

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Řasa spirulina jako alternativní zdroj proteinu, vitaminů a
minerálů v krmné dávce koní**

Diplomová práce

Bc. Alžběta Mišková

Výživa zvířat

Ing. Miroslav Joch, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Řasa spirulina jako alternativní zdroj proteinu, vitaminů a minerálů v krmné dávce koní" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 12. 4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Miroslavu Jochovi, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce a jeho cenné rady, který mi v průběhu psaní poskytl.

Řasa spirulina jako alternativní zdroj proteinu, vitaminů a minerálů v krmné dávce koní

Souhrn

Stejně jako ve výživě lidí, tak i ve výživě zvířat dochází ke snaze zapojit nová alternativní krmiva do běžných krmných dávek. Jednou z těchto nových komponent je řasa spirulina (*Arthrospira platensis*), která je všeobecně známa pro své kvalitní živinové složení a příznivé účinky pro lidský organismus. Její nutriční složení zaujme výrazným podílem proteinu, minerálních látek a vitaminů. Spirulina prokázala pozitivní účinky u některých druhů hospodářských zvířat, její vliv na dostupnost živin u koní však nebyl ověřován.

V této diplomové práci byl ověřován účinek zkrmování řasy spiruliny koním jako náhrada sójového extrahovaného šrotu. Bylo provedeno testování, při němž byly koním podávány kontrolní a experimentální krmné dávky obsahující spirulinu. Na konci pokusného období byly odebrány koním vzorky krve, které byly následně podrobně testovány na hladiny vitaminů, minerálních látek a dalších metabolitů. Hladina celkové proteinu, albuminu ani globulinu neprokázala statisticky významný ($p > 0,05$) rozdíl mezi kontrolní a pokusnou skupinou. Též nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly ($p > 0,05$) v případě močoviny, cholesterolu, ALT, AST a GMT.

Z minerálních látek nedošlo ke statisticky významným změnám v hladinách v krevním séru u fosforu ($p > 0,05$), zinku ($p > 0,05$) a hořčíku ($p > 0,05$). Statisticky významná změna byla zaznamenána v koncentraci vápníku ($p < 0,05$) a mědi ($p < 0,05$), kdy u obou těchto prvků došlo ke statisticky významnému zvýšení hladin. U vitaminu A, vitaminu E a beta-karotenu nedošlo ke statisticky významným změnám v koncentracích v krvi.

Závěr studie naznačuje, že řasa spirulina není dobrým zdrojem vitaminů, jak se očekávalo. Též se neprokázala jako lepší zdroj proteinu, než je sójový extrahovaný šrot. Další výzkum je nezbytný pro lepší pochopení účinků spiruliny na koně.

Klíčová slova: Spirulina, blood parameters, horses, minerals, vitamins

Spirulina as an alternative source of protein, vitamins, and minerals in horse diet

Summary

As in human nutrition, there is an endeavour to incorporate new alternative feeds into common animal diets. One of these new components being the spirulina algae (*Arthrospira platensis*), which is widely known for its high quality nutrient composition and beneficial effects on the human body. Its nutritional composition is notable for its high proportion of protein, minerals and vitamins. Spirulina has shown positive effects in some livestock species, but its effect on nutrient availability in horses has not yet been verified.

In this thesis, the effect of feeding spirulina algae to horses as a substitute for soybean extract meal has been verified. Carried out testing consisted of control and experimental diets fed to horses. At the end of the experimental period, blood samples were taken from the horses and subsequently tested in detail for levels of vitamins, minerals and other metabolites. Levels of total protein, albumin and globulin showed no statistically significant ($p > 0.05$) difference between the control and experimental groups. Similarly, there were no statistically significant differences ($p > 0.05$) in urea, cholesterol, ALT, AST and GMT.

Among the minerals, there were no statistically significant changes in blood serum levels of phosphorus ($p > 0.05$), zinc ($p > 0.05$) and magnesium ($p > 0.05$). Statistically significant changes were observed in the concentrations of calcium ($p < 0.05$) and copper ($p < 0.05$), with statistically significant increases in the levels of both these elements. There were no statistically significant changes in blood concentrations of vitamin A, vitamin E and beta-carotene.

The study suggests that spirulina algae is not a good source of vitamins as was expected. It also did not prove to be a better source of protein than soya meal extract. However, further research is advised for better understanding of the spirulina effects on horses.

Keywords: Spirulina, blood parameters, horses, minerals, vitamins

Obsah

1 Úvod.....	9
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	10
3 Literární rešerše	11
3.1 Anatomie a fyziologie trávení koní	11
3.1.1 Metabolismus vitaminů.....	12
3.1.1.1 Vitamin A	12
3.1.1.2 Vitamin D	13
3.1.1.3 Vitamin E.....	14
3.1.1.4 Vitamin K	14
3.1.1.5 Vitamin C	15
3.1.1.6 Thiamin.....	15
3.1.1.7 Riboflavin	16
3.1.1.8 Niacin	16
3.1.1.9 Vitamin B5 a B6.....	16
3.1.1.10 Biotin	16
3.1.1.11 Kyselina listová	17
3.1.1.12 Vitamin B12	17
3.1.2 Metabolismus minerálních látek.....	17
3.1.2.1 Vápník	18
3.1.2.2 Fosfor.....	18
3.1.2.3 Sodík.....	18
3.1.2.4 Draslík	19
3.1.2.5 Hořčík	19
3.1.2.6 Chlór	19
3.1.2.7 Síra.....	20
3.1.2.8 Železo	20
3.1.2.9 Mangan	20
3.1.2.10 Kobalt	20
3.1.2.11 Zinek.....	21
3.1.2.12 Jód.....	21
3.1.2.13 Selen	21
3.1.2.14 Měď	22

3.1.3	Metabolismus bílkovin	22
3.2	Arthrospira platensis	23
3.2.1	Nutriční složení spiruliny	24
3.2.2	Spirulina jako zdroj bílkovin	25
3.2.3	Spirulina jako bohatý zdroj minerálních látek a vitaminů	26
3.2.4	Další pozitivní vlastnosti spiruliny	26
3.2.5	Aktuální zastoupení spiruliny ve výživě zvířat	27
3.2.6	Zastoupení bílkovin v krmivech pro koně	28
3.3	Analýza krevních parametrů	28
3.3.1	Celkový protein	28
3.3.2	Albumin	28
3.3.3	Globulin	29
3.3.4	Močovina	29
3.3.5	Triglyceridy	29
3.3.6	Cholesterol	30
3.3.7	ALT, AST a GMT	30
3.3.8	Minerální látky	31
3.3.9	Vitaminy	32
4	Metodika	33
4.1	Design experimentu	33
4.2	Dieta	33
4.3	Odběr a analýza krevních vzorků	33
4.4	Statistické vyhodnocení	34
5	Výsledky	35
6	Diskuze	38
7	Závěr	42
8	Literatura	43

1 Úvod

Výživa zvířat se dnes ubírá klíčovými směry, které odráží aktuální trendy, technologické pokroky a celkové dění ve světě. Jedním z cílů je udržitelnost, na kterou se klade důraz a zahrnuje dopad na životní prostředí, optimalizaci využití zdrojů a minimalizování odpadních produktů (van der Poel et al. 2020). Prognózy naznačují, že světová populace dosáhne do roku 2050 9,7 miliardy, což je v kombinaci se zvýšenou životní úrovní a urbanizací masivní nárůst, který povede k potřebě navýšit živočišnou produkci (Boland et al. 2013). Tato eskalující poptávka nevyhnutelně povede ke zvýšené potřebě krmiv, zejména sójové moučky, která je prozatím nejefektivnějším bílkovinným krmivem na trhu. Současná nabídka těchto základních složek krmiva však nestačí pokrýt rostoucí poptávku ze strany živočišného průmyslu. V důsledku toho se vykládá značné úsilí na prozkoumání alternativních zdrojů bílkovin pro zvířata i lidi (Pootthachaya et al. 2023).

Mezi možné alternativní zdroje spadá právě námi sledovaná řasa spirulina. Dále se sem řadí hmyzí protein, který se již v krmivech především v pet sektoru běžně objevuje. Tyto zdroje by měli mít menší environmentální dopad, jak tomu má například stále nejkvalitnější bílkovinné krmivo sója (van der Poel et al. 2020). Právě pěstování sóji totiž způsobuje výraznou produkci skleníkových plynů prostřednictvím odlesňování a přeměny různých typů půdy na ornou půdu. Tento proces vede k uvolňování uhlíku dříve sekvestrovaného v půdě a biomase a přispívá ke ztrátě biologické rozmanitosti (Guo a Gifford 2002; Leinone et al. 2013).

Mikrořasa spirulina je už po staletí využívána jako hodnotný zdroj potravy, který využívali již domorodní obyvatelé Mexika a Afriky (Serban et al. 2016). Právě v těchto oblastech se přirozeně tato řasa vyskytuje v alkalických jezerech (Shimamatsu 2004). Více se o ní začlo mluvit až v 60. letech vydáním článku od autorů Leonard a Compere (Holman & Malau-Aduli 2012). Od té doby došlo k nárůstu jejího využití po celém světě, především jako zdroje suplementů pro člověka a zvířata, nejvíce v krmivu pro ryby (Muhling et al. 2005).

V dnešní době se považují obecně řasy za potravinu budoucnosti a již v mnoha zemích se cíleně pěstují. Jejich zařazení již není pouze z potravního hlediska jak u lidí, tak u zvířat, ale setkáme se s nimi například i v kosmetickém průmyslu (Janda-Milczarek et al. 2022).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo ověřit vliv zkrmování řasy spiruliny (*Arthrospira platensis*) namísto sójového extrahovaného šrotu v krmné dávce koní koním na krevní hladiny vitaminů, minerálů a metabolitů.

Pro tuto diplomovou práci byla stanovena následná hypotéza:

- Spirulina je bohatým zdrojem minerálů, vitaminů a aminokyselin. Předpokládáme, že zkrmování spiruliny koním zvýší dostupnost těchto minerálů a vitaminů (především vitaminu A), která se projeví jejich zvýšenými krevními hladinami.

3 Literární rešerše

3.1 Anatomie a fyziologie trávení koní

Koně jsou býložravá zvířata, jejichž trávicí soustava je uzpůsobená pomalému kontinuálnímu příjmu potravy. Nejpřirozenějším zdrojem potravy je proto pro ně čerstvá píce. V dnešní době, vlivem omezeného prostoru pastvin a využití koní pro sportovní účely, je přirozené pasení nahrazeno konzervovaným krmivem, nejčastěji senem, s přidávkem koncentrovaných krmiv, která nejsou pro koně přirozená vlivem vyššího obsahu škrobu (Frape 2010, Martin-Rosset & Marin 2015). Kvalitní pastva poskytuje přirozeně více minerálních látek a vitaminů, jak tomu je u většiny jadrných krmiv (Mbata et al. 2009). Čerstvá pastva tak nabízí koním bohatý zdroj esenciálních vitaminů rozpustných v tucích, vitamin A a vitamin E, a také vitaminů skupiny B rozpustných ve vodě, kromě vitaminu B12. Rychlost syntézy vitaminu K, vitaminu B12, pokud je dostatek kobaltu, a dalších vitaminů skupiny B střevní mikroflórou jsou v pozitivní korelaci s příjmem píce (Hoskin & Gee 2004). Stejně je tomu tak v případě minerálních látek, kdy je kvalitní pastva dostatečným zdrojem většiny látek. Výjimkou mohou mít lokální nedostatky v půdě, jako je tomu často u selenu (Silva et al. 2022).

Trávicí soustava koní má několik druhových specifíků. Příjem je zajištěn pohyby pysků, čelistí a jazyka (Budras et al. 2012). Stažením pysků dozadu se vytváří prostor pro přední řezáky, které slouží k ukousnutí píce (Reece 2011). Další funkce pysků spočívá v příjmu tekutiny, kdy kůň nejprve ponoří ústní štěrbinu až po koutky pysků do tekutiny. Jejich následným stisknutím se štěrbinu zúží, jazyk se pohybuje směrem k zadní části úst a dolní čelist se spouští. Tento proces vytváří podtlak v ústní dutině, což umožňuje koni nasát tekutinu dovnitř (Doubek et al. 2014).

Heterodontní chrup je tvořen 36–42 zuby v závislosti na přítomnosti špičáků a vlčích zubů (Luciano 2017). Pro tento typ chrupu je typický dlouhý vývoj v délce až 5 let (Frandsen et al. 2009). Na zpracování sousta vykoná 73–92 pohybů za jednu minutu (Frape 2010).

Pro koně je nezbytný již zmíněný kontinuální příjem krmiva, který zajišťuje dostatečnou produkci slin. Ty produkují žlázy příušní, podčelistní a podjazykové. Denní produkce se pohybuje v závislosti na plemeni od 35 do 40 litrů (Moeller et al. 2008; Cichorska et al. 2014). Sliny jsou nezbytné pro změkčení sousta a jeho průchod jícnem do žaludku. Právě jícnem, jakož to dlouhá svalnatá trubice, neobsahuje vlastní sekreční žlázy. Další velmi důležitou funkcí slin je jejich pufrací kapacita v žaludku, kde je kontinuálně tvořena kyselina chlorovodíková. Díky obsaženému bikarbonátu a chloridu sodnému nedochází ke snižování pH v žaludku. To je důležité v proximální části, kde u koní probíhá mikrobiální fermentace za produkce kyseliny mléčné (Frape 2010).

Žaludek koně je jednoduše složitý, pro který je typický malý objem 5–15 litrů a specifická morfologická stavba (Budras et al. 2012). Vlivem malého objemu zde přijatá potrava obvykle zůstává maximálně 15 minut a pak pokračuje do duodena. Výjimkou mohou být strukturní sacharidy, které se zde mohou zadržet až na 6 hodin. Pokud má kůň adlibitní přístup k potravě, tak se nestane, že by žaludek byl někdy prázdný (St. Pierre et al. 2012). Koňský žaludek je podle typu sliznice rozdělen do dvou hlavních oblastí: neglandulární část (pars nonglandularis) a žlázová část (pars glandularis). Neglandulární část, která se nachází

v blízkosti vstupu jícnu, je vystlána ochrannou sliznicí, ale postrádá žaludeční žlázy. Žlázová část, umístěná směrem ke dnu, obsahuje žaludeční žlázy odpovědné za vylučování trávicích enzymů a kyseliny chlorovodíkové. Posledním specifickým je tzv. kardiální smyčka. Tento svěrač brání zpětnému průchodu tráveniny ze žaludku do jícnu (Konig & Lieblich 2002). Krom enzymatického trávení, v žaludku probíhá pro koně typická fermentace. Z mikroorganismů jsou zde zastoupeny především *Lactobacillus equigenerosi* a *Streptococcus cericeti* (St. Pierre et al. 2012).

Tenké střevo, složené z dvanáctníku (duodena), lačnicku (jejunum) a kyčelníku (ileum), představuje místo, kde dochází k trávení již částečně zpracovaného krmiva z žaludku. Trávicí proces využívá střevní mikroflóru, žluč z jater a pankreatické šťávy slinivky břišní (Konig & Lieblich, 2002). Pankreatická šťáva obsahuje trávicí enzymy trypsin, amylázy a lipázy a také zásadité sloučeniny, které neutralizují kyselé prostředí, jenž sebou přináší trávenina z žaludku. Koním chybí žlučník, a tak je žluč z jater vylučována kontrinuálně. Obsahuje minerální látky a bikarbonáty, které též napomáhají neutralizaci tráveniny (Meyer & Coenen, 2003). Průchod tráveniny tenkým střevem trvá 36–72 hodin (Cichorska 2014). Stěny tenkého střeva tvoří střevní epitelové buňky, které mají polygonální tvar bez mezer. Pokud trpí kůň Equinní metabolickou poruchou, tyto buňky vykazují tvarové změny, způsobené separací epitelu. Buňky se tak zmenšují a dochází k vytvoření mezibuněčných prostor. V pokusu dle Nowrocka et al. (2017) byla koním s Equinní metabolickou poruchou podávána spirulina a tyto buňky se jevily stejné, jako u zdravých jedinců. Byla zde evidentní zvýšená adheze, která se připisuje zesílenému mezibuněčnému spojení, které má za důsledek právě spirulina.

Tlusté střevo se skládá ze slepého střeva, tračnicku a konečnicku. Kůň má ve srovnání s jinými domácími zvířaty pozoruhodně velké a složité tlusté střevo. Důvodem je mikrobiální fermentace vlákniny, která zde probíhá (Frandsen et al. 2009). Právě na mikrobiální zastoupení v tlustém střevu by spirulina též mohla mít vliv. Proběhla řada studií, kdy Khan et al. (2005) uvádí, že přípravek ze spiruliny přispívá u lidí k lepší rezistentní schopnosti střevního mikrobiomu, zejména *Lactobacillů* a *Bifidobakterií*, proti oportunitním patogenním mikroorganismům, jako je bakterie *Escherichia Coli*. Stejný efekt byl zaznamenán na pokusek u potkanů, kdy měla spirulina stabilizační efekt přirozené střevní mikroflóry u jedinců, kteří ji měli narušenou ve prospěch nežádoucích mikroorganismů (Yu et al. 2020).

3.1.1 Metabolismus vitaminů

Metabolismus a vstřebávání vitaminů z potravy probíhá primárně ve dvanáctníku, lačnicku a v některých případech i kyčelníku. Mezi vitaminy rozpustnými v tucích a ve vodě nalezneme rozdíl v absorpci. U skupiny vitaminů rozpustných v tucích je vstřebávání závislé na micelách tuku. U vitaminů skupiny B a vitaminu C probíhá vstřebávání sekundárně aktivním transportem anebo prostou difuzí. Můžeme se zde setkat s poruchami vstřebávání, kdy se jedná buď o nedostatek trávicích enzymů, anebo je z nějakého důvodu omezena absorpční plocha a odvodné cesty ze střev (Doubek et al., 2014).

3.1.1.1 Vitamin A

Vitamin A je skupina retinoidů rozpustných v tucích, které jsou klíčové pro mnohé biologické funkce, včetně zraku, imunitní reakce a reprodukce (Richard set al. 2021).

Primárním zdrojem vitamínu A ve výživě koní je provitamin beta-karoten, který se v organismu metabolizuje na aktivní formu. Přirozeně se nachází v rostlinách na pastvě, ale v zimě u rostlin může docházet ke snížení obsaženého pigmentu a tedy i beta-karotenu (Harris et al. 2006). Koně, pasoucí se na kvalitní pastvě, jsou schopni beta-karoten ukládat do zásob v játrech a to po dobu až 6 měsíců (Richards et al. 2021). Přestože čerstvá pastva často překračuje požadavky na vitamin A, koncentrace v senu se výrazně liší. Vlivem sušení a délky skladování může obsah beta-karotenu klesnout až o 80 % ze svého prvotního obsahu a tyto ztráty se mohou ještě navýšit v závislosti na délce skladování (Ballet et al. 2000; McDonald et al. 2000). Mezi obilovinami má nejvyšší obsah beta-karotenu kukuřice. Vitamin A je možné dodávat do krmných směsí ve formě retinyl-palmitátu nebo retinyl-acetátu (NRC 2007).

