

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav výživy zvířat a pícninářství



**VLIV MINERÁLNÍCH LÁTEK (MĚĎ, ZINEK) NA RŮST A
MINERÁLNÍ SLOŽENÍ KOŽNÍCH DERIVÁTŮ A KREVNÍ
PLAZMY KONÍ**

Doktorská disertační práce

Ing. Petra Jančíková

Školitel: Prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.

Doktorský studijní program: P 4103 Zootechnika

Studijní obor: 4103V002 Obecná zootechnika

Brno 2014

PROHLÁŠENÍ:

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma: *Vliv minerálních látek (měď, zinek) na růst a minerální složení kožních derivátů a krevní plazmy koní* vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu literatury.

Disertační práce je školním dílem a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího disertační práce a děkana AF MENDELU v Brně.

dne.....

podpis doktoranda.....

PODĚKOVÁNÍ:

Dovoluji si touto cestou poděkovat vedoucímu disertační práce prof. Ing. Ladislavu Zemanovi, CSc. za odborné vedení a cenné připomínky při zpracování této práce. Panu Karlu Růžičkovi za umožnění realizace našich experimentů a poskytnutí pomoci při odběrech vzorků. Mým spolupracovníkům z Ústavu výživy zvířat a pícninářství za pomoc při pokusných sledováních. Srdečné poděkování za poskytnutí podpory při mém studiu patří také rodině a blízkým známým.

Poděkování náleží zejména interní grantové agentuře (IGA) Mendelovy univerzity v Brně, bez jejíž finanční podpory, by tato práce nemohla vzniknout.

- IP IGA AF MENDELU v Brně 9/2010
- TP IGA AF MENDELU v Brně 8/2010
- TP IGA AF MENDELU v Brně 2/2011

ANOTACE:

JANČÍKOVÁ, P.: Vliv minerálních látek (měď, zinek) na růst a minerální složení kožních derivátů a krevní plazmy koní. Disertační práce, MENDELU v Brně, 2014, 115 s.

Cílem disertační práce bylo zkoumat faktory minerální výživy ovlivňující růst a složení kožních derivátů a krevní plazmy u koní. Práce zahrnuje tři experimenty, provedené na koních plemene Český teplokrevník. V 1. experimentu byl sledován vliv doplňku směsi vitamínů, methioninu a organických forem zinku a mědi na rychlost růstu a minerální složení kopytní rohoviny, žíní a hladiny stopových prvků v krevní plazmě. Ve 2. a 3. experimentu byl hodnocen vliv mědi a zinku v jejich organické a anorganické formě na výše jmenované ukazatele.

Přídavek doplňku pokusné skupině v 1. experimentu vedl k vysoce průkaznému navýšení ($P < 0,01$) hladiny zinku v sušině kopytní rohoviny z $95,82 \pm 8,96 \text{ mg.kg}^{-1}$ na $117,73 \pm 10,23 \text{ mg.kg}^{-1}$ a mědi ($P < 0,05$) z $2,39 \pm 0,75 \text{ mg.kg}^{-1}$ na $4,06 \pm 1,14 \text{ mg.kg}^{-1}$. V případě žíní nebyly hladiny prvků mezi odběry odlišné.

Klisny přijímající síranovou formu mědi, ve 2. experimentu, deponovaly do žíní průkazně vyšší ($P < 0,01$) množství mědi $17,39 \pm 2,32 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny než klisny skupiny kontrolní $13,37 \pm 1,82 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny a skupina klisen s doplňkem organické formy, $15,32 \pm 1,13 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny, se od předchozích nelišila. Klisny saturované mědí vylučovaly průkazně vyšší ($P < 0,01$) hladiny tohoto stopového prvku ve výkalech než kontrolní skupina klisen bez doplňku mědi. Dále byl nalezen průkazný rozdíl ($P < 0,05$) v hladině mědi v krevní plazmě mezi klisnami přijímajícími její organický $0,93 \pm 0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$ a anorganický doplněk $0,78 \pm 0,08 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Zvýšená dotace zinku ve 3. sledování přímo nesouvisela se zvýšenou saturací krevní plazmy ani kožních derivátů. Během pokusného sledování došlo k průkaznému snížení ($P < 0,05$) hladiny zinku v sušině žíní z $153,56 \pm 10,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ na $139,68 \pm 7,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ u klisen přijímajících oxid zinečnatý stejně jako u klisen kontrolní skupiny z $154,59 \pm 17,03 \text{ mg.kg}^{-1}$ na $136,33 \pm 6,96 \text{ mg.kg}^{-1}$ ($P < 0,05$).

Rychlost růstu kožních derivátů byla ovlivněna pouze při použití doplňku obsahujícího směs metioninu, vitamínů a organických forem zinku a mědi, nikoliv při doplňku samotných stopových prvků. Přírůstek rohoviny koní v pokusné skupině byl o 22,31 % vyšší ($P < 0,01$) a žíní o 15,37 % vyšší ($P < 0,01$) než u koní skupiny kontrolní.

Klíčová slova: měď, zinek, kožní derivát, krevní plazma, kůň

ANNOTATION:

JANČÍKOVÁ, P.: Effect of minerals (copper and zinc) on growth rate and mineral composition of skin derivatives and their content in blood plasma of horses. Dissertation, Mendel University in Brno, 2014, 115 p.

The aim of this study was to investigate factors of mineral nutrition influencing growth and composition of skin derivatives and their content in blood plasma of horses. The thesis describes three experiments carried out on Czech warm blood breed horses. In the first experiment was analysed the effect of feed supplement mixture – vitamins, methionine and organic form of zinc and copper – on growth rate and mineral composition of hoof horn and hairs and level of trace elements in blood plasma. The effects of copper and zinc in their organic and inorganic form on parameters above were evaluated in the second and third experiment.

The addition of supplement mixture to experimental group led to significant increasing ($P < 0.01$) level of zinc in dry matter of hoof horn from $95.82 \pm 8.96 \text{ mg.kg}^{-1}$ to $117.73 \pm 10.23 \text{ mg.kg}^{-1}$ and copper ($P < 0.05$) from $2.39 \pm 0.75 \text{ mg.kg}^{-1}$ to $4.06 \pm 1.14 \text{ mg.kg}^{-1}$ during the first experiment. No differences were found between initial and final levels of minerals in hairs.

In the second experiment, mares receiving copper sulphate deposited significant higher ($P < 0.01$) copper level into hairs $17.39 \pm 2.32 \text{ mg.kg}^{-1}$ than the mares of control group $13.37 \pm 1.82 \text{ mg.kg}^{-1}$. The results of mares receiving copper in organic form did not significantly differ from the previous two groups. The mares to which were added copper excreted significantly higher ($P < 0.01$) levels of this trace element in faeces compared with the mares in control group without copper supplement. Significant difference ($P < 0.05$) was found in plasma copper level between mares receiving organic and inorganic supplement of this trace element.

There was found out significantly decreased ($P < 0.05$) levels of zinc content in dry matter of hair from $153.56 \pm 10.46 \text{ mg.kg}^{-1}$ to $139.68 \pm 7.09 \text{ mg.kg}^{-1}$ in the mares receiving of zinc oxide and in the mares of control group from $154.59 \pm 17.03 \text{ mg.kg}^{-1}$ to $136.33 \pm 6.96 \text{ mg.kg}^{-1}$ ($P < 0.05$) during experiment.

The growth rate of skin derivatives was influenced only by using supplement mixture – vitamins, methionine and organic form of zinc and copper and was not influenced with individual application of copper or zinc. Growth rate of hoof horn in the mares receiving this supplement was significantly higher ($P < 0.01$) about 22.31 % than

in the animals of control group. The same results was found in the mane hairs ($P < 0.01$). The growth rate of hairs was about 15.37 % higher in the horses from experimental group than from the control one.

Key words: copper, zinc, skin derivate, blood plasma, horse

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
2.1	Minerální látky ve výživě koní	10
2.1.1	Formy minerálních látek	11
2.1.1.1	Anorganické zdroje.....	11
2.1.1.2	Organické zdroje	12
2.1.2	Vybrané esenciální stopové prvky	13
2.1.2.1	Zinek	13
2.1.2.2	Měď	17
2.2	Anatomická stavba kůže, kožních derivátů a jejich funkce	21
2.2.1	Kůže	21
2.2.2	Chlupy a žíně	22
2.2.3	Kopytní pouzdro	22
2.2.3.1	Rohová stěna	24
2.2.3.2	Rohové chodidlo	25
2.2.3.3	Rohová střelka	25
2.3	Složení kopyt, žíní a faktory ovlivňující obsah minerálních látek v kožních derivátech	25
2.3.1	Složení kopyt a žíní	25
2.3.2	Vliv výživy na obsah minerálních látek v kožních derivátech	28
2.3.3	Vliv dalších faktorů na obsah minerálních látek v kožních derivátech	30
2.4	Rychlost růstu a faktory ovlivňující růst kožních derivátů	32
2.4.1	Rychlost růstu kopyt a žíní	32
2.4.2	Vliv výživy na růst kožních derivátů	33
2.4.3	Ostatní faktory ovlivňující růst kožních derivátů	33
3	CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA	36
3.1	Cíle	36
3.2	Hypotézy	36
4	MATERIÁL A METODIKA	37
4.1	Metodika odběrů a přípravy vzorků pro analýzy	38
4.1.1	Odběr a příprava vzorků kopytní rohoviny	38
4.1.2	Odběr a příprava vzorků žíní	38
4.1.3	Odběr a příprava vzorků krve	38
4.2	Metodika laboratorních analýz	39
4.2.1	Stanovení obsahu vlhkosti	39

4.2.2	<i>Stanovení obsahu dusíkatých látek</i>	39
4.2.3	<i>Stanovení obsahu vlákniny</i>	39
4.2.4	<i>Stanovení obsahu tuku</i>	39
4.2.5	<i>Stanovení obsahu popela</i>	40
4.2.6	<i>Stanovení obsahu bezdusíkatých látek výtahových</i>	40
4.2.7	<i>Stanovení hladiny minerálních prvků v kožních derivátech a výkalech</i>	40
4.2.8	<i>Stanovení hladiny minerálních prvků v krevní plazmě</i>	40
4.3	Metodiky pokusných sledování na živých zvířatech	41
4.3.1	Pokus č. 1	41
4.3.1.1	<i>Zvířata a krmení</i>	41
4.3.1.2	<i>Odběry a laboratorní testy</i>	41
4.3.2	Pokus č. 2	41
4.3.2.1	<i>Zvířata a krmení</i>	41
4.3.2.2	<i>Odběry a laboratorní testy</i>	42
4.3.3	Pokus č. 3	42
4.3.3.1	<i>Zvířata a krmení</i>	42
4.3.3.2	<i>Odběry a laboratorní testy</i>	43
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	44
5.1	Pokus č. 1	44
5.1.1	<i>Krevní plazma</i>	44
5.1.2	<i>Kopytní rohovina</i>	45
5.1.3	<i>Žíně</i>	47
5.2	Pokus č. 2	50
5.2.1	<i>Krevní plazma</i>	50
5.2.2	<i>Žíně</i>	52
5.2.3	<i>Výkaly</i>	53
5.3	Pokus č. 3	54
5.3.1	<i>Krevní plazma</i>	54
5.3.2	<i>Kopytní rohovina</i>	56
5.3.3	<i>Žíně</i>	58
6	ZÁVĚR	60
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	62
8	SEZNAM TABULEK A GRAFŮ	82

1 ÚVOD

Česká republika se způsobem života, kulturou, vzdělaností a bohatou historií řadí mezi vyspělé země Evropy. V "sektoru chovu koní" však není ve všech směrech konkurenceschopná. Strategickým cílem našich chovatelů by mělo být nejen zvyšování genetické hodnoty a výkonnosti koní, jejich cílevědomé rozmnožování a zachování genetické rozmanitosti, aby napomáhala konkurenční schopnosti na zahraničních trzích, ale i zajištění optimálních podmínek chovu, ošetřování a zejména odpovídající výživy.

Vysoký genetický potenciál koní, by měl motivovat chovatele k neustálému úsilí, vedoucímu k uspokojení nutričních požadavků a to nejen v základních živinách, ale též ve vitaminových a minerálních složkách. V současných podmínkách chovu koní dochází v důsledku nevyvážené výživy k častým poruchám metabolismu a karencím minerálních látek, nezbytných pro fyziologickou činnost organismu, zajišťování dobrého zdravotního stavu, výkonnosti i reprodukce zvířat.

Protože bezvadná a zdravá kopyta jsou nezbytná pro optimální výkon koní, struktura a složení koňských kopyt je hlavním středem pozornosti jak klinických, tak i základních výzkumných skupin.

Posouzení minerálního stavu zvířat pomocí krevní plazmy, moči, výkalů či kožních derivátů, zejména žíní je v praxi běžně využíváno. Nakolik však výsledky rozborů těchto parametrů korelují se skutečným stavem vnitřního prostředí zvířat je předmětem rozsáhlých studií. Minerální status koní nesouvisí pouze s výživou, ale i věkem, sezónou, zbarvením, podmínkami chovu, plemennou příslušností, rychlostí růstu a individualitou jedince. Kromě toho je metabolismus minerálních látek ovlivňován a tlumen řadou homeostatických mechanismů, synergickými a antagonistickými vztahy mezi prvky, způsobem a efektivitou střevní resorpce. Všechny tyto faktory je nutné zohlednit při interpretaci výsledků rozborového listu plazmy či kožních derivátů, aby při posouzení minerálního stavu koní byla predikce co nejpřesnější.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Minerální látky ve výživě koní

Hlavním exogenním zdrojem makro i mikroelementů jsou krmiva. Jejich minerální složení je velmi rozdílné, nejen pokud se týká druhové příslušnosti, ale i v rámci téhož druhu. Přitom relativně větší variabilita zastoupení minerálních látek v krmivu téhož původu je ve vegetační části rostliny než v rozmnožovacích orgánech (ZEMAN a kol., 2006). Obsah minerálních látek v půdě, půdní reakce, klimatické podmínky, způsoby a vydatnost hnojení i celková intenzita rostlinné výroby ovlivňují významně koncentraci a poměry minerálních látek v krmných plodinách. Vegetační stadium rostlin, velikost ztrát při sklizni a konzervaci se odráží nejen v obsahu minerálních látek, ale také neméně významně ve stravitelnosti a celkové využitelnosti v organismu zvířat (KUDRNA a kol., 1998). Variabilita zastoupení u téhož prvku může dosahovat u makroelementů dvojnásobku až trojnásobku, u mikroelementů dokonce desetinásobku průměrných hodnot (ZEMAN a kol., 1998).

Minerální látky jsou nezbytné pro růst, vývin, udržení fyziologické rovnováhy a dobrého zdravotního stavu zvířat. Chceme-li lépe pochopit úlohu minerálií v živočišné výrobě, musíme si uvědomit, že minerální prvky jsou funkční komponenty celé řady metabolických dějů (UNDERWOOD a SUTTLE, 1999).

Za fyziologického stavu jsou všechny minerální látky v organismu v dynamické rovnováze, která je řízena složitými homeostatickými mechanismy. Základním předpokladem udržení rovnováhy minerálních látek a jejich koncentrace ve tkáních a biologických tekutinách je adekvátní přísun a jejich utilizace (NEHASILOVÁ, 2005). Regulace je zajišťována: vstřebáváním minerálních látek z potravy a uložením ve tkáních, výdejem minerálních látek výkaly, močí a potem, výdejem mléka u klisen (BENDER, 2000). Množství a funkce jednoho prvku podmiňuje funkci prvku druhého (Obr. 1). Nejen nedostatek těchto látek, ale i jejich nadbytek nebo nesprávný poměr mohou celkově nebo částečně škodit živočišnému organismu (KUDRNA a kol., 1998). Podle GEORGIEVSKÉHO a kol. (1982) se mohou minerální látky ovlivňovat jednak mezi sebou, dále s jinými živinami, případně i s činiteli nesouvisejícími s krmivem. Synergická nebo antagonistická působení se uskutečňují v krmivu, v trávicím traktu, jakož i v procesu tkáňového a buněčného metabolismu.

Nedostatečné zásobení zvířat těmito esenciálními látkami se neprojeví ze dne na den, protože zvířata disponují určitými rezervami, které jsou při nízkém zásobení schopna mobilizovat. Poruchy zdravotního stavu se projevují teprve po dlouhodobějším nedostatku (KAAS, 2001).

Nadměrný přísun minerálních prvků, překračující potřebu, nezlepšuje zdravotní stav ani výkon koní (HARPER a GILL, 2005). ŠIMEK (2007) uvádí, že saturace vyšší než je potřeba se u nepřežvýkavých zvířat projeví metabolickou imbalancí, možným výskytem toxických symptomů, které vedou ke snížení produkce zvířat a v extrémních případech mohou být i příčinou jejich úhynu.

Minerální požadavky koně se mění v závislosti na jeho tělesné hmotnosti, věku, fyziologických podmínkách (např. gravidita, laktace atd.) a úrovni aktivity. Organismus má velkou schopnost regulace homeostázy minerálních látek. Bez ohledu na široké kolísání obsahu makroelementů i mikroelementů v krmivech, zůstává minerální složení tkání poměrně stálé. Distribuce minerálních látek v rámci tělesných tkání není jednotná, poněvadž některé tkáně selektivně ukládají specifické elementy (GABRYSZUK a kol., 2008).

2.1.1 Formy minerálních látek

Doplňky minerálních látek mohou být rozděleny mezi dvě skupiny: anorganické soli – typicky zahrnují síranové nebo oxidové skupiny a organické zdroje minerálních látek (WAGNER a kol., 2011). V některých studiích s koňovitými nebyly nalezeny rozdíly ve využití minerálních prvků z organických a anorganických zdrojů (SICILIANO a kol., 2001; BAKER a kol., 2005). V dalších byl nalezen prospěch z organických doplňků pro některé sledované znaky, např. rychlost růstu kopytní rohoviny, vyšší využitelnost stopových prvků (OTT a ASQUITH, 1994; OTT a JOHNSON, 2001; NAILE a kol., 2005).

2.1.1.1 Anorganické zdroje

Tyto zdroje jsou problematicky využitelné, neboť v kyselém prostředí žaludku dochází ke změnám jejich chemické struktury a ve střevech je využitelná jen malá část. V anorganických solích jsou stopové prvky ionizovány žaludeční šťávou na anionty a kationty. Zhruba 80 % z nich je znovu smícháno ve střevě s anionty různé povahy, formují se v nerozpustné sloučeniny (fytáty, fosfáty, oxaláty atd.) a jsou vyloučeny ve

výkalech, zatímco zbývající část podléhá několika faktorům, které mají vliv na jejich vstřebávání. Proto je za normálních podmínek organismem kompletně využito pouze 3 až 15 % stopových prvků přijatých v anorganické formě (DUDA, 2004). Anorganické minerální soli jsou tedy závislé na změně pH a také na přítomnosti transportních proteinů, které přepravují prvky proti koncentračnímu spádu (ASHMEAD a kol., 1985; cit., WAGNER a kol. 2011). Anorganické zdroje stopových prvků, zejména oxidové, síranové, chloridové a uhličitanové formy určitých minerálních iontů, bývají primárními zdroji dietních minerálních doplňků. Oxidové formy iontů kovů jsou považovány za méně biologicky dostupné než síranové a chelátové, přičemž studie nejsou průkazné v tom, zda je mezi síranovými formami a cheláty rozdíl v jejich dostupnosti a využití (BAKER a AMMERMAN, 1995; cit., WAGNER a kol. 2011).

2.1.1.2 Organické zdroje

Organické zdroje minerálních prvků uchovávají v trávicím traktu svoji integritu. Na absorpční místa v tenkém střevě se dostávají v podobě intaktních molekul a jsou vstřebávány skrze mechanismy pro absorpci jejich součástí. Organické minerální látky potřebují méně kroků k absorpci a účinnost absorpce z těchto forem je zvýšená ve srovnání se vstřebáváním iontů kovů z anorganických zdrojů (BROWN a ZERINGUE, 1994; WAGNER a kol., 2011). Dle ZEMANA (2004) se v souvislosti s ekologizací v zemědělské výrobě začalo s produkcí minerálních sloučenin s vysokou využitelností a tedy i malým vylučováním nevyužitelné části do vnějšího prostředí.

Chemický proces, při kterém vzniká organická forma stopových prvků, se označuje jako komplexace. Výsledný produkt komplexace obsahuje přechodový kov (železo, zinek, měď, mangan, kobalt) a organický nosič – ligand. Přechodové kovy vykazují chemické vlastnosti kovů – snadno uvolňují elektrony i nekovů – přijímají elektrony (FRYDRYCH, 2007). Organické zdroje nejsou rovnocenné a zahrnují široké spektrum struktur kov–ligand (Tab. 1). Možné ligandy zahrnují jednu nebo více aminokyselin, proteiny různých velikostí, polysacharidy nebo propionáty (AAFCO, 2005). Dostupnost minerálního prvku z organického zdroje závisí na typu vazby (iontová nebo kovalentní) mezi kovem a ligandem, velikosti ligandu a působení pH. Slabší vazby kovu s ligandem (iontové) a malá velikost ligandu mají za následek méně stabilní molekuly, kdežto silné vazby (kovalentní) a velká velikost ligandu způsobuje větší stabilitu, ale také vyvolává obavy o dostupnosti (HYNES a KELLY, 1995).

Studie prokázaly pozitivní efekt organicky vázaných minerálů na imunitní stav organismu, parametry reprodukce, kvalitu kožních derivátů (srst, kůže, kopytní rohovina), mléčnou produkci a vyrovnaný růst (NOVÁK, 2008). Dle COLEMANA (1996) vedl přidavek organických forem mědi, zinku a manganu ke zlepšení růstu kopytní rohoviny. Organicky vázané prvky mají většinou vyšší účinnost, ale mnohonásobnou cenu a při prodeji jsou snadno falšovatelné – lze velmi těžko analyticky stanovit, zda je prvek v organické nebo anorganické formě (ZELENKA a ZEMAN, 2006). S rozvojem nových analytických metod pro ověření chelatace, pozorovali analytici, že mnohé z komerčních produktů, uváděných jako chelátové, organické zdroje minerálních látek neobsahovaly, popřípadě jejich procento neodpovídalo uváděným hodnotám (ASHMEAD a kol., 2007).

2.1.2 Vybrané esenciální stopové prvky

Mnoho živin a makroprvků ovlivňuje složení a růst kožních derivátů, podobně jako složení plazmy. Naše pozornost však byla zaměřena na esenciální stopové prvky – zinek a měď, kterým jsou věnovány následující dvě podkapitoly literárního přehledu.

2.1.2.1 Zinek

Na rozdíl od ostatních esenciálních mikroelementů se zinek (Zn) vyskytuje v biologických systémech pouze v jednom oxidačním stupni, a to jako dvojmocný kation, který se převážně váže k organickým ligandům (především proteinům a aminokyselinám). Upřednostňovanými ligandy jsou cystein a histidin, ale v řadě enzymů také glutaman a aspartam (KVASNIČKOVÁ, 1998). Zinek se vyskytuje ve všech buňkách organismu, přičemž jeho celkový obsah je desetkrát až patnáctkrát vyšší než obsah mědi. Z celkového množství zinku obsaženého v těle živočichů tvoří nejvyšší podíl zinek ve svalové a kostní tkáni. Nejvyšší koncentraci zinku má cévnatka oka a prostata. Poměrně vysoká koncentrace je v kůži a kožních derivátech, pankreatu, játrech, varlatech, ledvinách a kostech. Nejnižší koncentrace zinku je v nervové a plicní tkáni. V jaterních buňkách je zinek přítomen v mitochondriích, cytoplazmě, buněčném jádru i v mikrozomech. Velký podíl zinku v hepatocytech je ve formě mataloenzymů, část je poměrně pevně vázána na nukleové kyseliny. Ve skeletu je tento stopový prvek obsažen především v oblastech aktivní osteogeneze, a to jako součást alkalické fosfatázy a karboanhydrázy. V pankreatu je zinek koncentrován v beta-buňkách

Langerhansových ostrůvků, kde hraje důležitou roli při tvorbě inzulinu (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003).

Zinek je součástí a aktivátorem stovek enzymů (MARET a SANDSTEAD, 2006) např. karboanhydrázy, alkalické a kyselé fosfatázy, superoxiddismutázy, laktátdehydrogenázy, peptidáz, deamináz a dalších. Prostřednictvím těchto enzymů zasahuje do řady biochemických reakcí na celulární i subcelulární úrovni. Je důležitý při syntéze proteinů a nukleových kyselin (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Zinek hraje klíčovou roli v proliferaci epidermálních buněk a tvorbě strukturních proteinů v průběhu keratinizačního procesu (COUSINS, 1996; TENAUD a kol., 1999; TENAUD a kol., 2000). Podílí se tedy na zdraví a celistvosti žíní, kůže a kopyt (JACKSON, 1998). Zinek reguluje činnost mazových žláz a napomáhá hojení ran (MARYCZ a kol., 2009; LIM a kol., 2004). Stejně tak je potřebný pro růst zvířat a metabolismus kostí (YAMAGUCHI, 1998). Zinek může zvýšit tvorbu kostní tkáně skrze zvýšení růstu osteoblastů a syntézu alkalické fosfatázy a kolagenu v kostních buňkách (SEO a kol., 2010). Tento stopový prvek ovlivňuje aktivitu glukagonu a kortikotropního hormonu. Je známo, že zinek hraje důležitou roli v imunitním systému organismu (PRASAD, 1998; SHANKAR a PRASAD, 1998; PRASAD, 2003). Je nezbytný pro vývoj T buněk (WELLINGHAUSEN a kol., 1997; FRAKER a KING, 2004). Ovlivňuje fagocytózu, tvorbu protilátek (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003) a vyvolává apoptózu (FREDERICKSON a kol., 2005). Zinek má také regulační funkci, ta je nejlépe ilustrována jeho rolí v přenosu vzruchů (FREDERICKSON a kol., 2005). V neposlední řadě reguluje tento stopový prvek činnost kalmodulinu, který váže vápník (KELLON, 2008).

Potřeba zinku u dospělých koní činí $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ suché hmoty. Doplňkové dávky zinku denně 1 mg/kg živé hmotnosti urychlují procesy hojení ran. Snášenlivost koní při denní dávce zinku $500\text{--}700 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny je skutečně vysoká. Ani zde, však nejsou negativní účinky vzhledem k dalším prvkům, či při chronickém předávkování, škody na játrech vyloučeny (BENDER, 2000).

V krvi je zinek obsažen v krevní plazmě, erytrocytech, leukocytech a trombocytech. Přibližně jedna třetina plazmatického zinku je volně vázána na albumin, zbytek je pevně vázán na globuliny. Zinek obsažený v erytrocytech je téměř výlučně ve formě karboanhydrázy, jen nepatrná část zinku tvoří součást jiných enzymů obsažených v erytrocytech. Leukocyty obsahují zinek ve formě superoxiddismutázy, fosfatáz a

dalších metaloproteinů (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Referenční rozmezí pro hladinu zinku v krevní plazmě činí 0,6–1,2 mg.kg⁻¹ (WICHERT a kol., 2002a). Koncentrace zinku v krvi a krevní plazmě reaguje na změny obsahu zinku v potravě. Zvýšená dotace zinku zvyšuje koncentraci zinku v krvi a krevní plazmě. Při karenci zinku dochází ke snížení koncentrace zinku v krevní plazmě i krvi (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003).

Resorpce zinku probíhá v tenkém střevě, především v duodenu a to aktivní formou. Zinek se v první fázi váže na specifický protein v enterocytech a pak přestupuje do lymfy a krve. Resorpce zinku je ovlivněna koncentrací zinku v zažitině, potřebou organismu, věkem zvířat (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003), chemickou formou a rozpustností zinku v duodenu – biologická dostupnost zinku koreluje s rozpustností ve vodném roztoku, síranové a acetátové formy jsou vysoce rozpustné a snadno vstřebatelné, zatímco uhličitanové a oxidové jsou prakticky nerozpustné a mají průkazně nižší biologickou dostupnost (ALLEN, 1998). Využitelnost je ovlivněna také působením řady prvků a živin obsažených v zažitině střev – negativně je ovlivněna absorpce zinku z fyátů, pozitivně působí vyšší množství proteinů a jednotlivých aminokyselin, konkrétně histidinu a metioninu (LÖNNERDAL, 2000). Dalším aspektem je žaludeční pH – zejména nerozpustné soli, mohou být částečně přeměněny v přítomnosti žaludečních kyselin ve více rozpustné chloridy zinku (ALLEN, 1998). Vstřebávání zinku se typicky pohybuje kolem 5–15 % (NRC, 2007). WAGNER a kol. (2005) stanovili absorpci zinku u dospělých koní z oxidové formy 13,9 %, síranové formy 12,8 % a organické formy 10,6 %. WICHERT a kol. (2002b) uvedli vyšší biologickou dostupnost pro anorganický síran zinečnatý a organický síran zinečnatý než oxid zinečnatý po jedné vysoké aplikované dávce. U mláďat je míra resorpce zinku vyšší než u zvířat starších. Resorpce zinku je snížena v průběhu zánětlivých procesů na sliznici duodena (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). V praxi je dobře známa nutriční interakce mezi vápníkem a zinkem (WILLOUGHBY a kol., 1972) Se zvýšenou potřebou zinku je také nutné počítat při vyšším obsahu mědi v krmivu (MEYER, 1995; PAGAN, 2001).

Homeostáza zinku je určována mírou resorpce a exkrece. Exkrece endogenního zinku probíhá prostřednictvím slin, pankreatické a střevní šťávy a žluči. Značné množství takto vyloučeného zinku se může znovu vstřebat (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Trávicí trakt je hlavní cestou exkrece zinku, vylučování je mnohonásobně

vyšší než močí. Množství vyloučeného zinku výkaly jasně odpovídá dietnímu příjmu tohoto stopového prvku, zatímco v případě moči nebyl tento vztah objeven (SCHRYVER a kol., 1980). Značné množství zinku se vylučuje kolostrem a mlékem (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003).

Zinek je v těle široce distribuován, ale zvířata mají omezenou schopnost ukládat jej ve formě, kterou lze mobilizovat, aby se zabránilo jeho nedostatku (PATERSON a ENGLE, 2005). Vysoce efektivní homeostatický mechanismus reaguje na změny v příjmu zinku úpravou regulace absorpce a uchováním ztrát skrze gastrointestinální trakt a ledviny, pokud příjem zinku poklesne (LOWE a kol., 2009). Nejčastěji používaným ukazatelem pro hodnocení pravděpodobnosti deficitu je stanovení obsahu zinku v plazmě či séru (MARET a SANDSTEAD, 2006).

S primární či sekundární karencí zinku se setkáváme u všech druhů a kategorií zvířat (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Redukovaný růst, alkalická fosfatáza séra a obsah zinku v tkáních je příznakem nedostatku tohoto mikroelementu u hříbat (HARRINGTON a kol., 1973; cit., OTT a ASQUITH 1989). Snížený příjem krmiva, tak jako strupovitá zesílení kůže při současném vypadávání chlupů, také zvýšená náchylnost k infekcím a změny na kopytní rohovině nechávají soudit na nedostatek zinku (BENDER, 2000). ARMELIN a kol. (2001) uvádějí zvýšený výskyt kožních poškození a praskání kopytní rohoviny u koní s karencí tohoto stopového prvku. Nedostatek zinku neovlivňuje koncentraci vápníku a fosforu v kostech (HARRINGTON a kol., 1973; cit., OTT a ASQUITH 1989). Nedostatek zinku je příčinou pomalého růstu kopyt, výskytu křehkých stěn, nepevných spojení a slabé rohoviny. Pokud je kopyto slabé na buněčné a strukturální úrovni, je náchylnější k napadení mikroorganismy, protože "mikro-praskliny" ve struktuře umožní vhodné podmínky pro jejich život (KELLON, 2008). HIGAMI (1999) ve své studii naznačuje, že dlouhodobě nízké obsahy zinku a mědi v krmných dávkách koní mohou být příčinou onemocnění bílé čáry u dospělých koní.

Ke zvýšenému příjmu zinku jsou zvířata poměrně tolerantní. K intoxikacím dochází zřídka, a to po několikanásobném zvýšení koncentrace zinku v krmné dávce. Intoxikace zinkem vyvolávají zánětlivé reakce na sliznicích trávicího ústrojí, poruchy jater a ledvin (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Aplikace 300–500 mg Zn/den vede ke zvýšení obsahu zinku v rohovině (COENEN a SPITZLEI, 1997).

