

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chovu hospodářských zvířat**



**Posouzení schopnosti koní vyrovnat se se stressovými  
podněty**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Kateřina Zelená**

**Obor studia: Zájmové chovy zvířat**

**Vedoucí práce: Ing. Cyril Neumann**

© 2021 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Posouzení schopnosti koní vyrovnat se se stressovými podněty" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 25. 4. 2021

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Cyrilu Neumannovi za odborné vedení, pomoc a vstřícný přístup při tvorbě této práce. Dále pak také Mgr. Petru Doležalovi, Ph.D. za analýzu vzorků a asistenci při zpracování výsledků. V neposlední řadě děkuji své rodině a především své přítelkyni za její pochopení, obětavost a pevné nervy.

# Posouzení schopnosti koní vyrovnat se se stressovými podněty

## Souhrn

Policejní koně jsou velmi cenným společníkem strážcům zákona při výkonu práce. Toto majestátní zvíře budící respekt neodmyslitelně patří do složek policie a to nejen v České republice. Jedná se především o zvíře plaché, neofobní, jehož instinktivní reakcí je v první řadě útek. Tento silně zakořeněný pud přežití je možné správným tréninkem usměrnit. Policejní koně jsou nejčastěji viděni jako součást jízdního oddílu při demonstracích nebo fotbalových zápasech, kde ne zřídka dochází k výtržnostem za použití pyrotechniky a jiných stresových podnětů. Proto je důležité najít spolehlivé ukazatele podle kterých je možné vybírat vhodné koně pro takto náročnou práci.

Hladina kortizolu v těle silně koreluje s fyziologickým projevem stresu, proto cílem této práce bylo na základě hodnot stresového hormonu kortizolu obsaženého ve slinách posoudit schopnost koně vyrovnat se se stressovými podněty v závislosti na věku, délce výcviku a plemenné příslušnosti. Experimentu se účastnilo celkem deset koní z oddělení služební hipologie Policie České republiky na Císařském ostrově v Praze. Škála testovaných jedinců zahrnovala mladé i zkušené služební koně z plemen český teplokrevník, nonius, slovenský teplokrevník a šlonský kůň. Zpracovaná data se zjišťovala ze vzorků slin, které byly odebírány nejprve po tři dny v ranních hodinách a následně ze vzorků po vystavení koní stresovým podnětům během nácvikového dne. Klidové odběry probíhaly uvnitř stáje vždy po krmení a celkem bylo takto odebráno třicet vzorků. Při závěrečném dni experimentu byly provedeny čtyři odběry. První opět v klidovém stavu a další tři byly odebrány následně po dokončení práce na jízdárně, při které byly koně vystaveni rušivým nácvikovým akcím. Druhý vzorek dne byl odebírán ihned po práci a zbylé dva byly získány hodinu a následně čtyři hodiny od ukončení nácviku. Koně byly vystavovány stresorům jako jsou střelba z pistole, hlučné pet lahve, barevné plachty, vysoké barely nebo průchod zkrz kouř z aktivní dýmovnice.

Výsledky ukázaly, že mladí koně měli vyšší hladiny kortizolu v průběhu celého testování. Naopak u starších a služebně zkušenějších jedinců byla výsledná kortizolová křivka celkově plošší, ovšem i v této věkové skupině se našly výjimky. U řady koní, křivka hladiny kortizolu přesně koreluje s prací na jízdárně a dokázala se velmi rychle vrátit na minimální hodnoty. Vyhodnocení dat z plemenné příslušnosti nebylo jednoznačné. K získání přesnějších výsledků je zapotřebí otestovat vyšší počet jedinců.

**Klíčová slova:** kůň, policie, sliny, stres, výcvik

# Assessing horses' ability to cope with stress stimuli

## Summary

Police horses are a very valuable companion to law enforcement in the course of their work. This majestic respectful animal is an integral part of the police, not only in the Czech Republic. It is primarily a shy, neophobic animal, whose instinctive reaction is primarily escape. This strongly rooted instinct for survival can be controlled by proper training. Police horses are most often seen as part of a cavalry in demonstrations or football matches, where riots and other stressful stimuli are not uncommon. Therefore, it is important to find reliable indicators according to which it is possible to select suitable horses for such demanding work.

The level of cortisol in the body strongly correlates with the physiological manifestation of stress, so the aim of this work was based on the values of stress hormone cortisol contained in saliva to assess the horse's ability to cope with stress stimuli depending on age, length of training and pedigree. A total of ten horses from the Department of Service Hipology of the Police of the Czech Republic on Císařský ostrov in Prague took part in the experiment. The range of tested individuals included young and experienced service horses from the breeds Czech Warmblood, Nonius, Slovak Warmblood and Šlon Horse. The processed data were obtained from saliva samples, which were taken first for three days in the morning and then from samples after exposure of horses to stress stimuli during the training day. Resting samples took place inside the stable after feeding and a total of thirty samples were taken. On the final day of the experiment, four samples were taken. The first was again at rest and the other three were taken following the completion of work in the riding hall, during which the horses were exposed to disruptive training events. The second sample of the day was taken immediately after work and the remaining two were obtained one hour and then four hours after the end of the exercise. Horses were exposed to stressors such as pistol shooting, noisy pet bottles, colored sails, tall barrels, or passage through smoke from active smoke.

The results showed that young horses had higher cortisol levels throughout the testing. On the contrary, in older and more experienced individuals, the resulting cortisol curve was generally flatter, but exceptions were found in this age group as well. For many horses, the cortisol level curve correlates exactly with the work in the riding hall and was able to return to minimum values very quickly. The evaluation of data from the breed was not unambiguous. To obtain more accurate results, it is necessary to test a higher number of individuals.

**Keywords:** horse, police, saliva, stress, training

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>8</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1 Kognitivní schopnosti koně</b> .....	<b>9</b>
3.1.1 Reflexy .....	9
3.1.2 Instinkt .....	9
3.1.3 Paměť .....	10
3.1.4 Učení .....	11
<b>3.2 Personalita koně</b> .....	<b>13</b>
3.2.5 Temperament .....	14
3.2.5 Charakter.....	14
<b>3.3 Stres</b> .....	<b>14</b>
3.3.1 Fyziologický projev na organismus koně .....	15
3.3.2 Krátkodobý a dlouhodobý stres .....	17
3.3.3 Adaptace koně na stres .....	18
<b>3.4 Projev stresu u koně v praxi</b> .....	<b>19</b>
3.4.1 Stereotypní chování.....	20
3.4.2 Naučená bezmocnost .....	21
<b>3.5 Měření stresu u koní</b> .....	<b>22</b>
3.5.1 Stanovení kortizolu.....	22
<b>4 Metodika a materiál</b> .....	<b>255</b>
<b>4.1 Experiment</b> .....	<b>25</b>
4.1.1 Odběr slin.....	27
4.1.2 Popis testovaných koní .....	28
<b>4.2 Analýza vzorků</b> .....	<b>29</b>
<b>5 Výsledky</b> .....	<b>31</b>
<b>6 Diskuze</b> .....	<b>35</b>
<b>7 Závěr</b> .....	<b>38</b>
<b>8 Literatura</b> .....	<b>39</b>

# 1 Úvod

Koně jsou v potravním řetězci kořist a pro zvýšení šance na přežití je stres vhodným nástrojem. Jedná se o soubor reakcí na vnější nebo i vnitřní změny vedoucí k narušení homeostázy organismu. Při stresu se uplatňují obranné mechanismy, které umožňují přežití organismu vystaveného nebezpečí. Přirozenou a instinktivní reakcí koně na nový, neznámý či potenciálně nebezpečný podnět je nejčastěji útěk, méně častěji pak útok. Obě tyto reakce doprovází celá řada změn v organismu a narušují tak jeho homeostázu (Hanák a Olehla 2010). Každý jedinec reaguje individuálně, jelikož záleží na mnoha aspektech, avšak fyziologický projev stresu mají všichni koně totožný (Malinowski 2004).

Koně mají největší amygdalu ze všech domestikovaných zvířat. Tato část mozku moduluje strach (McLean 2013). Inglis & Moghaddam (1999) ještě dodávají, že dopaminergní inervace amygdaly vysoce reaguje na stres. Přestože dnešním domestikovaným koním skutečně nebezpečí ve formě predátora nehrozí, primitivní instinkty chránit si svůj život útekem zůstaly částečně zachovány. Tyto projevy lze pozorovat jak u koní chovaných na pastvině, tak individuálně v boxech.

Při výcviku či školení koně pro potřeby člověka je vždy nutné vycházet z přirozenosti koní. Pokud je člověk dostatečně informován o problematice stresu u koní, jeho projevu, krátkodobých a dlouhodobých následcích, může být cíle dosaženo mnohem efektivněji a zároveň lze předejít zdravotním problémům způsobených stresem.

Stres lze měřit pomocí řady fyziologických ukazatelů. Infračervená termografie (IRT) se používá k měření zvýšené teploty středu těla, jakožto indikátoru stresu, u různých druhů zvířat (Squibb a kol. 2018). Jako indikátory psychologického stresu lze spárovat metodu IRT společně s měřením srdeční frekvence (HRV). Dalším ukazatelem stresu je hladina stresového hormonu nazývaný kortizol. Ten lze nejčastěji získat ze slin, krve či výkalů a následně je laboratorně stanovena jeho hodnota ve vzorku.

Definice stresu existují různé a stejně tak i pohledy na něj. Jisté ale je, že stres je velmi hojně studován a každý rok vychází nové odborné publikace na tuto problematiku.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Na základě stanovení hladiny kortisolu ve slinách zjistit schopnost koně v závislosti na věku, délce výcviku a plemenné příslušnosti zvládnout stresovou situaci.

Hypotéza: Křivka hladiny kortisolu ve slinách koně je prokazatelným ukazatelem jeho schopnosti vyrovnat se stresovými podněty.



## 3 Literární rešerše

### 3.1 Kognitivní schopnosti koně

Kognice je schopnost živočichů, zejména obratlovců, uchovávat, zpracovávat a využívat veškeré informace získané z okolního světa nebo svého těla. Koně mají rozvinutou celou řadu kognitivních funkcí jako je učení, paměť anebo schopnost koncepční úvahy (Murphy & Arkins 2007).

Koně mají málo vyvinutý čelní lalok mozku a na základě toho faktu nejsou schopni abstrakce, tedy přemýšlet o minulosti či budoucnosti jako lidé, ale žijí pouze přítomným okamžikem (Pearson 2015).

#### 3.1.1 Reflexy

Reflex je základní, nejjednodušší, automatická a nevědomá svalová odpověď organismu na podněty z vnějšího prostředí zprostředkovaná nervovým systémem jedince. Jsou to stereotypní odpovědi na tlak nebo pohyb v určitých tělesných partiích. Základem reflexu je reflexní oblouk, přítomný všude tam, kde je nutné chránit organismus (Veselovský 2005).

U koní můžeme sledovat širokou škálu hluboce zakořeněných reflexů, které si nesou od svých předků, avšak mnoho z nich je tréninkem a habituací změněno, například naučení koně snášet jezdce na svých zádech (Hillová 2011).

Intenzita reakce na podnět je závislá na mnoha faktorech, jako je například tloušťka kůže, temperament, trénink, uvolnění či napětí nebo fyzické omezení, ale také záleží na síle a způsobu podnětu.

Reflexy se dělí na nepodmíněné a podmíněné. Nepodmíněné reflexy jsou vrozené automatické stereotypní reakce organismu na podnět. Jsou dány geneticky a u koní můžeme běžně pozorovat řadu nepodmíněných reflexů, jako je mrkání očních víček, slzení, produkce slin, sací reflex, kašlání, drbání nebo stažení ocasu a hýždí pod sebe (Hillová 2011).

Naopak podmíněné reflexy jsou získávány během života. Dělí se na klasické a operantní podmiňování a jelikož se už jedná o formu učení, jsou popsány dále v kapitole Učení.

#### 3.1.2 Instinkt

Instinkty jsou stereotypní vrozené reakce organismu, které jsou vyvolány řetězcem nepodmíněných reflexů. V některých pojetích je tento význam totožný se slovem pud. Instinkty jsou v životě koní velmi významné a nejsou výsledkem učení ani zkušenosti. Anatomie koňského mozku koni nedovoluje promyslet své instinktivní chování.

Tyto vrozené reakce lze také nazvat jako sebezáchovné motivy a řadí se mezi ně potřeba příjmu potravy a vody, sexuální motivy a mimo jiné také sociální motivy (Atkinson 2003). Pud obživy je jedním z nejsilnějších instinktů. Zahrnuje nutnost příjmu potravy, jejího vyhledávání a při nenaplnění této potřeby může dojít až k agresivnímu chování. Mezi základní instinkty koně se dále řadí i snaha o zachování druhu, tedy sexuální chování. Koně jsou od přírody společenská zvířata. K životu ve stádě a vytváření vzájemných vztahů je všechny vede sociální pud, což by se mělo brát v úvahu i při chovu koní domácích. Kůň, který je sám či oddělený bez

možnosti přímé sociální komunikace s ostatními jedinci téhož druhu, projevuje známky neklidu či stresu. Proto by v dnešních moderních chovech měl být koním umožněn vzájemný kontakt (Hartman et al. 2011).

Jako lovné zvíře si kůň vytvořil také mechanismy zachování vlastního bezpečí a záchrany života. Tímto mechanismem je primárně útěk, druhotně boj. Přestože dnešním domestikovaným koním skutečně nebezpečí ve formě predátora nehrozí, primitivní instinkty chránit si svůj život útekem zůstaly částečně zachovány. Tyto projevy lze pozorovat jak u koní chovaných na pastvině, tak individuálně v boxech, a proto je potřeba při práci s koňmi je mít stále na paměti (Higginsová 2012).

### 3.1.3 Paměť

Paměť je dělena na senzoricou, která uchovává informace přicházející ze smyslů, a dále pak na krátkodobou a dlouhodobou. Koně mají excelentní paměť dlouhodobou (Wolff & Hausberger 1996), avšak velmi slabou krátkodobou, je tedy vhodné, při práci s koňmi, tuto fakta zvážit (McLean & McLean 2008).

V krátkodobé paměti probíhají psychické procesy a hodnocení přítomnosti pouze po podobu několika sekund. Vědomě jsou zde řešeny okamžité situace za asistence dlouhodobé paměti, tedy předchozích zkušeností. Vzpomínky a informace uložené v dlouhodobé paměti jsou vzájemně propojeny i s informacemi ze všech smyslů. Uvádí se, že velmi silný stimul pro vyvolání vzpomínky je pach. Tato informace je přenášena přímo do limbického systému, části mozku typicky spojenou s pamětí a emočními procesy (Sullivan et al. 2015).

Koně si pamatují zvláště dobře místa, kde byli ve stresu nebo reagovali na určitý podnět strachem či úlekem, na takové místo si bude kůň dávat pozor i v budoucnu (Dušek 1995). Negativní vzpomínky zanechávají silnější zážitek a vybavují se rychleji než ty pozitivní. To však neznamená, že kladné vzpomínky si kůň neukládá. Koňský mozek má dobře vyvinutý mozkový kmen a limbický systém. Ten je tvořen několika strukturami, včetně amygdaly, thalamu, hipokampu, hypotalamu a mozkové kůry. Díky takto vyvinutému mozku koně méně přemýšlí a více jedná (Thomas-Luciano 2019). Inglis & Moghaddam (1999) ještě dodávají, že dopaminergní inervace amygdaly vysoce reaguje na stres.

