu. Z něho se vyjmuly pomocí pinzety, rozložily a osušily na filtračních papírech. Sáčky se daly do sušárny a nechaly se dosušit. Poté se nechaly zchladnout v exsikátoru a následně se zvážily. V předem zvážených keramických kelímcích se sáčky spálily za teploty 550 °C a po zchlazení se opět zvážily. Výsledný rozdíl představoval obsah hrubé vlákniny.

#### Stanovení popelovin

Keramické kelímky se nejprve vyžíhaly při teplotě 550 °C a poté vychladily v exsikátoru. Dále se zvážily a do každého z nich bylo naváženo  $2 \times 5$  g vzorku. Poté se vložily do muflové pece a spálily při 550 °C do konstantní hmotnosti a vyndaly se za při 70 °C. Po vychladnutí se znovu zvážily. Výsledný rozdíl před a po spálení představoval obsah popelovin.

## Stanovení BNLV

Bezdušičaté látky výtažkové (BNLV) představují cukry, škroby a organické kyseliny (Zeman et al. 2006). BNLV byly vypočteny pomocí vzorce:

$$\text{BNLV} = \text{sušina} - \text{popel} - \text{NL} - \text{tuk} - \text{vláknina}$$

Tab. č. 4 – Rozbor krmiv (autorka 2021)

[%]	Sušina	Hrubý protein	Hrubý tuk	Hrubá vláknina	Popeloviny	BNLV
Sláma	94,21	5,10	1,29	32,44	3,38	51,99
Seno	93,80	8,62	1,57	25,66	4,89	53,06
Senáž	88,23	7,56	0,97	25,03	4,92	49,75
Ječmen	87,44	9,42	1,33	2,26	1,95	72,48
Oves	91,63	13,42	2,82	10,85	2,40	62,13
Oves černý	90,94	11,97	2,87	10,87	2,68	62,55
HORSAL Run	89,65	15,55	6,52	2,76	4,74	60,09

### **4.3 Stanovení stravitelnosti KS indikátorovou metodou pomocí písku**

Indikátorová metoda bývá používána, pokud není potřeba zjišťovat přesnou spotřebu krmiva a množství vyloučených výkalů. V této metodě se zjišťuje procentuální obsah nestravitelné látky – indikátoru v krmné dávce a ve výkalech. Indikátor se zcela vyloučí ve výkalech, zatímco z živin se vyloučí pouze nestrávené živiny. Touto metodou lze spočítat koeficienty stravitelnosti, případně množství krmiva a výkalů. Koeficient bilanční stravitelnosti je procentuální podíl stravitelné živiny z celkového obsahu živiny v krmivu. Výhodou této metody je, že lze provést za normálních podmínek ve stáji, není potřeba bilančních klecí nebo shromažďovat kvantitativně výkaly. Stačí pouze odebrat nekontaminované vzorky výkalů (Zeman et al. 2006).

Indikátory můžeme rozdělit na přirozené (interní) vyskytující se přirozeně v krmivu nebo přidávané do krmiva (externí). Mezi přirozené indikátory patří tzv. písek, lignin, methoxylové skupiny, zatímco jako externí indikátory lze využít oxid chromitý, síran barnatý, polyetylenglykol atd. V tomto případě byl použit tzv. písek. Písek představuje popel, který je nerozpustný v 4 M kyselině chlorovodíkové. Koncentrace indikátoru je menší v sušině krmiva než v sušině výkalů (Zeman et al. 2006).

Nejprve se zvážily prázdné kelímky, do kterých se zvážilo  $2 \times 5$  g v případě granulí, zatímco u vzorků výkalů se navážilo  $3 \times 5$  g. Kelímky s navázkou se daly spálit do muflové pece na  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po vychladnutí byl popel kvantitativně přesunut do Erlenmeyerovy baňky. Kelímek se vypláchnul malým množstvím roztoku 10% kyseliny chlorovodíkové. Po propláchnutí se zbytek přelil do Erlenmeyerovy baňky. Do každé baňky se přidalo 20 ml stejného roztoku. Poté se daly vařit na 20–30 minut při mírném varu. Po uplynulé době se nechaly baňky vychladnout. Dále se obsah baňky kvantitativně převedl na bezpopelný filtrační

papír. Vzorek byl vytrvale promýván horkou destilovanou vodou přes laboratorní trychtýř do kádinky s minimálním obsahem 500 ml.

Jakmile přefiltrovaná destilovaná voda dosáhla hodnoty 500 ml, tak proběhla zkouška na přítomnost chloridů. Do vody se nakapal pomocí kapátka předem připravený 1% roztok dusičnanu stříbrného. Pokud se vytvořila bílá sraženina, tak byla prokázána přítomnost chloridových iontů a bylo nutné pokračovat dál ve filtraci. Jakmile nebyla tato sraženina vidět, tak se nechal filtr dotéct. Poté se vyjmul filtr a přesunul se do předem zvažného kelímku. Kelímek se vložil na hodinu do sušárny při 103 °C. Následovalo opět spálení za stejných podmínek. Spálený kelímek se po vychladnutí zvažil a po dosazení do vzorce se spočítal obsah písku.

$$\% \text{ písku nerozpustného v HCl} = [(\text{spálený kelímek} - \text{prázdný kelímek}) / \text{navážka}] \times 100$$

Pro výpočet stravitelnosti bylo nutné převést hodnoty na 100% sušinu.

Dále byl spočítán koeficient bilanční stravitelnosti dle vzorce:

$$\text{Koeficient bilanční stravitelnosti (KSb)} = 100 - (i_{\text{krm}} \times \check{z}_{\text{výk}} / i_{\text{výk}} \times \check{z}_{\text{krm}}) \times 100$$

Legenda:

i – obsah indikátoru v sušině (%)

ž – obsah živiny v sušině (%)

$i_{\text{krm}}$  – v krmivu

$i_{\text{výk}}$  – ve výkalech

Tab. č. 5 – Průměrné hodnoty KSb u krmné směsi HORSAL Run (autorka 2021)

HORSAL Run [%]	Hrubý protein	Hrubý tuk	Hrubá vláknina	BNLV	Popeloviny
KSb	94,98	96,23	12,69	94,26	86,64
Variační koeficient	0,83	0,92	74,20	0,80	2,05

Z tabulky je patrné, že největší variabilita nastala u vlákniny. Zřejmě byl tento fakt způsoben malým počtem zvířat. Je známo, že čím více je zvířat, tím je vyšší spolehlivost a přesnost výsledků (Zeman et al. 2006).

#### 4.4 Analýza žíní na minerální profil

V 19. století na základě detekování arsenu ve vlasech byli retrospektivně usvědčeni pachatelé, kteří byli již 11 let po smrti. Posmrtná analýza vlasů byla provedena u Napoleona Bonaparte v 60. letech, při níž se detekoval arsen. Vlasy se sice analyzovaly na užívání drog před více než 25 lety, ale vývoj techniky pro koně začal v pozdních 90. letech. První výzkumné publikace se objevily v roce 2000 (Dunnnett 2008). V ČR není analýza žíní zatím příliš rozšířená a není moc využívána. Zajímavá doktorská disertační práce zabývající se touto metodou byla vytvořena Ing. Petrou Jančíkovou v roce 2014, kde porovnává vliv minerálních látek (Cu, Zn)

na růst a minerální složení kožních derivátů a krevní plazmy koní. V našem případě jsme použily analýzu žíní, nejen protože představovala zajímavý způsob testování, ale i pro její snadnější odběr a možnosti skladování. Rok 2020 byl velmi poznamenán koronavirovou krizí a vzorky žíní bylo možné analyzovat až po 11 měsících, což by v případě analýzy krve nebylo možné. Rozbor krve nebylo možné také provést z důvodu nedostatku financí.

