



VĚDECKÝ VÝBOR VÝŽIVY ZVÍŘAT

Konopné a lněné semínko v krmných směsích pro nosnice a výkrm kuřat

Ing. Michaela Englmaierová, Ph.D.
prof. Ing. Věra Skřivanová, CSc.
prof. Ing. Miloš Skřivan, DrSc.
Ing. Tomáš Taubner, Ph.D.

Praha, listopad 2023



ISBN 978-80-7403-307-0

Anotace

Konopné a lněné semínko jsou zdrojem cenných látek, jakými jsou n-3 mastné kyseliny nebo vitamin E, které zvyšují kvalitu produktů, ale i ovlivňují zdraví zvířat. Ve Výzkumném ústavu živočišné výroby, v.v.i. byla realizována řada pokusů testující různé hladiny a poměry těchto semínek v krmných směsích pro nosnice a brojlerová kuřata. Z výsledků pokusů je patrné zvýšení pevnosti kostí u nosnic a kuřat po podání konopného semínka. Toto zjištění může zmírnit riziko výskytu zlomenin u nosnic související se změnou systému ustájení z obohacených klecí na podlahové systémy. V případě zkrmování obou semínek současně je ideální kombinace 40 g/kg konopného a 60 g/kg lněného semínka jak v krmné směsi pro slepice, tak i pro kuřata, která zajistí zlepšení užitkovosti a kvality masa, vajec i kostí. Tento příznivý vliv lze přisuzovat vyšší aktivitě enzymů v trávicím traktu drůbeže po podání takovéto krmné směsi, což zajistí vyšší stravitelnost a využití živin.

Hemp seed and flaxseed are a source of valuable substances, such as n-3 fatty acids or vitamin E, which increase the quality of the products, but also influence the health of the animals. In the Institute of Animal Science, a number of experiments testing different levels and proportions of these seeds in diets for laying hens and broiler chickens were carried out. The results of the experiments show an increase in bone strength in laying hens and chickens after the administration of hemp seed. This finding may mitigate the risk of fractures in laying hens associated with changing the housing system from enriched cages to floor systems. In the case of feeding both seeds at the same time, a combination of 40 g/kg of hemp and 60 g/kg of linseed in the feed mixture for both hens and chickens is ideal, which will ensure improved performance and quality of meat, eggs and bones. This beneficial effect can be attributed to the higher activity of enzymes in the digestive tract of poultry after the administration of such a mixed feed, which will ensure higher digestibility and utilization of nutrients.

Obsah

Anotace	2
1. Úvod	4
2. Konopné semínko	4
2.1. Tokoferoly	4
2.2. Mastné kyseliny	5
3. Lněné semínko	6
4. Kvalita kostí nosnic	6
5. Pokusná odzkoušení účinků konopného a lněného semínka v krmných směsích pro nosnice a kuřata	7
5.1. Přínosy konopného semínka v krmných směsích pro nosnice	8
5.2. Kombinace konopného a lněného semínka v krmných směsích pro nosnice	11
5.3. Význam konopného a lněného semínka v krmných směsích pro kuřata	13
5.4. Vliv konopného a lněného semínka na enzymatickou aktivitu trávicího traktu kuřat	17
6. Závěr	22
7. Poděkování	22
8. Seznam literatury	22

1. Úvod

V současné době se velký důraz klade na welfare zvířat a kvalitu produktů. Kvalita živočišných produktů je hodnocena na základě řady fyzikálních a chemických ukazatelů, mikrobiální kontaminace nebo senzorické analýzy. Z hlediska zdraví konzumentů je důležitým markerem kvality produktů obsah n-3 mastných kyselin a poměr n-6/n-3 mastných kyselin. Polynenasycené n-3 mastné kyseliny totiž snižují riziko srdečních chorob, osteoporózy, revmatoidní artritidy, autoimunitních poruch nebo rakoviny. Podle doporučení Světové zdravotnické organizace by měl být poměr polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 4–5 nebo méně. Redukci tohoto poměru lze zajistit výživou, tedy zařazením vhodných komponent do krmné směsi, které obsahují n-3 polynenasycené mastné kyseliny. Významným zdrojem n-3 mastných kyselin je rybí tuk nebo lněné semínko. Rovněž konopné semínko vyniká příznivým poměrem n-6/n-3. Polynenasycené mastné kyseliny snadněji podléhají oxidaci než nasycené, a proto je důležité, aby byl zvířatům do krmné směsi dodáván současně i nějaký antioxidant, který sníží oxidaci mastných kyselin jak v krmivu, tak i v samotném produktu. V případě konopného semínka je výhodné, že je přirozeným zdrojem vitamínu E, který vykazuje antioxidační vlastnosti a není tudíž nutné krmnou směs obsahující konopné semínko nadměrně dotovat tímto vitamínem. Dalším ale ne však méně významným efektem zkrmování obou semínek je jejich pozitivní vliv na kvalitu kostí a zdraví zvířat, což je jedním z předpokladů pro zajištění životní pohody zvířat.

2. Konopné semínko

2.1. Tokoferoly

Konopí (*Cannabis sativa* L.) je známé svým obsahem bioaktivních látek, kam patří i tokoferoly. Tokoferoly mohou, kromě jiných fyziologických účinků, snížit riziko kardiovaskulárních chorob, rakoviny a věkem podmíněné makulární degenerace (Leger, 2000). U konopí se koncentrace tokoferolů, jakož i obsah tuku a profil mastných kyselin, mohou lišit podle kultivaru (Kriese et al., 2004). Za dominantní tokoferol se u konopí považuje γ -tokoferol (21,68 mg/100 g), následovaný α - (1,82 mg/100 g), δ - (1,20 mg/100 g) a β -tokoferolem (0,16 mg/100 g) (Oomah et al., 2002; Kriese et al., 2004). Gammatokoferol se velmi snadno vstřebává a hromadí se v lidských tkáních, vykazuje protizánětlivé vlastnosti (Jiang et al., 2001), ale z hlediska antioxidačního efektu je považován za méně účinný než α -tokoferol z důvodu nižší schopnosti darovat elektrony (Kamal-Eldin a Appelqvist, 1996). Zdá se však ale, že

nesubstituovaná poloha C-5 γ -tokoferolu umožňuje lépe zachytit lipofilní elektrofilny, jako jsou reaktivní formy oxidu dusíku (Cooney et al., 1993).

Vzhledem k vysokému obsahu nenasycených mastných kyselin v konopném semínku působí tokoferoly jako antioxidanty, které zabraňují oxidaci těchto mastných kyselin. Mimoto studie na zvířatech prokázaly pozitivní vliv α -tokoferolu na kosti u různých modelů osteoporózy. Vysoké dávky α -tokoferolu však mohou být pro kosti škodlivé (Chin a Ima-Nirwana, 2014). Alfatokoferol má tendenci navozovat ve vertebrální sekundární spongiózní kostní tkáni dominantní osteogenezi, při které dochází k aktivní remodelaci kosti. Proto může mít příjem α -tokoferolu příznivé účinky na zdraví kostí (Kasai et al., 2015). Dále Borhanuddin et al. (2012) uvádějí, že α -tokoferol může mít významný vliv na tvorbu kosti během normální fáze remodelace sekundárního hojení kosti. Na druhé straně Hamidi et al. (2012) zjistili, že doplněk vitamínu E ve formě α -tokoferolu potlačoval hladinu γ -tokoferolu v séru a měl negativní vliv na tvorbu kostí. Na rozdíl od α -tokoferolu vede doplňování stravy γ -tokoferolem nejen ke zvýšení samotného γ -tokoferolu, ale také ke zvýšení α -tokoferolu v krvi (Jiang et al., 2001).

