Utjecaj razine škroba u obroku konja na in vitro fekalnu probavljivost vlakana

Bošnjak, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:586820

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

UTJECAJ RAZINE ŠKROBA U OBROKU KONJA NA *IN VITRO* FEKALNU PROBAVLJIVOST VLAKANA

DIPLOMSKI RAD

Ana Bošnjak

Zagreb, ožujak, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:
Hranidba životinja i hrana

UTJECAJ RAZINE ŠKROBA U OBROKU KONJA NA *IN VITRO* FEKALNU PROBAVLJIVOST VLAKANA

DIPLOMSKI RAD

Ana Bošnjak

Mentor: Prof.dr.sc. Darko Grbeša

Neposredni voditelj: dr.sc. Marija Duvnjak

Zagreb, ožujak, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Ana Bošnjak**, JMBAG 0178093337, rođen/a 19.09.1993. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ RAZINE ŠKROBA U OBROKU KONJA NA *IN VITRO* FEKALNU PROBAVLJIVOST VLAKANA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

_____
Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Ana Bošnjak**, JMBAG 0178093337, naslova

UTJECAJ RAZINE ŠKROBA U OBROKU KONJA NA *IN VITRO* FEKALNU PROBAVLJIVOST VLAKANA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:		potpisi:
1.	Prof.dr.sc. Darko Grbeša, mentor	_____
	Dr. sc. Marija Duvnjak, neposredni voditelj	_____
2.	Doc.dr.sc. Jelena Ramljak, član	_____
3.	Izv.prof.dr.sc. Krešimir Salajpal, član	_____

ZAHVALA

Ovime zahvaljujem prof. dr. sc. Darku Grbeši na prenesenom znanju tijekom svih pet godina studiranja te na pomoći i realizaciji ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem dr. sc. Mariji Duvnjak, kao i svim zaposlenicima laboratorija Zavoda za hranidbu životinja na strpljenju i pomoći pri izvođenju analiza tijekom pokusnog dijela.

Također, posebnu zahvalu upućujem svojim roditeljima na velikoj podršci bez koje moje cjelokupno obrazovanje ne bi bilo moguće. Istraživanje ne bi bilo moguće bez pomoći mog konjičkog kluba Hiperion i trenera Zdravka Petrovića koji mi je velikodušno ustupio svoje konje i opremu za istraživanje te im ovim putem iskreno zahvaljujem.

Posebno bih se zahvalila svojoj prijateljici Jeleni Ramljak i sestri Katarini Bošnjak koje su me vodile i bile glavni oslonac u svemu. Hvala vam. Bez vas ovo ne bi bilo moguće.

SADRŽAJ

1. UVOD ... 3
2. PREGLED LITERATURE ... 4
2.1. KRMIVA U OBROKU KONJA ... 4
2.1.1. VOLUMINOZNA KRMIVA ... 4
2.1.2. KREPKA KRMIVA ... 5
2.2. KEMIJSKI SASTAV KRMIVA ... 6
2.2.1. OSNOVNE HRANJIVE TVARI ... 7
2.3. PROBAVNI SUSTAV KONJA ... 9
2.4. HRANIDBA KONJA KONCENTRATNIM KRMIVIMA – UTJECAJ ŠKROBA ... 11
3. CILJ ISTRAŽIVANJA ... 13
4. MATERIJALI I METODE ... 14
4.1. KORIŠTENI KONJI U ISTRAŽIVANJU ... 14
4.2. ORGANIZACIJA HRANIDBE KONJA ... 15
4.3. PRIPREMA LABORATORIJSKOG UZORKA ... 17
4.4. LABORATORIJSKE ANALIZE ... 18
4.4.1. ODREĐIVANJE SADRŽAJA ŠKROBA ... 18
4.4.2. ODREĐIVANJE SADRŽAJA SIROVIH PROTEINA (SP) ... 19
4.4.3. ODREĐIVANJE SADRŽAJA NEUTRALNIH DETERGENT VLAKANA (NDV) ... 19
4.4.4. ODREĐIVANJE FEKALNE POROBAVLJIVOSTI ST ... 20
4.4.5. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA ... 22
4.5. STATISTIČKE ANALIZE ... 23
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I RASPRAVA ... 24
5.1. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA FECESA KONJA ... 24
5.2. pH VRIJEDNOST FECESA KONJA ... 26
5.3. FEKALNA *IN VITRO* PROBAVLJIVOST NEUTRALNIH DETERGENT VLAKANA I SUHE TVARI ... 28
6. ZAKLJUČCI ... 31
7. POPIS LITERATURE ... 32
8. ŽIVOTOPIS ... 35

SAŽETAK

Diplomskog rada studentice **Ane Bošnjak**, naslova

UTJECAJ RAZINE ŠKROBA U OBROKU KONJA NA *IN VITRO* FEKALNU PROBAVLJIVOST VLAKANA

Škrob je bogatiji izvor energije za konje od vlakana, ali njegova previsoka količina u obroku narušava razgradnju u tankom crijevu, povećava fermentaciju u slijepom i debelom crijevu što može imati za posljedicu smanjenu fermentaciju vlakana i zdravstvene probleme kod konja (npr. kolike). Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj različitih dnevnih razina škroba na *in vitro* fekalnu probavljivost neutralnih detergent vlakana i suhe tvari te da li promjene razine škroba u obroku izazivaju promjenu mikrobnog sastava fecesa konja. U pokusu postavljenom kao ponavljajući latinski kvadrat sudjelovala su tri konja prosječne tjelesne mase 650 kg i slične fizičke aktivnosti (sličan trenažni proces). Sva tri konja hranjena su s 12 kg livadnog sijena raspodijeljenog u tri obroka te krmnom smjesom sa 0,6, 1,2 i 1,8 (kg/dan/konju) iz koje su dobivali 0,3, 0,6 i 0,9 g škroba/kg tjelesne mase. Glavni ispitani utjecaji bili su razina škroba u obroku konja i utjecaj pojedine životinje na *in vitro* probavljivost vlakana i suhe tvari tri različita voluminozna krmiva (slama, djetelina i livadno sijeno) te da li promjene razine škroba u obroku izazivaju promjenu mikrobnog sastava fecesa konja. Rezultati su pokazali povećanu probavljivost vlakana i suhe tvari u sva tri voluminozna krmiva s povećanjem razine škroba u obroku. Paralelno s povećanjem udjela škroba zabilježena je i veća brojnost laktobacila, amilolitičkih i celulolitičkih bakterija u fecesu konja. Iz navedenog se može zaključiti da postepeno povećanje dnevne razine škroba u obroku konja (do 0,9 g/kg tjelesne mase životinje) ima pozitivan utjecaj na probavljivost vlakana i suhe tvari voluminoznih krmiva.

Ključne riječi: škrob, probavljivost, neutralna detergent vlakna, suha tvar, mikrobiom fecesa

SUMMARY

Of the master's thesis - student **Ane Bošnjak,** entitled

EFFECT OF STARCH LEVELS IN HORSE MEAL ON *IN VITRO* FECAL FIBER DIGESTIBILITY

Starch is a richer source of energy for horses than the fibers, but its excessive amount in the meal reduces its digestibility in the small intestine, increases fermentation in the caecum and large colon, which may result in reduced fiber fermentation and health problems (e.g. colics). The aim of the study was to determine the effect of different daily starch levels on *in vitro* digestibility of neutral detergent fibers and dry matter and whether changes in horse feces microbes occur. In the experiment, set as *latin square*, three horses with an average body mass of 650 kg and similar physical activity (similar training process) were included. Horses were fed with 12 kg of hay distributed in three meals and fodder mixture divided as follows: during first period 0.6 kg/day/horse; during second 1.2 and third 1.8 which contained 0.3, 0.6 and 0.9 g starch/kg of body weight. The main explored influences were the level of starch in the horse meal and effect of individual on *in vitro* fiber and dry matter digestibility of three different voluminous fodder (straw, clover and meadow hay). The results showed increased digestibility of fibers and dry matter in all three voluminous fodder by increasing the starch level in the meal. Parallel to the increase of starch content, a higher number of lactobacilli, amylolytic and cellulolytic bacteria in the horse feces was recorded. From this research it could be concluded that the gradual increase in the daily level of starch in the horse meal (up to 0.9 g/kg of body weight) has a positive effect on the digestibility of fibers and dry matter of voluminous fodder.

Key words: starch, digestibility, neutral detergent fiber, dry matter, fecal microbiome

1. UVOD

Divlji konj prije domestikacije ovisio je isključivo o paši i njegovom selektivnom biranju sastojaka tratine. Probavni sustav konja evolucijski je prilagođen iskorištavanju energije i hranjiva iz vlaknastog krmiva. Konj spada u porodicu biljojeda, a u pogledu hranidbe kod njega su se razvile osobine drugačije u odnosu na većinu drugih biljojeda, uključujući i preživače. Preživači fermentiraju sve organske sastojke hrane prije njihova dolaska u crijevni sustav, dok se fermentacija hranjivih tvari u konja odvija u slijepom i debelom crijevu. U pogledu učinkovitosti iskorištavanja vlakana iz krme preživači su u prednosti, budući da imaju prostrane "fermentore" bogato nastanjene mikrobima koji razgrađuju prvenstveno stanične stijenke biljnih stanica (vlakna), ali i ostale organske tvari na početku probavila (u predželudcima). U konja se neprobavljiva vlakna i drugi neprobavljeni sastojci organske tvari fermentiraju nakon tankog crijeva, u slijepom i debelom crijevu. Tijekom procesa probave, kod konja se hrana podvrgava mikrobiološkoj razgradnji tek u debelom crijevu koje je pri kraju probavila, zbog čega su hranjive tvari u manjoj mjeri podvrgnute utjecaju probavnih sokova želuca i tankog crijeva. Druga lokacija mikrobne aktivnosti u probavilu konja u odnosu na preživače umanjuje djelotvornost njegovog probavnog sustava u odnosu na probavni sustav preživača. Volumen probavnog trakta konja za trećinu je manji nego u preživača. Dosta manji probavni trakt i dosta kraće zadržavanje hrane u njemu evolucijski je rezultiralo i slabijom probavljivosti hrane, osobito voluminozne krme, u odnosu na preživače.

Konj troši energiju koju dobiva iz hrane za trenažne, radne ili uzdržne potrebe. Treba uzeti u obzir raznolikost pasmina kao i dob, spol te način uporabe konja. Konj energiju mora unijeti kvalitetnom hranom u odgovarajućem obliku te u odgovarajućoj količini. Radi podređenosti konja čovjeku, u radu i sportu, prirodna kontinuirana hranidba konja (ispaša) zamijenjena je manjim brojem obroka kvalitetne voluminozne krme dopunjene s energetskim, proteinskim i mineralnim krmivima te dopuštenim dodacima (koncentratima). Konji najveću količinu pojedene hrane s najviše ugljikohidrata koriste kao izvor energije s time da se škrob probavlja u tankom, a vlakna u debelom crijevu. Količina i vrsta žitarice kao izvora škroba, uvelike utječe na probavljivost škroba u tankom i posljedično, neprobavljenog škroba iz tankog crijeva na fermentaciju škroba u debelom crijevu. Mikroorganizmi slijepog i debelog crijeva osjetljivi su na niski pH koji nastaje fermentacijom neprobavljenog škroba iz tankog crijeva u debelom crijevu. Prevelika količina škroba koja po nekim autorima iznosi više od 0,3 g, a po drugima više od 2 g škroba/kg tjelesne težine može promijeniti mikrofloru slijepog i debelog crijeva, uzrokovati pad pH i posljedično tome uzorkovati smanjenje fermentacije vlakana u slijepom i debelom crijevu te pojave kolika.

Stoga zbog osjetljivosti mikroba na produkte fermentacije neprobavljenog škroba u završnom dijelu probavnog sustava konja treba paziti na količinu žitarica (škroba) u obroku te na visinu njegove probavljivosti u tankom crijevu i fermentaciju u debelom crijevu.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. KRMIVA U OBROKU KONJA

Konj za održavanje metaboličkih funkcija i rad treba energiju i hranjive tvari koje dobiva iz obroka koji se sastoji od međusobno po hranjivosti nadopunjujućih krmiva. Primarna podjela krmiva u hranidbi konja je na voluminozna i krepka krmiva. Važna komponenta u hranidbi konja su i nutritivni dodaci koji pridonose normalnom funkcioniranju organizma i fiziološkom stanju konja.

Neovisno o kojem krmivu je riječ, važno je naglasiti da uvođenje novog krmiva u obrok konja treba biti postepeno i količinski regulirano.