Kapacita koňské paměti je omezena (McLean 2004a), některé cviky bez dalšího opakování koně ihned zapomínají, avšak stálým opakováním a propojováním s dosavadními zkušenostmi se utvoří dlouhodobá paměťová stopa (Brubaker & Udell 2016), z čehož vyplývá, že čím více je koňský mozek opakovaně stimulován, tím rychleji se učí nové dovednosti. Pro úspěšný výcvik je potřeba plně pochopit principy fungování jejich paměti a poté podle nich a již dosažených dovedností jednotlivým koním trénink přizpůsobit (Murphy & Arkins 2007).

Ve vztahu k mezidruhové komunikaci mezi koněm a člověkem využívají koně vizuální a akustické signály k rozpoznání lidí a stejně tak i k získání jejich pozornosti. Neznámého člověka pozoruje kůň mnohem déle a častěji než dobře známého (Lampe & Andre 2012). V případě klidného a přátelského zacházení ze strany člověka, kůň neočekává násilí ani bolest. Bohužel v opačném případě stačí jeden agresivní či násilnický jedinec, aby si kůň generalizoval člověka jako potencionální hrozbu a měl z lidí strach. Právě nezkušené a násilnické chování lidí má za důsledek agresivní nebo vystrašené koně. Z výzkumů vyplývá, že jsou koně schopni rozpoznat a vzpomenout si na své předchozí majitele a trenéry nehledě na to, jestli byla jejich

zkušenost pozitivní nebo negativní. Jsou také schopni rozpoznat lidské tváře a hlasy, a dokonce přiřadit známé hlasy ke známým tvářím. Je prokázáno, že pokud by měl kůň zvyklý na kladné chování člověka na výběr mezi známou a neznámou osobou, bude se vždy držet v prostoru známé osoby (Brubaker & Udell 2016).

### 3.1.4 Učení

Duruttya (2005) hovoří o učení jako o jednom ze základních projevů života. Početné definice, které se pokouší o vědecký popis v mnohých detailech neprozkoumaného procesu učení, se nevyhnutelně liší. V závěru se však shodují, že výsledkem procesu učení je změna v chování. Existuje celá řada faktorů, které ovlivňují schopnost koně se učit. Záleží na pohlaví, plemeni, věku, welfare nebo psychické kondici koně (Dušek a kol. 2011), kde například právě stres je jedním z indikátorů snižujícím efektivitu učení (von Borstel et al. 2017).

Hillová (2011) uvádí, že učení probíhá v koncovém mozku. Při něm si koně nezduvodňují úkony, jako to dělají lidé, prostě jen reagují. Vše co se naučí, je pomocí metody pokus omyl (Pearson 2015). Pro vzájemnou komunikaci a společný výcvik je tedy přínosné porozumět tomu, jakým způsobem se kůň učí. Je možno se tím i vyvarovat psychického zneužívání koně, jelikož od něj nebude očekáváno, že se naučí něco, čeho není schopen (Lindberg et al 1999).

Mezi jednotlivé typy učení u koní patří imprinting, sociální učení, asociace, habituace či vytváření konceptu. První druh učení, se kterým se kůň setká, je imprinting. Tento proces vytvoření úzkých pout mezi matkou a hříbětem probíhá v prvních hodinách života a vyvolává v hříběti vrozené chování. Po tuto dobu by se k nim člověk neměl přibližovat (Hillová 2011).

Koně jsou stádová zvířata a další přirozená forma učení je napodobování. Jedná se o sociální druh učení. Vědecky je definován jako osvojování nové zkušenosti nebo chování na základě pozorování a napodobování jiného jedince (Murphy & Arkins 2007). Podle Robertse (2005) je proto obtížné komunikovat s koněm, který nevyrostal ve stádě, které by ho naučilo koňskému, nejen sociálnímu chování. A Rivera et al. (2002) uvádí, že koně chovaní v malých skupinách na pastvinách dokončují zadané úkony a testy mnohem rychleji než koně, kteří jsou ustájeni izolovaně v boxech ve stáji. Proto pastevně odchovaní koně, kteří jsou tak v lepší psychické kondici, chápou mnohem lépe lidské signály a povely (Sondergaard & Ladewig 2004). Formu učení napodobováním běžně využívají trenéři koní i pro učení mladého, nezkušeného koně pomocí staršího a zkušeného koně (Murphy & Arkins 2007). Napodobování se dá využít i v případě, kdy má člověk s koněm velmi dobrý vztah a kůň bere člověka jako vůdce. Některé studie ukázaly, že se koně učí pouze od známých a dominantních jedinců ze svého stádového hierarchického žebříčku (Krueger & Heinze 2008), a toho lze využít při převedení koně přes potenciálně nebezpečnou překážku, například přes vodu, které se bojí (Hillová 2011). Na druhou stranu bylo ovšem zjištěno, že koně napodobovali dominantního jedince i v případě, kdy vykonal nechtěný nebo nesprávný povel (Krueger & Heinze 2008). Avšak podle Brubakera & Udella (2016), je třeba dalších výzkumů na téma napodobování chování u koní.

Koně mají vrozenou schopnost asociace, to je způsobnost spojit akci s reakcí a podnět s odpovědí. Jedná se o podmíněné reakce a ty se dělí na klasické a operantní podmiňování. Klasické podmiňování znamená, že se kůň naučí vytvářet asociaci mezi dvěma dříve

nesouvisejícími událostmi a spojit tak nedůležitý podnět s určitou reakcí. Tato forma učení byla objevena doktorem Pavlovem na konci 19. století. Umožňuje koni určitý způsob předvídání. Například zvuk dveří koni oznamuje, že stájník bude krmit. Nebo naopak dozadu přitisknutí uši koňského společníka na pastvině jsou předzvěstí kousnutí. Schopnost předvídat umožňuje koním minimalizovat stres v jejich životě. Pokud se kůň bojí jehel a při palpaci žíly veterinářem se naučí vzpínat, jedná se také o klasické podmiňování (Pearson 2015).

Operantní podmiňování se dále dělí na pozitivní a negativní posilování a na pozitivní a negativní trest. Pozitivní posilování spočívá v přidání něčeho příjemného (pamlsek či pohlázení), co zřejmě posílí zopakování odpovědi v budoucnu. Aby tato forma učení byla co nejefektivnější, je třeba uplatnit odměnu co nejdříve po vykonání žádaného chování, jelikož jak je psáno výše, koně mají špatnou krátkodobou paměť. Podle Hanggi (2014) by se tato forma učení měla rovnocenně začlenit do výcviku společně s negativní motivací, jelikož pozitivní motivace učí koně být aktivním účastníkem a hledat korektní odpověď. Je třeba ovšem dávat pozor, co má kůň pochopit jako žádoucí chování, jinak se může stát, že se kůň stane úspěšným trenérem lidí.

Naopak negativní posilování je popisováno jako odstranění nežádoucího podnětu, co má za následek zřejmé zopakování kýžené odpovědi v budoucnu, tedy například uvolnění tlaku v momentě žádaného chování. „Při výcviku se koně běžně učí provádět úkony tím, že se přimějí uhýbat něčemu nepříjemnému, například ustoupení od tlaku.“ (Hanggi 2014). Špatné načasování uvolnění tlaku může vést k řadě problémům s chováním, jak pod sedlem, tak i na zemi. V důsledku snahy vymanit se od nepříjemného či bolestivého podnětu, může kůň zvolit i agresivní cestu dosažení tohoto cíle (McGreevy & McLean, 2005).

Pozitivní trest přidáním averzivního stimulu po projevení nežádoucího chování zapříčiní snížení jeho opakování v budoucnu. Aby byl trest účinný, musí být použit v okamžiku nežádoucího chování, jinak si kůň nevytvoří spojení mezi trestem a daným chováním. Naopak negativní trest je odstranění něčeho koni příjemného po nechtěném chování. K úspěšnému využití tohoto typu učení je však zapotřebí značných dovedností a načasování (Pearson 2015).

Další způsob učení je habituace. Jedná se o velmi jednoduchou formu učení, kdy kůň přestává být senzibilní vůči danému podnětu. Tato skutečnost je velmi přínosná zejména v případech, kdy se kůň může soustředit jen na důležité věci, a ne na každou maličkost. Trenéři koní využívají habituaci neboli návyk už u mladých koní, kteří začínají s tréninkem. Zvykají si na přítomnost dalších lidí a zvířat. Habituace zahrnuje i návyk na ohlávku, sedlo, podkovy, deky, ale i na přítomnost jezdce na zádech koně. Postupně se koně učí stát klidně při korektuře kopyt, ošetřování, nasedání nebo později na závodech nevěnovat pozornost nepodstatným podnětům (McLean 2006).

Vytváření konceptu je nejvyšší formou učení, která byla u koní testována. Právě tato forma učení je důkazem toho, že koně mají větší výběr poznávacích funkcí, než bylo myšleno a lidé by se měli více zaměřit na její praktické využití (West 2006).

Učení, které kůň už vstřebal, ale zatím ještě neprojevil, se nazývá latentní. Někdy se stává, že kůň nechápe, co po něm člověk chce a neprovede požadovaný cvik. Avšak po jednom či dvou dnech volna provede ten jistý prvek správně hned napoprvé. Proto je potřeba dát koni dostatek prostoru na vstřebání nových informací (Hillová 2011). Každý kůň se učí rozdílnou rychlostí a mezi koňmi jsou ve výcviku v tomto ohledu značné rozdíly. Pro nezkušeného koně

a jeho možnost lépe se učit je proto významný individuální přístup, zohledňující jeho možnosti a schopnosti (Dušek a kol. 2011).

Výzkum prováděný Kusunose a Yamanobe (2002) dokazuje, že pravidelný trénink pozitivně ovlivňuje schopnost koní se učit. Koně trénující každý den se učí rychleji a dělají méně chyb než koně, kteří cvičí nepravidelně. Koně v případě, kdy se učí novou věc, využívají nejprve znovu své předchozí žádané chování, takže jejich úspěšnost roste. Při komunikaci v nových situacích je tento přenos jednou osvojené dovednosti velmi hodnotný (West 2006). S principem navazování na zkušenosti pracují i trenéři koní. Jakýkoliv výcvik by měl začínat od nejjednodušších cviků postupně až po ty nejsložitější. Je podstatné koně mentálně nezломit, ale podporovat v něm sebedůvěru a jistotu, aby věřil svým schopnostem a tím se mohl učit snadněji a rychleji (Hillová 2011; West 2006). Pro schopnost koně se učit je velmi rozvíjející a přínosné měnit styl práce, mít pestrou škálu prvků ať už ze sedla nebo ze země, a ne neustále opakovat to samé. S tím souvisí i schopnost koně předvídat určité situace nebo podněty, což může být spojeno s reakcí jezdce, místem na jízdárně či v přírodě, anebo s předmětem (nájezd na překážku) (Hillová 2011).

Správný trénink prováděný systematicky nabízí v případě problémů návrat o krok zpět, tedy ke cviku, který předcházel nechtěnému projevu. Ale vždy je důležité dát koni dostatek prostoru a času a nic neuspěchat, potom se žádaný výsledek určitě dostaví (Branderup 2017).

Koně se učí neustále, aby kůň pochopil záměr, je nutné používat za jakýchkoli okolností stále stejné pomůcky a povely. Pokud je člověk při práci s koněm netrpělivý, často tato skutečnost vede ke vzniku stresové reakce a s tím spojenými problémy.

### **3.2 Personalita koně**

Vystavení dvou koní stejnému stimulu pravděpodobně vyvolá rozdílné reakce. Právě ony rozdíly v reakci vyjadřují personalitu koně, která je považována za dědičnou. Podle Rothmanna et al. (2014b) je tedy možná cílená selekce zaměřena na osobnost, ovšem jedná se o vlastnost s nízkou až střední dědivostí. Není jasně prokázáno, zda je osobnost koní vázána geenticky na pohlaví. Ovšem jisté je, že klisny oproti valachům jsou více senzitivní vůči neznámým podnětům (Rankins & Wickens, 2020).

Suwała et al. (2016) rozděluje osobnost koně na charakter a temperament. Oba tyto osobnostní rysy odrážejí určité chování a jsou rozdílné pro jednotlivá plemena i samotné jedince. Temperament je popsán jako jednoduché, vrozené vlastnosti nervového systému, zatímco charakter jako soubor psychických vlastností jedince a zahrnuje komplexní rysy získané učením.

Vztah člověka a koně je ovlivňován řadou faktorů, a právě osobnost jezdce a koně patří mezi neopomenutelné aspekty (Visser et al, 2008). Thompson et al. (2015) a Pierard et al. (2017) navrhuje, že prostřednictvím hodnocení personalitu koně může být dosaženo lepší spolupráce jezdecké dvojice na základě vhodného výběru koně pro jezdce. Graf et al. (2013) dodávají, že vzájemný soulad osobností může potencionálně zjednodušit každodenní práci s koňmi, zlepšit mezidruhový vztah a snížit hladinu stresu a riziko zranění. Nedávná studie od kolektivu autorů Sauer et al. (2019) ve výsledku neprokázala závislost mezi osobnostními rysy a hladinou kortizolu. Zato bylo zjištěno, že plnokrevní a teplokrevní koně, ve srovnání s plemenem freiberger ze Švýcarska, vykazovali zvýšenou odezvu nadledvin. Dále pak,

že koně s jedním jezdcem měli výraznou reakci na stresový podnět oproti koním, na kterých se střídalo jezdců více. Zároveň studie prokázala, že sníženou odezvu na stresový podnět měli koně trávící více času venku, na rozdíl od koní ustájených pouze v boxe. To ukazuje, že plemenná příslušnost, počet jezdců a také možnost trávit čas venku významně souvisí s koncentracemi kortizolu ve slinách u koní.

### 3.2.1 Temperament

Temperament jako jednoduchá a vrozená vlastnost nervového systému (Suwała et al. 2016), je dělena na čtyři základní typy – flegmatik, sangvinik, melancholik a cholirik. Žádného koně nelze zařadit pouze do jednoho typu, vždy má vlastnosti smíšené z více typů. Studie temperamentu používá dvě metody hodnocení. První je záznam autonomní funkce organismu (srdeční tep, atd) v závislosti na reakci na daný podnět. Druhá metoda využívá ošetřovatelů a jezdců k vyplnění dotazníků o testovaných zvířatech (Momozawa et al. 2003). Nejvíce studované vlastnosti temperamentu jsou aktivita, plachost, citlivost a přizpůsobivost (Lansade et al. 2008b).

Kortizol, jakožto stresový hormon, může být velmi užitečným ukazatelem a pomoci předpovědět reakci zvířete na stresový podnět, čímž poskytuje informace o temperamentu daného zvířete (Fazio et al. 2013).

### 3.2.2 Charakter

Charakter Suwała et al. (2016) popisuje jako soubor psychických vlastností jedince, zahrnující komplexní rysy získané učením. Jako nejvíce studované vlastnosti u charakteru koně uvádí agresivitu, poddajnost, vyhledávání kontaktu s člověkem a sebevědomí koně.

Schork et al. (2018) uvádějí, že důležité faktory při hodnocení welfare koně jsou potrava a nedostatek sociálního kontaktu, neboť byly zjištěny korelace mezi osobnostními rysy a abnormálním projevem chování a mezi osobnostními rysy a zdravotními problémy. Podle výsledků této studie jsou pasivní, tvrdohlaví a sebevědomí koně vhodnější pro výběr jako policejní koně. Schopnost klasifikovat koně podle jejich osobností může pomoci při výběru jejich budoucího zaměření a tím přispět ke snížení problémů s chováním a zvýšením pohody zvířat.