2.2. Mastné kyseliny

Konopné semínko je také zdrojem energie a mastných kyselin. Hlavní mastnou kyselinou ze skupiny polynenasycených mastných kyselin vyskytující se v konopném semínku je kyselina linolová, která zaujímá 60 %. Kyselina α -linolenová dosahuje 17–19 % (Parker et al., 2003). Z toho vyplývá poměr kyseliny linolové (n-6) ku kyselině α -linolenové (n-3) 3,3. Výsledky práce Goldberg et al. (2012) ukazují, že konopí používané v dietě slepic vedlo ke zvýšení obsahu n-3 polynenasycených mastných kyselin a intenzitě barvy vaječných žloutků a nemělo nepříznivý účinek na sensorický profil vařených vajec. Jak uvedli Neijat et al. (2014), dávka konopného semínka 10 % a konopného oleje 4,5 % v krmivu slepic je dobře snášena, je bezpečná a účinná. Doplněk konopných výlisků ve stravě slepic až do koncentrace 10 % obohatil vaječné žloutky polynenasycenými mastnými kyselinami, bez negativního vlivu na snášku slepic (Hale a Schone, 2013).

Nevýhodou je, že polynenasycené mastné kyseliny snadněji podléhají oxidaci než nasycené, a proto je důležité, aby byl zvířatům do krmné směsi dodáván současně i nějaký antioxidant, který sníží oxidaci mastných kyselin jak v krmivu, tak i v samotném produktu. V případě konopného semínka je výhodné, že je přirozeným zdrojem vitamínu E, který vykazuje antioxidační vlastnosti a není tudíž nutné krmnou směs obsahující konopné semínko nadměrně dotovat tímto vitamínem.

3. Lněné semínko

Pro potřebné zúžení poměru obou tříd mastných kyselin (n-6/n-3) v krmné směsi připadá v úvahu z rostlinných zdrojů hlavně lněné semínko (*Linum usitatissimum* L.), které má vysoký obsah α -linolenové kyseliny a je vhodné pro obohacení vajec a masa o n-3 polynenasycené mastné kyseliny. Lněné semínko obsahuje 35–45 % oleje, z toho 45–52 % je α -linolenová kyselina (Bhatty, 1995), která je prekurzorem dalších dvou n-3 mastných kyselin, kyseliny eikosapentaenové a dokosahexaenové kyseliny (Lisiak et al., 2013). Antinutriční faktory lnu však mohou snížit užitkovost drůbeže. Koncentraci antinutričních látek v lněných semenech lze výrazně snížit extruzí (Anjum et al., 2013).

S ohledem na zdraví lidí, n-3 mastné kyseliny snižují riziko srdečních chorob, osteoporózy, revmatoidní artritidy, autoimunitních poruch nebo rakoviny (Connor, 2000). Proto podle doporučení Světové zdravotnické organizace by měl být poměr polynenasycených mastných kyselin n-6/n-3 4–5 nebo méně. Zahrnutí lněného semene v dietě drůbeže významně zvyšuje zastoupení α -linolenové kyseliny ve vaječném žloutku a mase, ale vyšší obsah nenasycených mastných kyselin vede k vyšší náchylnosti k oxidaci, proto je nezbytné zajištění dostatečné dávky antioxidantů, např. vitamínu E, v krmné směsi. A přirozeným zdrojem tokoferolů je právě konopné semínko.

4. Kvalita kostí nosnic

Kvalita kostí slepic je v produkčních chovech slepic jedním z faktorů, které ovlivňují ekonomiku chovu. Vysoký výskyt zlomenin pozorovaný u slepic během produkčního období, při výměně hejna a transportu svědčí o osteoporóze u slepic jako běžném jevu. Osteoporóza je charakterizována progresivní ztrátou mineralizace strukturálních kostí skeletu, jejich křehkostí a zvýšené náchylnosti ke zlomeninám. Při velkém poklesu pevnosti strukturálních kostí dochází ke spontánním zlomeninám včetně zlomenin páteře a k úhynu. Prodloužený snáškový cyklus omezuje možnost regenerace kostí a zvyšuje výskyt zlomenin. Ve všech halových systémech chovu, od klecí, voliér až po podestýlku, dochází k poměrně častým zlomeninám hrudní kosti. Kromě výživy na to má vliv genotyp a způsob ustájení.

Z nedávno realizované studie (Stratmann et al., 2015) je zřejmé, že výskyt zlomenin hrudních kostí je vyšší ve voliérách oproti obohaceným klecím, a to v rozsahu 56-96 % vs. 23-30 %. Riziko fraktur snižuje adaptace na voliérový systém. Hodně záleží na konstrukci baterie tzv. otevřených voliérových klecí. Rovný vertikální okraj klecí vede k vyššímu výskytu zlomenin

proti kaskádově posunutým patřům baterie. U portálového systému byl o 13 % nižší výskyt zlomenin hrudní kosti než u tradičního rovného systému. Literatura uvádí, že výskyt zlomenin snižuje rampa na vrcholu voliéroových klecí v úhlu pod 40°. Důležité jsou hřady, které však na druhé straně vytvářejí zvýšený tlak na hrudní kost a deformace hřebene hrudní kosti. Z tohoto hlediska jsou nevýhodné kovové hřady proti dřevěným. Dřevěné hřady ale zase umožňují úkryt vývojovým stádiím čmelíků. Lepším řešením jsou hřady z umělé hmoty nebo kovové potažené umělou hmotou. Bílí hybridy jsou méně náchylní ke zlomeninám kostí než hnědí hybridy. Bílí hybridy jsou lehčí a snáze létají. Hnědí hybridy mají více zlomenin hrudní kosti. Úspěšná je genetická selekce na pevnost kostí. Linie selektované na vyšší pevnost mají méně zlomenin. Zlomeniny představují velký problém z hlediska welfare a jsou způsobeny pády a kolizemi mezi slepicemi. Kromě bolestivosti pro slepice způsobují zlomeniny zvýšený úhyn a nižší snášku.

V České republice je povolen chov slepic v obohacených klecích jen do roku 2027. Pravděpodobnou náhradou v současné době velmi používaného systému ustájení – obohacených klecí bude voliéroový, podestýlkový nebo výběhový chov. Slepice zde mají možnost volného pohybu, a tak dochází k většímu výskytu zlomenin a zároveň je tím ovlivněna pohoda zvířat. Sledování ve 47 hejnech ustájených v různých voliéroových systémech v Belgii a v Holandsku ukázalo, že zlomeniny se běžně vyskytují v polovině hřebene hrudní kosti a byly zjištěny u více než poloviny vyšetřovaných slepic (Van Doorn, 2018).

Jedním ze způsobů, jak zvýšit kvalitu kostí, může být přídavek konopného semínka do krmné směsi. Pozitivní účinek extraktů *Cannabis sativa* na morfolonii a růst mezenchymálních kmenových buněk kostní dřeni u potkanů popsal Sazmand et al. (2018). Významný vliv konopného semínka na zvýšení pevnosti kostí u nosnic (Skřivan et al., 2019) i brojlerových kuřat (Skřivan et al., 2020) je zřejmý ze studií realizovaných ve Výzkumném ústavu živočišné výroby, v.v.i.