#### **4.4.1 Odběr a uskladnění vzorků**

Žíně se odstříhly nůžkami v oblasti týlu. Délka vzorku hřívy činila přibližně 10 cm. Provedly se 3 odběry – před, v průběhu a na konci krmení granulí (4.1., 3.2., 23.2.2020). Žíně byly uskladněny v uzavíratelných foliích, které byly umístěny v plastové krabici. Vzorky se skladovaly za pokojové teploty. Následná příprava vzorků a samostatná analýza se uskutečnila v laboratořích katedry pedologie a ochrany půd. Příprava vzorků na analýzu byla provedena podle Kalashnikova et al. (2019a).

#### **4.4.2 Příprava vzorků na analýzu**

##### Extrakce

Nejprve se vyndaly teflonové láhve z louhovací lázně (10% HCl) uchopovacími kleštěmi. Dále se vypláchly deionizovanou vodou a vysušily se v sušárně. Vzorky se nastříhaly nůžkami na malé kousky. Pak se navážilo  $2 \times 0,5$  g vzorku do označených lahví. Pro kontrolu se také udělal slepý vzorek.

Pak se přidalo do každé láhve 10 ml roztoku 65% kyseliny dusičné automatickým dávkovačem. Láhve se zavřely do poloviny a nechaly se přes noc v digestoři.

Následující ráno se víčka pevně dovřela. Vzorky se vařily při 160 °C na plotně 2 hodiny. Mezitím se připravily filtrační papírky, trychtýře a láhve s obsahem 50 ml, do kterých se vzorky filtrovaly. Po uplynutí 2 hodin se vzorky nechaly zchladnout.

Po zchladnutí se vzorky otevřely pomocí klíčů. Deionizovanou vodou se vymyly zbytky z víček, vnitřek lahví a roztok se přes trychtýř přelil do čisté odměrné baňky (po 50ml okraj). Dále se zředěné vzorky filtrovaly do 50ml lahví.

Po každém vzorku se vymyla odměrná baňka deionizovanou vodou. Jakmile se vzorky zředily a přefiltrovaly, tak se 3krát umylo veškeré použité vybavení čistícím prostředkem, normální a deionizovanou vodou. Teflonové láhve se umístily zpět do louhovací lázně.

##### Ředění

Nejprve se přichystaly 50ml kádinky, 10ml stříkačky; 0,45 µm nylonových filtrů, pipety a 12ml plastové zkumavky. Do kádinky se pipetovalo 1 ml vzorku a 9 ml deionizované vody.

Vzorky se extrahovaly skrze stříkačku. Filtr se umístil na špičku. Vzorky se filtrovaly do zkumavek. Na zkumavku se označil konkrétní vzorek a míra naředění (10×) pro snadné rozlišení. Opět se vymyly kádinky detergentem, normální a deionizovanou vodou (3×).



### 4.4.3 Analýza

Analýza proběhla pomocí přístroje DUO iCAP 7000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Jednalo se o optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES), který umožnil simultánní stanovení více než 60 prvků ve vodných roztocích. Principem této metody je, že rozptýlený kapalný vzorek je vměšován do argonového plazmatu. Zde dochází k ionizaci vzorku. Ionty vzorku vyzařují světlo o různých vlnových délkách, které jsou následně měřeny. Druh prvku je odvozen na základě polohy fotonových paprsků a obsah každého prvku se určuje na základě jejich intenzity (Ghosh et al. 2013).

Výsledné hodnoty byly uvedeny v mg/l a bylo nutné je převést na mg/kg. Převod proběhl pomocí faktoru ředění (500 ×) a hmotnosti vzorku (0,5 g). U každého koně a odběru byly naměřeny 2 hodnoty daného prvku, ze kterých se následně udělal průměr. Průměrné hodnoty každého prvku daného odběru byly následně použity pro statistickou analýzu.

## 4.5 Statistická analýza

Získaná data byla statisticky analyzována pomocí programu STATISTICA 12. Pro lepší porozumění dat byly použity popisné statistiky. Data byla pokaždé nejprve ověřena pomocí Shapiro-Wilk testu, jestli pocházejí z normálního rozdělení. Hladina významnosti byla stanovena na 0,05.

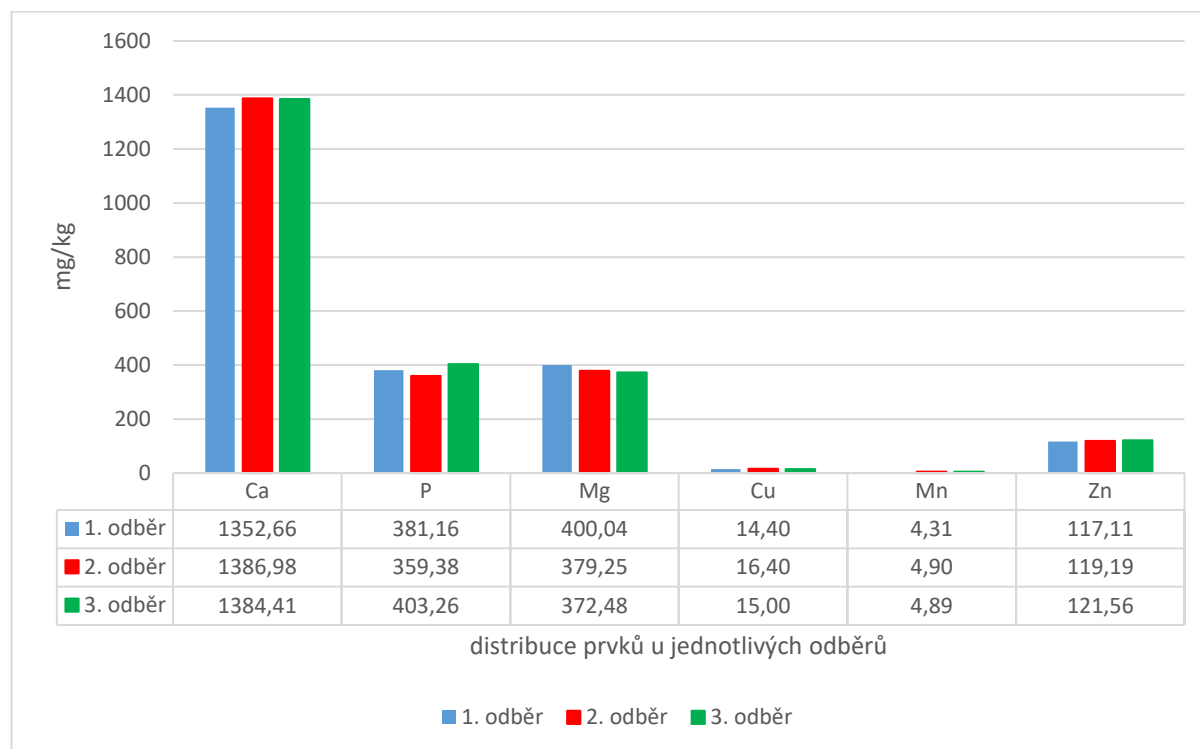
V případě první hypotézy testujeme, zdali přídavek krmné směsi HORSAL Run pozitivně ovlivní minerální profil žíní. U prvků, jejichž data měla normální rozdělení, byl použit jednovýběrový párový t-test pro porovnávání hodnot z 1. a 2. odběru a následně bylo provedeno porovnání hodnot z 2. a 3. odběru. V ostatních případech bylo nutné použít Wilcoxonův párový test, protože data nepocházela z normálního rozdělení.