2.1.1. VOLUMINOZNA KRMIVA

U hranidbi konja voluminozna krmiva su osnovna, a ponekad i jedina hrana koju dobivaju. Voluminozna krmiva čine nadzemni dijelovi trava, leguminoza, gomoljača i kupusnjača koja se konzumiraju u svježem (paša, zelena krma) ili konzerviranom obliku (sijeno, silaža, slame) (Grbeša 2004.). Njihova konzumacija izaziva osjećaj sitosti, omogućava neometani rad crijeva i održava peristaltiku te mikrofloru debelog crijeva.

Najvažnije voluminozno krmivo u svježem obliku za konje je paša koja ima visoki sadržaj vode (75 – 85%), siromašna je u sadržaju neutralnih detergent vlakana (NDV, oko 10%), proteina (2,3 – 4,2%) te niskim udjelom masti (0,5 – 1,0%) (Ivanković 2013). Konji je dnevno mogu konzumirati u vrlo visokim količina, do 10% njihove tjelesne mase (TM) (INRA Feeding System, 2018). Iskoristivost paše kao i njena hranjiva vrijednost ovisi o botaničkom sastavu pašnjaka, stadiju razvoja biljaka, godišnjem dobu, načinu održavanja pašnjaka i drugom. Tako je najbolja paša u proljeće, jer mlade biljke sadrže velike količine vode i manje suhe tvari (ST) koja je bogata proteinima, vodotopljivim ugljikohidratima, visokoprobavljivim vlaknima, mineralima (posebice fosforom) i karotenoidima (Ivanković 2004.).

Drugo najvažnije krmivo u hranidbi konja je sijeno koje se kosi u starijim fazama rasta biljke i sadrži malo vode (do 15% vlage) pa su vlakna njegov glavni sastojak. Udio sirovih vlakana (SV) iznosi 21 – 25%, dok je udio neutralnih detergent vlakana (NDV) 50 – 65%. Sijeno leguminoza bogatije je udjelom proteina (12 – 16%) u odnosu na sijeno trava (7 – 9%). Također, leguminozno sijeno bogato je kalcijem (Ca), a siromašnije fosforom (P). U obroku konja sijeno leguminoza i trava treba biti zastupljeno s oko 1 kg/100 tjelesne mase. Dobro leguminozno i livadno sijeno dobiva se košenjem prije ili početkom cvatnje, tako da se uz pravilno sušenje i skladištenje zadrže listovi (Ivanković 2004.).

Slama spada u voluminozna krmiva no češće se koristi kao stelja u štalama nego kao voluminozna krma u hranidbi konja. Ona ima manju hranidbenu vrijednost jer sadrži u suhoj tvari puno lignificiranih vlakana (SV 42%; NDV 79%), malo sirovih proteina (oko 3%) i vrlo mali udio vitamina i minerala (INRA Feeding System, 2018). Energetska vrijednost slame je

do 2,5 MJ/kg zbog niske probavljivosti organske tvari koja za konje iznosi 30% (Šerman 2001.). U Hrvatskoj se, u odnosu na Njemačku ili Francusku, u manjoj mjeri u hranidbi konja koristi sjenaža. Sjenaža je konzervirana zelena sočna krma koja se konjima daje tijekom zimskih mjeseci. Sadrži oko 40 – 65% ST koja zbog ranije košnje ima veću energetsku vrijednost od zelene krme osušene u sijeno, udjela sirovog proteina 90 – 120 g/kg ST i nešto je niže pH vrijednosti (oko 5,5) (Ivanković 2004.). Potencijalni problem za zdravlje konja hranjenih sjenažom predstavlja pojava plijesni kao rezultat aktivnosti kvasaca koja započinje najčešće u unutrašnjosti bale ako je prisutan rezidualni kisik ili uslijed oštećenja plastičnog omotača bale.

Od ostalih voluminoznih krmiva konjima se mogu dati korjenjače i gomoljače (mrkva, krumpir, stočna repa i drugo). Korjenjače i gomoljače sadrže veliku količinu vode (75 – 90%), a suha tvar im je bogata lakoprobavljivim ugljikohidratima. Proteinska vrijednost korjenjača i gomoljača je mala jer sadrže oko 5 – 10% sirovih proteina u suhoj tvari, tako da je udio iskoristivih proteina i esencijalnih aminokiselina nizak (Grbeša 2004.). Izuzev mrkve, krumpir i repa deficitarni su u pogledu količine Ca i P (0,01 – 0,05%) (Grbeša 2004.). Mrkvu konji rado jedu, bogata je β-karotenom (100 – 130 g/kg), odnosno vitaminom A i konji je mogu konzumirati u količini od 1 kg/dan. Konji se ne smiju hraniti pljesnivim i trulim gomoljačama jer mogu izazvati probavne smetnje, dok je npr. zeleni krumpir bogat alkaloidom solaninom koji je opasan po zdravlje konja.

2.1.2. KREPKA KRMIVA

Krepkom krmom nazivamo proizvode biljnog, životinjskog, organskog ili mineralnog porijekla koji sadrže malo vode i vlakana, a visoku razinu hranjivih tvari (Grbeša 2004.). Zbog bogatijeg kemijskog sastava i hranjivih tvari nazivaju se još i koncentratima. Koncentrati se životinjama daju u znatno manjim količinama od navedenih voluminoznih krmiva. U krepka krmiva ubrajaju se visokoenergetska krmiva (zrnje žitarica, masti, ulja), proteinska krmiva (sačme i pogače uljarica, mahunarke) te mineralna krmiva (Grbeša 2004.). Frape (2004.) navodi da zrnje žitarica u prosjeku sadrži 12 – 16 MJ/kg ST probavljive energije (PE), u odnosu na sijeno koje u prosijeku sadrži 9 MJ PE/kg ST.

U hranidbi konja prevladava zob koja je među žitaricama najbogatija vlaknima (SV 12,5%; NDV 32,8%), uljima 4 – 5,5 %, proteinima (12%, probavljivi za konje 79 g/kg) te sadrži najmanje lakoprobavljivih ugljikohidrata, odnosno šećera (1,1%) i škroba (36,2%). Bogata je aminokiselinom lizinom (4,1 g/kg) no ima suprotan odnos kalcija i fosfora (1 : 3,05 g/kg) (Grbeša 2004.). Slabije je neto energetske vrijednosti (8,2 MJ/kg) u odnosu na npr. ječam 9,3 MJ/kg ili kukuruz 10,5 MJ/kg (Grbeša 2004.). Zob se odraslim konjima daje u zrnu, a ždrjebadi i starijim grlima može se dati prekupljena što u konačnici povećava njenu probavljivost. Ovisno o vrsti rada (lak, srednje težak, težak rad), stadiju gravidnosti ili laktacije konjima se daje od 0,5 – 2,0% zobi u odnosu na TM, dok se ždrjebadi zbog intenzivnog porasta može dati i do 3% (NRC, 1978.).

Konjima se kao izvor krepkog krmiva može davati ječam i kukuruz. Ječam se po udjelu probavljive energije, sirovih proteina, škroba i lizina nalazi između vrijednosti za zob i kukuruz.

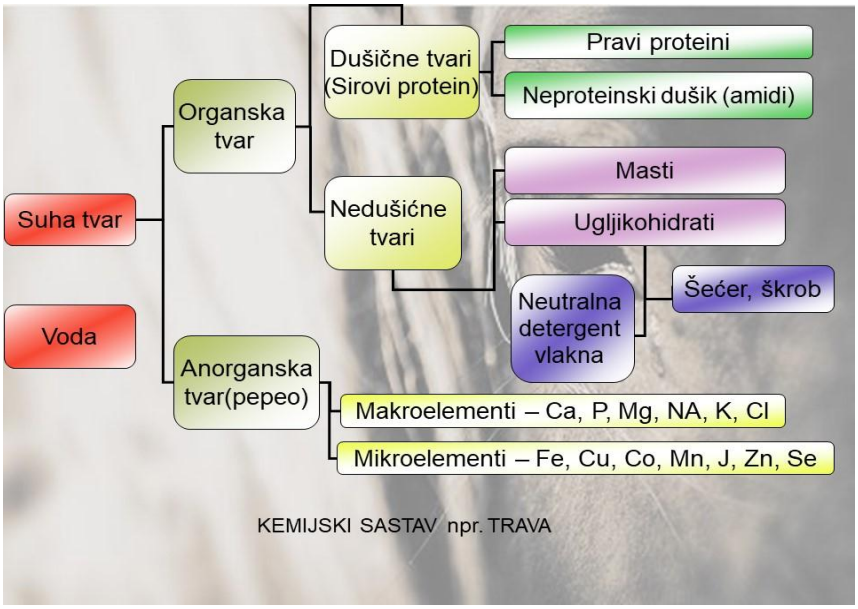
Ima manji sadržaj masti (22 g/kg) u odnosu na zob (42 g/kg) i kukuruz (37 g/kg) te veći udio sirovih vlakana (47 g/kg) u odnosu na kukuruz (27 g/kg), ali skoro 2,5 puta manji u odnosu na zob (116 g/kg) (Grbeša 2004.). Isti autor navodi da je ječam dobar izvor fosfora (3,8 g/kg), siromašan je kalcijem (0,5 g/kg) i deficitaran vitaminima A i D koje životinja treba dobivati iz drugih izvora. Iako u Hrvatskoj ne prevladava hranidba konja ječmom, u nekim zemljama ječam je često jedina žitarica. Tako je arapskim konjima ili Akhal-Teke pasmini konja kao jedino energetsko krmivo davan ječam. U odnosu na zob, zrno ječma je čvrsto s tvrdom ljuskom koju je poželjno razbiti. Nije preporučljivo usitniti ga do brašnaste konzistencije jer nastaje ljepljiva masa (posebice ako se pomiješa s vodom) koja može izazvati gušenje. Ukoliko se ječam dodaje u obrok, najbolje ga je pomiješati s drugim krmivom (npr. sjeckano sijeno, posije).

Kukuruz se u hranidbi konja u Hrvatskoj koristi u iznimnim slučajevima, uglavnom kada su zahtjevi za energijom vrlo visoki (npr. galoperi, konji u utrkama izdržljivosti, radni konji). Zrno kukuruza je bogato neto energijom (10,6 MJ/kg) zbog visokog sadržaja škroba 64,1%, ulja 3,7% te niske razine vlakana (SV 2,2%; NDV 10,5%). Također, ima nepovoljan aminokiselinski (mali udio lizina, 2,7 g/kg) i mineralni sastav (udio kalcija : fosfora je 0,3 : 2,9 g/kg) (Grbeša 2004.). Preobilna hranidba konja kukuruzom može izazvati zdravstvene poremećaje (probavne poremećaje, oteknuće zglobova).

Posije je dobro davati konjima jer djeluju laksativno i najčešće se daju opstipiranim konjima ili kobilama prije ždrijebljenja. Bogate su vlaknima (SV 9,2%, NDV 39,6%) koja imaju jaku moć upijanja vode – jako bubre, sadrže umjerenu koncentraciju sirovih proteina (14,8%) i škroba (19,8%). Posije sadrže osrednji sadržaj lizina (5,8 g/kg) i metionina (2,3 g/kg) te visoki udio fosfora u odnosu na kalcij (9,9:1,4 g/kg). Pšenične i kukuruzne posije sadrže dosta fenolnih antioksidanata te vitamina B grupe (niacin, 192 mg/kg) dok su deficitarne vitaminom A (Grbeša 2004.).

2.2. KEMIJSKI SASTAV KRMIVA

Krmiva su po svom kemijskom sastavu različita, stoga je nužno za pojedinu skupinu hranjivih tvari u krmivima utvrditi njihov udio i hranidbenu vrijednost. Ona se sastoje od sljedećih hranjivih komponenti: vode i suhe tvari koja se sastoji od organske tvari i anorganske tvari ili pepela (makro i mikroelementi) (Slika 1.). Organsku tvar čine dušične tvari tzv. sirovi protein (pravi proteini i neproteinski dušik) te nedušićne tvari (masti i ugljikohidrati). Vlakna, šećer i škrob čine ugljikohidratnu komponentu.



Slika 1. Kemijski sastav krmiva
(Izvor: A. Bošnjak)

2.2.1. OSNOVNE HRANJIVE TVARI

Suha tvar (ST) daje sadržaj hranjivih tvari preračunatih na 100% suhe tvari, bez sadržaja vode. Suhu tvar koristimo za sva krmiva, ali posebno za voluminozna krmiva u kojima sadržaj vlage, odnosno suhe tvari varira (Grbeša 2004.).