5. Pokusná odzkoušení účinků konopného a lněného semínka v krmných směsích pro nosnice a kuřata

Na základě uvedených charakteristik konopného a lněného semínka a předpokladu jejich vzájemného spolupůsobení byly ve VÚŽV navrženy a odzkoušeny krmné směsi, které tyto komponenty obsahovaly.

5.1. Přínosy konopného semínka v krmných směsích pro nosnice

V prvním pokusu byly porovnávány různé hladiny konopného semínka v krmivu pro slepice, a to 0, 30, 60 a 90 g/kg (Tabulka 1). Krmná směs obohacená o konopné semínko v koncentraci 30 g/kg významně ($P < 0,001$) zvýšila snášku i produkci vaječné hmoty (Tabulka 1). Dále zkrmování konopného semínka zvýšilo hmotnost vajec ($P < 0,001$). Přítomnost konopného semínka v krmivu nijak neovlivnila jeho příjem. Limitujícím faktorem pro použití konopného semínka ve výživě je vyšší množství vlákniny. Nicméně přidání 30 % konopného semínka nebo 9 % konopného oleje do krmiva nemělo žádné nepříznivé účinky na užitkovost nebo kvalitu vajec (Neijat et al., 2014). Halle a Schone (2013) zkoumali účinky zkrmování konopných pokrutin (5, 10 a 15 %) a došli k závěru, že krmivo s až 10 % pokrutin neovlivňuje negativně užitkovost slepic. Obdobné výsledky jsou patrné i po testování 10, 20 a 30 % konopného semene v krmivu (Neijat et al., 2014).

Tabulka 1. Ukazatele užitkovosti nosnic (Skřivan et al., 2019).

Konopné semínko (g/kg)	0	30	60	90	SEM	Průkaznost
Intenzita snášky (%)	88,7 ^b	93,6 ^a	86,4 ^b	89,3 ^{ab}	0,59	<0,001
Hmotnost vejce (g)	63,6 ^c	64,6 ^{ab}	65,0 ^a	64,4 ^b	0,07	<0,001
Produkce vaječné hmoty (g/den/slepice)	56,4 ^b	60,5 ^a	56,1 ^b	57,5 ^b	0,39	<0,001
Spotřeba krmiva (g/den/slepice)	127,4 ^{ab}	132,3 ^a	125,3 ^b	124,3 ^b	0,75	0,001
Spotřeba krmiva (g/vejce)	144,4	141,6	145,2	140,1	1,08	NS
Konverze krmiva (g/g)	2,27	2,19	2,24	2,17	0,016	NS
Úhyn (%)	0	0	0	0		

^{a-c}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru.

Fyzikální ukazatele kvality vajec jsou uvedeny v Tabulce 2. Ačkoliv konopné semínko neovlivnilo koncentrace karotenoidů ve vaječných žloutcích, vliv na barvu vaječného žloutku byl významný. Konopné semínko (30 g/kg) zvýšilo hodnotu červenosti vaječného žloutku, zatímco dávka 90 g/kg konopného semínka měla opačný účinek ($P < 0,001$). Hodnota žlutosti vaječného žloutku se zvýšila ($P < 0,001$) s doplňkem 30 a 60 g/kg konopného semínka. Číselné hodnoty se blíží zjištěním Goldberg et al. (2012), kteří pozorovali podobné účinky konopného semínka na žlutost a červenost při použití vyšších koncentrací konopného semínka. Přes výše uvedené změny zůstala barva vaječného žloutku měřená dle stupnice DSM na spíše nízkých hodnotách. Komerční výstup tohoto zjištění je tedy marginální. Na rozdíl od studie Halle a Schone (2013) nebyl nepozorován vyšší podíl vaječného bílku při suplementaci konopným

semínkem. Nejvyšší koncentrace konopného semínka snížila ($P = 0,036$) tloušťku vaječné skořápky bez nepříznivého vlivu na její pevnost. Přídavek konopného semínka do diety nosnic snížil ($P < 0,001$) obsah cholesterolu ve vaječných žloutcích.

Tabulka 2. Fyzikální ukazatele kvality vajec a obsah cholesterolu ve žloutcích (Skřivan et al., 2019).

Konopné semínko (g/kg)	0	30	60	90	SEM	Průkaznost
Haughovy jednotky	80,7	80,1	81,8	81,6	0,38	NS
Podíl bílku (%)	63,5	63,3	63,6	63,5	0,12	NS
Podíl žloutku (%)	26,2	26,4	26,2	26,3	0,11	NS
Podíl skořápky (%)	10,3	10,2	10,2	10,1	0,04	NS
Tloušťka skořápky (μm)	363 ^a	357 ^{ab}	357 ^{ab}	350 ^b	1,5	0,036
Pevnost skořápky (g/cm^2)	4195	4128	4126	4377	42,3	NS
Index skořápky ($\text{g}/100 \text{ cm}^2$)	8,81	8,73	8,79	8,69	0,03	NS
Barva žloutku						
DSM	3,76 ^b	3,86 ^b	4,06 ^a	3,81 ^b	0,035	0,022
Červenost (a^*)	2,09 ^b	2,42 ^a	2,27 ^{ab}	1,60 ^c	0,059	<0,001
Žlutost (b^*)	40,2 ^b	41,7 ^a	41,8 ^a	39,1 ^b	0,21	<0,001
Cholesterol (g/kg)	12,2 ^a	10,8 ^b	10,7 ^b	10,6 ^b	0,17	<0,001

^{a-c}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru.

Vaječné žloutky jsou cenným zdrojem α -tokoferolu. Množství γ -tokoferolu ve vaječném žloutku se však blíží nule (Guinazi et al., 2009). Se zvyšující se koncentrací konopného semínka se odpovídajícím způsobem zvýšilo množství α -tokoferolu, β -karotenu, luteinu a zeaxantinu v krmivu (Tabulka 3). Množství γ -tokoferolu v konopném semínku je téměř dvacetkrát vyšší než množství α -tokoferolu, což se odpovídajícím způsobem odrazilo v krmné směsi. V kontrolní dietě bez přidaného konopného semínka byl obsah α -tokoferolu vyšší než obsah γ -tokoferolu, což bylo pozorováno také v krmivu obohaceném o 30 g/kg konopného semínka. Když bylo přidáno 60 g/kg konopného semínka, byly oba tokoferoly přítomny téměř stejně a v případě koncentrace 90 g/kg byl γ -tokoferol přítomen ve vyšší koncentraci ve srovnání s α -tokoferolem. V doplňku vitaminů a minerálů do krmné směsi nebyl žádný vitamin E. Tokoferoly v krmivu pocházely výhradně ze složek krmiva a převážně z tukových složek. Podle analýzy řepkový olej obsahuje 217 mg/kg α -tokoferolu a 286 mg/kg γ -tokoferolu. Proto přítomnost γ -tokoferolu a jeho koncentrace ve vaječných žloutcích souvisí s přítomností rostlinných olejů v krmné směsi, což byl v našem případě převážně konopný a řepkový olej. Vejce slepic krmných kontrolní krmnou směsí obsahovala hlavně α -tokoferol v množství 83 mg/kg sušiny; množství

γ -tokoferolu bylo 11,3 mg/kg sušiny (Tabulka 3). Poměr mezi dvěma tokoferoly byl 7,35. S nárůstem konopného semínka v krmivu se poměr snížil z 3,2 na 2,6 a na 2. Zvýšená spotřeba γ -tokoferolu u nosnic odpovídala zvýšenému množství obou tokoferolů ve vaječných žloutcích. Mezi skupinami byl významný rozdíl v koncentracích α - a γ -tokoferolu ($P = 0,002$ a $P < 0,001$). Podobné výsledky pozorovali Jiang et al. (2001) v krvi. Ve zde uvedeném experimentu byla koncentrace γ -tokoferolu v konopném semenu 21,2 mg/100 g, což je v souladu s průměrnou koncentrací γ -tokoferolu 21,7 mg/100 g, jak stanovil Kriese et al. (2004) u 51 genotypů. Konopné semínko nemělo prokazatelný vliv na obsah β -karotenu, luteinu a zeaxantinu ve vaječných žloutcích.