Cílem druhé hypotézy bylo zjistit, zda se ukládání prvků do kožních derivátů bude lišit podle pohlaví. Pro testování hypotézy byl proveden rozdíl mezi 2. a 1. odběrem, protože se předpokládalo, že by se hladina prvků měla zvýšit u druhého odběru. V případě, že data pocházela z normálního rozdělení, byl použit F-test pro ověření shody rozptylů a následně dvouvýběrový t-test. U dat, která nepocházela z normálního rozdělení, byl použit Mann-Whitney test.

Na třetí hypotézu, která se zabývá vlivem věku na hladinu prvků v žíních, byla použita jednofaktorová ANOVA. Testovala se data z 2. odběru, která by podle předpokladu měla dosahovat nejvyšších hodnot. Aby bylo možné použít jednofaktorovou ANOVU, bylo nutné ověřit normalitu dat pomocí Shapiro-Wilk test a shodu rozptylů pomocí Leveneova testu. Pokud nebyla prokázána shoda rozptylů nebo data nepocházela z normálního rozdělení, bylo nutné použít Kruskalův-Wallisův test.

## 5 Výsledky

V experimentu bylo sledováno 6 prvků (Ca, P, Mg; Cu, Mn, Zn) u 8 koní a byly provedeny 3 odběry žíní u všech koní.



Graf č. 1 - Průměrné hodnoty prvků v časovém rozmezí (autorka 2021)

Z grafu č. 1 vyplývá, že zde byly naměřeny pouze překvapivě malé rozdíly u jednotlivých odběrů. U druhého odběru se očekával všeobecný nárůst oproti prvnímu odběru. Tento nárůst je možné sledovat u vápníku, mědi, manganu a zinku. Naopak u hodnot fosforu a hořčíku došlo u druhého odběru k poklesu.

V rámci třetího odběru se předpokládal pokles hodnot, protože koně již nebyli krmeni krmnou směsí HORSAL Run. U většiny prvků je snížení hodnot opravdu patrné. Nicméně opačnou tendenci lze sledovat u fosforu a zinku.

### 5.1 První hypotéza

U první hypotézy se testoval vliv KS na minerální profil žíní. Předpokládalo se, že se zvýší hladina prvků v žíních po zkrmování krmné směsí HORSAL Run. Pokud by se hladina prvků v žíních zvýšila, tak by bylo možné mluvit o pozitivním vlivu krmné směsí na minerální profil žíní. Nejvyšší naměřené hodnoty prvků se očekávaly u druhého odběru. Hladina významnosti  $\alpha$  byla stanovena na 0,05 v rámci celé hypotézy.

Normalita dat byla nejdříve ověřena pomocí Shapiro-Wilk testu, kdy platí:

H0: Data pocházejí z normálního rozdělení ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 6 - Shapiro-Wilk test (autorka 2021)

	1. a 2. odběr				2. a 3. odběr		
	p-hodnota odběru		Vyhodnocení H0	Test	p-hodnota odběru	Vyhodnocení H0	Test
	1.	2.					
Ca	0,142	0,142	Nezamítám	Párový	0,177	Nezamítám	Párový
P	0,132	0,961	Nezamítám	Párový	<b>0,027</b>	Zamítám	Wilcoxonův
Mg	0,411	0,609	Nezamítám	Párový	0,419	Nezamítám	Párový
Cu	0,506	0,695	Nezamítám	Párový	0,075	Nezamítám	Párový
Mn	<b>0,001</b>	<b>0,014</b>	Zamítám	Wilcoxonův	<b>0,015</b>	Zamítám	Wilcoxonův
Zn	0,902	0,940	Nezamítám	Párový	0,243	Nezamítám	Párový

Z tab. č. 6 je zřejmé, že většina prvků pocházela z normálního rozdělení, a tudíž došlo k přijetí H0. Červená čísla značí, kdy p-hodnota byla menší než hladina významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) a došlo k zamítnutí H0.

Následně byly otestovány prvky pocházející z normálního rozdělení pomocí jednovýběrového párového t-testu, kde:

H0: Průměr 1. odběru je shodný s průměrem 2. odběru ( $p > \alpha$ ),

H0: Průměr 2. odběru je shodný s průměrem 3. odběru ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 7 - Jednovýběrový párový t-test (autorka 2021)

	1. a 2. odběr		2. a 3. odběr	
	P hodnota	Vyhodnocení H0	P hodnota	Vyhodnocení H0
Ca	0,462	Nezamítám	0,898	Nezamítám
P	0,348	Nezamítám	X	X
Mg	0,334	Nezamítám	0,569	Nezamítám
Cu	0,370	Nezamítám	0,563	Nezamítám
Zn	0,719	Nezamítám	0,555	Nezamítám

Tab. č. 7 poukazuje na to, že H0 nemohla být zamítnuta ani u jednoho prvku. Mezi průměry 1. a 2. odběru neexistoval statisticky významný rozdíl. Totéž platilo i mezi průměry 2. a 3. odběru.

Pro prvky, u kterých nebyla ověřena normalita dat byla hypotéza otestována pomocí Wilcoxonova testu. Pro tento test platí:

H0: medián rozdílů je nulový ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 8 - Wilcoxonův test (autorka 2021)

	1. a 2. odběr		2. a 3. odběr	
	P hodnota	Vyhodnocení H0	P hodnota	Vyhodnocení H0
P	X	X	0,263	<b>Nezamítám</b>
Mn	0,889	<b>Nezamítám</b>	1,000	<b>Nezamítám</b>

Z výsledků tab. č. 8 je patrné, že u fosforu ani manganu nemohla být zamítnuta H0. To znamená, že mezi mediány 1., 2. odběru i 2., 3 odběru neexistoval statisticky významný rozdíl.

Na základě použitých dat nebylo možné prokázat statisticky významný vliv KS HORSAL Run na minerální profil žíní, a z tohoto důvodu byla tato hypotéza zamítnuta.

## 5.2 Druhá hypotéza

Druhá hypotéza testovala, zdali ukládání minerálních prvků do kožních derivátů je odlišné v rámci pohlaví. Ukládání minerálních prvků bylo chápáno jako aktivní proces, a proto byl spočítán rozdíl mezi 2. a 1. odběrem. Předpokládalo se, že 2. odběr bude mít vyšší hodnoty, a tudíž rozdíl bude nabývat kladných hodnot. To se ovšem ne vždy potvrdilo, protože některé hodnoty rozdílu byly záporné. Pro hladinu významnosti byla použita stejná hodnota jako u první hypotézy ( $\alpha = 0,05$ ).

