

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv řepkového oleje na stravitelnost krmiv u koní**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Šárka Dvořáková**

**Výživa zvířat**

**Vedoucí práce: Ing. Miroslav Joch, Ph.D.**

**Konzultant: Ing. Denisa Tichá**

**© 2022 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv řepkového oleje na stravitelnost krmiv u 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 \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu diplomové práce Ing. Miroslavu Jochovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost, ochotu a pomoc při zpracování diplomové práce. Poděkovat bych chtěla dále Ing. Denise Tiché za ochotu, cené rady a pomoc při psaní této práce. Velké díky patří také mé rodině a přátelům za jejich pochopení a podporu během studia.

# Vliv řepkového oleje na stravitelnost krmiv u koní

## Souhrn

Oleje jsou čím dál tím oblíbenějším krmným doplňkem denních krmných dávek koní. Zdají se být vhodnou alternativou pro koně, kteří jsou krmeni velkým množstvím obilovin, které jsou bohaté na škrob. Vysoké dávky škrobových zrn v krmné dávce koní jsou spojovány s četnými zdravotními riziky, ale díky oleji jsme schopni do krmné dávky dodat dostatek potřebné energie a tím se vyhnout negativním účinkům nadměrného škrobového kvašení v tlustém střevě. Je mnoho studií, které se zabývají otázkou vlivu oleje na stravitelnost krmiv a krevních parametrů u zvířat, ale tato práce se řadí mezi jedny z prvních, která zkoumala, jaký vliv má na tyto parametry řepkový olej u koní.

Cílem vědecké části této práce bylo zjistit, jaký vliv má řepkový olej na stravitelnost krmné dávky a krevních parametrů v séru testovaných koní. Do experimentu bylo zařazeno 9 koní plemene Český teplokrevník (sedm klisen a dva valaši,  $582 \pm 49$  kg), kteří byli po dobu pokusu ustájeni v individuálních boxech a krmeni dvěma typy krmných dávek. První krmná dávka, která sloužila jako kontrolní, se skládala z lučního sena a mačkaného ječmene. Krmiva byla rozdělena tak, aby podíl sušiny jednotlivých krmiv byl v poměru 75:25. Druhá krmná dávka obsahovala luční seno a část mačkaného ječmene byla nahrazena řepkovým olejem v takovém množství, aby olej tvořil 5 % sušiny z celkové krmné dávky. Obě krmné dávky byly tvořeny tak, aby byly izoenergetické a odpovídali potřebám jednotlivých koní. Pokus byl proveden v křížovém designu (change-over) a skládal se ze dvou testovacích období. Každé testovací období trvalo sedm dní a pokaždé mu předcházelo období navykací, při kterém si koně navykali na novou krmnou dávku, o délce 10 dní. Mezi jednotlivá období byla vložena doba odpočinku o délce 5 dní, během které obě skupiny koní přijímaly pouze kontrolní krmnou dávku. Celková délka experimentu tedy byla 39 dní. K odběru vzorků výkalů docházelo každý den v pokusném období a oděry krve se provedly před začátkem pokusného období a poslední den každého pokusného období. Odběr proběhl vždy před raním kmením.

Z analýzy vzorků výkalů, ze kterých se určovala zdánlivá stravitelnost, jsme dospěli k výsledkům, že zkrmováním řepkového oleje jsme docílili snížené ( $P < 0,05$ ) zdánlivé stravitelnosti pro sušinu, hrubý protein, organickou hmotu a NDF. Naopak k opravdu markantnímu zvýšení ( $P < 0,05$ ) zdánlivé stravitelnosti došlo u hrubého tuku. Co se týče analýzy vzorků získaného z krevního séra, zvýšení hodnot po doplňku řepkového oleje bylo zaznamenáno pro celkový protein, albumin, cholesterol, AST a vitamín E.

Celkově tak výsledky naznačují, že přidání řepkového oleje do krmné dávky koní může negativně ovlivnit stravitelnost živin. To může být nevhodné obzvláště u koní s vysokou potřebou živin. Řepkový olej se ukázal být pro koně dobrým zdrojem vitamínu E.

**Klíčová slova:** kůň, řepkový olej, stravitelnost, fermentace, těkavé mastné kyseliny

# Effect of canola oil on diet digestibility in horse

## Summary

Oils are becoming an increasingly popular feed supplement for daily feed rations for horses. They seem to be a suitable alternative for horses that are fed large quantities of cereals that are rich in starch. High doses of starch grains in the feed ration of horses are associated with numerous health risks, but due to the oil we are able to supply enough energy to the feed ration and thus avoid the negative effects of excessive starch fermentation in the large intestine. There are many studies that address the effect of oil on feed digestibility and blood parameters in animals, but this work is one of the first to examine the effect that canola oil has on these parameters in horses.

The aim of the scientific part of this work was to determine the effect of canola oil on the digestibility of feed rations and blood parameters in the serum of tested horses. The experiment included 9 horses of the Czech Warmblood (seven mares and two geldings,  $582 \pm 49$  kg), which were stabled in individual boxes and fed two types of feed rations during the experiment. The first feed ration, which served as a control, was consisted of meadow hay and crushed barley. The feed was distributed so that the dry matter content of the individual feeds was 75:25. The second feed ration contained meadow hay and part of the crushed barley was replaced with canola oil in such an amount that the oil made up 5 % of the dry matter of the total feed ration. Both feed rations were designed to be iso-energetic and meet the needs of individual horses. The experiment was performed in a change-over design and consisted of two test periods. Each test period lasted seven days, each preceded by a habituation period in which the horses became accustomed to a new ration during a period of 10 days. There was a 5 days rest period inserted between each period, during which both groups of horses received only a control feed ration. Thus, the total duration of the experiment was 39 days. Feces samples were taken daily during the experimental period and blood collections were performed before the beginning of the experimental period and on the last day of each experimental period. Collection always took place before the morning feeding.

From the analysis of feces samples, from which the apparent digestibility was determined, we came to the results that by feeding canola oil we achieved reduced ( $P < 0.05$ ) apparent digestibility for dry matter, crude protein, organic matter and NDF. On the contrary, there was a significant increase ( $P < 0.05$ ) in apparent digestibility for crude fat. Regarding the analysis of blood serum samples, an increase in the values after canola oil supplementation was recorded for total protein, albumin, cholesterol, AST and vitamin E.

Overall, the results suggest that the addition of canola oil to the horse feed may negatively affect nutrient digestibility. This can be unsuitable especially for horses with a high need for nutrients. Canola oil has been shown to be a good source of vitamin E for horses.

**Keywords:** horse, canola oil, digestibility, fermentation, volatile fatty acids

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b>	<b>8</b>
<b>2.1</b>	<b>Cíle práce</b>	<b>8</b>
<b>2.2</b>	<b>Hypotézy</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b>	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>Využití oleje ve výživě koní</b>	<b>9</b>
<b>3.2</b>	<b>Tuky</b>	<b>10</b>
3.2.1	Mastné kyseliny	10
3.2.1.1	Omega-3 a omega-6 mastné kyseliny	11
3.2.2	Trávení tuků	16
3.2.2.1	Vliv oleje na stravitelnost minerálních látek a vitamínů	19
3.2.3	Potenciální výhody zvýšeného příjmu tuků	20
3.2.3.1	Modulace glykemických a inzulinemických odpovědí	20
3.2.3.2	Metabolická adaptace a reakce na zátěž	21
<b>3.3</b>	<b>Praktické využití oleje ve výživě koní</b>	<b>22</b>
3.3.1	Možnosti zahrnutí tuků do krmné dávky koně	23
3.3.2	Navykání na tuky v krmné dávce	24
3.3.3	Požadavky na antioxidanty při zkrmování oleje	25
3.3.4	Vlastnosti oleje	25
<b>3.4</b>	<b>Olej a jeho vliv na další onemocnění</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>Metodika</b>	<b>28</b>
<b>4.1</b>	<b>Řepkový olej</b>	<b>28</b>
<b>4.2</b>	<b>Zvířata a design experimentu</b>	<b>29</b>
<b>4.3</b>	<b>Krmná dávka</b>	<b>29</b>
<b>4.4</b>	<b>Sběr vzorků výkalů a jejich analýza</b>	<b>30</b>
<b>4.5</b>	<b>Krevní parametry</b>	<b>31</b>
<b>4.6</b>	<b>Statistická analýza</b>	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky</b>	<b>32</b>
<b>5.1</b>	<b>Stravitelnost krmné dávky</b>	<b>32</b>
<b>5.2</b>	<b>Krevní parametry</b>	<b>32</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze</b>	<b>34</b>
<b>6.1</b>	<b>Ovlivnění stravitelnosti krmiv</b>	<b>34</b>
<b>6.2</b>	<b>Ovlivnění krevních parametrů</b>	<b>36</b>
<b>7</b>	<b>Závěr</b>	<b>39</b>
<b>8</b>	<b>Literatura</b>	<b>40</b>

# 1 Úvod

Po rozvoji mechanizace byl kůň konečně osvobozen od války, dopravy i práce v zemědělství a začal být využíván k zábavě, rekreaci, a především k jezdeckému sportu. Právě sportovní využití, vedlo k rostoucím požadavkům na výkonnost koní. Postupným zušlechťováním se začal klást i větší důraz na výživu koní. Díky moderním technologiím a novým výzkumným postupům, které máme dnes k dispozici, jsme každým dnem o krok blíže k lepšímu poznání a pochopení zaživacího traktu koní a můžeme jim dopřát krmivo přesně podle jejich individuálních potřeb.

Vysoko výkonnostním sportovním ale i pracovním či starým koním a klisnám v laktaci, musíme dodat dostatek dobře stravitelné energie. Náhrada zrnin rostlinnými oleji je jednou z možností, jak poměrně bezpečně zvýšit energetickou hodnotu krmné dávky. Mezi světově nejpoužívanější oleje u koní patří sójový, kukuřičný, lněný či slunečnicový. Kromě lněného oleje mají ostatní uvedené oleje nevýhodné zastoupení a poměr mezi omega-6 a omega-3 nenasycenými mastnými kyselinami. Nevýhodné je to z toho důvodu, že mají výrazně vyšší zastoupení omega-6 mastných kyselin, jejichž výrazný nadbytek může dle klinických studií podporovat zánětlivé procesy v organismu. Lněný olej je však na druhou stranu drahý, což je jeho velká nevýhoda. Z tohoto důvodu byl pro tuto studii vybrán olej řepkový, který v sobě kombinuje poměrně výhodné zastoupení nenasycených mastných kyselin, snadnou dostupnost a nižší cenu.

Díky dostupnosti a ceně je řepkový olej v krmivářské praxi hojně využíván. Proto je až překvapivé, že vědeckých studií, které by se zabývali řepkovým olejem a jeho vlivem na stravitelnost krmné dávky zvířat, je velmi málo. Tato práce je jedou z prvních, která se zaměřuje právě na řepkový olej a jeho využití ve výživě koní. Chtěli jsme se v této práci zaměřit na stravitelnost živin krmné dávky a rozsah mikrobiální fermentace v distálních částech trávicí soustavy po doplnění řepkového oleje do krmné dávky. Kvůli technickým problémům jsme však nebyli schopni stanovit parametry výkalů, které by nám určili rozsah mikrobiální fermentace. Nicméně hlavní cíl práce, ovlivnění vlivu řepkového oleje na stravitelnost krmné dávky, byl splněn. Do práce jsme navíc zařadili analýzu krevních parametrů koní a zjištění, jaký vliv má na tyto parametry přídavek řepkového oleje do krmné dávky.

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

### **2.1 Cíle práce**

Cílem práce je ověřit vliv přídavku řepkového oleje do krmné dávky na stravitelnost krmiv u koní.

### **2.2 Hypotézy**

Přídavek řepkového oleje do krmné dávky koní:

- Sníží stravitelnost živin krmné dávky (především frakcí vlákniny, tzn. NDF a ADF).
- Sníží rozsah mikrobiální fermentace v distálních částech trávicí soustavy (celková množství těkavých mastných kyselin a amoniakálního dusíku ve výkalech budou sníženy).



## 3 Literární rešerše

### 3.1 Využití oleje ve výživě koní

Koně našli své uplatnění v jezdeckém sportu a díky tomu jsou na ně kladeny čím dál tím vyšší požadavky na jejich výkonnost. To vede k tomu, že mají často enormní požadavky na energii, kterou jsme pro udržení výkonnosti, nuceni koni dodat v krmné dávce (Gatta et al. 2005; Delobel et al. 2008). Tradičně se sportovní koně krmí objemným a jadrným krmivem, kdy jadrný koncentrát se skládá především z obilovin, které mají vysoký obsah škrobu. Běžná praxe, při zvýšené potřebě energie, pak spočívá v tom, že se koni do krmné dávky přidá více obilovin, což vede k tomu, že zvířata konzumují vyšší množství snadno dostupných sacharidů. Již dříve bylo zjištěno, že tento typ krmiva, který je založený na vysokém obsahu škrobu negativně ovlivňuje zdraví koní (Tinker et al. 1997; MacLeay et al. 1999; Goncalves et al. 2002; Delobel et al. 2008; Luthersson et al. 2009) a jejich chování (Kusunose 1992; Gillham et al. 1994; Redbo et al. 1998).

Krmení velkého množství škrobu s sebou přináší hned několik rizik. Dochází k překyselení zadní části střeva i celého gastrointestinálního traktu a rozvoji gastrointestinálních a extra-intestinálních poruch, jako jsou koliky, žaludeční vředy či laminitida. Někteří citlivější koně mohou na vysoké dávky obilovin reagovat nervózním chováním a ohnivějším temperamentem (Sprouse et al. 1987; Clarke et al. 1990). Navíc bylo dokázáno, že výskyt atypického či stereotypního chování, jako je například koprofágie, žvýkání dřeva či klkání, obvykle může souviset s vyšším příjmem koncentrovaného krmiva (Willard et al. 1977). Několik studií také poukazuje na to, že hyperglykémie a hyperinzulinémie souvisí s vyšším příjmem obilovin a zároveň ovlivňuje výskyt osteochondrózy (Glade et al. 1984; Ralston 1996).

Kvůli problémům, které doprovází podávání krmiv s vysokým obsahem škrobu, bylo důležité najít vhodnou alternativu k obilninám a posunout tak výživu sportovních koní jiným směrem. Vhodným doplňkem, bohatým na energii, se zdají být tuky. Největším přínosem, který oleje pro pracující koně představují, je velmi vysoký obsah energie v porovnání s obilovinami. Oleje obsahují téměř třikrát (9,19 Mcal/kg) více energie než oves (3,27 Mcal/kg). Díky tomu můžeme například 1 kg ovsa nahradit přibližně 355 ml rostlinného oleje. Přidáním oleje do denní krmné dávky tedy dosáhneme snížení celkového objemu krmiva, kterého je potřeba koni podat pro naplnění jeho energetické potřeby. To ocení mnoho chovatelů koní, kteří se potýkají s problémem, že jejich koně se často potýkají s nechutenstvím, jelikož právě díky oleji se i u takovýchto koní daří udržet hmotnost a využít jejich potenciál v tréninku či soutěži. Předmětem dalšího zkoumání tedy bylo, zda vysokoenergetická krmiva mohou nějak negativně ovlivnit výkonnost sportovního koně (Connysson et al. 2006; Connysson et al. 2010; Essen-Gustavsson et al. 2010; Ringmark et al. 2017; Williams et al. 2018).

Bylo zjištěno, že krmná dávka obohacená o olej je vhodnou alternativou ke krmné dávce, která je bohatá na obiloviny, tudíž i na škrob. Tato krmiva přináší koním hned několik benefitů v podobě lepší obnovy svalů (Essen-Gustavsson et al. 2010), rovnováže tekutin (Connysson et al. 2010) a vede i ke zlepšení celkové výkonnosti koně (Ringmark et al. 2017).

Energetické nároky jsou primárně ovlivněny velikostí těla koně, jeho aktivitou a teplotou prostředí (Hintz & Cymbaluk 1994). Přidáním olejů do krmné dávky dosáhneme

toho, že se zvýší energie krmné dávky, ale nedojde k významnému navýšení množství podávaného krmiva. Dochází tím ke snížení množství krmiva, které je potřeba koni zkrmit, zároveň tělo produkuje méně metabolického tepla, které se vylučuje během trávení a fyzické aktivity, díky kterému je kůň schopen podat lepší výkon, méně se potí, dochází k nižší ztrátě elektrolytů a můžeme tím předejít i případné dehydrataci, ke které často dochází při vysokých teplotách (Godoi et al. 2010).

Podávání olejů koním v krmné dávce prokazatelně zlepšuje vytrvalosti koní během tréninku, což je spojeno s tím, že je využíván svalový glykogen v menším množství. Oleje jsou cenným zdrojem mastných kyselin, které jsou zdrojem energie pro svaly při pomalém a středním tempu, zatímco glykogen je jediným zdrojem energie, který je sval možný využívat při vysokém tempu a těžké práci. Dochází tedy k tomu, že v okamžiku, kdy je ve svalech pracujícího koně vyčerpán glykogen, svaly se unaví, kvůli tomu kůň zpomalí a ztratí schopnost podat výkon na úrovni, které je schopen. Zkrmováním oleje poskytujeme svalům zdroj mastných kyselin, které jsou využívány během zahřívací fáze a svaly jsou tak schopny si šetřit glykogen do fáze nejvyšší zátěže a vyhýbat se tak předčasné únavě. Například u dostihových koní, kteří musí podat co nejlepší výkon při dostihu na krátké vzdálenosti, se často setkáváme s problémem, že v průběhu dostihu dojde k vyčerpání zásob glykogenu a kůň pak není schopen podat v cílové rovině stejný výkon, kterého by byl schopný, pokud by byla jeho krmná dávka obohacena o olej (Godoi et al. 2010).

## 3.2 Tuky

Tuky jsou chemicky a strukturně různorodé, podobně jako ostatní třídy živin. Struktura tuku má přímý vliv na jeho fyzikální vlastnosti a také na jeho biologické chování a aktivitu. Přirozeně se vyskytující tuky v píce a obilných zrnech mají formu jednoduchých lipidů (di- a triacylglycerol, neesterifikované mastné kyseliny, vosky a esteroly) a komplexních lipidů (glykolipidy a fosfolipidy) (Hargin & Morrison 1980; Harwood 1996; Zhou et al. 1999).

### 3.2.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou základní složky tuků. Většinu tuků a olejů, které se přidávají do krmné dávky koní, tvoří triacylglyceroly, které se skládají ze tří mastných kyselin esterifikovaných na tři uhlíkovou molekulu glycerolu. Každá mastná kyselina je uhlíkový řetězec, který může mít různou délku od 2 do 28 uhlíků. Avšak esterifikované mastné kyseliny, které jsou přítomny ve většině krmiv se obvykle skládají z 12 až 22 uhlíků (Geor et al. 2013).