S deficitem vitamínu A se u koní běžně nesetkáme. Mohlo by k němu dojít až po dlouhodobém nedostatku, jelikož si tělo uchovává zásoby vitamínu v játrech (Remillard 2023). Klinické příznaky nedostatku mohou zahrnovat šeroslepost, zakrnělý růst, nadměrné slzení, sníženou obranyschopnost a nechutenství. Nadměrný příjem může mít za následek křehkost kostí, jejich deformity a potenciální teratogenní účinky. U dospělých koní mohou příznaky zahrnovat slabý svalový tonus, poruchy koordinace a vypadávání chlupů (Harris et al. 2006). Je zajímavé, že toxicita vyvolaná vitamínem A je možná, ale toxicita vyvolaná nadbytkem beta-karotenu zaznamenána nebyla (NRC, 2007). K hypervitaminóze A u koní nedochází, protože se předpokládá, že koně účinně regulují přeměnu beta-karotenu na vitamin A (Harris et al. 2006).

3.1.1.2 Vitamin D

Vitamin D, cholekalciferol, je dalším ze skupiny vitamínu rozpustných v tucích. Jeho hlavní funkcí je regulace hladiny vápníku v těle koní (Richard et al. 2021).

Vitamin D je dostupný pro koně ve dvou formách D2 a D3. Forma D3 je syntetizována v kůži koní z přítomné sloučeniny 7-dehydrocholesterolu po vystavení slunečnímu svitu, které obsahuje ultrafialové záření (Harris et al. 2006). Forma D2 se nachází v rostlinách, kde vzniká opět působením ultrafialového záření, ale tentorák na látku ergosterol (Harris et al. 2006). Jeho hladiny v senu se liší v závislosti na expozici slunečnímu záření a metodě konzervace. Běžně sušené seno na louce obsahuje dostatek vitamínu D2 (Richards et al. 2021). Další běžná krmiva koní neobsahují výrazné množství vitamínu D2, lehce zvýšené množství lze nalézt například ve vojtěškovém senu (NRC 2007).

S deficitem vitamínu D se u koní obyčejně nesetkáme (Remillard 2023). Jeho dietní požadavky může ovlivňovat čas stávený na přímém slunečním svitu, jehož intenzita je variabilní v závislosti na sezónních změnách a zeměpisné poloze. Potřebu vitamínu D u koní navíc ovlivňuje rovnováha minerálních látek v potravě, jako je vápník, fosfor a hořčík, stejně jako příjem sena sušeného na slunci (Harris et al. 2006). U koní, kteří mají alespoň minimální přístup na denní světlo, byly zaznamenány dostatečné hladiny vitamínu D v krevním séru (NRC 2007).

Klinické příznaky nedostatku vitamínu D u koní mohou zahrnovat abnormální růst kostí u hříbat a osteomalacii u dospělých jedinců. Onemocnění křivice, které je běžné při nedostatku vitamínu D u lidí a zvířat, nebylo u koní potvrzeno. Nadbytek vitamínu D se může

projevovat hyperkalcémií, hypofosfatémií a kalcifikací měkkých tkání (Harris et al. 2006; NRC 2007). Pokud by byl koním podán vitamin D ve velkém množství orální cestou je známo, že forma D3 je až dvakrát víc toxická, jak forma D2 (Harris et al. 2006).

3.1.1.3 Vitamin E

Vitamin E neboli tokoferol se může vyskytovat ve formě osmi izomerů dvou typů sloučenin, tokoferolu a tokotrienolu. Tokoferol slouží v organismu jako antioxidant, nezbytný pro normální fungování nervosvalových vláken. Dále ovlivňuje genovou expresi a inhibuje agregaci krevních destiček (Richards et al. 2006; Finno & Valberg 2012).

Denní příjem krmiva s obsahem vitamínu E je nezbytný, jelikož není schopný dlouhodobé kumulace v organismu. Bohatým zdrojem je čerstvá pastva, která ale může být velmi variabilní dle stáří porostu, kdy mladší rostliny mají vyšší obsah. Se sušením píce na seno klesají hladiny vitamínu E, stejně jako je tomu u vitamínu A. O trochu lépe je na tom s obsahem senáž (Richards et al. 2006). Obiloviny mají v porovnání s pící nižší koncentrace (NRC 2007). Komerční krmiva s touto variabilitou počítají a vitamin E je tak doplňován (NRC 2007). Další možností je přímá suplementace tohoto vitamínu u konkrétních skupin koní, kam řadíme například sportovní koně. Mnoho výzkumů potvrdilo, že podávání čistého vitamínu koním ve vysoké zátěži vedlo ke stabilizaci hladiny tokoferolu v krevním séru a snížení oxidativního stresu po intenzivním fyzickém výkonu (Williams et al. 2004; Williams & Carlucci 2006; Rey et al. 2013). S deficitem tokoferolu je spojováno onemocnění Degenerativní myeleoncefalopatie koní (EDM) a Onemocnění motorických neuronů koní (EMND)(NRC 2007). EMND má chronický průběh a primárně postihuje motorické neurony v centrální nervové soustavě, která řídí funkce kosterní svaloviny. Toto onemocnění je připisováno dlouhodobému nedostatku vitamínu E, přičemž na jeho vznik mohou mít vliv i další faktory (De la Rúa-Doménech et al. 1997; Valberg 2017). Predispozicí k onemocnění EDM je genetický základ jedince. Postihuje mladé koně, u kterých dochází k degenerativním změnám na míše a mozku a projevuje se ataxií. Některé výzkumy poukazují, že má toto onemocnění spojitost s vitamínem E, ale tato domněnka nebyla zatím s jistotou potvrzena (Liu et al. 1983; Gandini et al. 2004; NRC 2007).

Hladina vitamínu v krevním séru koní kolísá dle ročního období a tedy kvalitou pastvy, kdy v letním období jsou hladiny v krevním séru koní vysoké (Finno & Valberg 2012). S nedostatkem se můžeme setkat u koní, kteří nemají adekvátní přístup na pastvu (Richards et al. 2006). Mezi klinické projevy nedostatku se řadí snížená imunita, pokles výkonnosti či problémy s reprodukcí (Harris et al. 2006).

Toxicita se běžně nevyskytuje a zaznamenána nebyla (Harris et al. 2006).

3.1.1.4 Vitamin K

Vitamin K je odjakživa spojován se srážením krve v těle savců, ale postupně byla jeho funkce rozšířena o mnoho dalších úloh v organismu, jako je proces kalcifikace kostí, vývoj mozku či metabolismus glukózy (Skinner et al. 2023).

Kůň typicky syntetizuje dostatečné množství menachinonů prostřednictvím střevních bakterií, které tvoří základní stavební jednotku vitamínu K, a tak ho už nepotřebují doplňovat

krmivem. Suplementace může být potřebná, pokud je koni podáváno antibiotikum, které tuto syntézu může narušit (Harris et al. 2006).

Deficit vitamínu K může nastat u koní mnohem snadněji, jak u ostatních vitamínu rozpustných v tucích, vlivem jeho neschopnosti se dlouhodobě ukládat v jejich těle. Nejtypičtějším projevem je snížená srážlivost krve a tedy větší náchylnost ke krvácení. Z krmiv je obecně bohatým zdrojem píce ve všech podobách a stačí tak k adekvátnímu příjmu. Nízké zastoupení je pak v obilovinách (Remillard 2023).

Zatímco rostlinná forma vitamínu K bývá hůře vstřebatelná a není pravděpodobné, že způsobí toxicitu, nadměrný příjem syntetického vitamínu K3 může vést k anémii a žloutence, které mohou končit i úhynem. Injekční formy vitamínu K mohou také představovat riziko toxicity, což může mít za následek apatii, selhání ledvin a laminitidu (Harris et al. 2006).

3.1.1.5 Vitamin C

Vitamin C, kyselina askorbová, hraje významnou roli jako antioxidant nacházející se v alveolární tekutině plic. Hladina vitamínu C v těle byla rozpoznána jako faktor přispívající k rozvoji chronických zánětlivých onemocnění dýchacích cest u koní, známé jako dušnost (Kirschvink et al. 2002; Winther et al. 2012).

Za standardních podmínek je kyselina askorbová syntetizována v potřebném množství játry a dalšími tkáněmi z glukózy. V období stresu nebo nemoci, kdy potřeba může převyšovat přirozenou produkci, může dojít k deficitu. Nedávné studie zdůraznily úlohu kyseliny askorbové jako klíčového antioxidantu v plicní tekutině, přičemž snížené hladiny byly pozorovány u koní trpících stavu, jako je recidivující obstrukce dýchacích cest (RAO) a zánět plic (Harris et al. 2006). Další významná funkce vitamínu C byla u koní zaznamenána v synoviální tekutině kloubů (Murray et al. 2009). Suplementace vitamínem C je v případě onemocnění či stresu vhodná k udržení stabilní hladiny kyseliny askorbové v krevním séru (Deaton & Marlin 2005). Zatímco syntetické formy se někdy používají jako doplňky, jejich účinnost ve střevní absorpci se liší a jejich stabilita při zpracování není konzistentní (Harris et al. 2006).

Zdraví koně obvykle uspokojují své potřeby vitamínu C prostřednictvím tkáňové syntézy a deficit tak u koní nebyl zaznamenán (Remillard 2023). Koně vystaveni traumatu, respiračním onemocněním nebo velkým chirurgickým zákrokům však mohou vyžadovat další suplementaci (Harris et al. 2006). Z přírodních zdrojů mají vysoký obsah vitamínu C plody Růže šípkové (Gjorgovska et al. 2021). S toxicitou se běžně nesetkáme (NRC 2007).

3.1.1.6 Thiamin

Vitamin B1 slouží jako nezbytný kofaktor v mnoha procesech, které podporují protizánětlivé a antioxidační účinky (Hess et al. 2021).

Thiamin si jsou schopni koně syntetizovat sami v trávicím traktu (Harris et al. 2006), a tak se s deficitem u koní setkáme vzácně (Remillard 2023). V krmivu nalezneme jeho dobré zastoupení v obilovinách, jako je oves a ječmen. Vyšší hladiny nalezneme v pšeničných otrubách či rýžových otrubách (NRC 2007). Nejbohatšími zdroji je čerstvá pastva či pivovarské kvasnice (Remillard 2023).

U koní byly zaznamenány ve spojení s nedostatkem thiaminu tyto projevy: snížení růstové schopnosti, apatie, anorexie, abnormálně snížená srdeční frekvence a ataxie (Cymbaluk et al. 1978; NRC 2007). Toxicita nebyla u thiaminu zaznamenána (NRC, 2007).

3.1.1.7 Riboflavin

Vitamin B2 je nezbytná složka koenzymů podílejících se na energetickém metabolismu v organismu. Jeho zastoupení je především v oxidativní fosforylaci. Dále je zastoupen v metabolismu lipidů (Manthe & Youngs 2014).

Primárním zdrojem riboflavinu je jeho vlastní produkce ve střevech a píče (Remillard 2023). Výbornými krmivy s vysokým obsahem riboflavinu jsou luštěniny, především jetel a vojtěška. Nižší koncentraci nalezneme pak v senu a nejméně je zastoupen v obilovinách.

Zatímco nedostatek riboflavinu nebyl u koní zdokumentován, pozorování u jiných druhů zvířat naznačují, že nedostatek riboflavinu může vést k příznakům, jako je šupinatá kůže, zhoršení kvality srsti, vředy v tlustém střevě a zvýšená citlivost na světlo (Manthe & Youngs 2014).

Toxicita nebyla u koní popsána (Ellis & Hill 2005).

3.1.1.8 Niacin

Vitamin B3 je součástí metabolismu proteinů, lipidů a sacharidů ve formě koenzymu nikotinamidadeninukleotidu (NAD) a nikotinamidadeninukleotidfosfát (NADP) (Briggs 2007; Manthe & Youngs 2014).

U niacinu nebyly zpozorovány případy ani spojené s deficitem, ani s toxicitou (Briggs 2007). Stejně jako u většiny vitaminů skupiny B, i niacin je syntetizován mikroorganismy v trávicím traktu koně. Mimo to může být syntetizován z aminokyseliny tryptofanu v játrech. Jeho zastoupení v čerstvé píči je dobré, stejně jako v obilovinách (Remillard 2023).

3.1.1.9 Vitamin B5 a B6

Kyselina pantotenová a pyridoxin jsou esenciální vitaminy skupiny B, které se účastní mnoha metabolických drah u koní. Kyselina pantotenová je klíčová pro syntézu koenzymu A a je distribuována plazmou jako volná kyselina pantotenová. Pyridoxin existuje ve třech formách a je přeměněn na aktivní vitamin pyridoxalfosfát, který hraje roli v metabolismu aminokyselin a dalších biochemických procesech (NRC 2007; Remillard 2023).

Oba vitaminy se tvoří mikrobiální aktivitou v trávicí soustavě. Krmiva jako píče, obiloviny, kvasnice a komerční krmiva poskytují dostatečné množství těchto vitaminů, čímž zabraňují nedostatku a tak se s ním běžně u koní nesetkáváme. Skladovaná krmiva si v průběhu času zachovávají významnou část těchto vitaminů. Stejně jako u deficitu, tak ani případy spojené s toxicitou nebyly hlášeny (McGorum et al. 2017; Remillard 2023).

3.1.1.10 Biotin

Biotin, ve vodě rozpustný vitamin B7, má nenahraditelné zastoupení jako kofaktor pro enzymy regulující širokou škálu zprostředkovatelských metabolických drah. Tyto dráhy

zahrnují glukoneogenezi, syntézu mastných kyselin, syntézu nukleových kyselin, podporu buněčné proliferace a růstu tkání (Burns 2021).

Biotin je jako většina vitaminů skupiny B produkován mikroorganismy v trávicím traktu koně (Burns 2021). Zdroje ze skupiny krmiv se liší v jeho biologické dostupnosti. Dobré zastoupení mají pivovarské kvasnice, vojtěškové úsušky a kukuřičné zrno. V dalších běžně krměných obilovinách je zastoupení nižší a navíc je zde nižší využitelnost díky fytoátům, které jsou významně zastoupeny například v zrnu pšenice. Dále jsou ve výživě koní používány suplementy, které běžně syntetický biotin obsahují (Harris et al. 2006).

Ačkoli důkazy o nedostatku biotinu u koní nebyly rozsáhle zdokumentovány, některé výzkumy naznačují, že doplnění stravy o biotin koním se špatným zdravotním stavem kopyt může v některých případech vést ke zlepšení, i když ne všichni jedinci na toto podání musí reagovat. Nedostatek biotinu byl u jiných druhů často spojován se špatnou kůží, stavem srsti anebo kvalitou kopyt (Harris et al. 2006).

3.1.1.11 Kyselina listová

Kyselina listová, patřící do skupiny vitaminů B, hraje klíčovou roli jako kofaktor v různých intracelulárních reakcích (Donnelly 2001). Dále se podílí na syntéze metioninu (NRC 2007). Společně s vitaminem B12 se podílí na syntéze erytrocytů (Finno 2018).

U koní dochází k syntéze kyseliny listové pomocí mikroorganismů v trávicím traktu (Carroll et al. 1949; Finno 2018). Z krmiv mají objemná krmiva větší obsah, jak obiloviny. Dobré zastoupení je ve vojtěšce, čerstvé pastvě a senu. U obylovin množství klesá v pořadí ječmen, oves a kukuřice (NRC 2007). U koní díky mikrobiální syntéze a dobrému příjmu v píci k deficitu nedochází (Remillard 2023).

V běžných případech nebyl deficit vitaminu B9 u koní zaznamenán, stejně jako toxicita (NRC 2007).

3.1.1.12 Vitamin B12

Kobalamin, životně důležitý vitamin pro koně, je nezbytný pro různé metabolické procesy, včetně syntézy DNA a energetického metabolismu (Remillard 2023).

Vitamin B12 je primárně syntetizován mikroorganismy a pro tuto reakci je esenciální přítomnost kobaltu. Pícniny jsou bohatým zdrojem kobalaminu, zatímco kvasnice a obilná zrna obsahují nižší koncentrace. Na rozdíl od jiných vitaminů skupiny B se kobalamin ukládá ve významném množství v játrech a dalších orgánech, a tak případy nedostatku u koní zaznamenány nejsou. Diagnóza nedostatku se opírá o klinické podezření a měření snížených koncentrací kobalaminu v krvi nebo moči (Davles 1971; Remillard 2023).

3.1.2 Metabolismus minerálních látek

Elektrolitní ionty a minerální látky přijímané krmivem vytváří roztok společně s tekutinou trávicího traktu, díky čemuž je možná jejich absorpce. Právě kontakt s kyselinou chlorovodíkovou v žaludku umožňuje trávení jinak nerozpustných sloučenin minerálních látek. U monogastrických druhů a tedy i koní se většina absorpce minerálů a elektrolytů

odehrává v tenkém a tlustém střevě. Slepé střevo je schopné též absorbovat případné elektrolyty, pokud by se sem dostaly (Groff et al. 2015).

3.1.2.1 Vápník

Vápník je makroprvek, který se podílí na homeostáze, pohybu a je základní stavební jednotkou kosterní tkáně (NRC 2007).

Deficit vápníku se u koní běžně nevyskytuje. Obvyklým projevem deficitu je demineralizace kostí, kterou ovšem nelze odhalit krevními testy (NRC 2007). Dle studie autorů Knight et al. (1985) se může objevit deficit u hříbat, který vede k osteopenii. Ta lze velmi dobře rozeznat vnějšími příznaky, mezi které se řadí zvětšené klouby a zakřivení končetin. U koní, kteří mají buď nedostatek vápníku v krmné dávce, anebo není adekvátní poměr fosforu k vápníku, se můžeme setkat s onemocněním Hyperparathyreóza. Mezi projevy onemocnění řadíme kulhání, při kterém se končetiny střídají v náhodném pořadí, patologické zlomeniny a další (David et al. 1997). S Dle Aguilera-Tejero et al. (2001) se s deficitem můžeme setkat na pravidelné bázi u sportovních koní. Ti mají díky zvýšené zátěži narušenou homeostázu a byly u nich zjištěny snížené hladiny nejen vápníku, ale i hořčíku.

Byla zaznamenána i toxicita vápníku, kterou vyvolalo pozření většího počtu karcinogenních rostlin, kam se řadí například trojštět žlutavý (Mello 2003; NRC 2007).