Sirovi proteini (SP) predstavljaju izvor aminokiselina i kao takvi neophodni su za normalan rast, razvoj, plodnost i zdravstveni status jedinke. Aminokiseline služe u sintezi tkiva, za proizvodnju mlijeka, rast ploda ili kao nadoknada za potrošenu energiju. Vrlo je važan aminokiselinski sastav proteina jer od ukupno 22 aminokiseline, konj može sintetizirati samo njih 12, dok je ostalih 10 esencijalno i treba ih unositi u organizam hranom. Aminokiselinski sastav proteina ima posebnu važnost kod natjecateljskih konja jer je povećan sadržaj aminokiselina valina, leucina i izoleucina poželjan kod konja izloženih dužem i jačem fizičkom opterećenju (Vervuert i sur. 2005., Vervuert 2011., cit. Pösö i sur. 1991.).

Dvije najvažnije aminokiseline u hranidbi konja su lizin i metionin. Njihov deficit izražen je u voluminoznoj krmi te se u organizam trebaju unositi dodatkom krepke krme ili drugih nusproizvoda (pšenične posije, grahorice, soja i drugo). Potrebe za sirovim proteinima i lizinom mogu se izraziti na nekoliko načina. Frape (2004.) navodi formule:

a) TM x 1,26 g SP/kg TM/dan
b) TM x 0,054 g lizina/kg TM/dan

Prema navedenoj formuli konju tjelesne mase 500 kg dnevno treba osigurati 630 g SP i 17 g lizina. Naravno, količina sirovih proteina i lizina se povećava kod jedinki u rastu, tijekom gravidnosti, laktacije i kod konja u radu ili trenažnom procesu. Tako ždrjebadi između 11 – 17

mjeseci starosti treba osigurati 48 – 50 g lizina/dan (157 – 175 mg lizina/kg TM/dan; NRC 2007.). Isti autor navodi da kobila u prva dva mjeseca laktacije treba dobiti 20 – 34 g SP/kg proizvedenog mlijeka na dan, a nakon tog perioda 20 SP/kg (NRC 2007.)

Manjak proteina u obroku konja rezultira smanjenim rastom jedinki, pobačajima, smanjenom sintezom mlijeka te smanjenjem muskulature radnih konja i konja u treningu. Također, smanjen je unos hrane što dovodi do gubitka tjelesne mase. Slučajevi utjecaja viška proteina na zdravstveno stanje konja su rijetki, a manifestiraju se pojačanom žeđi konja (višak proteina se izlučuje u obliku uree urinom koji povećava gubitak tekućine u tijelu) i nižom pH krvi konja (acido-bazni status).

Ugljikohidrati su glavni izvor energije u hranidbi konja koje dobiva pašom ili iz žitarica. Iako svi imaju sličnu količinu ukupne (bruto) energije, stupanj njihovog iskorištenja u probavnom sustavu konja je različit te je različita količina dobivene probavljive (PE), metaboličke (ME) i neto energije (NE). Sastoje se od teže probavljivih (vlakna) i lako probavljivih ugljikohidrata (škrob i šećer). Potrebe konja za **vlaknima (izražena kao neutralna detergent vlakna, NDV)** važne su jer izazivaju osjećaj sitosti i popunjenosti probavnog sustava te održavaju peristaltiku crijeva. Određivanjem količine vlakana definira se kvaliteta ugljikohidratnih krmiva, odvajaju se lako od teže probavljivih ugljikohidrata. Tako krmiva s visokim sadržajem vlakana imaju nižu dostupnost energije. Ukoliko krmiva sadrže više od 18% vlakana govorimo o voluminoznim, a ako sadrže manje od 18% vlakana govorimo o krepkoj krmi ili koncentratima (Grbeša 2004.). Sportski konji prije natjecanja dobivaju manje vlakana u obroku, a više energetskog dijela kako ne bi došlo do proširenja probavnog sustava što bi konja sputavalo u radu. Vlakna u suhoj tvari obroka konja trebaju biti zastupljena udjelom od 12 do 30% (Ivanković 2004.). Količina vlakana u obroku konja ima važnu ulogu u probavljivosti organske tvari. Obrok koji sadrži puno vlakana ima smanjen udio energije te se usporava prolazak hrane kroz probavni trakt što može dovesti do zdravstvenih problema kao što je npr. začepljenje crijeva ili dilatacija želudca. S druge strane, premala količina vlakana u obroku izaziva prebrzi prolazak hrane kroz probavni sustav i prekomjernu fermentaciju ugljikohidrata koje mogu dovesti do proljeva. Vlakna koja izgrađuju stijenke biljaka nazivaju se strukturnim vlaknima ili neutralnim detergent vlaknima (NDV) koja se sastoje od celuloze, hemiceluloze, lignina, te manjih količina minerala i proteina (Grbeša 2004.). Udio neutralnih detergent vlakana u negativnoj je korelaciji s energetskom vrijednosti i konzumacijom krmiva. Škrob i šećeri najzastupljeniji su polisaharidi u hranidbi konja. Škrob čini do 70% suhe tvari zrnja žitarica i do 30% suhe tvari gomolja, voća i korijenja (Grbeša 2004.).

Sirove masti u hranidbi konja važne su iz više razloga: neophodan su izvor energije, omogućavaju izdržljivost konju u intenzivnim naporima, daju sjaj i mekoću dlake, njihovom probavom oslobađa se manje topline (nego kod probave ugljikohidrata) pa su konji u toplim klimama manje izloženi toplinskom stresu i izrazito mršavi konji u gladnoj kondiciji postižu veće dnevne priraste. No, treba napomenuti da prekomjerno davanje masti u obrocima može izazvati probavne smetnje jer konji nemaju žučnu vrećicu. Masti su u hranidbi konja zastupljene s 2 – 3,5%, a svaki obrok sa sadržajem masti višim od 3,5% naziva se obrok s visokim udjelom

masti (Briggs 2007.). Tako visok udio masti ili ulja u obroku konja opravdan je u posebnim slučajevima kada potreba za energijom radi njihovog rada i napora premašuje nadomjestak energije iz konzumirane hrane (npr. konji koji se natječu u *endurance* disciplini). U takvim slučajevima dodavanje masti ili ulja u obrok treba biti postepeno, tijekom 2 – 3 tjedna. Ulje u obroku konja može biti zastupljeno najviše s 500 mL/dan te raspodijeljeno na dva ili više obroka. Stilinović (1993.) navodi da su masti u organizmu konja bitne zbog opskrbe esencijalnom linolnom masnom kiselinom kao i za opskrbu vitaminima topivim u mastima.

Iz hrane konj preuzima hranjive tvari potrebne za održavanje bazalnog metabolizma i za proizvodne potrebe, stoga one trebaju biti dostatne ne samo količinski već i u energetskom pogledu. Pri odabiru i izračunu potrebnih hranjivih tvari u obzir treba uzeti čimbenike kao što su: pasmina, dob, spol, zdravstveni status i način korištenja jedinke, vrsta i stupanj aktivnosti. Navedeni čimbenici određuju koliko energije je potrebno osigurati za podmirenje potreba funkcioniranja bazalnog metabolizma (npr. optok krvi) i za fizičku aktivnost konja.

2.3. PROBAVNI SUSTAV KONJA

Konj je monogastrična životinja koja spada u porodicu biljojeda koji nisu preživači. Probava odraslog konja započinje unosom hrane u usta veoma pokretnim usnama dok sjekutićima nisko odgrizaju travu. Gornja čeljust je nepokretna, a donja (vilica) je zadužena za pokrete i usitnjavanje hrane pomoću zubi i natapanje hrane slinom blago lužnatog pH (7,3 – 7,9) te formiranje zalogaja. Iako se u ustima konja ne odvija razgradnja hranjivih tvari, različit sastav obroka mijenja sastav i količinu izlučene sline. Tako Šerman (2001., cit. Forenbacher 1975.) navodi da je kod konja hranjenih posijama i kruhom u slini pronađen enzim amilaza, potreban za razgradnju škroba. Hrana gutanjem prelazi iz usne šupljine u ždrijelo, a iz ždrijela se spušta u jednjak. Jednjak je sluznično-mišićna duga cijev koja se pruža od ždrijela do želudca i kontrakcijama transportira hranu do želudca. Zbog jačine mišićnog prstena (*lat. cardiac sphincter*) koji se nalazi na prijelazu iz jednjaka u želudac te oštrog kuta pod kojim jednjak ulazi u želudac konja, konji ne mogu povraćati.

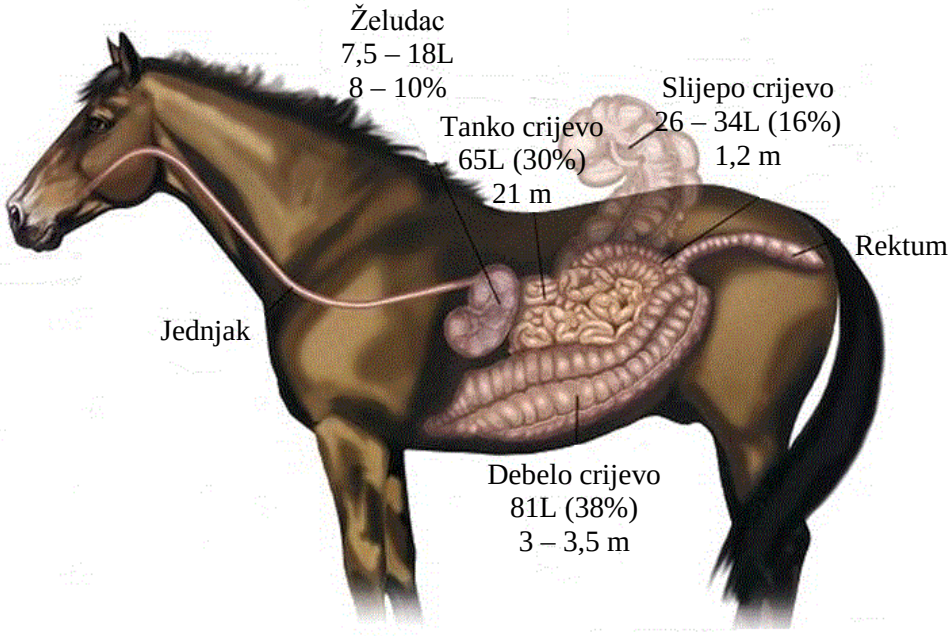
Želudac konja male je zapremine i iznosi od 7,5 – 18 L ili 8 – 10% cijelog probavnog sustava i u njemu se uvijek nalazi dio hrane (nikad nije prazan). Zbog toga je važno konja hraniti količinski manjim, ali češće davanim obrocima. Donji dio sluznice želudca ima kiseli pH (1,2 – 2) i sadrži želučane žlijezde koje proizvode solnu kiselinu (HCl). Sekrecija HCl-a aktivira enzim pepsin koji cijepa proteinske molekule. Neka krmiva, a to su većinom koncentratna krmiva poput žitarica, pojačavaju lučenje želučanog soka (Šerman, 2001.). U želudcu se djelovanjem želučane lipaze odvija i razgradnja masti na masne kiseline i alkohol glicerol, ali je ta razgradnja zanemariva u odnosu na razgradnju u tankom crijevu uslijed djelovanja pankreasne lipaze. Tek kada 2/3 zapremine želudca bude ispunjeno hranom, dolazi do njenog propuštanja u tanko crijevo.

Tanko crijevo konja dugo je oko 16 – 25 m, zapremine oko 65 litara i čini oko 30% probavnog sustava. Prolaz hrane kroz tanko crijevo je relativno brz i varira od 45 min do 1,5h no važno je naglasiti da tanko crijevo mora uvijek biti ispunjeno hranom jer smanjuje pojavnost

nastanka zapetljaja crijeva (ileusa). Prelaskom zalogaja iz želudca u tanko crijevo mijenja se pH jer lužnati crijevni sok neutralizira kiselu reakciju želučanog sadržaja. Neutralna pH vrijednost medija u tankom crijevu bitna je za proteolitičku, lipolitičku i amilolitičku aktivnost enzima koje luče sluznica tankog crijeva i gušterača. Pod djelovanjem enzima α-amilaze, kojeg luči gušterača, škrob se razgrađuje prvo do disaharidnih (maltoza), a potom do monosaharidnih molekula, tj. do glukoze. Glukoza kapilarnom mrežom probavnog sustava dolazi do tkiva u kojima se koristi kao izvor energije, skladišti u obliku glikogena ili sudjeluje u sintezi masti (Hinz i Cymbaluk 1994.). Gušterača u tanko crijevo luči i enzim tripsin koji je odgovoran za razgradnju proteina do aminokiselina i lipazu koja hidrolizira masti do masnih kiselina i glicerola. Konj nema žučni mjehur pa žuč ide direktno u dvanaesnik (*lat. duodenum*) gdje se vrši emulgiranje masti za lakšu prihvatljivost lipolitičkih enzima, a lužnati pH djeluje kao pufer jer zalogaj iz želuca ima kiseli pH. Micele masti prolaze stijenku tankog crijeva, spajaju se s kolesterolom i proteinima te formiraju lipoproteine hilomikrone. Oni su preveliki da budu apsorbirani u krvne kapilare, bivaju izbačeni kroz sluznicu tankog crijeva te ih preuzimaju limfne žile trbušnog dijela (abdomena) i odvode prema srcu gdje se limfa ulijeva u vensku cirkulaciju. Također, u tankom crijevu odvija se razgradnja peptida do aminokiselina djelovanjem enzima (tripsin, kimotripsin, karboksipeptidaza). Aminokiseline prolaze kroz stijenku tankog crijeva i krvnim optokom transportiraju se do tkiva gdje se koriste za različite namjene: izgradnja tkiva, hormona, enzima i drugo. Razgradnja proteina je i do 3 puta veća u tankom crijevu nego u želudcu. U dijelovima tankog crijeva vrši se kompletna razgradnja masti, lako probavljivih ugljikohidrata i proteina, a nerazgrađene komponente hrane dalje putuju u debelo crijevo, a sastoje se od celuloze, neprobavljenog škroba i proteina (Hinz i Cymbaluk 1994.).