Mastné kyseliny obsahují atomy uhlíku, vodíku a kyslíku, které tvoří strukturu podobnou řetězci. Na jednom konci je methylová skupina ( $\text{CH}_3$ ) a na konci druhém je ve vodě rozpustná karboxylová skupina ( $\text{COOH}$ ). Mastné kyseliny mají primárně formu esterů v přírodních tucích a olejích. Mohou však být i v neesterifikované formě, jako volné mastné kyseliny nacházející se v plazmě. Mastné kyseliny přítomné v přírodních tucích mají tendenci být deriváty s přímým řetězcem a obsahují sudý počet uhlíků (Furtney et al. 2009).

Kromě délky se mastné kyseliny mohou lišit také mírou nasycení. Vazby, které jsou mezi jednotlivými atomy uhlíku, klasifikují mastné kyseliny buď jako nasycené nebo nenasyčené. Mastné kyseliny, které neobsahují žádné dvojně vazby mezi atomu uhlíku,

se označují jako nasycené mastné kyseliny. Dvojná vazba mezi libovolnými dvěma uhlíky kategorizuje tuto mastnou kyselinu jako nenasycenou. Nenasycené mastné kyseliny se dají dále rozdělit na mononenasycené (jedna dvojná vazba), polynenasycené (dvě a více dvojných vazeb) a eikosanoidy. Dvojně vazby jsou stabilnější vůči rotaci uhlíkových atomů podél osy vazby než vazby jednoduché. Dvojně vazby v mastných kyselinách jsou náchylnější k oxidaci (Furtney et al. 2009).

Nasycené mastné kyseliny mají vysokou teplotu tání. Zdroje tuku bohaté na nasycené mastné kyseliny, jako je živočišné sádlo nebo lůj, jsou při pokojové teplotě pevné. Naproti tomu nenasycené mastné kyseliny mají nižší bod tání, takže tuk je tekutý (tj. olej) nebo téměř tekutý při pokojové teplotě. Většina rostlinných tuků má relativně vysoký obsah nenasycených mastných kyselin, mezi výjimky platí kokosový a palmový olej (Geor et al. 2013).

Každá mastná kyselina má na jednom konci uhlíkového řetězce skupinu karboxylové kyseliny a na druhém konci methylovou skupinu. Karboxylový uhlík je označován jako delta ( $\Delta$ ) uhlík, zatímco methylový uhlík je značen jako omega ( $\omega$  nebo  $n$ ). Oba tyto orientační body jsou používány k odkazování na polohu dvojně vazby v mastné kyselině, přičemž odkaz na omega uhlík je často upřednostňován (Geor et al. 2013).

Mastné kyseliny dále rozlišujeme na esenciální a neesenciální. Ve výživě zvířat se nejvíce zaměřujeme na kyseliny esenciální, protože zvíře je odkázáno na jejich doplnění pomocí krmiva, jelikož jeho organismus si je neumí vyrobit sám. Ve výživě zvířat nás obvykle zajímají nejvíce dvě stěžejní mastné kyseliny, a to kyselina  $\alpha$ -linolenová (ALA) a kyselina linolová (LA). Kyselina  $\alpha$ -linolenová je omega-3 mastná kyselina, zatímco kyselina linolová se řadí mezi omega-6 mastné kyseliny. Savci postrádají enzymy A12- a A15-desaturázy, které jsou nezbytné pro desaturaci osmnácti uhlíkové mastné kyseliny v polohách omega-3 a omega-6. Proto ALA a LA nemohou být syntetizovány v těle a zvíře je odkázáno na jejich příjem v krmivu (Geor et al. 2013). Nedostatek kyseliny linolové může vést k úbytku tkání, včetně mozku, což může mít za následek nedostatečný růst a vývoj (Furtney et al. 2009). Kyselina linolová je prekurzorem kyseliny arachidonové, nenasycené mastné kyseliny, jejíž primární úlohou je produkovat 20 uhlíkových signálních molekul, které jsou známé jako eikosanoidy. Eikosanoidy jsou důležité v tom, že regulují řadu buněčných funkcí, a to jak během fyziologických, tak i během zánětlivých událostí. Nejznámější třídou eikosanoidů jsou prostaglandiny. Eikosanoidy mají krátké poločasy rozpadu a jsou lokalizovány blízko místa jejich produkce, což ovlivňuje děje uvnitř i okolo buněk, které je produkují. Aby byly tyto signální molekuly účinné, musí být ve tkáni přítomna kyselina arachidonová a další mastné kyseliny produkující eikosanoidy (Hess & Ross-Jones 2014).

### **3.2.1.1 Omega-3 a omega-6 mastné kyseliny**

Všechny oleje obsahují prakticky stejné množství stravitelné energie, ale existují i další rozdíly, které je potřeba zvážit při výběru oleje. Důležitý je obsah esenciálních mastných kyselin v oleji. Koně potřebují přijímat ze své stravy omega-3 a omega-6 mastné kyseliny. Obiloviny mají přirozeně vysoký obsah omega-6 mastných kyselin, takže pro koně, kterým je podávána strava bohatá na obiloviny je vhodnější zvolit olej s vyšším obsahem omega-3 mastných kyselin (Geor et al. 2013).

Omega-3 a omega-6 mastným kyselinám (FA) je věnována pozornost pro jejich roli při udržování fluidity a integrity buněčné membrány. Tyto kyseliny v organismu dále ovlivňují funkci receptorů a iontových kanálů, genovou expresi, neurální a retinální vývoj, zánět a imunitu zvířete. Omega-6 i omega-3 mastné kyseliny přispívají k normálním biologickým reakcím. Kyselina linolová (LA) patří do skupiny omega-6 mastných kyselin a může se v těle prodlužovat a desaturovat za vzniku polynenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem, jako je kyselina dihomogamma-linolenová (DGLA) a kyselina arachidonová (AA). Mezi omega-3 mastné kyseliny patří kyselina alfa-linolenová (ALA), ze které vzniká kyselina eikosapentaenová (EPA) a kyselina dokosahexaenová (DHA) (Geor et al. 2013). Zdá se, že si koně dokážou syntetizovat polynenasycené mastné kyseliny s delším řetězcem z LA a ALA, o čemž svědčí přítomnost AA, EPA a DHA v buněčných membránách, přestože tyto mastné kyseliny nebyly doplněny krmivem (Warren & Kivipelto 2008).

Omega-3 a omega-6 mastné kyseliny mezi sebou soutěží o dostupné enzymy a o začlenění fosfolipidů buněčné membrány. Bude-li přítomna EPA ve větším množství, bude inkorporována do buněčných membrán částečně na úkor AA (Calder 2006). Výsledné změny fluidity a integrity membrány, stejně jako signalizace buněčných receptorů a syntézy proteinů, mohou změnit biologickou odpověď na trauma nebo infekci. Kromě toho jsou silné biologické mediátory známé jako eikosanoidy syntetizovány oxidací EPA, DGLA a AA umístěných v buněčných membránách. Eikosanoidy, mezi které patří prostaglandiny, leukotrieny a tromboxany, zprostředkovávají několik dějů včetně zánětů, průtoku krve a tlaku a srážení krve. Eikosanoidy odvozené od omega-6 mastných kyselin stimulují silnější prozánětlivé reakce, zatímco eikosanoidy pocházející z omega-3 mastných kyselin vyvolávají slabší zánětlivé reakce. Ve skutečnosti je to však rovnováha vyprodukovaných eikosanoidů, která vytváří konečnou biologickou odpověď (Calder & Grimbe 2002).

Fosfolipidy, které tvoří většinu buněčných membrán, silně závisí na zdrojích bohatých na kyselinu arachidonovou (Furtney et al. 2009). Navíc bylo zjištěno, jak důležité jsou esenciální mastné kyseliny pro správné fungování organismu (Burr & Burr 1929). Krmení zvířat dietou, která neobsahovala žádný tuk, odhalilo řadu problémů, které se u zvířat začaly objevovat, jakými jsou dermatitida, reprodukční problémy a papilární nekróza. Tento stav je připisován deficitu n-3 a n-6 mastných kyselin a zvyšující se koncentraci n-9 mastných kyselin. Dle King et al. (2008) optimální poměr n-6:n-3 je 4,5:1 při doplňování 30 až 35 g/den PUFA pro koně.

### **3.2.1.1.1 Omega-3 mastné kyseliny jako součást krmné dávky**

Kůň, jakožto býložravec je přizpůsoben k přijímání potravy přirozeně bohaté na omega-3 mastné kyseliny. Pícniny překvapivě také obsahují tuk, ale je ho v nich obsaženo jen malé množství, uvádí se kolem 2 až 4 %. Významné množství tohoto tuku (39-56 %) se skládá z ALA (Boufaïed et al. 2003; Warren & Kivipelto 2007; Warren & Kivipelto 2007). V čerstvé píce a seně podíl ALA obvykle převyšuje podíl LA. Naproti tomu obilná zrna, sójový extrahovaný šrot, rýžové otruby a většina rostlinných olejů jsou bohaté na omega-6 mastnou kyselinu linolovou. Například kukuřičný a sójový olej obsahují přes 50 % LA a tuk v rýžových otrubách obsahuje přibližně 35 % LA (Geor et al. 2013).

Poměr mezi omega-6 a omega-3 mastnými kyselinami je důležitý kvůli jejich konkurenční povaze a rozdílné biologické roli. Vzhledem k protizánětlivým a imunomodulačním aktivitám omega-3 mastných kyselin (Calder 2006) by naším cílem mělo být jimi krmnou dávku doplňovat. Kromě čerstvé píce a kvalitního sena jsou dobrými zdroji ALA, které se běžně využívají, lněné semínko a lněný olej. Rybí tuky a doplňky pocházející z řas jsou bohaté na n-3 FA, EPA a DHA. Avšak u těchto zdrojů mastných kyselin si musíme dávat pozor na vysoký obsah vitamínu A, kontaminaci těžkými kovy, jako je měď nebo rtuť, a jinými organickými látkami (Domingo et al. 2007).

Koně dokáží metabolizovat polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, jako je kyselina  $\alpha$ -linolenová, na EPA, DHA a kyselinu n-3 dokosapentaenovou (DPA) pomocí enzymů desaturázy. Přeměna kyseliny  $\alpha$ -linolenové na EPA a DHA v těle je pomalá. Uvádí se, že přibližně 15 % kyseliny  $\alpha$ -linolenové může být přeměněno na EPA a pouze 5 % na DHA (Sprecher 1977; German et al. 1996; Arterburn et al. 2006). Zdravotní benefity převládají při doplňování přímými zdroji EPA a DHA. I když jsou rostliny bohaté na kyselinu  $\alpha$ -linolenovou (ALA) a kyselinu linolovou (LA), jejich přeměna na EPA a DHA je velmi pomalá. Toto tvrzení potvrzuje studie od Hansen et al. (2002), ve které byli koně krmeni lněným olejem a byla u nich zjištěna vyšší koncentrace ALA i LA, nicméně nebyly zde zpozorovány žádné rozdíly v koncentraci EPA a DHA oproti koním, kterým byla podávána krmná dávka bez přidaného oleje. Výsledky této studie jsou připisovány neefektivní a pomalé přeměně EPA a DHA z ALA. Lněný olej je sice bohatý na koncentraci ALA a LA, avšak jeho suplementace nemusí u koní změnit poměr mezi n-6 a n-3 mastnými kyselinami, jako je tomu například u olejů získaných z ryb (Furtney et al. 2009). Další výsledky výzkumu naznačují, že n-3 DPA a DHA hrají také zásadní roli zprostředkování zánětlivé reakce ve spojení s EPA (Kaur et al. 2011). Ukázalo se, že zvýšený příjem EPA a DHA v závislosti na dávce snižuje množství kyseliny arachidonové (ARA) ve fosfolipidech buněčné membrány, které se účastní zánětu. Dále bylo prokázáno, že zvýšený příjem EPA inhibuje metabolismus ARA a snižuje expresi prozánětlivého genu COX-2 (Calder 2014).

Doplňováním omega-3 mastných kyselin můžeme jedinci pomoci se vypořádat se zánětem. Buněčné aktivity, které se zapojují do zánětlivých reakcí jsou uzpůsobeny tak, aby zabránily patogenům dalšímu napadání organismu. Mohou však způsobit i poškození tkání hostitele. Zánět obvykle sám a rychle odezní v důsledku aktivace mechanismů negativní zpětné vazby, jako je sekrece protizánětlivých cytokinů nebo lipidových mediátorů, které podporují uvolňování receptorů pro zánět a aktivaci regulačních buněk. Ztráta tohoto regulačního procesu může mít za následek nadměrný, nepřiměřený nebo chronický zánět, který může vážně škodit organismu (Calder 2014). Jako součást protizánětlivých mechanismů jsou známy produkty metabolismu n-3 mastných kyselin, nazvané resolviny, které jsou vytvořené z EPA a DHA (Calder 2009). Protektiny jsou další třídou mediátorů produkovaných z DHA (Calder 2014).

Většina výzkumů, které se zbyvaly suplementací omega-3 mastných kyselin u koní, se zaměřily na záněty. Výsledky raných studií ukázaly na slibné účinky suplementace lněným olejem, kde došlo ke snížení prokoagulační aktivity monocytů spolu se sníženou produkcí tromboxanu a tumor nekrotizujícího faktoru- $\alpha$  (faktor nádorové nekrózy  $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ ) (Henry et al. 1990; Morris et al. 1991). Dále při suplementaci 3 % rybího oleje u testovaných jedinců došlo ke snížené produkci prostaglandinu E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) buňkami, které obsahovala tekutina z bronchoalveolární laváže (BALF), oproti koním, kterým byl podáván kukuřičný olej (Hall

et al. 2004; Hall et al. 2004). V další studii byly koně krmení 10 % kukuřičného oleje a došlo u nich ke zvýšení hladiny proteinového fibrinogenu při klidové fázi, a i při práci oproti koním, kteří byli krmení 10 % sójového oleje nebo nízkotučnou kontrolní krmnou dávkou (Wilson et al. 2003). V jiné studii, která se zabývala koním trpících rekurentní obstrukcí dýchacích cest, bylo zjištěno, že po doplnění FA krmivem došlo ke snížení počtu leukocytů obsažených v plicním epitelu (Khol-Parisini et al. 2007).

I přesto, že jsou informace omezené, zdá se, že resolviny a protektiny odvozené od n-3 PUFA se významně podílejí na řešení zánětu (Kohli & Levy 2009). Protektiny jsou produkovány z DHA a jsou známy díky své obranné aktivitě v zánětlivých a nervových systémech. Biologické účinky resolvinů a protektinů byly studovány na buněčných kulturách a zvířecích modelech a bylo prokázáno, že stimulují rozlišení a snižují velikost zánětlivé reakce *in vivo* (Serhan et al. 2008). Mezi další protizánětlivé účinky n-3 PUFA z rostlinných a živočišných zdrojů patří snížená produkce cytokinů *in vitro* (De Caterina et al. 1994) a *in vivo* (Meydani et al. 1993; Grimm et al. 1994; McCann et al. 2000).

U lidí bylo prokázáno, že suplementace n-3 PUFA s dlouhým řetězcem zlepšuje zánětlivé stavy, předchází kardiovaskulárním onemocněním (Calder 2001) a snižuje bolest a zánět u pacientů s revmatoidní artritidou (MacLean et al. 2004). U artritických koní suplementace EPA a DHA prodloužila délku kroku (Woodward et al. 2005) a došlo ke snížení množství zánětlivých markerů (Manhart et al. 2009). U koní krmených rybím olejem došlo k syntéze leukotrienů, které ovlivňují zánětlivé stavy (Hall et al. 2004). Suplementace n-3 PUFA v krmivech bude mít také vliv na expresi zánětlivých genů (Renier et al. 1993; Curtis et al. 2000; Wallace et al. 2001).

Suplementace omega-3 mastnými kyselinami může také pomoci koním, kteří trpí osteoartrózou. Toto tvrzení je primárně založeno na výsledcích výzkumů, které byly prováděny na lidech s revmatoidní artritidou, jak již bylo řečeno výše. Tyto výsledky naznačují, že suplementace rybím olejem může snížit projev klinických příznaků (Lau et al. 1993; Cleland et al. 1998; Berbert et al. 2005). Studií přímo na koních je málo a výsledky je potřeba interpretovat velmi opatrně, protože etiologie revmatoidní artritidy a degenerativní osteoartritidy se dosti liší. Ve studii od Woodward et al. (2005) měli koně, po suplementaci rybím olejem, tendenci mít delší krok v klusu, což naznačuje menší bolestivost oproti koním, kterým byl zkrmován kukuřičný olej. Hodnoty sérových PGE<sub>2</sub> a TNF- $\alpha$  se mezi jednotlivými dietami nelišily. Manhart et al. (2009) podávali koním s artritidou EPA a DHA po dobu 90 dnů a uvedli, že došlo ke snížení celkových leukocytů v synoviální tekutině artritických kloubů, snížení PGE<sub>2</sub> v plazmě a snižování koncentrace fibrinogenu oproti koním, kteří nedostávali žádný doplněk obohacený o EPA a DHA. Ačkoliv autoři dospěli k závěru, že suplementace omega-3 mastných kyselin by prospěla koním trpícím na osteoartrózu, nedošlo k žádnému zlepšení klinických příznaků. Souhrnně tyto studie poskytují některé užitečné předběžné údaje, ale nenabízí dostatečný důkaz, který by potvrdil to, že suplementace omega-3 mastných kyselin zmírňuje artritický zánět u koní. K charakterizaci účinků suplementace omega-3 mastných kyselin na degenerativní osteoartrózu u koní je potřeba dalšího komplexnějšího výzkumu (Geor et al. 2013).

Ačkoli *in vitro* a *ex vivo* metody měření imunitních funkcí jsou důležité pro získání základních znalostí o tom, jak mohou omega-3 mastné kyseliny v dietě ovlivnit zánětlivé procesy, hodnocení *in vivo* odpovědi je zásadní pro hodnocení klinického významu. Bohužel

pouze několik studií na koních se pokusilo kvantifikovat protizánětlivé účinky suplementace n-3 mastných kyselin pomocí modelu *in vivo*. V reakci na podání endotoxinu byla zpozorována delší rekalifikace krve a srážení krve, ale naopak žádné rozdíly nenastaly v produkci zánětlivých eikosanoidů u koní, kteří dostávali krmnou dávku obohacenou z 8 % lněným olejem (Henry et al. 1991). Další studie se zabírala 6 koňmi, kteří trpěli na letní dermatitidu. Těmto koním byla po dobu 42 dnů podávána krmná dávka obohacená o lněné semínko v množství 0,1 % jejich tělesné hmotnosti. U takto suplementovaných koní došlo ke zmenšení velikosti lézí po vystavení jedinců alergenu (O'Neill et al. 2002). Na rozdíl od těchto výsledků se míra pruritu a velikosti plochy lézí nezměnila u 17 koní, kteří trpěli na letní dermatitidu a byly sledovány po dobu 6 týdnů, kdy byly suplementovány 200 ml lněného oleje ve studii od Friberg & Logas (1999).