Nejprve byla posouzena normalita dat pomocí Shapiro-Wilk testu, jehož H0 byla popsána u první hypotézy. U dat, která pocházela z normálního rozdělení, bylo nutné potvrdit homogenitu rozptylů za použití F-testu, kdy platí:

H0: rozptyly obou souborů jsou stejné ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 9 - Shapiro-Wilk test &amp; F-test (autorka 2021)

	Shapiro-Wilk test				F-test		
	p-hodnota		Vyhodnocení H0	Test	p-hodnota	Vyhodnocení H0	Test
	Valaši	Klisny					
Ca	0,296	0,634	<b>Nezamítám</b>	F-test	0,366	<b>Nezamítám</b>	Dvouvýběrový
P	<b>0,021</b>	0,672	Zamítám	Mann-Whitney	X	X	X
Mg	0,932	<b>0,006</b>	Zamítám	Mann-Whitney	X	X	X
Cu	0,083	0,222	<b>Nezamítám</b>	F-test	0,435	<b>Nezamítám</b>	Dvouvýběrový
Mn	0,234	0,896	<b>Nezamítám</b>	F-test	0,103	<b>Nezamítám</b>	Dvouvýběrový
Zn	0,480	0,654	<b>Nezamítám</b>	F-test	0,667	<b>Nezamítám</b>	Dvouvýběrový

Výsledky Shapiro-Wilk testu jsou zřejmé z tab. č 9. Při použití F-testu bylo zjištěno, že jsou rozptyly stejné a mohl být použit dvouvýběrový t-test.

Pro data, u kterých byla ověřena normalita dat a homogenita rozptylů, byl proveden dvouvýběrový t-test, kde:

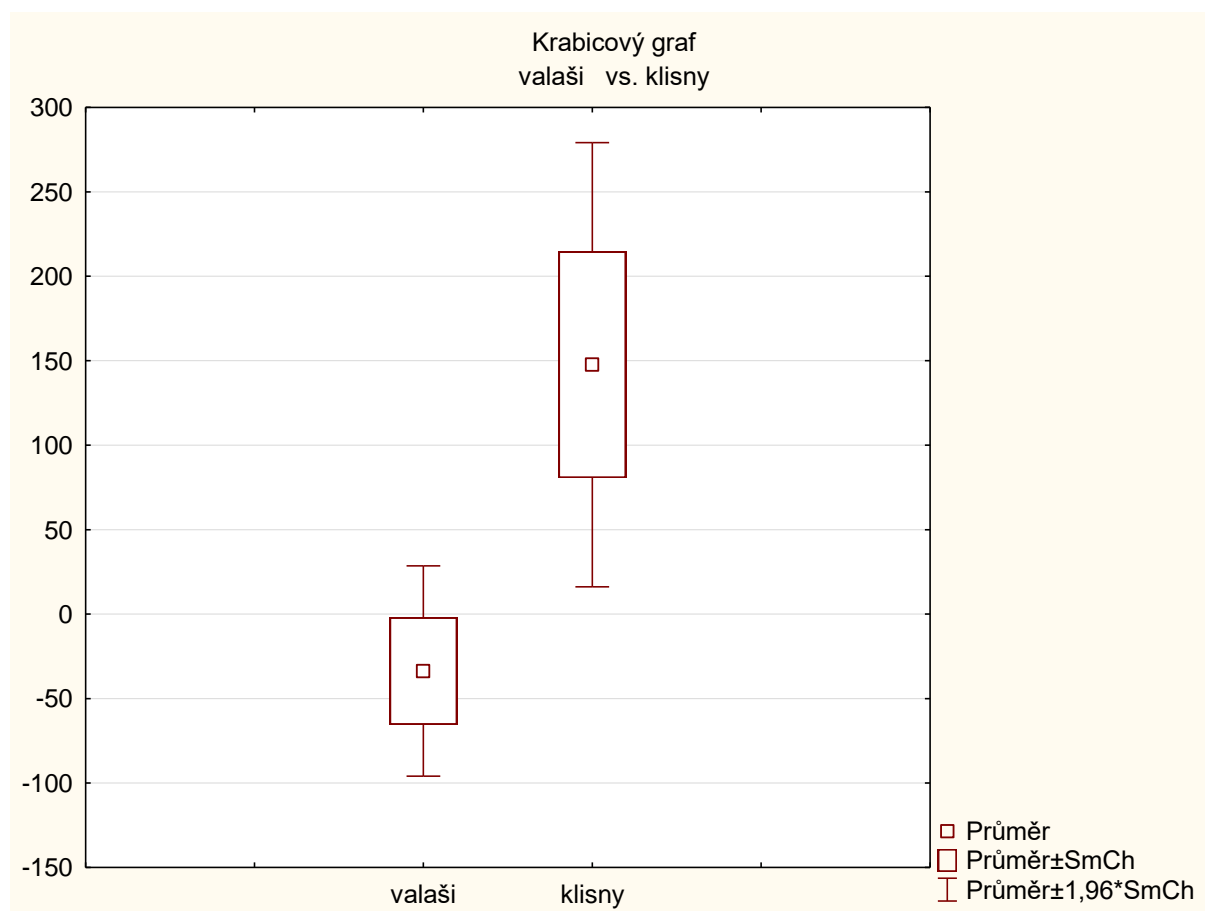
H0: průměry mezi valachy a klisnami jsou shodné ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 10 - Dvouvýběrový t-test (autorka 2021)

	p-hodnota	Vyhodnocení H0
Ca	<b>0,031</b>	Zamítám
Cu	0,204	Nezamítám
Mn	0,086	Nezamítám
Zn	0,857	Nezamítám

Z výsledků tab. č. 10 vyplývá, že H0 byla zamítnuta pouze u vápníku. To znamená, že pouze u vápníku byl statisticky významný rozdíl pro ukládání minerálních prvků mezi klisnami a valachy. U ostatních prvků neexistoval statisticky významný rozdíl vstřebávání prvků do žíní mezi klisnami a valachy.



Graf. č. 2 - Distribuce vápníku v žíních mezi valachy a klisnami (autorka 2021)

V grafu č. 2 je patrné, že u většiny hodnot vápníku nedochází k překryvu. Průměry jsou od sebe velmi vzdáleny.

Pro prvky, u kterých nebyla ověřena normalita dat, byla hypotéza otestována pomocí Mann-Whitney test, kde:

H0: oba výběry pocházejí ze stejného rozdělení ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 11 – Mann-Whitney test (autorka 2021)

	P hodnota	Vyhodnocení H0
P	0,571	Nezamítám
Mg	0,250	Nezamítám

Z tab. č. 11 je jasné, že u hořčíku a fosforu opět nemohla být vyvrácena H0. Ukládání Mg a P se neliší mezi valachy a klisnami.

Na základě testovaných dat bylo zjištěno, že ukládání většiny prvků do žíní nebylo ovlivněno podle pohlaví. Pouze u vápníku byl prokázán statisticky významný vliv pohlaví na ukládání prvků. V ostatních případech byla tato hypotéza zamítnuta.