## 3.3 Stres

Americký vědec Walter Bradford Cannon strávil podstatnou část své kariéry studiem homeostatické odpovědi na stresory a jako jeden z prvních vyslovil teorii fyziologie stresu. Základem jeho popisu bylo, že díky poplachové reakci se organismus snaží o udržení homeostázy. Následovala práce Hanse Selyeho z roku 1936, kde definoval stres jako stav, ve kterém se živý systém snaží přizpůsobit novým situacím, podobně jako u obranných nebo nápravných reakcí (imunita). Vzniklo tak označení adaptační syndrom (General Adaptation Syndrome – GAS). Tento syndrom může zvýšit odolnost organismu proti stresové zátěži, ale také způsobit fyzické či psychické onemocnění až smrt (Seyle 1950).

Zvířata na změnu optimálního prostředí reagují podobně jako na stav ohrožující život. Při stresu se uplatňují obranné mechanismy, které umožňují přežití organismu vystaveného

nebezpečí. Přirozenou a instinktivní reakcí koně na nový, neznámý či potenciálně nebezpečný podnět je nejčastěji útek, méně často pak útok. Obě tyto reakce doprovází celá řada změn v organismu a narušují tak homeostázu organismu (Hanák a Olehla 2010).

Kůň se ve svém životě setkává s celou řadou situací, kdy nemůže utéci před nepříjemným vlivem jako je příliš vysoká či nízká teplota ovzduší, hladovění, změna sociální skupiny nebo i člověk. Všechny tyto vlivy se nazývají stresory. Mohou být jak endogenního, tak exogenního původu.

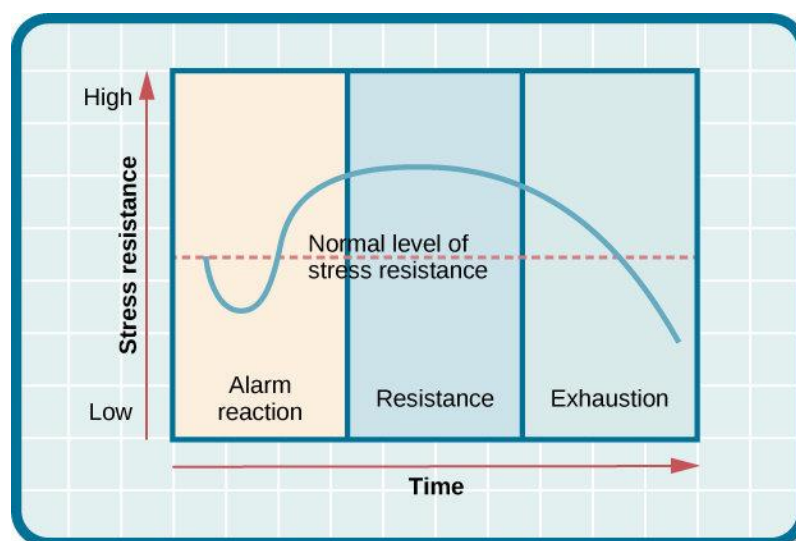
Každý jedinec reaguje individuálně, jelikož záleží na mnoha aspektech, avšak fyziologický projev stresu mají všichni koně totožný (Malinowski 2004).

### 3.2.3 Fyziologický projev na organismus koně

Na stresovou zátěž odpovídá organismus adaptačním syndromem, jenž má za cíl obnovit narušenou homeostázu organismu. Obecně platí, že hlavním orgánem při stresové reakci je mozek, který vyhodnocuje všechny potencionálně nebezpečné podněty a spouští kaskádu adekvátních dějů ať už fyziologických či behaviorálních, na kterých se podílí i množství hormonů (McEwen 2007).

Celá nervová soustava se dělí na centrální nervovou soustavu (CNS), kterou tvoří mozek a mícha, a na periferní nervovou soustavu (PNS). Ta spojuje receptory s ústředním nervstvem, kam patří hlavové a míšní nervy (somatický nervový systém PNS) a také periferní část autonomního systému (sympatikus x parasympatikus) (Marvan a kol. 2011).

Všichni obratlovci mají ve spodních patrech centrálního nervového systému umístěna dvě významná mozková jádra *locus coeruleus* a *nucleus raphae*, která tvoří funkční jednotku zvanou „behaviorální inhibiční systém“. Tento systém je propojen s pamětí a reaguje na signály nebezpečí, frustrace, bolesti a na neznámé či dosud nezmapované podněty. Nejjednodušší odpovědí tohoto systému je orientační reflex, kdy jedinec zastaví své dosavadní chování, aktivuje svůj svalový aparát a začne prověřovat situaci ve spojení s pamětí a již nabytými zkušenostmi. Pokud je signál nevýznamný, jedinec pokračuje ve své předchozí činnosti, v opačném případě se spustí kaskáda stresové reakce zvaná adaptační syndrom (Gray 1987).



Graf č. 1: Tři fáze Selyeova obecného adaptačního syndromu (Weiser 2014).

Adaptační syndrom se dělí na tři postupná stádia (graf. č. 1). První je poplachová reakce, dále pak stadium rezistence a konečné je stadium vyčerpání.

První fázi adaptačního syndromu je poplachová reakce (obr. č. 1). Jedná se o přípravu organismu na útěk nebo útok (fight or flight). Jako první se dostaví šok. Ten se projevuje srdeční slabostí, poklesem krevního tlaku, vazokonstrikcí cév periferie a také hypoglykemií. Na šok navazuje protišok. Dojde k navýšení respirace, vzpřímení kožního pokryvu těla, zvýší se srdeční frekvence a krevní tlak, zmohutní se průtok krve svalovinou a stoupne hladina krevního cukru.



Obrázek č. 1: Schéma adaptačního syndromu (Hanák a Olehla 2010).

Jedná se tedy o komplex reakcí potřebných k rychlému a silnému výkonu. Zároveň se snižuje vnímavost pro bolest a inhibuje se sexuální chování a potřeba nasycení.

Pokud stres přetrvává, typicky v nižší intenzitě, organismus přechází do stadia rezistence. Dochází ke zvýšení jaterní glukoneogeneze a lipolýzy v tukové tkáni. V krajním případě se začnou jako zdroj energie odbourávat i bílkoviny. Madden & Felten (1995) uvádí, že ke změnám se přidává i imunitní systém, kde dochází k supresi specifické imunity a naopak aktivaci některých složek nespecifické imunity. Tento fakt lze využít při laboratorním rozboru počtu leukocytů, jakožto ukazateli chronického stresu (McKinnon et al. 1989).

Stádium vyčerpání je konečnou fází adaptačního syndromu. Organismus vyčerpá veškeré rezervy a dostavují se významné příznaky jako je únava, průjem, letargie, zvýšená náchylnost k onemocnění nebo zhoršené hojení. V nejzašším případě může dojít až ke smrti celého organismu v důsledku akutního selhání nadledvin (Hanák a Olehla 2010).

Odpověď na stresový podnět zahrnuje dva regulační systémy, autonomní nervový systém, zejména sympatikus a endokrinní systém, tedy hypothalamo-hypofyzární-adrenální osu (Seyle 1950). Při mírném stresu lze zaznamenat zvýšenou aktivitu právě sympatického nervového systému, který řídí činnost vnitřních orgánů a hladkých svalů a funguje nezávisle na vůli jedince. Nejvýznamnější neurotransmiter regulující aktivaci nabuzení organismu je noradrenalin. Aktivuje sympatickou část autonomního systému, a to včetně periferie, kde působí na dřeň nadledvin (Večeřová-Procházková & Honzák 2008). Sympatikus jako jeden ze



dvou hlavních regulačních systémů adaptačního syndromu připravuje organismus na pohotovostní stav a rychlé reakce vyžadující dostatek energie (poplachová reakce útěk nebo útok) (Veselovský 1992).

Druhým regulačním systémem při stresové reakci jsou žlázy s vnitřní sekrecí tzv. endokrinní systém. Žlázy s vnitřní sekrecí syntetizují velmi důležité sloučeniny zvané hormony. Ty regulují různé metabolické pochody v organismu, ať už se jedná o imunitní systém, růst a vývoj jedince, sexuální aktivitu nebo právě stresovou reakci. Hormony jsou nejčastěji vylučovány přímo do krevního řečiště, a tak se dostanou ke všem cílovým buňkám, které mají receptor pro daný hormon. Účinek hormonu je dán především jeho koncentrací v krvi a ta je regulována negativní zpětnou vazbou.

Hlavní endokrinní žlázou při stresové reakci jsou párové nadledviny. Skládají se z kůry a dřene. Regulace produkce endokrinních žláz, a právě nadledvin, probíhá přes hypothalamo-hypofyzární osu. Primární hormony pro mobilizaci organismu jsou katecholaminy tvořící se ve dřeni nadledvin a patří mezi ně adrenalin a noradrenalin. Oba tyto hormony mají obdobné účinky, avšak noradrenalin je vylučován zhruba v pětikrát menším množství. Jejich vyplavení do oběhového systému se projeví takřka okamžitě. Velká část somatických buněk má receptory pro oba zmíněné hormony. Jejich napojení zapříčiní zvýšení zásobení mozku a kosterní svaloviny kyslíkem a glukózou (Reece 2011).

Kůra nadledvin po stimulaci hormonem ACTH, který se vyloučen do krve hypofýzou na základě podráždění hypothalamu, začne produkovat glukokortikoidy, mezi které patří kortizol. Hlavním cílem kortizolu je mobilizace organismu při stresové zátěži, čehož dosahuje především díky svým účinkům na energetický metabolismus. Působí zejména v játrech, kde dochází k přeměně aminokyselin a dalších látek na glukózu. Dále pak ve svalech, ale také slinivce břišní a tukové tkáni, kde podporuje štěpení zásob tuků i bílkovin. Kortizol se projevuje později než již zmíněné katecholaminy a působí katabolicky (ze složitých látek vznikají látky jednodušší). Při tomto procesu nedochází ke spotřebě energie, naopak se energie uvolňuje, což umožňuje potřebné metabolické fungování (Reece 2011). Kortizol je v malé míře součástí i dalších fyziologických procesů. Dokáže například potlačit některé aspekty při práci imunitního systému (Dickerson & Kemeny 2004). Madden & Felten (1995) k tomu dodávají, že tento stav může vést k častějšímu vzniku onemocnění, které pak může posloužit jako indikátor stresu.

### **3.2.4 Krátkodobý a dlouhodobý stres**

Stresová reakce organismu zvířete na podněty z prostředí může být akutní nebo chronická (Veselovský, 2005). Krátkodobý stres, jeho schéma a účinky jsou popsány výše. Chronický nebo také dlouhodobý stres je výsledkem působení slabého stresoru po delší dobu. Je také odrazem špatného welfare. Nedostatek potravy, dlouhodobá bolest nebo sociální odloučení, jsou pouze zlomkem všech možných příčin udržujících začarovaný kruh sebedestrukce, kterým chronický stres bezpochyby je (Bekris et al. 2005).

Jedním z hlavních důledků dlouhodobého stresu je zvýšená hladina kortizolu v krvi. S tímto stavem je spojena řada zdravotních komplikací (Joshi, 2007). Zatímco krátkodobý účinek glukokortikoidů je výhodný, pokud jsou vylučovány dlouhodobě, dochází k poškození organismu. Dlouhodobé uvolňování kortizolu se podílí na narušení metabolismu glukózy,

zvýšení krevního tlaku, úbytku svalové tkáně, vzniku žaludečních vředů, laminity či Cushingovy choroby. Mohou také vznikat opakované obstrukce dýchacích cest, kožní problémy nebo alergické reakce. Kortizol inhibuje protizánětlivé reakce, především makrofágy, kteří mají schopnost fagocytózy. To zvyšuje náchylnost jedince k infekci a nádorovému onemocnění (Večeřová-Procházková & Honzák 2008).

V případě, že stresové faktory působí na submisivní zvíře dlouhodobě, může docházet k trvalému vylučování adrenalinu a kortizolu, což má vliv na látkovou výměnu. Vlivem stoupající hladiny cukru v krvi dochází k odbourávání tuků a tedy i hubnutí. Takový stav se na psychice projevuje apatií a jinými známkami rezignace (Schmidt 2013). Podle Frank et al. (2006) je citlivost na vnímání dlouhodobého stresu provázána s genetickými predispozicemi. Mason (1991) uvádí, že u různých jedinců se chronický stres projevuje odlišně, buď jako naučená bezmocnost nebo určitá forma stereotypie a Mc Greevy (2004) přidává, že zlozvyky a stereotypní chování pomáhají koním vyrovnat se se stresovými podněty.

### 3.2.5 Adaptace na stres

Adaptací se rozumí soubor změn životních dějů nastávajících v průběhu dnů, týdnů, měsíců nebo i let. Jedná se o složitý proces, kdy za vlivu vnějšího prostředí dochází ke změnám v organismu nutných k udržení homeostázy. Ne každý podnět vyvolá v organismu adaptační změny. Podnět musí být vždy dostatečně silný, působící dlouhou dobu a častokrát opakovaný. Příliš slabé nebo naopak silné podněty adaptaci nevytvoří. Adaptační změny probíhají na úrovni buněčné, tkání, orgánů až celého organismu (Hanák a Olehla 2010).

Předvídatelnost stresoru a jeho možné kontrolování má pozitivní vliv na úspěšné vyrovnání se se stresem. Výzkumy prokázali, že každý jedinec má své schopnosti, jak odolávat stresu. Mezi faktory ovlivňující tyto schopnosti patří v první řadě genotyp jedince, jeho vývoj a také nabyté zkušenosti v průběhu života (Olf et al. 1993). Výsledky výzkumu od Christensena (2008) prokázaly, že přítomnost zkušeného koně může mladému koni pomoci přijmout novou situaci, a zároveň ho zklidní. Využitím takového koně jako společníka při výcviku mladých koní v praxi může výrazně napomoci ke snížení stresových reakcí a starší jedinec může mladšího odnaučit strachu a dodat mu sebedůvěru.

V závislosti zdraví jedince a jeho schopnosti zvládat stres je stále více v zájmu vědců zabývajících se aplikovaným chováním a welfare zvířat zkoumat tzv. „coping” nebo „coping strategy”. Coping strategy je definované jako behaviorální a fyziologické úsilí zvířete o zvládnutí dané situace. Znalost těchto odpovědí jedince může být užitečná při porozumění individuální adaptační schopnosti na stresující událost. Zároveň může také poskytnout cenné informace k předpovídání chování jednotlivců během reakce na náročné situace (Budzyńska 2014).

Existují dva typy coping strategy, první typ se nazývá proaktivní, jelikož jedinci využívají k odstranění stresoru aktivní reakci („boj nebo útěk“), dá se říci, že jsou spíše odvážní. Druhý typ se nazývá reaktivní, tyto jedinci mají naopak sklon k nehybnosti a jsou více plaší (Freymond 2015; Coleman & Wilson 1998).

Proaktivní jedinci projevují podobné behaviorální a psychologické vlastnosti jako koně trpící stereotypií. To by mohlo naznačovat, že proaktivní koně mají predispozici k rozvoji stereotypního chování v době chronického stresu. Zda-li se toho chování projeví ovšem závisí

na prostředí, ve kterém se jedinec nachází a na jeho prahové hodnotě vzniku stresu (Ijichi a kol. 2013).