Debelo crijevo dugo je oko 3 – 3,5 m, zapremine je oko 81 litre što čini 38% probavnog sustava konja. Slijepo crijevo nalazi se na samom ulazu u debelo crijevo i čini oko 16% zapremine probavnog trakta konja (Hinz i Cymbaluk 1994.). U slijepom i debelom crijevu se odvija fermentacija zbog djelovanja bogate mikrobiološke populacije u anaerobnoj sredini. Frape (2004.) navodi da protozoe čine najveći udio mikrobne populacije u probavnom sustavu konja te im broj varira oko 0,5 – 1,5 x 10^5/mL crijevnog sadržaja. Isti autor navodi da su u debelom crijevu konja otkrivene 72 različite vrste protozoa. Drugu skupinu mikrobne populacije čine bakterije kojih najviše ima u slijepom crijevu. Njihov broj može se promijeniti i do 100 puta u danu što ovisi o vrsti obroka (npr. hranidba s puno škroba i promjena pH medija) te ih samo 20% može razgraditi proteine (Frape 2004.). U debelom i slijepom crijevu odvija se razgradnja vlakana, neprobavljenih šećera i škroba do hlapivih masnih kiselina (mliječna, maslačna i octena), alkohola i plinova koje služe kao izvor energije (procesom glukoneogeneze prelaze u glukozu). Proteini koji nisu razgrađeni u tankom crijevu, mikroorganizmi debelog crijeva razgrađuju deaminacijom pri čemu nastaje amonijak kojeg mikroorganizmi mogu iskoristiti za sintezu vlastitih aminokiselina, a dio se resorbira u krv. U debelom crijevu konja resorbira se voda. Slijepo crijevo igra važnu ulogu u probavi hrane. Hrana u slijepo crijevo dolazi već nekoliko sati od konzumiranja obroka. Dugo je oko 1,2 m, zapremine 26-34 litara i ima izgled vreće u kojoj se odvija fermentacija te sadrži i do bilijun mikroorganizama (bakterije, protozoe). Kontrakcijama ostaci probavljivih tvari (*digesta*) bivaju usmjereni prema rektumu u

kojem se odlažu otpadne i neprobavljene tvari. Frape (2004.) navodi da su potrebna i do 3 dana da sva hrana bude probavljena i izlučena iz organizma konja.



Slika 2. Prikaz glavnih dijelova probavnog sustava konja sa zapreminama izraženim u litrama (L), postotnim udjelima u odnosu na cijeli probavni sustav i dužinu pojedinog dijela (Izvor: https://equinenutritionnerd.com/2014/06/29/the-equine-digestive-system/)

2.4. HRANIDBA KONJA KONCENTRATNIM KRMIVIMA – UTJECAJ ŠKROBA

Škrob u hranidbi konja potječe iz žitarica koje se dodaju kroz krmne smjese ili direktno u obrok. Dodatak žitarica u obroku mora biti strogo reguliran uz postupnu prilagodbu na povećanje ili smanjenje škroba u obroku radi prilagodbe mikroorganizama slijepog i debelog crijeva konja. Hintz i Cymbaluk (1994.) navode kako velika količina škroba u obroku dovodi do njihove manje probavljivosti u tankom crijevu pa je veća dostupnost glukoze za mikrobiom slijepog i debelog crijeva konja. Povećana dostupnost glukoze iz neprobavljenog škroba u tankom crijevu za mikroorganizme slijepog i debelog crijeva ima za posljedicu stvaranje veće količine ukupnih kiselina (> 10 g/kg TM), posebice mliječne kiseline koja je jako kisela i koja povećanjem kiselosti ispod optimalnih pH 6,5 smanjuje aktivnost celulolitičkih bakterija (Clarke i sur. 1990.). Visoke razine škroba u hranidbi konja, iz tog razloga, povezane su s pojavom acidoza konja kao i laminitisa, kolika i drugih metaboličkih poremećaja. Potter i suradnici (1992.) (citirano u Medina i sur. 2002.) došli su do zaključka da se škrob u hranidbi konja treba davati u dva ili tri obroka i da ga treba ograničiti na 3,5 g/kg TM po obroku kako bi se dobio pozitivan utjecaj na razgradnju u probavnom sustavu konja. Drugi autori navode niže najveće dopuštene količine škroba u obrocima konja (do maksimalnih 2 g/kg TM, a u nekim slučajevima i niže), ali i naglašavaju važnost tipa škroba (iz koje je žitarice, udio rezistentnog škroba, itd.) a ne samo njegovu količinu (Clarke i sur. 1990., Cuddeford 2001.). Kada se radi o

manjim količinama škroba on biva u potpunosti razgrađen u tankom crijevu. Razgrađuje se do disaharidnih i monosaharidnih molekula, tj. do glukoze koja potom odlazi u organizam te se koristi kao energija. Škrob i lako dostupni ugljikohidrati predstavljaju dobro iskoristivi oblik energije u hranidbi konja, ali njihovo nepravilno povećanje u obroku konja kao i neregulirana potrošnja energije kod konja, potiče negativnu aktivnost bakterija mliječne kiseline i snižavanje pH koji vodi do daljnjih poremećaja (Hintz i Cymbaluk, 1994.). Veće količine škroba koje se ne uspiju razgraditi te iskoristiti u tankom crijevu prelaze u debelo crijevo. Neprobavljeni škrob u debelom crijevu podliježe mikrobiološkoj fermentaciji, a ona ovisi o dospjeloj količini neprobavljenog škroba te količini mikrobioma u crijevu. Prema literaturnim izvorima, kada se konji hrane s više od 0,3 g, a po drugima s više od 2 g škroba/kg TM moguća je promjena mikroflore slijepog i debelog crijeva, pada pH i posljedično smanjenje fermentacije vlakana te pojave kolika (Clarke i sur. 1990., Cuddeford 2001.). Na bolju iskoristivost škroba utječe i mehanička ili termička obrada žitarica kako bi škrob bio lakše dostupan u organizmu konja.

Obrok konja mora biti u skladu s potrebama konja za energijom, kako u sportu i fizičkom radu tako i za same uzdržne potrebe ili potrebe ždrebnih kobila u laktaciji. Manjak energije dovodi do smanjene proizvodnje, loših rezultata i samog pada kondicije konja koji u deficitu energije troši skladišnu energiju iz depoa mišića i masti. Kako bi se održalo zdravlje probavnog sustava konja te osigurale energetske potrebe bitan je optimalni odnos izvora energije iz škroba i vlakana.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Škrob se u hranidbi konja koristi kao visoko vrijedan izvor energije. Količina i tip škroba uvelike utječu na njegovu probavljivost u tankom i posljedično, fermentaciju u debelom crijevu te pojavu kolika i laminitisa. Prema nekim autorima kada se konji hrane s više od 0,3 g, a po drugima s više od 2 g škroba/kg TM u jednom hranjenju, moguća je promjena sastava mikroflore crijeva, pad pH vrijednosti u crijevima, što rezultira smanjenom fermentacijom vlakana u debelom crijevu.

Na temelju navedenog formirane su sljedeće hipoteze i cilj istraživanja:

1. povećanje dnevnog udjela škroba u hranidbi konja sa 0,3 na 0,9 g/kg TM smanjit će *in vitro* probavljivost neutralnih detergent vlakana slame, sijena i djeteline;
2. povećanje dnevnog udjela škroba u hranidbi konja sa 0,3 na 0,9 g/kg TM smanjit će *in vitro* probavljivost suhe tvari slame, sijena i djeteline.

Cilj rada je ustanoviti utjecaj dnevne razine škroba od 0,3, 0,6 i 0,9 g/kg TM konja na *in vitro* probavljivost neutralnih detergent vlakana i suhe tvari tri voluminozna krmiva te ima li razlike u probavljivosti između pojedinih konja. Usporedno će se ispitati i utjecaj dodanog škroba u obroku na mikrobiom fecesa konja.

4. MATERIJALI I METODE

4.1. KORIŠTENI KONJI U ISTRAŽIVANJU

U "*change-over*" planu pokusa (detaljnije u podtipu ponavljajući latinski kvadrat) sudjelovala su tri konja koja su kroz tri razdoblja hranjena s tri razine škroba. Tijekom pokusa konji su boravili u konjičkom klubu (KK) Hiperion. Sva tri konja imala su jednake uvjete smještaja, odnosno mikroklimatske uvjete i površinu bokseva (3x4 m^2). U cilju dobivanja što pouzdanijih rezultata odabrani su konji približne starosne dobi i tjelesne mase od oko 650 kg (Tablica 1.). Tjelesna masa određena je po formuli (Carroll i sur. 1988.):

Tjelesna masa [kg] = [opseg $prsa^2$ x dužina trupa] / [11,880 cm^3]

Tjelesne mjere uzete su na način da je konj stajao oslonjen na sve 4 noge, mirno i na tvrdoj ravnoj podlozi uz dobro osvjetljenje i u fiziološkom položaju tijela. Konjima su već prije uzimane tjelesne mjere i bili su naviknuti na sam postupak što je rezultiralo mirnoćom i poslušnošću konja. Opseg prsa izmjeren je mjernom vrpcom, a dužina trupa Lydtinovim štapom. Sva mjerenja obavila je ista osoba.

Dnevne aktivnosti konja bile su vrlo slične. Konji su sudjelovali u terenskom jahanju u rekreativne svrhe i u školi jahanja s naglaskom da je Leeloo (konj 1) bila manje angažirana u terenskom jahanju. Terensko jahanje bilo je rekreativnog karaktera, staze nisu bile kondicijski zahtjevne, bile su bez naglih uspona, duge oko 10 km koje su jahači parovi prošli za otprilike 2 sata. Tijekom prolaska staze izmjenjivala su se kretanja konja korakom (ukupno trajanje 80 min), kasom (ukupno trajanje 25 minuta) i galopom (ukupno trajanje 15 minuta).

Tablica 1. Osnovni podatci o konjima koji su sudjelovali u istraživanju i utvrđene tjelesne mjere.

Ime konja	Datum rođenja	Dob (godina)	Pasmina	Spol	TM (kg)	OP (cm)	DT (cm)
Leeloo (1)	12.04.2004.	13	HK	kobila	574,20	198	174
Carlos (2)	06.06.2005.	12	HŠK	kastrat	572,39	200	170
Kuban (3)	08.08.2005.	12	Gidran	kastrat	619,06	205	175

HK – hrvatski kasač; HŠK – hrvatski športski konj; TM – tjelesna masa; OP – opseg prsa, DT – dužina trupa;

4.2. ORGANIZACIJA HRANIDBE KONJA

Konji su 39 dana hranjeni isključivo sijenom kao voluminoznom krmom te koncentratnom smjesom *Centaur Basic* proizvođača Kušić – promet d.o.o.. Kemijski sastav dodavane smjese prikazan je u tablici 2., a sadrži oko 30% škroba. To je kompletna hrana namijenjena svim odraslim skupinama konja u razdoblju mirovanja i laganog rada te u kombinaciji s drugim kombinacijama hrane u prijelaznom razdoblju kad se postepeno pojačava intenzitet treninga. Hrana *Centaur Basic* napravljena je u obliku peleta te ju odlikuje ujednačenost hranjivih tvari čime je smanjena selektivnost prilikom uzimanja hrane. Kao takva konjma je vrlo ješna i rado je konzumiraju što je razlog da tijekom istraživanja nije bilo ostataka i rasipanja koncentratne smjese prilikom hranjenja.