### 5.3 Třetí hypotéza

Třetí hypotéza se zabývala tím, jak věk ovlivňuje aktuální hladinu prvků v žíních. Pro použití jednofaktorové ANOVY byly vytvořeny 3 věkové skupiny – tříletí, čtyřletí a starší. Předpokladem použití ANOVY je normalita dat a shoda rozptylů. Pro ověření normality byl opět použit již zmíněný Shapiro-Wilk test a pro homoskedasticitu Leveneův test. V rámci analýzy hypotézy jsme počítali s 5 % chybou. Pro Leveneův test platí:

H0: rozptyly jsou shodné ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 12 – Shapiro-Wilk test & Leveneův test (autorka 2021)

	Shapiro-Wilk test			Leveneův test		
	p-hodnota	Vyhodnocení H0	Test	p-hodnota	Vyhodnocení H0	Test
Ca	0,142	Nezamítám	Leveneův	0,273	Nezamítám	ANOVA
P	0,961	Nezamítám	Leveneův	0,042	Zamítám	Kruskalův-Wallisův
Mg	0,609	Nezamítám	Leveneův	0,350	Nezamítám	ANOVA
Cu	0,750	Nezamítám	Leveneův	0,235	Nezamítám	ANOVA
Mn	0,014	Zamítám	Kruskalův-Wallisův	0,087	Nezamítám	ANOVA
Zn	0,940	Nezamítám	Leveneův	0,400	Nezamítám	ANOVA

Z tab. č. 12 vyplývá, že předpoklady pro použití jednofaktorové ANOVY nebyly splněny u fosforu a manganu.

Jednofaktorová ANOVA předpokládá, že:

H0: neexistují statisticky významné rozdíly v průměrných hodnotách mezi skupinami ( $p > \alpha$ ),

H1: existuje alespoň jeden rozdíl mezi skupinami.

Tab. č. 13 - Jednofaktorová ANOVA (autorka 2021)

	p-hodnota	Vyhodnocení H0
Ca	0,992	Nezamítám
Mg	0,737	Nezamítám
Cu	0,688	Nezamítám
Zn	0,124	Nezamítám

P-hodnoty z tab. č. 13 indikují, že mezi různými věkovými skupinami neexistují statisticky významné rozdíly hladiny prvků. To znamená, že hladina minerálních prvků nezávisí na věku koní.

Pro prvky, které nesplnily předpoklady pro použití jednofaktorové ANOVY, byla hypotéza otestována pomocí Kruskalova-Wallisova testu.

H0: mediány jsou stejné ( $p > \alpha$ ),

H1: non H0.

Tab. č. 14 – Kruskalův-Wallisův test

	P hodnota	Vyhodnocení H0
P	0,940	Nezamítám
Mn	0,0498	Zamítám

P-hodnota fosforu z tab. č. 14 indikuje, že mezi různými věkovými skupinami neexistují statisticky významné rozdíly hladiny prvku fosfor. To znamená, že hladina minerálních prvků nezávisí na věku koní.

Na základě dat z tab. č. 14 bylo možné zamítnout  $H_0$  u manganu. Výsledky testu ukazují, že existuje rozdíl mezi hladinou prvku mangan u jednotlivých věkových skupin. Po zamítnutí  $H_0$  bylo provedeno rozšíření Kruskal-Wallisova testu u prvku mangan. Použitím této metody došlo k mnohonásobnému porovnání hodnot pro určení, které dvojice se od sebe významně liší.

Tab. č. 15 – Rozšíření Kruskal-Wallisova testu u manganu

Závislá: Hladina	Vícenásobné porovnání z' hodnot; hladina (III. ANOVA)		
	Nezávislá (grupovací) proměnná : věk Kruskal-Wallisův test: $H(2, N=8) = 6,000000$ $p = ,0498$		
	1 R:6,5000	2 R:3,5000	3 R:1,5000
1		0,471898	0,055266
2	0,471898		1,000000
3	0,055266	1,000000	

Z tabulky je zřejmé, že p-hodnoty mezi skupinami jsou větší než 0,05, tudíž nebylo možné statisticky prokázat rozdíl hladiny prvku mangan mezi věkovými kategoriemi koní.

Pouze u prvku mangan existoval statisticky významný rozdíl vlivu věku na hladinu prvku v žíních. Nicméně po rozšíření testu nebylo možno prokázat statisticky významný rozdíl hladiny manganu mezi věkovými kategoriemi koní. Na základě použitých testů nebylo možné prokázat statistický vliv věku na hladinu prvků v žíních. Celkově byla zamítnuta hypotéza, že se hladina prvků odlišovala v souvislosti s věkem.



## 6 Diskuze

V proběhlém experimentu byl sledován vliv krmné směsi na kožní deriváty konkrétně na žíně hřívý. Naměřené hodnoty se v porovnání s ostatními autory lišily. Největší rozdíl byl zaznamenán ve naměřené hodnotě mědi. Asano et al. (2002) uvádí 4krát menší hodnotu oproti naší zjištěné hodnotě. Nižší rozmezí také uvádí Kalashnikov et al. (2019a). Naše naměřená hodnota mědi byla nejvíce podobná tomu, co zjistili Jančíková et al. (2012b). Referenční hodnota zinku podle Asano et al. (2002) byla opět nižší oproti tomu, co jsme zjistili. Ani jedna z naměřených hodnot zinku nedosáhla horní hranice rozmezí zinku, kterou uvádí Kalashnikov et al. (2019a). Největší podobnost změřené hodnoty zinku byla nalezena u Dobrzanski et al. (2005). Nejmenší hodnota byla zjištěna u manganu. Tato hodnota byla nižší než u Asano et al. (2002) a ani zdaleka se nepřiblížila horní hranici uváděného rozmezí u Kalashnika et al. (2019a). Naměřené hodnoty makroprvků byly u vápníku a fosforu vyšší, než uvádí Asano et al. (2002). Zatímco hodnota hořčíku byla nižší oproti tomu, co zjistili Asano et al. (2002).

Různé naměřené hodnoty mohly být způsobeny odlišnou metodou stanovení prvků. V případě Asano et al. (2002) byla použita stejná metoda jako v našem případě (ICP-OES = emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem). Kalashnikov et al. (2019a) tvrdí, že ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem) je daleko citlivější než ICP-OES nebo AAS (atomová absorpční spektrometrie), která byla použita ve studiích Dobrzanski et al. (2005) a Jančíková et al. (2012b). Srovnávací analýza XRF (rentgenová fluorescence), PIXE (emise rentgenového záření indukovaná částicemi) a ICP-OES prokázala, že užitečnost metod může být specifická pro daný prvek (Kalashnikov et al. 2019a).