Bohatým zdrojem vápníku v krmivu je vojtěška ve všech svých zpracování, která má lepší vstřebatelnost obsaženého vápníku v tlustém střevě, jak tomu je u koncentrovaných krmiv (Stadermann et al. 1992). Dalším bohatým zdrojem jsou řepné řízky (Bilal 2009). Většinou kategorií koní stačí pro záchovu příjem vápníku skrz pastvu (Remillard 2023).

3.1.2.2 Fosfor

Fosfor zastává v organismu funkci stavební, energetickou a je součástí nukleových kyselin (NRC 2007).

Dlouhodobý nedostatek fosforu v krmné dávce vede ke ztrátě hmotnosti, slabosti a vývoji chorob pohybového aparátu (Toribio 2011). U rostoucích koní se vlivem deficitu mohou vyskytnout rachitické transformace kostí a u dospělých jedinců osteomalacie (NRC 2007).

Fosfor je obsažený v píce, kde se jeho zastoupení odvíjí od jeho množství v půdě. Zrna obilovin jsou obecně bohatá na fosfor, ale je zde nutné neopomenout fakt, že je u nich obrýcený poměr vápníku k fosforu, než jak koně potřebují (Remillard 2023). Bohatým zdrojem fosforu jsou pšeničné a rýžové otruby (Van Doorn et al. 2004).

3.1.2.3 Sodík

Sodík, hlavní extracelulární iont, hraje klíčovou roli ve správném fungování centrálního nervového systému, vytváření akčních potenciálů v excitabilních tkáních a transportu různých látek, jako je například glukóza (Johnson 1995).

Krmiva běžně krmená koním mají obvykle nízké zastoupení sodíku. Tento obsah většinou koním pro záchovu stačí, ale už není dostatečný pro sportovní koně, kteří jsou vystaveni vyšší fyzické zátěži (Zeyner et al. 2017). Pokud je tedy kůň dlouhodobě vystaven

fyzické námaze bez suplementace sodíku, může dojít k jeho deficitu (Lindner et al. 1983). Důležité je zajistit, aby měl kůň přístup k dostatečnému množství minerální soli, krmné směsi obohacené o chlorid sodný, nebo k minerálnímu doplňku, který obsahuje chlorid sodný, aby se předešlo možným problémům s nedostatkem tohoto minerálu (NRC 2001).

3.1.2.4 Draslík

Draslík, hlavní intracelulární iont, který se podílí na acidobazické rovnováze v organismu a dalších pochodech (NRC 2007).

Obecně krmiva podávaná koním obsahují dostatek draslíku, takže u koní krmených kvalitním senem a čerstvou pastvou se s deficitem nesetkáme. Bohatým zdrojem jsou olejninny, které obsahují až tři krát víc draslíku, jak běžné obiloviny (Coenen 2005). Obvyčejně se tedy s deficitem nesetkáme, ale může k němu dojít díky vnějším vlivům, jako je nadměrná fyzická zátěž. Ta vede stejně jako již u zmíněného sodíku k nadměrnému pocení a ztrátám iontů draslíku (Flaminio & Rush 1998).

3.1.2.5 Hořčík

Hořčík zastává v těle stavební funkci, kde zhruba 60 % tělesných zásob hořčíku je zabudováno v kosterní soustavě a dalších 30 % se nachází ve svalech, kde přispívá ke kontrakci svalových vláken. Hořčík také slouží jako životně důležitý kofaktor enzymů (Briggs 2007).

Případy nedostatku hořčíku ani toxicity u koní konzumujících běžná krmiva jsou vzácné (Briggs 2007). Deficit je možný, pokud by zvíře nepřijímalo dostatek hořčíku v krmivu a bylo vystaveno externím podmínkám, jako je přeprava na extrémně dlouhé vzdálenosti či laktace (Stewart 2011).

Dobrym zdrojem je vojtěškové seno, které podle Stadermann et al. (1992) má zdánlivou stravitelnost vyšší, jak jádrná krmiva. Do krmných směsí je hořčík dodáván ve formě síranu hořečnatého, oxidu hořečnatého, anebo uhličitanu hořečnatého (Coudray et al. 2005; Remillard 2023).

3.1.2.6 Chlór

Chlór je aniont podílící se na acidobazické rovnováze, je součástí trávicího systému v podobě kyseliny chlorovodíkové (NRC 2007).

Chlór se v krmivech váže chemickou vazbou na sodík a tvoří chloridový aniont. Příjem krmné soli lze zajistit volným přístupem k minerálním lizům, nebo přímým přidáváním do krmné směsi v podobě právě chloridu sodného, kde je chlór zastoupen až z 61 %. U ostatních běžných krmných komponentů se setkáme s obsahem chlóru maximálně do 3 % (NRC 1982).

Nedostatek i nadbytek chlóru v organismu koně se běžně nevyskytuje. Deficit je vzácný. Mohl by nastat u koní při extrémní zátěži, kam řadíme vytrvalostní závody na 160 kilometrů. Toxicita se díky schopnosti vylučovat sůl z těla močí objevuje ojediněle, pokud má kůň přístup k dostatku vody (Briggs 2007).

3.1.2.7 Síra

Síra je makroprvek, který je stavební součástí aminokyselin, inzulínu a vitamínu skupiny B, thiamínu a biotinu (NRC 2007).

Koně neumí vstřebat anorganické sloučeniny síry, a tak musí být její zdroje v organické formě v podobě sirných aminokyselin (Briggs 2007). Většinou koním k naplnění potřeb stačí příjem rostlin na pastvě, které bílkoviny obsahují (Finno 2018). Dalšími zdroji v krmivu jsou všechna kvalitní bílkovinná krmiva (NRC 2007).

Deficit síry nebyl u koní zaznamenán, stejně jako její toxicita (NRC 2007).

3.1.2.8 Železo

Železo hraje klíčovou roli ve stavbě hemoglobinu, myoglobinu a cytochromů. Nachází se převážně v krevním hemoglobinu (obsahuje 60 %), svalovém myoglobinu (tvoří 20 %) a také v zásobních formách, jako je feritin a hemosiderin, a transportních formách, jako je transferin (Finno 2018).

S deficitem se za běžných podmínek nesetkáme. Častější je toxicita, kterou způsobí nadměrné zkrmování suplementů s obsahem železa (Finno 2018).

Dobrym zdrojem jsou objemná krmiva a především kvalitní pastva. Pokud mají koně dostatečný přísun čerstvé pastvy, k deficitu u nich nedochází. Je to způsobeno vysokým zastoupením železa v půdě (Lean & Golder 2023). Vysoký obsah železa pak nalezneme v krmivech produkovaných mlýnskou produkcí, jako jsou pšeničné otruby (NRC 2007; Stevenson et al. 2012).

3.1.2.9 Mangan

Mangan je prvek, který se podílí na důležitých pochodech v metabolismu lipidů a sacharidů. Další jeho zastoupení je při syntéze chondroitinu sulfátu, který je nezbytný ke tvorbě chrupavčité tkáně.

Nedostatek manganu může narušit tvorbu epifyzární chrupavky a kostní matrix. U koní zatím nebylo prokázáno, že se deficit manganu podílí na abnormalitách při vývoji kloubních chrupavek (Finno 2018). Toxicita manganu je u koní neznámá, ale obecně se tento minerál řadí mezi ty nejméně toxické (Underwood 1977).

Mezi dostačujícími zdroji se pro koně řadí píče a většina jadrných krmiv (NRC 2007).

3.1.2.10 Kobalt

Kobalt je potřebný stopový prvek nezbytný pro syntézu vitamínu B12 (Genchi et al. 2023). Dále se ve formě kobalaminu podílí na syntéze DNA a červených krvinek (Santos et al. 2023).

S nedostatkem ani toxicitou jsme se u koní nesetkali. Pokud by ovšem potenciálně došlo k deficitu, vedlo by to i k deficitu vitamínu B12 (NRC 2005).

3.1.2.11 Zinek

Zinek je mikronutrient, který se podílí na vývoji kůže, srsti a kopyt koní. Má úzkou spojitost s mědí. Vysoké hladiny zinku v organismu mohou narušit její vstřebatelnost (Burns 2021). Zinek hraje zásadní roli v mnoha biochemických procesech, včetně modulace imunitní odpovědi a neuromodulace na excitačních synapsích v mozku (Sloup et al. 2017).

Nedostatek zinku způsobuje problémy se srstí, jako je hyperkeratóza projevující se šupinami a vypadáváním srsti především v oblasti končetin. Dalším projevem je produkce nadbytku kolagenu (Burns 2021). Deficit se za normálních podmínek nevyskytuje a byl zaznamenán jen při experimentu.

S toxicitou zinku se můžeme setkat u koní pasoucích se na půdě, která byla intoxikována zinkem (Briggs 2007).

Zinek je dostatečně obsažen v píci a též v suplementech v anorganické formě síranu zinečnatého, nebo v podobě organického chlátku zinku (NRC 2007).

3.1.2.12 Jód

Jód je prvek, který se podílí na produkci hormonů štítné žlázy, které mají na starost bazální metabolismus (NRC 2007).

Obsah jódu ve většině krmiv pro koně je nízký a na jeho množství má vliv složení půdy. V důsledku toho by u koní při standardní stravě mohlo potenciálně dojít k nedostatku jódu. Nicméně doplnění jodizované nebo stopové minerální soli v podobě lysu může tomuto deficitu zamezit. Na druhé straně může nadměrný příjem jódu vést k toxicitě, a to buď nadměrnou suplementací jodovanou solí nebo podáváním mořských řas (Wehr et al. 2002; Briggs 2007). Toxicita i deficit mají obdobné projevy, kdy dochází buď k hypothyreóze, anebo k hypertrofii štítné žlázy (Remillard 2023).

3.1.2.13 Selen

Selen je potřebný mikronutrient nezbytný pro funkci mnoha enzymů a proteinů (Davis et al. 2014).

Rozeznáváme dva typy toxicity selenu. Prvním je chronická intoxikace selenem, která se projevuje keratinizací kopyt a srsti koně. Druhým typem je akutní intoxikace při podání velké dávky selenu, která může způsobit ataxii, problémy s dýcháním a dokonce smrt. Vliv na příjem selenu má jeho zastoupení v půdě, které se promítá do nutriční kvality píce (Burns 2021). Dobrým zdrojem selenu z krmiv jsou například pivovarské kvasnice, které jsou bohaté nejen na selen, ale též chrom, fosfor, hořčík a vitaminy skupiny B (Mathias et al. 2015; Olajire 2020). Vzhledem k variabilnímu obsahu v píci se selen přidává do komerčních krmiv, buď v anorganické formě jako seleničitan sodný, anebo v organické formě jako selenomethionin (Remillard 2023).

Ve spojitosti s deficitem je uváděna tzv. nutriční svalová dystrofie, onemocnění bílých svalových vláken. Toto onemocnění se objevuje u hříbat a způsobuje degenerativní změny ve svalových vláknech. Primární příčina je připisována nedostatku selenu, ale též vitamin E byl v těchto případech onemocnění detekován jako přidružený faktor (Valberg 2017).

3.1.2.14 Měď

Měď funguje v těle jako kofaktor pro enzymy, které se podílí na metabolických reakcích, jako je například syntéza kolagenu a melaninu (Burns 2021).

Toxicita vyvolaná mědí se u koní nevyskytuje díky jejich toleranci k vysokým hladinám. Deficit naopak může ojediněle nastat, pokud je kůň chován na pastvě, kde je nedostatek mědi v půdě, nebo jsou v ní přítomny těžké kovy, které narušují následnou stravitelnost jódu (Harris et al. 2006).

Obsah mědi v krmivech je široký (NRC 2007). Mezi dobré zdroje řadíme například slunečnicové semena, luštěniny, oves a vojtěškové seno (Kohnke et al. 1999). Do krmných směsí je přidáván ve formě síranu měďnatého, uhličitanu měďnatého či chloridu měďnatého (NRC 2007; Remillard 2023).

3.1.3 Metabolismus bílkovin

Koňovití si svým vývojem uzpůsobili trávicí trakt na pastvu o nízkém zastoupení proteinu s vysokým podílem vlákniny. V dnešní době je díky uzpůsobení managementu koní člověku krmeno krmivem, které obsahuje pro koně nadbytek bílkovin (Trottie et al. 2016). Obsah dusíkatých látek v čerstvé pastvě se pohybuje v rozsahu 10–50 g na 1 kg sušiny (Martin-Rosset 2015). Hlavní kategorie koní, které mají zvýšené nároky na příjem bílkovin a je tedy nutné jim ho dodávat i v jiné formě než pící, jsou rostoucí koně, laktující klisny a koně ve vysoké tréninkové zátěži (Saastamoinen et al. 2021).

Překrmování proteiny může vést ke zvýšenému příjmu tekutin, spojeného s pocením a zvýšenou exkrecí moči (Connysson et al. 2006).

Trávení bílkovin začíná v žaludku, jelikož se ve slinách nenachází proteolytické enzymy (Das et al. 2023). Pro žaludek je typické kyselé prostředí, které už samo o sobě má schopnost hydrolyzovat určité peptidové vazby. Buňky tvořící žaludeční žlázy uvolňují pepsinogen, neaktivní proteolytický enzym záměrně vylučovaný v neaktivním stavu, aby se chránil před samonatrávením (Groff et al. 2015). Kyselina chlorovodíková ve spojení s pepsinogenem reaguje a dochází k vytvoření aktivní formy enzymu, pepsinu (Bhutia & Ganapathy 2018). Pepsin štěpí především bílkoviny, které mají aromatický postranní řetězec, tedy navázanou aromatickou aminokyselinu, fenylalanin a tyrosin (Das et al. 2023). Řetězce tvořící několik set aminokyselin tak vychází z žaludku naštěpeny na menší fragmenty, tvořící řetězec o velikosti pouhých 25–100 aminokyselin (Groff et al. 2015). Funkce pepsinogenu je prostorově ohraničena pouze na žaludek, jelikož v tenkém střevu už není vhodné pH (Bhutia & Ganapathy 2018). Optimální pH pro funkci pepsinogenu se uvádí 2.0–3.0 (Das et al. 2023).

Po příchodu aminokyselin do tenkého střeva dochází k podráždění receptorů enteroendokrinních buněk, které aktivují sekreci sekretinu a cholecystokininu (CCK). Sekretin reaguje na příchod kyselého tráveniny a vyvolává produkci bikarbonátu (Bhutia & Ganapathy 2018). Cholecystokinin vstupuje do krevního oběhu, dosahuje pankreatických acinárních a myoepiteliálních buněk a spouští uvolňování pankreatických enzymů skrz ductus pancreaticus do duodena. Mezi pankreatické enzymy řadíme trypsinogen, chymotrypsin, proelastázu a prokarboxypeptidázu A a B. Opět jsou tyto enzymy v neaktivní formě, aby se zabránilo autodigesti samotné slinivky a jejího vývodu (Groff et al. 2015).

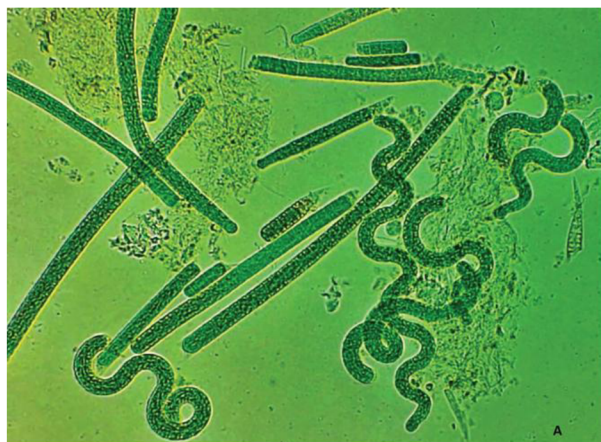
CCK také stimuluje enterocyty k sekreci enterokináz, které aktivují trypsinogen na trypsin. Trypsin následně aktivuje zbylé pankreatické enzymy (Das et al. 2023). Navíc ve formě pozitivní zpětné reakce umí aktivovat a přicházející trypsinogen. Aktivní formy enzymů (trypsin, chymotrypsin, karboxypeptidáza a elastáza) štěpí peptidy mezi specifickými aminokyselinami a tvoří výsledný peptidový řetězec pouze 1–12 aminokyslein (Groff et al. 2015). Jednotlivé aminokyseliny a krátké peptidové řetězce postupují přes kartáčový lem, kde se uchytí na mikrokličích a jsou zde peptidázami rozloženy na řetězce dipeptidů a tripeptidů (MacFarlane 2018). Posledním krokem pro úspěšnou absorpci je překročení apikální membrány vilózních enterocytů. K tomu dochází díky vysoké koncentraci nejen aminokyselin, ale i sodíku, který zajišťují svou sekrecí též enterocyty. Apikální membrána vilózních buněk obsahuje specifické přenašeče, které váží aminokyseliny a ionty sodíku. Ty se pohybují po směru koncentračního gradientu a právě sodík napomáhá přenosu velkých molekul aminokyselin skrz apikální membránu.

Přechod přes bazolaterální membránu erytrocytů zajišťují tentokrát jiní přenašeči, které už fungují bez přítomnosti sodných iontů. Aminokyseliny pak vstupují do extracelulární tekutiny a putují portálním oběhem až do jater. Ionty Na^+ , které doprovázely aminokyseliny přes apikální membránu, jsou čerpány pomocí sodnodraselné pumpy na bazální mebráně do extracelulární tekutiny v poměru 3Na^+ ku 2K^+ . Pro tento proces je třeba dodat energii ve formě ATP. Sodík může být extrahován z krve sekrečními buňkami v kryptě a vrácen do dutiny střeva, kde napomáhá transportu dalších aminokyselin (Groff et al. 2015).

3.2 Arthrospira platensis

Spirulina, mikrořasa známá vědecky jako Arthrospira platensis, se řadí mezi sinice třídy Cyanophyceae, řádu Oscillatoriaceae. Christwardana et al. (2013) uvedl, že existuje až 58 druhů spadající do této skupiny řas, ale jen několik málo druhů je využíváno. Mezi komerčně využívané patří kromě naší sledované *Spirulina platensis* ještě *Spirulina fusiforme* a *Spirulina maxima*.

Jak již z názvu vyplývá, řasa tvoří spirálovitě strukturovaná vlákna o délce 200–300 μm a šířce 5–10 μm (Lupatini et al. 2017).



Obrázek 1. Mikroskopický pohled na mikrořasy *Spirulina platensis*. Převzato a upraveno (Seyidoglu et al. 2017).