Tablica 2. Kemijski sastav koncentratne smjese „*Centaur Basic*“ proizvođača „Kušić – promet d.o.o“

Kemijski sastav		**Sadržaj**
Sirovi proteini		11,5%
Sirove masti		2,5%
Sirova vlakna		12,5%
Kalcij		1,0%
Fosfor		0,6%
Natrij		0,2%
Magnezij		0,2%
PE konji		11,5 MJ/kg
Vitamini i minerali	A	15000 IJ
	D3	1500 IJ
	E	50 mg
	Kolin klorid	80 mg
	Jod	0,35 mg
	Bakar	30 mg
	Željezo	40 mg
	Cink	100 mg
	Mangan	100 mg
	Selen	0,4 mg

PE – probavljiva energija; MJ – megajoul; IJ – internacionalna jedinica; mg – miligram

Istraživanje je provedeno u vremenskom intervalu od 01.06. do 20.07. 2017. godine i sva tri konja imala su isti režim hranidbe. Hranjeni su trokratno u jednakim intervalima: u 7 sati ujutro, 13 sati popodne i 19 sati navečer (Tablica 3). Za vrijeme trajanja istraživanja dnevno su dobivali po 12 kg sijena raspodijeljenog u tri obroka. Tijekom trajanja istraživanja u sva tri hranidbena tretmana korišteno je isto livadno sijeno (istog dobavljača i kemijskog sastava). Količina *Centaur Basic* smjese (žitarica) koju su konji konzumirali u navedenom vremenskom razdoblju ovisila je o upotrijebljenom tretmanu, a mijenjana je tri puta na svakoj životinji. U prvom tretmanu svaki konj je dobivao ukupno 0,6 kg koncentratne smjese dnevno, u drugom 1,2 kg koncentratne smjese, dok je treći tretman sadržavao 1,8 kg koncentratne smjese dnevno, također raspodijeljene u tri obroka (Tablica 3).

Tablica 3. Razrađen plan istraživanja i hranidbe za tri konja

Tretman		**I**		**II**		**III**	
Krmivo		sijeno (kg)	koncentratna smjesa (kg)	sijeno (kg)	koncentratna smjesa (kg)	sijeno (kg)	koncentratna smjesa (kg)
Sat hranjenja	07	4	0,3	4	0,6	4	0,9
	13	4	0,0	4	0,0	4	0,0
	19	4	0,3	4	0,6	4	0,9
	Ukupno	**12**	**0,6**	**12**	**1,2**	**12**	**1,8**

Sijeno je vagano pomoću ručne vage (*tzv. kantar*), a koncentratna smjesa na kućnoj digitalnoj vagi (Slika 3a, 3b).



Slika 3a. Vaganje sijena pomoću ručne vage; **3b.** vaganje peleta koncentratne smjese pomoću kućne digitalne vage
(Izvor: A. Bošnjak)

Tijekom sva tri istraživana razdoblja, konji su prvo imali deset dana prilagodbe na pojedini hranidbeni tretman, nakon kojeg je konjima uzet feces iz rektuma tri uzastopna dana i pohranjen na 4°C u hladionik do provođenja kemijskih analiza (Slika 4).



Slika 4. a. i 4.b. Uzimanje fecesa konjima
(Izvor: A. Bošnjak)

4.3. PRIPREMA LABORATORIJSKOG UZORKA

Uzorci sijena djeteline, sijena cvjetnih livada i slame uzeti su kako bi se u njima ispitao utjecaj razine škroba na *in vitro* fekalnu probavljivost vlakana i suhe tvari. Sva tri uzorka imala su različite udjele vlakana i sirovih proteina (Tablica 4). Navedeni uzorci bili su prosušeni na 60±2°C kroz 24 sata u sušioniku (INKO sušionik, INKOLAB d.o.o.) dok se u drugom dijelu uzoraka odredila dostavna vlaga (sušenje 24 sata na 103℃). Nakon prosušivanja navedeni uzorci podijeljeni su dodatno na dva dijela te je prvi dio samljeven na mlinu za finu meljavu (Cyclotec 1093, Tecator) na veličinu uzorka od ≤1 mm za određivanje kemijskog sastava, a drugi dio na ≤2 mm veličine uzorka za određivanje probavljivosti (Cemotec 1090, Tecator). Samljeveni uzorci spremljeni su u plastične posudice za čuvanje laboratorijskog uzorka do kemijskih analiza i mjerenja probavljivosti. Priprema uzorka određena je u skladu s normom HRN ISO 6498:2001 (ISO 6498:1998) (Stočna hrana – Priprema uzorka za ispitivanje). U tako pripremljenim uzorcima sijena djeteline, sijena cvjetnih livada i slame odredila se suha tvar (sušenje 4 sata na na 103℃), udio neutralnih detergent vlakana (NDV; Van Soest i sur. 1991.) i sirovog proteina (SP) te *in vitro* fekalna probavljivost suhe tvari i vlakana u Daisy^{II} ANKOM inkubatoru (Earing i sur. 2014.). Svi uzorci za analize pripremljeni su u šesteroplikatu za svaku pojedinu životinju i hranidbeni tretman. U uzorcima fecesa konja korištenima za inkubaciju odredio se pH (IQ Scientific Instruments IQ150) i sadržaj škroba enzimatskom metodom.

Tablica 4. Prikaz udjela sirovih proteina (g/kg ST) i neutralnih detergent vlakana (g/kg ST) u ispitivanim uzorcima livadnog sijena, slame i sijena djeteline

Uzorak	Sirovi protein g/kg ST	NDV g/kg ST
Slama	34,2	834
Sijeno	60,2	620
Djetelina	103,9	636

ST – suha tvar; NDV – neutralna detergent vlakna

4.4. LABORATORIJSKE ANALIZE

Sve laboratorijske analize provedene su u laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

4.4.1. ODREĐIVANJE SADRŽAJA ŠKROBA

Za određivanje škroba enzimatskom metodom izvagano je 0,1 g uzorka fecesa. Izvaganom uzorku dodano je 0,2 mL 80%-tnotog etanola i izmiješano na vorteksu. Potom je dodano 3 mL otopine termostabilne α-amilaze u natrij acetatnom puferu i ponovno snažno promiješano vorteksom. Uzorci su zatim inkubirani u vodenoj kupelji na 50°C 6 minuta te su se na svakih 2, 4 i 6 minuta vadili i miješali na vorteksu. Nakon 6 minuta u vodenoj kupelji uzorcima je dodano 0,1 mL enzima amiloglukozidaze te su inkubirani 30 minuta u vodenoj kupelj na 50°C. Uzorci su nakon inkubacije kvantitativno prenijeti u odmjerke od 100 mL koji su zatim nadopunjeni do oznake s destiliranom vodom. Alikvot svakog uzorka zatim je iscentrifugiran (Tehtnica Centric 322A) te su uzeti alikvoti iscentrifugiranih uzoraka u koje je dodano 3 mL GOPOD reagensa. Uzorci su potom inkubirani još 20 minuta. Nakon hlađenja uzoraka izmjerena je apsorbancija uzoraka na UV/VIS spektrofotometru (Thermo Electron Corporation Helios γ) pri 510 nm u odnosu na slijepu probu. Prema apsorpcijama otopina uzoraka i standardu otopine glukoze izračunat je udio škroba u uzorku.

Suha tvar fecesa izračunata je sušenjem uzoraka fecesa na 103°C/24 sata u sušioniku. Iz razlike masa uzorka prije i poslije sušenja u odnosu na početnu masu uzorka izračunat je maseni udio vode (vlage) u uzorku. Udio suhe tvari (ST) izračunat je oduzimanjem udjela vlage od 100% ili 1000 g/kg.

Tablica 5. Prikaz udjela suhe tvari (g/kg ST) i škroba (g/kg ST) tijekom tri tretmana u fecesu ispitivanih konja.

Tretman	Vrsta i naziv uzorka		g/kg ST	g/kg škroba
I	Feces	LeeLoo 1.1	209	1,8
	Feces	Carlos 2.1	247	1,9
	Feces	Kuban 3.1	190	1,9
II	Feces	LeeLoo 1.2	231	0,8
	Feces	Carlos 2.2	252	0,8
	Feces	Kuban 3.2	207	0,7
III	Feces	LeeLoo 1.3	231	0,8
	Feces	Carlos 2.3	268	0,8
	Feces	Kuban 3.3	235	0,7

ST – suha tvar

4.4.2. ODREĐIVANJE SADRŽAJA SIROVIH PROTEINA (SP)

Određivanje sirovih proteina (SP) rađeno je metodom po Kjeldahlu, odnosno metodom kvantitativne determinacije dušika. Uzimana je srednja vrijednost od dva ponavljanja po svakom uzorku. Izvagan je 1 g homogeniziranog, osušenog uzorka (sijeno, slama, djetelina) u svaku tubu te je potom dodano 7,5 g smjese kalijevog sulfata i modre galice koja služi kao katalizator. Nakon toga u svaku tubu dodano je 10 mL koncentrirane sumporne kiseline te su tube stavljene u blok za spaljivanje na temperaturu od 420°C. Ohlađeni uzorci nakon spaljivanja destilirani su na automatskom sistemu KjeltecTM 2200 (Foss Tecator) uz dodatak 35%-tne otopine natrijeve lužine. Destilat uzorka skupljen je u 4%-tnu otopinu borne kiseline uz dodatak metil-crvenog i brom-krezol-zelenog kao indikatori. Indikatori su dodani kako bi se detektirala promjena pH vrijednosti. Destilat je titriran sa 0,1 mol/L otopinom kloridne kiseline kako bi se na temelju utroška kiseline mogao izračunati sadržaj dušika u uzorcima. Za izračun sadržaja sirovog proteina u uzorcima dobiveni rezultat, odnosno dobiveni dušik pomnožen je s faktorom 6,25.

4.4.3. ODREĐIVANJE SADRŽAJA NEUTRALNIH DETERGENT VLAKANA (NDV)

Osušeni uzorci slame, livadnog sijena i djeteline izvagani su u duplikatu na vagi Mattler Toledo AB 204 S (Mettler Toledo International) u kapsule za određivanje neutralnih detergent vlakana (oko 0,7 g) te su potopljeni u posudi za kuhanje vlakana u koju je dodana hladna otopina detergenta i Na_2SO_4. Na posudu za kuhanje stavljeno je hladilo prikladne veličine. Kad je

otopina zakuhala, kapsule su namakane 30 minuta uz povremeno miješanje. Nakon kuhanja, uzorci su ispirani kipućom destiliranom vodom nekoliko puta do potpunog gubitka sapunice, te su odmašćeni u acetonu (30 sekundi). Posloženi uzorci na Petrijevoj zdjelici stavljeni su na sušenje u sušionik na 105°C, 5 – 6 sati, nakon čega su ohlađeni u eksikatoru i vagani. Izvagani uzorci stavljeni su u izvagane porculanske lončiće, a potom u peć na 600 ± 10°C na 4 sata na spaljivanje. Nakon hlađenja u eksikatoru porculanski lončići sa spaljenim uzorcima su izvagani i na temelju masa uzorka prije i nakon kuhanja u kiselom detergentu, te mase ostatka pepela izračunat je sadržaj NDV-a.

Kemikalije korištene u određivanju sadržaja NDV-a su:

- Na_2SO_3
- aceton
- 1%-tna otopina Na_2SO_4
- detergent-komplekson III, borax, natrij lauril sulfat (dodecil sulfat), trietilen glikol, Na_2HPO_4



Slika 5a. Odmašćivanje F57 Ankom vrećica u acetonu; **Slika 5b.** Vaganje i homogeniziranje fecesa
(Izvor: A. Bošnjak)

4.4.4. ODREĐIVANJE FEKALNE PROBAVLJIVOSTI ST

U kratkotrajno odmašćene vrećice F57 (Ankom) u acetonu (Slika 5a) i naknadno prosušene precizno je izvagano 0,5 g uzorka slame, livadnog sijena i djeteline u šesteroplikatu. Vrećice su potom zalemljene i stavljene na inkubaciju. Za mjerenje *in vitro* fekalne probavljivosti korištene su tri inkubacijske posude, odnosno, jedna posuda po konju. U svaku posudu stavljeni su u šeteroplikatu uzorci slame, livadnog sijena i djeteline. Feces svakog konja, koji se rektalno pribavljao 3 uzastopna dana prvo je homogeniziran te je odvagano 0,177 kg

fecesa za svaku inkubaciju (svakog konja) (Slika 5b). Izvagani feces je zatim pomiješan s malom količinom pufera za inkubaciju i kvantitativno prebačen u posudu za inkubaciju iz koje je prethodno izbačen kisik pomoću CO_2 (Slika 6a). U tako pripremljene inkubacijske otopine stavljeni su pripremljeni uzorci u F57 vrećicama te je ponovno izbačen višak kisika (Slika 6c). Posude za inkubaciju potom su stavljene na inkubaciju od 48 sati na 39°C u DAISY^{II} inkubatoru (Slika 7a).