V sérii studií, které zkoumaly účinky suplementace mastných kyselin na aspekty vrozené a získané imunity, nebyly proliferace lymfocytů a funkce neutrofilů ovlivněny suplementací omega-3 mastných kyselin (Vineyard et al. 2007; Vineyard et al. 2008; Vineyard et al. 2010). Dále byla produkce lymfocytů PGE<sub>2</sub> snížena a odpověď na očkování se zvýšila při podávání krmné dávky bohaté na tuk (100 g/kg krmiva), jejíž součástí byly buď omega-3 mastné kyseliny, jako rybí tuk, nebo omega-6 mastné kyseliny, jako kukuřičný olej (Vineyard et al. 2008). Výsledky těchto studií naznačují, že omega-3 a omega-6 mastné kyseliny hrají roli při imunitních funkcích klinicky zdravých koní, ale je zapotřebí dalších studií k identifikaci účinků krmení tukem u koní, kteří trpí na autoimunitní nebo zánětlivá onemocnění, a potenciálu pro zvýšení dietárního příjmu omega-3 mastných kyselin za účelem modulace závažnosti a/nebo progresu onemocnění (Geor et al. 2013).

Dále je sledováno, jaký vliv může mít suplementace omega-3 mastných kyselin na reprodukci. Ve studii od autorů Harris et al. (2005) bylo pozorováno šest hřebců, kteří byli po dobu 90 dní krmeni krmnou dávkou obohacenou o rybí tuk, který obsahoval 29 g DHA a EPA. U této šestice hřebců byla zpozorována zvýšená denní produkce spermií a zvýšilo se procento morfologicky normálních spermií, naopak suplementace n-3 mastných kyselin nijak nezměnila motilitu v čerstvém, chlazeném nebo mraženém spermatu. V další studii od Brinsko et al. (2005) s osmi hřebci, kteří byli po dobu 98 dnů denně suplementováni 75 g omega-3 mastných kyselin (z toho 20 g/den se odhaduje na DHA a EPA) nedošlo ke zlepšení vlastností čerstvého spermatu, ale zlepšila se motilita spermií po ochlazení a zmražení. Obě tyto studie poznamenaly, že k výraznějšímu zlepšení v reakci na suplementaci omega-3 mastných kyselin bylo zpozorováno u hřebců, kteří produkovali sperma se špatnou tolerancí vůči chlazení nebo kryokonzervaci. Jsou však zapotřebí další studie na větším počtu hřebců, aby se potvrdila tato zjištění a zlepšilo se vědomí o tom, jak doplňování omega-3 mastných kyselin s dlouhým řetězcem může zlepšit životnost spermií (Geor et al. 2013).

O'Connor et al. (2007) pozorovali, že díky suplementaci n-3 mastných kyselin došlo ke snížení cholesterolu a glyceridů v séru, což je žádoucí a zdraví jedince prospěšné. Dále při zkrmování n-3 mastných kyselin došlo ke zvýšení počtu červených krvinek, zvýšila se citlivost organismu na inzulín a takto obohacená krmná dávka může mít i antiluteolytické účinky, které mohou pomoci zlepšit plodnost klisny (Staples et al. 1998; Mattos et al. 2000) a to tím, že dojde ke snížení prostaglandinu F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>). Ovšem většina dostupných studií, které se zabývají suplementací PUFA a tím, jaký to může mít vliv na reprodukci, se provádí u skotu nebo prasat (Furtney 2009).

Přesný mechanismus, kterým může suplementace PUFA ovlivnit reprodukci zvířete, dosud není plně znám. Existuje několik hypotéz, které mohou vysvětlit účinek suplementace tuků. Některé z navrhovaných teorií jsou založeny na tom, jaký vliv má PUFA na energetickou bilanci, metabolismu nebo hormonální biosyntézu. Vědecké studie prokázaly, že doplněním n-3 a n-6 mastných kyselin, došlo ke zlepšení reprodukčních vlastností u prasat (Webel et al. 2007), dojnic (Badinga & Caldari-Torres 2007; Mann et al. 2007), lidí (Freeman & Sinha 2007) a koní (Brinsko et al. 2005; Squires 2007). Studie, prováděná u některých savců, ukázala, že suplementace n-3 mastných kyselin pocházející z ryb, může zvýšit sekreci progesteronu, a naopak snížit koncentraci PGF2 $\alpha$  (Cheng et al. 2001; Caldari-Torres et al. 2005; Wamsley et al. 2005). Reprodukční mechanismy savců jsou si z velké části podobné, takže není vyloučeno, že i u klisen dojde ke zlepšení parametrů březosti, jako u prasnic či dojnic (Furtney et al. 2009).

Další studie, která se zabývá rolí n-3 FA je od Portier et al. (2006), při které bylo šest sportovních koní po dobu 4 týdnů suplementováno antioxidačním doplňkem, který byl obohacený o n-3 FA ( $\alpha$ -tokoferol, EPA a DHA). Tato suplementace vyvolala změny ve složení membrány erytrocytů, takže u pracujících koní nebylo zpozorováno významné snížení fluidity membrány ve srovnání s koňmi, kterým bylo podáváno placebo. Jiná studie se zabývala suplementací rybím olejem v dávce 324 mg/kg tělesné hmotnosti (BW), který obsahoval 10,6 % EPA a 8 % DHA nebo kukuřičným olejem. Pokus probíhal po dobu 63 dnů, během nichž pracovali koně pětkrát týdně a procházeli postupně zátěžovými testy na běžícím pásu. Ve srovnání s kukuřičným olejem koně, kterým byl krmen rybí olej, vykazovali nižší srdeční frekvenci a byla u nich tendence mít nižší hematokrit včetně nižší koncentrace inzulínu v séru. A to i přes to, že poměr mezi glukózou a inzulínem byl vyšší (O'Connor et al. 2004).

### 3.2.2 Trávení tuků

Obecně se trávení tuků dá rozdělit do tří fází: (1) mechanické rozrušení velkých kapiček tuku na jemně rozptýlené, emulgované částice; (2) enzymatická hydrolyza lipidových esterů (tj. triacylglycerolu, fosfolipidů a cholesterol esterů); a (3) konverze ve vodě nerozpustných produktů lipolýzy na rozpustnou formu, která může být snadno adsorbována. Mechanické rozrušování tuků začíná v dutině ústní žvýkáním a pokračuje v žaludku fyzickým stloukáním. Tyto procesy emulgují dietní tuk, což vede k tvorbě malých lipidových kapiček, které poskytují větší povrchovou plochu pro připojení enzymů a žlučových solí, při průchodu tráveniny tenkým střevem (Geor et al. 2013).

Enzymatické trávení tuku začíná v žaludku. U koní je známo, že buňky žaludeční sliznice produkují velké množství žaludeční lipázy, která dosahuje své nejvyšší aktivity při pH 4. I když se předpokládá, že žaludeční lipáza iniciuje hydrolyzu triacylglycerolů, rozsah tukové lipolýzy probíhající v koňském žaludku není znám. U jiných druhů se předpokládá, že mastné kyseliny uvolňované v žaludku se účastní uvolňování gastrointestinálních hormonů, které přispívají k emulgaci tuku v duodenu (dvanáctníku). Cholecystokinín je vylučován duodenální sliznicí v reakci na částečně strávené tuky a bílkoviny a spouští uvolňování žluči a sekreci pankreatických enzymů. Kromě toho přítomnost žaludeční kyseliny v horní části tenkého střeva



spouští uvolňování sekretinu, který stimuluje sekreci bikarbonátu ze slinivky břišní (Moreau et al. 1988).

Produkty trávení přítomné v lumen duodena jsou jedním z mnoha faktorů, o kterých se předpokládá, že regulují rychlost vyprazdňování žaludku. Tuk způsobuje pomalejší vyprazdňování žaludku, než je tomu po zkrmování sacharidů (Meyer et al. 1986). Wyse et al. (2001) krmili poníky jadřným koncentrovaným krmivem, které se skládalo z ovsa a otrub (0,4-0,6 g/kg BW). K tomuto krmivu bylo přidáno 0; 35 nebo 70 ml sójového oleje (tj. 0; 24 nebo 38 % obsahu tuku v příkrmu). Ve dvou pozorováních, při kterých byl do krmné dávky přidán olej, došlo k významnému zpomalení vyprazdňování žaludku oproti dietě, ve které tuk obsažen nebyl. Na podobném principu byl postaven i pokus od autorů Geor et al. (2001), při kterém přidání kukuřičného oleje (10 %) také zpomalilo vyprazdňování žaludku. U jiných živočichů se ukázalo, že objem krmiva, kalorická hustota, viskozita a osmolalita také ovlivňují motorickou funkci žaludku (Meyer et al. 1986).

Po průchodu žaludkem tuk vstupuje do dvanáctníku, kde dochází k neutralizaci a úpravě smícháním se žlučí a pankreatickou šťávou. Kůň postrádá žlučník k ukládání žluči a místo toho je žluč nepřetržitě vylučována játry přímo do dvanáctníku. Spolu s pankreatickou šťávou se do střeva dostává i hydrogenuhličitan, který neutralizuje kyselost trávicího traktu. Pankreatická šťáva dále obsahuje enzymy, které štěpí mastné kyseliny z triacylglycerolu, fosfolipidů a esterů cholesterolu. Slinivka koní produkuje nejvíce lipázy, oproti jiným trávicím enzymům, jako je například amyláza či trypsin. Ukázalo se, že aktivita pankreatické lipázy je podobná u dospělých koní, prasat a potkanů (Lorenzo-Figueras et al. 2007).

Produkty vzniklé hydrolýzou lipidů v tenkém střevě se skládají do micel. Micely obsahují monovrstvu žlučových kyselin, monoacylglycerol a lysofosfolipidy, které obklopují jádro neesterifikovaných mastných kyselin (NEFA), cholesterol a vitamíny rozpustné v tucích. Micely transportují lipidy ke kartáčovému lemu tenkého střeva a předpokládá se, že vzhledem k jejich malé velikosti se snadno dostanou na povrch membrány mikroklků, kde uvolňují NEFA a monoacylglyceroly (Mansbach & Gorelick 2007).

Uvnitř enterocytů jsou mastné kyseliny transportovány cytosolovými transportními proteiny mastných kyselin do endoplazmatického retikula, kde jsou reesterifikovány za vzniku triacylglycerolu a fosfolipidů. Aby se lipidové produkty dostaly do oběhu, jsou v enterocytu proměněny na micelární částice s vnější vrstvou z fosfolipidů, proteinů a neesterifikovaného cholesterolu a jádrem z triacylglycerolu, cholesterylesterů a vitamínů rozpustných v tucích. U většiny savců je tento lipoprotein odvozený od enterocytů známý jako chylomikrony. Není však jasné, zda je absorbovaný triacylglycerol u koní z počátku transportován prostřednictvím chylomikronů. Lipoprotein podobný chylomikronu byl objeven v plazmě sajících hřibat, ale ne u dospělých koní a poníků krmných jadřnou směsí. Sající hřibata pravděpodobně přijímala více tuku z mléka klisen ve srovnání se zkoumanými dospělými koňmi. Obsah tuku ve stravě však nemusí být jediným faktorem ovlivňujícím tvorbu chylomikronů, protože pokusy izolovat tuto lipoproteinovou frakci u dospělých poníků po zkrmení vysokých dávek tuku nebyly úspěšné (Geor et al. 2013). Naproti tomu existují studie, ve kterých se povedlo zaznamenat velmi malé koncentrace chylomikronů v plazmě koní krmných krmnou dávkou s přidáním tukem nebo i bez něj (van Dijk & Wensing 1989; Marchello et al. 2000).

Konečná fáze absorpce zahrnuje fúzi lipoproteinu bohatého na triacylglycerol s bazolaterální membránou enterocytu a sekreci do extracelulárního prostoru exocytózou. Tento

lipoprotein bohatý na triacylglycerol nevstupuje do plazmy přímo, ale je vylučován do lymfatického systému a případně přechází do oběhu přes hrudní mízovod. Ve srovnání s jinými produkty absorpce jsou tuky v potravě jedinečné v tom, že nevstupují do portální jaterní žíly a neprocházejí játry před vstupem do systémové cirkulace. Výjimkou jsou mastné kyseliny s krátkým a středně dlouhým řetězcem (2 až 12 uhlíků), které nejsou v enterocytech reesterifikovány a jsou naopak rychle absorbovány do kapilární krve a transportovány do jater navázané na sérový albumin. Vstřebávání tuků z krmiva probíhá především v distální části dvanáctníku a lačnicku. Lipoproteiny bohaté na triacylglyceroly transportují absorbované tuky a dopravují je do jater, tukové tkáně a dalších tkání organismu (Geor et al. 2013).

Dietní tuky, které se nestráví v tenkém střevě přichází do tlustého a slepého střeva, kde dochází k mikrobiální fermentaci. Bylo prokázáno, že množství tuku, které vstupuje do tlustého střeva se zvyšuje se zvyšujícím se příjmem sójového oleje. Zkrmení koncentrovaného krmiva s 0, 3, 9 a 11 % sójového oleje vedla k tomu, že se do slepého střeva dostalo 11, 20 a 99 g tuku/kg sušiny tráveniny. Když byl koncentrát s 11 % přidaného tuku podán nazogastrickou sondou, průchod žaludkem a tenkým střevem se zrychlil, což vedlo k většímu množství tuku, který se dostal do slepého střeva (146 g/kg sušiny) a evidentním změnám mikrobioty (Coenen 1986). Bylo popsáno několik asociativních účinků tuků ve stravě na stravitelnost jiných živin. Ve studiích sestavených od autorů Kronfeld et al. (2004) nemělo krmení dietami do 230 g/kg sušiny žádné negativní účinky na trávení sušiny, hrubých bílkovin nebo vlákniny. Ve studii byly použity tyto oleje v následujícím množství – kukuřičný olej (5-20 %), arašídový olej (7,5-15 %), lůj (7,5-15 %), směs rostlinných a živočišných tuků (7,5-15 %), směs sójového lecitinu a kukuřičného oleje ve stejném poměru (10 %) a směs sójového lecitinu a sójového oleje ve stejném poměru (10 %). Podobný nedostatek negativních asociativních účinků na stravitelnost živin zaznamenali i autoři Kane et al. (1979), Bush et al. (2001), Lindberg & Karlsson (2001) kdy do krmných dávek přidávali 5-15 % kukuřičného oleje a 8 % lněného oleje (Delobel et al. 2008).

U přežvýkavců se předpokládá, že negativní vliv tuku v krmné dávce na trávení vlákniny je výsledkem buď navázáním tuku na povrch částic krmiva nebo přímo toxického účinku na mikroorganismy v bachoru. Důležité je také, jaký typ tuku se použije. Bylo prokázáno, že nenasycené mastné kyseliny mají větší antimikrobiální účinky a podporují větší inhibici bachorové fermentace oproti nasyceným mastným kyselinám (Hess et al. 2008). Pravděpodobně by ke stejným vlivům došlo i v zadní části střev koně, ale je potřeba dalšího zkoumání účinků tuků v potravě na mikrobiální fermentaci s použitím různých zdrojů tuků a různých poměrů sena ku jádru (Geor et al. 2013).

Stravitelnost tuků z krmné dávky je primárně ovlivněna úrovní příjmu a typem lipidů. Zdánlivá stravitelnost tuku v píci se udává v rozmezí 5-57 % a 55-76 % v obilných zrnech (Fonnesbeck et al. 1967; Sturgeon et al. 2000). Oproti tomu diety, které jsou doplněné různými zdroji živočišného tuku nebo rostlinného oleje mají zdánlivou stravitelnost mezi 64 % a 96 % (Kane et al. 1979; Rich et al. 1981; McCann et al. 1987; Swinney et al. 1995; Bush et al. 2001).

Kronfeld et al. (2004) po sestavení dat z pěti studií hodnotících pět základních diet (směs seno + jádro, 23-37 g tuku/kg sušiny) a 18 diet s přidaným tukem (76-233 g tuku/kg sušiny) uvádí, že průměrná zdánlivá stravitelnost pro píci je 55 %, 81 % pro krmnou směs včetně přidaného tuku a 95 % pro přidané tuky. Další modelování těchto dat ukázalo, že skutečná stravitelnost přidaných tuků byla téměř 100%.

Důvod rozdílů ve stravitelnosti přirozeně se vyskytujících a doplňkových zdrojů tuků je pravděpodobně multifaktoriální. Živočišné tuky a rostlinné oleje přidávané do krmných dávek koní mají většinou formu volně dostupných triacylglycerolů. Naopak tuky v píci a obilí jsou obklopeny částmi rostlinné buněčné stěny, které mohou zpomalit nebo úplně zabránit využití lipázy v tenkém střevě. (Geor et al. 2013).

Naproti tomu měl sójový olej negativní účinek na trávení hrubé vlákniny, neutrálně detergentní vlákniny (NDF) a acidodetergentní vlákniny (ADF) ve studiích od autorů Jansen et al. 2000; Jansen et al. 2001; Jansen et al. 2002. V těchto pracích byl sójový olej přidán do koncentrovaného krmiva v množství 15-37 %, což vedlo k tomu, že v celkové krmné dávce bylo 50-148 g tuku/kg sušiny. Jiní autoři také zjistili negativní vliv sójového oleje na trávení vlákniny. Olej byl začleněn do jaderného krmiva v množství 19-21 % a při těchto hodnotách došlo ke zmíněnému snížení stravitelnosti vlákniny. Při podávání nižšího množství oleje (5-13 %) k takovýmto změnám nedošlo (Godoi et al. 2009; Morgado et al. 2009). Proti těmto závěrům stojí zjištění Jansena et al. (2000), Jansena et al. (2001) a Jansena et al. (2002), kteří porovnávali diety, které měly podobné hodnoty energie a vlákniny, jako již zmíněné předchozí, ale použili sójový olej. Mechanismus, kterým by sójový olej mohl negativně ovlivnit trávení vlákniny, není znám. Zvýšené vylučování žlučových nebo mastných kyselin do tlustého střeva v tomto případě pravděpodobně nehraje roli (Jansen et al. 2007). Později provedená metaanalýza 22 studií zjistila, že diety s přidaným tukem (15,5 až 217,5 g/kg sušiny) neměly žádný vliv na trávení hrubého proteinu nebo NDF, ale měly za následek významný pokles stravitelnosti ADF (Sales & Homolka 2011). Protože ADF obecně představuje pro koně nejméně stravitelnou část vlákniny, význam tohoto výsledku může mít menší praktický význam. Aby se předešlo potenciálním negativním účinkům trávení vlákniny, doporučuje norma NRC (2007) horní hranici 0,7 g tuku/kg tělesné hmotnosti (přibližně 35 g/kg sušiny), pokud je tuk doplňován ve formě sójového oleje. Je potřeba si ale uvědomit, že sójový olej obsahuje nevhodný poměr omega-3 a omega-6 mastných kyselin.