Ke zdrojům pro doplňování Zn náleží síran zinečnatý, oxid zinečnatý, chlorid zinečnatý, uhličitan zinečnatý a chelát zinku a aminokyselin n-hydrát (NRC, 2007).

2.1.2.2 Měď

Měď (Cu) je obsažena ve všech tkáních organismu. Tvoří přibližně 0,002–0,0025 % hmotnosti těla zvířat (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Největší množství mědi je obsaženo v kůži, chlupích a játrech. Také výstelka sliznice trávicího traktu je relativně bohatá na měď (BENDER, 2000). Nejnížší koncentraci mědi má hypofýza, štítná žláza a prostata. Ve svalové tkáni je koncentrace na střední úrovni a je poměrně stabilní (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003).

Měď jako biogenní prvek má v organismu hospodářských zvířat mnohostrannou funkci (NEHASILOVÁ, 2005). Její schopnost existovat ve 2 oxidačních stavech (Cu^+ a Cu^{2+}) umožňuje, aby fungovala jako kofaktor enzymů v hydrolytických reakcích, při přenosu elektronů a reakcích spojených s využitím kyslíku (WANG a kol., 2011). Tento stopový prvek je nezbytný pro vstřebávání železa z gastrointestinálního traktu, metabolismus kůže a obecně metabolismus pojivové tkáně (MARYCZ a kol., 2009). Měď je potřebná pro tvorbu pigmentů (nedostatek mědi vyvolává ztrátu pigmentu v srsti kolem očí, tzv. brýle), elastinu, kolagenu, keratinu, ovlivňuje metabolismus skeletu (relativně častý je výskyt osteopatií, především se vyskytuje osteoporóza), krvetvorbu, reprodukční funkce, činnost nervové soustavy a imunitu. Je neoddělitelnou součástí enzymů jako jsou ceruloplazmin, cytochrómoxidáza, aminooxidáza a tyrozinázy (NEHASILOVÁ, 2005). Tento stopový prvek je potřebný pro aktivitu lyzoxidázy, nepostradatelné pro syntézu chrupavek (OTT a JOHNSON, 2001). Měď je součástí enzymů potřebných pro aerobní metabolismus v rychle se dělících buňkách. Měď a zinek jsou též součástí enzymu superoxidodismutázy, který zabraňuje peroxidaci lipidů a dalším poškození buněk a tkání (WAGNER a kol., 2010; NOTIN a kol., 2010; KIRSCHVINK a kol., 2008). Oxidací poškozené trhlínky v tukovém těsnění kopyta způsobují vysušení a oslabují spojení mezi buňkami (KELLON, 2008). Ochrana mezibuněčného tmelu je rozhodující pro udržení strukturní integrity a biologické funkce rohoviny (MÜLLING a kol., 1999). Měď je kofaktor pro aktivaci thiol-oxidázy, která je zodpovědná za formaci disulfidových vazeb v keratinu (GEYER, 2005). Dále je tento stopový prvek velmi důležitý pro specifickou a nespecifickou imunitu. Ceruloplazmin je

transportní formou mědi ve vnitřním prostředí a má značný antioxidační účinek (NEHASILOVÁ, 2005).

V krvi je měď rovnoměrně rozdělena mezi plazmu a erythrocyty. V erythrocytech je vázána na specifickou bílkovinu erytrokuperin a hemokuperin (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Většina plazmatické mědi je navázána na protein, včlenění probíhá v játrech (McARDLE, 1992). Nejčastěji je spojená s ceruloplazminem, α -globulinem (MESSERSCHMIDT a HUBER, 1990), který představuje asi 80 % transportní formy mědi, zbytek je vázán na albumin (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Normální rozsahy mědi v plazmě nebo séru, používané šestnácti světovými laboratořemi, se pohybují od 8–14 až do 22–28 $\mu\text{mol Cu.l}^{-1}$ (MEE a McLAUGHLIN, 1995; cit., SUTTLE a kol. 1996), což odpovídá 0,5–1,5 mg.kg^{-1} (WICHERT a kol., 2002a).

Měď, podobně jako železo a některé další esenciální kovy, je v organismu pečlivě regulována. To protože, ačkoliv jsou tyto prvky esenciální, jsou potenciálně toxické díky jejich chemickému redox–potenciálu a schopnosti podílet se v reakcích volných radikálů (PROHASKA, 2008). Při reakci s kyslíkovými činiteli a podstoupení Fentonovy reakce může měď nevratně poškozovat buněčné komponenty včetně proteinů, lipidů a DNA. Naštěstí mají organismy vyvinuté mechanismy, které vykonávají a přísně regulují pohyb mědi přes membrány a mezi proteiny. Hlavním hráčem v udržování homeostázi mědi je vysoce afinitní integrální membránový transportér mědi. Když měď obsažená v krmivu dosáhne duodena, přijde do kontaktu s transportním proteinem, který je odpovědný za import mědi přes mikrokly kartáčového lemu (NOSE a kol., 2006). Při enormně vysoké koncentraci mědi v zažitině se měď resorbuje i pasivním způsobem na základě koncentračního spádu. Resorpce mědi činí 10 až 30 % (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). V přirozených podmínkách je zásobení mědi většinou dostačující, ačkoliv u krmiv z písčitých, rašelinných a bažinatých půd se mohou projevit příznaky nedostatku (BENDER, 2000). Vedle primárního nedostatku mědi (v oblastech karenčních na měď) zvířata trpí i jejím sekundárním nedostatkem, a to zejména v oblastech, kde je v pitné vodě a krmivech vysoká koncentrace železa, molybdenu a síry. Tyto prvky omezují resorpci mědi a narušují její metabolismus (HEMKEN a kol., 1999). UNDERWOOD (1981; cit., NRC 2007) uvádí jako prvky negativně ovlivňující aktivitu mědi též stříbro, olovo, kadmium a selen. Dle JELÍNKY, KOUDELY a kol. (2003) hrají v aktivním způsobu resorpce

důležitou roli aminokyseliny. Po přestupu do krve se měď váže na albumin a je transportována do jater. Jaterní tkáň má centrální funkci v udržování homeostázi mědi skrze ukládání mědi, exkreci a syntézu ceruloplazminu (CYMBALUK a kol., 1981a). V játrech je transformována na metaloproteiny a metaloenzymy, které se zapojují do metabolických procesů. Část mědi se v játrech ukládá do zásoby. Játra jsou hlavním exkrečním orgánem. Měď se vylučuje žlučí do střeva, kde se může opět resorbovat. Větší část se však vylučuje výkaly. Exkrece mědi močí je minimální, rovněž slinami se vylučuje pouze nepatrné množství mědi. Pro homeostázu mědi má význam i regulovaná resorpce. Při nedostatku mědi se procento resorpce zvyšuje, při nadbytku mědi v krmné dávce se procento resorpce snižuje (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003).

K diagnóze nedostatku mědi bývá u zvířat používána koncentrace mědi v plazmě a tkáních, plazmatická aktivita ceruloplazminu, tkáňová aktivita superoxidodismutázy, aktivita cytochromoxidázy a lyzyloxidázy (PROHASKA, 1990; cit., JEFFCOTT a DAVIES 1998a). Příznaky nedostatku mědi v krmné dávce jsou různé. Pro většinu zvířat jsou charakteristickým příznakem anémie (NEHASILOVÁ, 2005), hypertenze, narušení metabolismu lipidů, mikrovaskulárních funkcí (ISKRA a MAJEWSKI, 1999). Nedostatek mědi ovlivňuje integritu pojivové tkáně, vede k poškození fixace kolagenu a elastinu v důsledku snížené aktivity lyzyloxidázy (ISKRA a MAJEWSKI, 1999), k výskytu vývojových ortopedických onemocnění u hřibat (JEFFCOTT a HENSON, 1998b; LECOCQ a kol., 2008; LAVERTY a kol., 2000). Nedostatek mědi také souvisí s výskytem měkkých kopyt, náchylných k praskání, s přítomností krvácenin na chodidle, abscesů, může být i příčinou hnilob a laminitid (KELLON, 2008).

Zvýšený obsah mědi v krmné dávce způsobuje zvýšené ukládání mědi v organismu zvířete, především v játrech a ledvinách (NEHASILOVÁ, 2005), což může být později pro zvíře nebezpečné. Nadbytek mědi v krmné dávce způsobuje vymizení mikroflóry trávicího traktu a koně pak mohou mít problémy při trávení krmiv s vyšším obsahem vlákniny (ZEMAN a kol., 2002). Tolerance koní vůči nadměrnému množství mědi se zdá být vysoká. Obsah 800 mg Cu na kg sušiny krmiva je tolerovatelný několik měsíců. Přesto by se chovatel měl dávek přesahujících 50 mg.kg⁻¹ sušiny vyvarovat, neboť může dojít k poškození jater a nepříznivému ovlivnění využití zinku (MEYER a COENEN, 2003).

Potřeba mědi u býložravců činí 8–12 mg.kg⁻¹ sušiny krmné dávky (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Nedostatečné může být zásobení u sajících hřibat. Hřibata

přicházejí na svět jen s minimální rezervou mědi v játrech a nejsou dostatečně zásobena mědí v mléce. Následky nedostatku mědi se u rostoucích koní projeví změnami na skeletu. Vzhledem k tomu, že mléko klisen je chudé na měď a hříbata mohou zpočátku přijímat pouze minimální množství doplňkových krmiv, měl by obsah mědi v doplňkových krmivech pro sající hříbata činit 20–30 mg.kg⁻¹ sušiny (BENDER, 2000), aby množství tohoto prvku přijaté celkem v krmné dávce bylo kolem 10 mg.kg⁻¹ sušiny krmiva (MEYER a COENEN, 2003). Obsah mědi pro odstavená hříbata a chovné klisny by měl činit 10–12 mg.kg⁻¹ sušiny (MEYER, 1995). Vysokobřezím klisnám se též doporučuje zkrmování mědi na úrovni 30 mg.kg⁻¹ sušiny. Měď je uložena v játrech plodu a pomáhá novorozným hříbatům do doby, než jsou schopna přijímat adekvátní množství mědi, což napomáhá předcházet výskytu kostních problémů známých jako vývojová ortopedická choroba (HARPER a GILL, 2006). Jednomocná měď (Cu⁺) je v roztoku nestálá a snadno se oxiduje kyslíkem na Cu²⁺. Konfigurace Cu²⁺ je analogická Zn²⁺, což vysvětluje, proč zinek soutěží s mědí v transportu a absorpci (KVASNIČKOVÁ, 1998). Stejně tak v případě vysoké koncentrace železa a síry se potřeba mědi zvyšuje (JELÍNEK, KOUDELA a kol., 2003). Nicméně, ze studie HOYTA a kol. (1995) vyplývá, že nedochází ke změně v absorpci mědi se zvyšujícím se příjmem zinku. Výzkumy také odhalily interakci mezi molybdenem a mědí u přežvýkavců, která může navodit nedostatek mědi. Poměr Cu:Mo nižší než 2:1 je příčinou snížení absorpce mědi u přežvýkavců, zatímco u koní se nemusí škodlivý efekt projevit (VANDERVEEN a KEENER, 1964; cit., RIEKER a kol. 2000). Dle studie RIEKERA a kol. (2000) množství molybdenu 20 mg.kg⁻¹ sušiny nesnížilo koncentraci mědi v plazmě koní, ani se nestalo překážkou pro využití mědi. K podobnému závěru došli i PEARCE a kol. (1999), kteří sledovali vliv vysoké koncentrace molybdenu v pastvě na stav mědi u pasoucích se koní. Nicméně, poměr Cu:Mo (1:8), kde obsah Mo činil 107 mg.kg⁻¹ sušiny krmiva, u poníků snížil absorpci a retenci mědi (CYMBALUK a kol., 1981b).

Nejpoužívanější zdroje pro doplnění Cu jsou síran měďnatý pentahydrát a chelát mědi a aminokyselin n-hydrát (DOLEŽAL a kol., 2005). MILLER a kol. (2003; cit., NRC 2007) uvádějí zvýšení retence mědi a zdánlivé stravitelnosti u ročků doplňovaných organickým zdrojem mědi (proteinát) ve srovnání se síranem měďnatým. Naopak BAKER a kol. (2005; cit., NRC 2007) stanovil zdánlivou stravitelnost mědi a retenci větší u dospělých koní doplňovaných síranem měďnatým v porovnání se

shodným proteinátem mědi. PAGAN (1994; cit., NRC 2007) odhaduje skutečnou stravitelnost mědi kolem 40 % u dospělých koní.

2.2 Anatomická stavba kůže, kožních derivátů a jejich funkce

2.2.1 Kůže

Kůže sestává ze tří hlavních pásem: pokožky, škáry a podkoží (LAI-CHEONG a McGRATH, 2009). Povrchová vrstva, označovaná jako pokožka (*epidermis*), je vrstevnatá keratinizovaná a často s rohovatějším epitelem, následuje hluboká vrstva tzv. škára (*dermis*) v níž převládá kolagenní spojení tkáňových vrstev s hustou cévní a nervovou sítí a poslední vrstvou je podkoží (*subcutis*) u něhož se objevuje volněji uspořádané spojení tkáňových vrstev a může obsahovat tukovou tkáň (BUDRAS a kol., 2002; cit., BRAGULLA a HIRSCHBERG 2003).

Kůže, jako největší a nejviditelnější orgán těla, představuje anatomickou a fyziologickou bariéru mezi vnějším a vnitřním prostředím (WONG a kol., 2005). Tato povrchová vrstva poskytuje ochranu před fyzikálními, chemickými a mikrobiologickými činiteli a je smyslovou složkou vnímající teplo, chlad, bolest, svědění, dotek a tlak. Ochranná úloha kůže je nejdůležitější funkcí k zajištění vhodného vnitřního prostředí pro všechny další orgány. Chrání tělo před nepříznivými vlivy pomocí sekretů žláz, tvorbou pigmentů, ale také zrohovatělou pokožkou či chlupy (SCOTT a MILLER, 1998). Kůže tvoří asi 15 % z celkové hmotnosti těla dospělého jedince a je důležitá pro syntézu vitamínu D, čímž napomáhá formaci kostí, metabolismu vápníku a ovlivňuje imunitní procesy (LAI-CHEONG a McGRATH, 2009). Jako pokrývka těla je kůže funkčně v přímém vztahu s mnoha orgány těla zvířat, především s centrální nervovou soustavou. Kromě kožního smyslu se v kůži nacházejí četné žlázy a krevní cévy, které jí umožňují plnit i vyměšovací funkci. Kůží se z organismu vylučuje voda, minerální látky a produkty látkové výměny. Kůže plní i dýchací funkci, protože přes ni prochází asi 1 % přijímaného kyslíku (MARVAN a kol., 2003). Člověk si musí uvědomit, že kůže spolu se srstí také fungují jako zrcadlo odrážející všeobecné zdraví, nebo vnitřní patologické poruchy funkcí organismu (MARYCZ a kol., 2009).

2.2.2 Chlupy a žíně

Makroskopicky se na chlupu rozlišuje kořen a stvol. Chlupový stvol vyčnívá nad pokožku, má různý tvar a je zakončen hrotem. Chlupový kořen, vrostlý do kůže, je uložen v chlupovém váčku a na svém konci přechází do chlupové cibulky. Vlasiny – žíně se od krycích chlupů liší svou velkou délkou, tloušťkou a druhově nebo plemenně rozdílným zbarvením. Vyskytují se na některých místech těla zvířat, kde vytvářejí zvláštní chlupové soubory, označované místně jako hřiva, kštice hlavy, rousy a ocasní žíně (MARVAN a kol., 2003).

Chlup se skládá ze tří koncentrických oblastí: ochranné vnější pokožky – kutikuly, ve středu se nacházející kůry, která je nejsilnější oblastí chlupu a poskytuje sílu chlupovému stvolu a centrální dřeni, která nemusí být vždy v chlupu přítomna (LAI-CHEONG a McGRATH, 2009). Jemné chloupky v srsti koní obsahují převážně kutikulu a kůru, zatímco žíně obsahují relativně velký podíl dřeni (DUNNETT, 2005).

Chlupy jsou vláknité rohové útvary kůže savců. Funkce chlupů a žíní spočívá v ochraně koně proti pronikání a traumatům způsobených hmyzem, mají význam dekorační, pro sociální komunikaci, maskování. Tyto kožní deriváty chrání proti elektromagnetickému záření, umožňují smyslové „hmatové“ vnímání životního prostředí (STENN a PAUS, 2001), napomáhají regulovat tělesnou teplotu a poskytují ochrannou bariéru proti působení vnějšího prostředí (DUNNETT, 2005). Chlupy vykazují funkční mechanismus čištění povrchu kůže, špíny a parazitů a mechanismus transportu signálů do vnějšího prostředí: maz, feromony (STENN a PAUS, 2001).

2.2.3 Kopytní pouzdro

Kopytní pouzdro chrání kosti, klouby a měkké tkáně uložené pod ním, před působením škodlivých látek a chemickým, fyzikálním a biologickým poškozením (BUDRAS a kol., 2008; POLLITT, 2004). Rohové pouzdro také pohlcuje síly nárazu při dopadu nohy na zem během pohybu koně (KEMPSON a CAMPBELL, 1998). Nekvalitní rohovina je funkčně omezena a představuje náchylné místo pro vznik onemocnění (BUDRAS a kol., 2002; cit., BUDRAS a kol. 2008).

Tvorbu kopytního pouzdra zajišťuje škára (kopytní lůžko), jež je pokryta zárodečnou vrstvou. Jedná se o hustou pojivovou tkáň s velkým obsahem elastických vláken, bohatě prokrvenou a inervovanou (POLLITT, 2004). Škára přivádí do pokožky všechny potřebné živiny, které jsou nutné pro výrobu zdravých a odolných

epidermálních buněk (GEYER, 2005). Dle lokalizace se člení na škáru obruby, korunky, stěny, chodidla a střelky. Tloušťka škáry je 2–3 mm (MARVAN a kol., 2003).

Kopyto je silně zrohovatělá epidermální struktura bez cév a nervů. Je produktem neustálého dělení bazálních buněk zárodečné vrstvy, lokalizovaných na dermoepidermálním přechodu. *Dermis* od *epidermis* odděluje bazální membrána, ke které jsou pevně připojeny epidermální buňky prostřednictvím hemidesmozomů. Bazální buňky a vedlejší suprabazální buňky jsou navzájem spojeny četnými desmozomy. Zatímco se bazální buňky dělí, nově formované dceřiné buňky se začínají diferencovat procesem známým jako keratinizace. Rozlišováním epidermálních buněk kopyta se utvářejí tři odlišné histologické vrstvy: *stratum germinativum* (zárodečné – bazální buňky s velkými jádry a omezenou cytoplazmou, trvale připojené k bazální membráně), *stratum spinosum* (buňky s ostny “trnité buňky“ vzhledem k velkému počtu desmozomů) a *stratum corneum* (bezjaderné, plně keratinizované “zrohovatělé“ buňky). Pokud jsou dospělé keratinocyty navzájem stmeleny, formují pevnou ochrannou bariéru bránící průchodu vody a ve vodě rozpustných látek dovnitř kopyta a ztrátám tělních tekutin. Kromě působení jako permeabilní membrána působí také keratinocyty jako opora pro celou hmotnost koně. K dosažení tohoto cíle jsou keratinocyty uspořádány ve specializované válcové tubuly nebo jako listové lamely (POLLITT, 1992).

Kopytní rohovina tedy sestává ze zrohovatělých mrtvých epidermálních buněk, které jsou spojeny mezibuněčným tmelem. Na vnitrobuněčné úrovni, histochemie odhalila charakteristický vzor distribuce sulfhydrylových skupin a disulfidových můstků ve vztahu ke stupni diferenciaci epidermálních buněk. Sulfhydrylové skupiny obsahující aminokyseliny se hromadí ve vrchní vrstvě přiléhající k okraji kornifikace. Během konečné diferenciaci, tj. kornifikaci (rohovatění), se množství sulfhydrylových skupin náhle snižuje a je doprovázeno zřetelným zvýšením disulfidových můstků (MÜLLING a kol., 1999). Tubulární kopytní stěna se skládá z tvrdého keratinu, který je bohatý na disulfidové můstky a má vynikající fyzikální pevnost. Naproti tomu obruba, střelka a bílá čára jsou bohaté na sulfhydrylové skupiny, ale chudé na disulfidové můstky, mají tedy nižší fyzikální pevnost, ale významnou elasticitu (BRAGULLA a kol., 1994; cit., POLLITT 1998). Mezibuněčný tmel určuje kvalitu a vlastnosti kopytní rohoviny na extracelulární úrovni (MÜLLING a kol., 1999).

Kopytní pouzdro (Obr. 2) se člení na rohovou stěnu, rohové chodidlo a rohovou střelku (MARVAN a kol., 2003).

2.2.3.1 Rohová stěna

Rohová stěna je nahoře ohraničena korunkovým okrajem, kterým přechází tvrdá rohovina korunky přes světlou a měkkou obrubu, představující vzadu se rozšiřující cirkulární lem, do pokožky kůže. V zadní části kopyta v patkovém úhlu přechází do kopytní plochy chodidla a vytváří rozpěrky (DUŠEK a kol., 2007). Rohová stěna je nejsilnější ve své přední části, dozadu se zeslabuje a stává elastičtější. Rohová stěna má v průměru tloušťku až 1 cm (MARVAN a kol., 2003).

Na makroskopické úrovni je kopytní stěna tvořena třemi morfologicky odlišnými vrstvami, jmenovitě *stratum externum*, *stratum medium* a *stratum internum*.

Glazura (*stratum externum*) vyrůstající z obruby vypadá jako střešní tašky. Je velmi měkká a drobná, proto dorůstá jen několik centimetrů a rychle se otírá. Díky množství lipidů v sobě velmi dobře drží vodu – jejím úkolem je udržovat potřebnou vlhkost v oblasti korunky, aby zde mohly dobře žít a množit se buňky produkující pevnou rohovinu kopytní stěny (ŠVEHLOVÁ, 2008).

Ochranná vrstva (*stratum medium*), která představuje podstatnou část kopytní stěny, vykazuje na mikroskopické úrovni výraznou strukturní skladbu z tubulů a mezitubulární (mezirourkové) rohoviny (Obr. 3). Rohové tubuly se skládají z centrální dřevové dutiny (dřeně), obklopené buněčnou kůrou. Jednotlivé tubuly jsou obklopeny a odděleny mezitubulární rohovinou (POLLITT, 1995; cit., REILLY a kol. 1998a). Na zevní ploše ochranné vrstvy a eventuálně glazury jsou patrné hladké paralelně s korunkovým okrajem probíhající prstence, které jsou známkou rozdílných podmínek růstu rohoviny (Obr. 4). Tato vrstva není prokrvená ani opatřena nervy, proto není citlivá a zajišťuje bezbolestný kontakt kopyta se zemí. Nejpevnější je přední část kopytní stěny, protože ji kůň zatěžuje nejvíce (STACHOVÁ, 2003).

Spojovací vrstva (*stratum internum*) je vnitřní částí rohové stěny, kterou tvoří primární a sekundární rohové lístky, mezi něž se vkládají podobně utvářené lístky škáry. Tímto způsobem je dosaženo těsného spojení mezi rohovou stěnou a pod ní ležící škárou a současně zavěšení vnitřních částí kopyta v rohovém pouzdru, takže chodidlo, střel a patky nesou jen malý díl hmotnosti těla. Je-li spojení mezi stěnovou škárou a rohovým pouzdrem následkem onemocnění porušeno (otok škáry, např. při laminitidě), nastává pokles nebo rotace kopytní kosti (POLLITT, 2004).

2.2.3.2 Rohové chodidlo

Rohové chodidlo má poloměsíčitý tvar, je mírně klenuté (vyduté) a v kaudální části je střelem rozděleno na dvě ramena, která se vkládají do patkových úhlů rohové stěny. V oblasti střelu jsou merokrinní potní žlázy, v oblasti kopytních patek jsou apokrinní žlázy, jejichž sekret zlepšuje pružnost rohoviny a dává jí typický pach (JELÍNEK a JELÍNEK, 2006). Rohové chodidlo, které je produktem chodidlové škály, tvoří asi 1 cm tlustou destičku (DUŠEK a kol., 2007). Chodidlo přiléhá k zemi pouze na svém obvodu (BRAGULLA a HOMBERGER, 2007).

2.2.3.3 Rohová střelka

Rohová střelka má trojboký tvar, přičemž její hrot směřuje do středu chodidla a obě ramena dozadu, kde přecházejí v rohové patky (MARVAN a kol., 2003). Rohovina střelu je velmi silná, dosahuje tloušťky asi 2 cm, pro svůj vysoký podíl vody má však menší tvrdost. Ramena rohového střelu jsou při zatížení končetiny v kontaktu se zemí a zmírňují nárazy. Klínovitý střel je tvořen měkkou a elastickou rohovinou (BRAGULLA a HOMBERGER, 2007).

2.3 Složení kopyt, žíní a faktory ovlivňující obsah minerálních látek v kožních derivátech

2.3.1 Složení kopyt a žíní

Rohovinu produkující buňky jsou specializovány na vysokou rychlost syntézy proteinů, tzv. keratinů. Síťovým spojením keratiny vytváří stabilní proteinové komplexy zajišťující mechanickou a chemickou stabilitu rohoviny. Keratinizující epidermální buňky také produkují mezibuněčný tmel obsahující glykoprotein a komplex lipidů, jako fosfolipidy, glykolipidy a acylglykosylceramidy. Jejich hlavní funkcí je zajistit adhezi jedné buňky k druhé, což poskytuje mechanickou stabilitu rohoviny. Tyto látky tedy chrání rohové buňky před nadměrnou ztrátou vody, stejně jako před extrémní hydratací (MÜLLING a BUDRAS, 1998). Kopytní rohovina obsahuje přibližně 93 % dusíkatých látek v sušině (HUNTINGTON a POLLITT, 2005), přičemž hlavní strukturní bílkovinou kopyt je alfa-keratin. Keratin je stejně jako všechny bílkoviny tvořen z aminokyselinových jednotek (KELLON, 2008). Kopyto obsahuje značné množství

cystinu, argininu, leucinu, lysinu, prolinu, serinu, glycinu a valinu a nižší úroveň metioninu, fenylalaninu a histidinu. Nejbohatěji zastoupenými aminokyselinami koňských žíní jsou cystin, kyselina glutamová, serin, arginin, leucin, prolin a glycin (SAMATA a MATSUDA, 1988). EK FALCK a kol. (1990) prokázali jasný rozdíl mezi distribucí dvou síru vázajících aminokyselin v rohovatějící pokožce. Cystin se nachází především v keratinocytech rohovatějící zóny v matrix a jaderných keratinocytech, které tvoří neúplně zrohovatělou bazální část primárních epidermálních lamel. Metionin byl nalezen především v bazální vrstvě (*stratum basale*) a v *stratum spinosum* matrix a v druhotných epidermálních lamelách laminární vrstvy. Vzhledem ke složení kopytní stěny, obsahuje většina komerčně dostupných doplňků, pro zlepšení kvality kopytní rohoviny, metionin. Nicméně metionin je jen jednou z aminokyselin obsažených v kopytní tkáni a nedostatek každé esenciální aminokyseliny může být stejně škodlivý jako nedostatek metioninu (SAMATA a MATSUDA, 1988). COENEN a SPITZLEI (1997) srovnávali obsah aminokyselin normálních kopyt a kopyt s nízkou kvalitou rohoviny. Nalezli lineární korelaci mezi obsahem cystinu a tvrdostí v normální rohovině, tento vztah však nebyl potvrzen u nekvalitní rohoviny. Protein kopyt s normální rohovinou obsahoval vyšší hladiny treoninu, fenylalaninu a prolinu a nižší úroveň argininu než kopyta s nekvalitní rohovinou. Sulfhydrylové skupiny, jak je publikováno po mnoho let, jsou důležitým faktorem pro fyziologický proces keratinizace kopyt (EK FALCK a kol., 1990), fixace proteinů a tím kvalitu rohoviny (MÜLLING a kol., 1999).

Kopytní tkáň obsahuje přibližně 3–6 % tuků (HUNTINGTON a POLLITT, 2005). Tukové látky, nacházející se v neporušené vrstvě rohoviny, se stávají pečetí pro vlhkost v hlubších částech kopyta. Hlavní tuk je sulfát cholesterolu, který je polárním lipidem. "Měkká" rohovina, zejména v oblasti bílé čáry – má méně tuků a více skvalenu. Skvalen je prekurzor cholesterolu. Jeho vyšší hladina v této oblasti má za následek vznik měkčí, kolem buněk vodnatější oblasti, což způsobuje snadnější sklouzávání rostoucí kopytní stěny. Různé tuky a vosky také vyplňují mezery mezi keratinocyty, to dává vnější vrstvě zdravého kopyta hladký a lesklý vzhled (KELLON, 2008). Z provedených studií však vyplývá, že zvýšený příjem tuků z diety měl pouze omezený vliv na rychlost růstu kopytní rohoviny a její pevnost (HUNTINGTON a POLLITT, 2005). Nicméně změna tuků v potravě může být příčinou odlišného složení tuků v kopytní stěně (KELLON, 2008).

Vzhledem k vysoké koncentraci dusíkatých látek v kopytním pouzdru si většina vitamínů skupiny B zapojených do metabolismu bílkovin zaslouží zvláštní pozornost. Jedná se především o biotin, pyridoxin, kyselinu listovou a vitamín B₁₂ (KELLON, 2008). Biotin je vitamínem s největším významem pro tvorbu rohoviny, napomáhá totiž syntéze keratinu a tvorbě mezibuněčného cementu. Při doplňování biotinu dochází ke zlepšení kvality intercelulárního cementu, čímž se pozitivně ovlivňuje celistvost a neporušenost kopyt (MUELLING, 2009; COMBEN a kol., 1984; ZENKER a kol., 1995), stav bílé čáry a zvyšuje se pevnost v tahu (JOSSECK a kol., 1995; BUFFA a kol., 1992). KEMPSON (1987; cit., NRC 2007) s použitím skenovací elektronové mikroskopie identifikoval dva typy defektů ve vzorcích kopyt koní s tenkou, drobivou rohovinou. První typ defektu byl charakterizován ztrátou struktury *stratum externum* stěny kopytní, zatímco druhý byl popsán ztrátou tubulární struktury ve vnitřní vrstvě stěny kopytní. Příznaky nedostatku biotinu jsou spojeny s výskytem slabé stěny s křehkou kopytní rohovinou (CRANDELL, 2001). U koní vykazujících křehkou kopytní rohovinu byly dle BENDERA (2000) dodatečné denní dávky biotinu od 3 mg/100 kg živé hmotnosti po více měsíců během léčby úspěšné. Při těžkých škodách na kopytní rohovině, způsobených např. nedostatečnou péčí o kopyta, špatným kovááním, pobyty v blátivých výběžích mohou být dávky zvýšeny. Biotin je nejdražší vitamín používaných doplňků, nezbytná je také trpělivost při jeho aplikaci, protože trvá 9–12 měsíců, než dojde k obměně celé rohové stěny (HUNTINGTON a POLLITT, 2005).

Žíně jsou zrohovatělá vlákna, která se vyvíjejí ze základní hmoty buněk chlupového folikulu v kožním epitelu (COMBS a kol., 1982). WYSOCKI a KLETT (1971) navrhli, že pot vyloučený mazovými žlázkami může být důležitým zdrojem minerálních prvků v žíních a že mastné sekrety apokrinních žláz mohou poskytovat fyzikální nebo chemické prostředky, kterými mohou být exogenní minerální látky vázány do chlupů. Chlup je během formace vystaven cirkulující krvi, míze a extracelulární tekutině. Když se vlas blíží povrchu kůže, je odstraněn z místa metabolické aktivity a podstupuje keratinizaci (HINNERS a kol., 1974). Také chlup obsahuje skupinu na síru bohatých proteinů zvaných keratin. V chlupovém stvolu formuje keratin dlouhá vlákna, která jsou vzájemně velmi pevně vázána skrze nahrazení SH skupiny disulfidovými můstky (S–S) a pomocí příčných vazeb s dalšími proteiny – výsledkem je velmi tuhá, vysoce stálá struktura (HARKEY, 1993). Přibližně 85 % keratinu zahrnuje kůra. Kromě bílkovin obsahuje chloupek řadu různých

biochemických složek včetně melaninů, vody, lipidů a anorganických minerálních látek. Disulfidové můstky mohou být hlavními vazebnými místy minerálních látek v žíních (HINNERS a kol., 1974; HOPPS, 1977; cit., COMBS a kol. 1982). Žíně jsou dehydratovanou strukturou. Obsah vody v žíních pochází z atmosférické vlhkosti a potu a mění se přímo s okolní relativní vlhkostí prostředí (DUNNETT, 2005). HARKEY (1993) uvádí, že lidské vlasy obsahují (v závislosti na obsahu vlhkosti) přibližně 65–95 % bílkovin, 15–35 % vody a 1–9 % tuků. Obsah minerálních látek v sušině vlasů je asi 0,25–0,95 %. Ve vlasech mohou být nalezeny jak esenciální stopové prvky, tak těžké kovy.