Tabulka 3. Obsah vitaminů a karotenoidů v krmivu, konopném semínku a vaječných žloutcích (Skřivan et al., 2019).

Krmná směs a konopné semínko						
Konopné semínko (g/kg)	0	30	60	90	Konopné semínko	
α -Tokoferol (mg/kg)	14,1	18,8	17,6	20,3	11,7	
γ -Tokoferol (mg/kg)	8,8	15,0	17,6	25,2	211,7	
β -Carotene (mg/kg)	0,028	0,054	0,058	0,063	0,299	
Lutein (mg/kg)	0,89	1,03	1,38	1,43	7,61	
Zeaxantin (mg/kg)	0,52	0,65	0,88	0,92	3,99	
Vaječné žloutky						
Konopné semínko (g/kg)	0	30	60	90	SEM	Průkaznost
α -Tokoferol (mg/kg DM)	82,9 ^b	94,0 ^{ab}	101,0 ^a	86,0 ^b	2,01	0,002
γ -Tokoferol (mg/kg DM)	11,3 ^c	29,0 ^b	38,6 ^a	43,3 ^a	2,32	<0,001
β -Karoten (mg/kg DM)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01		NS
Lutein (mg/kg DM)	7,39	7,32	7,64	6,93	0,129	NS
Zeaxantin (mg/kg DM)	3,57	3,48	3,57	3,32	0,063	NS

^{a-c}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru; DM = sušina.

V intenzivních chovech drůbeže je pevnost kostí nepochybně jedním z hlavních problémů, který je třeba řešit. Vysoký výskyt zlomenin kostí je pozorován u slepic po celou dobu produkčního období a během vyskladnění či transportu (Gregory a Wilkins, 1989; Budgell a Silversides, 2004). Pevnost holenních kostí byla významně zvýšena ($P < 0,001$) všemi koncentracemi konopného semínka v dietě, bez rozdílu mezi experimentálními konopnými skupinami (Tabulka 4). Pozitivní vliv konopného semene na pevnost kosti holenní je v souladu

s výsledky z humánní medicíny (Gabet, 2017) a experimentů na potkanech (Sazmand et al., 2018). Extrakt z *Cannabis sativa* měl kladný účinek na morfologii kostní struktury a růst mezenchymálních kmenových kostních buněk (Sazmand et al., 2018). Podobné způsoby účinku lze předpokládat také u drůbeže. Vyšší síla holenní kosti ve zde uváděném experimentu je v souladu s vyšší koncentrací vápníku ve skupinách krmených dietou obohacenou o konopné semeno. Devět procent konopného semínka zvýšilo koncentraci vápníku ($P = 0,021$) ve srovnání s kontrolou, zatímco množství fosforu se snížilo s přidáním 60 a 90 g/kg konopného semínka. Množství hořčíku nebylo ovlivněno experimentální dietou.

Tabulka 4. Pevnost a obsah minerálních látek v holenní kosti slepic (Skřivan et al., 2019).

Konopné semínko (g/kg)	0	30	60	90	SEM	Průkaznost
Pevnost holenní kosti (N)	297 ^b	354 ^a	352 ^a	350 ^a	10,7	<0,001
Vápník v holenní kosti (g/kg DM)	170,8 ^b	179,2 ^{ab}	185,4 ^{ab}	189,6 ^a	4,20	0,021
Fosfor v holenní kosti (g/kg DM)	158,7 ^a	150,5 ^{ab}	148,0 ^b	146,1 ^b	2,05	0,001
Hořčík v holenní kosti (g/kg DM)	3,01	3,20	3,15	3,12	0,108	NS

^{a-b}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru; DM = sušina.

Zkrmování konopného semínka zvýšilo obsah α -tokoferolu i γ -tokoferolu ve žloutku a pevnost holenní kosti a snížilo obsah cholesterolu ve žloutku. Z hlediska užítkovosti a kvality kostí slepic je nejvhodnější dávkování 3 % konopného semínka v krmné směsi. Zjištění týkající se zvýšení pevnosti holenní kosti následkem zkrmování směsi obohacené o konopné semínko je unikátní, a ještě nikde jinde nebylo zveřejněno. Výsledky byly publikovány v zahraničním vědeckém časopise PLOS One (Skřivan et al., 2019).

5.2. Kombinace konopného a lněného semínka v krmných směsích pro nosnice

V dalším pokusu (Tabulka 5) se slepicemi byly pozitivní účinky konopného semínka podpořeny zvýšením zastoupení n-3 mastných kyselin pomocí přídatku lněného semínka do krmné směsi pro slepice. Lněné semínko z potravinářských odrůd lnu má totiž vysoký obsah kyseliny α -linolenové a jeho poměr n-6/n-3 polynenasycených mastných kyselin je nižší než 1. V kombinaci s konopným semínkem sníží poměr uvedených mastných kyselin v krmné směsi pro slepice a tím i ve vejcích proti samotnému konopí. Byly testovány samotné přídatky konopného (40 g/kg) a lněného (60 g/kg) semínka a jejich kombinace. Krmná směs obsahující současně konopné a lněné semínko zvýšila užítkovost slepic i kvalitu vajec proti samotnému lněnému semínku nebo konopnému semínku, a zvláště oproti kontrolní krmné směsi. Kombinace

konopného a lněného semínka zvýšila hmotnost vajec o 2 %. Ve vaječném žloutku byla 5,8krát vyšší koncentrace kyseliny eikosapentaenové, více než 2krát vyšší koncentrace kyseliny dokosahexaenové, 1,8krát vyšší koncentrace γ -tokoferolu a téměř 5krát vyšší koncentrace karotenoidů luteinu a zeaxantinu. Poměr prozánětlivých mastných kyselin n-6 k protizánětlivým mastným kyselinám n-3 klesl z 5,3 na 2,7, což je žádoucí z hlediska zdraví lidí. Rovněž u obsahu cholesterolu došlo k významnému ($P = 0,013$) snížení z 13,7 na 11,4 g/kg u skupiny s konopným a lněným semínkem v krmivu.

Tabulka 5. Vliv konopného a lněného semínka v krmivu pro slepice na užitkovost a kvalitu vajec (Skřivan et al., 2021).