### **3.2.2.1 Vliv oleje na stravitelnost minerálních látek a vitamínů**

Pouze malý počet studií hodnotil to, jaký má vliv suplementace tuků na vstřebávání minerálů. U dospělých koní a poníků se zdá, že absorpce vápníku, fosforu a hořčíku není do značné míry ovlivněná příjmem tuku v množství 80 až 98 g/kg sušiny (McCann et al. 1987; Davison et al. 1991; Meyer et al. 1997). Přestože absorpce vápníku nebyla přímo měřena, rostoucí koně krmení doplňkem na bázi tuku a vlákniny (obsahujícím 11 % kukuřičného oleje) měli nižší rentgenovou hustotu kostí během podzimních a zimních měsíců, ale ne v letních a jarních měsících, ve srovnání s těmi, kteří byli krmeni izokalorickým doplňkem s vysokým obsahem škrobu a cukru (Hoffman et al. 1999). Následná studie však nezjistila žádný rozdíl v rentgenové a omegaenové hustotě kostí mezi odstávčaty, kteří byli krmeni doplňkem na bázi tuku a vlákniny, ve srovnání s odstávčaty krmenými krmivem na bázi škrobu a cukru (Hoffman et al. 2001). Je zapotřebí dalších studií, které by objasnily dopad, který má krmná dávka s vysokým obsahem tuku na vstřebávání vápníku a dalších minerálních látek u koní.

Absorpce vitamínů rozpustných v tucích vyžaduje přítomnost tuků v tenkém střevě. Vliv tuku v krmivu na vstřebávání vitamínů nebyl u koní přímo zkoumán. Kronfeld et al. (2004) spekulovali, že malé množství tuku v krmné dávce koní může vést ke snížení množství vitamínu A a E v organismu. Důkazem toho bylo, že u poníků, kteří byli krmeni krmivem, které obsahovalo jen malé množství tuku (0,05 %) po dobu 3 měsíců, byla zjištěná nízká koncentrace vitamínu E v plazmě a tkáních. Takovýto výsledek naznačuje, že díky malému množství tuku, který tělo přijalo z krmiva, mohlo dojít k nedostatečné absorpci vitamínu E (Sallmann et al. 1991). Vliv tuku v krmivu na vstřebávání vitamínů si žádá dalších studií, zejména proto, že se tím mohou změnit požadavky na vitamíny rozpustné v tucích v závislosti na obsahu tuku v dietě.

### **3.2.3 Potenciální výhody zvýšeného příjmu tuků**

#### **3.2.3.1 Modulace glykemických a inzulinemických odpovědí**

Z olejů, které jsou bohaté energií, se stala alternativa ke zkrmování obilných zrn. Při použití tuku se snižuje gastrointestinální a metabolická rizika, která jsou spojená se zkrmováním vysokého množství škrobu a cukru (Kronfeld & Harris 2003).

Bylo prokázáno, že nahrazení škrobu a cukru izokalorickým množstvím tuku a vlákniny v jaderném krmivu, snižuje postprandiální (objevující se po jídle) glykemické a inzulinemické reakce (Williams et al. 2001; Zeyner et al. 2006). Další studie uvádí, že podobných účinků bylo dosaženo po přimíchání 10 % kukuřičného oleje do jaderného krmiva. Tento výsledek autoři připisují změnám, ke kterým došlo při vyprazdňování žaludku, za které by mohl být zodpovědný přidaný tuk (Pagan et al. 1999; Geor et al. 2001). Naopak přidáním 0,2 ml sójového nebo rybího oleje na kg tělesné hmotnosti do kukuřičného šrotu nemělo žádný vliv na glykemické nebo inzulinemické reakce (Vervuert et al. 2010).

Nesrovnalosti, které jsou mezi výsledky studií, mohou být způsobeny rozdíly v množství přidaného tuku do krmné dávky. Rozdíly mohou být ale také výsledkem odlišného obsahu škrobu a cukru v krmné dávce. Objem krmiva, rychlost příjmu a ostatní krmné komponenty mohou mít také vliv na glykemické a inzulinemické reakce. Typ tuku také může ovlivnit inzulínovou odpověď (Risérus et al. 2009).

Inzulínová rezistence (snížená citlivost na inzulín) u koní je spojována s rozvojem laminitidy, osteochondrózy a metabolického syndromu (Coffman & Coles 1983; Ralston 1996; Treiber et al. 2006; Frank et al. 2010). Tato onemocnění má často za následek snížení výkonnosti koně nebo jeho úplné vyřazení z jezdeckého sportu. Kvůli tomu je rezistence na inzulín velkým problémem a strašákem pro většinu chovatelů koní (Hess & Ross-Jones 2014). K tomu, aby se u daného koně rozvinula inzulínová rezistence, může přispět hned několik faktorů, jako je krmná dávka koně, jeho věk, plemeno, genetika či obezita (Jeffcot et al. 1986; Treiber et al. 2006; Vick et al. 2007). Autoři Hess & Ross-Jones (2014) předpokládají, že suplementací krmné dávky určitými doplňky by se mohla zvýšit citlivost na inzulín u koní, u kterých se objevila rezistence na inzulín, a snížit tak riziko rozvoje onemocnění, jako je metabolický syndrom či laminitida.

Bylo prokázáno, že dietní suplementace n-3 PUFA zvyšuje citlivost na inzulín u prasat a potkanů (Behme 1996; Luo et al. 1996). EPA a DHA se začleňují do buněčných membrán

a zvyšují fluiditu membrány v důsledku její větší nenasycenosti. a Tím dojde ke zlepšení transportní funkce glukózy (Lardinois et al. 1987; Zhao et al. 2008). Bylo prokázáno, že začlenění EPA a DHA do membrány svalové buňky zvyšuje vazbu inzulínu (Storlein et al. 1991) a expresi m-RNA transportéru GLUT-4 u potkanů (Figueiras et al. 2010). Ukázalo se, že suplementace EPA a DHA zlepšuje citlivost na inzulín u potkanů (Storlein et al. 1991), prasat (Behme 1996), a také u lidí (Rasic-Milutinovic et al. 2007). Proto bychom při řešení problémů spojených s inzulínovou rezistencí u koní, měli zvážit přidání olejů bohatých na omega-3 mastné kyseliny do krmné dávky nemocného jedince.

### **3.2.3.2 Metabolická adaptace a reakce na zátěž**

Zdá se, že u koní, kteří jsou zvyklí na přijímání krmiv s vysokým obsahem tuku, metabolismus upřednostňuje využití tuku jako zdroje energie. Po přidání tuku dojde k charakteristickému zvýšení plazmatického cholesterolu a fosfolipidů a nastane také snížení plazmatického triacylglycerolu (Orme et al. 1997; Geelen et al. 1999; Frank et al. 2004). S adaptací jedince na příjem tuku se zvyšuje aktivita lipoproteinové lipázy, z čehož dokážeme usoudit, že kosterní svaly mohou mít zvýšenou kapacitu pro příjem NEFA z cirkulujícího triacylglycerolu (Orme et al. 1997; Geelen et al. 1999; Geelen et al. 2000). Dále byla u koní, kteří byli navyknutí na zkrmování diety s vysokým obsahem tuku, zpozorována nižší dechová frekvence během lehké až střední intenzity zátěže. Toto zjištění nám naznačuje, že kapacita pro oxidaci NEFA se zvyšuje s doplňováním tuků (Dunnnett et al. 2002; Pagan et al. 2002). Podobná reakce však nebyla zpozorována při vyšší intenzitě zátěže, z čehož vyplývá, že během intenzivního cvičení se budou využívat především sacharidy (Dunnnett et al. 2002).

Tato zjištění prokazují, že jsou-li koně dostatečně navyknutí na krmnou dávku bohatou na tuk, při lehké až středně těžké intenzitě zátěže se zvýší využití tuku, jako zdroje energie, a naopak se sníží využití sacharidů. Při vysoké intenzitě zátěže nedochází k žádným změnám po suplementaci oleji, co se týče využívání glykogenu. Z toho se dá odvodit, že obohacení krmné dávky o tuky má glykogen šetřící účinek při lehké a střední intenzitě zátěže (Geor et al. 2013).

První známky adaptace metabolismu na suplementaci tuku se začínají objevovat po 3 týdnech od začátku doplňování tuků (Hughes et al. 1995; Orme et al. 1997). Tyto účinky jsou však pouze přechodné a závislé tak na další suplementaci tuků. V okamžiku, kdy se tuky přestanou krmivem doplňovat se do 5 týdnů metabolismu vrátí zpět do původního stavu před suplementací (Orme et al. 1997). Metabolická odpověď se také liší u jednotlivých koní podle jejich schopnosti využívat tuk, jako zdroj energie během práce (Dunnnett et al. 2002).

Trávení a asimilace živin, stejně jako katabolismus živin, nejsou 100% účinné a v důsledku toho může být až 80 % brutto energie ztraceno v podobě tepla. Toto teplo zvyšuje tepelnou zátěž těla a musí být z těla odvedeno ven, aby se udržela normální tělesná teplota. Ve studii Kronfeld (1996) vypočítal, že dieta skládající se ze sena, ovsu a kukuřičného oleje (v poměru 45:45:10% příjmu) měla za následek to, že kůň během lehké až vysoké zátěže vyprodukoval o 2 % méně tepla a došlo k 5% snížení celkového denního vyprodukovaného tepla ve srovnání s dietou která se skládala pouze z ovsu a sena (50:50).

Po doplnění EPA a DHA do krmné dávky autoři O'Connor et al. (2004) u testovaných sportovních koní zaznamenali snížení srdeční frekvence, plazmatického glycerolu, volných mastných kyselin a cholesterolu během zátěžového testu. Inkorporace n-3 PUFA do svalových membrán zvýšila citlivost jednice na inzulín (Pan et al. 1995) a měla tak za následek zvýšenou schopnost kosterního svalstva přijímat glukózu.

Studie dále prokázaly, že nižší podíl PUFA s dlouhým řetězcem a vyšší podíl nenasycených mastných kyselin ve fosfolipidech kosterního svalstva souvisí s inzulínovou rezistencí. To, jakou má kosterní svalstvo charakteristiku (jaký má profil mastných kyselin), ovlivňuje jednak genetika (Baur et al. 1999), ale i strava a fyzická aktivita jedince. Tyto faktory ovlivňují profil mastných kyselin kosterního svalstva u koní, ale i u potkanů či lidí (Ayre & Hulbert 1996; Andersson et al. 2000; Hess et al. 2012).

### 3.3 Praktické využití oleje ve výživě koní

Koně jsou díky svému trávicímu traktu (GIT) uzpůsobeni ke kontinuálnímu příjmu krmiv. Mnoho koní má však větší požadavky na energii, než jaké jsou schopni přijmout pouze z pastvy, proto se často do krmné dávky koně zařazuje i koncentrovaná složka, která má za úkol zvýšení energie krmiva. Bohužel velké množství jadrných koncentrátů s sebou přináší i riziko způsobující zažívací potíže (Jullian et al. 2006). Tuk může být použit jako náhrada nestrukturálních sacharidů k bezpečnému zvýšení energie v krmné dávce (Kane et al. 1979; Fehlberg et al. 2020).

Rostlinné oleje, a někdy i živočišné tuky, jsou běžně používány ve výživě koní. Rostlinné oleje jsou žádanějším tukem díky jeho chutnosti, složení a původu (Holland et al. 1998). Mezi oleje, které se běžně podávají zvířatům patří oleje jak ze semen, tak i ovoce, jako je olej sójový, řepkový, lněný, slunečnicový, světlicový, ostropestřecový, kokosový, arašidový apod. Použit lze i rybí olej, který je přímým zdrojem kyseliny dokosaheptaenové (DHA) a eikosapentaenové (EPA). Neexistují však žádné přesně stanovené požadavky na živiny nebo optimální poměr PUFA ve výživě koní. NRC z roku 2007 pouze navrhuje krmnou dávku obohatit o 0,5 % kyseliny linolové na bázi sušiny (DM) (Furtney et al. 2009).

Dietní tuky jsou nutné k pro vstřebávání vitamínů rozpustných v tucích. Dále poskytují organismu esenciální mastné kyseliny, kyselinu linolovou a kyselinu  $\alpha$ -linoleovou. Skupiny mastných kyselin s dlouhým řetězcem omega-6 a omega-3 polynenasycených mastných kyselin (PUFA) jsou základními složkami krmiv a jsou nezbytné pro každodenní fyziologické funkce (Geor et al. 2013).

Obilná zrna a semena obsahují převážně n-6 kyselinu linolovou. Omega-6 mastné kyseliny lze nalézt v rostlinných olejích, jako je sójový, kukuřičný, světlicový, řepkový nebo slunečnicový. Nenasycené mastné kyseliny z těchto přírodních zdrojů je však těžké uchovat v jejich původním množství, protože během zpracování a skladování dochází k jejich oxidaci (Van Soest 1982). Omega-6 mastné kyseliny jsou sice důležité pro správný chod mnoha biologických funkcí, ale výraznější a lepší účinky na celkové zdraví zvířat, ale i lidí, jsou připisovány omega-3 mastným kyselinám. Proto je důležité je do krmných dávek zařazovat ve větším množství než omega-6 mastné kyseliny (Furtney et al. 2009).

Všechny listy zelené píce obsahují v chloroplastových lipidech omega-3  $\alpha$ -linolenovou kyselinu. Lněný olej má vysoké hladiny právě kyseliny  $\alpha$ -linolenové. Tuková tkáň má jen omezené množství omega-3 mastných kyselin, který si ukládá, což znamená, jak již bylo řečeno, že je nutný nepřetržitý přísun omega-3 mastných kyselin krmivou (Arterburn et al. 2006). Obilná zrna mají zpravidla vyšší obsah omega-6 mastných kyselin než omega-3. Často se jedná o poměr 1:10, což může vést k tomu, že koně, kteří jsou krmeni převážně obilnými krmivou, mohou mít zkreslený poměr mezi esenciálními mastnými kyselinami, kdy omega-6 bude v krmné dávce zastoupena více než omega-3. Z tohoto důvodu je při výběru oleje nejlepší vybrat ten, který obsahuje více omega-3 mastných kyselin (Geor et al. 2013). Zkrmováním olejů ze semen s vysokým obsahem omega-6 polynenasycených mastných kyselin přispívá k zánětlivým funkcím v organismu a oxidačnímu stresu (Hennig et al. 2001).

### 3.3.1 Možnosti zahrnutí tuků do krmné dávky koně

Existuje hned několik možností, jak koním tuk do krmné dávky doplnit. Můžeme přidat přímo rostlinné oleje nebo jednotlivá krmiva bohatá na tuk nebo lze použít komerčního doplňku tuku nebo koncentrátu s přidaným tukem. Volba konkrétního zdroje tuku nebo způsobu začlenění tuku bude záviset na dostupnosti zdroje tuku nebo produktu, preferencích koně, snadném začlenění zdroje tuku do krmného programu, cíli majitele krmit tuky a jeho finančních možnostech. Většina neobohacených koncentrovaných krmiv obsahuje 2-4 % hrubého tuku, zatímco krmiva obohacená o tuk se obvykle pohybují v rozmezí 5-14 % hrubého tuku. Obohacování tukem může zvýšit hustotu energie jaderného krmiva o 10 až 50 %. Preferenční testy obecně ukázaly, že koně preferují kukuřičný olej před jinými rostlinnými oleji a rostlinné oleje před živočišnými oleji (Holland et al. 1998, Geor et al. 2013). Je potřeba si dát pozor na to, že pokud krmnou dávku obohatíme olejem, může se stát nevyváženou. Obzvláště důležité je správně sestavit krmnou dávku mladých rostoucích koní a chovných klisen, aby nedošlo k nedostatku živin a nerovnováze, kterou by mohlo doplnění tuků způsobit. Oleje poskytují kalorie, ale postrádají bílkoviny a minerály. Oleje v různé míře také poskytují vitamíny rozpustné v tucích (Geor et al. 2013).

Krmná dávka koní často obsahuje omezené množství PUFA. Například vojtěškové seno obsahuje nedostatečné množství PUFA, takže koně, kteří se primárně pasou, nemusí přijímat adekvátní množství těchto mastných kyselin (Dewhurst et al. 2001). Z tohoto důvodu, by mělo být i pastevně ustájeným koním doplňováno množství mastných kyselin, nejlépe pomocí rostlinných olejů. Warren & Kivipelto (2008) uvádí, že koncentrace n-3 a n-6 mastných kyselin (FA) v krvi pastevně chovaných koní, byla ovlivněna ročním obdobím. Studie uvádí, že celkový obsah plazmatické n-6 FA byl zvýšený v letních a podzimních měsících a během jarních měsíců došlo ke snížení koncentrace n-3 FA. To může být i jedním z faktorů, který ovlivňuje reprodukci pastevně chovaných koní, a i z tohoto důvodu je důležité sledovat množství přijatých n-3 a n-6 mastných kyselin krmivem.

Množství tuku, které je potřeba do krmné dávky přidat závisí na cílech, kterých chceme zkrmováním oleje dosáhnout. Například pro dodání lesku srsti postačí doplnění 125 ml oleje denně. Pro doplnění energie se doplňuje 250 až 500 ml oleje denně pro koně o hmotnosti 500 kg. Zařazování oleje do krmné dávky sportovních koní se stává samozřejmostí. Někteří

odborníci na výživu doporučují u vytrvalostních koní zkrmování diet s vyšším obsahem tuku, zatímco nižší příjem tuků u koní, kteří musí podat co nejlepší výkon na krátkou vzdálenost, jako je tomu při rovinných dostizích nebo při soutěžích barrel racing (Geor et al. 2013).

Horní hranice pro množství doplňovaného tuku do krmné dávky koní zatím nebyla stanovena pro všechny zdroje tuku. Diety obsahující do 230 g tuku/kg sušiny z přidaného kukuřičného oleje, arašídového oleje a směsí živočišných rostlinných tuků se zdají být pro koně přijatelné, aniž by negativně ovlivnily trávení ostatních živin (Kronfeld et al. 2004). Vyšší míra začlenění tuku může zvýšit riziko poruch trávení, narušit mikrobiální fermentaci vlákniny v zadní části střeva nebo snížit vstřebávání vápníku. Kromě toho se příjem krmiva obohaceného o velké množství oleje bude lišit mezi jednotlivými koňmi v závislosti na chutnosti, preferencích struktury a také na gastrointestinální toleranci. Někteří koně například odmítají přijímat krmné dávky obohacené o oleje, ale mají rádi rýžové otruby nebo lněné semínko. Podobně se u některých koní může objevit průjem již po podání malého množství tuku, zatímco jiní budou schopni přijímat relativně velké množství tuku bez zjevných zažívacích potíží. Přestože se zdá, že koně snášejí dobře relativně velké množství tuku, stojí za zmínku, že v praxi je většina dávek znatelně nižší, než je 230 g tuku/kg sušiny, a to i při použití tzv. vysokotučných komerčních krmiv (Geor et al. 2013).

### 3.3.2 Navykání na tuky v krmné dávce

Koně potřebují čas, aby si zvykli a adaptovali se na trávení a metabolismus tuků. Zařazení olejů do krmné dávky koně by mělo probíhat vždy pomalu a postupně (Geor et al. 2013). Přejít na krmnou dávku s vysokým obsahem tuku nebo oleje obvykle u zdravých koní trvá asi 4 až 14 dní. To se však může lišit v závislosti na množství zkrmovaného tuku a mezi jednotlivými koňmi (Kronfeld et al. 2004).