Potřebnými živinami pro správnou funkci kůže a jejích derivátů jsou: aminokyseliny, speciálně síru obsahující aminokyseliny, jako cystein a metionin, esenciální mastné kyseliny, vitamíny, zejména biotin, vitamíny A, E, D, minerální látky, především vápník a stopové prvky, jako je zinek a měď (TOMLINSON a kol., 2004; BUFFA a kol., 1992; KOVACS a SZILAGVI, 1973; MARYCZ a kol., 2009; JACKSON, 1998).

2.3.2 Vliv výživy na obsah minerálních látek v kožních derivátech

Nutriční faktory hrají významnou roli při určování kvality a integrity rohoviny v geneticky podmíněném rámci (MUELLING, 2009). Strukturní změny v pokožce pod vlivem podvýživy nebo nedostatku některých nutričních faktorů výrazně demonstrují význam přiměřeného zásobování keratinizujících epidermálních buněk (MÜLLING a kol., 1999). Nedostatečná výživa může být příčinou tvorby matné, suché, křehké a řídké srsti (LEWIS, 1995; cit., DUNNETT 2005), stejně jako lámavé, nekompaktní a infekci náchylné rohoviny (EUSTACE, 1994; BENDER, 2000; GEYER, 2005).

Zdraví kopyt je nadstavbou zdraví koně. V případě nedostatku minerálních látek, který může ohrozit zdraví koně obecně, bude i zdraví kopyt ovlivněno negativně. Aktuální smýšlení o vztahu výživy a integrity kopyt klade příliš velký důraz na zinek a příliš malý důraz na jiné minerální látky potřebné pro odpovídající metabolismus. Zinek se podílí na zdraví a integritě žíní, kůže a kopyt, ale přídavek zinku k dietě, která již obsahuje dostatečné množství tohoto prvku, nevede k žádnému dramatickému zvýšení kvality kopyt (HUNTINGTON a POLLITT, 2005). COENEN a SPITZLEI (1997) prokázali, že koně s nízkou kvalitou rohoviny měli nižší hladinu zinku v krvi a kopytech, v porovnání s koňmi s normální rohovinou. BUTLER a HINTZ (1977)

nalezli prokazatelně vyšší hladiny zinku v kopytní rohovině limitovaně krmených poníků s nižší rychlostí růstu kopyt, nenalezli však žádnou korelaci s pevností a pružností rohoviny. Koně přijímající dietu s nízkým obsahem zinku a mědi pravděpodobně častěji podléhají onemocnění bílé čáry než koně s doplňkem těchto stopových prvků (HIGAMI, 1999). Minerální látky, především vápník, jsou nezbytné pro aktivaci enzymů, které jsou bezpodmínečně nutné pro fyziologickou keratinizaci a rohovatění (MÜLLING a kol., 1999). Vápník aktivuje enzym zvaný epidermální transglutamináza (KELLON, 2008). Tento makroprvek hraje důležitou roli v regulaci buněčného diferencování epidermálních keratinocytů a má vliv na tvrdost rohoviny (ABDIN-BEY, 2007). Vápník je důležitý pro celistvost kopytní stěny a esenciální soudržnost buněk rohoviny (HARPER a GILL, 2005).

Při srovnání chlupů s dalšími typy klinických vzorků, mají chlupy různá použití a dokonce i výhody nad krví a močí. Zatím co moč a krev inklinují k ukázce současného nebo nedávného tělesného stavu, chlupy reprezentují delší čas tvorby, potenciálně až roky (BASS a kol., 2001; DUNNETT a LEES, 2004). Elementy se v chlupcích vyskytují ve vyšších hladinách, umožňují citlivější a kvůli vyšším úrovním, více analyticky přesné výsledky. Shromažďování, přeprava a skladování chlupů je jednodušší a bezpečnější než v případě krve či moči a analýza je levnější (BASS a kol., 2001).

Analýza minerálního složení chlupů (žíní) domestikovaných zvířat byla předložena jako metoda hodnocení jejich nutričního stavu (ARMELIN a kol., 2001). Již v roce 1964 (cit., ARMELIN a kol. 2001) SIPPEL a kolektiv věřili, že analýza koňských žíní může být užitečná, ale uvedli, že tato metoda by měla být považována za experimentální. Vliv diety na koncentraci minerálních látek v žíních vzbuzuje značný zájem. Výzkumy naznačují, že koncentrace některých stopových prvků v žíních mohou být ve vztahu k příjmu jednotlivých látek z diety (COMBS a kol., 1982). DUNNETT a LEES (2003) provedli pokusy pro použití analýz žíní jako indikátoru minerálního stavu celého těla. Minerální látky včleněné do folikulů zřejmě odrážejí minerální stav v čase, ve kterém byla vlasová vlákna syntetizována (COMBS, 1987). V experimentu, který provedli WYSOCKI a KLETT (1971) byl zkoumán např. vápník a fosfor. Tito autoři zaznamenali pouze nízké korelace mezi příjmem vápníku a fosforu a jejich obsahem v žíních poníků. Dle COMBSE a kol. (1982) bylo použití analýzy žíní k monitorování příjmu vápníku a fosforu neúspěšné. COMBS (1987) uvádí, že pro několik prvků (hořčík, měď, zinek a selen) existuje vztah mezi obsahem minerálních látek v žíních a

příjmem minerálních látek, tyto korelace jsou však nízké. Dle BIRICIKA a kol. (2005) neodrážela koncentrace Cu v séru a žíních klisen hladinu Cu použitou v dietě. Naopak JACOB a kol. (1978) uvádějí pozitivní korelaci mezi příjmem mědi a jejím obsahem v chlupcích potkanů. Také O'MARY a kol. (1970) usoudili, že hladina Cu v dietě ovlivňovala koncentraci Cu v žíních skotu. Množství Cu v žíních může být ovlivněno koncentrací síry a molybdenu v dietě. Tento vzájemný vztah může komplikovat použití analýzy žíní k indikaci příjmu Cu. Z výzkumu BIRICIKA a kol. (2005) dále vyplývá pozitivní korelace mezi příjmem železa a jeho obsahem v žíních, tato korelace však nebyla potvrzena v případě séra, podobné výsledky byly nalezeny i v případě Zn. V několika studiích bylo demonstrováno, že koncentrace zinku v žíních koreluje s příjmem Zn z diety (REINHOLD a kol., 1967; MILLER a kol., 1970; PERRY a kol., 1968; cit., BEESON a kol. 1977). Stopovými prvky, zejména mědí, zinkem a selenem se zabývali i WICHERT a kol. (2002a). Nicméně, jsou zde stále obavy o tom, zda obsah žíní správně koreluje s hladinami celého těla (HINTZ, 2001). Dle COMBSE (1987) zapříčiňuje změny v obsahu minerálních látek v žíních mnoho faktorů, čímž se analýza žíní stává nepřesným indikátorem minerálního stavu. Platnost tohoto přístupu u koní je třeba teprve potvrdit (HINTZ, 2001).

2.3.3 Vliv dalších faktorů na obsah minerálních látek v kožních derivátech

- **Věk** – O'MARY a kol. (1970) nenalezli signifikantní rozdíl v obsahu zinku a fosforu v žíních skotu různého věku. Z dalších studií provedených na skotu (MILLER a kol., 1965), potkanech (REINHOLD a kol., 1967) a lidech (KLEVAY, 1970a) vyplývá průkazný rozdíl mezi odlišnými věkovými skupinami a obsahem zinku v kožních derivátech. KLEVAY (1970b) nenalezl průkazný vliv věku na hladinu mědi ve vlasech.
- **Sezóna** – sezónní vliv byl pozorován při vyhodnocení pevnosti kopyt koní, všechna kopyta byla pevnější v sušším období (BUFFA a kol., 1992). WYSOCKI a KLETT (1971) našli vyšší koncentraci vápníku a fosforu v žíních poníků v letním období než v zimním. Spekulovali o tom, že to může být částečně způsobeno zvýšeným pocením v průběhu letních měsíců. BIRICIK a kol. (2005) došli k závěru, že s výjimkou Cu je obsah minerálních prvků v žíních statisticky průkazně nižší ($P < 0,05$) v zimě než v létě. COMBS a kol. (1982) sbírali žíně od skotu, v březnu a srpnu, a našli vyšší koncentraci sodíku, hořčíku, draslíku, manganu, vápníku a

mědi v srpnových vzorcích. Došli k závěru, že obsah zinku a fosforu nebyl mezi sezónou změněn, a že koncentrace železa byla nižší ve vzorcích získaných v srpnu. MILLER a kol. (1965) publikovali sezónní model pro akumulaci Zn v žíních skotu. Žíně shromažďované v listopadu měly obsah Zn nižší než žíně odebrané v dalším průběhu roku. Vliv sezóny na obsah minerálních prvků v žíních může odrážet dietní změny, jestliže není brán zřetel na zajištění jednotné krmné dávky.

- **Plemeno** – některá plemena jsou známá tvrdostí a kvalitou kopyt (např. arabští koně a mnoho plemen poníků), zatímco jiná mají obecně mnohem méně kvalitní kopyta (obzvláště plnokrevníci). Samozřejmě v rámci jednoho plemene se vyskytují různé jedinci (**individualita jedince**) s různě kvalitními kopyty, svoji roli hraje i prostředí, ve kterém žijí. V několika pokusech byl srovnáván obsah minerálních látek žíní u různých plemen skotu (COMBS a kol., 1982; O'MARY a kol., 1970). Z práce ASANO a kol. (2005a) je patrné, že koncentrace Zn, Cu a železa v žíních jezdeckých koní s rozdílnou plemennou příslušností nebyly statisticky rozdílné.
- **Barva** – porovnání černých a červených žíní indikovalo vyšší podíl popele, sodíku, vápníku, fosforu, hořčíku a draslíku u černých žíní. Znatelné rozdíly však byly nalezeny zejména při srovnání bílých a pigmentovaných žíní. Bílé žíně obsahovaly výrazně nižší množství popele, vápníku, hořčíku, draslíku a sodíku. Obsah Cu, Zn a fosforu byl poměrně vyrovnaný a v bílých žíních převažoval obsah železa (O'MARY a kol., 1970). Koncentrace Cu v žíních patrně není ovlivněna jejich barvou. Obsah Cu v červených, černých a bílých žíních skotu byl podobný (O'MARY a kol., 1970; ANKE, 1965; cit., COMBS a kol. 1982). Hladina Zn v žíních hnědáků a ryzáků byla průkazně nižší než u koní s šedými žíněmi, v případě Cu byl nalezen průkazně nižší obsah pouze u hnědáků (ASANO a kol., 2005b).
- **Pohlaví** – Ve studii provedené ASANEM a kol. (2005a) nebyl nalezen průkazný rozdíl mezi hladinami stopových prvků v žíních u klisen, hřebců a valachů.
- **Rychlost růstu** – BUTLER a HINTZ (1977) našli prokazatelně vyšší hladiny zinku v kopytní rohovině limitovaně krměných poníků s nižší rychlostí růstu kopytní rohoviny.

2.4 Rychlost růstu a faktory ovlivňující růst kožních derivátů

2.4.1 Rychlost růstu kopyt a žíní

Kopytní stěna roste během celého života koní. K průběžné obnově kopytní stěny dochází v korunkovém okraji, kde zárodečné buňky (epidermální bazální buňky) produkují populace dceřiných buněk (keratinocytů, nebo keratin produkujících buněk), které dospívají a keratinizují, čímž nepřetržitě doplňují proximální kopytní stěnu (POLLITT, 1998; POLLITT, 2004). Kopyta s nekvalitní rohovinou mají pomalé tempo růstu (HARPER, 2005). Kopytní stěna roste rychlostí 6–9 mm za měsíc u koní dospělých až starších. U hříbat až ročků dosahuje rychlosti 15–12 mm za měsíc (EVANS, 1992). K absolutní obměně celé stěny kopytní dojde za 9–12 měsíců, boční stěny odrostou asi za 6–8 měsíců a patky za 4–5 měsíců. Proto je na patkách vždy novější rohovina více než v dolní části přední stěny kopyta a je také měkčí a pružnější (obsahuje více vody). Rohovina chodidla odroste asi za 3 měsíce, přičemž průměrná rychlost růstu dosahuje 5–6 mm/měsíc (GEYER, 2005). Bohužel však rapidní růst kopytní stěny nemusí být synonymem vysoké kvality kopyt (HUNTINGTON a POLLITT, 2005).

Růst chlupů je u většiny zvířat cyklický (HOPPS, 1977; cit., COMBS a kol. 1982). Růstový cyklus chlupových folikulů zahrnuje dlouhou periodu aktivního růstu chloupku (anagenová fáze), během níž se aktivně tvoří nové chlupové stvolý. Krátkou přechodnou periodu pomalého růstu (katagenová fáze) a klidovou periodu bez růstu (telogenová fáze), ve které nastává línání chlupových stvolů, přičemž ke smršťování folikulů dochází až když je nečinný chloupek dozrálý (HARKEY, 1993; STENN a PAUS, 2001; DUNNETT a LESS, 2003; COMBS a kol., 1982; RANDALL a EBLING, 1991). Ačkoliv telogenová fáze končí, dochází k umocnění regenerace chlupové základní matrix kmenových buněk, v permanentní části folikulů, pod kontrolou kožní papily (GAILBRAITH, 1998; cit., DUNNETT a LESS 2003). Toto vede k formování nového chlupového stvolu a tento růst způsobuje línání předchozího chloupku (RANDALL a EBLING, 1991). Rychlost růstu hřívy i ocasních žíní je v průběhu dvanácti měsíční periody relativně konstantní (DUNNETT a LESS, 2003).

2.4.2 Vliv výživy na růst kožních derivátů

Uspokojování energetických požadavků by mohlo být prvním a nejdůležitějším krokem k zajištění adekvátního růstu a integrity kopyt. Koně v negativní energetické bilanci využívají dietní či tělesné bílkoviny k uspokojení energetických požadavků na záchovu a růst, což může vytvořit sekundární deficit proteinů nebo aminokyselin (HUNTINGTON a POLLITT, 2005). Z pokusného sledování BUTLERA a HINTZE (1977) vyplývá o 50 % vyšší rychlost růstu kopytní stěny rostoucích poníků v pozitivní energetické bilanci, ve srovnání s limitovaně krmenými poníky se sníženou rychlostí tělesného růstu.

Krmné dávky s nedostatkem proteinu vedou ke snížení růstu kopyt, štěpení a popraskání rohoviny (LEWIS, 1995; cit., HUNTINGTON a POLLITT 2005). GRAHAM a kol. (1994) studovali vliv podání lysinu a treoninu na růst a vývoj ročeků. Přídavek lysinu k základní dávce vedl ke zvýšení růstu, tento účinek byl navíc navýšen dalším přídatkem treoninu, nedošlo však k žádným evidentním změnám v rychlosti růstu kopyt. To naznačuje, že aminokyseliny potřebné pro růst těla a růst kopyt jsou odlišné.

Zinek a vápník jsou kritickými prvky pro růst a pevnost kopyt. Doplnění zinku k dietě, která již obsahuje dostatečné množství tohoto prvku, nepovede k žádnému dramatickému zvýšení tempa růstu kopyt (HUNTINGTON a POLLITT, 2005).

Biotin (vitamín H) je významným koenzymem čtyř karboxyláz a růstovým faktorem buněk (ZEMPLENI a MOCK, 2001). JOSSECK a kol. (1995) v porovnávací studii v chovu lipického koně neprokázali vliv biotinu na rychlost růstu rohoviny. K podobnému závěru došli také GEYER a SCHULZE (1994; cit., HUNTINGTON a POLLITT 2005). Naopak BUFFA a kol. (1992) i REILLY a kol. (1998b) stanovili vyšší rychlost růstu kopytní rohoviny u koní s doplňkem biotinu v porovnání s kontrolní skupinou, bez přídatku tohoto vitamínu.

Je evidováno, že adekvátní množství vitamínu A v dietě může být důležité pro podpoření normálního růstu kopytní stěny (HUNTINGTON a POLLITT, 2005).

2.4.3 Ostatní faktory ovlivňující růst kožních derivátů

- **Věk** – tempo růstu kopyt je v korelaci se srdeční frekvencí. Mladá zvířata mají dvakrát vyšší srdeční frekvenci než starší, stejně tak mají mladí koně vyšší rychlost růstu kopyt než starší. Se zvyšujícím se věkem se tedy rychlost růstu kopyt snižuje

(EVANS, 1992). HAHN a kol. (1978; cit., VERMUNT a GREENOUGH 1995) stanovili vyšší rychlost růstu rohoviny paznehtů u krav na první laktaci v porovnání s kravami na druhé laktaci. Vliv věku na rychlost růstu paznehtů byl také nalezen v experimentu PRENTICE (1973; cit., VERMUNT a GREENOUGH 1995), kde paznehty telat a jalovic rostly o 26 a 13 % rychleji než paznehty starších krav. V pokusném sledování DUNNETTA (2005) nebyl nalezen prokazatelný vliv věku na rychlost růstu žíní v hřívě i ocasu. Ke stejnému závěru došli i TRACEY a kol. (2002; cit., DUNNETT a LESS 2003).

- **Sezóna** – kopytní stěna koní roste pomaleji v zimě a rychleji v létě (ADAMS, 1974; cit., HAHN a kol. 1986). Experimenty na malém počtu koní po krátký interval indikují relativně konstantní rychlost růstu žíní (WHITTEM a kol., 1998). POPOT a kol. (2000; cit., DUNNETT a LEES 2004) uvedli možnost sezónních změn v růstu žíní. Studie v laboratoři DUNNETTA a LESSE (2003) zahrnující 29 koní různých plemen prokázala, že růst hřívý i ocasních žíní je relativně konstantní v průběhu dvanácti měsíční periody. Při srovnání jednotlivých měsíců byly nalezeny mírné rozdíly v rychlosti růstu žíní hřívý i ocasu, ale celkově nebyla nalezena zřejmá korelace mezi těmito výkyvy a klimatickými ani sezónními vlivy.
- **Plemeno** – v experimentu, který provedli TRACEY a kol. (2002; cit., DUNNETT a LESS 2003) byla u žíní hřívý i ocasu zjištěna rychlost růstu vyšší u původních poníků než plnokrevných koní. Střední přírůstky žíní byly nalezeny u kříženců.
- **Vlhkost prostředí** – má vliv jak na růst kopyt, tak i pevnost kopytní rohoviny (HUNTINGTON a POLLIT, 2005). Extrémně suché podmínky zpomalují růst rohoviny kopyt (STACHOVÁ, 2003). BUTLER a HINTZ (1977) prokázali, že vlhkost kopyt u rostoucích poníků klesla z 29 % na korunkovém okraji na 27 % na špičce prstu, což bylo spojováno s třicetiprocentním zvýšením pevnosti kopyta mezi těmito oblastmi. Kopyta s nízkou kvalitou rohoviny jsou citlivá na řadu sekundárních problémů – nejdůležitějšími jsou hyperhydratace a sekundární keratolytické infekce (EUSTACE, 1994).
- **Pohlaví** – dle WENNIGA (2000) má vliv na rychlost růstu žíní. Ze sledování TRACEYHO a kol. (2002; cit., DUNNETT a LESS 2003) nebyl nalezen žádný průkazný efekt pohlaví na rychlost růstu žíní v hřívě i ocasu. K podobnému závěru došel i DUNNETT (2005).

- **Nemoci, horečka a poranění** – mohou zpomalit a deformovat růst kopytní rohoviny, takže za několik měsíců lze na kopytech vidět prstence. Pokud dojde k poranění korunky a poškození této zárodečné tkáně, rohovina, která z tohoto místa odrůstá, může být také poškozená a rychlost růstu se sníží (STACHOVÁ, 2003).
- **Pohyb** – pohybující se kůň střídavě zatěžuje a odlehčuje kopyta, pružné kopytní pouzdro přitom různě mění tvar (kopytní mechanismus) a podporuje tak mimo jiné dobré prokrvování a tím i výživu kopytní škáry. Výsledkem je lepší a rychlejší růst kopytní rohoviny (STACHOVÁ, 2003).
- **Zátěž** – jakmile začne kůň trénovat, jeho metabolismus se zvýší a s ním se urychlí i růst kopyt (STACHOVÁ, 2003).
- **Úpravy** – dlouhá, nevystrouhaná kopyta vyvíjejí nadměrný tlak na patky, což omezuje průtok krve a tím dochází k bránění přiměřené výživy nohou. To vede k nedostatečné kvalitě rohoviny a drobivosti, neuspokojivému růstu stěny, chodidlové plochy i střelky (FRAPE, 2010). Protrhávání žíní je jednou z nejefektivnějších cest ke zvýšení růstu těchto derivátů. Stříhání žíní, aniž by došlo k poškození folikulů, má pouze malý vliv na rychlost růstu (HOPPS, 1977; cit., COMBS a kol. 1982).
- **Lokalizace** – rychlost růstu žíní se mírně liší v rámci tří oblastí krku. Nejpomalejší byla blízko kohoutku, nejvyšší na vrcholu a střední části blízko hřebenu (DUNNETT a LESS, 2003). WENNIG (2000) přisuzuje odlišné anatomické oblasti vliv na rychlost růstu chlupů. Podobně i rychlost růstu jednotlivých částí rohového pouzdra je odlišná.

3 CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA

3.1 Cíle

- Posoudit minerální výživu koní pomocí kožních derivátů a krevní plazmy.
- Vyhodnotit rychlost růstu kožních derivátů, po přidavku různých doplňků.
- Stanovit míru vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu kopytní rohoviny či žíní a množstvím v nich deponovaných prvků.
- Posoudit závislost hladin sledovaných prvků v krevní plazmě s jejich množstvím v kožních derivátech a výkalech koní.
- Zhodnotit vliv ostatních faktorů (zejména věku koní) na hladinu sledovaných prvků v žíních.

3.2 Hypotézy

- Doplňek zinku a mědi zvýší koncentrace těchto prvků v kožních derivátech a krevní plazmě oproti kontrolní skupině.
- Efekt organického zdroje zinku a mědi na organismus zvířat bude vyšší než v případě doplňku anorganického.
- Předpokládali jsme, že přidavek krmných aditiv povede ke zvýšení rychlosti růstu kožních derivátů a ovlivní vztah mezi rychlostí růstu a množstvím deponovaných prvků v žíních a kopytní rohovině.
- Předpokládali jsme nalezení pozitivní korelace mezi hladinou stopových prvků v krevní plazmě a kožních derivátech koní a ovlivnění míry vzájemného vztahu mezi hladinami sledovaných prvků v plazmě s jejich koncentrací ve výkalech v závislosti na doplňované formě stopových prvků. Přičemž se domníváme, že lepší využitelnosti bude dosaženo u organické formy stopových prvků.
- Předpokládali jsme, že věk klisen může ovlivnit hladiny minerálních látek deponovaných do struktury kožních derivátů.

4 MATERIÁL A METODIKA

Tři pokusná sledování byla provedena na farmě Boudky – Velké Němčice, v chovu p. Karla Růžičky. Do všech experimentů byli zařazeni koně plemene Český teplokrevník. Jedinci byli ustájeni v individuálních boxových stáních (podobné velikosti) s automatickými napáječkami a měli přístup do venkovního výběhu, nebo chodítka. Koně před zahájením ani během pokusných sledování nejevili žádné klinické příznaky onemocnění.

Pro níže uvedené pokusy byla vybrána krmná aditiva, která byla v případě sledování vlivu na růst a složení kopytní rohoviny koní, tvořená minerálními látkami a vitamíny s přímým vlivem k tvorbě a rychlosti růstu rohového pouzdra koní. Složení pokusných krmných aditiv bylo zvoleno na základě informací z literárních zdrojů.

Před začátkem pokusných sledování jsme vždy odebrali vzorky krmiv, u nichž byly provedeny rozborů na obsah sušiny, N-látek, vlákniny, tuku, popela a minerálních látek. Analýzy a chemická stanovení byla provedena podle zásad, které uvádí KACEROVSKÝ a kol. (1990) a v souladu s nařízením komise (ES) č. 152/2009 Sb., která nahrazuje vyhlášku Ministerstva zemědělství č. 124/2001 Sb., která stanovuje požadavky na odběr vzorků a principy metod laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů a způsob uchovávání vzorků podléhajících zkáze. Laboratorní stanovení obsahu živin bylo provedeno v laboratoři Ústavu výživy zvířat a pícninářství MENDELU v Brně.

Vzorky žíní, kopytní rohoviny a krve byly odebrány v souladu s předpisy pro pokusy na zvířatech. Stanovení minerálních látek v těchto vzorcích bylo provedeno v laboratořích Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, dále na Ústavu morfologie, fyziologie a genetiky zvířat Mendelovy univerzity a ve společnosti Mikrop Čebín a.s. Koně měli po celou dobu pokusného sledování k dispozici lizy obsahující z hlediska minerální látek pouze chlorid sodný. Na množství minerálních látek ve vodě nebyl brán zřetel.

Základní statistické parametry souboru výsledků (průměr, směrodatná odchylka) získané z jednotlivých skupin a jejich porovnání bylo zpracováno v Microsoft Excel. Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny programem STATISTICA Cz (Fisherův LSH test) a rozdíly mezi průměry byly hodnoceny dle Studentova t-testu. Korelace a regresní analýzy souvisejících hodnot v různých biologických materiálech byly také provedeny v Microsoft Excel.

4.1 Metodika odběrů a přípravy vzorků pro analýzy

V den zahájení (před aplikací doplňku) a po ukončení sledovaného období byly od koní odebrány vzorky kožních derivátů a krve.

4.1.1 Odběr a příprava vzorků kopytní rohoviny

Před odběrem rohoviny byla kopyta nejprve důkladně očištěna (drátěným kartáčem, popřípadě vodou), po sejmutí podkov u okutých koní, následovalo oddělení nečisté části pomocí kovářského nože, či struhu (Obr. 5). Vlastní rohovina byla strouhána kovářskou rašplí a zachycována do odběrových nádob (Obr. 6). Při prvním odběru byl koním těsně pod korunkovým valem vystrouhnut zářez, který nám následně umožnil sledovat přírůstky rohové stěny. Přírůstky byly měřeny s přesností na mm. Při měření byla vytvořena detailní fotografie. Porovnání jednotlivých snímků umožnilo stanovit rychlost růstu rohové stěny (Obr. 7). Po vysušení vzorku při 55 °C po dobu 5 dnů, byly vzorky pomlety a uskladněny, pro následné analýzy (Obr. 8). Obsah jednotlivých prvků ve vzorcích kopytní rohoviny a žíní byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie.

4.1.2 Odběr a příprava vzorků žíní

V den zařazení do experimentu byl koním odstraněn na zátylku 4 cm široký kus hřívy. Další odběry byly provedeny ze stejného místa po uplynutí sledovaného období. Přírůstky byly měřeny s přesností na mm. Získané žíně byly promyty ve vodě s detergentem a opakovaně v destilované vodě, usušeny a uskladněny pro následné analýzy. Obsah jednotlivých prvků ve vzorcích kopytní rohoviny a žíní byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie.

4.1.3 Odběr a příprava vzorků krve

Odběry krve byly provedeny vždy ve stejnou dobu (2 hodiny po ranním krmení), koně nebyli před odběrem fyzicky zatěžováni ani stresováni. Krev byla odebírána z *vena jugularis externa* proškoleným pracovníkem (Obr. 9). Vzorky pro rozbor minerálních látek byly odebrány do vzorkovnic s protisrážlivým činidlem – heparin. Vzorky krve byly umístěny do přepravního boxu a nejpozději do dvou hodin od odběru zpracovány. Krev byla odstředěna (2300 otáček, po dobu 20 minut) a získaná plazma zamrazena. Hladiny jednotlivých prvků ve vzorcích plazmy byly stanoveny na

atomovém absorpčním spektrometru v prvním pokusném sledování a přímého kolorimetrického stanovení bylo využito ve druhém a třetím experimentu.

4.2 Metodika laboratorních analýz

Obsah živin byl stanoven podle Wendské analýzy krmiv (ES č. 152/2009 Sb.), do které patří analýza obsahu vody, popelovin, dusíkatých látek, vlákniny a tuku. Bez dusíkaté látky výtahkové byly stanoveny výpočtem.

4.2.1 Stanovení obsahu vlhkosti

Obsah vlhkosti byl stanoven vážkově, jako úbytek po vysušení vzorku při teplotě 103 ± 2 °C.

4.2.2 Stanovení obsahu dusíkatých látek

Ke stanovení obsahu dusíkatých látek byla užita Kjeldahlova metoda určení obsahu dusíku na přístroji Kjeltec Analyzer Unit (firmy FOSS TECATOR). Faktor pro přepočtení obsahu dusíku na dusíkaté látky byl "6,25".

Princip spočívá v mineralizaci vzorku horkou kyselinou sírovou za přítomnosti katalyzátoru, kdy jsou veškeré organické dusíkaté látky převedeny na síran amonný. Z této soli je pak amoniak vytěsněn působením koncentrovaného NaOH (30 %) a obsah dusíku je stanoven na základě acidimetrické (alkalimetrické) titrace.

4.2.3 Stanovení obsahu vlákniny

Vláknina byla stanovena na přístroji ANKOM 220 Fiber Analyzer (dodala BioPro s.r.o.) vážkově jako nezhydrolyzovatelný zbytek vzorku po 30 minutové hydrolýze v roztoku kyseliny sírové, separaci pevného zbytku, následující 30 minutové hydrolýze roztokem hydroxidu sodného, promytí acetonem a po odečtení popela tohoto zbytku.

4.2.4 Stanovení obsahu tuku

Tuk byl stanoven vážkově přímou extrakcí vzorku extrakčním činidlem (diethylether) a následným oddestilováním extrakčního činidla. Pro analýzu byl použit extrakční přístroj dle Twisselmana.

4.2.5 Stanovení obsahu popela

Popel byl stanoven vážkově jako zbytek hmoty vzorku po zpopelnění při teplotě 550 ± 20 °C do konstantní hmotnosti za předepsaných podmínek.

4.2.6 Stanovení obsahu bezdusíkatých látek výtažkových

Obsah bezdusíkatých látek výtažkových BNLV (g.kg^{-1}) byl stanoven výpočtem dle vzorce: $\text{BNLV} = \text{sušina } (\text{g.kg}^{-1}) - [\text{obsah NL } (\text{g.kg}^{-1}) + \text{obsah vlákniny } (\text{g.kg}^{-1}) + \text{obsah tuku } (\text{g.kg}^{-1}) + \text{obsah popela } (\text{g.kg}^{-1})]$.

4.2.7 Stanovení hladiny minerálních prvků v kožních derivátech a výkalech

Obsah jednotlivých prvků ve vzorcích kopytní rohoviny a žíní byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie. Navážka 0,5 g homogenního vzorku byla mineralizována ve směsi koncentrované kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v mikrovlnném systému Ethos 1 (firmy MILESTONE, Itálie). Po dekompozici vzorku byl roztok doplněn demineralizovanou vodou na objem 25 ml. Koncentrace prvků v takto připravených roztocích byla stanovena na atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření s vysokým rozlišením ContrAA 700 (firmy ANALYTIK JENA, Německo). Použité vlnové délky: Zn 213,857 nm a Cu 324,754 nm. Obdobným způsobem byly stanoveny hladiny minerálních prvků ve výkalech.

4.2.8 Stanovení hladiny minerálních prvků v krevní plazmě

Koncentrace minerálních prvků ve vzorcích plazmy v pokusném sledování č. 1, pro mineralizaci pipetovány 2 ml, byly taktéž stanoveny na atomovém absorpčním spektrometru. V pokusných sledováních 2 a 3 bylo využito přímého kolorimetrického stanovení koncentrace mědi a zinku bez deproteinace v plazmě prostřednictvím přístroje Konelab T 20 xt (firmy THERMO ELECTRON OY, Finsko).