Konopné semínko (KS, g/kg)	0	40	0	40	SEM	Průkaznost		
Lněné semínko (LS, g/kg)	0	0	60	60		KS	LS	KS*LS
Intenzita snášky (%)	98,2	98,2	98,1	97,8	0,19	NS	NS	NS
Hmotnost vajec (g)	58,0 ^b	58,3 ^b	57,7 ^b	59,1 ^a	0,27	NS	NS	0,040
Konverze krmiva (kg/kg)	2,12 ^a	2,07 ^b	2,08 ^b	2,09 ^b	0,011	NS	NS	0,048
Žloutek								
EPA (mg/100 g)	6,42 ^d	11,79 ^c	25,00 ^b	37,10 ^a	2,240	<0,001	<0,001	0,021
DHA (mg/100 g)	395 ^c	425 ^c	534 ^b	817 ^a	31,4	<0,001	<0,001	<0,001
n-6/n-3 PUFA	5,26 ^a	5,33 ^a	2,30 ^c	2,72 ^b	0,256	0,015	<0,001	NS
Cholesterol (g/kg)	13,7 ^a	13,2 ^a	13,5 ^a	11,4 ^b	0,21	<0,001	0,002	0,013
α -Tokoferol (mg/kg DM)	175	177	170	174	4,1	NS	NS	NS
γ -Tokoferol (mg/kg DM)	25,1 ^c	38,6 ^b	23,8 ^c	45,2 ^a	1,87	<0,001	0,002	<0,001
Karotenoidy ¹ (mg/kg DM)	4,16 ^d	16,35 ^b	13,10 ^c	21,72 ^a	1,56	<0,001	<0,001	<0,001

^{a-d}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru; NS = neprůkazný; EPA = eikosapentaenová mastná kyselina, DHA = dokosahexaenová mastná kyselina, PUFA = polynenasycené mastné kyseliny; DM = sušina; ¹Lutein a zeaxantin.

Krmná směs pro slepice s konopným a lněným semínkem zvyšuje hmotnost vajec a obsah živin ve vejcích a snižuje konverzi krmiva. Na základě těchto výsledků bylo v roce 2021 Úřadem průmyslového vlastnictví ČR vystaveno osvědčení na užitiný vzor (č. 34942) chránící složení krmné směsi pro slepice s přidavkem konopného a lněného semínka (Skřivan et al., 2021). S firmou HEMP Solution, s.r.o. byla uzavřena licenční smlouva. Předmětem smlouvy bylo poskytnutí nevýlučného práva k využívání užitiného vzoru, který se týká krmné směsi pro slepice obsahující konopné a lněné semínko v ověřeném procentuálním zastoupení. Výzkumný ústav, v.v.i. má i nadále právo využívat a poskytovat užitiný vzor dalším zájemcům, především výrobcům krmných směsí. Funkční vzorek krmné směsi byl oceněn Zlatou medailí na veletrhu ANIMAL TECH 2023.

5.3. Význam konopného a lněného semínka v krmných směsích pro kuřata

Obdobný pokus se semínky byl odzkoušen i na brojlerových kuřatech. Byly použity různé kombinace extrudovaného lněného (0 a 60 g/kg) a konopného semínka (0, 30, 40 a 50 g/kg). Výsledky publikovaných pokusů s konopným semínkem v krmivu u drůbeže uvádějí jeho pozitivní vliv na užitkovost a kvalitu produktů (Khan et al., 2010; Eriksson a Wall, 2012; Goldberg et al., 2012; Neijat et al., 2014; Mahmoudi et al., 2015). Použité hladiny konopného semínka v pokusech realizovaných těmito autory byly často vyšší než 20 %. Vysoký obsah vlákniny v konopném semínku, až 30 %, se nejeví jako překážka pro jeho použití, i když je známo, že nadměrné množství vlákniny v dietě snižuje stravitelnost živin. Na rozdíl od většiny publikovaných dat bylo množství konopného semínka v krmivu v našem experimentu nízké, ale účinné. Všechny dietní kombinace konopného a lněného semínka zvýšily ($P < 0,001$) živou hmotnost kuřat (2375–2493 g) více než samotné konopné (2174 g) nebo lněné semínko (2254 g; Tabulka 6). Obdobně tomu bylo i u příjmu krmiva ($P < 0,05$). Konverze krmiva a mortalita nebyly dietou ovlivněny. Překročení dávky konopného semínka 30 g/kg vedlo v jiné studii ke snížení užitkovosti slepic (Skřivan et al., 2019). V souladu s tím bylo v tomto pokusu s brojlerovými kuřaty dosaženo nejlepších výsledků s 40 g/kg konopného semínka v dietní kombinaci s 60 g/kg lněného semínka. Limitujícím faktorem pro použití konopného semínka v dietě jsou antinutriční látky, zejména polyfenoly a fytáty (Galasso et al., 2016). Větší negativní účinek antinutričních látek je popisován u lněného semínka než u konopného semínka. Už dříve bylo prokázáno, že 5 % lněného semínka snížilo užitkovost kuřat (Mridula et al., 2015). Snížení růstu brojlerů po zkrmování směsí obsahujících lněné semínko může být způsobeno přítomností slizu, kyanogenních glykosidů, alergenů a antagonistů vitamínu B6 (Bond et al., 1997). Naproti tomu extrudované lněné semínko použité ve zde prezentovaném pokusu zvýšilo živou hmotnost kuřat ve 35. dni věku ve srovnání s kontrolou bez lněného a konopného semínka.

Tabulka 6. Ukazatele užitkovosti (Skřivan et al., 2020).

Konopné semínko (g/kg)	0	0	40	30	40	50	SEM	Průkaznost
Lněné semínko (g/kg)	0	60	0	60	60	60		
Živá hmotnost (1. den, g)	43,2	43,3	43,3	43,4	43,2	43,3	0,10	NS
Živá hmotnost (14. den, g)	418 ^c	400 ^d	427 ^c	495 ^{ab}	511 ^a	491 ^b	10,9	<0,001
Živá hmotnost (35. den, g)	2145 ^d	2254 ^c	2174 ^{cd}	2417 ^{ab}	2493 ^a	2375 ^b	31,7	<0,001
Spotřeba krmiva (g/den)	89,5 ^b	94,5 ^b	91,0 ^b	100,6 ^a	102,5 ^a	100,2 ^a	2,30	<0,05
Konverze krmiva (kg/kg)	1,52	1,51	1,50	1,50	1,51	1,51	0,030	NS
Úhyn (%)	3	2	1	2	2	2	0,4	NS

^{a-d}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru; NS = neprůkazný.

Konopné semínko obsahuje vysoké hladiny γ -tokoferolu, který byl donedávna v lidské výživě opomíjen (Crescento et al., 2018). Konopné a lněné semínko nezvýšily koncentraci α -tokoferolu v krmných směsích. Krmné směsi obsahovaly více γ -tokoferolu po přidavku konopného semínka. Obsah obou tokoferolů v prsním svalstvu nebyl ovlivněn zařazením konopného a/nebo lněného semínka do krmiva. Zatímco koncentrace α -tokoferolu ($P=0,017$) a γ -tokoferolu ($P=0,028$) v játrech byly vyšší u skupin s vyšším zastoupením konopného semínka v dietě (40 a 50 g/kg) spolu se lněným semínkem (60 g/kg; Tabulka 5). To znamená, že vyšší příjem γ -tokoferolu kuřaty díky konopnému semínku pozitivně ovlivnil nejen obsah γ -tokoferolu, ale i α -tokoferolu v játrech. Stejný vztah mezi dvěma tokoferoly v lidské krvi prezentoval Jiang et al. (2001). Vysoké dávky α -tokoferolu snižovaly plazmatický γ -tokoferol, zatímco suplementace γ -tokoferolem oba tokoferoly zvyšovala. Ve srovnání s vaječným žloutkem je svalstvo kuřat, zejména prsní, nedostatečným zdrojem vitamínu E. Přestože mezi obsahem vitamínu E a obsahem tuku existuje úzký vztah, rozdíly v obsahu vitamínu E mezi tkáněmi a orgány jsou připisovány jeho geneticky podmíněné kontrole u různých druhů drůbeže, orgánů a produktů. Ve vaječném žloutku je 30 % tuku, zatímco obsah tuku ve vzorcích jater zkoumaných v této studii byl 6,5 % a v prsní svalovině 1 %.