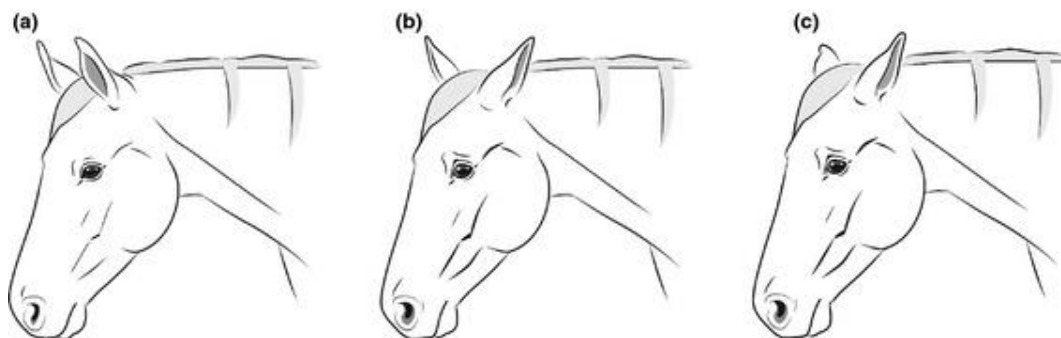
Reaktivní koně trpící chronickým stresem, lze popsat jako skleslé jedince. Vykazují méně agresivní chování, při klidném stání jim uši směřují dozadu, krk mají ve stejné úrovni jako zád' a oční kontakt je snížený se „zaskleným“ výrazem. Mohou také vykazovat sníženou citlivost na dotek, méně explorativní chování, nečinnost a zvýšenou poplašnou reakci na obávaný předmět (Fureix a kol. 2015; Rochais a kol. 2016).

Někteří koně se projevují bázlivěji než jiní, a i když základní rysy zůstávají zachovány, výcvikem lze dosáhnout pozitivní změny, tedy že kůň sebou při leknutí trhne, ale neuskočí (Penquitt, 2003). Strategie, které jsou uplatňovány pro vyrovnání se se stresem, nejsou ovlivněny pouze osobností jedince, ale také učením a jeho výchovou (Weiss et al. 2004) a tyto znalosti jsou ve výcviku služebního koně přínosné.

### 3.4 Projev stresu u koně v praxi

Stres výrazně ovlivňuje projevy chování u koní. Nejširší kombinace vlivu stresových faktorů bývá častá u sportovních koní nebo koní pracujících v lese (Myers, 2005). Činnosti doprovázející tato zaměření s sebou nesou jak fyzickou, tak i psychickou zátěž. Jakákoliv výrazná změna prostředí je pro organismus stresující. Transport do nového prostředí, změna klimatu, hluk, velká tělesná zátěž, to vše jsou stresory a uržet tyto koně v absenci stresu je v celku nemožné.

Nejčastějšími projevy stresu u koní je napětí, slabá pozornost, švihání ocasem a v závažnějších případech kousání, agresivita, výbušnost, úbytek na váze či projevy bolesti (obr. č. 2)



Obrázek č. 2: a) uvolněný a pozorný kůň, b) projev bolesti, c) silný projev bolesti s pokleslými ušními boltci (Gleerup et al. 2014).

Výzkumy prokázaly, že koně, kteří byli dlouhodobě vystaveni stresovým podnětům méně odpočívali v leže a nevyužili tak hlubokého spánku. Vyrušování takových jedinců, nebo dokonce krácení doby odpočinku způsobuje stavy vyčerpání a snižuje výkonnost, což může z dlouhodobého hlediska způsobovat poruchy chování (Schmidt 2013).

U koní je spánek rozdělen do dvou fází. Tou první je poloha na břiše, obvykle trvá přes dvě hodiny a nazývá se tzv. „slow – wave“ spánek. Dechová a tepová frekvence jsou zde ještě více sniženy. Zároveň klesá teplota těla a startují rozsáhlé regenerační procesy. Druhým typem

spánku a velmi důležitým je „REM spánek“. Probíhá v leže v poloze na boku, je doprovázen pohyby očí a záškuby končetin. Trvá sice krátkou dobu, zato je esenciální pro celkové zotavení organismu. Už po několika dnech bez hlubokého spánku se může projevit nesoustředěnost, agresivita, bázlivost či nervozita (Schmidt 2013).

Dále Schmidt (2013) uvádí, že kůň je schopen odpočívat nejenom v leže, ale také ve stoje, kdy pomocí „uzamknutí kloubů“ je zajištěno, že během odpočinku neupadne na zem. Podřimování ve stoje zabírá asi polovinu doby celkového spánku a dochází při něm ke snížení dechové i tepové frekvence a relaxaci svalů.

Večeřová-Procházková & Honzák (2008) říkají, že „*Chronický stres je zacyklený děj, kde jedno poškození nahrazuje druhé*“. Ne však každý stres je pro koně nežádoucí. Roberts (2005) zmiňuje, že existuje také pozitivní stres, kterým působíme na koně v rané fázi tréninku a počátcích návyku na rušivé elementy, kdy v takových a dalších případech stres napomáhá překonat jisté úskalí. Individuální reakce zvířete na stres může zmást interpretaci daného chování. Záleží na člověku, jak danou situaci vyhodnotí, jestli se podle něj kůň chová vystrašeně nebo si jen tzv. „postavil hlavu“. Celkové výsledky studie Squibb et al. (2018) podporují předchozí nálezy v tom, že chování koně nemusí nutně odrážet jeho psychologickou a fyziologickou odezvu na ošetřovatele.

Důležitá je však snaha vždy snížit negativně působící stres. Dodržovat konzistentní denní rutinu, zajistit kvalitní potravu o malých dávkách v krátkých intervatech, dostatek pastvy a pobytu ve výběhu, přiměřenou zátěž s ohledem na úroveň výcviku a schopnosti každého koně a v neposlední řadě umožnit vzájemný sociální kontakt s dalšími koňmi.

### **3.4.1 Stereotypní chování**

V důsledku dlouhodobého působení stresoru vzniká u koně abnormální chování. Toto chování je popisováno jako stereotypie nebo, v těžkých stavech, naučená bezmocnost (Mason 2010). Stereotypie je definována jako mechanické a automatizované repetitivní chování bez určitého cíle a funkce (Mason 1991). Existuje celá řada projevů stereotypního chování, záleží na stimulu, který je spustil. Mezi abnormální chování lze zařadit opakovaně lokomoční chování jako je stereotypní chůze v uzavřeném prostoru (tkalcování, hodinaření) opakovaně orální chování (klkání, okusování, skřípání zuby), nepřiměřené projevy po dlouhodobě opakujícím se stresoru (neurózy) a také neadaptivní behaviorální úchytky (záchvaty, agrese, lekavost) (Fox 1968). Ovšem Dyson et al. (2021) ve své studii uvádějí, že ne všechno repetitivní chování je řezeno mezi abnormální.

Evolučně je kůň uzpůsoben k častému příjmu malých dávek krmiva. Je označován jako spásač a jeho trávicí soustava je utvořena pro naplnění této specializace. V přírodě se kůň téměř celý den pase, popochází a okusuje vhodnou potravu. Koňská huba je velice činorodá, zprostředkovává příjem potravy, pomáhá navozovat či udržovat sociální kontakt a je také využívána k ochraně jedince před nebezpečím. Domestikací ztratil kůň svůj neomezený prostor a často i své druhové společníky. Lidé se dosadili do vedoucí pozice a organizují koním téměř celý život. Řídí celý časový harmonogram, vybírají potravu a čas jejího podání, kdy jdou koně pracovat, kdy mohou odpočívat a v neposlední řadě i reprodukčního partnera. Všechna tato ozemení jsou v rozporu s přirozenou potřebou koně rozhodovat se. Ovšem někteří jedinci to snášejí lépe než druzí (Stachová 2010).

Míra abnormálního chování je v podstatě odrazem podmínek, ve kterých je kůň chován, společně s dalšími požadavky člověka. Celkový management stáje jako je ustájení koní, místování, doba krmení nebo možnost chodit do výběhů může velmi ovlivnit chování koní. Značná část abnormálního chování vzniká vlivem nevyhovujících podmínek. Náprava těžkých případů není jednoduchá a zpravidla nelze zlozvyky plně odstranit. U mírnějších příznaků může postačit zajištění vhodných podmínek, nahradit nedostatky a snížit tak počet stresorů na minimum (Stachová 2010).

Fox (1968) uvádí, že nenormální chování u koní je pouze reakce na soužití s člověkem a kůň se tak snaží přizpůsobit „novému“ prostředí. Jedná v souladu se svými fyzickými a psychickými predispozicemi, ovšem genetické předpoklady hrají také silnou roli.

Jak je psáno výše, kůň se v rámci stereotypního chování či naučené bezmocnosti může projevat velmi plaše nebo naopak agresivně. Během těchto stavů se snižuje motivace k reprodukci a explorativnímu chování. Kůň ztrácí zvědavost a zájem o své okolí a zhoršuje se i jeho prostorová orientace. Dochází také ke změnám u kognitivních funkcí, kdy se zpomaluje učení a kůň rychleji zapomíná (McLaughlin a kol. 2007).

Strachová (2010) uvádí, že dle studií jsou nerizikovější skupinou k vytvoření abnormálního chování mladí koně od jednoho do čtyř let. Toto získané chování obvykle zůstává již po celý zbytek života. Vznik nežádoucích projevů je způsoben přebytečnou energií nahromaděnou za dlouhodobé držení ve stáji, nedostatkem pohybu a absencí sociálních kontaktů.

Další z četné škály příčin zlozvyků je výživa a krmení. Člověk zredukoval koni přirozený, téměř celodenní, příjem potravy do několika menších dávek. Bohužel bývá praxí krmit více jádra nežli sena, a tak koně přijímají více krmiva bohaté na energii a méně vlákniny. Byl zjištěn vyšší výskyt abnormálního chování u koní, kteří dostávali méně než 6,8 kg píce na den. Dále je také prokázáno, že u koní vykazujících stereotypní chování dochází ke zvýšení hladiny endorfinů. Pokud hladina dosáhne vysokých hodnot, kůň s nežádnoucím chováním přestane (Stachová 2010).

### **3.4.2 Naučená bezmocnost**

Naučená bezmoc je psychologický stav, kdy se jedinec naučí, že nemá kontrolu nad nepříjemnými podněty a jeho veškeré činy pro zlepšení situace jsou marné (Hall 2008).

Je jednoznačně prokázáno, že koně mohou vykazovat depresivní stavy v reakci na nepříznivé životní podmínky, sociální či fyzické nepohodlí nebo chronickou bolest. Chování koní, které naznačuje přítomnost stresorů či nevhodné životní podmínky, nemusí však být vždy jasně rozpoznatelné. Navíc nepřítomnost tohoto chování nemusí nutně znamenat, že kůň je psychicky zdravý. Vznik a rozvoj naučené bezmocnosti podněcuje spouštěč určitého psychogenního faktoru. Ten ale nemusí být vždy snadné identifikovat. Obvykle ani lidé, ani zvířata depresivní stavy nedávají na odiv, a proto mohou být psychické problémy dlouho nepovšimnuty i při každodenním ošetřování (von Borstel et al. 2017).

Je zřejmé, že nevhodný trénink a jezdecké lekce mohou mít za následek nespolupracující nebo agresivní koně, a někteří se stanou předem nečitelní až nebezpeční jedinci (Hall 2008).

Hall (2008) také zmiňuje studii Ödberg & Bouissou (1999), kteří zjistili, že 66% koní poslaných na francouzská jatka bylo vyřazeno kvůli problémům s chováním. Autoři jsou

přesvědčení, že míra hlášení se od skutečnosti liší, jelikož majitelé koní, ať už vědomě či ne, snadněji připustí porážku zvířete v důsledku fyzické nemoci než v důsledku problému s chováním. Mnoho výše zmíněných autorů poukazuje na to, jak důležité je jednání lidí vůči koním, bohužel pro některá zvířata má neodborné zacházení fatální následky.

Koně trpící chronickými depresními stavy zaujímají atypické postoje. Mívají nepřítomný výraz, jsou méně interaktivní nejen při kontaktu s členy stáda, ale i lidmi. Mají tendenci stát ve výběhu či v boxe s hlavou směřující ke zdi a uši směřují dozadu. Drží se stranou, sociálně se neangažují. Objevuje se snížený zájem o potravu i nabízené pamlsky. K příznakům deprese patří i neadekvátní reakce, zvýšená až nepřiměřená reaktivita na náročné situace nebo neznámé předměty. Dalším příznakem je snížená nebo nedostatečná pozornost (Rochais a kol. 2016).

### **3.5 Měření stresu u koní**

Stres lze měřit pomocí řady fyziologických ukazatelů. Infračervená termografie (IRT) se používá k měření zvýšené teploty středu těla, jakožto indikátoru stresu, u různých druhů zvířat (Squibb a kol. 2018). Celkově, teplota středu těla se mění v reakci na emoční vzrušení nebo bolest (Valera a kol. 2012; Stewart a kol. 2008). Další ukazatel popisuje Yarnell a kol. (2013), jedná se o měření teploty očí. Tento ukazatel se projevuje velmi slibně (oproti odebrání kortizolu) a může být užitečný při snižování nepříznivých dopadů na welfare koní. Na druhou stranu, v závislosti na lateralitě průtoku krve mozdem, variace v individuální morfologii jedince mohou při použití této metody zmást výsledek.

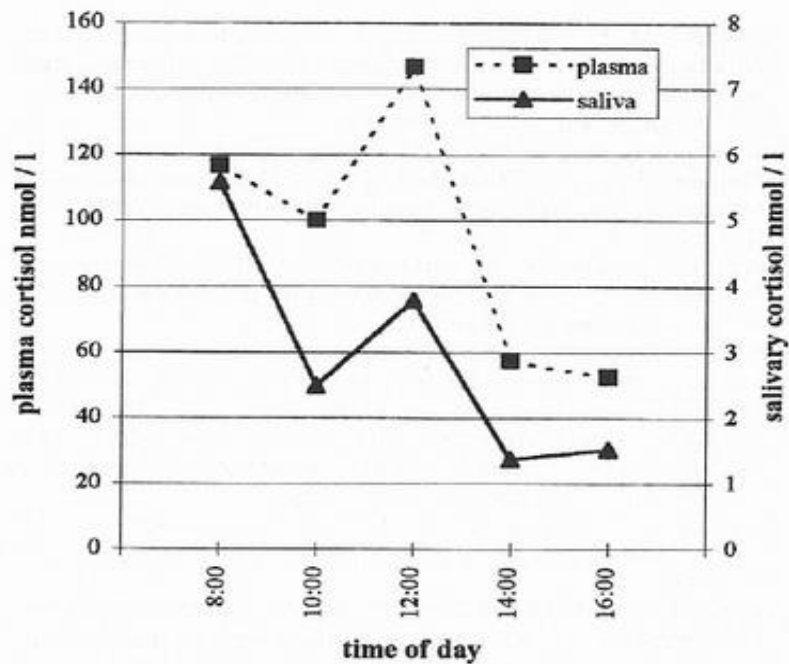
Jako indikátory psychologického stresu lze spárovat metodu IRT společně s měřením srdeční frekvence (HRV). Variabilita frekvence mezi srdečními rytmy u zvířat není přesná. Behaviorální studie naznačují, že snížení variace mezi po sobě jdoucími rytmy může naznačovat neurofyziologickou odpověď na stres, nezávisle na intenzitě fyzické námahy. Tato měření společně s dalšími naznačují stresovou reakci (Ille et al. 2014; Rietmann et al. 2004).