4.3 Metodiky pokusných sledování na živých zvířatech

4.3.1 Pokus č. 1

4.3.1.1 Zvířata a krmení

Šestnáct koní plemene Český teplokrevník bylo postupně zařazeno do experimentu s délkou vlastního sledování 9 měsíců. Koně různého věku (5–19 let; průměrný věk koní kontrolní skupiny $12,0 \pm 5,0$ let, klisen pokusné skupiny $7,5 \pm 2,9$ let), pohlaví (15 klisen a 1 valach), obdobné hmotnostní kategorie (520–580 kg) a lehkého pracovního zatížení, byli rozděleni do dvou skupin (Tab. 2) a podrobeni odlišné výživě. Pět měsíců před a během experimentu zvířata přijímala shodnou základní krmnou dávku, která představovala 12,5 kg sena, 1,0 kg mačkaného ovsa, 0,75 kg pšeničného a 0,75 kg ječného šrotu. Z provedených rozborů krmiv (Tab. 3) byl vypočten příjem zinku a mědi u obou skupin. Kontrolní skupina koní (n=8) přijímala přibližně 340 mg zinku/ks/den a 64 mg mědi/ks/den. Klisnám v pokusné skupině (n=8), označené jako „Krmné aditivum“, byla navíc zkrmována směs vitaminů, methioninu, zinku a mědi (Tab. 4) v množství 10 g/den. Celkový příjem zinku u této skupiny činil 440 mg/ks/den, mědi 84 mg/ks/den. Jako zdroje mědi a zinku bylo použito organických forem těchto stopových prvků (komplex aminokyselin n–hydrát).

4.3.1.2 Odběry a laboratorní testy

V den zahájení (před aplikací doplňku – počáteční hladiny) a po devítiměsíčním sledování (závěrečné hladiny) byly od koní odebrány vzorky kopytní rohoviny, žíní a krve. Vzorky kopytní rohoviny byly odebírány jak z chodidlové plochy, tak rohové stěny. Přírůstky rohové stěny a žíní byly měřeny po deseti týdnech při 4 opakováních. Přičemž měření rychlosti růstu žíní nebylo v prvních deseti týdnech provedeno.

4.3.2 Pokus č. 2

4.3.2.1 Zvířata a krmení

Do čtrnáctidenního experimentu bylo zařazeno 20 klisen plemene Český teplokrevník. Klisny různého věku (4–19 let; průměrný věk klisen „Kontrolní skupiny“ $6,9 \pm 2,8$ let; klisen skupiny „Anorganická forma“ $12,2 \pm 5,4$ let a klisen skupiny

„Organická forma“ $9,0 \pm 2,2$ let), obdobné hmotnostní kategorie (520–580 kg) a lehkého pracovního zatížení, byly rozděleny do tří skupin (Tab. 5) a podrobeny odlišné minerální výživě. Během pokusu zvířata přijímala shodnou základní krmnou dávku, která byla tvořena ad-libitním příjmem sena, který byl měřen ($12,1 \pm 0,93$ kg sena/den), 1,0 kg ovsa, 0,75 kg pšeničného šrotu a 0,75 kg ječného šrotu (Tab. 6). Klisny byly koncentrovaným krmivem krmeny dvakrát denně v 7 a 17 hodin. Koncentrát neobsahoval vyjma jmenovaných jaderných krmiv žádný další doplněk vitamínů či minerálních látek. Koním v pokusných skupinách byla navíc zkrmována při večerním krmení (17 hod.) měď, v různých formách, v množství 120 mg/den. Skupina označená jako „Organická forma Cu“ (n=7) přijímala měď v organické formě – proteínát (bioplex-Cu, firmy ALLTECH), zatímco skupině „Anorganická forma Cu“ (n=7) byla aplikována měď v anorganické formě – $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, třetí skupině „Kontrolní“ (n=6) nebylo množství mědi v krmné dávce navyšováno a sloužila jako skupina kontrolní.

4.3.2.2 *Odběry a laboratorní testy*

Vzorky krve a žíly pro stanovení obsahu stopových prvků byly odebrány v den zahájení (před aplikací doplňků mědi – počáteční hladiny) a po čtrnácti dnech experimentu (závěrečné hladiny). V závěrečných pěti dnech pokusného sledování byly také odebírány od koní výkaly, přibližně 200 g/den. Po vysušení dílčích vzorků, byl připraven vzorek zkušební, v němž byly hladiny vybraných stopových prvků stanoveny pomocí atomové absorpční spektrometrie.

4.3.3 *Pokus č. 3*

4.3.3.1 *Zvířata a krmení*

Osmnáct klisen plemene Český teplokrevník bylo postupně zařazeno do experimentu s délkou vlastního sledování 5 měsíců. Klisny různého věku (4–15 let; průměrný věk klisen „Kontrolní skupiny“ $10,3 \pm 4,8$ let; klisen pokusné skupiny „Anorganická forma“ $9,4 \pm 1,9$ let a klisen pokusné skupiny „Organická forma“ $8,2 \pm 2,6$ let), obdobné hmotnostní kategorie (520–580 kg) a lehkého pracovního zatížení, byly rozděleny do tří skupin (Tab. 7) a podrobeny odlišné výživě. Tři měsíce před a během experimentu zvířata přijímala shodnou základní krmnou dávku, která představovala přibližně 11 kg sena, 1,0 kg mačkaného ovsa, 0,75 kg pšeničného šrotu a

0,75 kg ječného šrotu. Z provedených rozborů krmiv (Tab. 8) byl vypočten příjem zinku u všech tří skupin. Kontrolní skupina (n=6) přijímala přibližně 330 mg zinku/ks/den. Klisnám v pokusných skupinách byl navíc, zkrmován zinek v různých formách v množství 100 mg/ks/den. Celkový příjem zinku u těchto skupin činil 430 mg/ks/den, tyto hodnoty odpovídají doporučenému dennímu příjmu. Jako zdroj zinku byl použit pro skupinu „Anorganická forma“ (n=6) oxid zinečnatý, pro skupinu „Organická forma“ (n=6) organicky vázaný zinek – proteinát (bioplex-Zn, firmy ALLTECH).

4.3.3.2 Odběry a laboratorní testy

Vzorky kopytní rohoviny a žíní pro stanovení obsahu stopových prvků byly odebrány v den zahájení (před aplikací doplňků zinku – počáteční hladiny) a po pěti měsících sledování (závěrečné hladiny). Vzorky rohoviny byly odebírány z chodidlové plochy. Přírůstky rohové stěny byly evidovány po padesáti dnech. Odběry žíní byly provedeny ze zátylku v opakovaných měřeních po pětatřiceti dnech. Vzorky krve pro stanovení obsahu stopových prvků v plazmě byly odebrány 1. (před aplikací doplňků zinku – počáteční hladiny) a 14. den bilance.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Během žádného z pokusných sledování nedošlo k poškození zdraví zvířat.

5.1 Pokus č. 1

V průběhu experimentu byl vyhodnocen vliv přídatku krmného aditiva, obsahujícího směs vitaminů, metioninu a z hlediska minerálních látek pouze zinek a měď v organických formách, na hladiny těchto prvků v krevní plazmě a kožních derivátech, rychlost růstu kopytní rohoviny a žíní. Následně byla také stanovena míra vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu kožních derivátů a množstvím v nich deponovaných prvků.

5.1.1 Krevní plazma

Průměrné počáteční a závěrečné hladiny sledovaných prvků v krevní plazmě koní zařazených do bilance, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 9. Z výsledků je patrné, že na počátku experimentu nebyl mezi skupinami klisen v obsahu sledovaných prvků v krevní plazmě průkazný rozdíl. Zásahem do krmné dávky klisen pokusné skupiny nedošlo ke změně hladin vybraných stopových prvků.

KRAYENBERG (2003; cit. KIENZLE a ZORN 2006) a WICHERT a kol. (2002a) prokázali, že doplněk zinku v síranové a chelátové formě vedl ke zvýšení hladiny zinku v plazmě ve srovnání se přídatkem oxidové a laktátové formy. Z práce SCHRYVERA (1980) vyplývá nárůst sérové hladiny zinku i po dlouhodobé perorální aplikaci zinku jako oxidu zinečnatého u poníků, tuto tendenci s nižší signifikancí potvrzují také WICHERT a kol. (2002b). V našem pokusném sledování nebyl vliv přídatku zinku a mědi, do krmných dávek klisen, na jejich hladiny v plazmě potvrzen. Podle práce RADOMSKÉ a kol. (2005; cit. GABRYSZUK a kol. 2008) hodnoty minerálních prvků v krvi nekorespondují s jejich obsahem v celém těle, protože výsledky složení plazmy mohou být ovlivněny vysoce efektivními homeostatickými mechanismy. Jednorázové vysoké dávky minerálních prvků mají pravděpodobně za následek plazmatickou reakci, v porovnání s nižšími dávkami aplikovanými po delší časové období. Dlouhodobá aplikace může dokonce vést ke snížení obsahu minerálních prvků v plazmě (KIENZLE a ZORN, 2006). MAIA a kol. (2006) uvádí hladinu zinku v krvi různých plemen v rozmezí 0,42–0,87 mg.kg⁻¹, podobná rozmezí 0,588–0,66

mg.kg⁻¹ popsali také u islandských koní KOLM a kol. (2005). Výsledky naší práce dosahují v hladině zinku podobných rozpětí 0,49–0,92 mg.kg⁻¹. Ze studie SMITHA a kol. (1975), který zkrmoval měď poníkům, je patrné, že i při zvyšující se koncentraci mědi v krmné dávce z 8 mg.kg⁻¹ sušiny na 791 mg.kg⁻¹ sušiny, nedošlo k výrazným změnám koncentrace tohoto stopového prvku v plazmě. Při nejnižších dávkách (8 mg.kg⁻¹ sušiny) dosáhla počáteční hladina Cu v plazmě 0,99 mg.kg⁻¹ v závěrečném odběru 0,99 mg.kg⁻¹, při dávce 458 mg Cu.kg⁻¹ sušiny bylo v počátečním odběru zjištěno 1,13 mg Cu.kg⁻¹ a v závěrečném došlo k průkaznému snížení plazmatické hladiny Cu na 0,92 mg.kg⁻¹. I v případě nejvyšších dávek 791 mg.kg⁻¹ sušiny došlo k poklesu Cu v krevní plazmě o 0,06 mg.kg⁻¹. V naší práci byly naměřeny plazmatické hladiny mědi v rozmezí 0,32–0,94 mg.kg⁻¹, přičemž přídavek mědi do krmné dávky klisen pokusné skupiny nevedl k očekávanému zvýšení její hladiny v plazmě.

5.1.2 Kopytní rohovina

V rámci experimentu bylo provedeno srovnání výchozích množství jednotlivých prvků ve vzorcích kopytní rohoviny koní s hodnotami závěrečného odběru provedeného po devítiměsíční aplikaci krmného aditiva. Průměrné počáteční a závěrečné hladiny sledovaných prvků, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 10. V počátečním odběru nebyly mezi hladinami prvků ve vzorcích kopytní rohoviny koní pokusné a kontrolní skupiny nalezeny průkazné rozdíly. Z výsledků je patrné, že zásahem do krmné dávky klisen jsme dosáhli vysoce průkazného navýšení ($P < 0,01$) hladiny zinku v kopytním pouzdru. Signifikantní diference ($P < 0,05$) byla též nalezena v případě mědi. Množství mědi v závěrečném odběru vzrostlo o 69,9 %. Rozdíly mezi počáteční a závěrečnou hladinou v obsahu jednotlivých prvků ve vzorcích kopytní tkáně koní kontrolní skupiny, bez přídavku krmného aditiva, nebyly statisticky odlišné.

Průměrná rychlost růstu kopytní stěny (Graf 1), za čtyři po sobě jdoucí desetitýdenní periody (Tab. 11), prokázala mezi skupinami signifikantní diferenci ($P < 0,01$). Celkový přírůstek rohové stěny u klisen s přídavkem krmného doplňku činil $71,50 \pm 6,66$ mm a byl tedy o 22,31 % vyšší než u koní skupiny kontrolní s rychlostí růstu $58,46 \pm 5,77$ mm. Rozdíl v rychlosti růstu mezi skupinami představoval po prvních deseti týdnech 13,78 %, v závěrečném měření dosáhl 29,42 %.

Provedeno bylo i hodnocení závislosti rychlosti růstu stěny kopytní k množství deponovaných stopových prvků v rohovině. Míra vzájemného vztahu mezi těmito

proměnnými nebyla ani u jednoho ze sledovaných prvků, obou skupin koní, staticky průkazná. Kopyta v našem experimentu rostla 2,5x pomaleji než žíně, proto za sledované období uložili koně do rohoviny více prvků při porovnání počátečního a závěrečného odběru, než do struktury žíní. Při nižší rychlosti růstu kopyt, ukládali koně průkazně vyšší množství doplňovaných prvků. Hladiny doplňovaných prvků (Zn a Cu) v žíních zůstaly nezměněny.

WICHERT a kol. (2002) stanovili v kopytech sledovaných koní (n=106) průměrný obsah mědi $7,2 \pm 4,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny a zinku $146 \pm 46 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny. Přičemž uvádějí, že u koní s ojedinělým netoxickým nadměrným zásobením mědí a zinkem, mohly být viděny vyšší obsahy těchto elementů v kopytní rohovině. ABDIN-BEY (2007) ve své práci publikoval průměrné množství mědi v rohovině 12 mg.kg^{-1} sušiny a zinku 79 mg.kg^{-1} sušiny. LEY a kol. (1998) našli průkazné ($P < 0,05$) rozdíly v množství deponovaných stopových prvků v kopytní rohovině mezi koňmi s odlišnými typy krmných dávek. Hodnoty esenciálních prvků v sušině rohoviny kolísaly od $114,00 \text{ mg Zn.kg}^{-1}$ sušiny a $9,67 \text{ mg Cu.kg}^{-1}$ sušiny u koní s příjmem pastevního porostu s přidavkem jádra, až po $133,00 \text{ mg Zn.kg}^{-1}$ sušiny a $10,05 \text{ mg Cu.kg}^{-1}$ sušiny u koní s příjmem sena. COENEN a SPITZLEI (1997) prokázali, že 25 koní vyznačujících se špatnou kvalitou kopyt, mělo nižší hladinu zinku v rohovině než 38 koní s neporušenými kopytními pouzdry. Dle jejich zjištění je patrné navýšení obsahu zinku v rohovině kopyt při doplnění 300–500 mg zinku/den. V našem experimentu byl tento trend také pozorován, klisny č. 5 a 1 vykazovaly na počátku pokusného sledování nejnižší hladiny zinku v rohovině při velmi špatné kvalitě kopytní stěny (Obr. 10). Po devítiměsíční aplikaci krmného aditiva došlo k navýšení hladin zinku i mědi a stav rohoviny se u těchto klisen viditelně zlepšil (Obr. 11).

OTT a JOHNSON (2001) zkoumali efekt minerálního zdroje na růst kopyt roček (n = 15). Rychlost růstu byla o 4 % vyšší u skupiny s příjmem zinku, manganu a mědi ve formě proteinátu ve srovnání se skupinou doplňovanou anorganickými zdroji těchto prvků. Podobný experiment na dospělých klisnách uspořádali i SICILIANO a kol. (2001). V jejich pokuse nebyla nalezena žádná diference v růstové schopnosti, tvrdosti a tažné síle kopyt klisen s náhradou 50 % denní potřeby manganu, zinku a mědi organickou formou těchto prvků. CLARK a RAKES (1982) zjistili, že přidavek hydroxyanalogu metioninu vede ke zvýšení rychlosti růstu rohoviny u krav. JOSSECK a kol. (1995) experimentálně neprokázali rozdíl v rychlosti růstu rohoviny mezi skupinou

s příjmem biotinu a placebo, průměrný nárůst dosáhl 7 mm/28 dní. Také v práci GEYERA a SCHULZE (1994) nebyla nalezena žádná diference v rychlosti růstu kopyt teplokrevníků následkem podávání 20 mg biotinu na den. BUFFA a kol. (1992) podávali skupinám koní rozdílné dávky biotinu a po desetiměsíční aplikaci vyhodnotili jejich vliv na růstovou schopnost a tvrdost kopytní rohoviny. Všechny ošetřené skupiny měly statisticky průkazně vyšší rychlost růstu a tvrdost kopyt než koně skupiny kontrolní. Nejlepších výsledků dosahovali koně s příjmem biotinu 15 mg/den. Efekt přídatku biotinu, v dávce 0,12 mg/kg tělesné váhy, na rychlost růstu rohové stěny poníků sledovali i REILLY a kol. (1998b). Rychlost růstu kopytního pouzdra u skupiny kontrolní, bez přídatku biotinu, činila po pětíměsíčním sledování $30,69 \pm 6,78$ mm. Ošetřená skupina dosáhla $35,34 \pm 5,63$ mm a vykazala tedy statisticky průkazně ($P < 0,05$) vyšší nárůst kopytní rohoviny za sledované období. ZENKER a kol. (1995) dospěli k závěru, že přídatok 20 mg biotinu/den vedl ke zlepšení kvality rohoviny u Lipických hřebců po devatenáctiměsíčním sledování. Z výzkumu BUTLERA a HINTZE (1977) je patrná o 50 % vyšší rychlost růstu kopyt poníků u skupiny s ad-libitním příjmem peletované krmné dávky než u skupiny krmené limitovaně ($0,38 \pm 0,01$ k $0,25 \pm 0,01$ mm/den). Obsah zinku kopytní rohoviny skupiny s limitovaným krmením dosáhl 136 ± 3 mg.kg⁻¹ sušiny a byl statisticky průkazně vyšší ($P < 0,01$) než u skupiny krmené neomezeně (114 ± 2 mg.kg⁻¹ sušiny).

5.1.3 Žíně

V průběhu experimentu byl také sledován vliv krmného aditiva na množství deponovaných prvků v žíních koní. Průměrné počáteční a závěrečné hladiny sledovaných prvků u koní zařazených do bilance, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 12. Z výsledků je patrné, že zásahem do krmné dávky klisen nedošlo k průkaznému navýšení množství deponovaného zinku a mědi do struktury žíní u pokusné skupiny. Rozdíl v obsahu jednotlivých prvků v žíních kontrolní skupiny, bez přídatku premixu, mezi počátečním a závěrečným odběrem také nebyl průkazný.

Průměrná rychlost růstu žíní (Graf 2), za tři po sobě jdoucí desetitýdenní periody (Tab. 11), prokázala mezi skupinami signifikantní diferenci ($P < 0,01$). Průměrný přírůstek žíní u klisen s přídatkem mixu vitamínů, methioninu a zinku a mědi v organických formách, za sledovaná období, činil $46,16 \pm 2,91$ mm a byl o 15,37 %

vyšší než u skupiny kontrolní s rychlostí růstu $40,01 \pm 3,61$ mm. Rozdíl v rychlosti růstu představoval po první periodě 13,16 % a v závěrečném měření dosáhl 17,31 %.

Naše pozornost byla také věnovaná vyhodnocení závislosti rychlosti růstu žíní k množství v nich deponovaných stopových prvků. Míra vzájemného vztahu mezi těmito proměnnými byla u koní kontrolní skupiny v případě mědi statisticky průkazná ($P < 0,05$). Graf 3 naznačuje pokles množství uloženého prvku se zvyšující se rychlostí růstu. U klisen skupiny pokusné vedlo zvýšení rychlosti růstu o 1 mm, ke snížení množství uložené mědi v sušině žíní o $0,15 \text{ mg.kg}^{-1}$. Kontrolní skupina ukládala mědi s každým přibývajícím milimetrem o $0,29 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny méně. Obdobný trend nikoliv průkazný byl pozorován také v případě hladiny zinku v žíních kontrolní skupiny klisen.

Navzdory nedostatku vědeckých údajů k prokázání spolehlivosti, analýza žíní bývá propagována jako prognostický a diagnostický test pro stanovení minerální imbalance u koní (WELLS a kol., 1990). Obsah minerální látek se v chlupech živočichů zřejmě mění nejen s minerálním příjmem, ale také s vlivem sezóny (BIRICIK a kol., 2005), plemenné příslušnosti (O'MARY a kol., 1970), pohlaví (WELLS a kol., 1990), věku (ASANO a kol., 2002), barvy chlupů (ASANO a kol., 2005b) a tělesného umístění (COMBS, 1987). Nicméně ASANO a kol. (2005a) neodhalili žádné statisticky průkazné rozdíly mezi hřebci, klisnami a valachy, podobně jako nenalezli difference mezi plemeny, či věkem zvířat. WELLS a kol. (1990) informuje, že synergické a antagonistické vztahy mezi minerálními prvky a jejich vliv na metabolismus by mohly mít větší vliv na obsah minerálních prvků v kožních derivátech než vlastní nedostatek či nadbytek některého prvku. WICHERT a kol. (2002a) určovali obsah stopových prvků v žíních koní. Průměrné množství zinku v sušině žíní činilo $126 \pm 38 \text{ mg.kg}^{-1}$ a mědi $7,3 \pm 1,7 \text{ mg.kg}^{-1}$. Autoři informují, že u koní se sporadickým netoxickým nadbytkem těchto prvků, může být viděn vyšší obsah stopových prvků v plazmě a žíních. O'MARY a kol. (1970) uvedli, že hladina mědi v dietě ovlivňuje koncentraci mědi v žíních různých plemen skotu. Bílá forma žíní byla ovlivněna více než žíně pigmentované a obsah mědi u černých žíní nebyl závislý na hladině mědi v dietě. ANKE (1966; cit., COMBS 1982) stanovil, že pigmentované žíně nebyly ovlivněny dietním doplňkem mědi. Při porovnání barvy žíní koní v našem experimentu nebyl nalezen žádný průkazný rozdíl v množství uložených stopových prvků. ASANO a kol. (2005a) stanovovali koncentraci 28 makroprvků a stopových prvků v hřívě dospělých jezdeckých koní. Množství zinku v sušině žíní činilo $178 \pm 36 \text{ mg.kg}^{-1}$ a mědi $6,72 \pm$

1,96 mg.kg⁻¹. Nižší obsah zinku v žíních 111,30 ± 9,66 mg.kg⁻¹ sušiny stanovili ARMELIN a kol. (2001) u policejních koní, naopak množství mědi bylo značně variabilní a dosáhlo hodnoty 17,03 ± 16,07 mg.kg⁻¹ sušiny. ARMELIN a kol. (2003) hodnotili vliv chelátového minerálního doplňku (Cu, Zn, železo, draslík, hořčík, mangan) na ukládání v žíních koní. V jejich experimentu byla nalezena průkazná diference (P<0,05) v koncentraci železa, draslíku a Zn mezi vzorky, což naznačuje, že doplněk zvyšuje absorpci těchto prvků v organismu zvířat. Nicméně, nelze přesně říct, zda zvýšení koncentrace železa, draslíku a Zn bylo způsobeno použitím organických forem těchto prvků (Fe-glycin, K-glycin, Zn-glycin), nebo kombinací těchto šesti minerálních komplexů, které tvořily součást doplňku. Na druhou stranu, doplnění nemělo průkazný vliv na koncentraci Cu, hořčíku a manganu v žíních. MARYCZ a kol. (2009) zkoumali korelaci elementárního složení a morfologických vlastností žíní koní po 110 dnech krmení vysoce kvalitním komerčním krmivem obohaceným o Zn a Cu v organické formě. Průměrná koncentrace Cu, Zn, síry, křemíku, hořčíku, kobaltu, železa a fosforu ve zkoumaných žíních pokusných koní před zahájením experimentu byla nižší než na konci po aplikaci komerčního krmiva. U kontrolní skupiny koní, přijímající pouze seno a oves, bylo zaznamenáno snížené množství zmíněných prvků v žíních. Naše výsledky prokázaly opačný trend, který si můžeme vysvětlit navýšením rychlosti růstu žíní klisen při zkrmování pokusného mixu. Při vyšší rychlosti růstu žíní, ukládali koně experimentální skupiny méně sledovaných prvků do struktury žíní. Pokud by přírůstek žíní u klisen pokusné skupiny byl shodný s přírůstkem koní kontrolní skupiny, je pravděpodobné, že by klisny s příjmem krmného doplňku ukládaly více prvků v žíních. V pokusném sledování MARYCZE a kol. (2009) nebyly přírůstky žíní měřeny, navíc byl minerální příjem před doplněním u ročků deficitní, protože trpěli mírnou anémií a podváhou. Naopak koně v našem experimentu nejevili žádné příznaky onemocnění. Autoři neuvádějí přesný příjem zinku a mědi u ročků, pouze informují o tom, že koně přijímali vysoké dávky těchto stopových prvků, v našem experimentu dostávali koně krmnou dávku sestavenou dle doporučení NRC (2007), tato fakta mohou být příčinou rozdílných výsledků oproti předchozímu experimentu.

DUNNETT a LESS (2003) uvádějí, že rychlost růstu hřívý i ocasních žíní je relativně konstantní v průběhu dvanáctiměsíční periody. Rychlost růstu žíní hřívý byla v jejich sledování nejvyšší v kraniální části krku, kde dosahovala 0,79 mm/den. Naše

výsledky prokázaly podobný trend. Průměrný denní přírůstek žíní hřívý klisen s příjmem minerálně-vitaminózního doplňku činil $0,66 \pm 0,04$ mm/den.

5.2 Pokus č. 2

V experimentu byl vyhodnocen vliv přísavku mědi v různých formách (síran měďnatý pentahydrát, bioplex-Cu) na její hladinu v krevní plazmě, žíních a výkalech klisen. Posouzena byla také rychlost růstu žíní. Dále byla stanovena míra vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu žíní a množstvím v nich deponované mědi, stejně jako korelace mezi plazmatickou hladinou mědi a její koncentrací ve výkalech a žíních. Vyhodnocen byl také vliv věku koní na hladiny sledovaných prvků v žíních klisen.

5.2.1 Krevní plazma

Průměrné počáteční (1. den) a závěrečné (14. den) hladiny sledovaných prvků v krevní plazmě klisen zařazených do bilance, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 13. Z výsledků je patrné, že na počátku experimentu nebyl mezi skupinami klisen v obsahu sledovaných prvků v krevní plazmě průkazný rozdíl. Rozbory krevní plazmy odebrané po čtrnáctidenní aplikaci doplňků mědi prokazují, že zásah do krmné dávky klisen přijímajících síran měďnatý vedl k průkaznému snížení ($P < 0,05$) hladiny Cu v plazmě. U klisen přijímajících bioplex-Cu došlo pouze k nepatrnému snížení plazmatické hladiny Cu. U kontrolní skupiny nebyly hladiny jednotlivých prvků mezi počátečním a závěrečným odběrem statisticky rozdílné. Srovnání mezi jednotlivými skupinami uvádí tabulka 14.

Míra vzájemného vztahu mezi plazmatickou hladinou mědi a jejím množstvím deponovaným do struktury žíní nebyla u žádné ze skupin klisen statisticky průkazná. Graf 4 naznačuje pokles množství uloženého prvku v žíních se zvyšující se hladinou Cu v plazmě.

Koncentrace stopových prvků v krvi jsou sníženy u zvířat s jejich klinickým nedostatkem (KINCAID, 1999). Nadbytečný přísun mědi jsou schopna zvířata kumulovat v játrech, čímž udržují koncentraci mědi v krevní plazmě v normálním rozsahu. Následkem toho, monitorování hladiny mědi v plazmě ke stanovení její toxicity není doporučováno (HERDT a HOFF, 2011). OTT a ASQUITH (1995) stanovili u ročků (8 plnokrevníků a 10 quarterů) sérové hladiny mědi v rozmezí 0,93–

1,57 mg.kg⁻¹. Ročci byli rozděleni do 3 skupin, přičemž každá byla podrobena odlišné minerální výživě. První skupině nebyla základní krmná dávka obohacována o žádný doplněk minerálních látek a příjem mědi dosahoval pouze 43 mg/ks/den, což je hodnota pod hladinou doporučovanou NRC (2007). Druhá skupina přijímala doplněk obsahující z minerálních látek pouze síran měďnatý pentahydrát a celkový příjem mědi činil 127 mg/ks/den. Třetí skupina ročků přijímala k základní dietě minerální doplněk obsahující soli Fe, Mn, Cu (síran měďnatý pentahydrát), Zn, Co, I a celkový denní příjem mědi dosáhl 122 mg/ks/den. V průběhu experimentu došlo sice ke zvýšení hladiny mědi v krevním séru u koní všech skupin, ale mezi jednotlivými skupinami koní nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl. V případě našeho pokusného sledování také nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl v plazmatické hladině mědi mezi kontrolní skupinou a klisnami, jejichž krmná dávka byla doplňována o měď v různých formách. Pokusný zásah však vedl u všech skupin ke snížení hladiny mědi, což neodpovídá výsledkům publikovaným dvojicí OTT a ASQUITH (1995). Ve studii provedené NAILEM a kol. (2005), kteří aplikovali ročkům do krmné dávky síran měďnatý a Cu-plex došlo k průkaznému zvýšení ($P < 0,05$) hladiny mědi v séru koní přijímajících organickou formu v porovnání s koňmi, jejichž dávka byla doplňována síranem měďnatým. Tento trend byl však nalezen pouze v jedné ze 3 period zkoušky. PAL a kol. (2010) publikovali vyšší plazmatické hladiny Cu a Zn při použití organické formy těchto stopových prvků. V pokusném sledování WAGNERA a kol. (2010) nedošlo k ovlivnění plazmatické koncentrace Cu a Zn u koní, jimž byla zkrmována dieta s doplňkem Cu a Zn jak v síranové, tak v chelátové formě. Studie PEARCE a kol. (1999) nenaznačuje existenci vztahu mezi příjmem mědi z diety a její plazmatickou koncentrací u pastevní diety, v níž koně přijímali 6–7 mg Cu.kg⁻¹ sušiny nebo více, pokud je její stav adekvátní. V naší práci byly naměřeny hladiny mědi v krevní plazmě v rozmezí 0,66–1,11 mg.kg⁻¹, přičemž přídavek mědi do krmné dávky klisen pokusných skupin nevedl k očekávanému zvýšení její hladiny, což souhlasí s výsledky publikovanými výše, stejně jako v práci SMITHA a kol. (1975). Nicméně byl nalezen průkazný rozdíl mezi klisnami přijímajícími bioplex-Cu a síranovou formu mědi, kde vyšší hladina mědi v plazmě byla nalezena u bioplexu (Tab. 14), což by svědčilo o vyšší využitelnosti této formy v organismu.

5.2.2 Žíně

Předmětem zájmu bylo také zhodnocení žíní jako ukazatele stavu sledovaných stopových prvků (Tab. 14). Obsah mědi průkazně vzrostl ($P < 0,01$) u klisen doplňovaných síranem měďnatým v porovnání s klisnami bez přídavku tohoto stopového prvku. I přes značný nárůst hladiny mědi v žíních klisen přijímajících bioplex-Cu nebylo toto navýšení v porovnání s klisnami kontrolní skupiny statisticky průkazné. Hladina zinku v žíních klisen nebyla při porovnání jednotlivých skupin odlišná.

Průměrná rychlost růstu žíní neprokázala mezi skupinami signifikantní diferenci. Průměrný nárůst žíní, během dvoutýdenního sledování, u klisen s přídavkem mědi v anorganické formě činil $13,07 \pm 2,84$ mm a byl o 14,75 % vyšší než u skupiny kontrolní, u které dosáhl $11,39 \pm 1,95$ mm. Nejvyšší přírůstky $14,11 \pm 3,10$ mm byly evidovány u skupiny klisen přijímajících bioplex-Cu.

Naše pozornost byla také věnována vyhodnocení závislosti rychlosti růstu žíní k množství v nich deponované mědi. Míra vzájemného vztahu mezi těmito proměnnými nebyla u kontrolní skupiny statisticky průkazná. Graf 5, však naznačuje pokles množství uložené mědi se zvyšující se rychlostí růstu žíní u klisen, jejichž krmná dávka byla obohacována o tento stopový prvek, přičemž u klisen přijímajících síran měďnatý, byla tato korelace statisticky průkazná ($P < 0,05$).