Tabulka 7. Koncentrace α -tokoferolu a γ -tokoferolu v krmné směsi, prsní svalovině a játrech (mg/kg) (Skřivan et al., 2020).

Konopné semínko (g/kg)	0	0	40	30	40	50	SEM	Průkaznost
Lněné semínko (g/kg)	0	60	0	60	60	60		
Krmná směs								
α -Tokoferol	55,5	52,0	54,5	53,4	53,9	53,1		
γ -Tokoferol	15,8	15,1	21,5	18,6	18,7	19,0		
Prsní svalstvo								
α -Tokoferol	3,85	3,51	3,68	4,06	3,66	3,90	0,146	NS
γ -Tokoferol	0,29	0,31	0,41	0,39	0,37	0,41	0,016	NS
Játra								
α -Tokoferol	15,0 ^{abc}	12,6 ^{bc}	10,0 ^c	16,0 ^{ab}	18,6 ^a	19,6 ^a	0,99	0,017
γ -Tokoferol	1,01 ^{ab}	0,77 ^b	0,75 ^b	0,87 ^b	1,10 ^{ab}	1,31 ^a	0,061	0,028

^{a-c}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru.

Nejvyšší obsah n-3 polynenasycených mastných kyselin v prsním svalstvu ($P = 0,011$, Tabulka 8), a tudíž i nejnižší poměr n-6/n-3 polynenasycených mastných kyselin ($P < 0,001$) byl zaznamenán u kuřat krmených směsí s 60 g/kg lněného semínka a 40 g/kg konopného semínka. Obsah n-3 polynenasycených mastných kyselin byl u této skupiny o 57 % vyšší oproti kontrole. Poměr prozánětlivých mastných kyselin n-6 k protizánětlivým mastným kyselinám n-3 se snížil z 3,11 na 1,75. Nebyl pozorován žádný významný vliv diety na obsah n-6 polynenasycených mastných kyselin. Toto zjištění je v souladu se zjištěním Skiba et al. (2015), kteří uvedli, že účinnost ukládání byla vyšší pro n-3 než pro n-6 mastné kyseliny. Jak uvádí Brenner (1974), delta-6-desaturáza hraje klíčovou roli v biosyntéze polynenasycených mastných kyselin. Lze předpokládat, že vliv lněného semínka na vyšší produkci n-3 polynenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem byl způsoben vyšší aktivitou delta-5- a delta-6-desaturáz a elongáz, jak popisuje Garg et al. (1988).

Tabulka 8. Profil mastných kyselin v prsním svalstvu kuřat (mg/100 g) (Skřivan et al., 2020).

Konopné semínko (g/kg)	0	0	40	30	40	50	SEM	Průkaznost
Lněné semínko (g/kg)	0	60	0	60	60	60		
SFA	381	309	386	353	302	353	14,6	NS
MUFA	538 ^a	318 ^{cd}	446 ^{ab}	426 ^{abc}	273 ^d	382 ^{bcd}	25,5	0,011
PUFA	365	324	413	392	385	365	15,3	NS
n-3	88,7 ^c	106,2 ^{bc}	93,4 ^{bc}	108,8 ^{bc}	139,3 ^a	113,4 ^{ab}	5,80	0,011
n-6	275	217	318	281	244	250	12,3	NS
n-6/n-3	3,11 ^b	2,03 ^d	3,41 ^a	2,58 ^c	1,75 ^e	2,21 ^d	0,144	<0,001

^{a-b}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru; NS = neprůkazný; SFA = nasycené mastné kyseliny; MUFA = mononenasycené mastné kyseliny; PUFA = polynenasycené mastné kyseliny.

Samotné konopné semínko (346,3 N) a kombinace konopného semínka se lněným semínkem (40 g/kg s 60 g/kg (359,2 N) nebo 50 g/kg s 60 g/kg (358,3 N)) pozitivně ovlivnila pevnost kostí kuřat ($P < 0,001$) ve srovnání s kontrolní skupinou (297,3 N; Tabulka 9). Zmíněné tři krmné směsi tak zvýšily pevnost holenní kosti o 16 %, respektive 21 %, což může vést ke snížení výskytu zlomenin. Rostoucí trend, ač statisticky nevýznamný, byl zjištěn u těchto skupin s konopným semínkem u obsahu hořčíku v holenní kosti. V případě obsahu popela, vápníku, a fosforu v holenních kostech rovněž nebyly zaznamenány signifikantní rozdíly. U všech pokusných skupin byla zjištěna nižší úroveň deformace holenní kosti ($P < 0,001$) oproti kontrole. Toto zjištění potvrdilo pozitivní vliv konopného semínka v krmivu pro brojlerů na kvalitu holenní kosti, který byl původně zaznamenán u slepic (Skřivan et al., 2019). Zvýšená pevnost kostí má značný praktický význam, protože zlomeniny jsou běžné ve všech halových systémech chovu drůbeže. Impuls pro měření pevnosti holenní kosti byl odvozen z několika nedávno publikovaných studií v oblasti humánní medicíny a experimentů na potkanech v souvislosti s kostním metabolismem (Gabet, 2017; Sazmand et al., 2018).

Tabulka 9. Pevnost a obsah minerálních látek v holenní kosti kuřat (Skřivan et al., 2020).

Konopné semínko (g/kg)	0	0	40	30	40	50	SEM	Průkaznost
Lněné semínko (g/kg)	0	60	0	60	60	60		
Pevnost (N)	297,3 ^b	304,6 ^{ab}	346,3 ^a	339,0 ^{ab}	359,2 ^a	358,3 ^a	8,62	<0,001
Deformace (mm)	6,32 ^a	5,40 ^b	5,36 ^b	5,50 ^b	5,24 ^b	5,50 ^b	0,17	<0,001
Popel (g/kg)	486,4	481,7	478,6	472,9	485,8	469,1	2,15	NS
Vápník (g/kg popelu)	375	369	377	363	364	369	2,1	NS
Fosfor (g/kg popelu)	178	179	179	177	178	177	0,5	NS
Hořčík (g/kg popelu)	8,62	8,76	8,91	8,75	9,00	9,32	0,093	NS

^{a-b}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru; NS = neprůkazný.