Další možnost, jak by mělo být výhledově možné ověřit, zda kůň trpí chronickými stavy podobnými s depresí, jsou testy na hladinu fekálního kortizolu. Studie Pawluskiho a kol. (2017) mimo jiné prokázala, že existuje pozitivní korelace mezi hladinami plazmatického kortizolu a metabolitů fekálního kortizolu, což naznačuje, že hladiny fekálního kortizolu mohou být srovnatelným ukazatelem plazmatických hladin kortizolu u koní. To znamená, že množství kortizolu, které lze určit z trusu, odpovídá množství kortizolu v krevní plazmě a lze tedy tento poznatek propojit s dalšími výsledky studie, ve které koně s projevem stavu podobného depresi měli abnormálně nízkou hladinu kortizolu.

#### **3.5.1 Stanovení kortizolu**

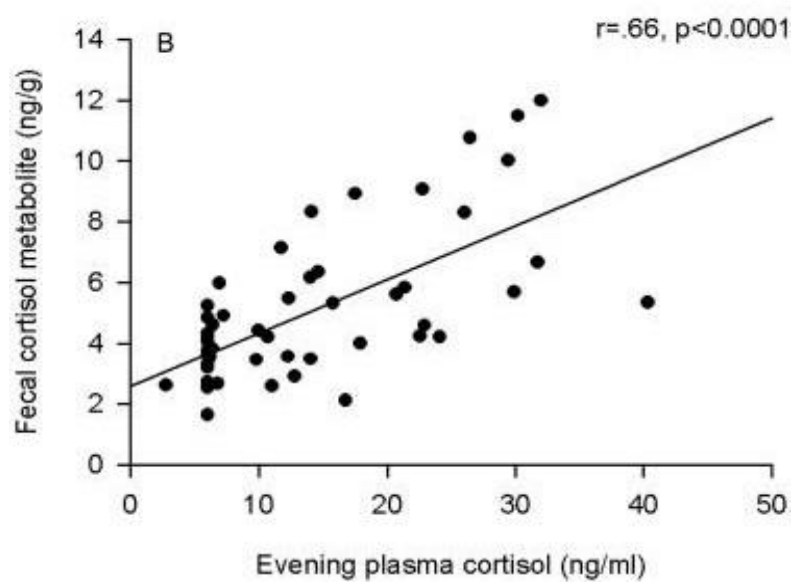
Kortizol je možné stanovit z krve (Lebelt et al. 1996), slin (Kang & Yun, 2016), výkalů (Pawluski et al., 2017) či moči (Turpeinen & Hämäläinen, 2013). Existuje mnoho studií pro stanovení kortizolu z jednotlivých zdrojů. Často je jako pomocný ukazatel měřen i srdeční tep testovaných jedinců (Ille et al. 2014). Stejně jako většina hormonů není kortizol vylučován z kůry nadledvin kontinuálně, nýbrž v několika vlnách během dne. Uvolňování kortizolu je tedy periodické a je regulováno diurnálním rytmem sekrece ACTH (Kirschbaum & Hellhammer 1989). Lebelt et al. (1996) uvádí, že nejvyšší hodnoty kortizolu byly naměřeny v brzkých ranních hodinách (graf č. 2), oproti tomu ve večerních hodinách byly naměřeny nejnižší

hodnoty. Stejně poznatky, také ve spojení s koňmi, publikovali i Strzelec et al. (2011) nebo Pawluski et al. (2017).



Graf č. 2: Vztah mezi hodnotou kortizolu z krve a ze slin v průběhu dne (Lebelt et al. 1996).

Slinný kortizol se běžně používá jako biomarker psychického stresu a souvisejících duševních nebo fyzických chorob. K jeho odběru není zapotřebí invazivních metod, a tak je hojně využíván. Existuje vysoká korelace mezi hladinami kortizolu ve slinách a nevázanými hladinami volného kortizolu v plazmě a séru, která zůstává vysoká během cirkadiálního cyklu a při různých dynamických testech. Většina studií považuje hladinu slinného kortizolu za spolehlivé měřítko adaptace osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPAA) na stres (Hellhammer et al., 2009). Turpeinen & Hämäläinen (2013) doporučují pro stanovení kortizolu ze slin techniku tandemové hmotnostní spektrometrie (LC-MS/MS). Dále zdůrazňují potřebu pečlivého vyhodnocení zvolené metody pro stanovení kortizolu v moči, jelikož většina přímých imunologických metod výrazně nadhodnocuje jeho koncentraci. Pawluski et al. (2017) ve své studii uvádí, že metabolity fekálního kortizolu (FCM) lze použít jako indikátor večerní hladiny plazmatického kortizolu, jelikož průměrné večerní plazmatické hladiny kortizolu a průměrné hladiny FCM významně korelovaly ( $r = 0.66$ ,  $p < 0.0001$ ) (graf č. 3).



Graf č. 3: Koncentrace hladiny metabolitů fekálního kortizolu a plazmatického kortizolu (Pawluski et al. 2017).



## 4 Metodika a materiál

### 4.1 Experiment

Práce byla zpracována v rámci projektu „KOMERCIONALIZAČNÍ PRODUKTY: NEBEZPEČNÉ PŘÍRODNINY, HIPO MONUMENTY A PAMÁTKY, SLUŽEBNÍ KONĚ“. Označení (CZ.07.1.02/0.0/0.0/16\_040/0000371). Projekt byl realizován za podpory magistrátu hl. města Prahy a spolufinancován Evropskou unií. Byl zahájen v roce 2019 a pokračoval do roku 2021 z důvodu celosvětové pandemie nemoci Covid-19. Terénní cvičení probíhalo ve spolupráci s Policií České republiky, a za přítomnosti řešitelů Ing. Cyrila Neumanna, Ing. Lucie Starostové, Ing. Martiny Janoškové, Ing. Jany Doležalové, PhD., a Doc. Ing. Jitky Bartošové, Ph.D.

Pro tuto práci bylo vybráno celkem 10 koní z oddělení služební hipologie Policie České republiky v Praze na Císařském ostrově. Mezi testované jedince patřili zkušení koně s dlouholetou praxí, koně méně zkušení i nové remonty v zácviku.

Experiment byl rozdělen do celkem čtyř dní. Vždy se odběry zařadily do denního plánu služebního oddělení, na který jsou koně zvyklí, aby se co nejvíce zamezilo možným stresovým podnětům. První tři dny byly sbírány vzorky slin pouze v klidovém stavu, vždy v osm hodin ráno po ranním krmení před dopolední prací. Každý kůň stál ve svém boxe, kde mu bylo vloženo do huby stájové udidlo s navázaným odběrovým tamponem. S touto částí experimentu pomáhali příslušníci služebního oddělení hipologie Policie ČR, jelikož je koně dobře znají.

Čtvrtý den experimentu měl na programu výcvikovou lekci se stresovými podněty. Postupně byly každému koni odebrány čtyři vzorky slin. Opět se začínalo odběrem v osm ráno po krmení, kdy koně byli ještě v klidovém stavu ve své stáji. Následně byli testovaní jedinci z technických důvodů rozděleni do dvou skupin. Postupně obě skupiny podstoupily výcvik na jízdárně se stresovými podněty.

Samotný experiment vystavení koní stresovým podnětům zahrnoval střelbu, dýmovnice (obr. 3), světlice, odtlačení barelů (obr. 4), vytlačení a následné překročení plachty (obr. 5 a 6) či úder jezdce do plastové lahve. Obě jezdecké skupiny měly totožné stresové podněty. Jako doprovodný ukazatel stresu byl měřen srdeční tep testovaných koní a jejich jezdců. Ihned po ukončení posledního podnětu byli koním odebrány sliny a jezdecké dvojice se odešly uklidnit a vykrokovat.

Poslední dva odběry proběhly jednu hodinu a následně čtyři hodiny po ukončení práce na jízdárně.



Obrázek č. 3: Použití dýmovnice.  
Foto: Kateřina Zelená



Obrázek č. 4: Průchod barely.  
Foto: Kateřina Zelená



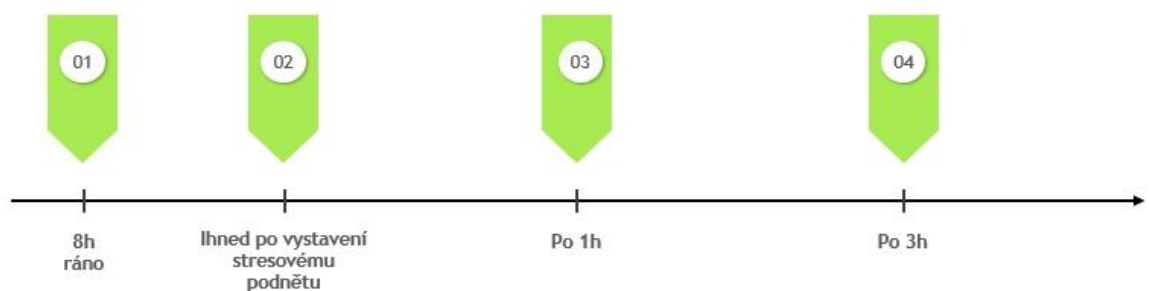
Obrázek č. 5: Odtlačení plachty.  
Foto: Kateřina Zelená



Obrázek. č. 6: Následné její překročení.  
Foto: Kateřina Zelená

#### 4.1.1 Odběr slin

Odběr slin proběhl u všech vybraných deseti koní pro tento experiment. První tři odběry se týkaly pouze klidového stavu. Poslední se skládal ze čtyř jednotlivých odběrů v průběhu dne (obr. 7).



Obrázek č. 7: Časová osa odběrů poslední den experimentu.

Na předem připravená stájová udidla se navázaly odběrové tampony (Tampax Compak Lites, složení: viskóza, polyester, bavlna), (obr. 8) a asistující policisté, každý svému koňskému svěřenci, vložili do huby takto upravené pomůcky. Po sedmi minutách byl každý tampon vyjmut, uložen do samostatného plastického sáčku a vymačkán. Následně se vzorek

odpipetoval do zkumavky, podepsal a uložil do mrazícího boxu na -20°C. Na konci odběrů pověřená osoba transportovala box do školní laboratoře k uložení do -80°C a následné analýze.



Obrázek č. 8: Odběrové tampony přivázané na stájová udidla.  
Foto: Kateřina Zelená

#### 4.1.2 Popis testovaných koní

Věková škála vybraných jedinců je široká. Ve všech případech se jedná o valachy a většina přísluší plemenné knize český teplokrevník (ČT). Dva koně jsou plemene nonius, jeden šlonský kůň a jeden příslušník plemenné knihy slovenský teplokrevník (CS). Z celkem 10 koní účastnících se experimentu jsou dva mladší koně (Gulliver a Amor). V příložené tabulce č.1 je uvedeno i stručné slovní subjektivní hodnocení jednotlivých koní.

JMÉNO	VĚK	PLEMENO	KVH (cm)	SUBJEKTIVNÍ HODNOCENÍ
GULLIVER	5 let	ČT	174	silný, nadějný
AMOR	5 let	CS	176	vznětlivý, zbrklý, aktivní
VID	8 let	nonius	171	vznětlivý, musí pracovat, potřeba stabilního jezdce
ZSELIC	7 let	nonius	172	aktivní, pracovitý, dobře ovladatelný, komunikativní
CATANI	14 let	ČT	171	kůň pro každého, nejlepší ze skupiny
ČIP	16 let	ČT	175	problematický, potřebuje důvěru v jezdce
BIRMA	16 let	ČT	173	snadno jezditelný, užitečný, občas zlobí
BARON	6 let	šlonský kůň	170	pouze pro muže, těžko jezditelný, tvrdohubý
SANTE	18 let	ČT	164	pracovitý, skvělé využití
GRASTAN	14 let	ČT	172	průměrný, mírně citlivý

Tabulka č. 1: Přehled testovaných koní.

## 4.2 Analýza vzorků

Analýza vzorků probíhala v laboratoři ČZU<sup>1</sup>. Všechny vzorky slin transportované z terénního odběru byly uloženy v mrazícím boxe laboratorního skladu v -80°C. Koncentrace slinného kortizolu byla zjišťována pomocí certifikovaného komerčního kitu (obr. 9) Salivary Cortisol ELISA od společnosti DIALAB.



Obrázek č. 9: Ilustrační ELISA Cortisol kit.

Dostupné z: <https://drg-international.com/salivary-elisa-kits/>

Analytická metoda ELISA je založena na principu vazby protilátky proti hormonu s následným vznikem barevného produktu. Jamky, ze kterých se skládá mikrotitrační destička, jsou na dně potaženy protilátkou antigenního místa kortizolu. Po napipetování vzorku vzniká interakce mezi protilátkou a antigenem, v tomto případě se jedná o slinný kortizol. Dochází ke kovalentnímu navázání enzymu peroxidázy, který katalizuje chemickou přeměnu substrátu. Po inkubaci a pečlivém vymytí všech jamek je nevázaný konjugát odstraněn a jeho množství je pak nepřímě úměrné koncentraci kortizolu ve vzorku. Nepřímě úměrná je také výsledná intenzita zabarvení jamek po přidání roztoku substrátu. Po celou dobu manipulace s mikrotitrační destičkou je zapotřebí dbát velké opatrnosti a nedotknout se dna destičky. Jelikož výsledný barevný produkt je měřen v přístroji zvaný spektrofotometr, který měří průchodnost světelných paprsků skrze vzorek. V závěru tmavě zabarvené jamky značí vyšší koncentraci kortizolu ve vzorku a mají tak menší průchodnost světla.

Součástí celého kitu je již zmíněná mikrotitrační destička složená z jamek s protilátkou proti kortizolu, dále pak kalibrační roztoky s různou koncentrací kortizolu, enzymatický konjugát, kontrolní vzorek, substrátový roztok, roztok zastavující reakci (kys. sírová) a promývací roztok, který je třeba zředit superčistou vodou 1:10.

Jelikož jsme prováděli metodu ELISA poprvé, bylo zapotřebí vyzkoušet postup analýzy. Pro tyto účely posloužily odebrané vzorky klidového stavu z prvního dne experimentu, byly tak znehodnoceny a do výsledků jsou použity je částečně.

Příprava samotných vzorků a následná analýza probíhala dle pokynů návodu, který byl obsažen v ELISA kitu. Zmrzlé vialky vyjmuté z mrazícího boxu museli nejprve pozvolna roztát při pokojové teplotě, a to nejméně po dobu třiceti minut. Stejně tak i celý kit a jednotlivé roztoky

<sup>1</sup> Analýzu vzorků a zpracování výsledků prováděla autorka pod vedením Mgr. Petra Doležala, Ph.D.

v něm. Výrobce kitu doporučuje vyvarovat se opětovného zamrazování a rozmrazování vzorků z důvodu jejich degradace. Dále bylo třeba vzorky pečlivě vyvážit a vložit do přístroje k centrifugaci, aby se nečistoty oddělily od námi zkoumané látky. Vialky byly odstředovány čtyři minuty při 4000 xg a vzniklý bezbarvý supernatant byl naředěn pro svou vysokou koncentraci.

Pro pipetování veškerých roztoků a vzorků byla zapotřebí kalibrovaná mikropipeta a vykonávat stanovení v duplikátech. Mezi důležité zásady při práci s kitem patřila i výměna násadce na mikropipetu, z důvodu možné kontaminace, pro každý vzorek slin nebo v případě nechtěného dotyku jiné látky. Samozřejmostí bylo dodržování ostatních hygienických pravidel pro práci v laboratoři.