Výzkumy naznačují, že koncentrace některých stopových prvků v žíních mohou být ve vztahu k příjmu jednotlivých látek z diety (COMBS a kol., 1982). DUNNETT a LEES (2003) provedli pokusy pro použití analýz žíní jako indikátoru minerálního stavu celého těla. Minerální látky včleněné do folikulů zřejmě odrážejí minerální stav v čase, ve kterém byla vlasová vlákna syntetizována (COMBS, 1987). Dle BIRICIKA a kol. (2005) neodrážela koncentrace Cu v séru a žíních klisen hladinu Cu použitou v dietě. V našem experimentu však došlo k ovlivnění obsahu mědi v žíních při zvýšeném příjmu tohoto prvku. Také JACOB a kol. (1978) uvádějí pozitivní korelaci mezi příjmem mědi a jejím obsahem v chlupcích potkanů. Podobně i O'MARY a kol. (1970) usoudili, že hladina Cu v dietě ovlivňovala koncentraci Cu v žíních skotu. Stopovými prvky, zejména mědí, zinkem a selenem se zabývali i WICHERT a kol. (2002a). WELLS a kol. (1990) informují, že synergické a antagonistické vztahy (Obr. 1) mezi minerálními prvky a jejich vliv na metabolismus by mohly mít větší vliv na obsah minerálních prvků v žíních než vlastní nedostatek či nadbytek některého prvku. Jak již bylo publikováno

výše obsah minerální látek v chlupcích živočichů je ovlivněn minerálním příjmem, ale také sezónou (BIRICIK a kol., 2005), plemennou příslušností (O'MARY a kol., 1970), pohlavím (WELLS a kol., 1990), věkem (ASANO a kol., 2002) a barvou chlupů (ASANO a kol., 2005b). Ve čtrnáctidenním sledování jsme použili koně stejného plemene (Český teplokrevník) i pohlaví (klisny), tudíž tyto parametry ani vliv sezóny nemohly být hodnoceny. Byla nalezena průkazná korelace ($P < 0,05$) mezi věkem klisen a hladinou Cu (Graf 6) v sušině žíní. V případě zinku nebyla míra vzájemného vztahu mezi věkem klisen a jeho hladinou v žíních průkazná (Graf 7). KLEVAY (1970b) nenalezl průkazný vliv věku na obsah mědi ve vlasech.

5.2.3 Výkaly

Vyhodnocen byl také vliv přidavku mědi na její obsah a hladiny zinku ve výkalech koní (Tab. 14). Výsledky naznačují, že zásahem do krmné dávky klisen pokusných skupin došlo k průkaznému zvýšení ($P < 0,01$) obsahu mědi ve výkalech. Obsah zinku ve výkalech byl u klisen pokusných skupin nižší než u klisen kontrolní skupiny, statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,05$) byl však nalezen pouze mezi skupinou kontrolní a klisnami, jejichž základní krmná dávka byla doplněna o organickou formu mědi. Průkazný rozdíl ($P < 0,05$) byl v obsahu zinku ve výkalech i mezi klisnami pokusných skupin.

Vyhodnocena byla závislost hladiny mědi v krevní plazmě klisen k množství vyloučené mědi ve výkalech (Graf 8). U skupiny klisen s příjmem bioplexu-Cu se vysoce průkazně ($P < 0,01$) snižovala hladina mědi v plazmě se zvyšujícím se množstvím mědi ve výkalech ($r = -0,94$), u klisen s příjmem anorganické formy Cu byla závislost průkazná na hladině významnosti $P < 0,05$ ($r = -0,74$) a v případě klisen kontrolní skupiny nebyl průkazný vztah, mezi těmito proměnnými, nalezen ($r = -0,30$).

Ze studie HOYTA a kol. (1995) vyplývá, že rostoucí hladina přijímaného zinku z diety neměla průkazný vliv na zdánlivou absorpci mědi u koní a tedy ani na její vylučované množství ve výkalech. Zvyšující se hladina přijímaného zinku však byla příčinou průkazného navýšení ($P < 0,05$) vylučovaného zinku ve výkalech. WAGNER a kol. (2011) došli k závěru, že koně s doplňkem organické i anorganické formy Cu a Zn zvýšili koncentrace těchto prvků v jejich výkalech. Vylučování minerálních látek výkaly u obou skupin odráželo nepoměr v minerálním příjmu. Zdánlivá absorpce Cu jako procento z příjmu a retence jako procento z příjmu se zdála být vyšší, pokud koně

přijímali organickou formu Cu a Zn v porovnání se síranovou formou. CYMBALUK a kol. (1981a) uvádějí, že absorpce a retence mědi průkazně vzrostla u poníků, jež byli krmeni dávkou s nízkým obsahem mědi a že anorganický doplněk mědi, jako síran měďnatý, byl poníky efektivně využíván. Nalezli také přímý lineární vztah mezi vylučováním mědi výkaly a jejím příjmem. PAL a kol. (2010) přisoudili zlepšení střevní absorpce a snížení exkrece mědi výkaly použití organické formy Cu a Zn (Cu and Zn-methionin). WAGNER a kol. (2005) nenalezli průkazný rozdíl v absorpci mědi, manganu a zinku při zkrmování jejich oxidové, síranové a organické-chelátové formy. Různé zdroje mědi, zinku, manganu a kobaltu také použili NAILE a kol. (2005) z jejichž výsledků je patrné, že organická forma mědi byla ve dvou ze 3 period vylučována výkaly ročků průkazně více ($P < 0,05$) než anorganická forma mědi. Ze studie SMITHA a kol. (1975), kteří zkrmovali měď poníkům, je patrné, že při rostoucí koncentraci mědi v krmné dávce z 8 mg.kg^{-1} sušiny na 791 mg.kg^{-1} sušiny, došlo k lineárnímu růstu koncentrace tohoto stopového prvku vylučovaného výkaly koní. Podobné zvýšení hladiny mědi ve výkalech klisen pokusných skupin bylo indikováno také v našem experimentu, přičemž nižší hladina vyloučené mědi byla nalezena u klisen přijímajících bioplex-Cu. Je však nutné konstatovat, že mezi klisnami jejichž krmné dávky byly obohacovány o různé zdroje mědi, nebyl v její hladině ve výkalech nalezen průkazný rozdíl.

5.3 Pokus č. 3

V průběhu experimentu byl vyhodnocen vliv přídavku zinku v různých formách (oxid zinečnatý, bioplex-Zn) na jeho hladinu v krevní plazmě a kožních derivátech klisen, včetně posouzení jeho vlivu na rychlost růstu žíní a kopytní rohoviny. Dále byla stanovena míra vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu žíní a množstvím v nich deponovaného zinku. Vyhodnocena byla i závislost mezi hladinou zinku v krevní plazmě a jeho množstvím deponovaným do kožních derivátů.

5.3.1 Krevní plazma

Průměrné počáteční (1. den) a závěrečné (14. den) hladiny sledovaných prvků v krevní plazmě klisen zařazených do bilance, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 15. Z výsledků je patrné, že na počátku experimentu nebyl

mezi skupinami klisen v obsahu sledovaných prvků v krevní plazmě průkazný rozdíl. V odběru provedeném po čtrnácti dnech aplikace doplňků zinku jsme našli průkazný pokles ($P < 0,05$) v hladině Zn u klisen přijímajících organickou formu tohoto prvku. Koncentrace Zn v plazmě klisen v dalších skupinách také poklesla, toto snížení však nebylo statisticky průkazné. Hladina mědi nebyla vzhledem k počátečnímu měření změněna.

Míra vzájemného vztahu mezi plazmatickou hladinou zinku a jeho množstvím deponovaným do struktury žíní nebyla statisticky průkazná. U skupin klisen s příjmem doplňků zinku se mírně snižoval jeho obsah v žíních se zvyšující se hladinou v krevní plazmě (Graf 9), naopak u klisen kontrolní skupiny vedlo každé zvýšení hladiny Zn v plazmě o $0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$, ke zvýšení množství uloženého zinku v sušině žíní o $6,35 \text{ mg.kg}^{-1}$ ($r = 0,65$).

Dle JELÍNKA, KOUDELY a kol. (2003) koncentrace zinku v krvi a krevní plazmě reaguje na změny obsahu zinku v potravě. Hladinu zinku v krevním séru u klisen ($n=10$) a hříbat ($n=10$) sledovali OKUMURA a kol. (1998). Průměrná hladina zinku u klisen jeden týden po porodu činila $0,57 \pm 0,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ a 17 měsíců po porodu $0,52 \pm 0,11 \text{ mg.kg}^{-1}$. U hříbat ve věku jednoho týdne dosáhla průměrná hladina zinku v séru $0,73 \pm 0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$ a po opětovném měření za sedmnáct měsíců $0,38 \pm 0,06 \text{ mg.kg}^{-1}$. V našem experimentu dosahovala hladina zinku v plazmě klisen rozmezí $0,35\text{--}0,64 \text{ mg.kg}^{-1}$, s průměrnou hodnotou vzorků ze všech odběrů $0,53 \pm 0,06 \text{ mg.kg}^{-1}$, což je hodnota korespondující s výsledky klisen z předchozí studie, podobně jako s výsledky, které uvádějí OTT a ASQUITH (1995) u ročků (8 plnokrevníků a 10 quarterů). Tito autoři stanovili sérové hladiny zinku v rozmezí $0,43\text{--}0,68 \text{ mg.kg}^{-1}$. Ročci byli rozděleni do 3 skupin, přičemž každá byla podrobena odlišné minerální výživě. První skupině nebyla základní krmná dávka obohacována o žádný doplněk minerálních látek a příjem zinku dosahoval 328 mg/ks/den . Druhá skupina přijímala doplněk obsahující z minerálních látek pouze síran měďnatý pentahydrát a celkový příjem zinku byl stejně jako u předcházející skupiny pod hladinou doporučovanou NRC (2007) a činil 299 mg/ks/den . Třetí skupina ročků přijímala k základní dietě minerální doplněk obsahující soli železa, manganu, kobaltu, jódu, Cu a Zn (oxid zinečnatý), celkový denní příjem zinku dosahoval 570 mg/ks/den . V průběhu experimentu došlo sice ke zvýšení hladiny zinku v krevním séru u koní všech skupin, ale mezi jednotlivými skupinami koní nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl. Ani v případě našeho pokusného sledování nebyl

rozdíl v plazmatické hladině zinku mezi klisnami kontrolní skupiny a klisnami doplňovanými o oxid zinečnatý či bioplex-Zn statisticky průkazný. Doplněk však vedl u všech skupin ke snížení hladiny zinku, což neodpovídá výsledkům předchozí studie OTT a ASQUITH (1995). Ve studii BEESONA a kol. (1977) došlo ke změně plazmatické hladiny zinku až při aplikaci jeho extrémně vysokých dávek (300 anebo 620 mg.kg⁻¹). BIRICIK a kol. (2005) sledovali obsah zinku a dalších prvků v séru a žíních a vyhodnotili korelace mezi hladinami prvků v krmivu, séru a žíních koní. Hladina zinku v séru koní dosáhla 0,46–0,59 mg.kg⁻¹. Sérové hladiny mědi se pohybovaly v rozmezí 0,27–0,45 mg.kg⁻¹. Přičemž nenalezli korelaci mezi sérovou hladinou zinku a jeho příjmem z diety. V pokusném sledování WAGNERA a kol. (2010) nedošlo k ovlivnění plazmatické koncentrace Cu a Zn u koní, jimž byla zkrmována dieta s doplňkem Cu a Zn jak v síranové, tak v chelátové formě. V našem sledování došlo k průkaznému poklesu ($P < 0,05$) hladiny zinku v plazmě klisen přijímajících bioplex-Zn. Ojedinelé vysoké dávky minerální prvků mohou spíše vyústit v plazmatickou odpověď než nízké dávky aplikované po dlouhé časové období. Dlouhodobá aplikace může dokonce vést ke snížení plazmatického obsahu minerálních prvků, jak zjistila u koní po dlouhodobém příjmu doplňku zinku KREYENBERG (2003; cit., KIENZLE a ZORN 2006). Jelikož dlouhodobé doplňování zinku nemělo vliv na koncentraci tohoto stopového prvku v krvi u koz spekuluji PAVLATA a kol. (2011) o spolehlivosti tohoto parametru pro hodnocení minerálního stavu u zvířat.

5.3.2 Kopytní rohovina

V rámci experimentu bylo provedeno srovnání výchozích množství jednotlivých prvků ve vzorcích kopytní rohoviny koní s hodnotami závěrečného odběru provedeného po pětíměsíční aplikaci doplňků zinku v jeho organické a anorganické formě. Průměrné počáteční (1. den) a závěrečné hladiny (150. den) sledovaných prvků, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 16. V počátečním odběru nebyly nalezeny průkazné rozdíly mezi hladinami prvků ve vzorcích kopytní rohoviny koní kontrolní a pokusných skupin. Z výsledků je patrné, že zásahem do krmné dávky klisen nebylo v množství deponovaného zinku do struktury kopyt nalezeno průkazného rozdílu.

Průměrná rychlost růstu kopytní stěny (Graf 10), za tři po sobě jdoucí sedmitýdenní periody, neprokázala mezi skupinami signifikantní diferenci (Tab. 17). O

6,45 % nižší průměrný denní přírůstek rohové stěny jsme našli u skupiny klisen s přidavkem zinku v organické formě v porovnání se skupinou kontrolní. U klisen s přidavkem oxidu zinečnatého činila průměrná rychlost růstu rohové stěny $0,31 \pm 0,03$ mm a byla tedy o 1,29 % vyšší než v případě kontrolní skupiny.

Provedeno bylo také hodnocení závislosti rychlosti růstu stěny kopytní k množství deponovaných stopových prvků v rohovině. Mezi těmito proměnnými však nebyla průkazná závislost nalezena.

COENEN a SPITZLEI (1997) uvádějí, že 25 koní s nízkou kvalitou rohoviny mělo nižší hladiny zinku v plazmě i rohovině v porovnání s 38 jedinci s normální rohovinou. Autoři nenalezli žádný rozdíl v hladině mědi mezi těmito skupinami koní, což podle jejich názoru může být způsobeno individuální absorpcí zinku, vlivem metabolismu anebo retenčními abnormalitami. V této studii dále uvádějí, že aplikace 300–500 mg Zn/den vede ke zvýšení obsahu zinku v rohovině. OTT a JOHNSON (2001) uvádějí o 4 % vyšší rychlost růstu kopyt u ročků krmených proteinátovými minerálními zdroji Zn, Cu a manganu v porovnání s jejich anorganickými formami, nedošlo však k ovlivnění pevnosti rohoviny. V této studii byl prokázán vliv zdroje minerálních prvků na růst kopytní rohoviny, který je v souladu s vědními poznatky, že se zinek přímo podílí na vývoji kůže, žíní a kopyt (COUSINS, 1996; TENAUD a kol., 2000; ARMELIN a kol., 2001). Dle BUTLERA a HINTZE (1977) je rychlost růstu kopyt u poníků restringována limitovaným příjmem krmiva, čímž dochází k vyššímu ukládání zinku do struktury stěny kopytní. Z čehož OTT a JOHNSON (2001) naznačují, že při maximalizované rychlosti růstu dochází ke snížení minerálního obsahu v kopytech způsobeného limitovanou dostupností minerálních prvků v místě syntézy. S tímto závěrem se shodují i výsledky naší studie, kdy skupina klisen přijímajících bioplex-Zn prokázala nejnižší rychlost růstu rohoviny, do níž deponovala nejvyšší množství tohoto prvku v porovnání s kontrolní skupinou a skupinou klisen s doplňkem ZnO. REILLY a kol. (1998b) měřili rychlost růstu stěny kopytní u poníků. Přírůstek kopytního pouzdra u poníků dosahoval 0,21 mm/den. OTT a JOHNSON (2001) uvedli, že u ročků pro speciální funkce jako je růst kopyt, proteinátové minerální formy (Zn, Cu, Mn) mohou být prospěšnější ($P < 0,05$) 0,45 mm/den než jejich anorganické formy (ZnO, MnSO₄, CuSO₄) 0,43 mm/den. V našem pokusném sledování byl naměřen nižší denní přírůstek v rozmezí 0,29–0,31 mm a nenalezli jsme žádný průkazný rozdíl mezi jednotlivými skupinami. Podobný experiment na dospělých klisnách uspořádali i

SICILIANO a kol. (2001). V jejich pokuse taktéž nebyla nalezena žádná diference v růstové schopnosti, tvrdosti a tažné síle kopyt klisen s náhradou 50 % denní potřeby manganu, zinku a mědi organickou formou těchto prvků. EVANS (1992) uvedl, že se zvyšujícím se věkem rychlost růstu kopytní rohoviny klesá, což potvrzují rozdílné rychlosti růstu rohoviny stanovené u ročků (OTT a JOHNSON, 2001) a v naší studii.

5.3.3 Žíně

Předmětem zájmu bylo také zhodnocení žíní jako ukazatele stavu sledovaných stopových prvků. Průměrné počáteční a závěrečné hladiny sledovaných prvků v žíních klisen zařazených do bilance, jejich směrodatné odchylky i statistické závislosti zachycuje tabulka 18. Z výsledků vyplývá, že na počátku experimentu nebyl mezi skupinami klisen v obsahu sledovaných prvků v žíních průkazný rozdíl. Nalezli jsme průkazné snížení ($P < 0,05$) množství zinku ukládaného do sušiny žíní u klisen kontrolní skupiny a skupiny klisen, jejichž krmná dávka byla doplňována anorganickou formou Zn. Hladina Zn a Cu v žíních klisen s příjmem bioplexu-Zn nebyla vzhledem k počátečnímu odběru změněná. Obsah mědi v žíních průkazně vzrostl ($P < 0,05$) u klisen doplňovaných o Zn ve formě ZnO.

Během experimentu byla sledována a vyhodnocena průměrná rychlost růstu kožních derivátů. Přírůstky žíní byly v průběhu pokusného sledování relativně konstantní. Rozdíly v rychlosti růstu žíní nebyly mezi jednotlivými skupinami rozdílné (Tab. 17). Průměrný denní přírůstek žíní u klisen kontrolní skupiny činil $0,68 \pm 0,03$ mm a klisny v pokusných skupinách se od této nelišily o více než 0,7 %.

Naše pozornost byla také věnována vyhodnocení závislosti rychlosti růstu žíní k množství v nich deponovaných stopových prvků. Míra vzájemného vztahu mezi těmito proměnnými nebyla v případě zinku ani mědi u žádné skupiny klisen statisticky průkazná.

WELLS a kol. (1990), COMBS a kol. (1982), podobně jako BIRICIK a kol. (2005), potvrzují průkaznou korelaci mezi minerálním příjmem a hladinou zinku v žíních. Toto tvrzení nemůžeme potvrdit. Ke zvýšení hladiny zinku v žíních došlo pouze u skupiny s přidavkem bioplexu-Zn. U kontrolní skupiny, stejně jako skupiny klisen s příjmem zinku ve formě ZnO, došlo k poklesu množství Zn uloženého do struktury žíní. Dle ALLENA (1998) biologická dostupnost zinku koreluje s rozpustností ve vodném roztoku, jelikož oxidová forma je prakticky nerozpustná, má tedy průkazně

nižší biologickou dostupnost, což může vysvětlovat průkazné snížení zinku deponovaného do struktury žíní u klisen s doplňkem oxidu zinečnatého. Jelikož je konfigurace Zn^{2+} analogická Cu^{2+} , soutěží zinek s mědí v transportu a absorpci (KVASNIČKOVÁ, 1998). Při nižší využitelnosti Zn z oxidové formy, mohlo docházet k vyšší absorpci mědi, jejíž množství uložené ve struktuře žíní statisticky průkazně vzrostlo u skupiny klisen, jejichž krmná dávka byla obohacována o oxid zinečnatý. V rámci našeho experimentu se pohybovala hladina zinku v sušině žíní klisen v rozmezí 126,98–185,09 mg.kg⁻¹. K podobným výsledkům v rozmezí 111–178 mg Zn.kg⁻¹ sušiny došli také WICHERT a kol. (2002a), ASANO a kol. (2005a) a ARMELIN a kol. (2001). Jak vyplývá z literárního přehledu, na hladiny minerálních látek v kožních derivátech může mít vliv také sezóna, plemenná příslušnost, pohlaví, věk a barva (BIRICIK a kol., 2005; O'MARY a kol., 1970; WELLS a kol., 1990; ASANO a kol., 2002; ASANO a kol., 2005b; COMBS, 1987). Naše sledování probíhalo od začátku jara do počátku podzimu, přičemž po celou dobu byly průběžně odebírány vzorky žíní, z nichž se pak připravil konečný vzorek pro analýzu, vliv sezóny tedy nelze posoudit. Pro sledování jsme použili koně stejného plemene (Český teplokrevník) i pohlaví (klisny), tudíž tyto parametry nemohly být hodnoceny. Míra vzájemného vztahu mezi obsahy sledovaných stopových prvků a zbarvením žíní nebyla v naší studii průkazná. To mohlo být způsobeno nízkým počtem ryzáků (n=3) a běloušů (n=2). Byl však nalezen průkazný vztah mezi věkem klisen a hladinou Cu (Graf 11) v sušině žíní. V případě zinku nebyla míra vzájemného vztahu mezi věkem klisen a jeho hladinou v žíních průkazná (Graf 12). Také O'MARY a kol. (1970) nenalezli signifikantní rozdíl v obsahu zinku v žíních skotu různého věku. SCHLUPP a kol. (2004) uvedli rychlost růstu žíní 0,760 mm/den. DUNNETT a LESS (2003) stanovili průměrnou rychlost růstu žíní 0,680–0,789 mm/den. V jejich experimentu byl růst žíní relativně konstantní v průběhu dvanáctiměsíční periody. V našem pokusném sledování byl prokázán shodný trend (Graf 13).

6 ZÁVĚR

Cílem disertační práce, k jehož dosažení byly provedeny tři pokusná sledování, bylo zkoumat faktory minerální výživy ovlivňující růst a složení kožních derivátů a krevní plazmy u koní.

Přídavek doplňku pokusné skupině v 1. experimentu měl očekávaný pozitivní vliv jak na rychlost růstu kožních derivátů, tak jejich minerální složení, nevedl však ke změnám plazmatických hladin stopových prvků. Aplikací doplňku bylo docíleno vysoce průkazného navýšení ($P < 0,01$) hladiny zinku v sušině kopytní rohoviny z $95,82 \pm 8,96 \text{ mg.kg}^{-1}$ na $117,73 \pm 10,23 \text{ mg.kg}^{-1}$ a mědi ($P < 0,05$) z $2,39 \pm 0,75 \text{ mg.kg}^{-1}$ na $4,06 \pm 1,14 \text{ mg.kg}^{-1}$. V případě žíní nebyly hladiny prvků mezi odběry odlišné. Z výsledků je dále znatelný statisticky průkazný pokles ($P < 0,05$) množství uložené mědi v žíních se zvyšující se rychlostí růstu ($r = -0,83$) v případě kontrolní skupiny koní, u pokusných klisen byl trend obdobný nikoliv průkazný ($r = -0,60$).

Přídavek mědi klisnám v pokusných skupinách, ve druhém sledování, vedl ke zvýšenému ukládání tohoto prvku do struktury žíní v porovnání s kontrolní skupinou, nicméně toto navýšení bylo statisticky průkazné ($P < 0,01$) pouze v případně klisen přijímajících anorganickou formu mědi. Klisny saturované mědi vylučovaly průkazně vyšší ($P < 0,01$) hladiny tohoto stopového prvku ve výkalech než kontrolní skupina klisen bez doplňku mědi. Dále byl nalezen průkazný rozdíl ($P < 0,05$) v hladině mědi v krevní plazmě mezi klisnami přijímajícími její organický $0,93 \pm 0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$ a anorganický doplněk $0,78 \pm 0,08 \text{ mg.kg}^{-1}$. Nalezena byla průkazná korelace ($P < 0,05$) mezi věkem klisen a hladinou Cu v sušině žíní ($r = 0,69$). U skupiny klisen s příjmem bioplexu-Cu ($r = -0,94$) se vysoce průkazně ($P < 0,01$) snižovala hladina mědi v plazmě se zvyšujícím se množstvím mědi ve výkalech, u klisen s příjmem anorganické formy Cu ($r = -0,74$) byla závislost průkazná na hladině významnosti $P < 0,05$ a v případě klisen kontrolní skupiny ($r = -0,30$) nebyl průkazný vztah mezi těmito proměnnými nalezen. Účinnost síranové formy mědi prokázala podobný vliv jako bioplex-Cu. Klisny pokusných skupin vylučovaly podobná množství mědi výkaly a deponovaly vyšší hladiny v žíních. Pouze v případě krevní plazmy se zdá být organická forma mědi účinnější.

Zvýšená dotace zinku ve třetím sledování přímo nesouvisela se zvýšenou saturací krevní plazmy ani kožních derivátů. K průkaznému snížení ($P < 0,05$) hladiny zinku v sušině žíní z $153,56 \pm 10,46 \text{ mg.kg}^{-1}$ na $139,68 \pm 7,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ došlo u klisen

přijímajících oxid zinečnatý, stejně jako u klisen kontrolní skupiny ($P < 0,05$) z $154,59 \pm 17,03 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ na $136,33 \pm 6,96 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, což může být způsobeno nižší absorpcí zinku z tohoto anorganického zdroje. V případě zinku nebyla nalezena průkazná korelace mezi věkem klisen a jeho hladinou v sušině žíní ($r = 0,05$). Efekt organického zdroje zinku na organismus zvířat byl v tomto případě příznivější.

Rychlost růstu kožních derivátů byla ovlivněna pouze při použití doplňku obsahujícího směs metioninu, vitamínů a organických forem zinku a mědi, přírůstek rohoviny o 22,31 % vyšší ($P < 0,01$) a žíní o 15,37 % vyšší ($P < 0,01$) než u koní skupiny kontrolní. Rychlost růstu kožních derivátů u klisen nebyla přidavkem samotné mědi ani zinku v jejich různých formách ovlivněna.

Doplňěk zinku ani mědi do diety klisen nebyl v přímé souvislosti se zvýšenou saturací krevní plazmy. Míra vzájemného vztahu mezi hladinami sledovaných prvků v plazmě a jejich množstvím v kožních derivátech neprokázala jednotný trend a nebyla v případě žádného pokusného sledování statisticky průkazná.

Odezvy v minerálním složení kožních derivátů mohou být ovlivněny změnou rychlosti růstu žíní a kopytní rohoviny, doplňovaným množstvím stopových prvků, stejně jako volbou zdroje stopových prvků. Rozbory kožních derivátů i krevní plazmy lze využít k posouzení minerálního stavu zvířat, respektive k hodnocení účinnosti různých zdrojů minerálních prvků, nicméně interpretace těchto výsledků je velmi náročná a měla by být podrobena dalšímu zkoumání.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. AAFCO (Association of American Feed Control Officials, Inc.). Official Publication. Oxford, In: *Association of American Feed Control Officials*. 2005.
2. ABDIN-BEY, M. R. Hoof Quality: Correlation Between Calcium, Phosphorus, Copper and Zinc Levels in the Hoof Shavings and Blood Levels of Arabian Horses in Saudi Arabia. *Scientific Journal of King Faisal University*. 2007, 8(1).
3. ALLEN, L. H. Zinc and Micronutrient Supplements for Children. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1998, 68: 495S–498S.
4. ARMELIN, M. J. A., ÁVILA, R. L., PIASENTIN, R. M., SAIKI, M. Application of Neutron Activation Analysis to Evaluate the Health Status of Equines by Means of Cu, Fe, Mn and Zn Determinations in their Hair. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2001, 249: 417–419.
5. ARMELIN, M. J. A., ÁVILA, R. L., PIASENTIN, R. M., SAIKI, M. Effect of Chelated Mineral Supplementation on the Absorption of Cu, Fe, K, Mn and Zn in Horse Hair. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2003, 258: 449–491.
6. ASANO, K., SUZUKI, K., CHIBA, M., SERA, K., ASANO, R., SAKAI, T. Twenty-Eight Element Concentrations in Mane Hair Samples of Adult Riding Horses Determined by Particle-Induced X-Ray Emission. *Biological Trace Element Research*. 2005a, 107: 135–140.
7. ASANO, K., SUZUKI, K., CHIBA, M., SERA, K., MATSUMOTO, T., ASANO, R., SAKAI, T. Influence of the Coat Colour on the Trace Elemental Status Measured by Particle-Induced X-ray Emission in Horse Hair. *Biological Trace Element Research*. 2005b, 103: 169–176.

8. ASANO, R., SUZUKI, K., OTSUKA, T., OTSUKA, M., SAKURAI, H. Concentrations 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*. 2002, 64: 607–610.
9. ASHMEAD, H. D., HARTLE, J., ASHMEAD, S. Development of the First Method Prove and Quantifying Chelation. *MAAC Facts: Albion Advanced Nutrition*. 2007, 12.
10. BASS, D. A., HICKOK, D., QUIG, D., UREK, K. Trace Element Analysis in Hair: Factors Determining Accuracy, Precision, and Reliability. *Alternative Medicine Review*. 2001, 6: 472–481.
11. BAKER, D. H., WRIGLEY, M. R., PIPKEN, J. L., HALIBURTON, J. T., BACHMAN, R. C. Digestibility and Retention of Inorganic and Organic Sources of Copper and Zinc in Mature Horses. In: *19th Equine Science Society Symposium*, Tuscon, AZ. Champaign, IL. 2005. Pp. 162–165.
12. BEESON, W. M., PERRY, T. W., ZURCHER, T. D. Effect of Supplemental Zinc on Growth and on Hair and Blood Serum Levels of Beef Cattle. *Journal of Animal Science*. 1977, 45: 160–165.
13. BENDER, I. *Praxishandbuch Pferdefütterung*. 1. Auflage. Kosmos, 2000. 351 s. ISBN 3-440-06904-4.
14. BIRICIK, H., OCAL, N., GUCUS, A. I., EDIZ, B., UZMAN, M. Seasonal Changes of Some Mineral Status in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2005, 25: 346–348.
15. BRAGULLA, H., HIRSCHBERG, R. M. Horse Hooves and Bird Feathers: Two Model Systems for Studying the Structure and Development of Highly Adapted Integumentary Accessory Organs-The Role of the Dermo-epidermal Interface for the

Micro-Architecture of Complex Epidermal Structures. *Journal of Experimental Zoology*. 2003, 298B: 140–151.

16. BRAGULLA, H. H., HOMBERGER, D. G. The Role of the Specific, Profilaggrin-containing Keratohyalin Granules in the Developing Epidermis of the Fetal Horse Hoof. *Pferdeheikunde*. 2007, 23: 5–20.

17. BROWN, T. F., ZERINGUE, L. K. Laboratory Evaluations of Solubility and Structural Integrity of Complexed and Chelated Trace Mineral Supplements. *Journal of Dairy Science*. 2004, 77: 181–189.

18. BUDRAS, K. D., SACK, W. D., RÖCK, S. *Anatomy of the Horse*. 5. Germany: Schlutersche Gmbh & Co, 2008. 208 s. ISBN 978-3-89993-044-3.

19. BUFFA, E. A., VAN DEN BERG, S. S., VERSTRAETE, F. J. M., SWART, N. G. N. Effect of Dietary Biotin Supplement on Equine Hoof Horn Growth Rate and Hardness. *Equine Veterinary Journal*. 1992, 24: 472–474.

20. BUTLER, K. D., HINTZ, H. F. Effect of Level of Feed Intake and Gelatine Supplementation on Growth and Quality of Hoofs of Ponies. *Journal of Animal Science*. 1977, 44: 257–261.

21. CLARK, A. K., RAKES, A. H. Effect of Methionine Hydroxy Analog Supplementation on Dairy Cattle Hoof Growth and Composition. *Journal of Dairy Science*. 1982, 65: 1493–1502.

22. COENEN, M., SPITZLEI, S. The Composition of Equine Hoof Horn with Regard to its Quality (hardness) and Nutrient Supply of Horses. In *Proceedings from 15th ENPS Symposium*. 1997. s. 209–212.

23. COLEMAN, B. *Chelated Minerals* [online]. 1996 [cit. 2010-06-18]. Dostupný z WWW: <[http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/hrs3185](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/hrs3185)>.

24. COMBEN, N., CLARK, R. J., SUTHERLAND, D. J. B. Clinical observations on the response of equine hoof defects to dietary supplementation with biotin. *Veterinary Record*. 1984, 115: 642–645.
25. COMBS, D. K. Hair Analysis as an Indicator of Mineral Status of Livestock. *Journal of Animal Science*. 1987, 65: 1753–1758.
26. COMBS, D. K., GOODRICH, R. D., MEISKE, J. C. Mineral Concentrations in Hair as Indicators of Mineral Status: a Review. *Journal of Animal Science*. 1982, 54: 391–398.
27. COUSINS, R. J. Zinc. In: *Present Knowledge in Nutrition* (Ziegler, E.E. and Filer, L. J., eds.), 7th ed., International Life Sciences Institute Press, Washington, DC, 1996, s. 293–306.
28. CRANDELL, K. Vitamin Requirements in the Horse. In PAGAN, J. D; GEOR, R. J. *Advances in Equine Nutrition II*. 1. Kentucky Equine Research Inc.: Nottingham University Press, 2001. p. 305–315. ISBN 1-897676-78-6.
29. CYMBALUK, N. F., SCHRYVER, H. F., HINTZ, H. F., SMITH, D. F., LOWE, J. E. Influence of Dietary Molybdenum on Copper Metabolism in Ponies. *The Journal of Nutrition*. 1981b, 111: 96–106.
30. CYMBALUK, N. F., SCHRYVER, H. F., HINTZ, H. F. Copper Metabolism and Requirement in Mature Ponies. *The Journal of Nutrition*. 1981a, 111: 87–95.
31. DOLEŽAL, P., a kol. *Výživa zvířat a nauka o krmivech (cvičení)*. Dotisk. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2005. 292 s. ISBN 80-7157-786-3.
32. DUDA, M. Stopové prvky a jejich chelátové vazby. *Náš chov*, 2004, 44: P 4.