Pro výkrm kuřat je vhodné zařadit do krmné směsi 40 g/kg konopného semínka spolu s 60 g/kg lněného semínka. Tato kombinace zajistí zvýšení živé hmotnosti kuřat na konci výkrmu, obsahu γ -tokoferolu a n-3 polynenasycených mastných kyselin v prsním svalstvu a pevnosti holenní kosti kuřat a snížení poměru n-6/n-3 polynenasycených mastných kyselin v mase. Zkrmování této krmné směsi tak vede nejen ke zlepšení užitkovosti a kvality kostí, což naznačuje zvýšení životních podmínek chovu, ale i ke zvýšení ukládání látek důležitých z hlediska zdraví lidí i zvířat a prodloužení trvanlivosti produktů. Výsledky byly uveřejněny v zahraničním vědeckém časopise *Animals* (Skřivan et al., 2020). Krmná směs pro kuřata s konopným a lněným semínkem je právně chráněna užitným vzorem č. č. 36290. S firmou HEMP Solution, s.r.o. byla uzavřena licenční smlouva k využívání užitného vzoru. Funkční vzorek krmné směsi získal ocenění v soutěži Zlatý klas 2022 na mezinárodním agrosalonu Země živitelka v kategorii „živočišná výroba“, kterou každoročně vyhlašuje Ministerstvo zemědělství ČR.

5.4. Vliv konopného a lněného semínka na enzymatickou aktivitu trávicího traktu kuřat

Lněné a konopné semínko jsou komponenty krmných směsí a významné zdroje živin a jejich přídavek do krmiva by mohl změnit enzymatickou aktivitu v trávicím traktu a zlepšit tak příjem živin. Aktivita enzymů v trávicím traktu je důležitým parametrem pro správnou funkci trávicího traktu. Cílem pokusu bylo zjistit účinky extrudovaného lněného semínka, konopného semínka a kombinace obou semínek na užitkovost kuřat, stravitelnost vybraných živin a aktivitu základních enzymů ze skupiny polysacharidáz (amyláza, celulóza, pektináza, xylanáza a inulináza) a disacharidáz (maltáza, invertáza a laktáza) a proteáz a lipázy v trávicím traktu brojlerových kuřat. Během experimentu byla kontrolní skupina krmena dietou bez lněného nebo konopného semínka. Krmná směs druhé skupiny obsahovala 80 g/kg lněného semínka,

dieta třetí skupiny obsahovala 40 g/kg konopného semínka a krmivo čtvrté až šesté skupiny obsahovalo 80 a 30 g/kg, 80 a 40 g/kg a 80 a 50 g/kg lněného a konopného semínka.

Přidání samotného lněného a konopného semínka nebo v kombinaci významně ($P < 0,001$) zvýšilo živou hmotnost kuřat ve věku 35 dnů (Tabulka 10). Nejvyšší živá hmotnost kuřat byla zjištěna u skupiny se samotným konopným semínkem přidaným do krmiva (2827 g). Živá hmotnost těchto kuřat se nelišila od skupiny, které byla podávána směs obsahující kombinaci 80 g/kg lněného a 30 g/kg konopného semínka (2753 g). Kuřata z kontrolní skupiny měla pouze 2555 g. U všech pokusných skupin došlo ke zvýšení příjmu krmiva ($P = 0,036$) a poklesu konverze ($P = 0,041$) ve srovnání s kontrolní skupinou. Mimo to přídavek obou semínek, zejména pak konopného semínka, měl pozitivní vliv na ileální stravitelnost tuku ($P = 0,043$) a dusíkatých látek ($P = 0,038$) u kuřat. Tato zjištění jsou v souladu s výsledky Skřivan et al. (2020).

Zjištění týkající se stravitelnosti korespondují s výsledky užitkovosti. Synergický efekt lněného semínka s konopným semínkem na živou hmotnost je patrný z pokusu Skřivana et al. (2020). Pozitivní vliv lněného semínka na stravitelnost lze vysvětlit zlepšením zdravotního stavu střev u drůbeže, jak bylo uvedeno ve studii Popescu et al. (2021). Na druhou stranu ale Rodríguez et al. (2001) uvedli, že zařazení lněného semínka do krmné směsi brojlerů mělo negativní vliv na stravitelnost živin. Tento účinek byl pravděpodobně způsoben přítomností antinutričních látek ve lněném semínku, jednou z nich byl sliz, který způsobil významné zvýšení viskozity jejunální tráveniny. Dále Høøk Presto et al. (2011) prokázali vyšší stravitelnost tuků u prasat, kterým bylo podáváno krmivo s konopnými výlisky na rozdíl od lněných a řepkových výlisků. pH a teplota významně ovlivňují enzymatickou aktivitu. Vyšší pH v žaludku není optimální pro proteolytickou aktivitu. Vyšší hodnoty pH v žaludku však podporují aktivitu dalších enzymů. Podobný efekt byl pozorován v ileu, kde je pro aktivitu většiny enzymů optimální vyšší hodnota pH. Optimální rozsah pH v žaludku pro dobrou aktivitu proteolytických enzymů je 1,5-3,5 (ideální 2,5) (Tabata et al., 2017). Optimální pH je 6,4 v ileu a 6,6 ve slepém střevě (Mabelebele et al., 2014). Průměrné hodnoty pH pro všechny skupiny zde prezentovaného pokusu byly 4,21 v žaludku, 5,32 v ileu a 6,58 ve slepém střevě.

Tabulka 10. Ukazatele užítkovosti a ileální stravitelnost vybraných živin u kuřat (Taubner et al., 2023).

Lněné semínko (g/kg)	0	80	0	80	80	80	SEM	Průkaznost
Konopné semínko (g/kg)	0	0	40	30	40	50		
Živá hmotnost (35. den, g)	2555 ^c	2718 ^b	2827 ^a	2753 ^{ab}	2732 ^b	2721 ^b	11,7	<0,001
Konverze krmiva (kg/kg)	1,47 ^a	1,42 ^b	1,43 ^b	1,41 ^b	1,44 ^b	1,45 ^{ab}	0,028	0,041
Spotřeba krmiva (g/den/kus)	102,3 ^d	105,7 ^c	106,3 ^c	106,3 ^c	107,4 ^b	109,0 ^a	2,33	0,036
Ileální stravitelnost (%)								
Tuk	73,2 ^c	75,8 ^b	77,9 ^a	76,0 ^b	76,3 ^b	76,5 ^b	0,62	0,043
Dusíkaté látky	79,5 ^c	81,9 ^b	83,7 ^a	81,9 ^b	82,0 ^b	82,5 ^b	0,58	0,038

^{a-d}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru.

Výsledky uvedené v Tabulce 11 dokládají zvýšení enzymové aktivity v trávicím traktu kuřat po podání krmných směsí s přidavkem lněného a konopného semínka samostatně, ale zejména pak v jejich kombinaci. Škrob je obvykle plně využit ve výživě (Clavijo a Vives Flórez, 2018). Úspěšná přeměna pozrženého škrobu na glukózu je kriticky důležitá pro energetický stav (Cowieson et al., 2019). Pšeničný, kukuřičný a sójový šrot byly hlavními složkami krmné směsi pro brojlerů. Lze předpokládat, že hlavním zdrojem energie v tomto experimentu byl škrob. Nejvyšší aktivita amylázy a maltázy byla zaznamenána v ileální trávenině. V žaludku nebo slepém střevě nebyla detekována žádná aktivita amylázy. Zde uváděné výsledky jsou v souladu s výsledky Gracia et al. (2003), kteří detekovali pouze stopová množství amylázové aktivity ve slepém střevě a žádnou amylázovou aktivitu v žaludku, přičemž nejvyšší amylázová aktivita byla zjištěna v ileu. Nulová aktivita amylázy ve slepém střevě je překvapivá. Protože kukuřičný škrob je bohatý na amylózu, která je součástí rezistentního škrobu a přechází do slepých střev a tlustého střeva. Jejunum je považováno za hlavní místo trávení škrobu u kuřat (Gracia et al., 2003). Stanovení nejvyšší naměřené aktivity amylázy v ileu je v souladu s touto představou. Krmná směs s obsahem konopného semínka nebo v kombinaci se lněným semínkem může mírně podporovat aktivitu amylázy. Obsah škrobu v konopných semenech je menší než 2 % (Schultz et al., 2020). Obsah škrobu ve lněném semínku je 6 % (Filipovic et al., 2016). Pankreatická α -amyláza je hlavním enzymem zodpovědným za trávení škrobu u ptáků. Pro usnadnění vytěžení maxima energie z krmiva podávaného drůbeži je důležité zařadit komponenty s vysokým obsahem škrobu (pšenice a kukuřice).