Postupný přechod by měl probíhat po malých dávkách. Při začátku adaptace na krmnou dávku obohacenou olejem je potřeba koně pečlivě sledovat, zdali se u nich nezačaly objevovat zažívací potíže a podle toho by měla být případně dopravena rychlost zařazování oleje do krmné dávky. Pokud se u koně objeví průjem nebo řídká stolice s mazlavější konzistencí či šedou barvou, je to známka toho, že olej byl do krmné dávky zařazen příliš rychle (Kronfeld et al. 2004). Při příliš rychlém zavedení oleje do krmné dávky koně se může snížit fermentace vlákniny v zadní části trávicího traktu (Geor et al. 2013). V takových případech by mělo být množství tuku dočasně sníženo, dokud se exkrementy nevrátí k normálu, a poté se může tuk začít znovu podávat, ale pomaleji (Kronfeld et al. 2004). Než se dostaví první pozitivní výsledky zkrmování oleje, je nutné, aby si na jeho příjem organismus koně zvykl. Adekvátní adaptační období trvá běžně déle než 12 týdnů. První změny však můžeme zpozorovat již během 3-5 týdnů po zavedení oleje do denní krmné dávky (Dunnnett et al. 2002; Pagan et al. 2002; Kronfeld & Harris 2003). Koně mohou být krmeni až 20 % své celkové energetické potřeby ve formě oleje (Geor et al. 2013).



### 3.3.3 Požadavky na antioxidanty při zkrmování oleje

Mastné kyseliny, zejména nenasycené mastné kyseliny, jsou náchylné k oxidaci. V důsledku toho je doporučeno přidávat do krmiva antioxidanty. Pokud budeme koni podávat vysoce nenasycené mastné kyseliny, jako je například EPA nebo DHA, je potřeba jejich krmnou dávku navíc obohatit o vitamín E (Valk & Hornstra 2000). Obecným doporučením pro prevenci oxidačního stresu je dodávat minimálně 100 IU vitamínu E na 100 ml rostlinného oleje (Stratton-Phelps et al. 2003).

### 3.3.4 Vlastnosti oleje

Oleje se získávají z olejnatých semen, abychom získali kvalitní olej je velmi důležité zvolit správnou metodu zpracování, jelikož i to ovlivňuje, jak kvalitní olej získáme. Rozlišujeme dva hlavní způsoby zpracování olejnatých semen. Tím prvním je lisování za studena, kdy se ze semen vymačkává olej, často ve vodou chlazeném prostředí, aby teplota oleje byla nižší než 60°C. Při druhé metodě se využívá extrakce rozpouštědlem, a to tím způsobem, že při extrakci se do oleje přidá rozpouštědlo, jako je například hexan a olej se poté musí zahřívát na vysoké teploty, čímž dojde k odstranění rozpouštědla z výsledného produktu. Oleje lisované za studena bývají kvalitnější, jelikož je v nich obsaženo více esenciálních mastných kyselin a přírodních antioxidantů (Furtney et al. 2009).

Vzhledem k tomu, že tuk snadno oxiduje je jeho přidání do krmné směsi spojováno i s tím, že se zkracuje její trvanlivost oproti krmným směsím bez přidaného tuku (například o 1 až 2 týdny v horkém a vlhkém klimatu). Většina výrobců se snaží předcházet znehodnocení jejich produktu přidáním přírodních či umělých antioxidantů. Stále se však potýkáme s rizikem žluknutí. Pokud jsou krmiva před použitím skladována po dlouhou dobu ve skladu nebo u distributorů nebo pokud majitelé neskladují krmiva vhodným způsobem nebo je nestíhají včas zkrmovat. Tuk s vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin je zvláště náchylný k oxidaci, což má za následek znehodnocování mastných kyselin a vznik produktů oxidace, které mohou mít nepříznivé účinky na zdraví koně. Žluklé krmivo by se koním nemělo nabízet. Majitelé by měli pravidelně kontrolovat krmiva a doplňky s přidaným tukem. Krmiva, která žlukla, mívají sladkou, alkoholovou vůni a koně je kvůli nepříjemné chuti často odmítají. Oleje, krmiva a doplňky obohacené o tuk by měly být skladovány na chladném a suchém místě a měli by být nakupovány v množství, které chovatel dokáže zkrmit za 2 až 4 týdny, v závislosti na ročním období a klimatu (Geor et al. 2013).

Množství oleje, který se může přidat do pelet, je často omezené jejich trvanlivostí a chutností (Casals et al. 2006). Pokud se do krmných pelet přidá více než 2-3 % tuku, zvýší se tím zároveň i jejich odrol (Partridge et al. 1986). Dále je možné tuk aplikovat na pelety až po jejich vylisování. V tomto případě ale narážíme na hranici 15 % nad kterou klesá chutnost pelet (Hallebeek & Beynen 2002).

### 3.4 Olej a jeho vliv na další onemocnění

U koní bylo doporučeno krmení tukem ke snížení výskytu a závažnosti žaludečních vředů. Cargile et al. (2004) uvádí, že u poníků doplnění krmné dávky o kukuřičný olej po dobu 5 týdnů, snížilo produkci žaludečních kyselin a zvýšilo koncentraci PGE<sub>2</sub> v žaludečních šťávách. Ačkoliv v této studii nebyla žaludeční ulcerace hodnocena, autoři dospěli k závěru, že kukuřičný olej by mohl potenciálně pomoci snížit riziko ulcerace, které je spojené s podáváním nesteroidních protizánětlivých léků. V jiné studii autoři Frank et al. (2005) krmili koně kukuřičným olejem a olejem z rýžových otrub po dobu 6 týdnů. Ani jeden z těchto olejů nezabránil tvorbě žaludečních vředů a ani neovlivnily závažnost slizniční ulcerace. Je možné, že suplementace tuku by mohla pomoci zmírnit aktuální závažnost žaludečních vředů, ale je zapotřebí dalších studií, aby se zjistilo, zda rostlinné oleje mají určité specifické vlastnosti, které by napomohly při řešení problémů spojených se žaludečními vředy (Geor et al. 2013).

Přidání tuku do krmiva může pomoci při léčbě koní, kteří jsou postiženi námahovými myopatiemi, včetně rekurentní zátěžové rhabdomyolýzy (RER) a polysacharidové střídavé myopatie typu 1 a 2 (PSSM). Plnokrevníci trpící RER měli nižší aktivitu sérové kreatinkinázy, když byli krmeni dietou s vysokým obsahem tuku a nízkým obsahem škrobu ve srovnání s izokalorickou dietou s vysokým obsahem škrobu (McKenzie et al. 2003). Bylo zjištěno, že nahrazení nestrukturálních sacharidů tuky může pomoci zmírnit vzrušivost a nervozitu u koní s RER, o kterých se předpokládá, že spouštějí epizody. U koní, trpících na RER, bylo doporučeno, aby alespoň 15 % požadavků na energii pocházelo z tuku v kombinaci s méně než 20 % z celkové denní potřeby energie ve formě škrobu (Valberg 2018). Několik studií prokázalo zmírnění klinických příznaků u koní s PSSM krmených dietou s nízkým obsahem škrobu a dietou s přidaným tukem oproti koním krmených vysokým obsahem škrobu (Firshman et al. 2003; Ribeiro et al. 2004). Předpokládá se, že příjem krmiva s nízkým obsahem škrobu a vysokým obsahem tuku pro koně s PSSM má za následek menší příjem glukózy svaalem a zvýšené dostupnosti mastných kyselin pro využití při zátěži. Při krmení koní s PSSM je tedy potřeba dát si pozor na to, abychom poskytli dostatek kalorií k dodání energie při práci, ale zároveň zabránili nadměrnému přibírání na váze. Mnoho koní, kteří trpí na PSSM nejsou jezdecky využíváni, takže mají často nadváhu (Geor et al. 2013).

Kvůli rozdílům tréninkové úrovně a tělesné kondici koní s PSSM se může lišit i jejich potřeba doplňování tuku. Nicméně oleje a další na tuky bohatá krmiva lze použít místo krmných složek bohatých na sacharidy, když je potřeba koni dodat další kalorie. Je však potřeba poznamenat, že podle studie od Borgia et al. (2010) tuky obsahující mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou nevhodné pro snížení klinických příznaků PSSM ve srovnání s mastnými kyselinami s delším řetězcem. Velmi málo zdrojů tuku obsažených v krmivech má přirozeně nízký obsah mastných kyselin s krátkým řetězcem. Kokosový olej má přibližně 14 % mastných kyselin s krátkým řetězcem, a proto nemusí být ideálním zdrojem tuku pro koně s PSSM (Geor et al. 2013).

Dnes se přidání oleje do krmné dávky stalo běžnou záležitostí. Oleje a další krmiva bohatá na tuky nám nabízí možnost dramaticky zvýšit příjem kalorií u koní, a to nejen co do kvantity, ale i kvality. Díky olejům jsme schopni sestavit bezpečnou a účinnou dietu i pro koně se specifickými potřebami. Je potřeba se zkrmováním tuků i nadále zabývat a lépe objasnit, jak

kůň tuky využívá, jaké biologické a fyziologické výhody oleje koním přináší a jaké zdroje tuku lze ve výživě koní použít.

## 4 Metodika

Tato studie byla provedena v experimentální stáji Výzkumného ústavu živočišné výroby (Netluky, Praha, Česká republika). Experimentální protokol byl schválen Etickou komisí Výzkumného ústavu živočišné výroby a s koňmi bylo zacházeno v souladu s platnými vnitrostátními a evropskými právními předpisy (Směrnice 2010/63/EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely, Evropská unie, 2010).

### 4.1 Řepkový olej

Řepkový olej byl pořízen v běžné maloobchodní síti (Kaufland, Česká republika). V oleji byly stanoveny koncentrace mastných kyselin pomocí plynové chromatografie a vitamínu E pomocí kapalinové chromatografie (Tabulka 1).

**Tabulka 1:** Složení mastných kyselin (g/100 g celkového množství mastných kyselin) a obsah izoformem vitamínu E (mg/kg) v řepkovém oleji přidávaném do krmné dávky koní

Mastné kyseliny	(g/100 g celkového množství mastných kyselin)
C10:0	0,012
C12:0	0,009
C14:0	0,054
C15:0	0,023
C16:0	4,653
C16:1 n7	0,224
C17:0	0,052
C18:0	1,612
C18:1 n7	3,262
C18:1 n9	59,315
C18:2 n6	19,416
C18:3 n3	8,936
C18:3 n6	NI
C20:0	0,587
C20:1 n9	1,351
C20:2 n6	0,075
C20:3 n6	NI
C20:5 n3	NI
C22:0	0,005
C22:1 n9 (kyselina eruková)	0,274
C24:0	0,060
C24:1 n9	0,081
Σ SFA	7,067

$\sum$ MUFA	64,506
$\sum$ PUFA	28,427
$\sum$ n3	8,936
$\sum$ n6	19,492
n6/n3	2,183
Izoformy vitamínu E (mg/kg)	
$\alpha$ -tocopherol	285,3
$\gamma$ -tocopherol	273,4
$\Delta$ -tocopherol	27,5

NI = nezjištěno

## 4.2 Zvířata a design experimentu

Do pokusu bylo zařazeno 9 koní plemene Český teplokrevník (sedm klisen a dva valaši,  $582 \pm 49$  kg). Koně byli ustájeni v individuálních boxech a rozděleni do dvou skupin podle pohlaví a hmotnosti. Pokus byl proveden v křížovém designu (change-over) a skládal se ze dvou období. Každé období trvalo 17 dní. Jednotlivá období se skládala z fází, při kterých si koně navykali na krmnou dávku o délce 10 dní a po této fázi následovala sedmidenní etapa zahrnující sběr dat, tedy krmiv, výkalů a krve. Mezi jednotlivá období byla vložena doba odpočinku, kdy obě skupiny koní přijímaly pouze kontrolní krmnou dávku. Celková doba pokusu byla 39 dní ( $2 \times 17$  dnů + 5 dní odpočinku mezi obdobími).

Koně byli ustájeni individuálně ve stájových boxech o rozměrech 3 x 4 m s volným přístupem k vodě z automatizovaných napáječek a k dispozici měli i solný liz (NaCl). Zvířata byla během adaptace pouštěna do zpevněného výběhu po dobu alespoň 4 hodin denně. V období, kdy probíhalo sbírání dat, byli koně místo výběhu pouze voděni po dobu 30 minut denně. Před zahájením experimentu byli koně odčerveni pomocí orální pasty (Equiverm, Bioveta, Ivanovice na Hane, Česká republika).

## 4.3 Krmná dávka

Každé ze dvou skupin koní byla náhodně přiřazena jedna z krmných dávek. Složení krmných dávek bylo následující – kontrolní skupině (Kontrola) bylo zkrmováno luční seno a mačkaný ječmen – podíl sušiny jednotlivých krmiv v poměru 75:25. Pokusné skupině (Olej) bylo podáváno stejné množství lučního sena, ale ječný šrot v tomto případě byl částečně nahrazen řepkovým olejem tak, aby řepkový olej tvořil 5 % ze sušiny krmné dávky. Krmné dávky byly tvořeny tak, aby obsahovaly stejné množství stravitelné energie, jinými slovy, aby krmné dávky byly izoenergetické. Řepkový olej obsahoval 9,18 Mcal stravitelné energie na kg sušiny, oproti tomu mačkaný ječmen 3,77 Mcal. To znamená, že 1 kg ječmene byl nahrazen 411 g řepkového oleje ( $9,18/3,77 = 2,435$ ;  $1000 \text{ g}/2,435 = 411 \text{ g}$ ). Nejprve bylo koním podáno luční seno a poté až jadrný koncentrát. Krmná dávka byla rozdělena do dvou krmení,

kteře probíhalo ráno a odpoledne, a krmná dávka byla vždy upravena podle aktuálního příjmu tak, aby koně přijali všechno krmivo a zbytky byly minimální.

Každý den byl odebírán reprezentativní vzorek sena a ječmene, který byl umístěn do dvou pytlů, jeden pro luční seno a druhý pro ječmen. Takto připravené vzorky byly po skončení daného období homogenizovány a poslány na analýzu zastoupených živin v jednotlivých krmivech (Tabulka 2).

**Tabulka 2:** Základní chemické parametry jednotlivých krmiv základní krmné dávky (jednotkou je g/kg sušiny, pokud není uvedeno jinak)

	Luční seno	Ječmen zmo
Sušina (g/kg krmiva)	883	877
Hrubý protein	89	157
Hrubý tuk	6	32
Organická hmota	932	976
NDF	674	278
ADF	365	65
Škrob	-	468
Popeloviny	68	24
Brutto energie (MJ/kg)	18,0	18,9

NDF = neutrálně detergentní vláknina; ADF = acidodetergentní vláknina

#### 4.4 Sběr vzorků výkalů a jejich analýza

Zdánlivá stravitelnost živin byla stanovena pomocí indikátorové metody s nerozpustným popelem (pískem), jako přirozeným indikátorem podle rovnice:

$$\text{Zdánlivá stravitelnost živin (\%)} = 100 \times \left[ 1 - \left( \frac{\text{živina ve výkalech (\%)} \times \text{popel v krmivu (\%)}}{\text{živina v krmivu (\%)} \times \text{popel ve výkalech (\%)}} \right) \right]$$

Vzorky výkalů byly sbírané z betonových podlah boxů 11. až 17. den každého ze dvou pokusných období. Výkaly nesměli být kontaminované močí či krmivem a museli být co nejčerstvější, takže jejich odběr probíhal po 12 hodinách ráno a odpoledne při krmení. Hmotnost odebraných vzorků byla každý den kolem 3 kg. Vzorky byly homogenizovány, zmrazeny a skladovány při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  až do konce testovacího období. Na konci závěrečného testovacího období byly vzorky rozmrazeny a zařazeny do skupin podle zvířete a období a podrobeny chemické analýze. Vzorky krmiva a výkalů bylo potřeba před analýzou rozmělnit na velikost menší než 1 mm.

Vzorky jednotlivých krmiv a výkalů byly odděleně analyzována podle AOAC International (2005). Analýza byla provedena na sušinu (metoda 934.01), hrubý protein (metoda 954.01), hrubý tuk (metoda 920.39) a popel (metoda 942.05). Neutrálně detergentní vláknina (NDF) byla testována s tepelně stabilní amylázou a exprimována bez zbytkového popela (Mertens 2002). Acidodetergentní vláknina (ADF) byla stanovena metodou 973.18 podle AOAC International (2000). Obsah škrobu byl stanoven polarimetricky Ewersovou metodou ISO 10520 (ISO 1997). Brutto energie byla stanovena automatickým adiabatickým kalorimetrem (IKA C 5000, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Německo).

## 4.5 Krevní parametry

Vzorky krve byly odebrány do 10 ml sérum separujících zkumavek z jugulární žíly. První odběr krve proběhl ještě před začátkem podávání krmných dávek. Druhý a třetí odběr proběhl vždy poslední den daného pokusného období. Odběr proběhl vždy před ranním krmením. Hladina glukózy v krvi byla ihned stanovena pomocí příručního glukometru (Freestyle Optium Neo, Abbott Diabetes Care Inc., Alameda, CA, USA). Po analýze hladiny krevní glukózy vzorky krve ponechány při pokojové teplotě až do vysrážení. Po vzniku sraženiny byly vzorky centrifugovány na 1700 g po dobu 20 minut a takto vzniklé sérum bylo skladováno při teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  až do doby, kdy byla provedena analýza sérových parametrů klinickou laboratoří (Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, Česká republika).

Celkový protein, hladina albuminů, globulinů, močoviny, triglyceridů, cholesterolu a fosforu byly analyzovány s použitím komerčních sad (BioVendor, Brno, Česká republika) na analyzátoru Konelab 20XT (Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finsko). Sérové hladiny vápníku, hořčíku, zinku a mědi byly měřeny pomocí atomového absorpčního spektrofotometru s hybridovou technikou (HG AAS, Solaar M6, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Obsah vitamínů A a E v séru byl stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC, Ultimate 3000, Dionex, Sunnyvale, CA, USA). Aby se zjistily hladiny vitamínů, byly krevní vzorky extrahovány hexanem a následně se nechaly odpařit a rozpustit v mobilní fázi (metanol).

## 4.6 Statistická analýza

Data byla vyhodnocována postupem pro křížový design experimentu za použití MIXED procedury dle SAS (SAS Enterprise Guide Version 7.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Model zahrnoval fixní efekt ošetření (kontrola, olej) a náhodné efekty koně a období. Statistická významnost byla deklarována na  $P < 0,05$ .

## 5 Výsledky

V oleji, který jsme použili pro náš experiment, jsme stanovili koncentrace mastných kyselin a izoforem vitamínu E, viz tabulka 1. Z mastných kyselin byly v oleji nejvíce zastoupeny kyselina elaidová (C18:1 n9), kyselina linolová (C18:2 n6), kyselina  $\alpha$ -linolenová (C18:3 n3) a kyselina palmitová (C16:0). Tyto čtyři mastné kyseliny tvořili dohromady 92,32 % celkového množství mastných kyselin obsažených v tetovaném řepkovém oleji. Z izoforem vitamínu E bylo nejvíce zastoupeno  $\alpha$ -tocopherolu.