33. DUNNETT, M. The Diagnostic Potential of Equine Hair: A Comparative Review of Hair Analysis for Assessing Nutritional Status, Environmental Poisoning, and Drug Use and Abuse. *Advances in Equine Nutrition III*. 2005.
34. DUNNETT, M., LEES, P. Equine Hair analysis: Current Status and Future Prospects. *Equine Veterinary Journal*. 2004, 36: 102–103.
35. DUNNETT, M., LEES, P. Trace Element, Toxin and Drug Elimination in Hair with Particular Reference to the Horse. *Research in Veterinary Science*. 2003, 75: 89–101.
36. DUŠEK, J., NAVRÁTIL, J., MISAŘ, D., MÜLLER, Z., RAJMAN, J., TLUČHOŘ, V., ŽLUMOV, P. *Chov koní*. Praha: Nakladatelství Brázda, s. r. o., 1999. 404 s., 28. ISBN 80-209-0352-6.
37. EKFAŁCK, T. A., APPELGREN, L. E., FUNKQUIST, B., JONES, B., OBEL, N. Distribution of Labelled Cysteine and Methionine in the Matrix of the Stratum Medium of the Wall and in the Lamellar Layer of the Equine Hoof. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 1990, 37: 481–491.
38. EUSTACE, R. Factors Affecting Equine Hoof Horn Growth Rate and Quality. *In Practice*. 1994, 16: 129–131.
39. EVANS, J. W. *Horse breeding and management: World animal science: Production-system approach – Svazek 7*. Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 1992. pp. 417. ISBN 9780444882820
40. FRAKER, P. J., KING, L. E. Reprogramming of the Immune System during Zinc Deficiency. *Annual Review of Nutrition*. 2004, 24: 277–298.
41. FRAPE, D. *Equine Nutrition and Feeding*. 4. UK: Wiley-Blackwell, 2010. 498 s. ISBN 978-1-4051-9546-1.

42. FREDERICKSON, Ch. J., KOH, J., BUSH, A. I. The Neurobiology of Zinc in Health and Disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005, 6: 449–462.
43. FRYDRYCH, Z. 2007. Organické zdroje mikroprvků a jejich vlastnosti (komplexy, cheláty). *Krmivářství*, 5: 10–13.
44. GABRYSZUK, M., SLONIEWSKI, K., METERA, E., SAKOWSKI, T. Content of Mineral Elements in Milk and Hair of Cows from Organic Farms. *Journal of Elementology*. 2010, 2 (15): 259–267.
45. GEORGIEVSKIJ, V. I., ANNENKOV, B. N., SAMOCHIN, V. T. *Minerálná výživa zvierat*. 1. vyd. Bratislava: Príroda, 1982. 431 s.
46. GEYER, H. Nutritional Management to Keep the Hoof Healthy. In *Applied equine nutrition: Equine Nutrition Conference (ENUCO) 2005*. 1. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2005. s. 43–59.
47. GRAHAM, P. M., OTT, E. A., BRENDEMUHL, J. H., TENBROECK, S. H. The Effect of Supplemental Lysine and Threonine on Growth and Development of Yearling Horses. *Journal of animal science*. 1994, 72: 380–386.
48. HAHN, M. V., McDANIEL, B. T., WILK, J. C. Rates of Hoof Growth and Wear in Holstein Cattle. *Journal of Dairy Science*. 1986, 69: 2148–2156.
49. HARKEY, M. R. Anatomy and physiology of hair. *Forensic Science International*. 1993, 63: 9–18.
50. HARPER, F. Feeding your Horses Hooves. *Animal Science: Horse Information Series*. 2005, vol. 9.
51. HARPER, F. a GILL, W. Minerals for Horses: Part I: Major Minerals. *Horse Express* [online]. 2005, 24 (4), [cit. 2009-01-06]. Dostupný z WWW: <http://www.amavitahorse.com/Minerals-I_HorseExpressFall2005.pdf>.

52. HARPER, F. a GILL, W. Minerals for Horses, Part II: Trace Minerals. *Horse Express* [online]. 2006, 25 (1), [cit. 2009-01-18]. Dostupný z WWW: <http://www.amavitahorse.com/Frederick_Harper_article-express.pdf>.
53. HEMKEN, R. W., BOLAND, M. P., CALLAGHAN, D. O. *Vylad'ování složení doplňků stopových prvků pro vysoko-produkční zvířata s cílem zamezit negativním dopadům na zdravotní stav a užitkovost*. Our Industry under the microscope. Alltech's European, Middle Eastern and African Lecture Tour, 1999, s. 25–36.
54. HERDT, T. H., HOFF, B. The Use of Blood Analysis to Evaluate Trace Mineral Status in Ruminant. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 2011, 27: 255–283.
55. HIGAMI, A. Occurrence of White Line Disease in Performance Horses Fed on Low-Zinc and Low-Copper Diets. *Journal of Equine Veterinary Science*. 1999, 1: 1–5.
56. HINNERS, T. A., TERRILL, W. J., KENT, J. L., COLUCCI, A. V. Hair - Metal Binding. *Environmental Health Perspectives*. 1974, 8: 191–199.
57. HINTZ, H. F. Hair as an Indicator of Nutritional Status. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2001, 21: 199.
58. HOYT, J. K., POTTER, G. D., GREENE, L. W., ANDERSON, J. G. Copper Balance in Miniature Horses Fed Varying Amounts of Zinc. *Journal of Equine Veterinary Science*. 1995, 15: 357–359.
59. HUNTINGTON, P., POLLITT, C. C. Nutrition and the Equine Foot. In *Advances in Equine Nutrition III*, Kentucky Equine Research Inc., 2005, s. 30–32.
60. HYNES, M. J., KELLY, M. P. Metal Ions, Chelates and Proteinates. In *1995 Alltech Symposium*, St. Paul, MN, 1995, s. 233–248.

61. ISKRA, M., MAJEWSKI, W. Copper and Zinc Concentrations and the Activities of Ceruloplasmin and Superoxide Dismutase. *Biological Trace Element Research*. 1999, 73: 55–65.
62. JACKSON, S. G. Trace Minerals for the Performance Horse Known Biochemical Roles and Estimates of Requirements. *The Australian Equine Veterinarian*. 1998, 16(3): 119.
63. JACOB, R. A., KLEVAY, L. M., LOGAN, G. M. Hair as a Biopsy Material : V. Hair Metal as an Index of Hepatic Metal in Rats: Copper and Zinc. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1978, 31: 477–480.
64. JEFFCOTT, L. B., DAVIES, M. E. Copper Status and Skeletal Development in Horses: still a long way to go. *Equine Veterinary Journal*. 1998a, 30: 183–185.
65. JEFFCOTT, L. B., HENSON, F. M. D. Studies on Growth Cartilage in the Horse and their Application to Aetiopathogenesis of Dyschondroplasia (Osteochondrosis). *The Veterinary Journal*. 1998b, 156: 177–192.
66. JELÍNEK, F., JELÍNEK, K. *Morfologie HZ*. 2. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Č. B., 2008. 294 s. ISBN 80-7040-845-6.
67. JELÍNEK, P., KOUDELA, K., DOSKOČIL, J., ILLEK, J., KOTRBÁČEK, V., KOVÁŘŮ, F., KROUPOVÁ, V., KUČERA, M., KUDLÁČ, E., TRÁVNÍČEK, J., VALENT, M. *Fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. 414 s. ISBN 80-7157-644-1.
68. JOSSECK, H., ZENKER, W., GEYER, H. Hoof Horn Abnormalities in Lipizzaner Horses and the Effect of Dietary Biotin on Macroscopic Aspects of Hoof Horn Quality. *Equine Veterinary Journal*. 1995, 27 (3): 175–182.
69. KAAS, M. Minerální látky ve výživě zvířat. *Krmivářství*. 2001, 5: 41–42.

70. KACEROVSKÝ, O., a kol. *Zkoušení a posuzování krmiv*. 1. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. 216 s. ISBN 80-209-0098-5.
71. KELLON, E. M. Feeding the hoof. *Equine Nutritional Solutions* [online]. 2008, [cit. 2010-07-31]. Dostupný z WWW: <<http://laminitis.webnode.cz/news/feeding-the-hoof-C-2008-eleanor-m-kellon-vmd-1/>>.
72. KEMPSON, S. A., CAMPBELL, E. H. A Permeability Barrier in the Dorsal Wall of the Equine Hoof Capsule. *Equine Veterinary Journal, Suppl.* 1998, 26: 15–21.
73. KIENZLE, E., ZORN, N. Bioavailability of Minerals in the Horse. In: *Proceedings of the 3rd European Equine Nutrition & Health Congress*. 2006, s. 27–36.
74. KINCAID, R. L. Assessment of Trace Mineral Status of Ruminants: A review. *Proceedings of the American Society of Animal Science*. 1999, 1–10.
75. KIRSCHVINK, N., MOFFARTS, B., LEKEUX, P. The Oxidant/antioxidant Equilibrium in Horses. *The Equine Journal*. 2008, 177: 178–191.
76. KLEVAY, L. M. Hair as a Biopsy Material: I. Assessment of Zinc Nutriture. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1970a, 23: 284–289.
77. KLEVAY, L. M. Hair as a Biopsy Material: II. Assessment of Copper Nutriture. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1970b, 23: 1194–1202.
78. KOLM, G., HELSBERG, A., GEMEINER, M. Variations in the Concentrations of Zinc in the Blood of Icelandic Horses. *The Veterinary Record*. 2005, 157: 549.
79. KOVACS, A., SZILAGYI, M. Data on Mineral Components of the Horny Part of the Foot of Cattle, Sheep and Swine. *Acta Veterinaria Hungarica*. 1973, 23: 187–192.

80. KUDRNA, V., ČERMÁK, B., DOLEŽAL, O., FRYDRYCH, Z., HERRMANN, H., HOMOLKA, P., ILLEK, J., LOUČKA, R., MACHAČOVÁ, E., MARTÍNEK, V., MIKYSKA, F., MRKVIČKA, J., MUDŘÍK, Z., PINĎÁK, J., PODĚBRADSKÝ, Z., PULKRÁBEK, J., SKŘIVANOVÁ, V., ŠANTRŮČEK, J., ŠIMEK, M., VESELÁ, M., VRZAL, J., ZELENKA, J., ZEMANOVÁ, D. *Produkce krmiv a výživa skotu*. 1. Praha: Agropoj, 1998. 362 s. ISBN 80-239-4241-7.
81. KVASNIČKOVÁ, A. *Minerální látky a stopové prvky: Esenciální minerální prvky ve výživě*. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998. 437 s. ISBN 80-85120-94-1.
82. LAI-CHEONG, J. E., McGRATH, J. A. Structure and Function of Skin, Hair and Nails. *Medicine*. 2009, 37 (5): 223–226.
83. LAVERTY, S., IONESCU, M., MARCOUX, M., BOURÉ, L., DOIZÉ, B., POOLE, A. R. Alterations in Cartilage Type-II Procollagen and Aggrecan Contents in Synovial Fluid in Equine Osteochondrosis. *Journal of Orthopaedic Research*. 2000, 18: 399–405.
84. LECOCQ, M., GIRARD, C. A., FOGARTY, U., BEAUCHAMP, G., RICHARD, H., LAVERTY, S. Cartilage Matrix Changes in the Developing Epiphysis: Early Events on the Pathway to Equine Osteochondrosis? *Equine Veterinary Journal*. 2008, 40: 442–454.
85. LEY, W. B., PLEASANT, R. S., DUNNINGTON, E. A. Effects of Season and Diet on Tensile Strength and Mineral Content of the Equine Hoof Wall. *Equine Veterinary Journal*. 1998, 26: 46–50.
86. LIM, Y., LEVY, M., BRAY, T. M. Dietary Zinc Alters Early Inflammatory Responses during Cutaneous Wound Healing in Weanling CD-1 Mice. *The Journal of Nutrition*. 2004, 134: 811–816.

87. LÖNNERDAL, B. Dietary Factors Influencing Zinc Absorption. *Journal of Nutrition*. 2000, 130: 1378S–1383S.
88. LOWE, N. M., FEKETE, K., DECSI, T. Methods of Assessment of Zinc Status in Humans: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009, 89: 2040–2051.
89. MAIA, L., DE SOUZA, M., FERNANDES, R. A., FERREIRA FONTES, M., DE SOUZA VIANNA, M., LUZ, W. Heavy Metals in Horse Blood, Serum, and Feed in Minas Gerais, Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2006, 26: 578–583.
90. MARET, W., SANDSTEAD, H. H. Zinc Requirements and the Risks and Benefits of Zinc Supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2006, 20: 3–18.
91. MARVAN, F., HAMPL, A., HLOŽÁNKOVÁ, E., KRESAN, J., MASSANYI, L., VERNEROVÁ, E., JELÍNEK, K. *Morfologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Nakladatelství Brázda, s. r. o., 2003. 304 s. ISBN 80-209-0273-2.
92. MARYCZ, K., MOLL, E., ZAWADZKI, W., NICPOŃ, J. The Correlation of Elemental Composition and Morphological Properties of the Horses Hair after 110 Days of Feeding with High Quality Commercial Food Enriched with Zn and Cu Organic Forms. *EJPAU*. 2009, 12 (3).
93. McARDLE, H. J. The Transport of Iron and Copper across the Cell Membrane: different mechanisms for different metals? *Proceedings of the Nutrition Society*. 1992, 51: 199–209.
94. MESSERCHMIDT, A., HUBER, R. The Blue Oxidases, Ascorbate Oxidase, Lactase and Ceruloplasmin: modelling and structural relationships. *European Journal of Biochemistry*. 1990, 187: 341–352.

95. MEYER, H., COENEN, M. *Krmení koní: současné trendy ve výživě*. 1. vyd. Praha: Euromedia group, k. s. Ikar, 2003, 256 s. ISBN 80-249-0264-8.
96. MEYER, H. *Pferdefütterung*. 3. Wien: Blackwell Wissenschafts, 1995. 212 s. ISBN 3-8263-3091-9.
97. MILLER, W. J., BLACKMON, D. M., GENTRY, R. P., PATE, F. M. Effect of High but Nontoxic Levels of Zinc in Practical Diets on Zn and Zinc Metabolism in Holstein Calves. *The Journal of Nutrition*. 1970, 100: 893–902.
98. MILLER, W. J., POWELL, G. W., PITTS, W. J., PERKINS, H. F. Factors Affecting Zinc Content of Bovine Hair. *Journal of Dairy Science*. 1965, 48: 1091–1095.
99. MUELLING, CH. K. W. Nutritional Influences on Horn Quality and Hoof Health. *WCDS Advances in Dairy Technology*. 2009, 21: 283–291.
100. MÜLLING, CH. K. W., BUDRAS, K. D., 1998: Der Interzellularkitt (Membrane Coating Material, MCM) in der Epidermis der Rinderklaue. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 85: 216–223.
101. MÜLLING, CH. K. W., BRAGULLA, H. H., REESE, S., BUDRAS, K. D., STEINBERG, W. How Structures in Bovine Hoof Epidermis are Influenced by Nutritional Factors. *Anatomy Histology and Embryology Journal*. 1999, 28: 103–108.
102. NAILE, T. L., COOPER, S. R., FREEMAN, D. W., KREHBIEL, C. R. Effect of Mineral Source on Growth and Balance in Yearling Horses. *The Professional Animal Scientist*. 2005, 21: 121–127.
103. NEHASILOVÁ, D. *Stopové prvky ve výživě hospodářských zvířat*. Praha: Informační přehledy ÚZPI, 2005. 48 s.

104. NOSE, Y., REES, E. M., THIELE, D. J. Structure of the Ctr1 Copper Trans'PORE'ter Reveals Novel Architecture. *TRENDS in Biochemical Sciences*. 2006, 31: 604–607.
105. NOTIN, C., VALLON, L., DESBORDES, F., LELEU, C. Oral Supplementation with Superoxide Dismutase in Standardbred Trotters in Training: a double-blind placebo-controlled study. *Equine Veterinary Journal*. 2010, 42: 375–381.
106. NOVÁK, J. Cheláty – minerály s vyšší nutriční využitelností. *Fauna*. 2008, 12.
107. NRC (National Research Council). *Nutrient Requirements of Horses*. 6. Washington, D. C.: The National Academies Press, 2007. 341 s. ISBN 0-309-10212-X.
108. OKUMURA, M., ASANO, M., TAGAMI, M., TSUKIYAMA, K., FUJINAGA, T. Serum Copper and Ceruloplasmin Activity at the Early Growing Stage in Foals. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1998, 62: 122–126.
109. O'MARY, C. C., BELL, M. C., SNEED, N. N., BUTTS, W. T. Influence of Ration Copper on Mineral in the Hair of Hereford and Holstein Calves. *Journal of animal science*. 1970, 31: 626–630.
110. OTT, E. A., ASQUITH, R. L. The Influence of Mineral Supplementation on Growth and Skeletal Development of Yearling Horses. *Journal of animal science*. 1989, 67: 2831–2840.
111. OTT, E. A., ASQUITH, R. L. Trace Mineral Supplementation of Broodmares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 1994, 14: 93–101.
112. OTT, E. A., ASQUITH, R. L. Trace Mineral Supplementation of Yearling Horses. *Journal of Animal Science*. 1995, 73: 466–471.

113. OTT, E. A., JOHNSON, E. L. Effect of Trace Mineral Proteinates on Growth and Skeletal and Hoof Development in Yearling Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2001, 21: 287–291.
114. PAGAN, J. D. Micromineral Requirements in Horses. In PAGAN, J. D; GEOR, R. J. *Advances in Equine Nutrition II*. 1. Kentucky Equine Research Inc.: Nottingham University Press, 2001. s. 317-327. ISBN 1-897676-78-6.
115. PAL, D. T., GOWDA, N. K. S., PRASAD, C. S., AMARNATH, R., BHARADWAJ, U., SURESH BABU, G., SAMPATH, K. T. Effect of Copper- and Zinc-methionine Supplementation on Bioavailability, Mineral Status and Tissue Concentrations of Copper and Zinc in Ewes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2010, 24: 89–84.
116. PAVLATA, L., CHOMAT, M., PECHOVA, A., MISUROVA, L., DVORAK, R. Impact of Long-term Supplementation of Zinc and Selenium on their Content in Blonde and Hair in Goats. *Veterinárni Medicína*. 2011, 56 (2): 63–74.
117. PATERSON, J. A., ENGLE, T. E. Trace Mineral Nutrition in Beef Cattle. In *Nutrition Conference sponsored by Department of Animal Science*. Tennessee: The University of Tennessee, 2005.
118. PEARCE, S. G., FIRTH, E. C. The Effect of High Pasture Molybdenum Concentrations on the Copper Status of Grazing Horses in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1999, 42: 93–99.
119. POLLITT, C. C. Anatomy and Physiology of the Inner Hoof Wall. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 2004, 3: 3–21.
120. POLLITT, C. C. The Anatomy and Physiology of the Hoof Wall. *Equine Veterinary Education*. 1998, 10: 318–325.

121. POLLITT, C. C. Clinical Anatomy and Physiology of the Normal Equine Foot. *Equine Veterinary Education*. 1992, 4: 219–224.
122. PRASAD, A. S. Zinc and Immunity. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1998, 188: 63-69.
123. PRASAD, A. S. Zinc and Immunity: Molecular Mechanisms of Zinc Action on T Helper Cells. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*. 2003, 16: 139–163.
124. PROHASKA, J. R. Role of Copper Transporters in Copper Homeostasis. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2008, 88: 826–829.
125. RANDALL, V. A., EBLING, F. J. G. Seasonal Changes in Human Hair Growth. *British Journal of Dermatology*. 1991, 124 (2): 146–151.
126. REILLY, J. D., COLLINS, S. N., COPE, B. C., HOPEGOOD, L., LATHAM, R. J. Tubule Density of the Stratum Medium of Horse Hoof. *Equine Veterinary Journal, Suppl.* 1998a, 26: 4–9.
127. REILLY, J. D., COTRELL, D. F., MARTIN, R. J., CUDDEFORD, D. J. Effect of Supplementary Dietary Biotin on Hoof Growth and Hoof Rate in Ponies: a controlled trial. *Equine Veterinary Journal, Suppl.* 1998b, 26: 51–57.
128. REINHOLD, J. G., KFOURY, G. A., THOMAS, T. A. Zinc, Copper and Iron Concentrations in Hair and Other Tissues: Effects of low zinc and low protein intakes in rats. *The Journal of Nutrition*. 1967, 92: 173–182.
129. RIEKER, J. M., COOPER, S. R., TOPLIFF, D. R., FREEMAN, D. W., TEETER, R. G. Copper Balance in Mature Geldings Fed Supplemental Molybdenum. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2000, 20: 522–525.

130. SAMATA, T., MATSUDA, M. Studies on the Amino Acid Compositions of the Equine Body Hair and the Hoof. *Japanese Journal of Veterinary Science*. 1988, 50: 333–340.
131. SCOTT, D. W., MILLER, W. H. Structure and Function of the Skin. *Equine Dermatology*. 1998, s. 1–58.
132. SEO, H. J., CHO, Y. E., KIM, T., SHIN, H. I., KWUN, I. S. Zinc May Increase Bone Formation through Stimulating Cell Proliferation, Alkaline Phosphatase Activity and Collagen Synthesis in Osteoblastic MC3T3-E1 Cells. *Nutrition Research and Practice*. 2010, 4: 356–361.
133. SHANKAR, A. H., PRASAD, A. S. Zinc and Immune Function: The biological basis of altered resistance to infection. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1998, 68: 447–463.
134. SCHLUPP, A., ANIELSKI, P., THIEME, D., MÜLLER, R. K., MEYER, H., ELLENDORFF, F. The Beta-agonist Clenbuterol in Mane and Tail Hair of Horses. *Equine Veterinary Journal*. 2004, 36: 118-122.
135. SCHRYVER, H. F., HINTZ, H. F., LOWE, J. E. Absorption, Excretion and Tissue Distribution of Stable Zinc and ⁶⁵Zinc in Ponies. *Journal of Animal Science*. 1980, 51: 896–902.
136. SICILIANO, P. D., CULLEY, K. D., ENGLE, T. E., SMITH, C. W. Effect of Trace Mineral Source (inorganic vs. organic) on Hoof Wall Growth Rate, Hardness and Tensile Strength. In *Proceedings of the 17th Equine Nutrition and Physiology Symposium*. University of Kentucky: Lexington, USA, 2001. s. 143–144.
137. SMITH, J. D., JORDAN, R. M., NELSON, M. L. Tolerance of Ponies to High Levels of Dietary Copper. *Journal of animal science*. 1975, 41: 1645–1649.
138. STACHOVÁ, D. Bez kopyt není koně (2. část). *Fauna*. 2003, 4: 10–22.

139. STENN, K. S., PAUS, R. Controls of Hair Follicle Cycling. *Physiological Reviews*. 2001, 81.
140. SUTTLE, N. F., SMALL, J. N., COLLINS, E. A., MASON, D. K., WATKINS, K. L. Serum and Hepatic Copper Concentrations Used to Define Normal, Marginal and Deficient Copper Status in Horses. *Equine Veterinary Journal*. 1996, 28: 497–499.
141. ŠIMEK, M. Minerální látky a jejich zdroje u monogastrických zvířat. *Krmivářství*. 2007, 5: 20–22.
142. ŠVEHLOVÁ, D. Jak funguje kůň - část 29.: Kopyto – z čeho se skládá. *Fauna*. 2008, 19: 24.
143. TENAUD, I., LEROY, S., CHEBASSIER, N., DRENO, B. Zinc, Copper and Manganese Enhanced Keratinocyte Migration through a Functional Modulation of Keratinocyte Integrin's. *Experimental Dermatology*. 2000, 9: 407–416.
144. TENAUD, I., SAINTE-MARIE, I., JUMBOU, O., LITOUX, P., DRÉNO, B. In Vitro Modulation of Keratinocyte Wound Healing Integrin's by Zinc, Copper and Manganese. *British Journal of Dermatology*. 1999, 140: 26–34.
145. TOMLINSON, D. J., MUELLING CH. K. W. and FAKLER T. M. Formation of Keratins in the Bovine claw: Roles of Hormones, Minerals, and Vitamins in Functional Claw Integrity. *Journal of Dairy Science*. 2004, 87: 797–809.
146. UNDERWOOD, E. J., SUTTLE, N. F. *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3rd edition. UK: CABI Publishing, 1999. 614 s.
147. VERMUNT, J. J., GREENOUGH, P. R. Structural Characteristics of the Bovine Claw: Horn growth and wear, horn hardness and claw conformation. *British Veterinary Journal*. 1995, 151: 157–180.

148. WAGNER, E. L., POTTER, G. D., ELLER, E. M., GIBBS, P. G., HOOD, D. M. Absorption and Retention of Trace Minerals in Adult Horses. *The Professional Animal Scientist*. 2005, 21: 207–211.
149. WAGNER, E. L., POTTER, G. D., GIBBS, P. G., ELLER, E. M., SCOTT, B. D., VOGELSANG, M. M., WALZEM, R. L. Copper and Zinc Balance in Exercising Horses Fed 2 Forms of Mineral Supplements. *Journal of Animal Science*. 2011, 89: 722–728.
150. WAGNER, E. L., POTTER, G. D., GIBBS, P. G., ELLER, E. M., SCOTT, B. D., VOGELSANG, M. M., WALZEM, R. L. Copper, Zinc-Superoxide Dismutase Activity in Exercising Horses Fed Two Forms of Trace Mineral Supplements. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2010, 30: 31–37.
151. WANG, Y., HODGKINSON, V., ZHU, S., WEISMAN, G. A., PETRIS, M. J. Advances in the Understanding of Mammalian Copper Transporters. *Advances in Nutrition*. 2011, 2: 129–137.
152. WELLINGHAUSEN, N., KIRCHNER, H., RINK, L. The Immunobiology of Zinc. *Immunology Today*. 1997, 18: 519–521.
153. WELLS, L. A., LEROY, R., RALSTON, S. L. Mineral Intake and Hair Analysis of Horses in Arizona. *Equine Veterinary Science*. 1990, 10: 412–416.
154. WENNIG, R. Potential Problems with the Interpretation of Hair Analysis Results. *Forensic Science International*. 2000, 107(1-3): 5–12.
155. WHITTEM, T., DAVIS, C., BERESFORD, G. D., GOURDIE, T. Detection of Morphine in Mane Hair of Horses. *Australian Veterinary Journal*. 1998, 6 (76): 426–427.
156. WICHERT, B., FRANK, T., KIENZLE, E. Zinc, Copper and Selenium Intake and Status of Horses in Bavaria. *The Journal of Nutrition*. 2002a, 132: 1776–1777.

157. WICHERT, B., KREYENBERG, K., KEINZLE, E. Serum Response after Oral Supplementation of Different Zinc Compounds in Horses. *The Journal of Nutrition*. 2002b, 132: 1769–1770.
158. WILLOUGHBY, R. A., MacDONALD, E., McSHERRY, B. J., BROWN, G. Lead and Zinc Poisoning and the Interaction between Pb and Zn Poisoning in the Foal. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 1972, 3: 348–359.
159. WONG, D., BUECHNER-MAXWELL, V., MANNING, T. Equine Skin: Structure, immunologic function, and methods of diagnosing disease. *Compendium*. 2005, 5: 463–473.
160. WYSOCKI, A. A., KLETT, R. H. Hair as an Indicator of the Calcium and Phosphorus Status of Ponies. *Journal of animal science*. 1971, 32: 74–78.
161. YAMAGUCHI, M. Role of Zinc in Bone Formation and Bone Resorption. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*. 1998, 11: 119–135.
162. ZELENKA, J., ZEMAN, L. *Výživa a krmení drůbeže*. 2006. 117 s.
163. ZEMAN, L. *Výživa a krmení prasat*. 1. vyd. Brno: Ediční středisko MZLU v Brně, 2004. 98 s. ISBN 80-715-558-5.
164. ZEMAN, L., DOLEŽAL, P., KOPŘIVA, A., MRKVICOVÁ, E., PROCHÁZKOVÁ, J., RYANT, P., SKLÁDANKA, J., STRAKOVÁ, E., SUCHÝ, P., VESELÝ, P., ZELENKA, J. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Profi Press, s. r. o., 2006. 360 s. ISBN 80-86726-17-7.
165. ZEMAN, L., DOLEŽAL, P., ŠAJDLER, P., SMETANOVÁ, M. Minerální prvky ve výživě koní. *Krmivářství*. 2002, 6: 24–26.

166. ZEMAN, L., ŠAJDLER, P., HOMOLKA, P., KUDRNA, P. *Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro koně*. MZLU v Brně, 2005. 116 s. ISBN 80-7175-855-X.