Tab. č. 16 - Naměřené hodnoty u jednotlivých koní (autorka 2021)

Jméno koně	Ca [mg/kg]	P [mg/kg]	Mg [mg/kg]	Cu [mg/kg]	Mn [mg/kg]	Zn [mg/kg]
Dominátor	712,67	320,35	211,27	15,61	2,77	138,52
Angel (POL)	1779,28	379,52	537,45	11,18	9,57	137,87
Protocolar (FR)	1505,84	526,92	379,48	15,88	9,84	127,91
Sauvageonne	1381,82	388,49	375,53	18,79	3,84	111,69
Mlody pan (IRE)	1289,80	395,60	405,16	14,44	3,64	104,38
Worth choice (IRE)	1563,99	349,60	455,45	15,40	2,61	116,19
Kremonna	1390,99	292,43	364,08	12,85	2,68	98,58
Malq (FR)	1373,10	397,21	342,96	17,99	2,63	119,17
Průměr	1374,69	381,27	383,92	15,27	4,70	119,29
SD	307,65	70,04	93,43	2,49	3,13	14,68

V našem experimentu jsme zkoumali pozitivní vliv krmné směsi HORSAL Run na minerální profil žíní. Tato hypotéza nebyla statisticky prokázána. Podle Wellse et al. (1990) je ukládání minerálních prvků v žíních ovlivněno z velké části interakcemi mezi jednotlivými prvky a neznámými metabolickými faktory (např. stravitelností krmiva). Například dostupnost mědi může být ovlivněna molybdenem, který způsobuje zvýšené vylučování mědi močí

(Ranjan & Ranjan 2015; Sharpe 2019). Bylo prokázáno, že antagonismus zinku a vápníku při absorpci z trávicího traktu způsobuje změny koncentrace zinku v žíních. Stravitelnost krmiva může být negativně ovlivněna přítomností antinutričních látek (fytáty, šťavelan atd.) (Frape 2010).

V našem případě došlo k navýšení vápníku, mědi, manganu a zinku v žíních ve druhém odběru. Zatímco ve studii Jančíkové et al (2012a) se snížila koncentrace manganu a vápníku. Naproti tomu Marycz et al. (2009) pozorují stejnou tendenci u zinku, mědi, fosforu a hořčíku. V našem experimentu naopak došlo ke snížení hladiny fosforu a hořčíku. Ukládání mikroprvků do žíní může být také ovlivněno konkrétní formou prvku v krmivu (Kalashnikov et al. 2019a). Podle Jančíkové et al. (2012b) je měď lépe dostupná v organické formě než v anorganické. V našem případě se mikroprvky nacházely v krmné směsi v organické i anorganické formě, takže na jejich dostupnost by neměla mít daná forma vliv.

Dalším faktorem, který byl zkoumán, bylo pohlaví. Zda se ukládání prvků do kožních derivátů liší v závislosti na pohlaví. Ve většině prvků byla tato hypotéza vyvrácena. Pouze ukládání vápníku se lišilo podle pohlaví, kdy větší ukládání vápníku bylo pozorováno u klisen. Zatímco Ghorbani et al. (2015) popisují, že nebyl nalezen signifikantní rozdíl v koncentraci vápníku mezi klisnami a hřebci, valachy a také uvádí, že vyšší hodnoty byly naměřeny u hřebců a valachů než u klisen. Ve studii Asano et al. (2002) nebyly pozorovány významné rozdíly mezi pohlavím u žádného prvku. Ve výzkumu Kalashnikova et al. (2019a) byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi klisnami a hřebci v případě zinku a manganu, zatímco u mědi se statisticky neprojevil vliv pohlaví. Ghorbani et al. (2015) popisuje, že poměr vápník – olovo byl vyšší u hřebců, valachů oproti klisnám. Ukládání prvků může být ovlivněno pohlavními hormony. Snížená hladina testosteronu bývá spojována s vyšší koncentrací mědi a poměrem mědi ku zinku (Kalashnikov et al. 2019a). Pohlavní hormony regulují také metabolismus metalothioninů, což jsou cytoplazmatické proteiny, které slouží k detoxikaci kovů v organismu a mohou způsobovat rozdíly v koncentracích zinku a mědi (Talcott 2010).

Jako poslední byl zkoumán vliv věku na hladinu minerálních prvků v žíních. Zjistili jsme, že u žádného z pozorovaných prvků nebyla nalezena statisticky průkazná souvislost s věkem. Asano et al. (2002) a Brummer-Holder et al. (2020) popisují, že u manganu byla pozorována negativní korelace s věkem. Negativní slabá korelace byla také nalezena mezi věkem a koncentrací mědi (Brummer-Holder et al. (2020). Zatímco studie od Ghorbani et al. (2015) tvrdí, že s výjimkou fosforu vliv stáří koně nebyl statisticky průkazný u vápníku, mědi, hořčíku, zinku ani manganu.

V budoucích studiích by mohlo být zajímavé sledovat vliv zbarvení koní a barvy žíní na koncentraci prvků. Největší variabilita koncentrace prvků byla zaznamenána u vzorků s černou hřívou (Brummer-Holder et al. 2020). Bylo také prokázáno, že čím jsou žíně tmavší, tak tím více se v nich nachází vápníku (Asano et al. 2005). Angel (POL) byl tmavý hnědák a nacházela se u něj nejvyšší hodnota vápníku (tab. č. 16). Ryzáci mají hned po bělouších (šedivé žíně) druhý nejvyšší obsah zinku a mědi v žíních (Asano et al. 2005). V našem pokusu byl jediný ryzák Dominátor. Z tab. č. 16 vyplývá, že nejvyšší hodnota zinku byla naměřena u Dominátora.

Dále by bylo přínosné se zabývat u dostihových koní vlivem rychlosti a výkonnosti na koncentraci prvků. Čím byli koně pomalejší, tím přibývalo prvků, které se nacházely mimo fyziologické normy a také se více akumulovaly těžké kovy v žíních (Kalashnikov et al. 2018).