Jako první byly napipetovány do jamek všechny typy klibračních roztoků vždy po 20  $\mu$ l, do následujících jamek pak řadě vzorky slin a kontrolní vzorek, každý také po 20  $\mu$ l. Následně do obsazených jamek bylo přidáno 200  $\mu$ l enzymatického konjugátu. Po dokončení této části návod udává destičku zakrýt a inkubovat při 37°C po dobu jedné hodiny. Po inkubaci se obsah jamek mikrotitrační destičky neodkladně oklepal o absorpční papírový ubrousek a do každé použité jamky bylo napipetováno 300  $\mu$ l připraveného promývacího roztoku. Tento čistící krok se opakoval celkem třikrát a před každým oklepáním o absorpční ubrousek bylo třeba vložit destičku na pět sekund na vibrační plošinku pro důkladné protřesení. Důsledné okapání nesmí být opomenuto, jelikož zbytkové kapičky roztoku mohou ovlivnit přesnost testu. Po vymytí jamek následovalo napipetování 100  $\mu$ l substrátového roztoku a uložení celé destičky do tmy na patnáct minut při pokojové teplotě. Posledním krokem metody ELISA bylo přidání kyseliny sírové, tedy roztoku zastavující celou reakci a důsledné protřesení mikrotitrační destičky.

Pro výsledné stanovení koncentrace kortizolu v odebraných vzorcích slin byl použit spektrofotometr BioTek™ ELx800™ (obr. 10). Měření absorbance při 450nm je doporučeno do deseti minut od přidání zastavovacího roztoku. Výsledné hodnoty a grafy ukáže program v počítači napojený na reader mikrotitračních destiček.



Obrázek č. 10: Reader mikrotitračních destiček.

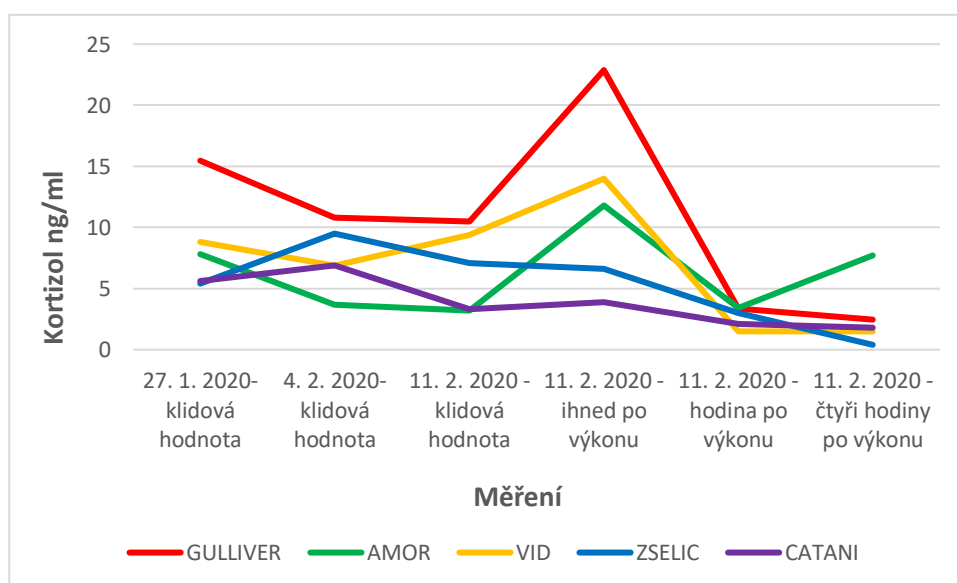
Dostupné z: <https://www.th-science.com.vn/en/may-doc-elisa-elx800-8048-pro.html>

## 5 Výsledky

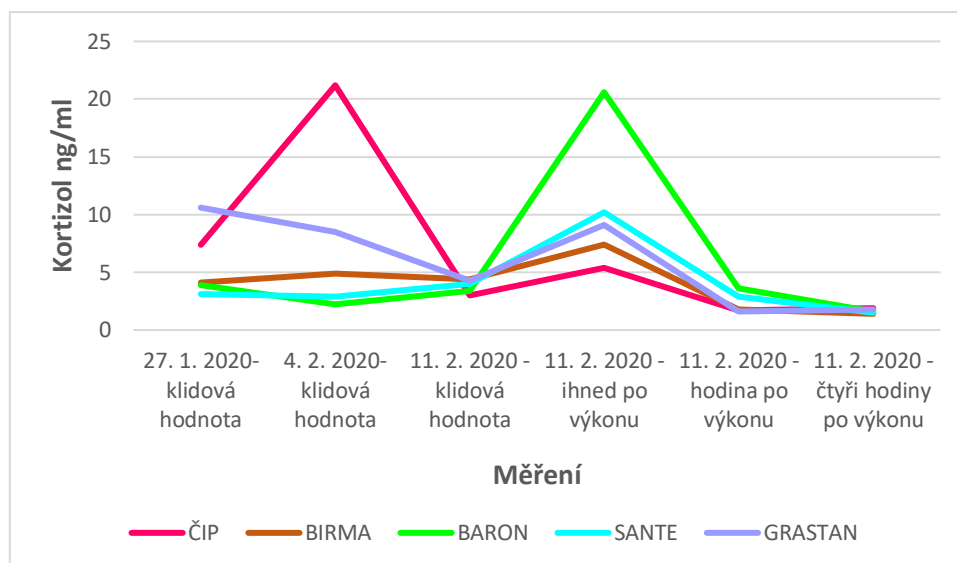
Data byla zpracována na základě analýzy hodnot z měření během experimentu vystavení služebních koní u Policie České republiky stresovým faktorům. Pro popisnou charakteristiku byl použit průměr, medián, směrodatná odchylka a maximální a minimální hodnoty. Výpočty byly prováděny pomocí programu Statistica 12. Následující tabulka č. 2 uvádí získané hodnoty kortizolu během všech odběrů v terénu v průběhu ledna a února roku 2020. Grafy pak znázorňují porovnání mezi jednotlivými koňmi. Cílem bylo zjistit, jestli má kůň schopnost v závislosti na věku, délce výcviku a plemenné příslušnosti zvládnout stresovou situaci. To vše na základě stanovení hladiny kortizolu ve slinách.

	27. 1. 2020 - klidová hodnota	4. 2. 2020 - klidová hodnota	11.2.2020 - klidová hodnota	11.2. 2020 - ihned po výkonu	11.2. 2020 - hodina po výkonu	11.2. 2020 - čtyři hodiny po výkonu
<b>GULLIVER</b>	15,47	10,82	10,48	22,88	3,34	2,46
<b>AMOR</b>	7,8	3,7	3,2	11,8	3,4	7,7
<b>VID</b>	8,8	6,9	9,4	14	1,5	1,5
<b>ZSELIC</b>	5,4	9,5	7,1	6,6	3	0,4
<b>CATANI</b>	5,6	6,9	3,3	3,9	2,1	1,8
<b>ČIP</b>	7,4	21,2	3	5,4	1,7	1,9
<b>BIRMA</b>	4,1	4,9	4,4	7,4	1,8	1,4
<b>BARON</b>	3,9	2,2	3,4	20,6	3,6	1,6
<b>SANTE</b>	3,1	2,9	4	10,2	2,9	1,5
<b>GRASTAN</b>	10,6	8,5	4,3	9,1	1,6	1,8

Tabulka č. 2: Přehled získaných hodnot (ng/ml).



Graf č. 4a: Porovnání mezi jednotlivými koňmi.



Graf č. 4b: Porovnání mezi jednotlivými koňmi.

Z grafu je patrné, že odběr slin zvedl hladinu kortizolu u mladého Gullivera při všech třech klidových odběrech. Naproti tomu služebně starší Čip měl hladinu kortizolu první odběr srovnatelný se svými vrstevníky a při druhém odběru se hladina kortizolu prudce zvýšila, což může být spojeno s charakterem jedince, jelikož v subjektivním popisu koně je uvedeno, že tento kůň musí důvěřovat svému jezdcí (ošetřovateli). Graf také potvrzuje subjektivní popis čtrnáctiletého Grastana, který uvádí, že tento kůň je poněkud nervóznější. Jeho hodnoty kortizolu byly po oba dny odběru vyšší, podobně jako u pětiletého Gullivera. Nejnižší hodnoty analýza prokázala u šestiletého Barona, který je zástupce šlonského koně. Hladina naměřeného kortizolu tak pravděpodobně nesouvisí s objektivními příčinami a odlišnostmi jednotlivých dní, ale spíše ukazuje na individuální rozdíly ve vnímání okolí testovaných koní.

Tabulka č. 3 uvádí popisné charakteristiky průměr, medián, variační koeficient, směrodatnou odchylku a maximální a minimální hodnoty z měření při klidovém stavu v závislosti na plemeni testovaných koní.

	průměr	medián	minimum	maximum	sm. odch.	var. koef. (%)
<b>ČT (6ks)</b>	7,431905	5,25	2,9	21,2	4,793696	24,33126
<b>Nonius (2ks)</b>	7,85	7,95	5,4	9,5	1,499722	2,699
<b>CS (1ks)</b>	4,9	3,7	3,2	7,8	2,060744	6,37
<b>Šlonský kůň (1ks)</b>	3,166667	3,4	2,2	3,9	0,713364	0,763333

Tabulka č. 3: Popisné charakteristiky hodnot kortizolu (ng/ml) klidového měření ze dnů 27. 1.; 4. 2. a 11. 2. 2020.

Z uvedených dat se jeví zástupce šlonského koně jako velmi klidný při manipulaci i v případě pro koně nestandardního zákroku odběru slin. Oproti tomu zástupci plemene ČT měli nejširší rozhraní naměřených hodnot. Existuje řada faktorů, které mohly ovlivnit výsledky, jako například složení ošetřovatelů nebo náhodné vzruchy z prostor stáje i mimo ni. Následující tabulka č. 4 uvádí hodnoty z měření ihned po vystavení stresovému podnětu. Pro úzký vzorek



zástupců plemen jsou zde uvedeny pouze dva nejpočetnější, jelikož popisné charakteristiky nelze vypočítat z jednoho údaje.

	průměr	medián	minimum	maximum	sm. odch.	var. koef. (%)
<b>ČT (6ks)</b>	9,813333	8,25	3,9	22,88	6,213766	46,33307
<b>Nonius (2ks)</b>	10,3	10,3	6,6	14	3,7	27,38

Tabulka č. 4: Popisné charakteristiky hodnot kortizolu (ng/ml) ihned po tresové zátěži dne 11. 2. 2020.

Porovnání dvou zde uvedených plemen v tabulce je poměrně náročné. Primárně pro svůj úzký testovaný vzorek, kde příslušníků plemene český teplokrevník bylo celkem šest a jedinců plemene nonius pouze dva. Ovšem z tabulky můžeme vyčíst, že v průměrných hodnotách hladin kortizolu ve slinách se obě plemena o moc neliší.

<b>HODNOTA KLIDOVÉHO STAVU U 5 A 6-ti LETÝCH</b>					
průměr	medián	minimum	maximum	sm. odch.	var. koef. (%)
6,774444	3,9	2,2	15,47	4,340581	21,19573
<b>HODNOTA KLIDOVÉHO STAVU U 14 AŽ 16-ti LETÝCH</b>					
průměr	medián	minimum	maximum	sm. odch.	var. koef. (%)
7,016667	6,9	3	21,2	4,791804	25,04879

Tabulka č. 5: Porovnání hodnot kortizolu (ng/ml) klidového měření.

Tabulka č. 5 uvádí rozdíly mezi naměřenými hodnotami kortizolu obsaženého ve slinách u skupiny 5 a 6-ti letých koní a služebně starších 14 až 16-ti letých během klidového měření. Nejedná se již o rozdělení dle plemen. Z výsledných dat vyplývá, že průměrné hodnoty se moc neliší a maxima u obou skupin jsou vysoká. Možné vysvětlení tohoto faktu bylo zmíněno již výše u grafu č. 4b. Zde nelze tedy s určitostí tvrdit, že věk hraje důležitou roli. Ošem výsledky měření ihned po vystavení koní stresovým podnětům jsou odlišné. Získaná data uvádí následující tabulka č. 6.

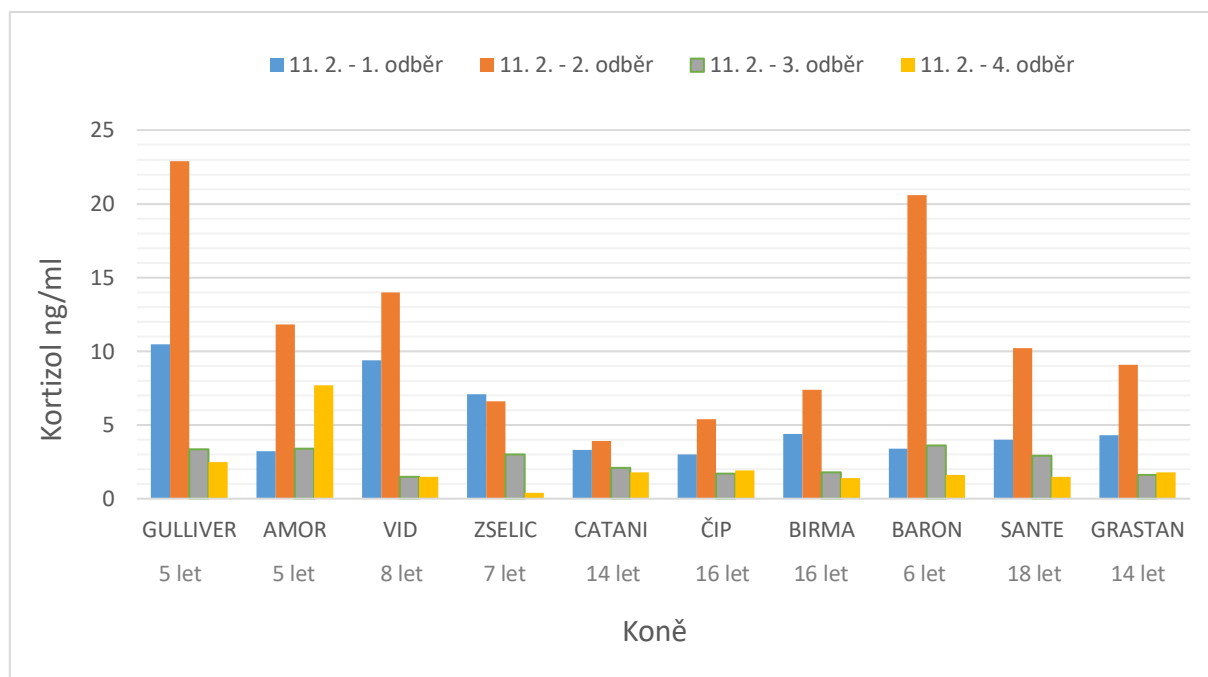
<b>HODNOTA IHNEDE PO STRESOVÉ ZÁTĚŽI U 5 A 6-ti LETÝCH</b>					
průměr	medián	minimum	maximum	sm. odch.	var. koef. (%)
18,42667	20,6	11,8	22,88	4,777317	34,23413
<b>HODNOTA IHNEDE PO STRESOVÉ ZÁTĚŽI U 14 AŽ 16-ti LETÝCH</b>					
průměr	medián	minimum	maximum	sm. odch.	var. koef. (%)
6,45	6,4	3,9	9,1	1,970406	5,176667

Tabulka č. 6: Porovnání hodnot dle věkových skupin.

Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u mladého Gulivera a to 22,88 ng/ml kortizolu. Další zástupce skupiny mladých koní se od prvního zmíněného velmi liší, což dokazuje uvedená

hodnota minima naměřených hodnot u 5 a 6-ti letých. Tato skutečnost mohla být ovlivněna jezdcem, prostředím i dalšími nám neznámými faktory. U druhé hodnocené skupiny služebně mnohem starších koní výsledná analýza vzorků neukázala tak vysoká čísla. Statistické šetření dat po vystavení koní stresovým podnětům prokázalo, že věk má významný vliv na hladinu salivárního kortizolu ( $\alpha = 0,05$  a hodnota  $p = 0,01230$ ).

Závěrečný graf č. 5 přehledně znázorňuje všechny čtyři odběry slin v průběhu posledního dne experimentu. Jsou zde zobrazeny hodnoty kortizolu z odebraných vzorků od všech koní, kteří byli součástí výzkumu.



Graf č. 6: Hladina kortizolu poslední den experimentu.

Pro lepší přehled jsou v grafu uvedeny i věkové rozdíly jednotlivých koní. Oranžová barva zde znázorňuje naměřené hodnoty ihned po vystavení koní stresovým podnětům. Nejnižší hladiny kortizolu v průběhu všech odběrů celého experimentu měl čtrnáctiletý valach plemene český teplokrevník jménem Catani. Výsledky analýzy tak opět korespondují se subjektivním popisem, který řadí tohoto koně na vedoucí pozici, co se týče využitelnosti pro policejní účely. Dále je možné z grafu vyčíst velký pokles kortizolu u posledního čtvrtého měření oproti prvnímu, přestože oba tyto odběry proběhly v klidovém stavu ve stájových boxech. Silným faktorem pro takové snížení hladiny sliného kortizolu může být fakt, že křivka kortizolu se v průběhu dne mění. Jak je uvedeno výše v literární rešerši, hladina kortizolu v těle je nejvyšší v ranních hodinách (zde první odběr značený modře) a s ubývajícím dnem hodnoty klesají (poslední odběr značený žlutě).

Všech deset testovaných koní mělo stejné podmínky v průběhu celého experimentu. Statistické šetření opět ukázalo, že data pocházejí z normálního rozdělení a hladina kortizolu je prokazatelným ukazatelem schopnosti koně vyrovnat se stresovými podněty ( $\alpha = 0,05$  a hodnota  $p = 0,00117$ ). I přes možné rušivé či stresové vlivy z vnějšího prostředí výsledky jednoznačně ukázaly, že schopnost koně vyrovnat se se stresovými podněty souvisí s věkem a služebně starší koně vykázali nižší hladiny slinného kortizolu oproti svým mladším kolegům.

## 6 Diskuze

Cílem této práce bylo posouzení schopnosti koně vyrovnat se se stresovými faktory na základě měření slinného kortizolu. Tato neinvazivní metoda odběru byla zvolena za účelem snížení možného stresu při získávání vzorků. Strzelec et.al (2011) například uvádí, že jakýkoli postup, při němž je využíváno krevní sérum, může u zvířat během odběru způsobit další stres, čemuž jsme se snažili předejít právě výběrem vhodné metody. Tato metodika byla už dříve ověřena jinými vědci (Van der Kolk et al. 2001; Kang & Lee 2016; Strzelec et al. 2011).

Současně je ale nutné konstatovat, že i odběr slinného kortizolu má jisté nevýhody, které mohou v konečném důsledku vést k mylné analýze výsledků. Velmi důležitou roli hraje standardizovaný odběr vzorků a dodržení postupu při jejich následném zpracování. Hladinu kortizolu v těle lze získat i z dalších vzorků, například krve (Lebelt et al. 1996), výkalů (Pawluski et al. 2017) či moči (Turpeinen & Hämäläinen, 2013), a nově také přibyla publikace o stresujících faktorech, které ovlivňují koncentraci kortizolu v chlupu koně (Gardela et al. 2020). Často bývá jako pomocný ukazatel měřen i srdeční tep testovaných jedinců (Ille et al. 2014), primárně u prvních výše zmíněných příkladů. V této práci jsme však k tomuto kroku nepřistoupili.

Lebelt et al. (1996) uvádí, že nejvyšší hodnoty plazmatického kortizolu byly naměřeny v brzkých ranních hodinách a oproti tomu ty večerní se ukázaly jako nejnižší. Stejně poznatky, také ve spojení s koňmi, publikovali i Strzelec et al. (2011) nebo Pawluski et al. (2017), kteří vyjma kortizolu obsaženého v krvi, zkoumaly i hodnoty fekálního a slinného kortizolu. V rámci našeho zkoumání jsme obdrželi totožné výsledky. Výjimku tvořil pouze mladý pětiletý valach Amor (7,7 ng/ml), kde dle výsledků usuzujeme, že naměřené vyšší hodnoty odpoledního klidového odběru mohou mít spojitost s věkem testovaného koně. Totožné zjištění, o závislosti hodnoty kortizolu na věku koně, totiž publikovala i dvojice Kang & Lee (2016), která zaznamenala právě významný rozdíl v koncentraci slinného kortizolu mezi koňmi z různých věkových skupin.

Statistické šetření dat po vystavení koní stresovým podnětům prokázalo, že věk má významný vliv na hladinu salivárního kortizolu ( $\alpha = 0,05$  a hodnota  $p = 0,01230$ ). S věkem je spojena délka výcviku, jelikož koně vybráni pro tento experiment byly do služeb u Policie ČR připravovány od čtyř let a mají tak všichni stejné vstupní podmínky. Proto když mladí a méně zkušené jedinci vykazovali vyšší hladiny slinného kortizolu dovolujeme si na základě zjištěných výsledků konstatovat, že délka výcviku může mít rovněž vliv na hladinu slinného kortizolu. Naše tvrzení podporuje i již zmíněná studie Kang & Lee (2016), která zaznamenala signifikantní rozdíl v koncentraci kortizolu mezi koňmi, kteří se nacházeli v různé fázi výcviku.

Při jízdě na koni je také rozhodující, jak umí jezdec zacházet s otěží, sedem a dalšími pomůckami, jelikož všechny tyto aspekty mohou ovlivnit negativně i pozitivně míru stresu. Tento poznatek mohl ovlivnit i naše výsledky, jelikož v subjektivním popisu testovaných koní se často vyskytuje, že kůň je citlivý, vznětlivý nebo musí důvěřovat svému jezdcovi. Kang et al. (2010) ve svém výzkumu uvádí, že kůň může být stresován nadměrným tahem za otěže, nesprávným používáním pomůcek či nestabilním držením těla jezdce a tím ovlivnit hodnoty slinného kortizolu u koně, nicméně výše uvedená spojitost nebyla v této práci zkoumaná.

Kortizol, jakožto stresový hormon, může být velmi užitečným ukazatelem a pomoci předpovědět reakci zvířete při krizové situaci, čímž poskytuje informace o temperamentu daného zvířete (Fazio et al. 2013). Podle výsledků studie Schork et al. (2018) jsou pasivní, tvrdohlaví a sebevědomí koně vhodnější pro výběr jako policejní koně. Schopnost klasifikovat koně podle jejich osobností může pomoci při výběru jejich budoucího zaměření. Toto tvrzení koresponduje s našimi výsledky, jelikož u koně Catani hodnota kortizolu dosahovala ihned po prožití stresového stimulu 3,9 ng/ml a hodinu po něm klesla na hodnotu 2,1 ng/ml. V subjektivním popisu je uvedeno, že se jedná o nejlepšího koně ze skupiny. Popis potvrdily i výsledné křivky hladin kortizolu, které byli u tohoto koně v porovnání s ostatními koňmi ze skupiny nejnižší. S naším tvrzením však nekoresponduje studie Sauer et al. (2019) která uvádí, že osobnostní rysy nesouvisí s hladinou kortizolu získaného ze slin. Podle nich záleží na plemenné příslušnosti, počtu střídajících se jezdců a možnosti koně trávit čas venku. Rozdíl ve výsledcích by mohl být zapříčiněn jednak lidským faktorem, dále pak velikostí skupiny, ale také zaměřením testovaných koní. Ve studii Sauer et al. (2019) osobnostní rysy koní uváděl do dotazníku nejbližší ošetřovatel či jezdec testovaného koně, celkový počet testovaných koní byl 149 jedinců a ani v jednom případě se nejednalo o policejního koně. Tento rozkol v názorech může být způsoben i tím, že výsledný dataset, jež byl použit pro tuto práci, čítal pouze deset jedinců.

Co se týče manipulace se vzorky odebraných slin a jejich následné analýzy, se názory autorů také různí. V našem případě k odběru slin posloužily tampony přivázané na stájová udidla a každému koni byl vyjmut po 7 minutách. Pro podporu slinění v případech, kde to bylo potřeba, asistenti z řad policistů jemně vybrovali s vodítkem připnutým ke stájovému udidlu. Například Lebelt et al. (1996), použili ke sběru slin vatové tyčinky od firmy Hartmann, které byly žvýkány testovaným koněm po dobu 20 minut. Odlišný způsob získání slin zvolil i Schmidt et al. (2010), kdy ve své studii využili bavlněných rolek a pomocí chirurgické arteriální svorky je umístily na jazyk koně po dobu jedné minuty. Kang & Lee (2016) pomocí kovové pinzety vytřeli hubu koně a použitou bavlněnou rolku uložili do Salivette zkumavky k následné analýze. Naprosto odlišný systém odběru slin zvolil pro svůj výzkum Stezelec et al. (2011) jelikož odběrový kousek houby byl namočen v 1% kyselině octové a poté vložen do koňské huby a otřen o jazyk, vnitřní tváře a patro.

Výhody námi zvoleného postupu spočívají ve snadné aplikaci odběrového tamponu do huby koně, jelikož všichni jedinci ochotně přijmají udidlo. Připevněním tamponu k udidlu se zároveň snižuje možnost nechtěného spolknutí nebo vyplivnutí tamponu ven. Mezi nevýhody této metody lze zařadit potřeba velkého množství stájových udidel. Využití Salivette zkumavek je v tomto ohledu jednodušší a méně náročné při velkém počtu testovaných jedinců. Nicméně je tu riziko nechtěného spolknutí nebo vyplivnutí bavlněné rolky během manipulace v hubě koně.

Posledním krokem před cestou vzorků do laboratoře bylo jejich uložení, a to se u většiny autorů shoduje na zamrazení při  $-20^{\circ}\text{C}$ . Výjimku tvoří studie Lebelt et al. (1996), kde vzorky nejprve odstředili po dobu deseti minut a až poté je zmrazili na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Centrifugaci neboli odstředění vzorků, po dobu deseti až patnácti minut při 500 – 1500 xg uvádí Kang & Lee (2016) nebo Strzelec et al. (2011). Druhý extrém centrifugace při 23 000 g po dobu pěti minut uvádí van der Kolk et al. (2010) a Peeters et al. (2011) píše o 2890 g po dobu 20 minut. Vzorky

odebrané pro tuto diplomovou práci analyzoval, za pomoci autorky, Mgr. Pert Doležal, Ph.D., a ten zvolil odstředování po dobu čtyř minut při 4000 ot/min.

Následná metoda analýzy získaných vzorků pomocí ELISA kitu je uvedena u většiny výše zmíněných autorů. Každý zvolil rozdílného výrobce, a tak přesný postup analýzy, založené na principu vazby protilátky proti hormonu s následným vznikem barevného produktu, se různí dle pokynů jednotlivých výrobců komerčních kitů.

Posouzení schopnosti koně vyrovnat se se stresovými podněty má nepopíratelně velký význam pro oddělení služební hipologie u Policie České republiky při výběru koně do výcviku a následné služby. Jak kůň reaguje na stresující podněty, nezávisí pouze na tréninku, ale také na jeho plemenné příslušnosti, temperamentu, věku, dřívějších životních zkušenostech, počtu střídajících se jezdů a také možnosti trávit čas venku (Munsters et al. 2012; Sauer et al. 2019; Visser et al. 2008; Wolff & Hausberger, 1996). Tato práce může posloužit jako odrazový můstek pro další výzkum, který pomůže zlepšit a zjednodušit výběr koní do policejní služby. Zapojení poznatků z dalších oborů týkajících se koní má velký potenciál do budoucna, a to nejen pro tuzemské účely. Například obor šlechtitelství a genetiky koní by mohl pozitivně přispět k řešení problematiky výběru koní pro policejní potřeby. Publikace Sauer et al. (2019) zmiňuje plemennou příslušnost jako jeden z hlavních vlivů na hladinu kortizolu v těle koně. Zároveň upozorňuje na fakt, že koně s vyšší fyzickou kondicí měli sníženou hladinu kortizolu oproti ne tak pracovně zatěžovaným. Při zkoumání vyššího počtu koní by bylo vhodné upravit metodiku odběru slin a místo stájových udiděl použít Salivette zkumavky s odběrovou bavňenou rolkou uvnitř.

## 7 Závěr

- Výcvik policejního koně je velmi náročný a je potřeba vhodně zvolit jedince určené pro tuto práci.
- Cílem této práce bylo posoudit schopnost koně vyrovnat se se stresovými podněty na základě stanovení hladiny kortizolu ve slinách v závislosti na věku, délce výcviku a plemenné příslušnosti.
- Z výsledků vyplynulo, že na hladinu kortizolu testovaných koní má významný vliv věk a s tím spojená délka výcviku služebních koní. Pro úzký vzorek koní k odběru nebyla prokázána spojitost mezi plemenou příslušností a schopností koně vyrovnat se se stresovými podněty.
- Statistické šetření prokázalo, že křivka hladiny kortizolu ve slinách koně je prokazatelným ukazatelem jeho schopnosti vyrovnat se stresovými podněty a hypotéza práce se tak potvrdila.
- Tato diplomová práce může sloužit jako pilotní projekt pro další výzkum zabývající se vhodností výběru koní pro služební účely Policie České republiky.