167. ZEMPLIENI, J., MOCK, D. M. Biotin Homeostasis during the Cell Cycle. *Nutrition Research Reviews*. 2001, 14: 45–63

8 SEZNAM TABULEK A GRAFŮ

Tab. 1 Organické minerální produkty (FRYDRYCH, 2007; AAFCO, 2005)

Tab. 2 Základní charakteristika koní zařazených do pokusného sledování č. 1 a podmínek jejich držení

Tab. 3 Živinové složení krmiv tvořících základní krmnou dávku koní zařazených do pokusného sledování č. 1

Tab. 4 Obsah látek v 1 kg doplňku

Tab. 5 Základní charakteristika koní zařazených do pokusného sledování č. 2 a podmínek jejich držení

Tab. 6 Živinové složení krmiv tvořících základní krmnou dávku koní zařazených do pokusného sledování č. 2

Tab. 7 Základní charakteristika koní zařazených do pokusného sledování č. 3 a podmínek jejich držení

Tab. 8 Živinové složení krmiv tvořících základní krmnou dávku koní zařazených do pokusného sledování č. 3

Tab. 9 Změny v hladinách sledovaných stopových prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v krevní plazmě koní zařazených do experimentu č. 1 před a po devítiměsíční aplikaci krmného doplňku

Tab. 10 Změny v hladinách sledovaných stopových prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v sušině kopytní rohoviny koní zařazených do experimentu č. 1 před a po devítiměsíční aplikaci krmného doplňku

Tab. 11 Statistické vyhodnocení přírůstků kožních derivátů (mm) koní zařazených do experimentu č. 1 (průměr $\pm S_x$)

Tab. 12 Změny v hladinách sledovaných stopových prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v sušině žíní koní zařazených do experimentu č. 1 před a po devítiměsíční aplikaci krmného doplňku

Tab. 13 Změny v hladinách sledovaných prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v krevní plazmě koní zařazených do pokusného sledování č. 2 před a po aplikaci doplňků mědi

Tab. 14 Statistické vyhodnocení hladin sledovaných prvků v sušině výkalů, žíní a krevní plazmě koní zařazených do pokusného sledování č. 2 po čtrnáctidenní aplikaci doplňků mědi (průměr $\pm S_x$)

Tab. 15 Změny v hladinách sledovaných prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v krevní plazmě koní zařazených do experimentu č. 3 před a po čtrnáctidenní aplikaci doplňků zinku

Tab. 16 Změny v hladinách sledovaných prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v sušině kopytní rohoviny koní zařazených do experimentu č. 3 před a po pětíměsíční aplikaci doplňků zinku

Tab. 17 Statistické vyhodnocení průměrné rychlosti růstu (mm/den) kožních derivátů (průměr $\pm S_x$) koní zařazených do experimentu č. 3 během pětíměsíčního sledování

Tab. 18 Změny v hladinách sledovaných prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v sušině žíní koní zařazených do experimentu č. 3 před a po aplikaci doplňků zinku

Graf 1 Rychlost růstu kopytní rohoviny (mm) v průběhu 1. pokusného sledování

Graf 2 Přírůstky žíní a kopytní stěny (mm) během pokusného sledování č. 1

Graf 3 Míra vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu žíní (mm) v posledních deseti týdnech experimentu a množstvím deponované mědi (mg.kg^{-1}) v sušině těchto derivátů

Graf 4 Míra vzájemného vztahu mezi hladinou Cu v krevní plazmě (mg.kg^{-1}) a jejím množstvím (mg.kg^{-1}) deponovaným do struktury žíní

Graf 5 Míra vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu žíní (mm) a množstvím deponované mědi (mg.kg^{-1}) v sušině těchto derivátů

Graf 6 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponované mědi (mg.kg^{-1}) v sušině žíní klisen v experimentu č. 2

Graf 7 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponovaného zinku (mg.kg^{-1}) v sušině žíní klisen v experimentu č. 2

Graf 8 Míra vzájemného vztahu mezi hladinou mědi (mg.kg^{-1}) v krevní plazmě a jejím množstvím vyloučeným v sušině výkalů

Graf 9 Míra vzájemného vztahu mezi hladinou zinku (mg.kg^{-1}) v krevní plazmě a jeho množstvím uloženým v sušině žíní (mg.kg^{-1}) klisen zařazených do experimentu č. 3

Graf 10 Znázornění přírůstků kopytní rohoviny (mm) v pokusném sledování č. 3

Graf 11 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponované mědi (mg.kg^{-1}) v sušině žíní klisen v experimentu č. 3

Graf 12 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponovaného zinku (mg.kg^{-1}) v sušině žíní klisen v experimentu č. 3

Graf 13 Znázornění přírůstků žíní (mm) v průběhu pokusného sledování č. 3

Obr. 1 Interakce mezi vybranými minerálními prvky

Obr. 2 Popis kopytního rohového pouzdra

Obr. 3 Oddělená část kopytní rohoviny

Obr. 4 Paralelně s korunkovým okrajem probíhající kroužky se zvýrazněným kroužkem značícím změnu ve výživě koně

Obr. 5 Úprava chodidlové plochy kopytního pouzdra pomocí kovářského nože

Obr. 6 Úprava kopytního pouzdra pomocí kovářské rašple

Obr. 7 Měření přírůsků kopytní stěny

Obr. 8 Vzorky kopytní rohoviny a žílní

Obr. 9 Odběr krve z vena jugularis externa

Obr. 10 Ukázka nekvalitní rohoviny kopytní klisen č. 5 a 1 v 1. experimentu

Obr. 11 Ukázka zlepšení stavu kopytní rohoviny klisen č. 5 a 1 v 1. experimentu po devítiměsíční aplikaci krmného aditiva

Přílohy

Tab. 1 Organické minerální produkty (FRYDRYCH, 2007; AAFCO, 2005)

Komplex kovu a aminokyselin	Sloučenina, která je výsledkem komplexotvorné reakce rozpustné soli kovu s aminokyselinou (-ami); u sloučeniny musí být deklarován minimální obsah kovu. Pokud je použita jako krmný doplněk, musí být deklarována jako specifický komplex kovu a aminokyselin.	Komplex mědi a aminokyselin.
Komplex kovu a specifické aminokyseliny	Sloučenina, která je výsledkem komplexotvorné reakce rozpustné soli kovu se specifickou aminokyselinou; u sloučeniny musí být deklarován minimální obsah kovu. Pokud je použita jako komerční krmný doplněk, musí být deklarována jako specifický komplex kovu a aminokyseliny.	Komplex mědi a lyzinu; komplex zinku a lyzinu.
Chelát kovu a aminokyselin	Sloučenina, která je výsledkem reakce iontu kovu ze stabilní soli s aminokyselinami, u níž je zachován molární poměr jeden mol kovu k jednomu až třem (preferenčně dvěma) molům aminokyselin. Obě složky jsou spojeny koordinačně kovalentními vazbami a heterocyklickými kruhy. U sloučenin musí být deklarován minimální obsah kovu. Pokud je použita jako komerční krmný doplněk, musí být deklarována jako specifický chelát aminokyselin a kovu.	Chelát manganu a aminokyselin; chelát zinku a aminokyselin.
Komplex kovu a polysacharidu	Sloučenina, která je výsledkem komplexotvorné reakce rozpustné soli s roztokem polysacharidu a je deklarována jako specifický komplex kovu a polysacharidu.	Komplex mědi a polysacharidu.
Proteinát kovu	Sloučenina, která je výsledkem chelatace rozpustné minerální soli s aminokyselinami a/nebo s částečně hydrolyzovaným proteinem. Musí být deklarována jako specifický proteinát kovu.	Proteinát mědi.
Propionát kovu	Sloučenina, která je výsledkem reakce soli kovu s kyselinou propionovou a je deklarována jako specifický propionát kovu.	Propionát zinku.
Selenové kvasinky	Sušené neživé kvasinky kultivované fermentací s doplňkem selenu umožňující zabudování selenu do buněčného organického materiálu.	

Tab. 2 Základní charakteristika koní zařazených do pokusného sledování č. 1 a podmínek jejich držení

Skupina	Kůň	Jméno	Datum narození	Plemeno	Pohlaví	Zbarvení	Výběh*	Chodítka**	Kutí	Přídavek Zn (mg/ks/den)	Přídavek Cu (mg/ks/den)
Krmné aditivum (n=8)	1	Kelar	07. 03. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	Ano	100	20
	2	Pagoda	15. 05. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	Ano	100	20
	3	Reina	08. 04. 1997	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	-	100	20
	4	Tenny	13. 03. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	Ano	100	20
	5	Selen	25. 02. 2000	ČT	Klisna	Bělouš	-	Ano	Ano	100	20
	6	Nilar	30. 03. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	Ano	100	20
	7	Nensy	16. 04. 2004	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	100	20
	8	Cassina	13. 04. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	Ano	100	20
Kontrolní skupina (n=8)	9	Nika	16. 06. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	Ano	0	0
	10	Zany	15. 03. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	0	0
	11	Roxane	26. 04. 1994	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	0	0
	12	Jasmína	27. 03. 1998	ČT	Klisna	Ryzák	Ano	-	-	0	0
	13	Punc	28. 05. 2003	ČT	Valach	Ryzák	Ano	-	Ano	0	0
	14	Lér	12. 05. 1992	ČT	Klisna	Bělouš	Ano	-	-	0	0
	15	Sharon	03. 03. 1991	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	-	0	0
	16	Venice V	20. 07. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	0	0

* přibližně 8 hodin denně, ** přibližně 45 minut denně

Tab. 3 Živinné složení krmiv tvořících základní krmnou dávku koní zařazených do pokusného sledování č. 1

	Luční seno	Oves mačkaný	Šrot*
Sušina (g)	895,80	901,70	891,65
Hrubá vláknina (g)	319,21	102,20	42,30
Hrubý tuk (g)	16,65	33,52	21,51
Hrubý protein (g)	93,26	131,48	139,87
Hrubý popel (g)	70,72	28,75	27,02
Ca (g)	4,22	1,37	1,01
Fe (mg)	266,34	96,85	165,96
Zn (mg)	21,32	48,42	39,68
Mn (mg)	63,02	35,38	36,02
Cu (mg)	4,49	6,71	5,71

* 50% pšeničný šrot, 50 % ječný šrot

Tab. 4 Obsah látek v 1 kg doplňku

Složení	Obsah
Měď (mg)	2000
Zinek (mg)	10000
Biotin (mg)	6000
Pyridoxin (mg)	1500
Riboflavin (mg)	2000
Vitamín B ₁₂ (mg)	10
Vitamín D (IU)	100000
Methionin (g)	200
Glukóza (g)	100
Butylhydroxytoluen (mg)	25
Butylhydroxyanisol (mg)	5
Etoxyquin (mg)	50

Tab. 5 Základní charakteristika koní zařazených do pokusného sledování č. 2 a podmínek jejich držení

Skupina	Kůň	Jméno	Datum narození	Plemeno	Pohlaví	Zbarvení	Výběh*	Chodítko**	Přídavek Cu (mg/ks/den)
Organická forma Cu (n=7)	1	Utora	12. 04. 2000	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	120
	2	Nensy	16. 04. 2004	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	120
	3	Selen	25. 02. 2000	ČT	Klisna	Bělouš	-	Ano	120
	4	Pagoda	15. 05. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	120
	5	Nika	16. 06. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	120
	6	Rulan	01. 06. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	120
	7	Lery	26. 04. 2002	ČT	Klisna	Ryzák	-	Ano	120
Anorganická forma Cu (n=7)	8	Tullamore	12. 03. 2007	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	120
	9	Reina	08. 04. 1997	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	120
	10	Tundra	02. 04. 1993	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	120
	11	Jasmína	27. 03. 1998	ČT	Klisna	Ryzák	-	Ano	120
	12	Roxane	26. 04. 1994	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	120
	13	Venice V	20. 07. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	120
	14	Kelar	07. 03. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	120
Kontrolní skupina (n=6)	15	Tenny	13. 03. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	0
	16	Nilar	30. 03. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	0
	17	Nola	26. 04. 2007	ČT	Klisna	Bělouš	Ano	-	0
	18	Lantavera	06. 05. 2007	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	0
	19	Lakara	06. 01. 2007	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	0
	20	Pamela	14. 03. 2001	ČT	Klisna	Ryzák	-	Ano	0

* přibližně 8 hodin denně, ** přibližně 45 minut denně

Tab. 6 Živinné složení krmiv tvořících základní krmnou dávku koní zařazených do pokusného sledování č. 2

	Seno luční	Oves mačkaný	Šrot*
Sušina (g)	880,40	873,10	902,10
Hrubá vláknina (g)	303,07	102,91	20,85
Hrubý tuk (g)	21,73	42,71	19,47
Hrubý protein (g)	94,00	119,38	121,98
Hrubý popel (g)	71,39	29,53	21,30
Ca (g)	2,60	0,68	0,40
Mg (g)	1,15	1,08	1,03
Fe (mg)	157,03	93,25	60,16
Zn (mg)	35,10	32,06	34,83
Cu (mg)	5,85	5,11	5,01

* 50% pšeničný šrot, 50 % ječný šrot

Tab. 7 Základní charakteristika koní zařazených do pokusného sledování č. 3 a podmínek jejich držení

Skupina	Kůň	Jméno	Datum narození	Plemeno	Pohlaví	Zbarvení	Výběh*	Chodítka**	Kutí	Přídavek Zn (mg/ks/den)
Organická forma Zn (n=6)	1	Kelar	07. 03. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	-	100
	2	Selen	25. 02. 2000	ČT	Klisna	Bělouš	-	Ano	Ano	100
	3	Nika	16. 06. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	100
	4	Rulan	01. 06. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	Ano	100
	5	Cassina	13. 04. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	Ano	100
	6	Tullamore	12. 03. 2007	ČT	Klisna	Hnědák	-	Ano	Ano	100
Anorganická forma Zn (n=6)	7	Pamela	14. 03. 2001	ČT	Klisna	Ryzák	-	Ano	-	100
	8	Utora	12. 04. 2000	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	100
	9	Nensy	16. 04. 2004	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	100
	10	Zany	15. 03. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	100
	11	Tenny	13. 03. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	Ano	100
	12	Nilar	30. 03. 2005	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	Ano	100
Kontrolní skupina (n=6)	13	Reina	08. 04. 1997	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	0
	14	Venice V	20. 07. 2002	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	-	0
	15	Nola	26. 04. 2007	ČT	Klisna	Bělouš	Ano	-	-	0
	16	Lakara	06. 01. 2007	ČT	Klisna	Hnědák	Ano	-	Ano	0
	17	Jasmína	27. 03. 1998	ČT	Klisna	Ryzák	-	-	Ano	0
	18	Zambi	04. 05. 1997	ČT	Klisna	Ryzák	Ano	-	Ano	0

* přibližně 8 hodin denně, ** přibližně 45 minut denně

Tab. 8 Živinné složení krmiv tvořících základní krmnou dávku koní zařazených do pokusného sledování č. 3

	Seno luční	Koncentrované krmivo
Sušina (g)	872,40	898,39
Hrubá vláknina (g)	357,99	63,35
Celkový tuk (g)	20,11	28,51
Celkový protein (g)	98,15	122,48
Popeloviny (g)	64,39	26,26
Ca (g)	4,37	1,66
P (g)	1,52	3,79
Zn (mg)	25,89	29,48
Fe (mg)	253,69	117,97
Cu (mg)	12,06	11,83

Tab. 9 Změny v hladinách sledovaných stopových prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v krevní plazmě koní zařazených do experimentu č. 1 před a po devítiměsíční aplikaci krmného doplňku

Skupina	Kůň	Stopové prvky			
		Zn		Cu	
		Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny	Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny
Krmné aditivum (n=8)	1	0,68	0,76	0,57	0,55
	2	0,71	0,78	0,76	0,62
	3	0,73	0,77	0,73	0,35
	4	0,86	0,71	0,71	0,67
	5	0,79	0,72	0,54	0,47
	6	0,79	0,69	0,52	0,79
	7	0,92	0,84	0,34	0,63
	8	0,77	0,95	0,64	0,46
Průměr ± Sx		0,78 ± 0,07	0,78 ± 0,08	0,60 ± 0,13	0,57 ± 0,13
Kontrolní skupina (n=8)	9	0,73	0,78	0,98	0,77
	10	0,78	0,62	0,62	0,69
	11	0,49	0,88	0,45	0,86
	12	0,71	0,75	0,94	0,54
	13	0,78	0,86	0,32	0,49
	14	0,85	0,74	0,51	0,81
	15	0,80	0,72	0,64	0,66
	16	0,84	0,78	0,65	0,78
Průměr ± Sx		0,75 ± 0,11	0,77 ± 0,07	0,64 ± 0,21	0,70 ± 0,12

ab – statisticky průkazné ($P < 0,05$) změny mezi odběry v rámci jednotlivých prvků a skupin

Sx – směrodatná odchylka

Tab. 10 Změny v hladinách sledovaných stopových prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v sušině kopytní rohoviny koní zařazených do experimentu č. 1 před a po devítiměsíční aplikaci krmného doplňku

Skupina	Kůň	Stopové prvky			
		Zn		Cu	
		Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny	Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny
Krmné aditivum (n=8)	1	80,63	113,42	1,72	3,86
	2	91,53	127,89	2,61	4,14
	3	106,23	122,75	1,63	5,38
	4	93,24	124,90	2,79	5,75
	5	88,83	130,16	1,63	3,79
	6	99,89	105,80	3,39	3,20
	7	106,73	114,19	1,99	4,21
	8	99,46	102,73	3,37	2,14
Průměr ± Sx		95,82 ± 8,96^A	117,73 ± 10,23^B	2,39 ± 0,75^a	4,06 ± 1,14^b
Kontrolní skupina (n=8)	9	106,58	103,71	3,32	4,10
	10	100,54	100,00	2,34	4,79
	11	97,42	133,39	1,55	5,37
	12	98,19	125,07	1,29	3,51
	13	116,42	120,67	5,75	2,76
	14	104,43	107,13	4,31	3,94
	15	104,26	105,82	2,35	2,76
	16	111,60	117,23	2,75	3,03
Průměr ± Sx		104,93 ± 6,56	114,13 ± 11,77	2,96 ± 1,48	3,78 ± 0,96

ab – statisticky průkazné ($P < 0,05$), AB – vysoce průkazné ($P < 0,01$) změny mezi odběry v rámci jednotlivých prvků a skupin

Sx – směrodatná odchylka

Tab. 11 Statistické vyhodnocení přírůstků kožních derivátů (mm) koní zařazených do experimentu č. 1 (průměr ± S_x)

Kožní derivát	Skupina	Dny pokusného sledování				Průměrný přírůstek	Celkový přírůstek
		70.	140.	210.	280.		
Rohovina	Krmné aditivum (n=8)	12,96 ± 1,89	15,70 ± 2,82 ^a	21,45 ± 2,41 ^A	21,38 ± 4,00 ^a	17,87 ± 2,78 ^a	71,50 ± 6,66 ^A
	Kontrolní skupina (n=8)	11,39 ± 1,89	12,88 ± 2,32 ^b	17,68 ± 2,03 ^B	16,52 ± 3,81 ^b	14,61 ± 1,44 ^b	58,46 ± 5,77 ^B
Žíně	Krmné aditivum (n=8)	x	45,66 ± 4,93 ^a	48,56 ± 2,09 ^A	44,26 ± 4,43 ^A	46,16 ± 2,91 ^A	138,48 ± 8,73 ^A
	Kontrolní skupina (n=8)	x	40,35 ± 3,80 ^b	41,94 ± 5,67 ^B	37,73 ± 4,67 ^B	40,01 ± 3,61 ^B	120,02 ± 10,83 ^B

Rozdíly mezi skupinou kontrolních a pokusných zvířat: ab – statisticky průkazné ($P < 0,05$), AB – vysoce průkazné ($P < 0,01$), x – nebylo měřeno

Tab. 12 Změny v hladinách sledovaných stopových prvků (mg.kg^{-1}) v sušině žíní koní zařazených do experimentu č. 1 před a po devítiměsíční aplikaci krmného doplňku

Skupina	Kůň	Stopové prvky			
		Zn		Cu	
		Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny	Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny
Krmné aditivum (n=8)	1	135,21	143,27	5,88	6,25
	2	156,40	143,47	8,41	6,85
	3	83,72	144,74	13,63	7,88
	4	220,42	134,70	13,42	6,77
	5	199,27	162,84	10,17	9,86
	6	122,13	110,92	5,30	8,63
	7	127,31	111,35	6,40	8,77
	8	158,25	153,37	7,27	7,82
Průměr ± Sx		150,34 ± 43,75	138,08 ± 18,56	8,81 ± 3,29	7,85 ± 1,21
Kontrolní skupina (n=8)	9	161,86	120,02	9,66	6,08
	10	109,63	135,04	5,08	5,78
	11	116,00	137,10	7,50	7,42
	12	117,55	146,66	5,33	5,61
	13	175,76	144,49	8,57	9,29
	14	136,87	119,97	12,24	9,68
	15	140,13	161,72	6,50	10,03
	16	129,03	137,67	7,13	9,75
Průměr ± Sx		135,85 ± 21,65	137,83 ± 12,93	7,75 ± 2,22	7,96 ± 1,81

ab – statisticky průkazné ($P < 0,05$), AB – vysoce průkazné ($P < 0,01$) změny mezi odběry v rámci jednotlivých prvků a skupin

Sx – směrodatná odchylka

Tab. 13 Změny v hladinách sledovaných prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v krevní plazmě koní zařazených do pokusného sledování č. 2 před a po aplikaci doplňků mědi

Skupina	Kůň	Stopové prvky			
		Zn		Cu	
		Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny	Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny
Organická forma Cu (n=7)	1	0,55	0,70	1,10	1,11
	2	0,57	0,62	1,04	0,93
	3	0,64	0,62	0,75	0,75
	4	0,59	0,76	1,00	1,06
	5	0,53	0,49	0,99	0,95
	6	0,54	0,50	0,87	0,78
	7	0,61	0,74	0,97	0,91
Průměr ± Sx		0,58 ± 0,04	0,64 ± 0,11	0,96 ± 0,11	0,93 ± 0,13
Anorganická forma Cu (n=7)	8	0,59	0,68	0,81	0,79
	9	0,56	0,58	0,98	0,89
	10	0,57	0,59	0,77	0,73
	11	0,52	0,54	1,04	0,78
	12	0,68	0,60	0,88	0,85
	13	0,50	0,48	0,76	0,75
	14	0,54	0,48	0,83	0,66
Průměr ± Sx		0,56 ± 0,06	0,57 ± 0,07	0,87 ± 0,11^a	0,78 ± 0,08^b
Kontrolní skupina (n=6)	15	0,49	0,53	0,84	0,75
	16	0,51	0,57	1,02	0,94
	17	0,52	0,66	0,99	0,82
	18	0,57	0,66	1,11	0,94
	19	0,50	0,58	0,90	1,04
	20	0,59	0,55	0,83	0,67
Průměr ± Sx		0,53 ± 0,04	0,59 ± 0,05	0,95 ± 0,11	0,86 ± 0,14

ab – statisticky průkazné ($P < 0,05$) změny mezi odběry v rámci jednotlivých prvků a skupin, Sx – směrodatná odchylka

Tab. 14 Statistické vyhodnocení hladin sledovaných prvků v sušině výkalů, žíně a krevní plazmě koní zařazených do pokusného sledování č. 2 po čtrnáctidenní aplikaci doplňků mědi (průměr ± S_x)

Parametr	Skupina	Minerální prvky	
		Zn	Cu
Výkaly (mg.kg ⁻¹)	Organická forma Cu (n=7)	41,58 ± 1,45 ^b	11,57 ± 0,91 ^B
	Anorganická forma Cu (n=7)	45,56 ± 2,30 ^a	12,10 ± 1,23 ^B
	Kontrolní skupina (n=6)	51,52 ± 9,74 ^a	8,29 ± 0,62 ^A
Plazma (mg.kg ⁻¹)	Organická forma Cu (n=7)	0,64 ± 0,11	0,93 ± 0,13 ^a
	Anorganická forma Cu (n=7)	0,57 ± 0,07	0,78 ± 0,08 ^b
	Kontrolní skupina (n=6)	0,59 ± 0,05	0,86 ± 0,14 ^{ab}
Žině (mg.kg ⁻¹)	Organická forma Cu (n=7)	153,41 ± 41,06	15,32 ± 1,13 ^{AB}
	Anorganická forma Cu (n=7)	178,73 ± 19,42	17,39 ± 2,32 ^B
	Kontrolní skupina (n=6)	164,60 ± 25,75	13,37 ± 1,82 ^A

Rozdíly mezi skupinami v rámci jednotlivých prvků byly: abc – statisticky průkazné ($P < 0,05$); ABC – vysoce průkazné ($P < 0,01$)

Tab. 15 Změny v hladinách sledovaných prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v krevní plazmě koní zařazených do experimentu č. 3 před a po čtrnáctidenní aplikaci doplňků zinku

Skupina	Kůň	Stopové prvky			
		Zn		Cu	
		Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny	Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny
Organická forma Zn (n=6)	1	0,57	0,52	0,59	0,59
	2	0,75	0,58	0,54	0,56
	3	0,55	0,54	0,86	0,83
	4	0,55	0,46	0,67	0,59
	5	0,64	0,54	0,96	0,94
	6	0,54	0,45	0,74	0,94
Průměr ± Sx		0,60 ± 0,08^a	0,52 ± 0,05^b	0,72 ± 0,16	0,74 ± 0,18
Anorganická forma Zn (n=6)	7	0,58	0,50	0,58	0,57
	8	0,57	0,51	1,01	0,90
	9	0,50	0,55	0,72	0,92
	10	0,48	0,49	0,78	0,76
	11	0,61	0,35	0,59	0,66
	12	0,50	0,56	0,62	0,66
Průměr ± Sx		0,54 ± 0,05	0,49 ± 0,08	0,72 ± 0,17	0,75 ± 0,14
Kontrolní skupina (n=6)	13	0,54	0,54	0,85	0,98
	14	0,55	0,51	0,70	0,70
	15	0,55	0,47	1,10	0,92
	16	0,50	0,47	0,71	0,68
	17	0,45	0,47	0,72	0,73
	18	0,55	0,44	0,79	0,78
Průměr ± Sx		0,52 ± 0,04	0,48 ± 0,03	0,81 ± 0,15	0,80 ± 0,13

ab – statisticky průkazné ($P < 0,05$) změny mezi odběry v rámci jednotlivých prvků a skupin, Sx – směrodatná odchylka

Tab. 16 Změny v hladinách sledovaných prvků (mg.kg^{-1}) v sušině kopytní rohoviny koní zařazených do experimentu č. 3 před a po pětiměsíční aplikaci doplňků zinku

Skupina	Kůň	Stopové prvky			
		Zn		Cu	
		Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny	Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny
Organická forma Zn (n=6)	1	85,02	104,00	1,33	1,73
	2	86,14	97,57	0,59	1,95
	3	108,64	102,91	1,43	1,90
	4	81,92	88,60	0,88	1,73
	5	106,55	105,50	1,19	2,50
	6	116,22	115,68	3,33	1,62
Průměr ± Sx		97,41 ± 14,72	102,38 ± 8,97	1,46 ± 0,97	1,90 ± 0,31
Anorganická forma Zn (n=6)	7	161,03	109,48	0,18	2,76
	8	122,80	119,83	2,17	1,11
	9	98,52	108,72	0,64	2,27
	10	107,33	107,56	2,88	2,34
	11	87,46	99,82	1,76	2,18
	12	97,00	115,07	1,46	2,28
Průměr ± Sx		112,36 ± 26,65	110,08 ± 6,84	1,51 ± 0,99	2,16 ± 0,55
Kontrolní skupina (n=6)	13	105,89	103,26	1,79	1,15
	14	115,74	114,10	1,62	2,19
	15	83,96	93,23	1,35	2,53
	16	91,24	101,41	1,74	1,18
	17	103,41	93,65	1,35	2,45
	18	86,73	90,48	1,37	1,04
Průměr ± Sx		97,83 ± 12,46	99,35 ± 8,78	1,54 ± 0,21	1,76 ± 0,71

Sx – směrodatná odchylka

Tab. 17 Statistické hodnocení průměrné rychlosti růstu (mm/den) kožních derivátů (průměr ± S_x) koní zařazených do experimentu č. 3 během pětiměsíčního sledování

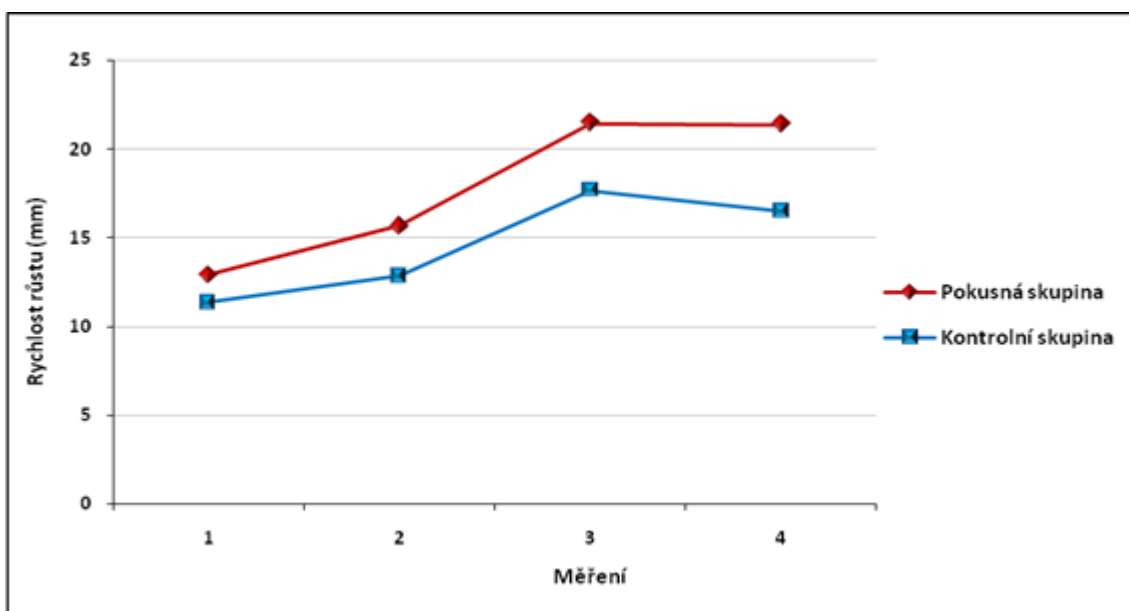
Skupina	Průměrný denní přírůstek (mm)	
	Stěna kopytní	Žíně
Organická forma Zn (n=6)	0,29 ± 0,04	0,68 ± 0,04
Anorganická forma Zn (n=6)	0,31 ± 0,02	0,69 ± 0,04
Kontrolní skupina (n=6)	0,31 ± 0,02	0,68 ± 0,03

Tab. 18 Změny v hladinách sledovaných prvků ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v sušině žíní koní zařazených do experimentu č. 3 před a po aplikaci doplňků zinku

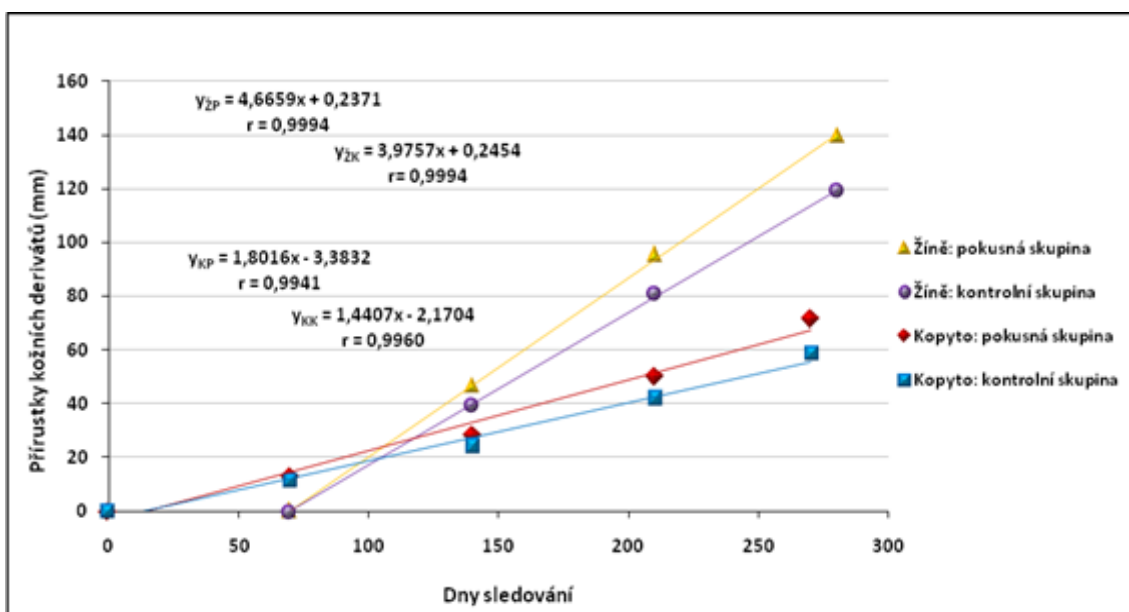
Skupina	Kůň	Stopové prvky			
		Zn		Cu	
		Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny	Počáteční hladiny	Závěrečné hladiny
Organická forma Zn (n=6)	1	153,47	163,85	2,77	5,00
	2	156,52	150,12	3,68	3,84
	3	128,98	126,98	1,79	3,17
	4	130,46	157,21	0,45	0,70
	5	158,26	160,85	1,02	2,60
	6	142,11	145,48	x	x
Průměr ± Sx		144,97 ± 13,09	149,08 ± 12,08	1,94 ± 1,31	3,06 ± 1,59
Anorganická forma Zn (n=6)	7	160,93	144,06	1,48	3,22
	8	158,03	150,99	1,47	2,05
	9	163,42	136,36	2,52	2,05
	10	134,30	131,12	0,20	1,85
	11	153,29	140,26	2,89	3,78
	12	151,37	135,28	1,05	2,75
Průměr ± Sx		153,56 ± 10,46^a	139,68 ± 7,09^b	1,60 ± 0,98^a	2,62 ± 0,77^b
Kontrolní skupina (n=6)	13	149,46	141,90	3,66	4,80
	14	185,09	142,54	x	x
	15	152,40	135,08	1,71	2,27
	16	139,74	125,85	2,13	1,56
	17	161,22	141,86	3,15	5,55
	18	139,63	130,78	2,10	4,43
Průměr ± Sx		154,59 ± 17,03^a	136,33 ± 6,96^b	2,55 ± 0,82	3,72 ± 1,72

* statisticky průkazné ($P < 0,05$) změny mezi odběry v rámci jednotlivých prvků a skupin, Sx – směrodatná odchylka

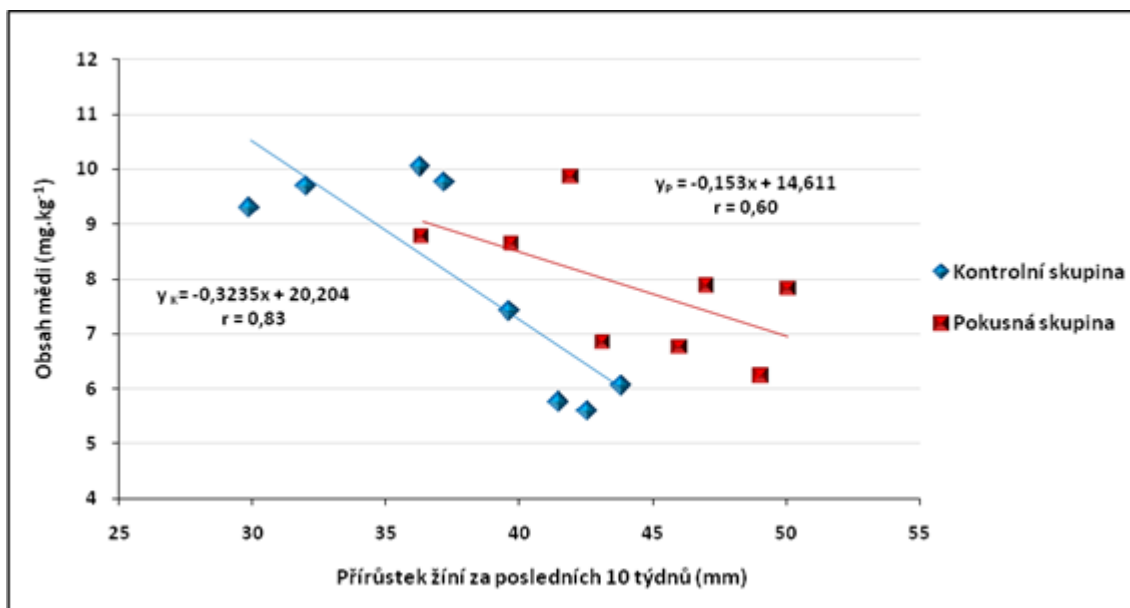
x vzorek pod hranicí detekce ($<0,1$)