## 7 Závěr

- V této diplomové práci byl hodnocen přídavek krmné směsi HORSAL Run u dostihových koní. V první hypotéze bylo hodnoceno, zda přídavek krmné směsi pozitivně ovlivní minerální profil žíní. Tato hypotéza byla vyvrácena u všech pozorovaných prvků. Ve druhé hypotéze jsme se zabývali tím, jestli ukládání minerálních prvků do kožních derivátů se liší v závislosti na pohlaví. Pouze u vápníku byla tato hypotéza potvrzena. U ostatních prvků byla zamítnuta. Ve třetí a poslední hypotéze se řešilo, zda se hladina prvků bude odlišovat v souvislosti s věkem. Tuto hypotézu jsme zamítli u všech prvků.
- Hmotnost koní se v průběhu experimentu měnila. Nicméně nebylo jasné, zda tyto rozdíly v hmotnosti byly způsobeny krmnou směsí či probíhajícím tréninkem. Určitou mírou mohly být tyto rozdíly způsobeny chybou měření, protože pravděpodobně nebyly míry pokaždé změřeny ve stejném místě. Stupeň BCS se měnil maximálně o 1 stupeň nebo zůstával na stejné hodnotě. Odhad BCS mohl být ovlivněn řadou faktorů (naplněním trávicího traktu, délkou srsti, svalovinou, subjektivním názorem hodnotitele...). U všech koní bylo možné pozorovat větší množství svalové hmoty než na začátku experimentu. Avšak toto osvalení nebylo možné dát do přímé souvislosti s krmením krmné směsí.
- Nejvyšší hodnota koeficientu bilanční stravitelnosti byla v případě hrubého tuku, kdy variabilita dat byla nízká. Zatímco u hrubé vlákniny byla zjištěna největší variabilita, nicméně koeficient stravitelnosti byl nízký. Je možné, že spolehlivost a přesnost výsledků koeficientů stravitelnosti byly negativně ovlivněny malým počtem zvířat.
- Analýza žíní by mohla pro majitele koní představovat snadnější a ekonomičtější variantu testování nutričního a zdravotního stavu než u rozboru krve. Odběr žíní je nebolestivý a nezasahuje do organismu zvířete. Je možné odebrat velké množství žíní a odběr může provést prakticky kdokoliv. Majitel nemusí hned volat veterináře kvůli odběru. Tím pádem odpadají náklady na cesty a služby veterináře. Kůň není také tolik stresovaný. Navíc koncentrace sledovaných látek se zde nacházejí v daleko vyšších koncentracích. Tudíž špatně detekovatelné látky se v žíních mohou relativně dobře stanovit. Odebrané vzorky se nemusí urychleně chladiť a převážet jako v případě vzorků s krví. Vzorky žíní lze analyzovat opakovaně i retrospektivně po několika letech skladování.
- V budoucnosti by mohlo být zajímavé zkoumat, jak ovlivňuje zbarvení koní, barva žíní a také rychlost a výkonnost koncentraci prvků v žíních u dostihových koní. Také by mohlo být přínosné zkoumat dopingové látky a rezidua léčiv v žíních. Pro budoucí testování v této oblasti výzkumu bych doporučila rozhodně větší vzorek populace a možná i delší dobu pozorování, protože žíně mají tendenci zaznamenávat spíše dlouhodobé metabolické změny. Stále existuje spousta faktorů, které mohou ovlivnit koncentraci prvků v žíních a otázka spolehlivosti analýzy žíní zůstává nevyřešena.

## 8 Literatura

- Asano R, Suzuki K, Otsuka T, Otsuka M, Sakurai H. 2002. Concentration of Toxic Metals and Essential Minerals in the Mane Hair of Healthy Racing Horses and Their Relation to Age. *The Journal of Veterinary Medical Science* **64**: 607–610.
- Asano K, Suzuki K, Chiba M, Sera K, Matsumoto T, Asano R, Sakai T. 2005. Influence of the Coat Color on the Trace Elemental Status Measured by Particle-Induced X-ray Emission in Horse Hair. *Biologica Trace Element Research* **103** (2): 169–176.
- Aspinall V., Cappello M. 2015. *Introduction to Veterinary Anatomy and Physiology*. Elsevier, Edinburg.
- Barton MH. 2010. Disorders of the Liver. Pages 939–975 in Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, editors. *Equine international medicine*. Saunders Elsevier, St. Louis MO.
- Birick H, Ocal N, Gucus AI, Ediz B, Uzman M. 2005. Seasonal changes of some mineral status in mares. *Journal of Equine Veterinary Science* **25** (8): 346–348.
- Brown-Douglas CG. 2009. The Balancing Act of Growing a Sound, Athletic Horse. Pages 203–212 in Pagan JD, editor. *Advances in Equine Nutrition IV*. Nottingham University Press, Washington, D.C.
- Brummer-Holder M, Cassill BD, Hayes SH. 2020. Interrelations Between Age and Trace Element Concentration in Horse Mane Hair and Whole Blood. *Journal of Equine Veterinary Science* **87**: 1–7.
- Budras KD, Sack WO, Röck S, Horowitz A, Berg R. 2011. *Anatomy of the Horse*. Schlütersche, Hannover.
- Carter RA, Dugdale AHA. 2013. Assessment of body condition and bodyweight. Pages 393–404 in Geor RJ, Harris PA, Coenen M, editors. *Equine applied and clinical nutrition: health, welfare and performance*. Elsevier, Oxford.
- Coenen M. 2013. Macro and trace elements in equine nutrition. Pages 190–228 in Geor RJ, Harris PA, Coenen M, editors. *Equine applied and clinical nutrition: health, welfare and performance*. Elsevier, Oxford.
- Davidson EJ, Orsini JA. 2014. Musculoskeletal System. Pages 289–338 in Orsini JA, Divers TJ, editors. *Equine emergencies: treatment and procedures*. Elsevier Saunders, St. Louis, MO.
- Davies Z. 2005. *Introduction to Horse Biology*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Davies Z. 2018. *Equine Science*. Wiley-Blackwell, Chichester.
- Dobrzanski Z, Jankowska D, Dobicki W, Kupczynski. 2005. The Influence of different Factors on the Concentration of Elements in Hair of Horses. *ISAH* **2**: 450–453.
- Dunnett M, Lees P. 2003. Trace element, toxin and drug elimination in hair with particular reference to horse. *Research in Veterinary Science* **75**: 89–101.

- Dunnett M. 2005. The Diagnostic Potential of Equine Hair: A Comparative Review of Hair Analysis for Assessing Nutritional Status, Environmental Poisoning, and Drug Use and Abuse. Pages 85-106 in Pagan JD, editor. *Advances in Equine Nutrition III*. Nottingham University Press, Washington, D.C.
- Dunnett M. 2008. Drug testing by horse hair analysis. *Vet Times*. Available from <https://www.vettimes.co.uk/app/uploads/wp-post-to-pdf-enhanced-cache/1/drug-testing-by-horse-hair-analysis.pdf> (accessed February 2021).
- Dušek J, Misař D, Müller Z, Navrátil J, Rajman J, Tluchoř V, Žlumov P. 2011. *Chov koní. Brázda, Praha*.
- Frape DL. 2010. *Equine nutrition and feeding*. Blackwell Publishing, Ames.
- Ghorbani A, Kuhi HD, Mohit A. 2013. A review Hair tissue analysis: An analytical method for determining essential elements, toxic elements, hormones and drug use and abuse. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences Vol 4 (11)*: 3675–3688.
- Ghorbani A, Mohit A, Kuhi DH. 2015. Effects of Dietary Mineral Intake on Hair and Serum Mineral Contents of Horses. *Journal of Equine Veterinary Science 35 (4)*: 295–300.
- Ghosh S, Prasanna VL, Sowjanya B, Srivani P, Alagaraja M, Banji DD. 2013. Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Analysis 3 (1)*: 24-33.
- Gibbs PG, Potter GB, Scott BD. 2002. Feeding Race Prospects & Racehorses in Training. *Agri Life Extension Texas A&M System E-533*: 2–11.
- Gore T, Gore M, Giffin JM. 2008. *Horse Owner's Veterinary Handbook*. Wiley Publishing, Hoboken.
- Greco DS, Stabenfeldt GH. 2013. Endocrine Glands and Their Function. Pages 374–407 in Klein BG, editor. *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. Elsevier, St. Louis.
- Hanák J, Olehla Č. 2010. *Klinická fyziologie koní a jejich trénink: Od fyziologie k medicíně. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno*.
- Harris PA, Coenen M, Frape D, Jeffcott LB, Meyer H. 2006. Equine nutrition and metabolic disease. Pages 151–222 in Higgins AJ, Snyder JR, editors. *The Equine Manual*. Saunders Elsevier, Edinburg.
- Jančíková P, Horký P, Zeman L. 2012a. The Effect of Feed Additive Containing Vitamins and Trace Elements on the Elements Profile and Growth of Skin Derivates in Horses. *Annals of Animals Science 12 (3)*: 381–391.
- Jančíková P, Horký P, Zeman L. 2012b. The effect of various copper sources on the trace elements profile in the hair, plasma and faeces and copper activity in the organism of horses. *Acta Universitatis Agriculturae et Silveculturae Mendelinae Brunensis 60*: 145–151.
- Jančíková P. Vliv minerálních látek (měď, zinek) na růst a minerální složení kožních derivátů a krevní plazmy koní [PhD. Thesis]. Mendelova univerzita, Brno.