### 5.1 Stravitelnost krmné dávky

Zjištěná zdánlivá stravitelnost základní krmné dávky (Kontrola) a krmné dávky s přidavkem řepkového oleje (Olej) je uvedena v tabulce 3. Mezi stravitelností krmné dávky bez přidavku řepkového oleje a krmné dávky obohacené o řepkový olej byl zpozorován statisticky významný rozdíl ( $P < 0,05$ ). Ke snížení stravitelnosti, po doplnění řepkového oleje, došlo u sušiny, hrubého proteinu, organické hmoty a NDF. Stravitelnost brutto energie a ADF nebyla ovlivněna hladinou tuku v krmné dávce. Jediný z parametrů, u kterého došlo ke zvýšení stravitelnosti byla hladina hrubého tuku.

**Tabulka 3:** Zjištěná zdánlivá stravitelnost (%) krmné dávky s přidavkem řepkového oleje (Olej) či bez přidavku řepkového oleje (Kontrola).

Parametr	Krmná dávka		SEM	P – hodnota
	Kontrola	Olej		
Sušina	56,2	51,8	1,09	0,021
Hrubý protein	67,2	63,7	1,09	0,024
Hrubý tuk	29,2	80,4	6,56	<0,001
Organická hmota	58,0	53,7	1,13	0,028
Brutto energie	54,9	52,6	1,06	0,184
NDF	48,1	42,9	1,44	0,042
ADF	43,1	38,8	1,69	0,121

NDF = neutrálně detergentní vláknina; ADF = acidodetergentní vláknina; SEM = standartní chyba průměru

### 5.2 Krevní parametry

V tabulce 4 jsou uvedeny parametry krevního séra, které bylo koní odebíráno po zkrmování základní krmné dávky (Kontrola) a krmné dávky obohacené o řepkový olej. U testovaných parametrů byly zjištěny statisticky významné rozdíly ( $P < 0,05$ ) při porovnání krmné dávky obohacené o řepkový olej a krmné dávky bez přidavku řepkového oleje. Ke zvýšení hodnot po přidání řepkového oleje do krmné dávky došlo u celkového proteinu, albuminu, cholesterolu,



AST (aspartátaminotransferáza) a vitamínu E. Naopak ke snížení hodnot při doplnění krmné dávky řepkovým olejem nedošlo u žádného z naměřených parametrů. Na hladiny glukózy, globulinu, triglyceridů, GMT (gamaglutamyltransferáza), fosforu, zinku, močoviny, ALT (alaninaminotransferáza), vápníku a vitamínu A v krevním séru neměl řepkový olej žádný vliv.

**Tabulka 4:** Hodnoty vybraných metabolických parametrů, minerálů a vitamínů krevního séra koní krmených dietou obohacenou o řepkový olej (Olej) nebo bez přidaného řepkového oleje (Kontrola).

Parametr	Krmná dávka		SEM	P – hodnota
	Kontrola	Olej		
Glukóza (mmol/l)	4,74	4,78	0,121	0,885
Celkový protein (g/l)	66,4	68,7	0,607	0,019
Albumin (g/l)	33,0	33,9	0,418	0,045
Globulin (g/l)	33,4	34,8	0,435	0,069
Močovina (mmol/l)	4,86	4,65	0,127	0,359
Triglyceridy (mmol/l)	0,259	0,273	0,0166	0,478
Cholesterol (mmol/l)	2,29	2,72	0,095	<0,001
ALT (μkat/l)	0,089	0,080	0,0037	0,109
AST (μkat/l)	4,00	4,42	0,138	0,024
GMT (μkat/l)	0,187	0,191	0,0078	0,683
Ca (mmol/l)	2,97	2,91	0,032	0,383
P (mmol/l)	1,03	1,07	0,025	0,399
Zn (μmol/l)	10,2	10,4	0,264	0,546
Vitamín A (μmol/l)	0,628	0,578	0,0314	0,274
Vitamín E (μmol/l)	3,09	3,91	0,256	0,002

SEM = standardní chyba průměru

## 6 Diskuze

Zkrmování oleje je již dnes v praxi naprosto běžné. Co se týče poměru mezi omega-6 a omega-3 mastnými kyselinami, nejlepší hodnoty má lněný olej (Delobel et al 2008). Dále se často využívá olej sójový, kukuřičný, slunečnicový či olivový. U těchto olejů se ale potýkáme se špatným poměrem mezi mastnými kyselinami, kdy převažuje omega-6, které se připisují prozánětlivé účinky (Sales & Homolka 2011). Co se týče řepkového oleje, tam je poměr mezi omega-6 a omega-3 mastnými kyselinami daleko příznivější a oproti lněnému oleji je příznivější i jeho cena. Poměrně příznivý poměr mezi omega-6 a omega-3 mastnými kyselinami byl potvrzen také našimi výsledky, kdy dosahoval hodnoty mírně nad dva (tabulka 1). Existuje již několik studií, které se zabývali vlivem olejů na stravitelnost živin a krmné dávky, ale je jen málo studií, které by se zaměřovaly přímo na řepkový olej (Sales & Homolka 2011).

Tato práce si kladla za cíl zjistit, jaký má vliv přídavek řepkového oleje na stravitelnost krmiv u koní. Určili jsme stravitelnost jednotlivých živin, ale během experimentu nastaly technické problémy, kvůli kterým jsme nebyli schopni stanovit fermentační parametry výkalů a tím i určit rozsah mikrobiální fermentace v distálních částech trávicí soustavy, tzn. určit celkové množství těkavých mastných kyselin a amoniakálního dusíku. Nicméně hlavní cíl práce, ověření vlivu řepkového oleje na stravitelnost živin krmné dávky, byl splněn. Experiment byl navíc rozšířen o stanovení krevních parametrů, tím jsme ověřili vliv přidání řepkového oleje do krmné dávky koní na metabolické parametry a dostupnost minerálů a vitamínů.

### 6.1 Ovlivnění stravitelnosti krmiv

Olej se do krmné dávky koní přidává díky jeho schopnosti zvýšit energetickou hustotu krmiva. Díky tomu olej nabízí řešení pro koně, kteří mají speciální požadavky na energii, jako jsou koně sportovní, březí a laktující klisny, staří či hubení koně. Olej je dobrým řešením také pro koně, kteří již dostávají velké množství jadrného krmiva. Gastrointestinální trakt sportovních koní je často velice zatěžován množstvím krmiva, které musí přijmout, aby se doplnili jejich nároky na energii. Část jadrného krmiva se tedy dá nahradit olejem a tím docílíme snížení celkového objemu krmné dávky (Williams et al. 2018).

V našem experimentu jsme nahradili 5 % z celkové sušiny krmné dávky řepkovým olejem. Řepkový olej obsahoval 9,18 Mcal stravitelné energie na kg sušiny a mačkaný ječmen pouze 3,77 Mcal. Tím pádem 1 kg ječmene byl v našem pokusu nahrazen 411 g řepkového oleje. Podobným způsobem postupovali i ve studii od Delobel et al. (2008), kde 8 % sušiny krmné dávky nahradili ječmen lněným olejem. V další studii od autorů Williams et al. (2017) olej tvořil 5 až 15 % sušiny celkové krmné dávky. Dále autoři Godoi et al. (2009) nahradili sójovým olejem 8,5 až 19,5 % sušiny a existuje dokonce studie, ve které olej tvořil 37 % z celkové energie krmné dávky (Jansen et al. 2000).

Po přidání řepkového oleje do krmné dávky koní v našem experimentu došlo ke snížení stravitelnosti u sušiny, hrubého proteinu, organické hmoty a neutrálně detergentní vlákniny (NDF). Stravitelnost brutto energie a ADF nebyla ovlivněna. Ke snížení NDF došlo také ve studii od Jansen et al. (2000), Jansen et al. (2002) a Gatta et al. (2005), v jejich případě

se jednalo o sójový olej, má specifický inhibiční účinek na využití vlákniny GIT koní, což jen dokazují snížené parametry NDF a v případě těchto studií i ADF získané z analýzy stravitelnosti krmné dávky obohacené o olej. Naše naměřené hodnoty jsou dále v rozporu s výsledky, které byly zjištěny již dříve od autorů Kane et al. (1979), McCann et al. (1987), Meyers et al. (1989), Hughes et al. (1995) a Bush et al. (2001) Williams et al. (2017), kteří uvádí, že v jejich studiích po zkrmování oleje nedošlo k rozdílům ve stravitelnosti vlákniny. Rozporuplné výsledky najdeme ve studii, kterou vypracovali Lindberg & Karlsson (2001). Těmito dvěma autorům totiž vyšli hodnoty, které ukazují, že po doplnění tuku se zvýšila stravitelnost ADF, ovšem stravitelnost NDF zůstala beze změny oproti krmné dávce, která přidaný olej neobsahovala. Novější studie od Delobel et al. (2008), která je zmíněna již výše, uvádí že po zkrmování krmné dávky bohaté na tuk došlo ke zvýšení stravitelnosti NDF, ADF, hrubého proteinu, organické hmoty i sušiny. Toto jsou výsledky, které se neshodují s námi provedenou studií. Rozdíly mohou být způsobeny použitím odlišných olejů v jednotlivých studiích.

Další parametr, na který se zaměříme, je sušina, u které se výsledky studií také často rozcházejí. V naší studii došlo k jejímu snížení po podání oleje do krmné dávky. Stejný výsledek bylo dosaženo i u studií od Jansen et al. (2000) a Jansen et al. (2002). Naopak ke zvýšení hodnot došlo při experimentu, který prováděli McCann et al. (1987) a Delobel et al. (2008). Nějaké významnější rozdíly, mezi stravitelností s ohledem na krmnou dávku s či bez doplňku oleje, nebyly zjištěny v publikacích od Kane et al. (1979), Meyers et al. (1989), Hughes et al. (1995) Bush et al. (2001) a Lindberg & Karlsson (2001). Co se týče organické hmoty autoři Bush et al. (2001) a Lindberg & Karlsson (2001) uvádí, že při jejich analýze nedošlo ke změnám, které by souvisely s množstvím tuku, který byl obsažen v dietě. Delobel et al. (2008) naměřil ve svém pokusu zvýšené hodnoty zdánlivé stravitelnosti organické hmoty po zkrmování dietou, která byla obohacena o přírůstek lněného oleje. Tato tvrzení jsou v rozporu s našimi naměřenými hodnotami a negativním vlivem přidaného tuku na stravitelnost organické hmoty.

Stravitelnost hrubého proteinu zůstala ve studiích od McCann et al. (1987), Meyers et al. (1989), Hughes et al. (1995), Jansen et al. (2000), Bush et al. (2001), Lindberg & Karlsson (2001) nezměněna po přidání oleje. Naše výsledky však s těmito studii nesouhlasí, jelikož při našem experimentu po podání řepkového oleje došlo ke snížení stravitelnosti hrubého proteinu. Ke stejným závěrům se dopracovala i studie od Jansen et al. (2002). Naopak Delobel et al. (2008) svými výsledky dokazuje, že po doplnění lněného oleje v jeho práci došlo ke zlepšené stravitelnosti hrubého proteinu trávicím traktem koně.

Jediným parametrem, jehož navýšení jsme dosáhli v našem experimentu po přidání oleje, byla zdánlivá stravitelnost hrubého tuku. S tímto závěrem se shodujeme se studii do Kane et al. (1979), McCann et al. (1987), Jansen et al. (2000), Bush et al. (2001), Lindberg & Karlsson (2001), Jansen et al. (2002), Delobel et al. (2008) a Williams et al. (2017). Delobel et al. (2008) dospěli k závěru, že přidání lněného oleje zvýšilo stravitelnost tuku o 26,4 %. V rozporu s našimi výsledky jsou studie od Webb et al. (1987), Meyers et al. (1989), Hughes et al. (1995) a Meyer et al. (1997) ve kterých nedošlo po přidání oleje ke změnám ve stravitelnosti hrubého tuku. Ve studii od Gatta et al. (2005) došlo ke srovnání kukuřičného oleje a směsi olivového oleje. Stravitelnost hrubého tuku byla vyšší u kukuřičného oleje oproti směsi. Tento výsledek lze vysvětlit rozdílnou koncentrací mastných kyselin v olejích,

a to především kvůli tomu, že předpokládáme nižší stravitelnost nasycených mastných kyselin, kterých je v olivovém oleji více než v kukuřičném oleji. Vyšší stravitelnost hrubého tuku po přidavku rostlinného oleje není překvapivá, protože přidaný olej je ve formě vysoce stravitelných volných triacylglycerolů, zatímco tuk, který je obsažen v objemných krmivech či ječmeni, je v daleko hůře přístupných formách (Kronfeld et al. 2004).

Z našich výsledků studie vyplývá, že po přidání řepkového oleje nedošlo ke statisticky významným ( $P > 0,05$ ) změnám stravitelnosti brutto energie mezi dietou kontrolní a dietou obohacenou o řepkový olej. Podobných výsledků se dopracovali i Kane et al. (1979), Bush et al. (2001) a Godoi et al. (2009), kteří po přidání oleje do testované krmné dávky také nezpozorovaly žádné rozdíly ve stravitelnosti energie. Proti těmto výsledkům stojí tvrzení autorů Jansen et al. (2000), kteří zjistili významné snížení stravitelnosti energie krmné dávky obsahující sójový olej.

Rozdíly mezi studiemi mohou být zapříčiněné individualitou koní, rozdílným poměrem píce a koncentrovaného krmiva, odlišnou délkou adaptace na krmné dávky doplněné olejem, rozdíly v časech četnostech krmení, rozdíly v odběru a analýze vzorků, velkou variabilitou hmotností koní, plemeny a typy koní či úrovní fyzické zátěže (Sales & Homolka 2011). Předpokládáme však, že jednou z hlavních příčin rozdílů mezi výsledky byly rozdíly v použitých olejích. Jednotlivé oleje se mezi sebou liší ve složení mastných kyselin, což by mohlo mít vliv na stravitelnost.

## 6.2 Ovlivnění krevních parametrů

Analýza krevních parametrů u koní nám poskytuje důležité informace, co se týče jejich zdravotního stavu, požadavků na živiny, způsobilosti a vhodnosti práce pro daného jedince (Czech et al. 2019). V tabulce 5 jsou uvedeny některé referenční hodnoty krevních parametrů pro koně a důvody případných odchylek těchto hodnot. Podle referenčních hodnot měli naši testovaní koně nedostatek zinku, což může souviset s jeho nedostatkem v krmné dávce nebo nadbytkem vápníku přijatého krmivem, dále může koně trápit urémie nebo chronické záněty.

Mezi hodnotami naměřenými z krevního séra koní krmených dietou s přidavkem tuku a dietou kontrolní, nebyly zaznamenány rozdíly v hladině krevní glukózy. Ke stejným výsledkům se dopracovali i autoři Williams et al. (2018) a Filho et al. (2019). Ve studii od Williams et al. (2018) množství přidaného oleje neovlivnilo koncentraci glukózy a k významnému kolísání hodnot koncentrace nedošlo ani po odběru vzorků v různých časových intervalech po nakrmení.

V naší studii nedošlo k ovlivnění hladiny triglyceridů v krevním séru po podání řepkového oleje do krmné dávky testovaných koní. Toto naše zjištění je v souladu s výsledky od autorů Siciliano & Wood (1993), kteří po přidání sójového oleje nezaznamenaly rozdíly v koncentraci triglyceridů v krevním séru testovaných koní. Sembratowicz et al. (2020) mezi sebou porovnávali lněný a sójový olej. Koncentrace triglyceridů v séru testovaných koní krmených lněným olejem byla mnohem nižší než u koní, kteří dostávali přídavek sójového oleje. Suplementace lněným olejem vedla také ke snížení množství cholesterolu, glukózy, celkového proteinu, ALT, AST a fosforu, oproti výsledkům, které byly získány po přidání sójového oleje do krmné dávky. Těchto příznivých hodnot dosahuje lněný olej nespíš díky jeho

vysokému množství omega-3 a dobrému poměru mezi omega-3 a omega-6 mastnými kyselinami. Omega-3 PUFA mají schopnost snižovat plazmatickou koncentraci triglyceridů tím, že inhibují jejich syntézu ve stěvné stěně a játrech (Xu et al. 2017).

**Tabulka 5:** Referenční hodnoty vybraných krevních parametrů (Lumsden et al. 1980; Jeffcott et al. 1986; Geor et al. 2013; Knottenbelt & Malalana 2014)

Parametr	Referenční hodnota	Pod referenční hodnotou	Nad referenční hodnotou
Glukóza (mmol/l)	3,1–6,2	—	Diabetes melitus, inzulinová rezistence, Cushingův syndrom
Celkový protein (g/l)	55–75	Celkový nedostatek proteinu v KD	Po vysoké zátěži, při nadměrném pocení, dehydratace
Albumin (g/l)	26–37	Ztráta moči, omenocnění jater, nedostatek proteinu v KD, parazitární omenocnění	—
Močovina (mmol/l)	3–5	Nedostatek proteinu v KD	Tvorba svalové hmoty, renální onemocnění
Triglyceridy (mmol/l)	0,1–0,8	—	Hypertriglyceridemie při hodnotách nad 27,75 mmol/l
Cholesterol (mmol/l)	1,89–3,57	—	Obezita
Ca (mmol/l)	2,4–3,4	Při kolikách, po operacích, u klisen před porodem	Selhání ledvin, intoxikace vitamínem D, kalcinóza indukovaná rostlinami
P (mmol/l)	0,7–1,7	Nedostatek P v KD, chronické onemocnění ledvin	Nadbytek v KD, selhání ledvin, lýza buněk, rhabdomyolýza, intoxikace vitamínem D
Zn (μmol/l)	15–29	Nedostatek Zn v KD, vysoký příjem vápníku, uremie, chronické záněty	—

Vitamín A ( $\mu\text{mol/l}$ )	0,5–1,1	Nedostatek v KD	Nadbytek v KD
Vitamín E (mg/l)	1,0–3,0	Nedostatek v KD	—

KD = krmná dávka

Suplementace olejem nijak neovlivnila hladiny cholesterolu v pokusu od Filho et al. (2019). Tyto výsledky jsou v rozporu s naším experimentem, jelikož při suplementaci řepkovým olejem došlo ke zvýšení hladiny cholesterolu v krevním séru. Naše výsledky se shodují s výsledky z publikace od Siciliano & Wood (1993), kteří po suplementaci sójového oleje také dosáhli zvýšené koncentrace cholesterolu v séru. Ve studii od Sembratowicz et al. (2020) došlo k porovnání lněného a sójového oleje. Při podání lněného oleje byly naměřené hodnoty pro cholesterol nižší než při doplnění sójového oleje. Dále se po podání lněného oleje snížila koncentrace ALT a v menší míře také AST. V našem experimentu se po podání řepkového oleje zvýšila koncentrace AST v krevním séru a hodnota ALT nebyla ovlivněna doplňkem řepkového oleje. Aminotransferázy ALT a AST jsou indikační enzymy, jejichž zvýšené hladiny v krvi mohou svědčit o poškození orgánů, ve kterých vznikají.