Nakon inkubacije vrećice s uzorcima isprane su u hladnoj vodi kako bi bila inhibirana aktivnost mikroorganizama. Isprani uzorci prosušeni su 48 sati na 40°C, potom ohlađeni u eksikatoru i izvagani. Razlika u masi vrećica prije i nakon inkubacije predstavlja vrijednost probavljene suhe tvari pomoću koje se odredio postotak razgradljivosti suhe tvari pojedinih uzoraka krmiva za pojedinog konja. Nakon određivanja *in vitro* fekalne probavljivosti suhe tvari u ostatku uzorka određen je udio nerazgradljivog NDV po prije opisanom postupku, uz razliku da se za kuhanje vlakana umjesto kapsule za određivanje NDV koristila vrećica F57 nakon inkubacije (Slika 7b).



Slika 6a., 6b., 6c. Izbacivanje kisika iz ankum posuda pomoću CO_2 prije i nakon stavljanja uzorka te nakon stavljenog fecesa
(Izvor: A. Bošnjak)





Slika 7a. Određivanje fekalne *in vitro* probavljivosti u DAISY^{II} Inkubatoru;
Slika 7b. Kuhanje uzoraka u detergentu za određivanje sadržaja neutralnih detergent vlakana nakon *in vitro* inkubacije
(Izvor: A. Bošnjak)

4.4.5. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA

Za određivanje ukupnog broja celulolitičkih bakterija, amilolitičkih bakterija i laktobacila korišten je modificirani protokol prema Bairagi i sur. (2002.). U 20 g svježeg fecesa dodano je 180 mL PPV + Tween 80 (Merck, Njemačka) te je homogeniziran u stomaheru (Bag Mixer, Interscience) kroz 3 minute. Tako dobiveno inicijalno razrjeđenje razrijeđeno je u koncentracijskom rasponu od 10^{-1} do 10^{-10}. Od svakog razrjeđenja u duplikatu otpipetirano je 0,1 mL alikvota na hranjive podloge *karboksimetilceluloza* (CMC) *agar* (g/L), *škrobni agar* (g/L) i MRS agar (Merck) te je ravnomjerno razmazan L-štapićem po površini svakog agara. Inokulirane ploče (CMC i škrobni agar) inkubirane su kroz 24 sata na 37°C (±1°C) u anaerobnim uvjetima te kroz 72 sata na 37°C (±1°C) (MRS agar) u semiaerobnim uvjetima nakon čega su izbrojane porasle kolonije bakterija te je određen njihov broj u gramu.

Mikrobiološka pretraga uzoraka provedena je na Veterinarskom institutu u Zagrebu.

Tablica 6. Sastav podloge karboksimetilceluloza (CMC) agar (g/L) i škrobni agar (g/L)

Sastojak	**Količina (g/L)**
Škrob	10
KH_2PO_4	4
Tripton	2
$MgSO_4*H_2O$	0,2
$CaCl_2$	0,001
$FeSO_4*7H_2O$	0,004
Agar	15
pH	7

4.5. STATISTIČKE ANALIZE

Pokus je bio postavljen kao ponavljajući latinski kvadrat (ukupno šest ponavljanja). Obrada podataka prije statističke analize obavljena je pomoću računalnog paketa MS Office programa, upotrebom Excel programa. Glavni utjecaji bili su hranidbeni tretman i životinja. Kao slučajni utjecaj definirana su ponavljanja i interakcije ponavljanja sa životinjom. Statistička obrada dobivenih podataka promatranih parametara (*in vitro* fekalna probavljivost suhe tvari i NDV-a nakon 48 sati) provedena je upotrebom statističkog programa SAS (SAS Institute, 2003.) procedurom GLM. Značajnost glavnih utjecaja određena je za $P < 0,05$.

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I RASPRAVA

5.1. MIKROBIOLOŠKA ANALIZA FECESA KONJA

Mikrobiološka analiza fecesa tri konja tijekom tri različita tretmana (I, II, III) vidljiva je u tablici 7. Povećanjem krmne smjese, odnosno škroba u obroku povećao se i broj bakterija mliječne kiseline (laktobacila), amilolitičkih i celulolitičkih bakterija. Najveći broj bakterija izbrojan je u tretmanu s najviše škroba (III tretman, 0,9 g/kg TM) dok je najmanji broj izbrojan u tretmanu s najmanjom količinom škroba u obroku (I tretman, 0,3 g/kg TM). Potter i sur. (1992., cit. Medina i sur. 2002.) navode da hranidba škrobom u količini od 3,5 g/kg tjelesne mase konja produžuje razgradnju škroba iz primarno tankog crijeva u slijepo i debelo crijevo čime se potencijalno narušava i mikrobiom debelog crijeva te njegova aktivnost. Rezultati istraživanja i mikrobiološka analiza (Tablica 7.) pokazuju da je s povećanjem razine škroba došlo do porasta broja ukupnih celulolitičkih i amilolitičkih bakterija te laktobacila (bakterija mliječne kiseline), ali bez negativnog utjecaja na pH (Tablica 8.). Također, povećana razina škroba nije imala negativan utjecaj na *in vitro* razgradnju suhe tvari i neutralnih detergent vlakana (Tablice 9. i 10.). Rezultati istraživanja ukazuju da je povećanje udjela škroba u obroku konja najvjerojatnije povećalo i dostupnost glukoze mikroorganizmima debelog crijeva uslijed njegove povećane fermentacije u debelom crijevu (Hintz i Cymbaluk 1994.). Intenzitet fermentacije u debelom crijevu ovisi o količini brzo fermentirajućeg supstrata dostupnog mikroorganizmima slijepog i debelog crijeva jer povećava brojnost mikroorganizama (Clarke i sur. 1990.). Previsoke koncentracije lako dostupnih ugljikohidrata imaju izrazito negativan utjecaj na mikrobiom crijeva i njegovu aktivnost zbog prevelikog sniženja pH u slijepom i debelom crijevu (Clarke i sur. 1990., Rowe i sur. 1994.). Mikrobiološke analize fecesa konja ispitivanih u ovom istraživanju osim porasta broja ispitivanih bakterija s porastom udjela škroba u obroku konja, pokazale su i neke razlike u brojnosti bakterija između pojedinih konja. Navedene razlike uočene su unutar ispitivanih tretmana kao i apsolutni porast broja bakterija s porastom škroba koji je bio različit između konja i tretmana. Fecesi konja unutar pojedinih tretmana razlikovali su se ponajviše u sadržajima celulolitičkih i amilolitičkih bakterija dok je brojnost laktobacila između konja bila ujednačenija. Najveći porast amilolitičkih bakterija zabilježen je između tretmana I i III i to kod konja broj 1. (190,0 puta), dok su konji 2. i 3. imali niže poraste amilolitičkih bakterija (konj 2. 33,5 puta i konj 3. 30,0 puta). Što se tiče razlika između konja unutar pojedinih tretmana, u tretmanu III brojnost amilolitičkih bakterija nije se razlikovala između konja, dok su u tretmanima I i II izmjerene razlike (Tablica 7.). Najveći porast celulolitičkih bakterija za 83,3 puta, između I i III tretmana, evidentiran je kod konja broj 2., a slijedili su konj broj 1. (60,0 puta) te konj broj 3. (33,3 puta). Istovremeno je brojnost celulolitičkih bakterija u tretmanu i bila podjednaka između sva tri konja (Tablica 7.). U tretmanu II najveći broj celulolitičkih bakterija zabilježen je kod konja broj 1., dok je najniži broj zabilježen kod konja broj 3. Tretman III s maksimalnim udjelom škroba u hranidbi (0,9 g/kg TM) dao je najveći broj celulolitičkih bakterija kod konja 2., a najmanje kod konja 3. Različitom udjelu celulolitičkih bakterija u fecesima konja, zasigurno pridonosi i veća tjelesna aktivnost konja broj 2. i 3. Pojačan učinak kretanja zacijelo je imao pozitivan utjecaj na probavu

vlakana sijena čime je osiguran i optimalan rast celulolitičkih bakterija zaduženih za njihovu probavu. Celulitička mikroflora u debelom crijevu konja je brojna no probavljivost vlakana hrane ovisi i o količini vlakana, ali i o hranidbenom ponašanju konja te kretanju. Konzumacija većih obroka u odnosu na konzumaciju više manjih obroka dovodi do ubrzanja pasaže i smanjene iskoristivosti hrane obroka (Clark i sur. 1990.). S druge strane, kretanje utječe na peristaltiku crijeva i samim time daje bolju iskoristivost hrane obroka (Olsson 1955., cit. Pagan i sur. 1998.). Količina vlakana utječe na brzinu prolaska hrane kroz probavni trakt. Tako je probava hranjivih tvari u pašnom sustavu držanja konja puno brža (9 – 12 sati), dok suhoj voluminoznoj krmi dobre kakvoće treba za pasažu i prolaz kroz probavni sustav konja od 30 do 36 sati, što direktno utječe i na brojnost mikroba u debelom crijevu (Šerman 2000.). Konji korišteni u ovom istraživanju dobivali su kvantitativno i kvalitativno isti obrok u jednakim intervalima, s jedinom razlikom u nešto manjem intenzitetu kretanja i rada konja broj 1.

Tablica 7. Mikrobiološka analiza fecesa za tri konja tijekom tri različita tretmana (I, II, III)

Tretman/ Bakterije (CFU/g)	I			II			III		
	Konj								
	Lelloo (1)	Carlos (2)	Kuban (3)	Lelloo (1)	Carlos (2)	Kuban (3)	Lelloo (1)	Carlos (2)	Kuban (3)
Celulolitičke	$1{,}0x10^{7}$	$1{,}2x10^{7}$	$1{,}2x10^{7}$	$9{,}5x10^{7}$	$8{,}5x10^{7}$	$6{,}0x10^{7}$	**$6x10^{8}$**	**10^{9}**	**$4x10^{8}$**
Amilolitičke	$2{,}0x10^{6}$	$1{,}7x10^{7}$	$1{,}2x10^{7}$	$9{,}0x10^{7}$	$1{,}0x10^{8}$	$8{,}5x10^{7}$	**$3{,}8x10^{8}$**	**$5{,}7x10^{8}$**	**$3{,}6x10^{8}$**
Laktobacili	$1{,}4x10^{7}$	$1{,}4x10^{7}$	$1{,}3x10^{7}$	$5{,}5x10^{7}$	$6{,}0x10^{7}$	$4{,}5x10^{7}$	**$3{,}2x10^{8}$**	**$2{,}5x10^{8}$**	**$5{,}0x10^{8}$**

CFU – jedinice formiranja kolonija *(eng. Colony Forming Unit).*

5.2. pH VRIJEDNOST FECESA KONJA

Visoke razine škroba u hranidbi povezane su s pojavom acidoze u konja. S porastom količine škroba u obroku konja manja mu je probavljivost u tankom i posljedično, viša fermentacija u debelom crijevu. Neprobavljeni škrob u debelom crijevu služi kao izvor energije bakterijama mliječne kiseline (laktobacili) koje njegovom fermentacijom stvaraju veliku količinu ukupnih kratkolančanih masnih kiselina, osobito mliječne kiseline koja brzo i snažno snižava kiselost crijevnog sadržaja ispod optimalnih 6,5. Takav pad pH vrijednosti rezultira smanjenom fermentacijom vlakana i moguću pojavu acidoza. Fiziološki uvjeti za odvijanje mikrobne fermentacije u slijepom i debelom crijevu su: dostupnost supstrata, brzina pasaže, anaerobni uvjeti i pH vrijednost crijevnog sadržaja (on uvelike ovisi o sintezi kiselina i neutralizaciji te odvodnji proizvedenih kiselina iz slijepog i debelog crijeva) (Clarke i sur. 1990.). Willard i sur. (1977.) utvrdili su da je pH debelog crijeva definiran vrstom obroka konja. Povećana količina škroba u obroku konja dovela je do pada pH vrijednosti debelog crijeva sa 7,22 na čak 6,12 u odnosu na obrok sa sjenažom. Vrijednost pH sadržaja debelog crijeva oko 6 upućuje na subkliničku acidozu, dok vrijednosti niže od 6 upućuju na klinički disbalans fermentacije u debelom crijevu (Radicke i sur. 1991.). U ovom istraživanju, neovisno o ispitivanom tretmanu, odnosno razini škroba u obroku konja, vrijednosti pH fecesa ne upućuju na potencijalnu pojavnost fermentacijskog disbalansa (srednje vrijednosti pH od 6,95 do 7,89). S povećanjem udjela škroba u obroku konja zabilježen je pad pH vrijednosti fecesa (Tablica 8.). Najviša pH vrijednost zabilježena je u tretmanu s najviše škroba (III tretman, 0,9 g/kg TM) dok je najniža vrijednost zabilježena u tretmanu s najmanjom količinom škroba u obroku (I tretman, 0,3 g/kg TM). Sličan trend snižavanja vrijednosti pH fecesa zabilježili su i Rowe i sur. (1994.) gdje je vrijednost pH bila u rasponu od 7,8 (na početku hranidbe konja s koncentratnim obrokom) do 6,2 (nakon 12 dana hranidbe s istim obrokom). Isto tako i Zeyner i sur. (2004.) bilježe povećanje pH vrijednosti vodenog ekstrakta fecesa sa 6,36 na 6,68, ali s povećanjem udjela sijena u obroku konja, odnosno, s proporcionalnim smanjivanjem udjela koncentrata u obroku konja utvrdili su porast pH vrijednosti vodenog ekstrakta fecesa.