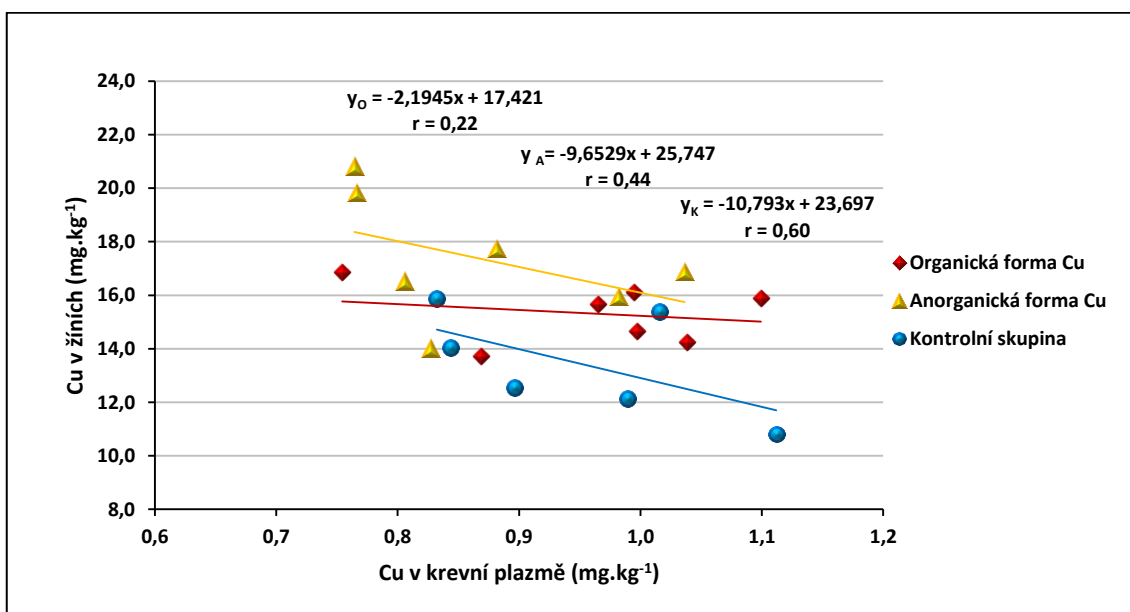
Graf 1 Rychlost růstu kopytní rohoviny (mm) v průběhu 1. pokusného sledování



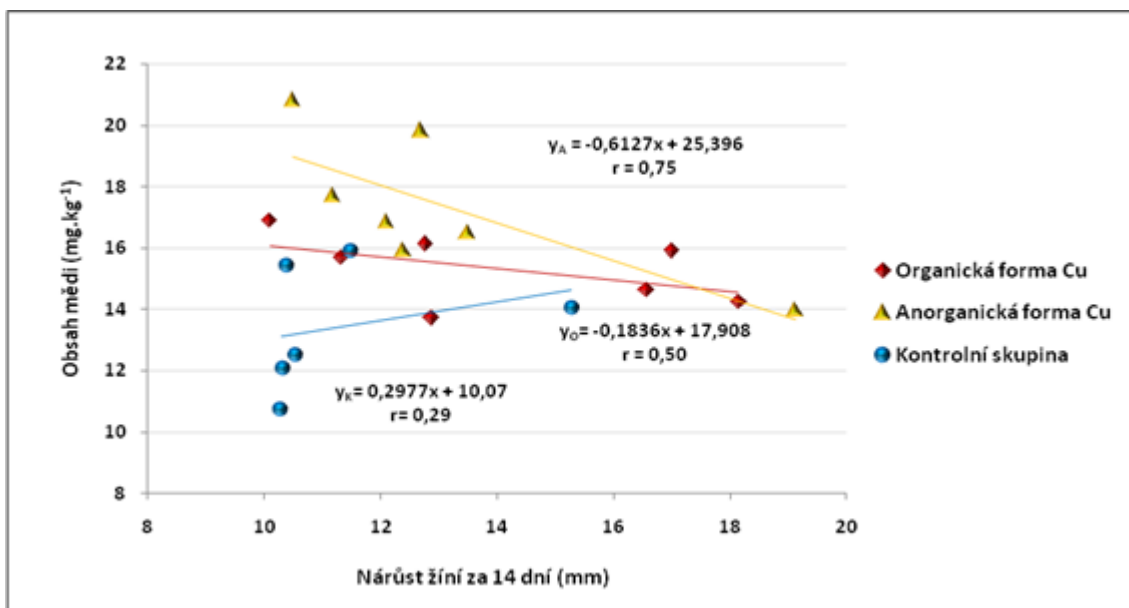
Graf 2 Přírůstky žíně a kopytní stěny (mm) během pokusného sledování č. 1



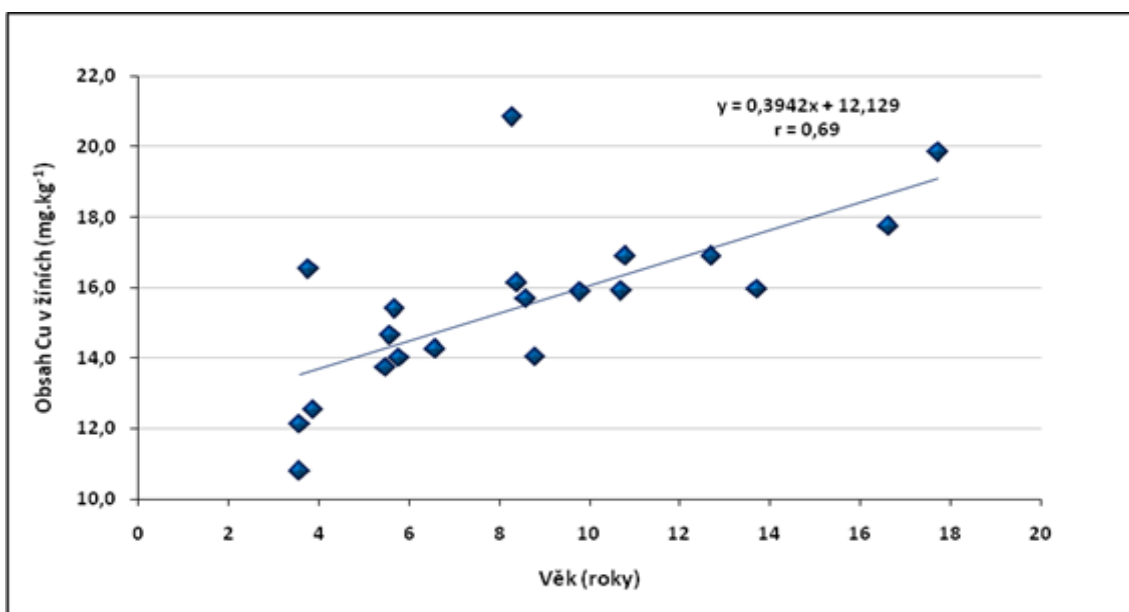
Graf 3 Míra vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu žíni (mm) v posledních deseti týdnech experimentu a množstvím deponované mědi (mg.kg^{-1}) v sušině těchto derivátů



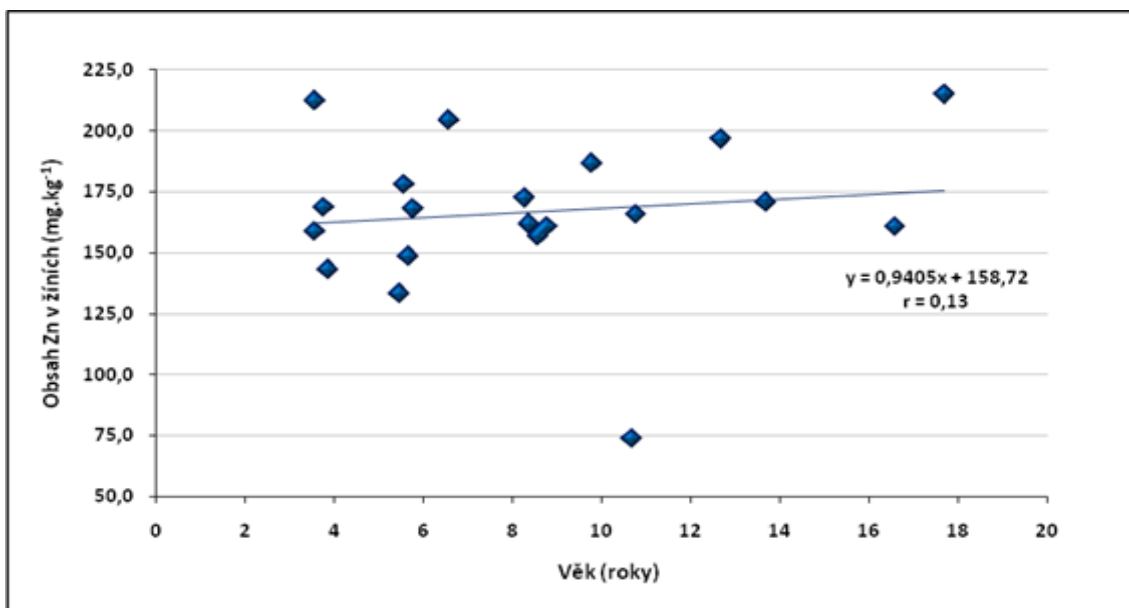
Graf 4 Míra vzájemného vztahu mezi hladinou Cu v krevní plazmě (mg.kg^{-1}) a jejím množstvím (mg.kg^{-1}) deponovaným do struktury žíni



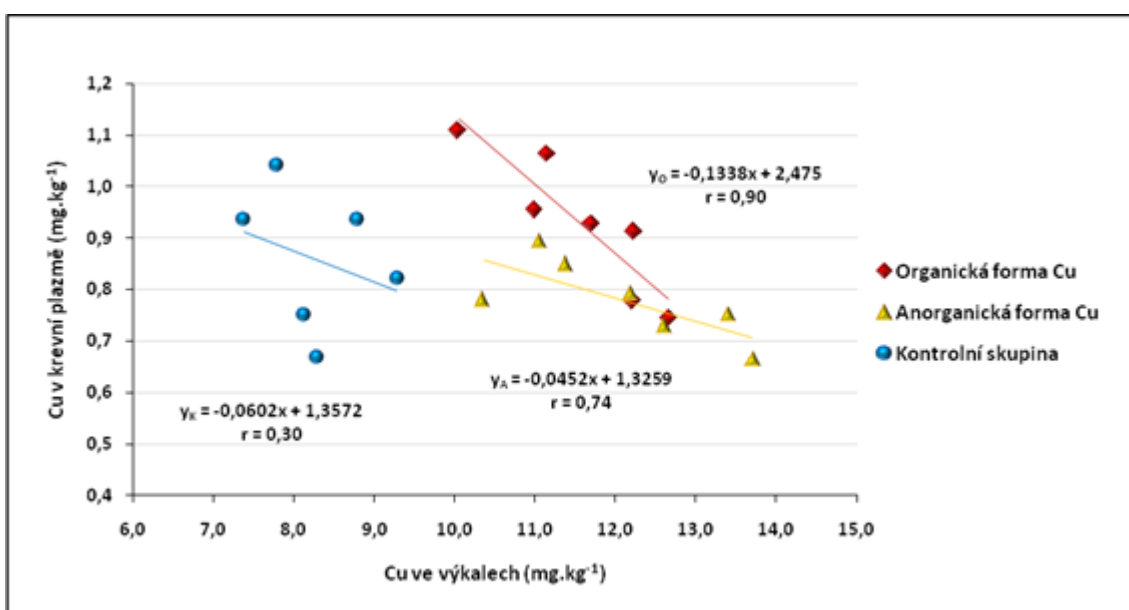
Graf 5 Míra vzájemného vztahu mezi rychlostí růstu žíní (mm) a množstvím deponované mědi (mg.kg⁻¹) v sušině těchto derivátů



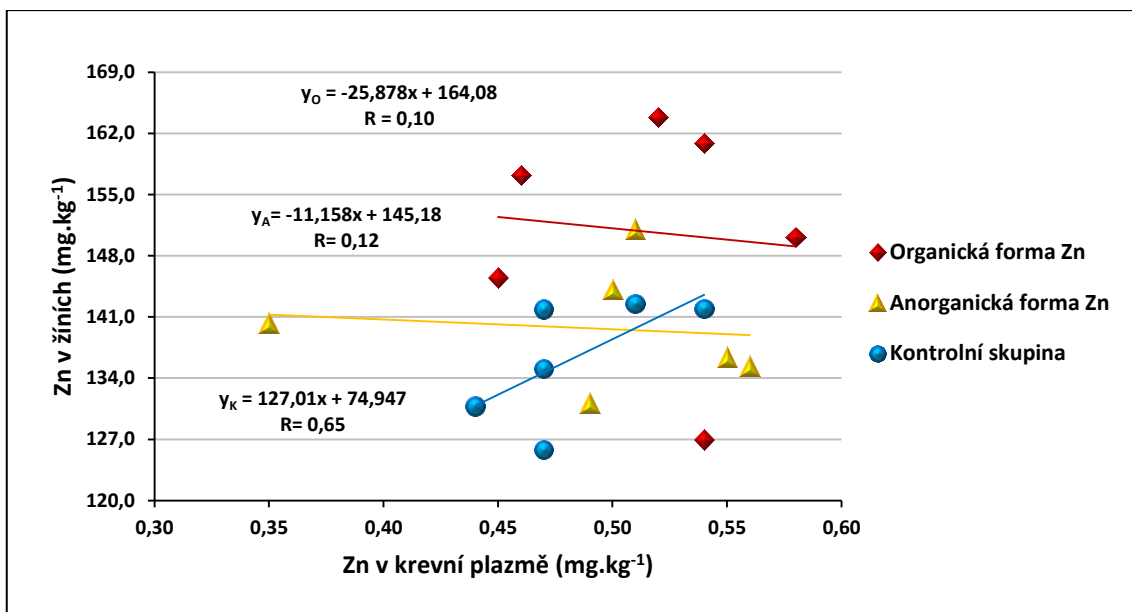
Graf 6 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponované mědi (mg.kg⁻¹) v sušině žíní klisen v experimentu č. 2



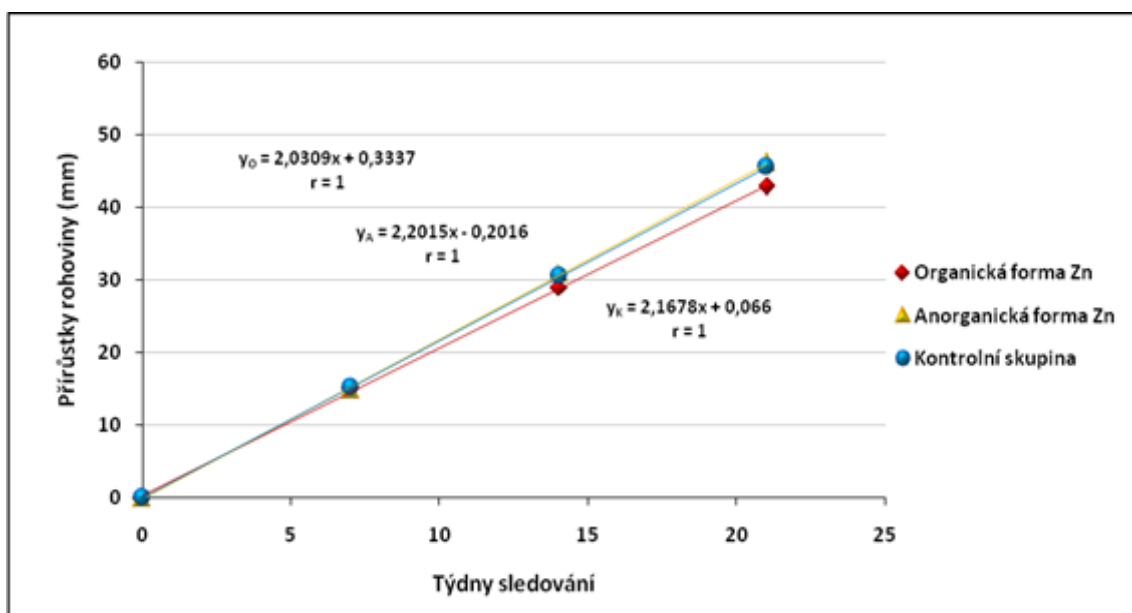
Graf 7 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponovaného zinku (mg.kg⁻¹) v sušině žíní klisen v experimentu č. 2



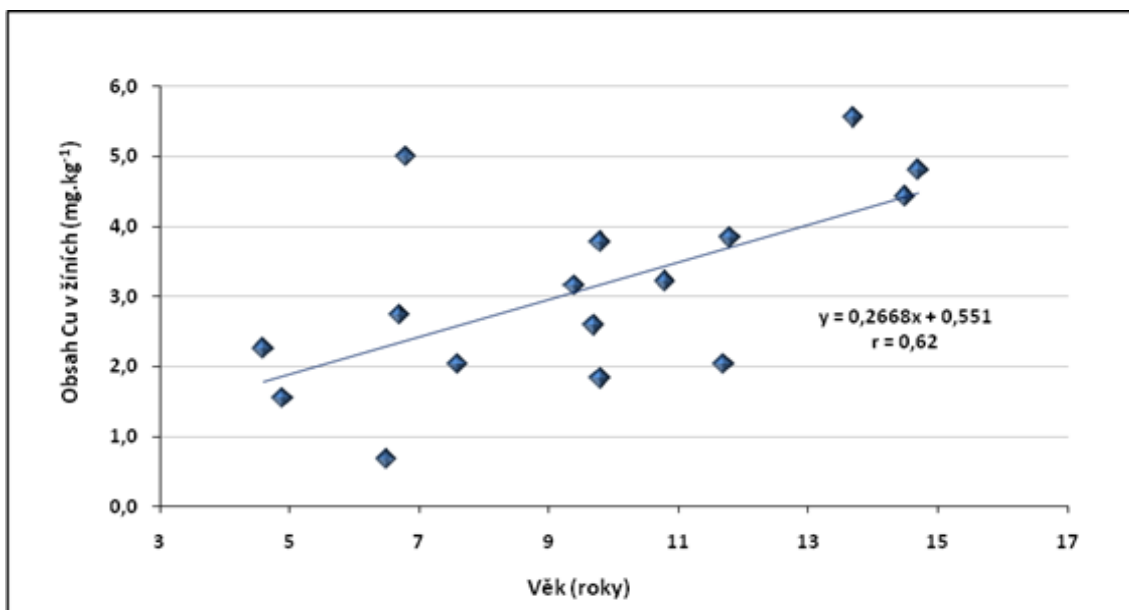
Graf 8 Míra vzájemného vztahu mezi hladinou mědi (mg.kg⁻¹) v krevní plazmě a jejím množstvím vyloučeným v sušině výkalů



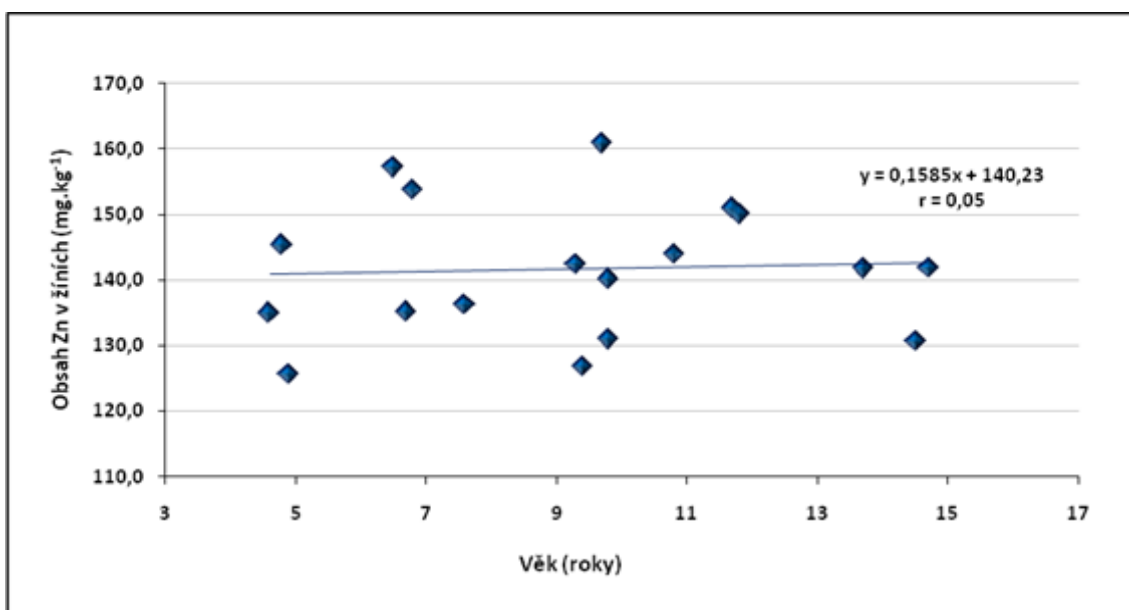
Graf 9 Míra vzájemného vztahu mezi hladinou zinku (mg.kg⁻¹) v krevní plazmě a jeho množstvím uloženým v sušině žíní (mg.kg⁻¹) klisen zařazených do experimentu č. 3



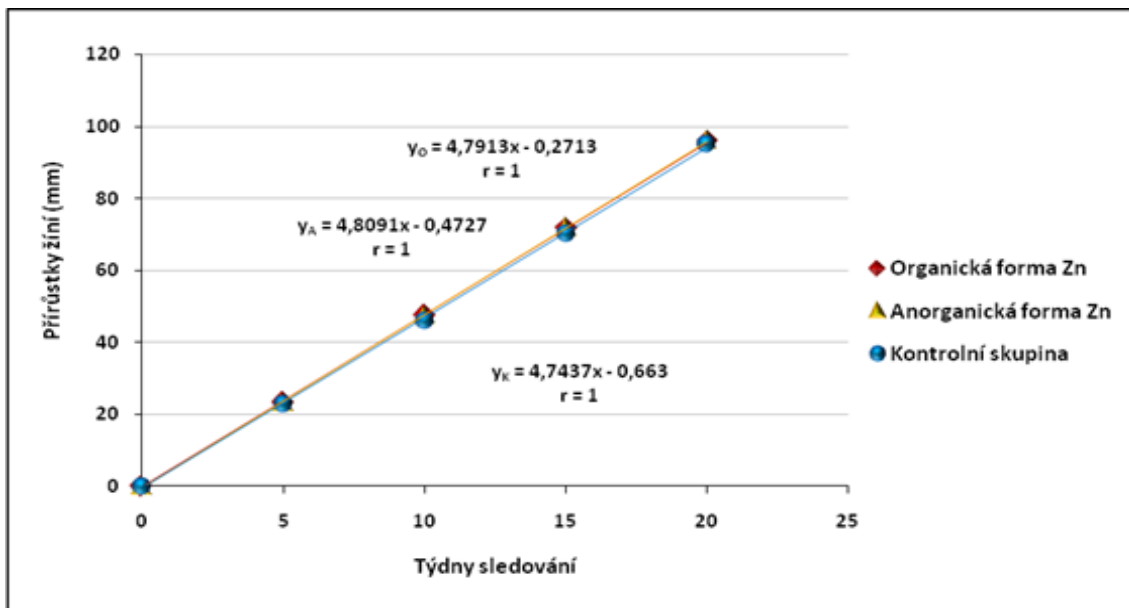
Graf 10 Znárodnění přírůstků kopytní rohoviny (mm) v pokusném sledování č. 3



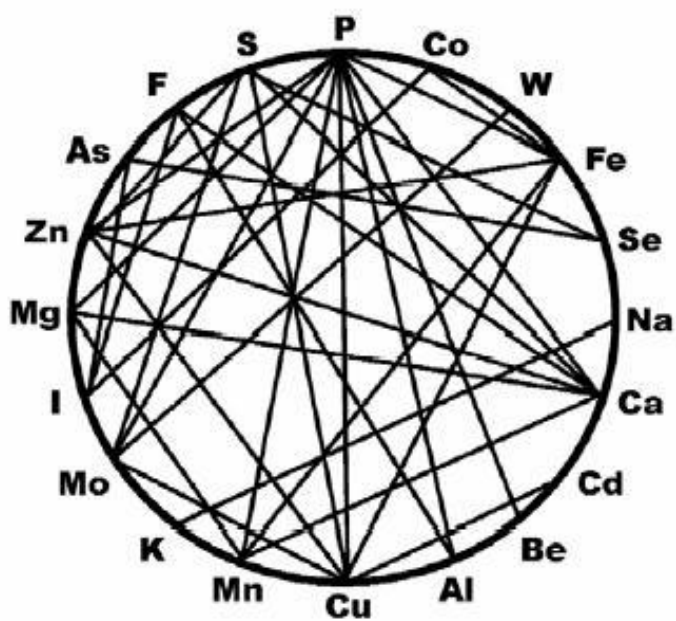
Graf 11 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponované mědi (mg.kg^{-1}) v sušině žíní klisen v experimentu č. 3



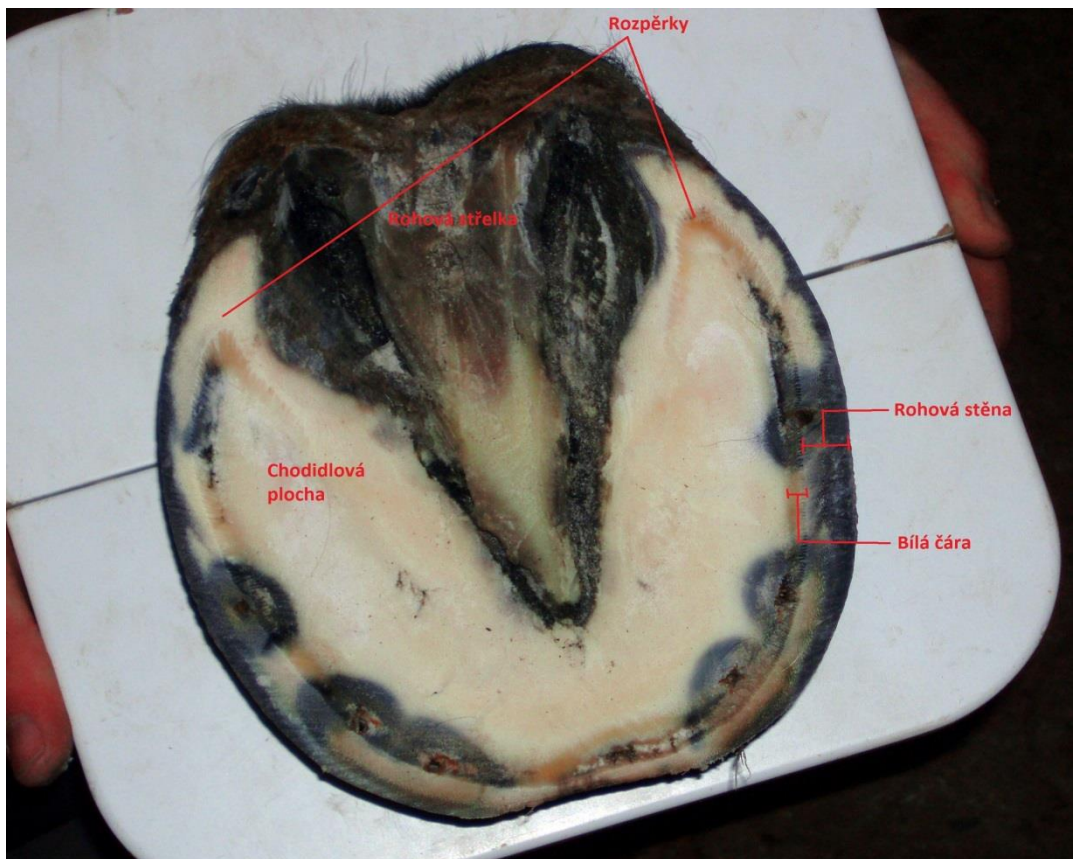
Graf 12 Míra vzájemného vztahu mezi věkem (roky) a množstvím deponovaného zinku (mg.kg^{-1}) v sušině žíní klisen v experimentu č. 3



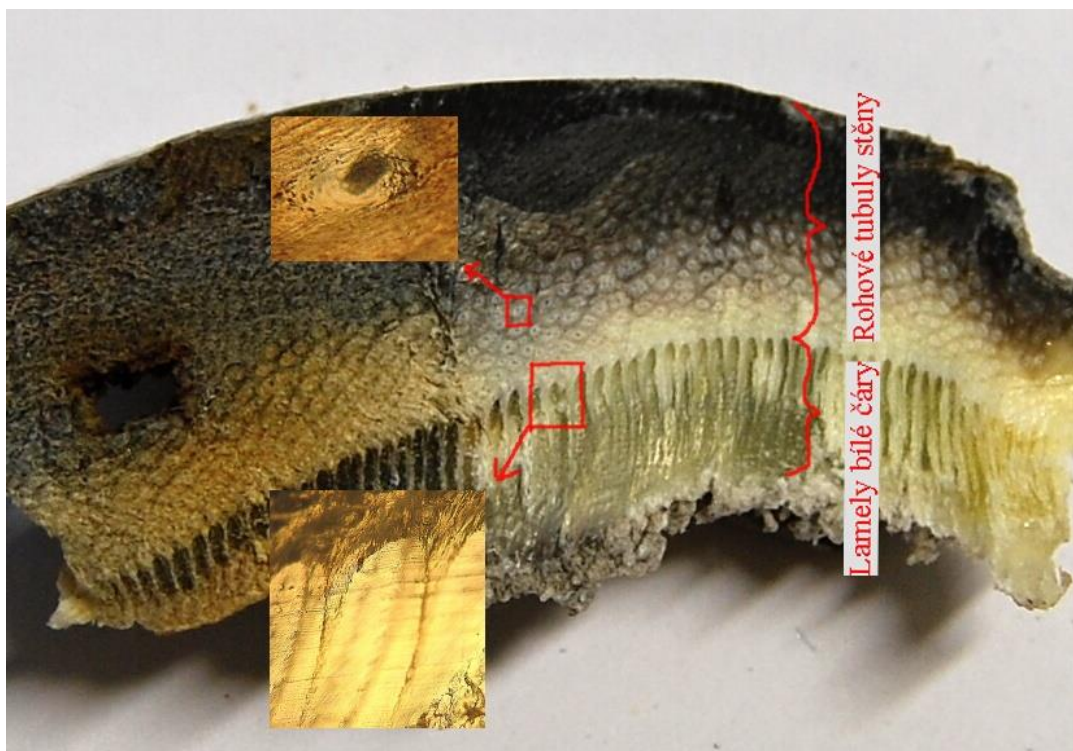
Graf 13 Znáornění přírůstků žíní (mm) v průběhu pokusného sledování č. 3



Obr. 1 Interakce mezi vybranými minerálními prvky



Obr. 2 Popis kopytního rohového pouzdra



Obr. 3 Oddělená část kopytní rohoviny



Obr. 4 Paralelně s korunkovým okrajem probíhající kroužky se zvýrazněným kroužkem značícím změnu ve výživě koně



Obr. 5 Úprava chodidlové plochy kopytního pouzdra pomocí kovářského nože



Obr. 6 Úprava kopytního pouzdra pomocí kovářské rašple



Obr. 7 Měření přírůsků kopytní stěny



Obr. 8 Vzoroky kopytní rohoviny a žíní



Obr. 9 Odběr krve z vena jugularis externa



Obr. 10 Ukázka nekvalitní rohoviny kopytní klisen č. 5 a 1 v 1. experimentu



Obr. 11 Ukázka zlepšení stavu kopytní rohoviny klisen č. 5 a 1 v 1. experimentu po devítiměsíční aplikaci krmného aditiva