Přidáním řepkového oleje nedošlo je změně hladiny močoviny a zinku v krevním séru, oproti kontrolní dávce. V porovnání lněného a sójového oleje se po suplementaci sójovým olejem snížila hladina močoviny i zinku v krvi oproti lněnému oleji (Sembratowicz et al. 2020). Nelze si nevšimnout, že po obohacení krmné dávky o řepkový olej došlo v krevním séru testovaných koní ke zvýšení koncentrace vitamínu E. To je v souladu se zjištěnou vyšší koncentrací vitamínu E v použitém řepkovém oleji (tabulka 1). Koncentrací vitamínu E se zabývala i studie od Siciliano & Wood (1993), kteří mezi kontrolní dietou a dietou obohacenou o sójový olej nenašli rozdíly v koncentraci vitamínu E. Naše výsledky naznačují, že řepkový olej může být pro koně dobrým zdrojem vitamínu E.

## 7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo ověřit, jaký vliv má přídavek řepkového oleje do krmné dávky koní na stravitelnost krmiv u koní. Stravitelnost živin krmné dávky se snížila po přidání řepkového oleje, čímž se potvrdila hlavní hypotéza této práce. Zařazením řepkového oleje do diety v množství 5 % celkové sušiny krmné dávky, jsme docílili snížení zdánlivé stravitelnosti sušiny, hrubého proteinu, organické hmoty a NDF. Ke zlepšení stravitelnosti po doplnění oleje došlo pouze u hodnot hrubému tuku. Dále se tato práce zaměřila na hodnoty krevního séra, které se zvýšily po podání řepkového oleje pro celkový protein, albumin, cholesterol, AST a vitamín E. Celkově tak výsledky naznačují, že přidání řepkového oleje do krmné dávky koní může negativně ovlivnit stravitelnost živin. To může být nevhodné obzvláště u koní s vysokou potřebou živin. Řepkový olej se ukázal být pro koně dobrým zdrojem vitamínu E.

## 8 Literatura

- Andersson A, Sjodin A, Hedman A, Olsson R, Vessby B. 2000. Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipids in trained and untrained young men. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* **279**:744-751.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th Ed. Association of Official Agricultural Chemists. Washington DC. USA.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analyses*. 18th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg. USA.
- Arterburn LM, Hall EB, Oken H. 2006. Distribution, interconversion and dose response of n-3 fatty acids in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* **83**:1467-1476.
- Ayre KJ, Hulbert AJ. 1996. Dietary fatty acid profile influences the composition of skeletal muscle phospholipids in rats. *Journal of Nutrition* **126**:653-662.
- Badinga L, Caldari-Torres C. 2007. Dietary omega-3 and omega-6 fatty acids and reproduction in dairy cattle. *Journal of Animal Science* **85**:400-401.
- Baur LA, O'Connor, J, Pan DA, Storlein LH. 1999. Relationships between maternal risk of insulin resistance and the child's muscle membrane fatty acid composition. *Diabetes* **48**:112-116.
- Behme MT. 1996. Dietary fish oil enhances insulin sensitivity in miniature pigs. *Journal of Nutrition* **126**:1549-1553.
- Berbert AA, Kondo CRM, Almendra CL, Matsuo T, Dichi I. 2005. Supplementation of fish oil and olive oil patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition* **21**:131-136.
- Borgia LA, Valberg SJ, McCue ME, Pagan JD, Roe CR. 2010. Effect of dietary fats with odd or even numbers of carbon atoms on metabolic response and muscle damage with exercise in Quarter Horse-type horses with type 1 polysaccharide storage myopathy. *American Journal of Veterinary Research* **71**:326-336.
- Boufaïed H, Chouinard PY, Tremblay GF, Petit HV, Michaud R, Bélanger G. 2003. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science* **83**:501-511.
- Bowman VA, Fontenot JP, Meacham TN, Webb KE. 1979. Acceptability and digestibility of animal, vegetable, and blended fats by equine. *Proceedings of the 6th Equine Nutrition and Physiology Symposium* **6**:74.
- Brinsko SP, Dickson DV, Charles CL, Terry LB, Brian CD, Mark EW. 2005. Effect of feeding a DHA-enriched nutraceutical on the quality of fresh, cooled and frozen stallion semen. *Theriogenology* **63**:1519-1527.
- Burr GO, Burr MM. 1929. New deficiency disease produced by rigid exclusion of fat from diet. *Journal of Biological Chemistry* **82**:345-367.



- Bush JA, Freeman DE, Kline KH, Merchen NR, Fahey GC. 2001. Dietary fat supplementation effects on in vitro nutrient disappearance and in vivo nutrient intake and total tract digestibility by horses. *Journal of Animal Science* **79**:232-239.
- Caldari-Torres C, Rodriguez-Sallaberry C, Badinga L. 2005. Differential effects of n-3 and n-6 fatty acids on prostaglandin F2a production by bovine endometrial cells. *Journal of Dairy Science* **89**:971-977.
- Calder PC. 2001. Omega 3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *World Review on Nutrition and Dietetics* **88**:109-116.
- Calder PC, Grimbe RF. 2002. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *European Journal of Clinical Nutrition* **56**:14-19.
- Calder PC. 2006. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **75**:197-202.
- Calder PC. 2009. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. *Biochimie* **91**:791-795.
- Calder PC. 2014. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochimica et Biophysica Acta* **4**:469-484.
- Cargile JL, Burrow JA, Kim I, Cohen ND, Merritt AM. 2004. Effect of dietary corn oil supplementation on equine gastric fluid acid, sodium, and prostaglandin E2 content before and during pentagastrin infusion. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **8**:545-549.
- Casals R., Caja G, Pol MV, Such X, Albanell E, Gargouri A, Casellas J. 2006. Response of lactating dairy ewes to various levels of dietary calcium soaps of fatty acids. *Animal Feed Science and Technology* **131**:312-332.
- Clarke L, Roberts M, Argenzio R. 1990. Feeding and digestive problems in horses. Physiologic responses to a concentrated meal. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **6**:433-450.
- Cleland LG, French JK, Betts WH, Murphy GA, Elliott MJ. 1998. Clinical and biochemical effects of dietary fish oil supplements in rheumatoid arthritis. *Journal of Rheumatology* **15**:1471-1475.
- Coenen M. 1986. Verdaulichkeit und praecaecale passage einer suspendierfähigen diät in abhängigkeit von der applikationsform (spontane futteraufnahme bzw. Flüssig pes sonde) *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **56**:104-117.
- Coffman JR, Colles CM. 1983. Insulin tolerance in laminitic ponies. *Canadian Journal of Comparative Medicine* **47**:347-351.
- Connysson M, Muhonen S, Lindberg JE, Essen-Gustavsson B, Nyman G, Nostell K, Jansson A. 2006. Effects on exercise response, fluid and acid-base balance of protein intake from forageonly diets in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal* **36**:648-653.

- Connysson M, Essen-Gustavsson B, Lindberg JE, Jansson A. 2010. Effects of feed deprivation on Standardbred horses fed a forage-only diet and a 50:50 forage-oats diet. *Equine Veterinary Journal* **42**:335-340.
- Curtis C, Hughes CE, Flannery CR, Little CB, Harnson B, Carterson B. 2000. n-3 fatty acids specifically modulate catabolic factors involved in articular cartilage degradation. *Journal of Biological Chemistry* **275**:721-724.
- Cheng Z, Robinson RS, Pushpakumara PGA, Mansbride RJ, Wathes DC. 2001. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow. *Journal of Endodontics* **171**:463-473.
- Czech A, Kiesz M, Kiesz A, Próchniak T, Rózański P, Klimiuk K. 2019. Influence of type of use, age and gender on haematological and biochemical blood parameters of małopolski horses. *Annals of Animal Science* **19**:85-96.
- Davison KE, Potter GD, Greene LW, Evans JW, McMullan W. 1991. Lactation and reproductive performance of mares fed added dietary fat during late gestation and early lactation. *Journal of Equine Veterinary Science* **11**:111-115.
- De Caterina R, Cybulsky MI, Clinton SK, Gimbrone MA, Libby P. 1994. The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells. *Arteriosclerosis and Thrombosis* **14**:1829-1836.
- Delobel A, Fabry C, Schoonheere N, Istasse L, Hornick JL. 2008. Linseed oil supplementation in diet for horses: Effects on palatability and digestibility. *Livestock Science* **116**:15-21.
- Dewhursts RJ, Scollan ND, Youell SJ, Tweed KS, Humphreys MO. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on fatty acid composition of grasses. *Grass and Forage Science* **56**:68-74.
- Domingo JL, Bocio A, Falco G, Llobet JM. 2007. Benefits and risks of fish consumption I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology* **230**:219-226.
- Dunnett CE, Marlin DJ, Harris RC. 2002. Effect of dietary lipid on response to exercise: Relationship to metabolic adaptation. *Equine Veterinary Journal* **34**:75-80.
- Essen-Gustavsson B, Connysson M, Jansson A. 2010. Effects of crude protein intake from forage-only diets on muscle amino acids and glycogen levels in horses in training. *Equine Veterinary Journal* **42**:341-346.
- Fehlberg LK, Lattimer JM, Vahl CI, Drouillard JS, Douthit TL. 2020. Digestibility of diets containing calcium salts of fatty acids or soybean oil in horses. *Translational Animal Science* **4**:507-518.
- Figueiras M, Olivan M, Busquets S, Lopez-Soriano FJ, Argiles JM. 2010. Effects of eicosapentaenoic acid (EPA) treatment on insulin sensitivity in an animal model of diabetes: improvement of the inflammatory status. *Obesity* **19**:362-369.

- Filho HCM, Hunka MM, Souza LA, Cavalcanti HE. 2019. Use of oil-rich diet for gaited horses during physical training. *Acta Veterinaria Brno* **88**:25-31.
- Firshman AM, Valberg SJ, Bender JB, Finno CJ. 2003. Epidemiologic characteristic and management of polysaccharide storage myopathy in Quarter Horses. *American Journal of Veterinary Research* **64**:1319-1327.
- Fonnesbeck PV, Lydman RK, Vander Noot GW, Symons LD. 1967. Digestibility of the proximal nutrients of forage by horses. *Journal of Animal Science* **26**:1039-1044.
- Frank N, Sojka JE, Latour MA. 2004. Effect of hypothyroidism on the blood lipid response to higher dietary fat intake in mares. *Journal of Animal Science* **82**:2640-2646.
- Frank N, Andrews FM, Elliott SB, Lew J. 2005. Effects of dietary oils on the development of gastric ulcers in mares. *American Journal of Veterinary Research* **66**:2006-2011.
- Frank N, Geor RJ, Durham AE, Johnson PJ. 2010. Equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **24**:467-475.
- Freeman MP, Sinha P. 2007. Tolerability of omega-3 fatty acid supplements in preinatal women. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids* **77**:203-208.
- Friberg CA, Logas D. 1999. Treatment of cutaneous hypersensitive horses with high-dose n-3 fatty acids: A double-blinded crossover study. *Veterinary Dermatology* **10**:117-122.
- Furtney SR, Dominguez B, Terry MK, Epp T, Arns MJ, Pentergraft JS. 2009. Omega-3 supplementation in quarter and miniature horse mares. *Journal of Equine Veterinary Science* **29**:353-354.
- Gatta D, Casini L, Liponi GB, Pellegrini O. 2005. Effect of oils administration on diets digestibility and haematic fatty acids profile in exercising horses. *Italian Journal of Animal Science* **4**:415-417.
- Geelen SNJ, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Beynen AC. 1999. Dietary fat supplementation and equine plasma lipid metabolism. *Equine Veterinary Journal* **30**:475-478.
- Geelen SNJ, Jansen WL, Geelen MMJ, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Beynen AC. 2000. Lipid metabolism in equines fed a fat-rich diet. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **70**:148-152.
- Geor RJ, Harris PA, Hoekstra KE. 2001. Effect of corn oil on solidphase gastric emptying in horses. *American College of Veterinary Internal Medicine* **19**:853.
- Geor, RJ, Coenen M, Harris P. 2013. *Equine applied and clinical nutrition: health, welfare and performance*. Elsevier Health Sciences, Amsterdam.
- German JB, Dillard C, Whelan J. 1996. Biological effects of dietary arachidonic acid. *Journal of Nutrition* **126**:1076-1080.
- Gillham SB, Dodman NH, Shuster L, Kream RK, Rand W. 1994. The effect of diet on cribbing behavior and plasma B-endorphins in horses. *Applied Animal Behavioral Science* **41**:147-153.

- Glade M, Gupta S, Reimers T. 1984. Hormonal responses to high and low planes of nutrition in weanling Thoroughbreds. *Journal of Animal Science* **59**:658-665.
- Godoi FN, Almeida FQ, Saliba EOS, Ventura HT, França AB, Rodrigues LM. 2009. Intake, digestive kinetics and nutrient digestibility in athletic horses fed diets with soybean oil. *Revista Brasileira de Zootecnia* **38**:1928-1937.
- Godoi FN, Almeida FQ, Migon EXF, Almeida HFM, Monteiro ABF, Santos TM. 2010. Performance of eventing horses fed high fat diet. *Revista Brasileira de Zootecnia* **39**:335-343.
- Goncalves S, Julliard V, Leblond A. 2002. Risk factors associated with colic in horses. *Veterinary Research* **33**:641-652.
- Grimm H, Tibell A, Norrlind B, Blecher C, Wilker S, Schwemmle K. 1994. Immunoregulation by parenteral lipids: impact of the n-3 to n-6 fatty acid ratio. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* **18**:417-421.
- Hall J, Van Saun R, Wander RC. 2004. Dietary (n-3) fatty acids from Menhaden fish oil alter plasma fatty acid and leukotriene B synthesis in healthy horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **18**:871-879.
- Hall JA, Van Saun RJ, Tornquist SJ, Gradin JL, Pearson EG, Wander RC. 2004. Effect of type of dietary polyunsaturated fatty acid supplement (corn oil or fish oil) on immune responses in healthy horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **18**:880-886.
- Hallebeek JM, Beynen AC. 2002. Dietary fats and lipid metabolism in relation to equine health, performance and disease [PhD. Thesis]. Utrecht University, Utrecht.
- Hansen RA, Savage CJ, Reidlinger K, Traub-Dargatz JL, Ogilvie GK, Mitchell D, Fettman MJ. 2000. Effects of dietary flaxseed oil supplementation on equine plasma fatty acid concentrations and whole blood platelet aggregation. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **16**:457-463.
- Hargin KD, Morris WR. 1980. The distribution of acyl lipids in the germ, aleurone, starch and non-starch endosperm of four wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **31**:877-888.
- Harris MA, Baumgard LH, Arns MJ, Webel SK. 2005. Stallion spermatozoa membrane phospholipid dynamics following dietary n-3 supplementation. *Animal Reproduction Science* **89**:234-237.
- Harwood JL. 1996. Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta* **1301**:7-56.
- Hennig B, Toborek M, McClain CJ. 2001. High-energy diets, fatty acids and endothelial cell function: implications for atherosclerosis. *Journal of the American College of Nutrition* **20**:97-105.
- Henry MM, Moore JN, Feldman EB, Fischer JK, Russell B. 1990. Effect of dietary alpha-linolenic acid on equine monocyte procoagulant activity and eicosanoid synthesis. *Circulatory shock* **32**:173-188.

- Henry MM, Moore JN, Fischer JK. 1991. Influence of an omega-3 fatty acid-enriched ration on in vivo responses of horses to endotoxin. *American Journal of Veterinary Research* **52**:523-527.
- Hess BW, Moss GE, Rule DC. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science* **86**:188-204.
- Hess TM, Rexford JK, Hansen DK, Harris M, Schauermaun N, Ross T, Engle TE, Allen KGD, Mulligan CM. 2012. Effects of two different dietary sources of long chain omega-3, highly unsaturated fatty acids on incorporation into the plasma, red blood cell, and skeletal muscle in horses. *Journal of Animal Science* **90**:3023-3031.
- Hess T, Ross-Jones T. 2014. Omega-3 fatty acid supplementation in horses. *Revista Brasileira de Zootecnia* **43**:677-683.
- Hintz HF, Cymbaluk NF. 1994. Nutrition of the Horse. *Annual Review of Nutrition* **14**:243-267.
- Hoffman RM, Lawrence LA, Kronfeld DS, Cooper WL, Sklan DJ, Dascanio JJ, Harris PA. 1999. Dietary carbohydrates and fat influence radiographic bone mineral content of growing horses. *Journal of Animal Science* **77**:3330-3338.
- Hoffman RM, Wilson JA, Lawrence LA, Kronfeld DS, Cooper WL, Harris PA. 2001. Supplemental calcium does not influence radiographic bone mineral content of growing foals fed pasture and a fat and fiber supplement. *Equine Nutrition and Physiology Society* **17**:122-123.
- Holland, JL, Kronteld DS, Rich GA, Kline KA, Fontenot JP, Meacham TN, Harris PA. 1998. Acceptance of fat and lecithin containing diets by horses. *Applied Animal Behaviour Science* **56**:91-96.
- Hughes S, Potter G, Greene L, Odom T, Murray-Gerzik M. 1995. Adaptation of Thoroughbred horses in training to a fat supplemented diet. *Equine Veterinary Journal* **18**:349-352.
- ISO, 1997. International Standard, ISO 10520. Native Starch – Determination of Starch Content – Ewers Polarimetric Method, first ed. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Jansen WL, van der Kuilen J, Geelen SN, Beynen AC. 2000. The effect of replacing nonstructural carbohydrates with soybean oil on the digestibility of fibre in trotting horses. *Equine Veterinary Journal* **32**:27-30.
- Jansen WL, van der Kuilen J, Geelen SNJ, Beynen AC. 2001. The apparent digestibility of fibre in trotters when dietary soybean oil is substituted for an iso-energetic amount of glucose. *Archives of Animal Nutrition* **54**:297-304.
- Jansen WL, Geelen SN, van der Kuilen J, Beynen AC. 2002. Dietary soybean oil depresses the apparent digestibility of fibre in trotters when substituted for an iso-energetic amount of corn starch or glucose. *Equine Veterinary Journal* **34**:302-305.