Tablica 8. pH vrijednosti fecesa konja u tri različita tretmana (I, II, III)

Tretman	I	II	III
Konj		pH	
Lelloo (1)	8,02	7,25	6,90
Carlos (2)	7,69	6,98	7,14
Kuban (3)	7,95	7,29	6,80
Srednja vrijednost	**7,89**	**7,17**	**6,95**

Rezultati ovog istraživanja pokazali su i da je broj laktobacila bilježio porast s porastom udjela škroba u obroku i nije se razlikovao u velikoj mjeri između pojedinih konja, no evidentna je proporcionalnost između broja laktobacila u fecesu (Tablica 7.) i pH vrijednosti fecesa (Tablica 8.) pojedinih konja. U tretmanu III, konj s najnižim brojem laktobacila imao je najvišu pH vrijednost fecesa (konj 2), dok je isti u tretmanu II imao najviše laktobacila, ali i najnižu pH vrijednost fecesa. Richards i sur. (2006.) navode da je pH fecesa izvrstan indikator probave škroba, stanja mikrobioma te zdravlja slijepog i debelog crijeva konja, pogotovo kod konja hranjenih obrocima s višim sadržajima žitarica (škroba).

5.3. FEKALNA *IN VITRO* PROBAVLJIVOST NEUTRALNIH DETERGENT VLAKANA I SUHE TVARI

U ovom istraživanju ispitan je utjecaj hranidbe s povećanim udjelima škroba u obroku konja na fekalnu *in vitro* probavljivost neutralnih detergent vlakna (IVNDFD) i suhe tvari (IVDMD) u tri voluminozna krmiva na tri različita konja. Paralelno je ispitan i utjecaj životinje na probavljivost. U upotrijebljenim fecesima za inkubaciju rezidualni škrob detektiran je na graničnim koncentracijama za upotrijebljenu metodu (Tablica 5.). Rezultati rezidualnog škroba u fecesu upućuju na apsolutno iskorištenje škroba u probavilima svih ispitivanih konja.

Tablica 9. Utjecaj konja (1, 2, 3) na probavljivost neutralnih sirovih vlakana i suhe tvari u slami, sijenu i djetelini. Najviše vrijednosti masno su otisnute

Krmivo / Konj	**Slama**		**Sijeno**		**Djetelina**	
	IVNDFD (%)	IVDMD (%)	IVNDFD (%)	IVDMD (%)	IVNDFD (%)	IVDMD (%)
Lelloo (1)	32,08	25,82	33,73	38,27	39,48	42,61
Carlos (2)	**36,60**	**27,67**	34,37	38,51	40,76	42,07
Kuban (3)	35,47	26,63	**36,30**	**39,31**	**43,01**	**43,38**
P-vrijednost	**<0,001**	**<0,01**	**<0,001**	**0,126**	**<0,001**	**<0,001**

IVNDFD – *in vitro* probavljivost neutralnih detergent vlakna; IVDMD – *in vitro* probavljivost suhe tvari; *P* – stupanj značajnosti

Utjecaj konja bio je značajan na IVNDFD u slami, sijenu i djetelini ($P < 0,001$). Najveću IVNDFD u slami imao je konj 2., dok je konj 3. imao najveću IVNDFD u sijenu i djetelini. U sva tri ispitivana voluminozna krmiva, konj 1. imao je najniže vrijednosti IVNDFD. Razlika u IVDMD u slami između konja bila je statistički značajna ($P < 0,01$) te je najveća zabilježena razlika u konja 2. (27,67), a najmanja u konja 1. (25,82). Utjecaj jedinke (konja) na IVDMD sijena nije bio statistički značajan ($P = 0,126$), ali je konj 3. imao veću probavljivost u odnosu na ostala dva konja (Tablica 9.). IVDMD djeteline značajno se razlikovala između konja ($P < 0,001$), ali za razliku od slame najveća vrijednost izmjerena je kod konja 3. (43,38), a najniža u konja 2. (42,07). S obzirom na apsolutne vrijednosti konj 1. imao je nešto niže vrijednosti za IVNDFD i IVDMD u slami, sijenu i djetelini za razliku od konja 2. i 3. Rezultat može biti opravdan činjenicom da su konji Kuban (konj 3) i Carlos (konj 2) bili fizički aktivniji kroz sva tri tretmana, dok je Leeloo (konj 1) bila nešto aktivnija tek u trećem tretmanu. Rezultati istraživanja upućuju da kretanje konja, trenažni proces i bilo koji aktivan način rada ima učinak na probavljivost suhe tvari i vlakana. Pagan i sur. (1998.), Bergero i sur. (2002.) te Goachet i sur. (2010.) su utvrdili da aktivnost konja ima utjecaja na probavljivost općenito. Olsson (1955.), cit. Pagan i sur. (1998.) navode da težak rad ima negativan utjecaj na probavljivost, dok lagana vježba, kojoj su bili podvrgnuti konji u ovom istraživanju, ima pozitivan učinak na probavljivost. Iako cilj ovog istraživanja nije bio mjerenje utjecaja aktivnosti na pasažu i mikrobiom konja te probavljivost hrane za konje, utvrđene razlike između konja ukazuju da

količina kretanja pozitivno utječe na probavni sustav konja i mikrobiom debelog crijeva (fecesa). Kvalitativne i kvantitativne karakteristike mikrobioma debelog crijeva izravno utječu na probavljivost, kako suhe tvari tako i neutralnih detergent vlakana (Julliand i Grimm, 2016.). Navedena manja probavljivost vlakana i suhe tvari u obroku između konja može biti i rezultat spolne pripadnosti. Naime, Leeloo (konj 1.) je kobila dok su ostala dva konja kastrati. Tijekom navedenog perioda kobila je pokazivala znakove tjeranja, javio se hormonalni disbalans, bila je nemirnija i nije isključeno da je potreba za hranom bila manje izražena, te samim time i njena konzumacija. Utjecaj hranidbe, tj. dostupnost obroka tijekom dana i večeri značajno utječe na reproduktivnu aktivnost, daje veću plodnost kobila za 81%, smanjuje stres i pozitivno utječe na metabolizam (Benhajali i sur. 2013.). Isti autor navodi da hormon leptin, kojeg luči adipozno (masno) tkivo može djelovati kao indikator pohranjene količine energije u masnom tkivu, što je u direktnoj vezi s kondicijskim stanjem konja (izrazit deficit adipoznog tkiva označava gladnu kondiciju) te je metabolizam kod takvih životinja usporen. Istraživanja na temu utjecaja spola u hranidbi konja su štura i teško dostupna. Za potvrđivanje činjenice da spol ima utjecaja na probavljivost neutralnih detergent vlakana i suhe tvari treba provesti novo sveobuhvatnije istraživanje s većim brojem jedinki oba spola.

U ovom istraživanju vidljiv je porast IVNDFD i IVDMD povećanjem udjela škroba u obroku konja (sa 0,3 na 0,9 g/kg TM konja) za sva tri ispitivana voluminozna krmiva (Tablica 10.). Rezultati mikrobiološke analize govore o povećanju broja laktobacila, amilolitičkih i celulolitičkih bakterija u fecesu konja s povećanjem škroba u obroku (Tablica 7.). Respondek i sur. (2008.) također navode povećanje koncentracije ukupnih anaeroba, lactobacila i streptokoka s povećanjem ječma u obroku konja (ječam kao izvor škroba). Primarna uloga mikroorganizama slijepog i debelog crijeva je hidroliza i fermentacija vlakana kako bi se u simbiozi s mikroorganizmima konju osigurala energija iz te, za samog konja, neprobavljive komponente hrane (Julliand i Grimm, 2016.). Određena vrsta i brojnost mikroorganizama u slijepom i debelom crijevu, te u fecesu konja definirana je hranidbom (Medina i sur. 2002., Daly i sur. 2012.). Hranidba koncentratnim škrobnim krmivima povećava udio bakterija koje sintetiziraju mliječnu kiselinu što za posljedicu može imati povećani sadržaj mliječne kiseline i snižavanje pH crijevnog sadržaja, smanjenje fermentacije vlakana hrane te u ekstremnim slučajevima pojavu acidoza (Clarke i sur. 1990., Julliand i Grimm, 2016.). Porter i sur. (1992.) (cit. Cuddeford 2001.) navode da su koncentracije škroba u obroku konja do 3,5 – 4,0 g/kg TM konja sigurne u hranidbi i da neće imati negativan utjecaj na probavni sustav konja. No, Johnson i sur. (1998.) pokazali su da čak i „sigurne“ koncentracije škroba (3,5 – 4,0 g/kg TM konja) za posljedicu imaju nizak pH fecesa (pH fecesa 6,2 – 6,3) i pojavu specifičnog ponašanja konja povezanih s pojavom acidoza (koprofagija, griženje i jedenje drva, itd.). Kienzle i sur (1992.) navode gornju granicu od 2 g/kg škroba TM konja po obroku koje su sigurne u hranidbi konja. Medina i sur. (2002.) iznose tvrdnje kako povećanje škroba u hranidbi konja dovodi do većeg udjela neprobavljivog škroba u tankom crijevu, odnosno u debelom crijevu dolazi do povećanja koncentracije mikroflore zadužene za razgradnju i resorpciju istog. Navedeni autori navode da se velike promjene specifičnih sojeva bakterija debelog crijeva, uzrokovane visoko-škrobnom hranidbom, mogu smanjiti unosom obroka bogatog vlaknima. Za izjednačavanje mikrobiološke flore debelog crijeva, Medina i sur. (2002.) navode pozitivan utjecaj dodavanja aditiva kvasca u obrok konja. Istraživanje Richards i sur. (2006.) ukazuje da sama količina škroba, odnosno

žitarica u obroku konja nema značajnu ulogu na zdravlje probavila konja nego je važniji izvor škroba u obroku, frekventnost obroka i količina obroka. Autori navode da je kukuruz loš odabir u hranidbi konja zbog njegove lošije razgradnje u tankom crijevu, u odnosu na zob i komercijalne koncentrate (odnos *in vitro* razgradnje kukuruza, zobi i komercijalnog koncentrata = 36% : 61% : 59%). U istom radu dana je i preporuka za veći broj manjih obroka u hranidbi konja. Davanje više manjih obroka usporava pasažu i daje bolju iskoristivost hrane u probavilu (Clarke i sur. 1990.).

Rezultati ovog istraživanja pokazuju veću fekalnu IVNDFD i IVDMD u sva tri ispitivana voluminozna krmiva s povećanjem količine škroba odnosno žitarica (smjese) u obroku konja (Tablica 10.) bez negativnog smanjenja pH fecesa (Tablica 8.) i utvrđenog rezidualnog škroba u fecesu (Tablica 5.). Iako se ne može izravno govoriti o razgradnji škroba u tankom crijevu konja u ovom istraživanju, žitarice iz smjese (korištene u ovom istraživanju) pokazuju dobru probavljivost škroba (nema utvrđenog rezidualnog škroba, pH fecesa nije ekstremno nizak). Neprobavljivi škrob ima važniju ulogu u sintezi kiselina u probavnom sustavu konja od same količine žitarica/smjese (škroba) dodanih u obrok konja (R^2 = 0,29 za odnos neprobavljivog škroba i proizvedene kiseline; De Fomeblle i sur. 2001.). De Fomeblle i sur. (2003.) navode kako strukturni, ali i skladišni ugljikohidrati bitno utječu na samu mikrofloru crijeva. U prosjeku, bakterijska flora tankog crijeva brojno je oskudnija od flore debelog crijeva te se može zaključiti kako je taj dio probavnog sustava manje izložen promjenama nastalim povećanjem ugljikohidrata u obroku (De Fombelle i sur. 2003.). Kukuruz s višim udjelima neprobavljivog škroba ne predstavlja dobar odabir u hranidbi konja. Odabir žitarica s dobrom razgradnjom škroba u tankom crijevu i/ili korištenje procesiranih žitarica s boljom razgradnjom škroba u tankom crijevu smanjuju pojavnost acidoza (Richards i sur. 2006.).