Mezi její specifika se řadí její odolnost vůči alkalickému prostředí a nenáročnost ke kultivaci (Lupatini et al. 2017). Ta je dána schopností růstu jak ve slané, tak i sladké vodě (El-Shall et al. 2023). Přesné biochemické složení spiruliny může kolísat v závislosti na jejím růstovém prostředí, zejména v reakci na slanost kultivačního média. Zatímco spirulina obvykle prospívá ve sladkovodním prostředí s neutrálním pH 7, může také prosperovat ve vysoce zásaditých podmínkách v rozmezí od pH 9 do 11, které se běžně vyskytují v tropických a subtropických oblastech (Ciferri 1983; Ayala & Bravo 1982). Dle Vonshak et al. (1997) vykazují buňky spiruliny adaptované na slané prostředí změny v živinovém složení. Charakteristický byl pokles hladiny proteinů a chlorofylu spolu se zvýšeným obsahem sacharidů. Kromě toho existují rozdíly mezi řasami kultivovanými v laboratorních podmínkách a řasami získanými z přirozeného prostředí, nebo ze systémů kultury biomasy využívajících různé odpadní vody ze zemědělství. Volkmann et al. (2008) testovali pěstování řasy ve třech různých kultivačních médiích a to kontrolním, slaném a za použití odpadní desalinované vody, která vykazovala větší růst a koncentraci buněk řasy. Celkově řasy pěstované v odpadní destilované vodě obsahovaly větší obsah bílkovin, ale jejich aminokyselinové složení vykazovalo snížený obsah esenciálních aminokyselin lyzinu a tryptofanu.

Skupina modrozelených řas, kam se spirulina řadí, nabývá na své oblibě a využití nejen ve výživě lidí, ale i zvířat. Tyto řasy jsou považována za superpotravinu díky svému bohatému nutričnímu složení, které je bohaté především na bílkoviny, vitaminy, minerální látky (Farag et al. 2016). Hlavními producenty spiruliny jsou Austrálie, Spojené státy americké, Japonsko, Nový Zéland a Indie (Al-Dhabi 2013). Pěstuje se buď v otevřených či uzavřených bioreaktorech a je k tomu prakticky potřeba jen voda, oxid uhličitý a světlo (Shams et al. 2017).

Spirulina krom svého bohatého nutričního zastoupení zaujala i dalšími vlastnostmi. Mezi ty řadíme schopnost fixace uhlíku, dusíku a absorpci těžkých kovů. Právě těchto jejích schopností by se dalo v budoucnu využít v oblastech ochrany životního prostředí a snížení uhlíkové stopy a v oblasti obnovitelných zdrojů energie (Jiang et al. 2023; Palaniuthu et al. 2023; Sánchez-Quintero et al. 2023).

3.2.1 Nutriční složení spiruliny

Arthrospira platensis je bohatá na esenciální nenasycené mastné kyseliny a to především ty polynenasycené, které tvoří až 2 % z celkových 5–6 % obsaženého tuku. Nejvíce zastoupenou je kyselina gama-linolenová a kyselina linolová (Jung et al. 2019). Dle Draaisma et al. (2013) je jejich obsah v spiruline ve srovnání s jejich zastoupením v sójovém a řepkovém oleji mnohem větší. Dále jsou ve významném množství přítomny kyselina dokosaheptaenová (DHA) a kyselina eikosapentaenová (EPA) (Buckley et al. 2017).

Dolganyuk et al. (2020) říkají, že spirulina je jediný autotrofní organismus bohatý právě na kyselinu gama-linolenovou, která může mít pozitivní účinky na hladiny krevního tlaku, dále může snižovat hladiny cholesterolu v krvi či předcházet arteroskleróze.

Sacharidy zaujímají zhruba 15 % z celkové sušiny řasy a nejvíce jsou zastoupeny polysacharidy. Mezi nejvíce obsažené monomery pak patří glukóza, galaktóza, manóza a ribóza (Plaza 2009). Nízký obsah sacharidů je významným pozitivním faktorem při

zařazování spiruliny do krmné dávky (Yaakob et al. 2014). Je to značná výhoda spiruliny, protože sportovní koně mají díky své vysoké fyzické zátěži zvýšené nároky na energii v krmivu a jsou často krmeni krmivem s výrazným zastoupením škrobů a dalších sacharidů. Takto energetická krmiva ovšem mohou způsobovat i zdravotní problémy, jako jsou žaludeční vředy a koliky (Georg & Harris 2007). Spirulina tak doplňuje nutričně důležité látky bez toho, aby výrazně zasahovala do zastoupení sacharidů v krmné dávce (Yaakob et al. 2014).

Poslední významnou skupinou jsou obsažené fotosyntetické pigmenty, mezi které řadíme skupinu karotenoidů a chlorofylů (Maoka 2011; El-Shall et al. 2023). Konkrétními zástupci je chlorofyl a, xantofyl, beta-karoten, echinenon, zeaxantin a další (Jung et al. 2019).

Nejen, že má tedy zastoupeny všechny důležité živiny, ale byla vyzkoušena i dobrá stravitelnost těchto živin, ve srovnání s jinými rostlinnými krmivem (Alvarenga et al. 2011). Výbornou stravitelnost podporuje fakt, že spirulina neobsahuje buňky celulózy. Obal buněk je tvořen pouze křehkým peptidoglykenem mureinem (Falquet 1997).

3.2.2 Spirulina jako zdroj bílkovin

Spirulina je prezentována jako významný zdroj proteinu. V konkrétním čísle se mnoho zdrojů liší, ale obvykle je udáváno zastoupení proteinu v rozmezí 55–70 % v sušině (Lafaga et al. 2021). Dle Danesi et al. (2002) dosahuje hodnot 70 % v případě dostatečného obsahu dusíku ve vnějším prostředí. K porovnání například sója, která se řadí mezi nejlepší bílkovinný zdroj mezi rostlinnými krmivem, obsahuje pouhých 35 % proteinu v sušině a běžné obiloviny pouze 8–10 %.

Oproti bílkovinnému standardu, vaječné bílkovině a mléčnému kaseinu, obsahuje spirulina méně methioninu, lyzinu a cysteinu. Pokud bychom srovnali tento obsah například k jetelovinám, tak má spirulina tyto aminokyseliny zastoupeny ve větším množství a je tedy lepším zdrojem proteinu, než například vojtěška (Habib et al. 2008). Právě takto kvalitní složení obsažených bílkovin vede k úvahám, zda by se nemohla spirulina stát alternativním zdrojem proteinu namísto sójové extrahovaného šrotu (Deepika et al. 2021).

Nejen tedy vysoký podíl proteinu, ale především zastoupení všechny esenciálních aminokyselin, dělá s této mikrořasou superpotravinou dneška i budoucnosti (Menegotoo et al. 2019). Dle autorů de Medeiros et al. (2021) je zastoupení proteinu významnější, než je tomu ve vepřovém či hovězím masu. Jiní autoři jako Lupatini et al. (2017) pak udávají, že je kvalita proteinu shodná s kvalitou vajec, masa i mléka.

Protein zastoupený ve spirulině je především ve formě fykobiliproteinu. Jedná se o skupinu fotosyntetických pigmentů, mezi které spadá fykocyanin, allofykocyanin a fykoerythrin (Maddiboyina et al. 2023). Tyto proteiny hrají klíčovou roli v různých biologických procesech a získaly značnou pozornost kvůli jejich potenciálním zdravotním přínosům (Chang & Liu 2023).

Vědci se soustředí na extrakce proteinů ze spiruliny a zaznamenali významný pokrok, ačkoli problémy jako nízká efektivita produkce a vysoká spotřeba energie přetrvávají. Studie zkoumaly techniky, jako je přidání cysteinu ke zvýšení tepelné stability během extrakce pomocí protézy Collupulinu, přičemž zlepšení přisuzují schopnosti cysteinu stabilizovat thiolové skupiny (Lee et al. 2022). Procesu extrakce čistého proteinu ze spiruliny je věnována

taková snaha z toho důvodu, že čisté peptidy, získané enzymatickou hydrolýzou, mají vyšší nutriční hodnotu a lépe se dále zpracovávají (Donadio et al. 2021).

3.2.3 Spirulina jako bohatý zdroj minerálních látek a vitaminů

Řasa spirulina je bohatá na vitaminy, především skupiny B. Dále je zde obsažen vysoký podíl beta-karotenů, prekurzory vitamínu A a vitamínu E, které mají důležité antioxidační vlastnosti (Kulshreshtha et al. 2008; Habib et al. 2008).

Spirulina je též ceněna pro své bohaté minerální složení (Carcea et al. 2015). Zastoupeny jsou v ní zejména všechny stopové prvky (Kulshreshtha et al. 2008). Výrazné zastoupení má především draslík a dále pak vápník, chrom, měď, fosfor, železo, mangan, hořčík, selen, sodík a zinek (Jung et al. 2019).

β -karoteny, vitaminy skupiny B, vitamin E, železo, draslík a chlorofyl se společně podílí na správném fungování metabolických procesů sacharidů, tuků, bílkovin a také alkoholů. Tyto živiny navíc podporují reprodukci kůže, svalů a sliznic (Habib et al. 2008).

Tabulka 1. Souhrn chemického a nutričního složení *Spiruliny platensis*. Převzato a upraveno (Holman & Malau-Aduli 2012).

SLOŽKA	OBSAH V MG/KG
Vápník	1200
Hořčík	3300
Fosfor	13000
Draslík	26000
Sodík	22000
Karotenoidy	1700
Vitamin B1	34–50
Vitamin B2	30–46
Vitamin B3	130–150
Vitamin B6	5–8
Vitamin B12	1,5–2,0
Foliat	0,50

3.2.4 Další pozitivní vlastnosti spiruliny

Velký zájem o spirulinu vyústil v provedení mnoha pokusných studií, které se shodují na tom, že má průkazné antioxidační, antibakteriální a protizánětlivé účinky (Bortolini et al. 2022).

Polyfenolické sloučeniny spiruliny mají antibakteriální vlastnosti. Extrakty z ní mohou bránit bakteriální motilitě, invazi a tvorbě biofilmu a zároveň narušovat bakteriální buněčné stěny, což vede k úniku jejich cytoplazmatického obsahu (El-Shall et al. 2023). Ozdemir et al. (2004) již dříve prokázali převahu právě metanolových extraktů ze spiruliny nad jinými těkavými látkami z hlediska bakteriální inhibice. Kromě toho se antibakteriální účinnost

těchto extraktů liší v závislosti na jejich složení. Extrakty, které tvoří sloučeniny s lipidy a triterpenoidy, prokázaly výraznější antibakteriální aktivitu oproti těm, kteří tvořili skupiny se steroly (Chang & Liu 2023).

Muthusamy et al. (2017) zjistili, že sloučeniny spiruliny s nanočásticemi stříbra vykazovaly inhibiční vlastnosti. Kromě toho kombinace *A. platensis* a nanočástic stříbra vykazovala významnou inhibiční činnost vůči bakteriím rodu *Staphylococcus* sp. a *Klebsiella* sp.. Kromě toho výzkum ukazuje, že sloučeniny jako fykocyanin, polyfenoly a kyselina γ -linolenová přítomné v *Arthrospira platensis* mají inhibiční účinky vůči bakteriím *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* a *Aspergillus flavus* (Metekia et al., 2021).

Kromě antibakteriálních účinků spirulina vykazuje i antivirové účinky proti několika běžným lidským a zvířecím virům. Spirulan, polysacharid bohatý na vápník, obsažený ve spirulině přispívá k její antivirové aktivitě tím, že inhibuje vstup viru do hostitelských buněk a zároveň stimuluje produkci oxidu dusnatého v makrofázích a zvyšuje tvorbu cytokinů (El-Shall et al. 2023).

Spirulina byla testována i v boji proti sezónním alergiím na lidech. Výzkum prokázal sníženou produkci histaminu z mastocytů, efektorových buněk imunitního systému (Kim et al. 1998; Mao et al. 2005). Aktivní složkou, která tuto funkci podmiňuje, je barvivo c-fykocyanin. Díky své chemické skladbě vykazuje tento pigment i antioxidační vlastnosti, které se mohou podílet na jejich protizánětlivým vlastnostem (Upasani & Balaraman 2003).

3.2.5 Aktuální zastoupení spiruliny ve výživě zvířat

Pokusy, zařazující spirulinu do výživy zvířat, byly prováděny prozatím pouze na některých hospodářských druzích, jako je drůbež, prasata, skot a králíci.

U koní proběhla studie, kde se Nawrocka et al. (2017) soustředili na vliv zkrmování spiruliny u koní s metabolickou poruchou. Jejich získaná data prokázala, že podávání extraktu spiruliny účinně potlačuje zánětlivé reakce vyvolané v makrofázích a dále jejich pokus in vivo ukázal, že u koní krměných spirulinou došlo k poklesu živé hmotnosti a zlepšila se jejich citlivost na inzulín.

S využitím spiruliny se v budoucnu počítá ve výživě drůbeže, kde dochází k nárůstu rezistence léčiv a vlastní imunity jedinců vůči patogenům jak bakteriálních, tak virových původů (El-Shall et al. 2023). Proběhla celá řada studií, které zkoumaly dopad nahrazení různých složek v krmných směcích pro kuřata řasou spirulinou (Holman & Malau-Aduli 2012). Obohacením krmiva pro kuře o spirulinu může pozitivně ovlivnit střevní mikroflóru, biochemické parametry v krevním séru a růstovou výkonnost (El-Shall et al. 2023). Například zatímco nahrazení sójové moučky spirulinou vedlo ke snížení rychlosti růstu, při nahrazení za rybí moučku nebyly zpozorovány významné změny (Ross & Dominy 1990; Venkatarman et al. 1994). Z toho nám tedy vychází, že spirulina v krmivu může mít vliv na intenzitu růstu kuřat, ale je to podmíněno tím, jaké krmivo ve směsi nahrazuje (Holman & Malau-Aduli 2012). Islam et al. (2021) provedli pokus na drůbeži, který se zabýval náhradou premixu s mikronutrienty za spirulinu. Následně se sledovaly růstové parametry kuřecích brojlerů a výsledky ukázaly, že by opravdu šlo spirulinou nahradit vitamino-minerální premix, aniž by došlo k ovlivnění růstu jedinců.

3.2.6 Zastoupení bílkovin v krmivech pro koně

Primárním zdrojem proteinu ve výživě koní je čerstvá pastva a seno. Tento příjem může být pro některé kategorie dostačující, ale určití jedinci mají zvýšené nároky vlivem březosti, růstu a vysoké zátěže.

Zastoupení proteinu v objemné píce je variabilní, což je ovlivněno několika faktory, mezi které se řadí druh rostliny, její jednotlivé části, její stáří a všeobecné podmínky prostředí (Whitman et al. 1951; Collins 1988). Zastoupení proteinu je větší v listech, než ve stoncích (Collins 1988). U rostlin v pokročilé fázi růstu zaznamenáváme pokles obsahu proteinu a nárůst obsahu vlákniny (Green et al. 1971). Z toho tedy vyplývá, že častá seč, anebo pastva na jednom místě poskytuje zvířeti více proteinu, než starý porost. Je to způsobeno tím, že rostlina je neustále zkracována a udržována v mladší fázi růstu (Burton & Hanna 1995). Mezi hlavní vlivy prostředí, které urychlují přirozený růst rostlin, a tedy snižují obsah proteinu, je sluneční svit a vysoké teploty. Ty způsobují rychlejší růst stonků, které zvyšují svoje kvantitativní zastoupení oproti listům (Van Soest et al. 1978). Dle NRC (2007) je obsah hrubého proteinu v travním senu v optimální seči 13,3 % v sušině a například u jetelotravního sena v optimální fázi je to 18,4 % v sušině.

Pro navýšení proteinu v krmné dávce se přistupuje k jaderným krmivům a dalším supelementům. Zde se hledí nejen na zastoupení proteinu, ale hlavně na aminokyselinové složení. Obiloviny se neřadí mezi významné bílkovinné zdroje a obvykle se obsah pohybuje kolem 10–15 % (NRC, 2007). Hlavními bílkovinnými složkami krmiv jsou řepkový extrahovaný šrot, sladový květ, sójový extrahovaný šrot (Reitnour & Salsbury 1976).

3.3 Analýza krevních parametrů

Posouzení nutričního stavu koně z rozboru krve zahrnuje níže zmíněné parametry.

3.3.1 Celkový protein

Celkový protein je označení pro souhrn všech proteinů krevní plazmy a intersticiální tekutiny. Jeho hodnota v krevním séru se zjišťuje pomocí metody zvané refraktometrie. Přesnost tohoto testu ovšem mohou narušit jiné látky přítomné v séru, jako jsou lipoproteiny, cholesterol či glukóza (Allison 2022).

Snížené i zvýšené hladiny celkového proteinu v krevním séru zvířat jsou běžné abnormality. Jsou způsobeny změnou koncentrace albuminu a globulinu. Správná interpretace příčiny změny těchto hodnot je tedy závislá na učení té proteinové složky séra, jejíž hodnota je abnormální. Je důležité si uvědomit, že ne vždy změnit hladin globulinu a albuminu vedou ke změnám v celkové koncentraci proteinu (Thrall et al. 2022).

3.3.2 Albumin

Albumin, významná složka plazmatických proteinů, který je syntetizován v játrech a tvoří jich přibližně 35–50 % (Eckersall 2008). Hraje klíčovou roli při udržování koloidního osmotického tlaku a slouží jako nosič pro různé látky včetně hormonů, mastných kyselin, kovových iontů a farmaceutických produktů. Jeho produkce je regulována faktory, jako je koloidní osmotický tlak a hormony, jako je inzulín, tyroxin a kortizol.

Produkce albuminu je regulována faktory, jako je koloidní osmotický tlak a hormony, jako je inzulin, tyroxin a kortizol (Aldred & Schreiber 1993).

Poločas rozpadu albuminu se u jednotlivých druhů liší, u koní se uvádí 19,4 dne (Walton et al. 2020). K měření hladin albuminu se běžně používá několik testů fungujících na principu navázání barviv, jako jsou indikátory bromokresolová zeleň a bromokresolová fialová. Tato barviva se vážou na albumin, mění jeho absorbanci a umožňují měření pomocí spektrofotometru. Zatímco metody vázání barviv jsou přesné v rámci referenčního intervalu albuminu, jejich přesnost se snižuje, když jsou hladiny albuminu extrémně nízké nebo vysoké (Eckersall 2008). Interpretace hladin albuminu často zahrnuje také hodnocení hladin globulinů (Walton et al. 2020).

Hypoalbuminemie může nastat vlivem mnoha faktorů a jedním z nich je snížená střevní absorpce či špatné trávení aminokyselin. To může způsobovat neadekvátní rozkladný proces proteinu v trávicí soustavě pankreatickými šťávami (Thrall et al. 2022).