## 8 Literatura

- Atkinson RL. 2003. Psychologie. Portál, Praha.
- Bekris S, Antoniou K, Daskas S, Papadopoulou-Daifoti Z. 2005. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains. *Behavioural Brain Research* 161 45-59.
- Branderup B. 2017. *Academic Art of Riding*. Cadmos Publishing Limited, Richmond Upon Thames, UK.
- Brubaker L, Udell MAR. 2016. Cognition and learning in horses (*Equus caballus*): What we know and why we should ask more. *Behavioural Processes* 126:121-131.
- Budzyńska M. 2014. Stress Reactivity and Coping in Horse Adaptation to Environment. *Journal of Equine Veterinary Science* 34(8):935-941.
- Coleman K, Wilson DS. 1998. Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behaviour* 56(4):927-936.
- Contreras-Aguilar MD a kol. 2019. Changes in Saliva Analytes Correlate with Horses' Behavioural Reactions to An Acute Stressor: A Pilot Study. *Animals* 9(11). DOI: 10.3390/ani9110993.
- Christensen JW a kol. 2008. Effects of a calm companion on fear reactions in naive test horses. *Equine Veterinary Journal* 40(1):46-50.
- Dickerson SS, Kemeny ME. 2004. Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integration and synthesis of laboratory research. *Psychological bulletin* 130/3:355–391.
- Duruttya M. 2005. *Velká etologie koní*. HIPO-DUR, Košice.
- Dušek J a kol. 2011. *Chov koní*. Nakladatelství Brázda, s.r.o., Praha.
- Dušek J. 1995. *Kůň ve službách člověka*. Nakladatelství APROS, Praha.
- Dyson S, Bondi A, Routh J, Pollard D, Preston T, McConnell C, Kydd JH. 2021. An investigation of behaviour during tacking-up and mounting in ridden sports and leisure horses. *Equine Veterinary Education*, DOI: 10.1111/eve.13432.
- Fazio E, Medica P, Cravana C, Ferlazzo A. 2013. Cortisol response to road transport stress in calm and nervous stallions. *Journal of Veterinary Behavior-Clinical Applications and Research* 8(4): 231-237.
- Fox MW. 1968. *Abnormal behavior in animals*. Philadelphia, London and Toronto: W. B. Saunders Co.
- Frank E, Salchner P, Aldag JM, Salomé N, Singewald N, Landgraf R, Wigger A. 2006. Genetic predisposition to anxiety-related behavior determines coping style, neuroendocrine responses, and neuronal activation during social defeat. *Behavioral Neuroscience* 120 60-71.
- Freymond, S.B., Bardou, D., Briefer, E.F., Bruckmaier, R., Fouché, N., Fleury, J., Maigrot, A.L., Ramseyer, A., Zuberbühler, K. and Bachmann, I., 2015. The physiological

- consequences of crib-biting in horses in response to an ACTH challenge test. *Physiology & behavior*, 151, pp.121-128.
- Fureix, C., Beaulieu, C., Argaud, S., Rochais, C., Quinton, M., Henry, S., Hausberger, M. and Mason, G., 2015. Investigating anhedonia in a non-conventional species: Do some riding horses *Equus caballus* display symptoms of depression?. *Applied Animal Behaviour Science*, 162, pp.26-36.
- Gardela J, Carbajal A, Tallo-Parra O, Olvera-Maneu S, Álvarez-Rodríguez M, Jose-Cunilleras E, López-Béjar M. 2020. Temporary Relocation during Rest Periods: Relocation Stress and Other Factors Influence Hair Cortisol Concentrations in Horses. *Animals* 10(4):642, doi: 10.3390/ani10040642.
- Gleerup K, Lindegaard C, Forkman B. 2014. An equine pain face. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 42(1) DOI: 10.1111/vaa.12212.
- Graf P, von Borstel UK, Gauly M. 2013. Importance of personality traits in horses to breeders and riders. *Journal of Veterinary Behavior* (8)5:316-325.
- Gray JA. 1987. A theory of the behavioural inhibition system. *The Neuropsychology of Anxiety*. Oxford University Press, New York.
- Hall C, Goodwin D, Heleski C, Randle H, Waran N. 2008. Is there evidence of learned helplessness in horses?. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 11(3):249-266.
- Hanák J, Olehla Č. 2010. *Klinická fyziologie koní a jejich trénink*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno.
- Hanggi EB. 2014. *Equine Learning and Behaviour*. CABI Publishing, Oxfordshire.
- Hartman E, Sondergaard E, Keeling LJ. 2011. Keeping horses in groups: A review. *Applied Animal Behaviour Science* 136(2-4):77-87.
- Hellhammer DH, Wüst S, Kudielka BM. 2009. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* 34:163–171.
- Higginsová G, Martinová S. 2012. *Pohyb a výkon koně: Anatomie. Metafora*, Praha.
- Hillová C. 2011. *Jak myslí kůň*. Knižní klub, Praha.
- Ijichi, C.L., Collins, L.M. and Elwood, R.W., 2013. Evidence for the role of personality in stereotypy predisposition. *Animal Behaviour*, 85(6), pp.1145-1151.
- Ille N, Erber R, Aurich Ch, Aurich J. 2014. Comparison of heart rate and heart rate variability obtained by heart rate monitors and simultaneously recorded electrocardiogram signals in nonexercising horses. *Journal of Veterinary Behavior* 9(6):341-346.
- Inglis FM, Moghaddam B. 1999. Dopaminergic innervation of the amygdala is highly responsive to stress. *Journal of Neurochemistry* 72(3):1088-94.
- Joshi V. 2007. *Stres a zdraví*. Portál, Praha.



- Kang OD, Ryu YCH, Ryew ChCh, Oh WY, Lee ChE, Kang MS. 2010. Comparative analyses of rider position according to skill levels during walk and trot in Jeju horse. *Human Movement Science* 29(6):956-963.
- Kang OD, Lee WS. 2016. Changes in Salivary Cortisol Concentration in Horses during Different Types of Exercise. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 29(5):747-752.
- Kang OD, Yun YM. 2016. Influence of Horse and Rider on Stress during Horse-riding Lesson Program. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 29(6):895-900.
- Kirschbaum C, Hellhammer DH. 1989. Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology* 22(3):150-169.
- Krueger K, Heinze J. 2008. Horse sense: social status of horses (*Equus caballus*) affects their likelihood of copying other horses' behavior. *Animal Cognition* 11(3):431-439.
- Kusunose R, Yamanobe A. 2002. The effect of training schedule on learned tasks in yearling horses. *Applied Animal Behaviour Sciences* 78(2-4):225-233.
- Lansade L, Pichard G, Leconte M. 2008b. Sensory sensitivities: Components of a horse's temperament dimension. *Applied Animal Behaviour Science* 114(3):534 – 553.
- Lampe JF, Andre J. 2012. Cross-modal recognition of human individuals in domestic horses (*Equus caballus*). *Animal Cognition* 15(4):623-630.
- Lebelt D, Schönreiter S, Zanella AJ. 1996. Salivary cortisol in stallions: The relationship with plasma levels, daytime profile and changes in response to semen collection. *Pferdeheilkunde* 12(4):411-414.
- Lindberg AC, Kelland A, Nicol JC. 1999. Effects of observational learning on acquisition of an operant response in horses. *Applied Animal Behaviour Science* 61(3):187-199.
- Malinowski K. 2004. Stress Management for Equine Athletes. Available from [https://esc.rutgers.edu/fact\\_sheet/stressmanagement-for-equine-athletes/](https://esc.rutgers.edu/fact_sheet/stressmanagement-for-equine-athletes/) (cit. 31.3.2020).
- Madden KS, Felten DL. 1995. Experimental basis for neural-immune interactions. *Physiological Reviews* 75:77–106.
- Marvan F, a kol. 2011. Morfologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Mason GJ. 1991. Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour* 41 1015-1037.
- Mason GJ. 2010. Species differences in responses to captivity: stress, welfare and the comparative method. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 713-721.
- Myers J. 2005. *Managing Horses on Small Properties*. Landlinks Press.
- McBride DS, Mills SD. 2012. Psychological factors affecting equine performance. *BMC Veterinary Research* 8 (1):1-20.
- McEwen BS. 2007. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological reviews* 87(3):873-904.

- McGreevy P. 2004. *Equine Behavior: A Guide for Veterinarians and Equine Scientists*. Saunders, An Imprint of Elsevier Limited, London.
- McGreevy P, McLean AN. 2005. Behavioural problems with the ridden horse. *Domestic Horse: The Origins, Development and Management of Its Behaviour*. Cambridge University Press, Cambridge.
- McKinnon W, Weisse CS, Reynolds CP, Bowles CA, Baum A. 1989. Chronic stress, leukocyte subpopulations, and humoral response to latent viruses. *Health Psychology* 8:389–402.
- McLaughlin KJ, Gomez JL, Baran SE, Conrad CD. 2007. The effects of chronic stress on hippocampal morphology and function: an evaluation of chronic restraint paradigms. *Brain Research* 1161: 56-64.
- McLean AN. 2004a. Short-term spatial memory in the domestic horse. *Applied Animal Behaviour Science* 85:93–105.
- McLean AN. 2006. The positive effects of correct negative reinforcement. *Anthrozöös* 18(3):245-254.
- McLean A, McLean M. 2008. *Academic Horse Training*. Australian Equine Behaviour Centre, Clonbinane.
- McLean A. 2013. Andrew McLean on Attachment Theory – The New Dimension. Available from <https://www.horsemagazine.com/thm/2013/12/andrew-mclean-on-attachment-theory/>(cit 12. 12. 2020).
- Momozawa Y, Ono T, Sato F, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y, Kusunose R. 2003. Assessment of equine temperament by a questionnaire survey to caretakers and evaluation of its reliability by simultaneous behavior test. *Applied Animal Behaviour Science* 84(2):127 – 138.
- Munsters C, Visser E, van den Broek J, van Oldruitenborgh-Oosterbaan M. 2012. Physiological and behavioral responses of horses during police training. *Animal* 7(5).
- Murphy J, Arkin, S. 2007. Equine learning behaviour. *Behavioural Processes* 76(1):1-13.
- Ödberg FO, Bouissou MF. 1999. The development of equestrianism from the baroque period to the present day and its consequences for the welfare of horses. *Equine Veterinary Journal* 28: 26–30.
- Olf M, Brosschot JF, Godaert GLR. 1993. Coping styles and health. *Personality and Individual Differences* 15: 81–90.
- Pawluski J, Jegou P, Henry S, Bruchet A, Palme R, Coste C, Hausberger M. 2017. Low plasma cortisol and fecal cortisol metabolite measures as indicators of compromised welfare in domestic horses (*Equus caballus*). *PLOS ONE* 12(9): e0182257.
- Pearson, G. 2015. Practical application of equine learning theory, part 1. *In Practice* 37:251-254.
- Penquitt N. 2003. *První kroky pod sedlem*. Brázda. Praha.

- Peeters M, Sulon J, Beckers JF, Ledoux D, Vandenheede M. 2011. Comparison between blood serum and salivary cortisol concentrations in horses using an adrenocorticotrophic hormone challenge. *Equine Veterinary Journal* 43(4):487-93.
- Pierard M, McGreevy P, Geers R. 2017. Developing behavioral tests to support selection of police horses. *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 19: 7–13.
- Rankins EM, Wickens CL. 2020. A systematic review of equine personality. *Applied Animal Behaviour Science* 231, 105076.
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada, Praha.
- Rietmann TR, Bernasconi P, Stauffacher M, Auer JA, Weishaupt MA. 2004. Assessment of mental stress in warmblood horses: heart rate variability in comparison to heart rate and selected behavioural parameters. *Applied Animal Behaviour Science* 88(1-2):121-136.
- Rivera E, Benjamin S, Nielsen B, Shelle J, Zanella AJ. 2002. Behavioral and physiological responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses. *Applied Animal Behaviour Science* 78(2-4):235-252.
- Roberts M. 2005. *Průvodce nenásilným výcvikem koní*. Ikar. Praha.
- Rochais C, Henry S, Fureix C, Hausberger M. 2016. Investigating attentional processes in depressive-like domestic horses (*Equus caballus*). *Behavioural processes*, 124, pp.93-96.
- Rothmann J, Christensen OF, Søndergaard E, Ladewig J. 2014b. A Note on the heritability of reactivity assessed at field tests for danish warmblood horses. *J. Equine Vet. Sci.* 34: 341–343.
- Sauer FJ, Hermann M, Ramseyer A, Burger D, Riemer S, Gerber V. 2019. Effects of Breed, Management and Personality on Cortisol Reactivity in Sport Horses. *PLoS ONE* 14(12): e0221794.
- Selye H. 1950. Stress and the General Adaptation Syndrome. *British Medical Journal*. 1(4667): 1383–1392. doi: 10.1136/bmj.1.4667.1383.
- Schmidt R. 2013. *Péče o koně bez chyb a omylů*. Brázda. Praha.
- Schork IG, Schetini de Azevedo C, Young RJ. 2018. Personality, abnormal behaviour, and health: An evaluation of the welfare of police horses. *PLoS One*: e0202750  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202750>.
- Squibb K, a kol. 2018. Discrepancies in behaviour and affective states in horses during stressful handling procedures. *Applied Animal Behaviour Science* 202: 34-38.
- Søndergaard E, Ladewig J. 2004. Group housing exerts a positive effect on the behaviour of young horses during training. *Applied Animal Behaviour Science* 87 (1-2):105-118.
- Stewart M, a kol. 2008. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. *Physiology & Behavior* 93(4-5): 789–797. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.11.044>.

- Strzelec K, Kankofer M, Pietrzak S. 2011. Cortisol concentration in the saliva of horses subjected to different kinds of exercise. *Acta Veterinaria Brno* 80(1):101-105.
- Sullivan RM, Wilson DA, Ravel N, Mouly AM. 2015. Olfactory memory networks: from emotional learning to social behaviors. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 36 (9).
- Suwała M, Górecka-Bruzda A, Walczak M, Ensminger J, Jezierski T. 2016. A desired profile of horse personality – A survey study of Polish equestrians based on a new approach to equine temperament and character. *Applied Animal Behaviour Science* 180:65-77.
- Thomas-Luciano E. 2019. To Know Your Horse, Know His Brain. Available from <https://holistichorse.com/health-care/to-know-your-horse-know-his-brain/>(cit 12. 12. 2020)
- Thompson K, McGreevy P, Mcmanus P. 2015. A critical review of horse-related risk: a research agenda for safer mounts, riders and equestrian cultures. *Animals* 5:561–575.
- Turpeinen U, Hämäläinen E. 2013. Determination of cortisol in serum, saliva and urine. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 27(6): 795-801.
- Valenchon M, Lévy F, Fortin M, Leterrier C, Lansade L. 2013. Stress and temperament affect working memory performance for disappearing food in horses, *Equus caballus*. *Animal Behaviour* 86.
- Valera M, a kol. 2012. Changes in eye temperature and stress assessment in horses during show jumping competitions. *Journal of Equine Veterinary Science* 32(12): 827–830. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2012.03.005>.
- Van der Kolk JH, Nachreiner RF, Schott HC, Refsal KR, Zanella AJ. 2001. Salivary and plasma concentration of cortisol in normal horses and horses with Cushing's disease. *Equine Veterinary Journal* 33(2):211-3.
- Večeřová-Procházková A, Honzák R. 2008. Stres, eustres a distres. *Interní medicína pro praxi* 10/4:188-192.
- Veselovský Z. 2005. *Etologie: Biologie chování zvířat*. Academia, Praha.
- Veselovský Z. 1992. *Chováme se jako zvířata*. Panorama, Praha.
- Visser EK, Van Reenen CG, Blokhuis MZ, Morgan EKM, Hassmén P, Rundgren TMM, Blokhuis HJ. 2008. Does horse temperament influence horse-rider cooperation? *J. Applied Animal Behaviour Science* 11: 267–284.
- Von Borstel UK, Visser EK, Hall C. 2017. Indicators of stress in equitation. *Applied Animal Behaviour Science* 190:43-56.
- Waran N, a kol. 2007. *Training Methods and Horse Welfare*. Springer Science & Business Media. Berlin.
- Weiss IC, Pryce CP, Jongen-Relo AL, Nanz-Bahr NI, Feldon J. 2004. Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research* 152:279–295.

- Weiser EB. 2014. Stress, Lifestyle, and Health. Psychology (pp.52), Chapter: 14. OpenStax College.
- West CM. 2006. AAEP Convention 2005: Equine Learning Ability. American Association of Equine Practitioners. Available from <https://thehorse.com/129184/aaep-convention-2005-equine-learning-ability/> (accessed April 2020).
- Wolff A, Hausberger M. 1996. Learning and memorisation of two different tasks in horses: the effects of age, sex and sire. *Applied Animal Behaviour Science* 46:137-143.
- Yarnell K, a kol. 2013. An assessment of the aversive nature of an animal management procedure (clipping) using behavioral and physiological measures. *Physiology & Behavior* 118: 32–39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.05.013>.