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na pozitivan učinak dobro probavljivog dodatka škroba u obroku konja na probavljivost ST i NDV kroz povećanje brojnosti mikroorganizama odgovornih za njihovu razgradnju, ali moguće je i da koncentracije dodanog škroba nisu bile ekstremne i da nisu dovele do negativnog efekta na probavljivost. Daljnja istraživanja trebala bi provjeriti učinak povećanja količine ispitivane smjese na mikrobiom fecesa konja kao dobrog pokazatelja mikrobioma debelog crijeva konja te na fekalnu *in vitro* probavljivost voluminoznih krmiva.

Tablica 10. Utjecaj tretmana (I, II, III) na probavljivost neutralnih sirovih vlakana i suhe tvari u slami, sijenu i djetelini. Najveće vrijednosti masno su otisnute

Krmivo	**Slama**		**Sijeno**		**Djetelina**	
Tretman s udjelom škroba (g/kg TM konja)	IVNDFD (%)	IVDMD (%)	IVNDFD (%)	IVDMD (%)	IVNDFD (%)	IVDMD (%)
I (0,3)	27,56	22,00	30,69	36,94	35,44	39,96
II (0,6)	38,02	27,79	33,96	37,50	41,96	42,14
III (0,9)	**39,05**	**30,09**	**40,15**	**41,90**	**46,11**	**46,54**
P-vrijednost	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**

IVNDFD – *in vitro* probavljivost neutralnih detergent vlakna; IVDMD – *in vitro* probavljivost suhe tvari; P – stupanj značajnosti

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja utjecaja sadržaja škroba u obroku konja na *in vitro* fekalnu probavljivost suhe tvari i neutralnih detergent vlakana provedenih u laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja i na konjičkom klubu Hiperion, izvedeni su sljedeći zaključci:

1. postepeno povećavanje dnevnog udjela škroba u obroku konja sa 0,3 na 0,9 g/kg TM konja povećava *in vitro* fekalnu probavljivost NDV,
2. postepeno povećanje dnevnog udjela škroba u obroku konja sa 0,3 na 0,9 g/kg TM konja povećava *in vitro* fekalnu probavljivost ST,
3. postepeno povećanje dnevnog udjela škroba u obroku konja sa 0,3 na 0,9 g/kg TM povećava broj ukupnih laktobacila, celulolitičkih i amilolitičkih bakterija.

Dobiveni rezultati istraživanja su u suprotnosti s očekivanim hipotezama o smanjenju probavljivosti NDV i ST povećanjem količine škroba u obroku. Rezultati vrijednosti pH fecesa i mikrobiološke analize govore u prilog pozitivnom utjecaju škroba u obroku konja do 0,9 g/kg TM konja na mikrobiom debelog crijeva konja, zdravlje probavila i probavljivost vlakana. Utvrđen značajan utjecaj konja, unatoč odabiru jedinki ujednačenih karakteristika, ukazuje na potrebu za dodatnim istraživanjima koja bi uključivala veći broj životinja.

7. POPIS LITERATURE

1. Bairagi A., Sarkar Ghosh K., Sen K. S., Ray A. K. (2002). Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. Aquaculture Internationale. 10: 109-121.
2. Benhajali H, Ezzaouia M, Lunel C, Charfi F, Hausberger M. (2013). Temporal feeding pattern may influence reproduction efficiency, the example of breeding mares. PLoS One 30, 8(9): e73858. doi: 10.1371/journal.pone.0073858.
3. Bergero D., Peiretti P.G., Cola, E. (2002). Intake and apparent digestibility of perennial ryegrass haylages fed to ponies either at maintenance or at work. Livestock production science. 77(2): 325-329.
4. Briggs K. (2007). Equine nutrition – your guide to horse health care and management. Eclipse Press, Lexington, Kentucky.
5. Carroll C. L., Huntington P. J. (1988). Body condition scoring and weight estimation of horses. Equine Veterinary Journal. 20: 41-45.
6. Clarke L.L., Roberts M.C., Argenzio R.A. (1990). Feeding and digestive problems in horses: physiologic responses to a concentrated meal. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice. 6(2): 433-450.
7. Cuddeford D. (2001). Starch digestion in the horse. Advances in equine nutrition II (ed. Joe D. Pagan and J. Geor). Nottingham University Press. Thrumpton: 95-103.
8. Daly K., Proudman C.J., Duncan S.H., Flint H.J., Dyer J., Shirazi-Beechey, S.P. (2012). Alterations in microbiota and fermentation products in equine large intestine in response to dietary variation and intestinal disease. British Journal of Nutrition. 107(7): 989-995.
9. De Fombelle, A., Varloud, M., Goachet, A.G., Jacotot, E., Philippeau, C., Drogoul, C. and Julliand, V. (2003). Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets. Animal Science, 77(2): 293-304.
10. Earing J. E., Cassill B. D., Hayes S. H., Vanzant E. S., Lawrence L. M., (2014). Comparison of in vitro digestibility estimates using the Daisy^{II} incubator with in vivo digestibility estimates in horses. Department of Animal and Food Sciences, University of Kentucky, Lexington.
11. Fombelle, A. de, Julliand, V., Drogoul, C. and Jacotot, E. (2001). Feeding and microbial disorder. Effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profiles and activities. Journal of Equine Veterinary Science 21: 439-444.
12. Forenbacher, S. 1975. Klinička patologija probave i mijene tvari domaćih životinja. Svezak I/1, Klinička patologija probave i resorpcije. JAZU u Zagrebu, Sveučilišna naklada Liber Zagreb.
13. Frape D. (2004). Equine nutrition and feeding. Blackwell Publishing.
14. Freeman, D. E. (1997). Overview of gastrointestinal physiology. In: Proc. 5th Geneva Congr. Equine Medicine Surgery, Geneva,Switzerland. 15–21.

15. Goachet A.G., Varloud M., Philippeau C., Julliand, V. (2010). Long-term effects of endurance training on total tract apparent digestibility, total mean retention time and faecal microbial ecosystem in competing Arabian horses. Equine Veterinary Journal. 42(s38): 387-392.
16. Grbeša D. (2004). Metode procjene i tablice kemijskog sastava i hranjive vrijednosti krepkih krmiva. Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.
17. Hintz H.F., Cymbaluk N.F. (1994). Nutrition of the horse. Annual review of nutrition. 14(1): 243-267.
18. INRA Feeding sistem for ruminants (2018). Wageningen Academic Publishers.
19. Ivanković A. (2004). Konjogojstvo. Hrvatsko agronomsko društvo, Zagreb.
20. Ivanković A. (2013). Jahanje. Hrvatska olimpijska akademija, Zagreb.
21. Julliand V., Grimm P. (2016). HORSE SPECIES SYMPOSIUM: The microbiome of the horse hindgut: History and current knowledge. Journal of animal science. 94(6): 2262-2274.
22. Kienzle E., Radicke S., Wilke S., Landes E.,Meyer, H. (1992). Preileal starch digestion in relation to source and preparation of starch. In Pferdeheilkunde (1st European Conference on Horse Nutrition). 103-106.
23. Medina B., Girard I.D., Jacotot E., Julliand V. (2002). Effect of a preparation of Saccharomyces cerevisiae on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fiber or a high starch diet1. Journal of Animal Science. 80(10): 2600-2609.
24. National Research Council (1978). Nutrient Requirements of Domestic Animals. No. 6. Nutrient Requirements of Horses, 4th edn revised. National Academy of Sciences, Washington DC.
25. National Research Council (2007). Nutrient Requirements of Horses. 6th revised edition. National Academy of Sciences, Washington DC.
26. Olsson N., Ruudvere A. (1955). The nutrition of the horse. Nutrition abstracts and reviews.
27. Pagan J.D., Harris P., Brewster-Barnes T., Duren S.E., Jackson S.G. (1998). Exercise affects digestibility and rate of passage of all-forage and mixed diets in thoroughbred horses. The Journal of Nutrition. 128(12S): S2704.
28. Pösö A.R., Essen-Gustavsson B., Lindholm A., Persson S.G.B. (1991). Exerciseinduced changes in muscle and plasma amino acid levels in the Standardbred horse. In: Persson, S.G.B.; Lindholm, A.; Jeffcott, L.B. (eds.). Equine Exercise Physiology 3, ICEEP Publications, Davis, California, 92-96.
29. Potter G.D., Arnold F.F., Householder D.D., Hansen D.H., Brown, K.M. (1992). Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. Pferdeheilkunde, 1(4): 107-111.
30. Radicke S., Kienzle E., Meyer H. (1991). Preileal apparent digestibility of oats and corn starch and consequences for cecal metabolism. Proceedings of the 12th Equine Nutrition and Physiology Symposium. Calgary, Canada: 43-48.

31. Respondek, F., A. G. Goachet, and V. Julliand. 2008. Effects of dietary short-chain fructo-oligosaccharides on the intestinal microflora of horses subjected to a sudden change in diet. J. Anim. Sci. 86:316-323.
32. Richards N., Hinch G.N., Rowe J.B. (2006). The effect of current grain feeding practices on hindgut starch fermentation and acidosis in the Australian racing Thoroughbred. Australian veterinary journal, 84(11): 402-407.
33. Rowe J. B., Lees M. J., Pethick D. W. (1994.). Prevention of acidosis and laminitis associated with grain feeding in horses. School of veterinary studies, Murdoch Uniuersity, WA 6150, Australia.
34. Salaić M. B., Domaćinović M., Mijić P., Sakač M., Bobić T., Budimirusporedba K. (2010). Usporedba nutritivnih vrijednosti različitih obroka sportskih konja u zaprežnom sportu, Stočarstvo.
35. Stilinović Z. (1993). Fiziologija probave i resorpcije u domaćih životinja. Školska knjiga, Zagreb.
36. Šerman V. (2000). Hrandiba Službenih konja, Krmiva.
37. Šerman V. (2001). Hranidba konja. Hrvatsko agronomsko društvo. Zagreb.
38. Vervuert I, Coenen M, Watermülder E. (2005). Metabolic responses to oral tryptophan supplementation before exercise in horses. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 89 (3-6): 140-145.
39. Vervuert I. (2011). Energy metabolism of the performance horse. Proceedings of the 5th European Equine Nutrition & Health Congress. 15-16 April, 2011. Waregem, Belgium.
40. Willard J.G., Willard J.C., Wolfram S.A. Baker J.P. (1977). Effect of Diet on Cecal pH and Feeding Behavior of Horses. Journal of animal science, 45(1): 87-93.
41. Willing B., Vörös A., Roos S., Jones C., Jansson A., Lindberg, J.E. (2009). Changes in faecal bacteria associated with concentrate and forage-only diets fed to horses in training. Equine veterinary journal, 41(9): 908-914.
42. Zeyner A., Geißler C., Dittrich A. (2004). Effects of hay intake and feeding sequence on variables in faeces and faecal water (dry matter, pH value, organic acids, ammonia, buffering capacity) of horses. Journal of animal physiology and animal nutrition, 88(1-2): 7-19.

8. ŽIVOTOPIS

Ana Bošnjak rođena je 19. rujna 1993. godine u Zagrebu. Osnovnu školu pohađala je u OŠ Vukomerec. Nakon osnovne škole upisuje Veterinarsku srednju školu u Zagrebu. Kao odličan učenik sve četiri godine maturirala je 2012., te iste godine upisuje Agronomski fakultet u Zagrebu, smjer Animalne znanosti. Godine 2015. završava preddiplomski studij Animalnih znanosti Sveučilišta u Zagrebu na Agronomskom fakultetu te iste upisuje diplomski studij Hranidba životinja i hrana na istom. S 12 godina intenzivno se počinje baviti sportskim jahanjem u konjičkom klubu Hiperion. Od 2008. godine, nakon položene licence za preponsko i dresurno jahanje započinje s natjecateljskom karijerom. Tijekom studiranja na preddiplomskom i diplomskom studiju demonstrator je na modulima Uzgoj i korištenje konja te modulu Jahanje.