3.3.3 Globulin

Globuliny zahrnují rozmanitou škálu proteinů, které mohou být segregovány do odlišných frakcí pomocí proteinové elektroforézy, včetně alfa-1, alfa-2, beta-1, beta-2 a gama. Alfa- a beta-globuliny, primárně syntetizované játry, se skládají z proteinů akutní fáze (APP) a určitých imunoglobulinů (např. IgM a IgA), které mohou přesahovat gama-globulinovou frakci. Frakce gama-globulinu obsahuje převážně imunoglobuliny produkované B-lymfocyty a plazmatickými buňkami.

Odhad globulinové frakce typicky zahrnuje měření celkového sérového proteinu a odečtení koncentrace albuminu. K rozdělení globulinové frakce a stanovení procenta každé frakce se pak použijí elektroforetické techniky (Walton et al. 2020).

S hypoglobulinemií se můžeme setkat u koní, kteří mají trávicí trakt napadený velkým počtem parazitů. Dále snížená hladina globulinu může značit onemocnění Enteropatie se ztrátou proteinů (Thrall et al. 2022).

3.3.4 Močovina

Močovina je hlavní dusíkatou sloučeninou nebílkovinné povahy v krevním séru (Devlin 2007). V krevním séru slouží jako indikátor k hodnocení funkce ledvin a to zejména glomerulární filtrace. Pokud dojde ke zvýšení močoviny v krvi, značí to sníženou funkci ledvin, kterou může vyvolávat řada onemocnění (Hokamp & Nabity 2016). Dalším důvodem zvýšené hladiny močoviny v krvi je nadměrný příjem bílkovin a jejich katabolismus v organismu. Mírné zvýšení močoviny může být pozorováno v souvislosti s katabolismem proteinů s hladověním nebo ve spojení s dlouhodobou zátěží (Schott 2004). Snížení hladiny močoviny může nastat při dietě chudé na bílkoviny nebo při selhání jater (Walton et al. 2020).

3.3.5 Triglyceridy

Cirkulující triglyceridy se nacházejí v lipoproteinech produkovaných játry nebo střevními enterocyty.

Většina testů na sérové triglyceridy zahrnuje reakci s lipázou za uvolnění glycerolu, který se pak měří spektrofotometricky. Vzorky nalačno jsou preferovány pro měření

triglyceridů, přičemž výsledky jsou obvykle uváděny v mg/dl (Rifai et al. 2001). Lipémie, charakterizovaná mlhavým nebo neprůhledným vzhledem v séru nebo plazmě, je způsobena zvýšenými koncentracemi lipoproteinů bohatých na triglyceridy. Koncentrace triglyceridů přesahující 500 mg/dl se u koní nemusí vždy projevit jako lipémie, což zdůrazňuje důležitost pečlivé interpretace (Dunkel & McKenzie 2003).

Hyperinzulinémie podporuje tvorbu triglyceridů.

3.3.6 Cholesterol

Měření cholesterolu zahrnuje hodnocení hladin celkového cholesterolu primárně z lipoproteinů LDL a HDL bohatých na cholesterol. Cholesterol může být syntetizován v játrech nebo absorbován z potravinových zdrojů ve střevě. Stabilita koncentrace cholesterolu je udržována za různých podmínek skladování. Techniky měření typicky zahrnují hydrolýzu esterů cholesterolu následovanou spektrofotometrickou analýzou. Hladiny cholesterolu mohou být hodnoceny jak ve vzorcích nalačno, tak ve vzorcích bez lačnění (Walton et al. 2020).

3.3.7 ALT, AST a GMT

Alaninaminotranferáza (ALT), asparátaminotranferáza (AST) a gama-glutamyltranferáza (GMT) se řadí mezi hepatocelulární enzymy.

Různé typy jaterních patologií mají za následek odlišné vzorce změn v hladinách těchto enzymů. Akutní, těžké hepatocelulární poškození vede zpočátku k vysokým hladinám hepatocelulárních enzymů, přičemž hodnoty GMT se postupně zvyšují v průběhu dnů a přetrvávají i poté, co se hladiny hepatocelulárních enzymů po zotavení vrátí k normálu. Přetrvávající poškození se typicky projevuje jako minimální až mírné změny v hepatocelulárních i hepatobiliárních enzymech, což vyžaduje další diagnostiku k určení základní příčiny. Stavů převážně způsobujících cholestázu jsou charakterizovány zvýšenými hladinami GMT s mírným zvýšením hepatocelulárních enzymů, které se vyvíjejí během dnů až týdnů. Závažná jaterní patologie, ať už akutní nebo chronická, pravděpodobně ovlivní jeden nebo více jaterních testů (Walton et al. 2020).

AST (asparátaminotranferáza) slouží jako důležitý biomarker při diagnostice různých typů hepatotoxicity u koní. V případech hepatocelulární nekrózy vyvolané toxickými látkami, jako jsou mykotoxiny nebo rostlinné metabolity, které se nacházejí také v jeteli a trávě, se mohou hladiny AST významně zvýšit. Kromě toho se hladiny AST mohou zvýšit u stavů, jako je toxikóza železem, kde dochází k akutní hepatotoxicitě s masivní periacinární nekrózou. Toto zvýšení hladin AST často doprovází další chemické změny v séru, jako je zvýšení SDH (sorbitoldehydrogenáza) nebo GLDH (glutamátdehydrogenáza), odrážející akutní hepatocelulární nekrózu. Proto AST hraje klíčovou roli při identifikaci poškození jater u koní vystavených různým hepatotoxickým látkám (Walton et al. 2020).

ALT (alaninaminotranferáza) je enzym, který katalyzuje reverzibilní transaminaci mezi L-alaninem a 2-oxoglutarátem za vzniku pyruvátu a glutamátu, což vyžaduje pyridoxalfosfát (PP) jako kofaktor. U koní existuje významná část sérové ALT v neaktivní formě, známé jako apoenzym, která není vázána na kofaktor PP. To může vést

k podhodnocení celkové aktivity ALT v séru, pokud není do vzorku přidán PP (Adams & Mayhew 1985).

ALT je přítomna jak v cytoplazmě, tak v mitochondriích, přičemž mitochondriální forma je méně hojná. Nachází se v různých orgánech koní, včetně svalů a jater (Pellegrini-Masini & Livesey 2006; Murphy et al. 2006). Ačkoli je ALT u koní považován specifický enzym pro svalovou tkáň, protože jeho aktivita v játrech je malá a nepřispívá tak významně k jeho hladině v krevním séru, často chybí v biochemických profilech velkých zvířat, pravděpodobně kvůli větší závislosti na jiných markerech, jako je kreatinkináza (CK) a aspartátaminotransferáza (AST) při hodnocení svalového poranění. Hemolýza v koňském séru může také vést ke zvýšení hladin ALT v důsledku jak spektrální interference, tak přidání ALT z erytrocytů (Draft et al. 2002; Yeargan et al. 2015).

3.3.8 Minerální látky

Vápník (Ca) hraje v těle klíčovou roli jako elektrolyt, regulovaný různými hormony včetně kalcitoninu, vitamínu D a parathormonu (PTH). Měření koncentrace vápníku může být provedeno jako celkový vápník (tCa) nebo ionizovaný vápník (iCa), přičemž ionizovaný vápník (iCa) je fyziologicky relevantní a hormonálně kontrolovaný (Walton et al. 2020). Hyperkalcémie, charakterizovaná zvýšenými hladinami vápníku, se může objevit v důsledku chronického selhání ledvin, neoplastických procesů, toxikózy vitamínu D nebo primární hyperparatyreózy (LeRoy et al. 2011). Na druhé straně hypokalcémie, charakterizovaná nízkou hladinou vápníku, může být způsobena hypoalbuminemií, endotoxemií, kolikou, sepsí, těžkým cvičením, kantardinovou toxicitou, rhabdomyolýzou, pankreatitidou, oxalátovou toxicitou nebo primární hypoparatyreózou. Iatrogenní hypokalcémie se může také objevit v důsledku určitých léků, jako je furosemid nebo tetracykliny. Pochopení příčin a důsledků nerovnováhy vápníku je nezbytné pro diagnostiku a zvládnutí různých fyziologických a patologických stavů u koní (Toribio 2004).

Fosfor je tradičně zjišťována společně s hlavinou vápníku. Jeho koncentrace v krevním séru je ovlivňována gastrointestinální a renální absorpcí, dále vitamínem D a parathormonem. Vitamin D zvyšuje vstřebávání vápníku a fosforu ve střevech a ledvinách, zatímco parathormon podporuje reabsorpci vápníku v ledvinách, ale zvyšuje vylučování fosforu (Shaikh et al. 2008). Fosfor se primárně nachází v buňkách a může se rychle pohybovat mezi intracelulárními a extracelulárními kompartmenty. V důsledku toho, na rozdíl od vápníku, jsou kolísání hladiny fosforu v séru často ovlivněno faktory, jako je strava, věk (vyšší u hříbat), fyziologický stav, hladiny inzulínu/glukózy, energetický metabolismus a manipulace se vzorky (Toribio 2011). Hyperfosfatemie může být důsledkem stavů, jako je akutní selhání ledvin, toxicita vitamínu D a primární hypoparatyreóza. Poškození tkání v důsledku událostí, jako je rhabdomyolýza, akutní rozpad nádoru, střevní nekróza nebo hemolýza, může vést k uvolnění intracelulárního fosforu, což způsobuje hyperfosfatemii (Walton et al. 2020). Nadměrný příjem fosforu v potravě nebo nevyvážený poměr fosforu k vápníku může vést k nutričnímu sekundárnímu hyperparatyreoidismu, kdy se tělo snaží udržet normální hladiny vápníku, přičemž hyperfosfatemie nastává. Naopak hypofosfatemie je běžně spojena s chronickým selháním ledvin a hyperkalcemií (Toribio 2011).

Zinek a jeho zastoupení v krevní plazmě je ne vždy přesným diagnostickým ukazatelem. I při zvýšeném příjmu zinku krmivem mohou hladiny zůstat v referenční hodnotě (Geor et al. 2013). Navíc v plazmě je obsaženo pouhých 10–23 % celkového zinku v těle (Finno 2018) Snížená hladina může značit chronický zánět či urémii (Geor et al. 2013).

Měď v obsažená v krevní plazmě není vždy spolehlivým ukazatel, protože může zůstat nezměněna i při nadměrném příjmu mědi krmivem. Zvýšené či snížené hladiny nemusí souviset jen s příjmem krmiva, ale má na to vliv zánět v těle a různá zranění. Březí klisny a hřebci typicky vykazují zvýšené hodnoty plazmatické mědi (Geor et al. 2013).

Hořčík se nachází v krevní plazmě v podobě kationtu a to jako ionizovaný, vázaný na proteiny, nebo vázaný v komplexních sloučeninách. Fyziologicky podstatná je ionizovaná forma, kterou ovlivňuje množství albuminu a komplexních iontů v krevním oběhu a celkové pH. Zatímco většina hořčíku je intracelulární, jeho koncentrace v extracelulární tekutině nemusí přesně odrážet obsah těla, zejména za podmínek, jako je hemolýza. Hořčík se vstřebává z gastrointestinálního traktu a primárně se vylučuje ledvinami, s menším vylučováním z jiných cest, jako je trávicí trakt, mléčná žláza a pot. Hypomagnezémie, charakterizovaná nízkými hladinami Mg, může ovlivnit produkci a sekreci parathormonu, což potenciálně vede k hypokalcémii a hypokalémii kvůli jeho roli ve fungování sondrodraselné pumpy (Stewart 2011). Mezi příčiny hypomagnezémie patří laktace, transport na dlouhé vzdálenosti se sníženým příjmem, nadměrné pocení, endotoxémie, sepse, kantardinová toxicita a gastrointestinální poruchy. Na druhé straně hypermagnezémie, vyznačující se vysokými hladinami hořčíku, se běžně vyskytuje v důsledku předávkování suplementy, selhání ledvin, vážného poškození tkáně spojeného se stavu, jako je rhabdomyolýza nebo syndrom akutního rozpadu nádoru, a požití látek, jako jsou Epsomské soli (Walton et al. 2020).

3.3.9 Vitaminy

Hladina vitamínu A je v krvi povětšinou konstantní díky jeho ukládání v játrech, takže náhlé změny ve výživě obvykle nevedou k narušení hladiny vitamínu A v plazmě koní. Ke změnám hladiny vitamínu dochází, pokud dojde ke změně koncentrace proteinu vázajícího vitamín A. Jeho hladina se mění v závislosti na jeho syntéze v játrech a příjmem proteinu krmivem (Finno 2018).

Beta-karoteny jsou prekurzori vitamínu A, které jsou zastoupeny především v čerstvé pastvě. Koně, kteří mají dostatečný přístup ke krmivům obsahující beta-karoteny, mívají jeho zastoupení v krevní plazmě u horní hranice.

Vitamin E se může vyskytovat v osmi izomerech a jeho zastoupení v krevním séru odráží přesný obsah toho, kolik ho organismus obsahuje (Geor et al. 2013).

4 Metodika

Experimentální část této studie byla provedena v experimentální stáji farmy Netluky, která spadá pod Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha Uhřetěves.

Pokus byl schválen Etickou komisí zvířat tohoto ústavu a veškeré zacházení s pokusnými jedinci bylo v souladu nejen s českou legislativou (zákon č. 246/1992 Sb., o ochraně zvířat proti týrání), ale i v souladu s platnou evropskou směrnicí 2010/63/EU, o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely.

4.1 Design experimentu

Do pokusu bylo zařazeno celkem osm dospělých koní plemene Český teplokrevník. Tito jedinci byli rozčleněni do dvou skupin na základě pohlaví a jejich živé hmotnosti tak, aby byly obě skupiny vyrovnané. Před začátkem experimentu byli všichni koně odčerveni pastou Equiverm značky Bioveta, a tak byli považováni za parazitů prosté. Během experimentu byli ustájeni v individuálních boxech o velikosti 12 m², ve kterých jim byl umožněn neomezený přístup k vodě formou automatických napáječek. Dále měli volný přístup k minerálnímu lizu obsahující chlorid sodný. Během adaptační fáze jim byl umožněn pobyt ve venkovním výběhu bez přístupu na pastvu a to minimálně po dobu čtyř hodin denně. Dále byli v období odběru vzorků voděni krokem 30 minut denně.

Celková délka experimentu byla 42 dnů (2 x 16 dní + 10 dní odpočinku mezi obdobími) a byla provedena v designu change-over. V prvním období se jedné skupině podávala kontrolní krmná dávka a té druhé pokusná krmná dávka (se spirulinou) a v druhém pokusném období se krmné dávky těmto skupinám prohodí. Mezi tato dvě pokusná období se zařadilo 10 dní odpočinku, kdy obě skupiny přijímaly kontrolní krmnou dávku.

4.2 Dieta

Krmné dávky byly rozděleny na kontrolní (K) a pokusnou (S). Kontrolní krmná dávka (poměr objemu a jádra byla 75:25 v sušině) byla složena ze sena, ječného šrotu a sójového extrahovaného šrotu v průměru 225 g na koně na den. Přesné složení krmné dávky bylo stanoveno na základě živé hmotnosti, která se zjistila zvážením koní, a analýzy konkrétních živin v krmivu. V pokusné krmné dávce byl sójový extrahovaný šrot nahrazen řasou spirulinou a to tím způsobem, aby se jak kontrolní, tak pokusná krmná dávka shodovaly v hodnotě hrubého proteinu (isonitrogenní dieta). Průměrný příjem spiruliny na koně a den byl 141 g (spirulina obsahovala 1,6x více hrubého proteinu). Krmná dávka byla vždy rozdělena na polovinu a jedna byla podávána ráno a druhá odpoledne.

4.3 Odběr a analýza krevních vzorků

Na konci obou testovacích období, tedy 16. den každé periody, byly koním na lačno před ranním krmením odebrány krevní vzorky z jugulární žíly do jednotlivých zkumavek o objemu 10 ml. Následně byly stanovovány tyto parametry – celková antioxidační kapacita, glukóza, insulin, triacylglycero, cholesterol, vitamin A, D, E, albuminy a globuliny, celkový protein, urea, kortizol, ALT, AST, GMT, T3, T4, Ca, P, Na, K, Mg, Zn, Cu.

Glykemická hladina v krevním séru byla stanovena ihned pomocí přenosného ručního glukometru (Freestyle Optium Neo, Abbott Diabetes Care Inc., Alameda, CA, USA).

Zkumavky s krevním sérem byly zanechány při pokojové teplotě do doby, než se vytvořila krevní sraženina a následně byly vloženy do centrifugy o síle 1200 g na 20 minut. Po centrifugaci bylo sérum uchováno při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do vlastní analýzy, která byla provedena certifikovanou klinickou laboratoří Veterinární univerzity Brno (ČR). V této laboratoři proběhlo stanovení celkového proteinu, albuminu, močoviny, triglyceridů, cholesterolu, hladiny fosforu, ALT, AST a GMT pomocí komerčních kitů (BioVendor Brno, ČR).

Sérové hladiny vápníku, hořčíku, sodíku, zinku a mědi byly stanoveny pomocí atomového absorpčního spektrometru (HG AAS, Solaar M6, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Sestava vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC; Ultimate 3000, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) byla použita k analýze vitamínu A a vitamínu E v krevním séru. Vzorky séra určené pro stanovení hladiny vitamínů byly připraveny extrakcí hexanem, následným odparem a rozpuštěním v mobilní fázi metanolu.

Sérový beta-karoten byl stanoven spektrofotometricky (Libra S6, Biochrom, Cambridge, Velká Británie) po denaturaci a extrakci do organického rozpouštědla.

4.4 Statistické vyhodnocení

Analýza získaných dat byla provedena pomocí crossover designu pomocí MIXED procedury SAS (2014). Model zahrnoval fixní účinek léčby a náhodné účinky samotného koně a období testování. Průměry byly vypočteny metodou nejmenších čtverců.

Každé zvíře v určitém období sloužilo jako experimentální jednotka ($n = 8$ jednotek na pokus) pro všechny měřené proměnné. Statistická významnost byla stanovena na $p < 0,05$.

5 Výsledky

V pokusu byla podávána spirulina v podobě prášku, která pocházela z Číny. V tabulce č. 2 můžeme vidět základní živinové rozbory, které poskytuje výrobce. Ten zároveň deklaruje, že se jedná o 100 % čistý produkt, kde nebyly použity žádné přídavky a GMO aditiva. Dále proběhlo testování na základní těžké kovy a patogenní mikroorganismy.

Obsah proteinu byl téměř o 10 % vyšší, než udává standard. Obsah žádných z toxických látek nepřekročil normu.

Tabulka 2. Živinové složení a obsah těžkých kovů a dalších toxických látek spiruliny podávané koním.