- Jansen WL, et al. 2007. Studies on the mechanism by which a high intake of soybean oil depresses the apparent digestibility of fibre in horses. *Animal Feed Science and Technology* **138**:298-308.
- Jeffcott LB, Field JR, McLean JG, O'Dea K. 1986. Glucose tolerance and insulin sensitivity in ponies and standardbred horses. *Equine Veterinary Journal* **18**(2):97-101.
- Julliard V, De Fombelle A, Varloud M. 2006. Starch digestion in horses: the impact of feed processing. *Livestock Science* **100**:44-52.
- Kane E, Baker JP, Bull LS. 1979. Utilization of a corn oil supplemented diet by the pony. *Journal of Animal Science* **48**:1379-1384.
- Kaur G, Cameron-Smith D, Garg M, Sinclair AJ. 2011. Docosapentaenoic acid (22:5n-3): a review of its biological effects. *Progress in Lipid Research* **50**:28-34.
- Khol-Parisini A, van den Hoven R, Leinker S, Hulan H, Zentek J. 2007. Effects of feeding sunflower oil or seal blubber oil to horses with recurrent airway obstruction. *Canadian Journal of Veterinary Research* **71**:59-65.
- King SS, AbuGhazaleh AA, Webel SK, Jones KL. 2008. Circulating fatty acid profiles in response to three levels of dietary omega-3 fatty acid supplementation in horses. *Journal of Animal Science* **86**:1114-1123.
- Knottenbelt DC, Malalana F. 2014. *Saunders Equine Formular*. Elsevier Health Sciences, Edinburgh.
- Kohli P, Levy BD. 2009. Resolvins and protectins: mediating solutions to inflammation. *British Journal of Pharmacology* **158**:960-971.
- Kronfeld DS. 1996. Dietary fat affects heat production and other variables of equine performance, under hot and humid conditions. *Equine Veterinary Journal* **22**:24-34.
- Kronfeld DS, Harris PA. 2003. Equine grain-associated disorders. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* **25**:974-983.
- Kronfeld DS, Holland JL, Rich GA, Meacham TN, Fontenot JP, Sklan DJ, Harris PA. 2004. Fat digestibility in *Equus Caballus* follows increasing first-order kinetics. *Journal of Animal Science* **82**:1773-1780.
- Kusunose R. 1992. Diurnal pattern of cribbing in stabled horses. *Japanese Journal of Equine Science* **3**:173-176.
- Lardinois CK. 1987. The role of omega 3 fatty acids on insulin secretion and insulin sensitivity. *Medical Hypotheses* **24**:243-248.
- Lau CS, Morley KD, Belch JJ. 1993. Effects of fish oil supplementation on non-steroidal anti-inflammatory drug requirement in patients with mild rheumatoid arthritis – a double-blind placebo controlled study. *British Journal of Rheumatology* **32**:982-989.
- Lindberg JE, Karlsson CP. 2001. Effect of partial replacement of oats with sugar beet pulp and maize oil on nutrient utilisation in horses. *Equine Veterinary Journal* **33**:585-590.

- Lorenzo-Figueras M, Morisset SM, Morisset J, Lainé J, Merritt AM. 2007. Digestive enzyme concentrations and activities in healthy pancreatic tissues of horses. *American Journal of Veterinary Research* **68**:1070-1072.
- Lumsden JH, Rowe R, Mullen K. 1980. Hematology and biochemistry reference values for the light horse. *Canadian Journal of Comparative Medicine* **44**(1):32.
- Luo J, Rizkalla SW, Boillot J, Alamowitch C, Chaib H, Bruzzo F, Desplanque N, Dalix AM, Durand G, Slama G. 1996. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids improve adipocyte insulin action and glucose metabolism in insulin-resistant rats: Relation to membrane fatty acids. *Journal of Nutrition* **126**:1951-1958.
- Luthersson N, Hou Nielson K, Harris P, Parkin TDH. 2009. Risk factors associated with equine gastric ulceration syndrome (EGUS) in 201 horses in Denmark. *Equine Veterinary Journal* **41**:625-631.
- MacLeay JM, Valberg SJ, Pagan JD, De La Corte F, Roberts J, Billstrom J, McGinnity J, Kaese H. 1999. Effect of diet on Thoroughbred horses with recurrent exertional rhabdomyolysis performing a standardized exercise test. *Equine Veterinary Journal* **265**(30):458-462.
- MacLean CH, et al. 2004. Effects of omega-3 fatty acids on lipids and glycemic control in type II diabetes and the metabolic syndrome and on inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, renal disease, systemic lupus erythematosus, and osteoporosis. Evidence Report/Technology Assessment No. 89, Rockville.
- Manhart DR, Scott BD, Gibbs PG, Honnas CM, Hood DM, Coverdale JA. 2009. Markers of inflammation in arthritic horses fed omega-3 fatty acids. *Professional Animal Scientist* **25**:155-160.
- Mann GE, Lock AL, Bauman DE, Kendall NR. 2007. Reproductive function in dairy cows fed a lipid encapsulated conjugated linoleic acid supplement. *Journal of Animal Science* **85**(1):401-401.
- Mansbach CM, Gorelick F. 2007. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packing and secretion of chylomicrons. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **293**:645-650.
- Marchello EV, Shurg WA, Marchello JA, Cuneo SP. 2000. Changes in lipoprotein composition in horses fed a fat-supplemented diet. *Journal of Equine Veterinary Science* **20**:453-458.
- Mattos R, Staples CR, Thatcher WW. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction* **5**:38-45.
- McCann JS, Meacham TN, Fontenot JP. 1987. Energy utilization and blood traits of ponies fed fat-supplemented diets. *Journal of Animal Science* **65**:1019-1026.
- McCann M, Moore JN, Carrik JB, Barton MH. 2000. Effect of intravenous infusion of omega-3 and omega-6 lipid emulsions on equine monocyte fatty acid composition and inflammatory mediator production in vitro. *Shock* **14**:222-228.

- McKenzie EC, Valberg SJ, Godden SM, Pagan JD, MacLeay JM, Geor RJ, Carlson GP. 2003. Effect of dietary starch, fat, and bicarbonate content on exercise responses and serum creatine kinase activity in equine recurrent exertional rhabdomyolysis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **17**:693-701.
- Mertens DR. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International* **85**:1217-1240.
- Meydani S, Lichtenstein AH, Cornwall S, Meydani M, Goldin BR, Rasmussen H, Dinarello CA, Schaefer EJ. 1993. Immunologic effects of national cholesterol education panel step-2 diets with and without fish-derived N-3 fatty acid enrichment. *Journal of Clinical Investigation* **92**:105-113.
- Meyer JH, Mayer EA, Jehn D, Gu Y, Fink AS, Fried M. 1986. Gastric processing and emptying of fat. *Gastroenterology* **90**:1176-1187.
- Meyer JH, Flothow C, Radicke S. 1997. Preileal digestibility of coconut fat and soybean oil in horses and their influence on metabolites of microbial origin of the proximal digestive tract. *Archives of Animal Nutrition* **50**:63-74.
- Meyers M, Potter G, Evans J, Greene L, Crouse S. 1989. Physiologic and metabolic response of exercising horses to added dietary fat. *Journal of Equine Veterinary Science* **9**:218-223.
- Moreau H, Gargouri Y, Lecat D, Junien JL, Verger R. 1988. Screening of lipases in several mammals. *Biochimica et Biophysica Acta* **959**:247-252.
- Morgado ES, Almeida FQ, Godoi FN, Gomes AVC, Galzerano L, França AB, Brasileiro LS. 2009. Carbohydrate digestion in horses fed diets composed by roughages or roughages supplemented with concentrate and/or soybean oil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* **61**:1112-1119.
- Morris DD, Henry MM, Moore JN, Fischer JK. 1991. Effect of dietary alpha-linolenic acid on endotoxin-induced production of tumor necrosis factor by peritoneal macrophages in horses. *American Journal of Veterinary Research* **52**:528-532.
- O'Connor CI, Lawrence LM, St. Lawrence A, Janieki K, Warren L, Hayes S. 2004. The effect of dietary fish oil supplementation on exercising horses. *Journal of Animal Science* **82**:2978-2984.
- O'Connor CI, Lawrence LM, Hayes S. 2007. Dietary fish oil supplementation affects serum fatty acid concentrations in horses. *Journal of Animal Science* **85**:2183-2189.
- O'Neill W, McKee S, Clarke AF. 2002. Flaxseed (*Linum usitatissimum*) supplementation associated with reduced skin test lesional area in horses with culicoides hypersensitivity. *Canadian Journal of Veterinary Research* **66**:272-277.
- Orme CE, Harris RC, Marlin DJ, Hurley J. 1997. Metabolic adaptation to a fat-supplemented diet by the Thoroughbred horse. *British Journal of Nutrition* **97**:443-458.



- Pagan JD, Harris PA, Kennedy MAP, Davidson N, Hoekstra KE. 1999. Feed type and intake affects glycemic response in Thoroughbred horses. *Equine Nutrition and Physiology Society* **16**:149-150.
- Pagan JD, Geor RJ, Harris PA, Hoekstra K, Gardner S, Hudson C, Prince A. 2002. Effects of fat adaptation on glucose kinetics and substrate oxidation during low intensity exercise. *Equine Veterinary Journal* **34**:33-38.
- Pan DA, Lillioja S, Milner MR, Kritetos AD, Baur LA, Borgadus C, Storlein LH. 1995. Skeletal muscle membrane lipid composition is related to adiposity and insulin action. *Journal of Clinical Investigation* **96**:2802-2808.
- Partridge GG, Findlay M, Fordyce RA. 1986. Fat supplementation of diets for growing rabbits. *Animal Feed Science and Technology* **16**:109-117.
- Portier K, deMoffarts B, Fellman N, Kirschvink N, Motta C, Letellierw C, Ruelland A, van Erck E, Lekeux P, Couder J. 2006. The effects of dietary n3 and antioxidant supplementation on erythrocyte membrane fatty acid composition and fluidity in exercising horses. *Equine Veterinary Journal* **36**:279-284.
- Ralston S. 1996. Hyperglycemia/hyperinsulinemia after feeding a meal of grain to young horses with osteochondritis dissecans (OCD) lesions. *Pferdeheilkunde* **12**:320-322.
- Rasic-Milutinovic Z, Perunicic G, Pljesa S, Gluvic Z, Sobajic S, Djuric I, Ristic D. 2007. Effects of n-3 PUFA supplementation on insulin resistance and inflammatory biomarkers in hemodialysis patients. *Renal Failure* **29**:321-329.
- Redbo I, Redbo-Torstensson P, Odberg FO, Hedendahl A, Holm J. 1998. Factors affecting behavioral disturbances in race-horses. *Animal Science Journal* **66**:475-481.
- Renier G, Skamene E, de Sanctis J, Radzioch D. 1993. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids prevent the development of arteriosclerotic lesions in mice: modulation of macrophage secretory activities. *Journal of Artherosclerosis and Thrombosis* **13**:1515-1524.
- Ribeiro WP, Valberg SJ, Pagan JD, Gustavsson BE. 2004. The effect of varying dietary starch and fat content on serum creatine kinase activity and substrate availability in equine polysaccharide storage myopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **18**:887-894.
- Rich GA, Fontenot JP, Meacham TN. 1981. Digestibility of animal, vegetable and blended fats by equine. *Equine Nutrition and Physiology Society* **7**:30-36.
- Ringmark S, Roepstorff L, Hedenstrom U, Lindholm A, Jansson A. 2017. Reduced training distance and a forage-only diet did not limit race participation in young Standardbred horses. *Comparative Exercise Physiology* **13**(4):265-277.
- Risérus U, Willett WC, Hu FB. 2009. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Progress in Lipid Research* **48**:44-51.
- Sales J, Homolka P. 2011. A meta-analysis of the effects of supplemental dietary fat on protein and fibre digestibility in the horse. *Livestock Science* **136**:55-63.

- Sallman HP, Kienzle E, Fuhrmann H. 1991. Metabolic consequences of feeding ponies with marginal amounts of fat. *Equine Nutrition and Physiology Society* **12**:81-82.
- SAS, 2014. SAS Enterprise Guide version 7.1. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
- Sembratowicz I, Zięba G, Cholewinska E, Czech A. 2020. Effect of dietary flaxseed oil supplementation on the redox status, haematological and biochemical parameters of horses' blood. *Animals* **10**:1-12.
- Serhan C, Chiang N, Van Dyke T. 2008. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology* **8**:349-361.
- Siciliano PD, Wood CH. 1993. The effect of added dietary soybean oil on vitamin E status of the horse. *Journal of Animal Science* **71**(12):3399-3402.
- Sprecher H. 1977. Biosynthetic pathways of polyunsaturated fatty acids. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **83**:35-50.
- Sprouse R, Garner H, Green E. 1987. Plasma endotoxin levels in horses subjected to carbohydrate induced laminitis. *Equine Veterinary Journal* **19**:25-28.
- Squires EL. 2007. The role of omega-3 and -6 fatty acids in regulation of reproductive function in horses. *Journal of Animal Science* **85**(1):400.
- Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. 1998. Influence of supplemental fats on reproduction tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science* **81**:856-871.
- Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, Pascoe WS, Khouri S, Kraegen EW. 1991. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes* **40**:280-289.
- Stratton-Phelps M, Fascetti AJ, Geor RJ. 2003. Nutritional support in selected metabolic, hepatic, urinary, and musculoskeletal conditions. *Current Therapy in Equine Medicine* **5**:715-722.
- Sturgeon LS, Baker LA, Pipkin JL, Haliburton JC, Chirare NK. 2000. The digestibility and mineral availability of matua, bermuda grass, and alfalfa hay in mature horses. *Journal of Equine Veterinary Science* **20**:45-48.
- Swinney DL, Potter GD, Greene LW. 1995. Digestion of fat in the equine small and large intestine. *Equine Nutrition and Physiology Society* **14**:30-35.
- Tinker MK, White NA, Lessard P, Thatcher CD, Pelzer KD, Davis B, Carmel DK. 1997. Prospective study of equine colic risks. *Equine Veterinary Journal* **29**:454-458.
- Treiber KH, Kronfeld DS, Hess TM, Byrd BM, Splan RK, Staniar WB. 2006. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *Journal of American Veterinary Medical Association* **228**:1538-1545.
- Valberg SJ. 2018. Muscle Conditions Affecting Sport Horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* **34**(2):253-276.

- Valk EE, Hornstra G. 2000. Relationship between vitamin E requirement and polyunsaturated fatty acid intake in man: a review. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* **70**:31-42.
- Van Dijk S, Wensing T. 1989. Comparison of the lipoprotein pattern of the horse, the pony and the lactating and non-lactating cow obtained by a combination of an ultracentrifugation and a precipitation technique. *Comparative Biochemistry and Physiology B* **94**:735-738.
- Van Soest PJ. 1982. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press, Ithaca.
- Vervuert I, Klein S, Coenen M. 2010. Short-term effects of a moderate fish oil or soybean oil supplementation on postprandial glucose and insulin responses in healthy horses. *Veterinary Journal* **184**:162-166.
- Vick MM, Adams AA, Murphy BA, Sessions DR, Horohov DW, Cook RF, Shelton BJ, Fitzgerald BP. 2007. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science* **85**:1144-1155.
- Vineyard KR, Warren LK, Kivipelto J. 2007. Effect of fish oil supplementation on neutrophil function and antibody production in yearling horses. *Equine Nutrition and Physiology Society* **20**:13-14.
- Vineyard KR, Warren LK, Kivipelto J. 2008. Effect of high fat diets and fat source on immune function in yearling horses. *Journal of Animal Science* **86**(2):376.
- Vineyard KR, Warren LK, Kivipelto J. 2010. Effect of dietary omega-3 fatty acid source on plasma and red blood cell membrane composition and immune function in yearling horses. *Journal of Animal Science* **88**:248-257.
- Wallace F, Miles EA, Evans C, Stock TE, Yaqoob P, Calder PC. 2001. Dietary fatty acids influence the production of Th1-but not TH-2 type cytokines. *Journal of Leukocyte Biology* **69**:449-457.
- Wamsley NE, Burns PD, Engle TE, Enns RM. 2005. Fish meal supplementation alters uterine prostaglandin F2a synthesis in beef heifers with low luteal-phase progesterone. *Journal of Animal Science* **83**:1832-1838.
- Warren LK, Kivipelto J. 2007. Fatty acid content of grass and legume hays commonly fed to horses. *Journal of Animal Science* **85**(1):140-141.
- Warren LK, Kivipelto J. 2007. Effect of season, forage maturity and grazing on the fatty acid composition of bahiagrass pasture. *Journal of Animal Science* **85**(1):141.
- Warren LK, Kivipelto J. 2008. Seasonal effects of diet on the omega-6 and omega-3 fatty acid composition of plasma and red blood cells in grazing horses. *Journal of Animal Science* **86**:2.
- Webb SP, Potter GD, Evans JW. 1987. Physiologic and metabolic response of race and cutting horses to added dietary fat. *Equine Nutrition and Physiology Symposium* **10**:115-120.
- Webel SK, Spencer JD, Gaines AM. 2007. The role of dietary omega-3 and omega-6 fatty acids in swine production. *Journal of Animal Science* **85**(1):401-402.

- Willard J, Willard J, Wolfram S, Baker J. 1977. Effect of diet on cecal pH and feeding behavior of horses. *Journal of Animal Science* **45**:87-93.
- Williams CA, Kronfeld DS, Staniar WB, Harris PA. 2001. Plasma glucose and insulin responses of thoroughbred mares fed a meal high in starch and sugar or fat and fiber. *Journal of Animal Science* **79**:2196-2201.
- Williams T, Rude B, Liao S, Mochal-King C, Nicodemus M. 2017. Effects of feeding fat on nutrient digestion in cannulated ponies fed a forage diet. *Animal Husbandry, Dairy and Veterinary Science* **1**(3):1-5.
- Williams T, Rude B, Liao S, Mochal-King C, Nicodemus M. 2018. Effects of fat supplementation on plasma glucose, insulin and fatty acid analysis in ponies maintained on a forage-based diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **102**(4):1069-1076.
- Wilson KR, Potter GD, Michael EM. 2003. Alteration in the inflammatory response in athletic horses fed diets containing omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Equine Nutrition and Physiology Society* **18**:20-23.
- Woodward AD, Nielsen BD, O'Conner CI, Webel SK, Orth MW. 2005. Supplementation of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids high in docosahexaenoic acid (DHA) increases plasma DHA concentrations and may increase trot stride lengths in horses. *Equine and Comparative Exercise Physiology* **4**:71-78.
- Wyse CA, Murphy DM, Preston T, Sutton DG, Morris DJ, Christley RM, Love S. 2001. The <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test for detection of effects of meal composition on the rate of solid-phase gastric emptying in ponies. *Research in Veterinary Science* **71**:81-83.
- Xu J, Rong S, Gao H, Chen C, Yang W, Deng Q, Huang Q, Xiao L, Huang FA. 2017. Combination of flaxseed oil and astaxanthin improves hepatic lipid accumulation and reduces oxidative stress in high fat-diet fed rats. *Nutrients* **9**:271.
- Zeyner AC, Hoffmeister A, Einspanier J, Gottschalk J, Lengwenat O, Illies M. 2006. Glycaemic and insulinaemic response of quarter horses to concentrates high in fat and low in soluble carbohydrates. *Equine Veterinary Journal* **36**:643-647.
- Zhao SM, Jia LW, Gao P, Li QR, Lu X, Li JS, Xu GW. 2008. Study on the effect of eicosapentaenoic acid on phospholipids composition in membrane microdomains of tight junctions of epithelial cells by liquid chromatography/electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **47**:343-350.
- Zhou M, Robards K, Glennie-Holmes M, Helliwell S. 1999. Oat lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **76**:159-166.