- Jockey Club ČR. n.d. Charakteristika a popis koní. JCČR. Available from <http://www.dostihyjc.cz/statistiky.php> (accessed April 2021).
- Kalashnikov V, Zajcev A, Atroshchenko M, Miroshnikov S, Frolov A, Zavyalov, Kalinkova L, Kalashnikova T. 2018. The content of essential and toxic elements in the hair of the mane of the trotter horse depending on their speed. *Environmental Science and Pollution Research* **25** (2): 21961–21967.
- Kalashnikov VV, Zajcev AM, Atroshchenko MM, Miroshnikov SA, Zavyalov OA, Frolov AN, Skalny AV. 2019a. Assessment of Gender Effects and Reference Values of Mane Hair Trace Element Content in English Thoroughbred Horses (North Caucasus, Russia) Using ICP-DRC-MS. *Biological Trace Element Research* **191**: 382–388.
- Kalashnikov VV, Zaitsev AM, Atroshchenko MM, Miroshnikov SA, Zavyalov OA, Frolov AN, Kurilkina MY, Kochish II. 2019b. Assessment of regional differences of chemical concentration in mane hair of the Thoroughbred. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* **341** (e012075). DOI: 10.1088/1755-1315/341/1/012075.
- Kalashnikov V, Zaitsev A, Atroshchenko M, Miroshnikov S, Frolov A, Zavyalov O. 2019c. The total of toxic elements on horsehair given the level of essential elements. *Environmental Science and Pollution Research* **26**: 24620–24629.
- Lewis LD. 2005. *Feeding and Care of the Horse*. Blackwell Publishing, Ames.
- Long MT. 2010. Mechanism of Infectious Disease. Pages 57–90 in Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, editors. *Equine international medicine*. Saunders Elsevier, St. Louis MO.
- Marvan F, Hampl A, Hložánková E, Kresan J, Massanyi, Vernerová E. 1992. *Morfologie hospodářských zvířat*. Brázda, Praha.
- Marycz K, Moll E, Zawadzki W, Nicpoń J. 2009. The correlation of elemental composition and morphological properties of the horses hair after 110 days feeding with high quality commercial food enriched with Zn and Cu organic forms. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* **12** (3).
- Martin-Rosset W. 2015. Nutritive value of feeds. Pages 405-452 in Martin-Rosset W, editor. *Equine nutrition: INRA Nutrient requirements, recommended allowances and feed tables*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- McKeever KH, Arent SM, Davitt P. 2014. Endocrine and Imunne Responses to Exercise and Training. Pages 88–107 in Hodgson DR, McKeever KH, McGowan CM, editors. *The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine*. Elsevier, St. Louis.
- Meyer H, Coenen M. 2003. *Krmení koní: současné trendy ve výživě*. Ikar, Praha.
- Nielsen BD. 2001. Nutrient Requirements of Young Equine Athlete. Pages 261-269 in Pagan JD, Geor RJ, editors. *Advances in Equine Nutrition II*. Nottingham University Press, Washington, D.C.
- Novak S, Shoveller AK. 2008. *Nutrition and Feeding Managment for Horse Owners*. Alberta, Edmonton.

- NRC (National Research Council). 2007. Nutrient requirements of horses. The National academies press, Washington, D.C.
- Parker R. 2013. Equine Science. Delmar Cengage Learning, New York.
- Pratt-Phillips SE, Lawrence LM. 2014. Nutrition of the Performance Horse. Pages 34–55 in Hodgson DR, McKeever KH, McGowan CM, editors. The Athletic Horse: Principles and Practice of Equine Sports Medicine. Elsevier, St. Louis.
- Ramzan PHL. 2014. The Racehorse: A Veterinary Manual. CRC Press, Boca Raton.
- Ranjan R, Ranjan A. 2015. Fluoride Toxicity in Animals. Springer International Publishing, Heidelberg.
- Rees ChA. 2010. Disorders of the Skin. Pages 682–729 in Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, editors. Equine international medicine. Saunders Elsevier, St. Louis MO.
- Scott DW, Miller WH. 2011. Equine dermatology. Saunders Elsevier, St. Louis MO.
- Sharpe P. 2019. Nutritional Value of Pasture for Horses. Pages 37–64 in Sharpe P, editor. Horse Pasture Management. Elsevier, London.
- Schaumann. n.d. Doplnková krmná směs pro koně HORSAL Run. SCHAUMANN ČR s. r. o. Available from [https://eshop.schaumann.cz/fotky30607/fotov/\\_ps\\_41HORSAL-RUN.pdf](https://eshop.schaumann.cz/fotky30607/fotov/_ps_41HORSAL-RUN.pdf) (accessed March 2021)
- Siwinska N, Zak A, Slowikowska M, Kubiak K, Jaworski Z, Niedzwiedz A. 2018. Morphology and elemental analysis of free range and stabled Polish Konik horses hair using Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). Polish Journal of Veterinary Sciences **21**: 65–72.
- Stashak TS, Theoret ChL. 2014. Integumentary System: Wound Healing, Management, and Reconstruction. Pages 238–267 in Orsinni JA, Divers TJ, editors. Equine emergencies: treatment and procedures. Elsevier Saunders, St. Louis, MO.
- Stenn KS, Paus R. 2001. Controls of Hair Follicle Cycling. Physiological Reviews **81**: 449–494.
- Suttle NF. 2010. Mineral Nutrition of Livestock. CABI, Wallingford.
- Szpoganicz B, Gidanian S, Kong P, Farmer P. 2002. Metal binding by melanins: studies of colloidal dihydroxyindole-melanin and its complexation by Cu (II) and Zn (II) ions. Journal of Inorganic Biochemistry **89**: 45–53.
- Talcott P. 2010. Toxicologic problems. Pages 1364–1412 in Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, editors. Equine international medicine. Saunders Elsevier, St. Louis MO.
- Topzewska J. 2012. Effects of seasons on the concentration of selected trace elements in horse hair. Journal of Central European Agriculture **13** (4): 671–680.
- Wells LA, LeRoy R, Ralston SL. 1990. Mineral intake and hair analysis of horses in Arizona. Journal of Equine Veterinary Science **10** (6): 412–416.
- Zeman L, et al. 2006. Výživa a krmení hospodářských zvířat. Profi Press, Praha.

Zeyner A, Harris PA. 2013. Vitamins. Pages 168-189 in Geor RJ, Harris PA, Coenen M, editors. Equine applied and clinical nutrition: health, welfare and performance. Elsevier, Oxford.