Složka	Standard	Výsledek
Barva	tmavě zelená	tmavě zelená
Identifikace produktu	vyhověl standardu	vyhověl
Protein (%)	$\geq 60,0$	69,56
Popeloviny (%)	$\leq 8,0$	7,77
Voda (%)	$\leq 7,0$	4,85
Olovo (mg/kg)	$\leq 0,5$	0,35
Arsen (mg/kg)	$\leq 0,5$	0,41
Kadmium (mg/kg)	$\leq 0,5$	0,02
Rtuť (mg/kg)	$\leq 0,1$	0,01
Benzopyren ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	$\leq 10,1$	vyhověl
PAH4 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	$\leq 50,0$	vyhověl
APC (cfu/g)	≤ 100000	8500
Kvasinky a plísňe (cfu/g)	≤ 300	< 10
E. Coli	negativní /10 g	negativní /10 g
Salmonella	negativní / 10 g	negativní /10 g

PAH4 = suma benzo[a]pyrenu, chryzénu, benz[a]anthracenu a benz[e]acephenanthrylenu v mikrogramech na kilogram spiruliny.

APC = aerobic plate count = počet aerobních destiček (slouží k identifikaci mikroorganismů v produktu) v jednotkách tvořící kolonie na jeden gram.

Tabulka 3. Hladiny vybraných metabolitů, minerálních látek a vitaminů v krevním séru koní krmených krmnou dávkou se spirulinou a kontrolní dávkou bez spiruliny.

Položka	Skupiny koní		SEM	p-hodnota
	kontrolní	pokusná (spirulina)		
Celkový protein (g/l)	67,0	66,3	0,924	0,206
Albumin (g/l)	33,5	33,2	0,697	0,634
Globulin (g/l)	33,6	33,1	0,611	0,284
Močovina (mmol/l)	4,38	4,55	0,225	0,458
Triglyceridy (mmol/l)	0,30	0,25	0,0227	0,107
Cholesterol (mmol/l)	2,25	2,24	0,0767	0,766
ALT (μkat/l)	0,18	0,14	0,0377	0,327
AST (μkat/l)	4,66	4,30	0,655	0,516
GMT (μkat/l)	0,27	0,33	0,054	0,246
Ca (mmol/l)	2,79	2,89	0,030	0,007
P (mmol/l)	1,00	0,96	0,030	0,278
Zn (μmol/l)	8,37	8,69	0,400	0,248
Cu (μmol/l)	15,6	16,7	1,034	0,018
Mg (mmol/l)	0,785	0,801	0,0171	0,495
Vitamin A (μmol/l)	0,413	0,400	0,0257	0,742
Vitamin E (μmol/l)	2,06	2,39	0,3139	0,333
Beta-karoten	0,82	1,15	0,1507	0,171

SEM = střední chyba průměru

Statistická významnost byla stanovena na $p < 0,05$

Hladina celkové proteinu neprokázala statisticky významný ($p > 0,05$) rozdíl mezi kontrolní a pokusnou skupinou. Obě hodnoty se nacházeli ve fyziologické normě 55–75 g/l.

Hladiny albuminu a globulinu též neprokázaly statisticky významný rozdíl ($p > 0,05$) mezi kontrolní a pokusnou skupinou. Hladiny albuminu se nacházeli ve fyziologickém rozmezí 26–37 g/l.

Též nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly ($p > 0,05$) v případě močoviny, cholesterolu, ALT, AST a GMT.

Z minerálních látek nedošlo ke statisticky významným změnám v hladinách v krevním séru u fosforu ($p > 0,05$), zinku ($p > 0,05$) a hořčíku ($p > 0,05$). Statisticky významná změna byla zaznamenána v koncentraci vápníku ($p < 0,05$) a mědi ($p < 0,05$), kdy u obou těchto prvků došlo ke statisticky významnému zvýšení hladin.

Všechny tyto hodnoty krom hladiny zinku byly ve fyziologické normě, pro vápník rozmezí 2,4–3,4 mmol/l, fosfor 0,7–1,7 mmol, hořčík 0,5–1,2 mmol/l, měď 19–21 $\mu\text{mol/l}$, zinek 15–29 $\mu\text{mol/l}$.

U vitamínu A nebyla zaznamenána významná změna ($p > 0,05$), ale obě skupiny vykazovaly snížený obsah v krvi, jelikož fyziologická norma leží v rozmezí 0,5–1,1 $\mu\text{mol/l}$. Stejně tak nebyly zaznamenány statisticky významné změny u vitamínu E ($p > 0,05$), kde se hladiny nacházeli ve fyziologickém rozpětí 1,0–3,0 mg/l . Beta-karoten též nevykazoval statisticky významné změny ($p > 0,05$) a jeho fyziologická norma pro je $> 0,2 \mu\text{mol/l}$, ve které se obě skupiny testovaných koní nacházely.

Fyziologické normy pro hladiny parametrů v krevním séru byly použity od autorů Vervuert & Kienzle (2013).

6 Diskuze

Cílem této diplomové práce bylo ověřit, zda je řasa spirulina (*Arthrospira platensis*) dobrým zdrojem proteinu, minerálních látek a vitamínů a zda její zkrmování může vést k větší dostupnosti těchto živin pro organismus koně. Dostupnost zmíněných živin jsme ověřovali sledováním jejich krevních hladin.

Pracovali jsme s hypotézou, že by spirulina mohla mít vliv na hladiny minerálních látek a vitamínů v krvi koní, na které je bohatá. Zejména se pak předpokládalo zlepšení dostupnosti těchto látek koním, a to především vitamínu A, u kterého se očekávalo zvýšení jeho hladin v krevním séru.

Spirulina, použitá v našem pokusu, splňovala obecné stanovené standardy svým složením. Kromě toho obsahovala téměř o 10 % více proteinu než je standardem. Hodnoty žádných zkoumaných toxických látek (olovo, arsen, kadmium, rtuť, benzopyren, PAH4) nepřekročily normu. Důvodem, proč se tyto látky testují je ten, že spirulina má schopnost velmi dobře vázat těžké kovy z okolního prostředí, a proto může docházet k jejich kontaminaci. Tyto těžké kovy jsou často součástí pesticidů a hnojiv používaných v zemědělství a mohou tak unikat do prostředí a kontaminovat vodu, v níž spirulina roste. Tento jev může zejména nastat v případě, kdy se spirulina vyskytuje v přirozeném prostředí (Al-Harbi 2016).

Všechny stanovované krevní parametry vyšly u obou skupin, kontrolní i pokusné, ve fyziologickém rozmezí kromě zinku, který vykazoval sníženou hladinu v krvi pod fyziologickou normou (Vervuert & Kienzle 2013).

Při srovnání obou testovaných skupin koní, bylo zjištěno několik rozdílů v hladinách analyzovaných látek.

Celkový protein, albuminy a globuliny vykazovaly podobné hodnoty u obou pozorovaných skupin koní, což naznačuje, že přidání spiruliny do krmné dávky nemělo významný vliv na celkový metabolismus bílkovin v těle koní. Dále to poukazuje na fakt, že spirulina měla velmi podobné využití obsaženého proteinu organismem koní, jako má sójový extrahovaný šrot.

U řady studií provedených na jiných druzích zvířat byl zaznamenán nárůst hodnot celkového proteinu, albuminu a globulinu v krevní plazmě testovaných jedinců, kterým byla podávána dieta se spirulinou. V pokusu dle El-Ratel (2017) provedeného na králících, vykazovali jedinci krmení řasou spirulinou statisticky významné zvýšení krevních parametrů celkového proteinu, albuminu i globulinu oproti kontrolní skupině. Podobné výsledky zaznamenali ve své studii Kovács et al. (2016) provedené též na králících. Pokus provedený na nosnicích, kterým byla podávána krmná směs se 0,2 % spiruliny, prokázal statisticky významné zvýšení hladin celkového proteinu, albuminu i globulinu v krevní plazmě (Mariey et al. 2012). Bezeria et al. (2009) vypožorovali zvýšený celkový protein v krevní plazmě u lam krmených 0,5 a 10 gramy spiruliny. Nebyli ovšem schopni jednoznačně říct, co toto zvýšení způsobuje a odkazují se tedy pouze na obecně známý fakt, že je spirulina bohatá na kvalitní protein. Diametrálně odlišných výsledků dosáhli při svém testování Seyidoğlu & Galip (2014), kteří prováděli své testování na králících. V jejich pokusu došlo po zkrmování řasy spiruliny ke statisticky významnému snížení hladiny globulinu v krevním séru oproti kontrolní skupině. Jelikož nedošlo k podrobnému testování jednotlivých frakcí

globulinu, nebylo možné s přesností určit důvod tohoto poklesu. Řada studií došla ve svém pokusu ke stejným výsledkům, jako my v našem pokusu. Hladiny albuminu a globulinu se sice v průměru snížily u jedinců, kterým byla podávána spirulina, ale tyto změny nebyly statisticky významné. Heidarpour et al. (2011) provedli studii, ve které sledovali hladiny albuminu, globulinu a jejich poměru u telat, která byla krmena různým množstvím *Spirulinou platensis*, v rozmezí od 0 do 25 g na den. V jejich pokusu nedošlo ke statisticky významné změně v těchto hladinách. Nedeva et al. 2014 se ve své studii věnovali zkrmování spiruliny prasatům a zaznamenaly podobné výsledky v hladinách krevních parametrů, jako vyšly v naší studii. Došlo k mírnému poklesu průměrných hodnot těchto parametrů v krevní plazmě, ovšem tento pokles nebyl statisticky významný. Moreira et al. (2011) též nezaznamenaly statisticky významné změny v hladinách albuminu a globulinu na testovaných potkanech, kterým byla podávána řasa spirulina v krmné směsi o obsahu 8,8 % a 17,6 %. Zároveň jejich pokus neprokázal statisticky významné rozdíly v hladinách močoviny v krevním séru mezi pokusnými a kontrolními potkany. Stejnému závěru jsme se dopracovali i v našem pokusu, kdy koně též nevykazovali statisticky významný rozdíl v hladině močoviny v krevním séru.

Rozdíly v zaznamenaných hladinách celkového proteinu, albuminu a globulinu mezi studii mohou být zapříčiněny jak zvoleným druhem pokusného zvíře a jeho individualitou, tak množstvím krmné spiruliny a délkou jejího zkrmování. Výsledky se mohou lišit i vlivem zkrmování odlišných krmných komponentů v krmných směsích. Králíci krmeni 600 mg spiruliny denně vykazovali zvýšené hladiny globulinu, naopak podávání adlibitního krmiva obsahujícího 5 % spiruliny vykazovalo statisticky snížené hladiny globulinu. Mariey et al. (2012), Bezeria et al. (2009) a El-Ratel (2017) ve svých studiích podrobně nezkoumali, proč došlo ke zvýšení hladin celkového proteinu, albuminu a připisují to vysokému obsahu kvalitního proteinu ve spirulině. Ve studii dle Kovács et al. (2016) byla pokusným zvířatům krom spiruliny podávána dávka ovalbuminu, který testovali za účelem zlepšení imunity zvířat. Zvýšené hladiny sledovaných parametrů tak připisují zvýšeným hladinám imunoglobulinů způsobeným imunologickou reakcí na ovalbumin. Autoři Seyidoğlu & Galip (2014), kteří naopak zaznamenali pokles globulinu v krevní plazmě pokusných jedinců, se odkazují na Lambertini et al. (2014) kteří uvádí, že řasa spirulina může způsobit pokles hladin globulinu v krvi, díky své schopnosti inhibovat růst patogenních bakterií ve střevě zvířat. Tyto patogenní organismy se v případě přemnožení produkují zánětlivé agens, které podněcují organismus zvířete ke zvýšení produkce globulinů v játrech či lymfatických uzlinách (Hassanein & Soliman 2010). V případě studií, ve kterých nedošlo ke statisticky významným změnám hladin celkového proteinu a jeho složek, vědci Heidarpour et al. (2011) uvádí, že nezaznamenali systematický trend mezi navyšováním dávky spiruliny v krmné směsi a hodnotami sledovaných parametrů v krvi zvířat. Pozorované střední hodnoty sledovaných parametrů neodhalily rozdíly a vědci nebyli tedy schopni detekovat spojitost spiruliny s hladinou celkového proteinu, albuminu a globulinu v krvi pokusných zvířat.

Hladiny triglyceridů a cholesterolu v krvi pokusných koní nevykazovaly statisticky významné rozdíly oproti kontrolní skupině. Přestože pokles průměrných hodnot hladin cholesterolu a triglyceridů v naší studii nebyl statisticky významný, jejich tendence k poklesu ukazuje na potenciální hypocholesterolemický účinek spiruliny. První významnou studii na tuto problematiku provedli Iwata et al. (1990) na hyperlipidemických potkanech. Jejich pokusem odhalili, že suplementace spirulinou vede ke zlepšení lipidových profilů,

doprovázené zvýšenou aktivitou lipoproteinové lipázy. Tento účinek byl pozorován u podání různých koncentrací spiruliny. Li et al. (2018) provedli studii, kde též podávali hyperlipidemickým potkanům spirulinu a snížení hladin triglyceridů a cholesterolu nastaly po 8 týdnech podávání spiruliny. Serban et al. (2016) pomocí metaanalýzy několik studií z posledních desítek let došli k závěru, kde tvrdí, že řasa spirulina má vliv na hladiny triglyceridů a cholesterolu v krevní plazmě. Přesná příčina tohoto jevu není zatím konkrétně prokázána, ale je to připisováno proteinu nejvíce zastoupeného v řase, phycocyaninu. Ten se vyznačuje schopností vyvazovat volné radikály, inhibovat peroxidaci lipidů a zvyšovat aktivitu peroxidáz a superoxid dismutáz (Upsani & Balaraman 2003; Sharman et al. 2011). Další složkou, která může mít vliv na tuto redukci je kyselina gama-linolenová, která reguluje syntézu hormonu prostaglandinu a cholesterolu v organismu (Karlos et al. 2010).

Hladiny alaninaminotranferázy (ALT), asparátaminotransferázy (AST) ani gama-glutamyltransferázy (GMT) u testovaných koní nevykazovaly statisticky významné rozdíly. Nedava et al. 2014 při svém pokusu na prasatech zaznamenali stejné výsledky. V jejich pokusu na prasatech krmených spirulinou též nedošlo ke statisticky významným změnám hladin krevních parametrů alaninaminotranferázy (ALT), asparátaminotransferázy (AST) ani gama-glutamyltransferázy (GMT). Tyto výsledky tedy vypovídají o tom, že zkrmování spiruliny nemělo žádný vliv na fyziologickou funkci jater těchto jedinců.

Hladiny vápníku (Ca) v naší provedené studii byly statisticky významně vyšší u koní krmených řasou spirulinou, zatímco hladiny fosforu (P) nevykazovaly statisticky významné rozdíly. Ve studii provedené na brojlerových kuřatech, kterým byla podávána spirulina, se statisticky významně zvýšily hladiny vápníku a fosforu v krevním séru (Abd El-Hady & El-Ghalid 2018). Ke stejnému závěru došli Abd El-Hady et al. (2022) v dalším pokusu na brojlerových kuřatech, u kterých též došlo ke statisticky významnému zvýšení hladin vápníku a fosforu. Možným důvodem, proč se u koní nenavýšila hladina fosforu je ta, že přijímali už dostatečné množství tohoto makroprvku v jiných komponentech krmiva.

Hladiny zinku a hořčíku se statisticky významně nelišily mezi skupinami. Stejně nezměněné výsledky těchto minerálních látek zaznamenal Nasirim et al. (2018) ve své studii na potkanech, kdy jim byla podávána spirulina (10, 20 a 30 mg/kg hmotnosti) orální cestou. Navíc se v této studii statisticky významně nelišily skupiny mezi sebou ani v hladinách mědi v krevní plazmě. To nekoresponduje s naší studií, kde došlo ke statisticky významnému zvýšení hladin mědi v krevní plazmě koní krmených spirulinou. Existuje několik možných příčin tohoto nárůstu. Jednou z nich může být vysoký obsah mědi ve spirulině použité v krmivu. Spirulina má schopnost absorbovat vysoké dávky mědi z prostředí, zejména pokud byla voda použitá při její kultivaci kontaminována tímto minerálem (Tabagari et al. 2020). Pravděpodobnější příčinou je forma, ve které se měď v krmivu nachází. Zatímco v sójovém extrahovaném šrotu krmeném kontrolní skupině je tento minerální prvek vázán v anorganických sloučeninách, ve spirulině je obvykle vázán na organické sloučeniny, jako jsou proteiny. Tento fakt potvrdili ve svém výzkumu Naile et al. (2005), kdy podávali koním anorganický síran měďnatý a organickou formu mědi. Výsledky ukázali statisticky významné zvýšení hladin mědi v krvi koní, kterým byla podávána organická forma. Obdobné výsledky zaznamenal ve svém pokusu na koních Pal et al. (2010).

Hladiny vitamínu A a beta-karotenu nevykazovaly statisticky významné rozdíly mezi skupinami koní. Hodnoty vitamínu E též nebyly statisticky významné, nicméně číselně

hodnoty byly v průměru vyšší u skupiny krmené řasou spirulinou. Neschopnost prokázat rozdíl tak mohla být dána vysokou variabilitou, respektive nízkým počtem zvířat ve studii. Annapurna et al. (1991) provedli studii na podkanech, kde byla pokusná skupina krmena řasou spirulinou a kontrolní skupině byl podáván syntetický doplněk vitamínu A. Závěr byl takový, že hodnoty plazmatického vitamínu A se významně nelišily. Zvýšená koncentrace vitamínu A u podávání spiruliny byla zaznamenána v játrech. Výsledkem naší studie tedy bylo, či řasa spirulina je stejně dobrým zdrojem vitamínu A, jako je sójový extrahovaný šrot.

7 Závěr

Závěrem této studie je, že výsledky krevních parametrů neprokázaly statisticky významné změny s výjimkou hladiny vápníku a mědi. Hypotéza, že by mohla být řasa dobrým zdrojem vitamínu A a beta-karotenu se nepotvrdila. Celkově přidání spiruliny do krmné dávky koní neprokázalo významný vliv na hladiny celkového proteinu a bílkovinných frakcí v krvi a tak nebyl prokázán její vliv na metabolismus bílkovin. Na základě našich výsledků nelze doporučit řasu spirulinu jako zdroj vitamínů pro koně a také lze konstatovat, že tato řasa není lepším zdrojem proteinu než sójový extrahovaný šrot. Pro správné porozumění vlivu řasy spiruliny na organismus koní bude třeba provést další studie.

8 Literatura

Abd El-Hady AM, El-Ghalid OAH. 2018. Spirulina platensis Algae (SPA): A novel poultry feed additive. Effect of SPA supplementation in broiler chicken diets on productive performance, lipid profile and calcium-phosphorus metabolism. *World's Poultry Science Journal* **7498**:1-7.

Abd El-Hady AM, Elghalid OA, Elnaggar AS, Abd El-khalek E. 2022. Growth performance and physiological status evaluation of Spirulina platensis algae supplementation in broiler chicken diet. *Livestock Science* **263** (e105009) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105009>.

Adams R, Mayhew IG. 1985. Neurologic diseases. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, **1**:209-234.

Aguilera-Tejero E, Estepa JC, Lopez I, et al. Plasma ionized calcium and parathyroid hormone concentrations in horses after endurance rides. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **219**:488-490.

Aldred A, Schreiber G. 1993. The negative acute phase proteins. Pages 686 in Mackiewicz A, Kushner I, Baumann H, editors. *Molecular Biology, Biochemistry and Clinical Applications*. CRC Press, Boca Raton.

Al-Dhabi NA. 2013. Heavy metal analysis in commercial Spirulina products for human consumption. *Saudi journal of biological sciences* **20**:383-388.

Al-Harbi NA. 2016. Heavy metals concentration in commercially available spirulina products. *Biosciences Biotechnology Research Asia* **9**:43-51.

Allison RW. 2022. Laboratory Evaluation of Plasma and Serum Proteins. Pages 484-497 in Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, editors. *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology, Third Edition*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken.

Alvarenga RR, Rodrigues PB, Cantarelli VDS, Zangeronimo MG, Silva Júnior JWD, Silva LRD, Pereira LJ. 2011. Energy values and chemical composition of spirulina (*Spirulina platensis*) evaluated with broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia* **40**:992-996.

Annapurna VV, Deosthale YG, Bamji MS. 1991. Spirulina as a source of vitamin A. *Plant Foods for Human Nutrition* **41**:125–134.

Ayala F, Bravo R. 1982. An improved cheap culture medium for the blue-green microalgae Spirulina. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnology* **15**:198-199

Ballet N, Robert JC, Williams PEV. 2000. Vitamins in forages. Pages 399-432 in Givens DJ, Owne E, Axford RFE, et al, editors. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI Publishing, Oxfordshire, England.

- Bezeria LR, Azevedo Silva AM, Azevedo SA, Rodrigues OG, Azevedo PS, Sousa Mendes R. 2009. Serum concentrations of proteins and minerals in lambs artificially fed with *Spirulina platensis*-enriched milk. *Acta Veterinaria Brasilica* **3**:132-137.
- Buckley MT, Racimo F, Allentoft ME, Jensen MK, Jonsson A, Huang H, Hormozdiari F, Sikora M, Marnetto D, Eskin E, Jørgensen ME. 2017. Selection in Europeans on fatty acid desaturases associated with dietary changes. *Molecular biology and evolution* **34**:1307-1318.
- Bhutia YD, Ganapathy V. 2018. Protein Digestion and Absorption. Pages 1063-1086 in Said HM, editor. *Physiology of the Gastrointestinal Tract, Sixth Edition*. Academic Press, US.
- Bilal T. 2009. Effect of molassed sugar beet pulp on the performance and calcium and phosphorus levels in lambs. *Indian Veterinary Journal* **86**:103-104.
- Boland MJ, Rae AN, Vereijken JM, Meuwissen MP, Fischer AR, van Boekel MA, Hendriks WH. 2013. The future supply of animal-derived protein for human consumption. *Trends in food science & technology* **29**:62-73.
- Bortolini DG, Maciel GM, Fernandes IDAA, Pedro AC, Rubio FTV, Branco IG, Haminiuk CWI. 2022. Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina* spp.: Current status and future trends. *Food Chemistry: Molecular Sciences* **5** (e100134) DOI: 10.1016/j.fochms.2022.100134
- Briggs K. 2007. *Understanding Equine Nutrition: Your Guide to Horse Health Care and Management, Seventh Edition*. Eclipse Press, Cairo, Egypt.
- Budras KD, Sack WO, Röck S, Horowitz A, Berg R. 2012. *Anatomy of the Horse, Sixth Edition*. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover.
- Burns TA. 2021. “Feeding the Foot”: Nutritional Influences on Equine Hoof Health. *Veterinary Clinics: Equine Practice* **37**:669-684.
- Burton GW, Hanna WW. 1995. Forages. Pages 50-55 in Barnes RF, Miller DA, Nelson CJ, editors. *An Introduction to Grassland Agriculture*. Ames: Iowa State University Press. Iowa, US.
- Carcea M, Sorto M, Batello C, Narducci V, Aguzzi A, Azzini E, Fantauzzi P, Finotti E, Gabrielli P, Galli V, Gambelli L, Maintha KM, Namba F, Ruggeri S, Turfani V. 2015. Nutritional characterization of traditional and improved dihe, alimentary blue-green algae from the lake Chad region in Africa. *LWT - Food Science and Technology* **62**:753-63.
- Carroll FD, Goss H, Howell CE. 1949. The synthesis of B vitamins in the horse. *Journal of Animal Science* **8**:290-299.

- Ciferri O. 1983. Spirulina, the edible organism. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **47**:551-78.
- Cichorska B, Komosa M, Nogowski L, Maćkowiak P, Józefia D. 2014. Significance of nutrient digestibility in horse nutrition—a review. *Annals of Animal Science* **14**:779-797.
- Coenen M. 2005. Exercise and stress: impact on adaptive processes involving water and electrolytes. *Livestock Production Science* **92**:131–145.
- Collins M. 1988. Composition and fiber digestion in morphological components of an alfalfa/timothy hay. *Animal Feed Science and Technology* **19**:135–143.
- Connysson M, Muhonen S, Lindberg JE, Essén-Gustavsson B, Nyman G, Nostell K, Jansson A. 2006. Effects on exercise response, fluid and acid-base balance of protein intake from forage-only diets in standardbred horses. *Equine Veterinary Journal* **38**:648-653.
- Coudray C, Rambeau M, Feillet-Coudray C, Gueux E, Tressol JC, Mazur A, Rayssigueire Y. 2005. Study of magnesium bioavailability from ten organic and inorganic Mg salts in Mg-depleted rats using a stable isotope approach. *Magnesium Research* **18**: 215–223.
- Cymbaluk NF, Fretz PB, Loew FM. 1978. Amprolium-induced thiamine deficiency in horses: clinical features. *Am. J. Vet. Res.* **39**:255-261.
- Daft BM, Barr BC, Gardner IA, Read D, Bell W, Peyser KG, Ardans A, Kinde H, Morrow JK. 2002. Sensitivity and specificity of western blot testing of cerebrospinal fluid and serum for diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis in horses with and without neurologic abnormalities. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **221**:1007–1013.
- Danesi EDG, Rangel-Yagui CDO, De Carvalho JCM, Sato S. 2002. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biomass and Bioenergy* **23**:261-269.
- Das PK, Sejian V, Mukherjee J, Banerjee D. 2023. *Textbook of Veterinary Physiology*. Springer, Singapore.
- David JB, Cohen ND, Nachreiner R. 1997. Equine nutritional secondary hyperparathyroidism. *Veterinarian* **19**:1380-&.
- Davies ME. 1971. The production of vitamin B12 in the horse. *British Veterinary Journal* **127**:34–36.
- Devlin TM. 2007. *Textbook of biochemistry with clinical correlations*, 6th Ed., Wiley-Liss, New York.

De la Rúa-Doménech R, Mohammed HO, Cummings JF, Divers TJ, De Lahunta A, Summers, BA. 1997. Association between plasma vitamin E concentration and the risk of equine motor neuron disease. *The Veterinary Journal* **154**:203–213.

de Medeiros VPB, da Costa WKA, da Silva RT, Pimentel TC, Magnani M. 2021. Microalgae as source of functional ingredients in new-generation foods: challenges, technological effects, biological activity, and regulatory issues. *Critical reviews in food science and nutrition* **62**:4929-4950.

Deaton CM, Marlin DJ. 2005. Reactive oxygen species and antioxidants - a war of nutrition. *Veterinary Journal* **169**: 7-9.

Deepika DS, Sowmya KL, Kiran KR. 2021. Efficacy of Microalgal Biomass in Poultry Nutrition. *Journal of Poultry Fisheries & Wildlife Sciences* **9**:1-3.

Dolganyuk V, Andreeva A, Budenkova E, Sukhikh S, Babich O, Ivanova S, Prosekov A, Ulrikh E. 2020. Study of morphological features and determination of the fatty acid composition of the microalgae lipid complex. *Biomolecules* **19** (e1571) DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10111571>.

Donadio G, Santoro V, Dal Piaz F, De Tommasi N. 2021. Food matrices affect the peptides produced during the digestion of arthrospira platensis-based functional aliments. *Nutrients* **13** (e3919) DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13113919>.

Donnelly JG. 2001. Folic acid. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* **38**:183-223.

Doubek J, Matalová E, Váňová I. 2014. *Přehled fyziologie I pro VFU Brno. Ústav fyziologie Veterinární a farmaceutické univerzity, Brno.*

Dunkel B, McKenzie HC. 2003. Severe hypertriglyceridaemia in clinically ill horses: diagnosis, treatment and outcome. *Equine Veterinary Journal* **35**:590–595.

Eckersall PD. 2008). Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. Pages 117-155 in Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, editors. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press, San Diego.

Ellis AD, Hill J. 2005. *Nutritional physiology of the horse*. Nottingham University Press, Nottingham, England.

El-Ratel IT. 2017. Reproductive performance, oxidative status and blood metabolites of doe rabbits administrated with spirulina alga. *Egyptian Poultry Science Journal* **37**:1153-1172.

- El-Shall NA, Jiang S, Farag MR, Azzam M, Al-Abdullatif AA, Alhotan R, Alagawany M. 2023. Potential of *Spirulina platensis* as a feed supplement for poultry to enhance growth performance and immune modulation. *Frontiers in Immunology* **14** (e1072787) DOI: 10.3389/fimmu.2023.1072787.
- Falquet J, Hurni JP. 1997. *The nutritional aspects of Spirulina*. Antenna Foundation, New Orleans, USA.
- Farag MR, Alagawany M, El-Hack MEA, Kuldeep D. 2016. Nutritional and healthical aspects of *Spirulina* (*Arthrospira*) for poultry, animals and human. *International Journal of Pharmacology* **12**:36-51.
- Finno CJ, Valberg SJ. 2012. A Comparative Review of Vitamin E and Associated Equine Disorders. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **26**:1251–1266.
- Finno CJ. 2018. Vitamin and Mineral Assessment. Pages 85-98 in Pusterla N, Haggins J, editors. *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken.
- Flaminio MJ, Rush BR. 1998. Fluid and electrolyte balance in endurance horses. *The Veterinary clinics of North America. Equine Practice* **14**:147-158.
- Frandsen RD, Wilke WL, Fails AD. 2009. *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. Vyd. 7. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Frape D. 2010. *Equine Nutrition and Feeding, Fourth Edition*. Wiley-Blackwell, Hoboken.
- Green JO, Corral AJ, Terry RA. 1971. Grass species and varieties: relationships between stage of growth, yield and forage quality. GRI Technical Report No. 8. Hurley, UK: Grassland Research Institute.
- Gandini G, Fatzer R, Mariscoli M, Spadari A, Cipone M, Jaggy A. 2004. Equine degenerative myeloencephalopathy in five Quarter Horses: clinical and neuropathological findings. *Equine veterinary journal* **36**:83-85.
- Genchi G, Lauria G, Catalano A, Carocci A, Sinicropi MS. 2023. Prevalence of cobalt in the environment and its role in biological processes. *Biology* **12** (e1335) DOI: <https://doi.org/10.3390/biology12101335>.
- Geor RJ, Harris PA. 2007. How to minimize gastrointestinal disease associated with carbohydrate nutrition in horses. In *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP* **53**: 178-185.
- Geor RJ, Harris P, Coenen M. 2013. *Equine Applied and Clinical Nutrition*. Saunders, United States.

Gjorgovska N, Grigorova S, Levkov V. 2021. Application of Rose Hip Fruits as Feed Supplement in Animal Nutrition. *Journal of Agriculture Food and Development* **7**:12-15.

Groff JP. 2015. Secretory activities of gastrointestinal tract. Pages 484-502 in Reece WO, Erickson HH, Goff JP, Uemura EE, editors. *Duke's Physiology of Domestic Animals*. Vyd. 13. Wiley-Blackwell, Hoboken.

Groff JP. 2015. Digestion and Absorption of Nutrients. Pages 503-520 in Reece WO, Erickson HH, Goff JP, Uemura EE, editors. *Duke's Physiology of Domestic Animals*. Vyd. 13. Wiley-Blackwell, Hoboken.

Grosshagauer S, Kraemer K, Somoza V. 2020. The true value of Spirulina. *Journal of agricultural and food chemistry* **68**:4109-4115.

Guo LB, Gifford RM. 2002. Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Global change biology* **8**:345-360.

Habib MAB, Parvin M, Huntington TCH, Hasan MR. 2008. A Review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome.

Harris PA, Coenen M, Frappe D, Jeffcott LB, Meyer H. 2006. Equine nutrition and metabolic diseases. Pages 151-222 in Higgins AJ, Snyder JR, editors. *The equine manual*. Saunders Ltd., US.

Hassanein SM, Soliman NK. 2010. Effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) adding to diets on intestinal microflora and performance of Hy-Line layers hens. *Journal of American Science* **6**:159-169.

Heidarpour A, Fourouzandeh-Shahraki AD, Eghbalsaied S. 2011. Effects of *Spirulina platensis* on performance, digestibility and serum biochemical parameters of Holstein calves. *African Journal of Agricultural Research* **6**:5061-5065.

Hess EK, Reinhart JM, Anderson MJ, Jannasch AS, Taylor SD. 2021. Pharmacokinetics of thiamine (vitamin B1) in adult horses after administration of three single intravenous doses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **44**:937-944.

Hokamp JA, Nabity MB. 2016. Renal biomarkers in domestic species. *Veterinary clinical pathology* **45**:28-56.

Holman BWB, Malau-Aduli AEO. 2013. Spirulina as a livestock supplement and animal feed. *Journal of animal physiology and animal nutrition* **97**:615-623.

Johnson PJ. 1995. Electrolyte and acid-base disturbances in the horses. *The Veterinary clinics of North America. Equine Practice* **11**:491-514.

Chang M, Liu K. 2023. *Arthrospira platensis* as future food: a review on functional ingredients, bioactivities and application in the food industry. *International Journal of Food Science & Technology* **59**:1197-1212.

Christwardana M, Nur MMA, Hadiyanto. 2013. *Spirulina platensis*: potensinya sebagai bahan pangan fungsional. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2:1-4.

Islam KMS, Debi MR, Haque R, Moury SN. 2021. Effect of using *Spirulina platensis* in place of vitamin mineral premix in feed on the performance of broiler. *Bangladesh Journal of Animal Science* **50**:64-72.

Iwata K, Inayama T, Kato T. 1990. Effects of *Spirulina platensis* on plasma lipoprotein lipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* **36**:165-171.

Janda-Milczarek K, Szymczykowska K, Jakubczyk K, Kupnicka P, Skonieczna-Żydecka K, Pilarczyk B, Dalewski B. 2023. *Spirulina* supplements as a source of mineral nutrients in the daily diet. *Applied Sciences* 13 (e1011) DOI: <https://doi.org/10.3390/app13021011>.

Jiang X, Shan X, Li F. 2023. Improving the Quality of Reclaimed Water via Applying *Spirulina platensis* to Eliminate Residual Nitrate. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **24** (e2117) DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph20032117>.

Jung F, Krüger-Genge A, Waldeck P, Küpper JH. 2019. *Spirulina platensis*, a super food?. *Journal of Cellular Biotechnology* **5**:43-54.

Karkos PD, Leong SC, Karkos CD, Sivaji N, Assimakopoulos DA. 2010. *Spirulina* in clinical practice: evidence-based human applications. *Evidence-based complementary and alternative medicine* **2011** (e531053) DOI: <https://doi.org/10.1093/ecam/nen058>.

Khan Z, Bhadouria P, Bisen P. 2005. Nutritional and Therapeutic Potential of *Spirulina*. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **6**: 373–379.

Kim HM, Lee EH, Cho HH, Moon YH. 1998. Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions in rats by *Spirulina*. *Biochemical Pharmacology* **55**:1071–1076.

Kirschvink N, Art T, Moffarts BD, Smith N, Marlin D, Roberts C, Lekeux P. 2002. Relationship between markers of blood oxidant status and physiological variables in healthy and heavesaffected horses after exercise. *Equine Veterinary Journal* 34: 159-164.

Knight DA, Gabel AA, Reed SM, Bramlage LR, Tyznik WJ, Embertson RM. 1985. Correlation of dietary mineral to incidence and severity of metabolic bone disease in Ohio and Kentucky. *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* **31**:445-461.

Kohnke J, Kelleher F, Trevor-Jones P. 1999. Feeding Horses in Australia: A Guide for Horse Owners and Managers. Rural Industries Research and Development Corporation, Australia.

Kovács M, Tuboly T, Mézes M, Balogh K, Gerencsér Z, Matics Z, Dal Bosco A, Szendrő Z, Tornósy G, Hafner D, Milisits G, Balogh-Zandoki E, Dalle Zotte A. 2016. Effect of dietary supplementation of Spirulina (*Arthrospira platensis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) on serum biochemistry, immune response and antioxidant status of rabbits. *Annals of animal science* **16**:181-195.

König HE, Liebich HG. 2002. Anatomie domácích savců 2. Vyd. 1. Hajko a Hajková, Ružinov.

Kulshreshtha A, Zacharia AJ, Jarouliya U, Bhadauriya P, Prasad GBKS, Bisen PS. 2008. Spirulina in health care management. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **9**:400–405.

Lafarga T, Sánchez-Zurano A, Villaró S, Morillas-España A, Acién G. 2021. Industrial production of spirulina as a protein source for bioactive peptide generation. *Trends in Food Science & Technology* **116**:176-185.

Lambertini L, Vignola G, Beone GM, Zaghini G, Formigoni A. 2004. Effects of chromium yeast supplementation on growth performances and meat quality in rabbits. *World Rabbit Science* **12**:33-47.

Lean IJ, Golder HM. 2023. Pasture Minerals for Dairy Cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* **39**:439-458.

Lee CW, Bae GY, Bae SH, Suh HJ, Jo K. 2021. Increased thermal stability of phycocyanin extracted from *Spirulina platensis* by cysteine addition during enzyme extraction. *Food Science and Technology* **42** (e15021) DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.15021>.

Leinonen I, Williams AG, Waller AH, Kyriazakis I. 2013. Comparing the environmental impacts of alternative protein crops in poultry diets: The consequences of uncertainty. *Agricultural systems* **121**:33-42.

LeRoy B, Woolums A, Wass J, Davis E., Gold J, Foreman JH, Lohman K, Adams J. 2011. The relationship between serum calcium concentration and outcome in horses with renal failure presented to referral hospitals. *Journal of veterinary internal medicine* **25**:1426-1430.

Li TT, Liu YY, Wan XZ, Huang ZR, Liu B, Zhao C. 2018. Regulatory efficacy of the polyunsaturated fatty acids from microalgae *Spirulina platensis* on lipid metabolism and gut microbiota in high-fat diet rats. *International journal of molecular sciences* **19** (e3075) DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19103075>.

- Lindner A, Schmidt M, Meyer H. 1983. Investigations on sodium metabolism in exercised Shetland ponies fed a diet marginal in sodium. Pages 310-317 in Snow DH, Persson SGB, Rose RJ, editors. *Equine Exercise Physiology*. Cambridge, England.
- Liu SK, Dolensek EP, Adams CR, Tappe JP. 1983. Myelopathy and vitamin E deficiency in six Mongolian wild horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **183**:1266-1268.
- Lupatini AL, Colla LM, Canan C, Colla E. 2017. Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **97**:724-732.
- MacFarlane NG. 2018. Digestion and absorption. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* **19**: 125-127.
- Maddiboyina B, Vanamamalai HK, Roy H, Ramaiah, Gandhi S, Kavisri M, Moovendhan M. 2023. Food and drug industry applications of microalgae *Spirulina platensis*: A review. *Journal of Basic Microbiology* **63**:573-583.
- Manthe BN, Youngs CR. 2014. An overview of vitamin requirements of the domestic horse. *Natural Sciences Education* **42**:179-184.
- Mao TK, de Water JV, Gershwin ME. 2005. Effects of a *Spirulina*-Based Dietary Supplement on Cytokine Production from Allergic Rhinitis Patients. *Journal of Medicinal Food* **8**:27–30.
- Maoka T. 2011. Carotenoids in marine animals. *Marine drugs* **9**:278-293.
- Mariey YA, Samak HR, Ibrahim MA. 2012. Effect of using *Spirulina platensis* algae as a feed additive for poultry diets: 1- Productive and reproductive performances of local laying hens., *Egyptian Poultry Science Journal* **32**:201-215.
- Martin-Rosset W, Martin L. 2015. Nutritional principles for horses. Pages 23-96 in Martin-Rosset W, editor. *Equine Nutrition: INRA Nutrient Requirements, Recommended Allowances and Feed Tables*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Martin-Rosset W, Trillaud-Geyl C, Bonnaire Y. 2015. Feeds, additives and contaminants. Pages 315-346 in Martin-Rosset W, editor. *Equine Nutrition: INRA Nutrient Requirements*.
- Martin-Rosset W. 2015. *Equine Nutrition: INRA Nutrient Requirements, Recommended Allowances and Feed Tables*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Mathias TRDS, Alexandre VMF, Cammarota MC, de Mello PPM, Sérvulo EFC. 2015. Characterization and determination of brewer's solid wastes composition. *Journal of the Institute of Brewing* **121**:400-404.

- Mbata TI, Ikenebomeh MJ, Ezeibe S. 2009. Evaluation of mineral content and functional properties of fermented maize (generic and specific) flour blended with bambara groundnut (*Vigna subterranean* L.). *African Journal of Food Science* **3**:107–112.
- McGorum BC, Jago RC, Cillin-Garcia E, Pirie RS, Keen JA, Reardon RJM, Saffu PY, Miller NJ. 2017. Neurodegeneration in equine grass sickness is not attributable to niacin deficiency. *Equine Veterinary Journal* **49**:445–447.
- Mello JRB. 2003. Calcinosis–calcinogenic plants. *Toxicicon* **42**:1-12.
- Metekia WA, Ulusoy BH, Habte-Tsion HM. 2021. Spirulina phenolic compounds: natural food additives with antimicrobial properties. *International Food Research Journal* **28**:1109-1118.
- Menegotto ALL, de Souza LES, Colla LM, Costa JAV, Sehn E, Bittencourt PRS, Colla E. 2019. Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. *LWT* **114** (e108267) DOI: 10.1016/J.LWT.2019.108267.
- Meyer H, Coenen M. 2003. *Krmení koní: současné trendy ve výživě*. Vyd. 1. Ikar, Praha.
- McDowell LR. 2000. *Vitamins in animal and human nutrition*, 2nd edition. State Press, Ames (IA), Iowa, US.
- Moeller BA, McCall CA, Silverman SJ. 2008. Estimation of saliva production in cribbiting and normal horse. *JEVS* **28**:85-90.
- Moreira LM, Rocha ASR, Ribeiro CLG, Rodrigues RS, Soares LS. 2011. Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Spirulina platensis*. *African Journal of Food Science* **5**:799-805, 2011.
- Muhling M, Belay A, Whitton BA. 2005. Variation in fatty acid composition of *Arthrospira* (*Spirulina*) strains. *Journal of Applied Phycology* **17**:137–146.
- Murphy JE, Marsh AE, Reed SM, Meadows C, Bolten K, Saville WJA. 2006. Development and evaluation of a *Sarcocystis* neuron-specific IgM capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of veterinary internal medicine*, **20**:322–328.
- Murray RC, Deaton CM, Smith NC, Henley WE, Marlin DJ. 2009. Neither age nor osteoarthritis is associated with synovial fluid antioxidant disturbance or depletion in the horse. *Comparative Exercise Physiology* **6**:121-128.

- Muthusamy G, Thangasamy S, Raja M, Chinnappan S, Kandasamy S. 2017. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Spirulina* microalgae and its antibacterial activity. *Environmental Science and Pollution Research* **24**:19459-19464.
- Naile TL, Cooper SR, Freeman DW, Krehbiel CR. 2005. Effects of Mineral Source on Growth and Balance in Yearling Horses¹. *The Professional Animal Scientist* **21**:121-127.
- Nasirian F, Dadkhah M, Moradi-kor N, Obeidavi Z. 2018. Effects of *Spirulina platensis* microalgae on antioxidant and anti-inflammatory factors in diabetic rats. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* **11**:375–380.
- National Research Council. 1982. *United States-Canadian Tables of Feed Composition*. National Academy Press, Washington, DC.
- National Research Council. 2001. *Nutrient requirements of Dairy cattle*. 7th rev. ed. National Research Council. National Academic Press, Washington DC.
- National Research Council. 2005. *Mineral Tolerance of Animals*, 2nd rev. ed. The National Academies Press, Washington, DC.
- National Research Council. 2007. *Nutrition Requirements of Horses: Sixth Revised Edition*. The National Academies Press, Washington DC.
- Nawrocka D, Kornicka K, Śmieszek A, Marycz K. 2017. *Spirulina platensis* improves mitochondrial function impaired by elevated oxidative stress in adipose-derived mesenchymal stromal cells (ASCs) and intestinal epithelial cells (IECs), and enhances insulin sensitivity in equine metabolic syndrome (EMS) horses. *Marine drugs* **15** (e237) DOI: <https://doi.org/10.3390/md15080237>.
- Nedeva R, Jordanova G, Kistanova E, Shumkov K, Georgiev B, Abadgieva D, Kacheva D, Shimkus A, Shimkine A. 2014. Effect of the addition of *Spirulina platensis* on the productivity and some blood parameters on growing pigs. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* **20**:680-684.
- Olajire AA. 2020. The brewing industry and environmental challenges. *Journal of cleaner production* **256** (e102817) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.03.003>.
- Ozdemir G, Ulku Karabay N, Dalay MC, Pazarbasi B. 2004. Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* **18**:754-757.

- Pal DT, Gowda NKS, Prasad CS, Amarnath R, Bharadwaj U, Babu GS, Sampath KT. 2010. Effect of copper-and zinc-methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **24**:89-94.
- Palanimuthu K, Subbiah U, Sundharam S, Munusamy C. 2023. S pirulina carbon dots: a promising biomaterial for photocatalytic textile industry Reactive Red M8B dye degradation. *Environmental Science and Pollution Research* **30**:52073-52086.
- Pellegrini-Masini A, Livesey LC. 2006. Meningiti and encephalomyelitis in horses. *The Veterinary clinics of North America. Equine Practice* **22**:553–589.
- Plaza M, Herrero M, Cifuentes A, Ibáñez E. 2009. Innovative Natural Functional Ingredients from Microalgae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:7159–7170.
- Poothachaya P, Puangsap W, Bunchalee P, Plangklang P, Reungsang A, Yuangsoi B, Wongtangintharn S. 2023. Investigation of nutritional profile, protein solubility and in vitro digestibility of various algae species as an alternative protein source for poultry feed. *Algal Research* **72** (e103147) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103147>.
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada, Praha.
- Reitnour CM, Salsbury RL. 1976. Utilization of proteins by the equine species. *American Journal of Veterinary Research* **37**:1065–1067.
- Remillard RL. 2023. *Equine clinical nutrition*. Second Editon. Wiley Blackwell, Hoboken.
- Rey AI, Segura J, Arandilla E, López-Bote CJ. 2013. Short-and long-term effect of oral administration of micellized natural vitamin E (D- α -tocopherol) on oxidative status in race horses under intense training. *Journal of animal science* **91**:1277-1284.
- Rifai N, Albers JJ, Bachorik PS. 2001. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. Pages: 462-493 in Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. Saunders, Philadelphia.
- Richards N, Nielsen BD, Finno CJ. 2021. Nutritional and Non-nutritional Aspects of Forage. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **37**:43–61.
- Ross E, Dominy W. 1990. The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina plantensis*) for poultry. *Poultry science* **69**:794-800.
- Saastamoinen M, Särkijärvi S, Suomala H. 2021. Protein source and intake effects on diet digestibility and N excretion in horses—a risk of environmental N load of horses. *Animals* **11**(e 3568) DOI: [10.3390/ani11123568](https://doi.org/10.3390/ani11123568).

- Sánchez-Quintero Á, Leca MA, Bennici S, Limousy L, Monlau F, Beigbeder JB. 2023. Treatment and Valorization of Agro-Industrial Anaerobic Digestate Using Activated Carbon Followed by *Spirulina platensis* Cultivation. *Sustainability* **3** (e4571) DOI: <https://doi.org/10.3390/su15054571>.
- Santos AJM, Khemiri S, Simões S, Prista C, Sousa I, Raymundo A. 2023. The importance, prevalence and determination of vitamins B6 and B12 in food matrices: A review. *Food Chemistry* **426** (e136606) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136606>.
- Serban MC, Sahebkar A, Dragan S, Stoichescu-Hogea G, Ursoniu S, Andrica1 F, Banach M. 2016. A systematic review and meta-analysis of the impact of *Spirulina* supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical nutrition* **35**:842-851.
- Seyidođlu N, Galip N. 2014. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Spirulina platensis* on growth performances and biochemical parameters in rabbits. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* **20**:331-336.
- Seyidoglu N, Inan S, Aydin C. 2017. A prominent superfood: *Spirulina platensis*. Pages 1-16 in Shiomi N, Waisundara VY, editors. *Superfood and functional food, the development of superfoods and their roles as medicine*. InTechOpen, London, United Kingdom.
- Shaikh A, Berndt T, Kumar R. 2008. Regulation of phosphate homeostasis by the phosphatonins and other novel mediators. *Pediatric Nephrology* **23**:1203–1210.
- Shams M, Haji Aghababa A, Kardani-Esfahani SM, Amini NG. 2017. Industrial production of microalgae *Arthrospira (Spirulina) platensis* in the Central Iran. *International Journal of Pure & Applied Bioscience* **5**:31-36.
- Sharma NK, Tiwari SP, Tripathi K, Rai AK. 2021. Sustainability and cyanobacteria (blue-green algae): facts and challenges. *Journal of Applied Phycology* **23**:1059–1081.
- Shimamatsu H. 2004. Mass production of *Spirulina* an edible microalga. *Hydrobiologia* **521**: 39-44.
- Schott HC. 2004. Renal physiology. Pages 1184-1199 in Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, editors. *Internal Medicine, Second Edition*. St Louis, Saunders.
- Silva PM, Silva JL, Bonemann DH, Ribeiro AS, Silva LO, Pizzi GLBL, Martins CF. 2022. Influences of the Seasons of the Year and Physiographic Regions on the Levels of Calcium, Copper and Zinc in the Hoof Capsule of Foals Pre-and Postweaning Raised in Native Pasture. *Journal of Equine Veterinary Science* **109** (e103854) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103854>.

Skinner JE, Cawdell-Smith AJ, Biffin JR, Regtop HL, Bryden WL. 2023. Vitamin K: history, metabolism, and nutrition in the horse. *Animal Production Science* **64**:1-19.

Sloup V, Jankovská I, Nechybová S, Peřínková P, Langrová I. 2017. Zinc in the animal organism: a review. *Scientia Agriculturae Bohemica* **48**:13-21.

Stadermann B, Nehring T, Meyer H. 1992. Calcium and magnesium absorption with roughage or mixed feed. *Pferdeheilkunde* **1**:77-80.

St-Pierre B, de la Fuente G, O'Niell S, Wright ADG, Al Jassim R. 2012. Analysis of stomach bacterial communities in Australian feral horses. *Molecular Biology Reports* **40**:369–376.

Stevenson LEO, Phillips F, O'sullivan K, Walton J. 2012. Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective. *International journal of food sciences and nutrition* **63**:1001-1013.

Stewart AJ. 2011. Magnesium disorders in horses. *Veterinary Clinics: Equine Practice* **27**: 149-163.

Tabagari I, Chokheli L, Adamia G, Kurashvili M, Varazi T, Pruidze M, Khatisasvili G, von Fragstein und Niemsdorff P. 2020. The Effectiveness of *Arthrospira platensis* for the Purification of Copper-Contaminated Water. *Water Air Soil Pollution* **231**:1-8.

Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. 2022. *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology, Third Edition*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken.

Toribio RE. 2004. Calcium disorders. Pages 1295-1326 in Reed SM, Bayly WM, Sellon DC. *Equine Internal Medicine, Second Edition*. St. Louis, Missouri.

Toribio RE. 2011. Disorders of calcium and phosphate metabolism in horses. *Veterinary Clinics: Equine Practice* **27**:129-147.

Trottier NL, Bott RC, Woodward A, Greene EA, Williams CA, Westendorf ML, Martinson K. 2016. Gastrointestinal nitrogen metabolism of equids and impact on protein requirement. *Journal of Equine Veterinary Science* **45**:78-86.

Underwood EJ. 1977. *Trace elements in human and animal nutrition*. Academic Press, New York, USA.

Upasani CD, Balaraman R. 2003. Protective effect of *Spirulina* on lead induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytotherapy Research* **17**:330–334.

- Van der Poel AFB, Abdollahi MR, Cheng H, Colovic R, Den Hartog LA, Miladinovic D, Hendriks WH. 2020. Future directions of animal feed technology research to meet the challenges of a changing world. *Animal Feed Science and Technology* **270** (e114692) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114692>.
- Van Doorn DA, Everts H, Wouterse H, Beynen AC. 2004. The apparent digestibility of phytate phosphorus and the influence of supplemental phytase in horses. *Journal of animal science* **82**:1756-1763.
- Van Soest P, Mertens DR, Deinum B. 1978. Pre-harvest factors influencing quality of conserved forage. *Journal of Animal Science* **47**:713–720.
- Valberg SJ. 2017. Muscular systém. Pages 51-71 in Waldridge BM, editor. *Nutritional Management of Equine Diseases and Special Cases*. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey.
- Venkataraman LV, Somasekaran T, Becker EW. 1994. Replacement value of blue-green alga (*Spirulina platensis*) for fishmeal and a vitamin-mineral premix for broiler chicks. *British Poultry Science* **35**:373–381.
- Vervuert I, Kienzle E. 2013. Assessment of nutritional status from analysis of blood and other tissue samples. Pages 425-442 In Georg RJ, Harris PA, Coenen M, editors. *Equine Applied and Clinical Nutrition*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Volkman H, Imianovsky U, Oliveira JL, Sant'Anna ES. 2008. Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* in desalinator wastewater and salinated synthetic medium: protein content and amino-acid profile. *Brazilian Journal of Microbiology* **39**:98-101.
- Vonshak A. 1997. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, Cell-biology and Biotechnology. Taylor & Francis, London.
- Walton RM, Cowell RL, Valenciano AC. 2021. *Equine Hematology, Cytology, and Clinical Chemistry, Second Edition*. Wiley-Blackwell, Hoboken.
- Wehr U, Engelschalk B, Kienzle E., Rambeck WA. 2002. Iodine balance in relation to iodine intake in ponies. *The Journal of nutrition* **132**:1767S-1768S.
- Whitman WC, Bolin DW, Klosterman EW, Klostermann HJ, Ford KD, Moomaw L, Buchanan ML. 1951. Carotene, protein, and phosphorus in range and tame grasses of western North Dakota. *North Dakota Agric. Exp. Sta. Bull.* 370. Fargo, ND. North Dakota Agricultural Experiment Station, USA.
- Williams CA, Kronfeld DS, Hess TM, Saker KE, Waldron JN, Crandell KM, Harris PA. 2004. Antioxidant supplementation and subsequent oxidative stress of horses during an 80-km endurance race. *Journal of animal science* **82**:588-594.

Williams CA, Carlucci SA. 2006. Oral vitamin E supplementation on oxidative stress, vitamin and antioxidant status in intensely exercised horses. *Equine Veterinary Journal* **38**:617-621.

Winther K, Kharazmi A, Hansen ASV, Falk-Rønne J. 2012. The absorption of natural vitamin C in horses and anti-oxidative capacity: a randomised, controlled study on trotters during a three-month intervention period. *Comparative Exercise Physiology* **8**:195-201.

Yaakob Z, Ali E, Zainal A, Mohamad M, Takriff MS. 2014. An overview: biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture. *Journal of Biological Research-Thessaloniki* **21**: 1-10.

Yeagan M, de Assis Rocha I, Morrow J, Graves A, Reed SM, Howe DK. 2015. A new trivalent SnSAG surface antigen chimera for efficient detection of antibodies against *Sarcocystis neurona* and diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis. *Journal of veterinary diagnostic investigation* **27**:377-381.

Yu T, Wang Y, Chen X, Xiong W, Tang Y, Lin L. 2020. *Spirulina platensis* alleviates chronic inflammation with modulation of gut microbiota and intestinal permeability in rats fed a high-fat diet. *Journal of cellular and molecular medicine* **24**:8603-8613.

Zeyner A, Romanowski K, Vernunft A, Harris P, Müller AM, Wolf C, Kienzle E. 2017. Effects of different oral doses of sodium chloride on the basal acid-base and mineral status of exercising horses fed low amounts of hay. *PLoS One* **12**: (e0168325). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168325>.