Celulolytickou aktivitu vykazují v gastrointestinálním traktu pouze mikroorganismy (Kopečný a Bartoš, 1990). Podobně jako u amylázy byla aktivita celulázy nejvyšší v ileu u brojlerů, kterým bylo podáváno lněné i konopné semeno (80 g/kg a 50 g/kg). Diety obsahující konopné

semeno měly vyšší obsah hrubé vlákniny, což mohlo ovlivnit aktivitu celulózy (Smolová et al., 2019; Schultz et al., 2020). Hlavní přeměna polysacharidů, zahrnující pektinázy, xylanázy a inulinázy, proběhla v ileu. Vysokou aktivitu celulózy, pektinázy a xylanázy lze vysvětlit přítomností mikroorganismů v této koncové části trávicího traktu. Pankreatické šťávy také obsahují amylázu, která pokračuje ve štěpení škrobu a glykogenu na maltózu, což je disacharid. Disacharidy se maltázou štěpí na monosacharidy. Aktivity ostatních enzymů (invertáza a laktáza) jsou převážně výsledkem mikroorganismů trávicího traktu (Marounek et al., 1995). Aktivita enzymů štěpících disacharidy (maltáza, invertáza a laktáza) byla nejnižší v žaludku a byla významně vyšší v ileu a ve slepých střevěch. V případě maltázy byl příznivý účinek pozorován u krmných směsí obsahujících lněné semínko.

Protein je pro zvířata nezbytný jako zásoba aminokyselin. Proteázy jsou velmi důležité enzymy, které jsou zodpovědné za štěpení proteinů na peptidy a poté na aminokyseliny. Bílkoviny mají ve výživě drůbeže velký význam a patří mezi hlavní živiny. Proteolytická aktivita byla výrazná v ileu. Proteolytická aktivita byla přibližně desetkrát nižší v žaludku a ve slepém střevě. Štěpení proteinu bylo tedy nejvyšší v ileu (Antalis et al., 2007). Žaludek je pro tuto činnost také důležitý, protože v tomto segmentu začíná působení proteáz. Skupiny, které dostávaly samotné konopné a lněné semínko, ale i v kombinaci, vykazovaly zvýšenou proteolytickou aktivitu v ileu. Nejvyšší hodnota proteolytické aktivity byla naměřena u brojlerových kuřat krmných kombinací 80 g/kg lněného semene a 50 g/kg konopného semene.

Lipidy představují pro brojlery hlavní zdroj energie. Stravitelnost tuků a olejů závisí na chemických a fyzikálních vlastnostech mastných kyselin, které je tvoří. Trávení ovlivňuje mnoho faktorů (včetně zdroje a typu lipidů, složení potravy a stáří brojlerů) (Hu et al., 2018). Vyšší lipázová aktivita byla pozorována u skupin, které dostávaly diety obsahující lněné a konopné semínko, a hlavně kombinaci obou. Získaná data prokázala, že v trávicím traktu brojlerových kuřat jsou přítomny všechny hydrolázy nezbytné pro enzymatickou přeměnu komplexních živin na dostupné formy.

Tabulka 11. Distribuce aktivity enzymů na hmotnost tráveniny v jednotlivých segmentech gastrointestinálního traktu (Taubner et al., 2023).

Segment	Skupina	Lněné /konopné s. (g/kg)	Amyláza ¹	Celuláza ¹	Pektináza ¹	Xylanáza ¹	Inulináza ¹	Maltáza ²	Invertáza ²	Laktáza ²	Proteinázy ³	Lipáza ⁴
Žaludek	I	0/0	0,00 ^c	0,00 ^e	5,3 ^f	0,00 ^d	0,18 ⁱ	3,4 ^h	5,7 ^d	5,9 ^d	108 ^{ef}	0,18 ^g
	II	80/0	0,00 ^c	0,25 ^e	11,5 ^f	0,19 ^d	10 ^{hi}	6,9 ^{gh}	7,8 ^d	1,5 ^d	133 ^{ef}	0,34 ^g
	III	0/40	0,00 ^c	1,9 ^e	34 ^{ef}	8,7 ^d	44 ^{efghi}	16 ^{gh}	14 ^d	8,1 ^d	104 ^f	0,09 ^g
	IV	80/30	0,00 ^c	0,39 ^e	29 ^{ef}	5,1 ^d	17 ^{fghi}	3,3 ^h	2,0 ^d	0,00 ^d	72 ^f	0,05 ^g
	V	80/40	0,00 ^c	0,53 ^e	43 ^{def}	5,7 ^d	16 ^{ghi}	3,4 ^{gh}	4,1 ^d	0,68 ^d	75 ^f	0,04 ^g
	VI	80/50	0,00 ^c	0,00 ^e	126 ^{de}	13 ^d	75 ^{cdef}	14,9 ^{gh}	31 ^{cd}	3,0 ^d	169 ^{ef}	0,10 ^g
Ileum	I	0/0	494 ^b	550 ^d	526 ^c	452 ^c	274 ^a	476 ^c	683 ^a	396 ^a	2241 ^d	20 ^d
	II	80/0	460 ^b	627 ^{cd}	485 ^c	535 ^b	125 ^c	895 ^a	677 ^a	270 ^b	3146 ^c	33 ^c
	III	0/40	536 ^{ab}	755 ^{bc}	727 ^b	543 ^b	216 ^b	737 ^d	699 ^a	238 ^b	3309 ^c	40 ^{bc}
	IV	80/30	542 ^{ab}	828 ^b	928 ^a	587 ^b	242 ^{ab}	848 ^{ab}	726 ^a	391 ^a	3857 ^b	52 ^a
	V	80/40	546 ^{ab}	756 ^{bc}	763 ^b	514 ^{bc}	240 ^{ab}	682 ^d	707 ^a	378 ^a	3832 ^b	40 ^{bc}
	VI	80/50	791 ^a	109 ^a	873 ^a	685 ^a	190 ^b	807 ^{bc}	779 ^a	380 ^a	4463 ^a	46 ^{ab}
Slepé střevo	I	0/0	0,00 ^c	9,9 ^e	31 ^{ef}	25 ^d	60 ^{defgh}	116 ^f	142 ^b	86 ^c	393 ^e	11 ^{ef}
	II	80/0	0,00 ^c	0,00 ^e	23 ^{ef}	16 ^d	67 ^{defg}	115 ^f	81 ^{bcd}	105 ^c	128 ^{ef}	9,1 ^f
	III	0/40	0,00 ^c	22,5 ^e	82 ^{def}	47 ^d	80 ^{cde}	105 ^{fg}	103 ^{bcd}	59 ^{cd}	153 ^{ef}	9,9 ^f
	IV	80/30	0,00 ^c	20,5 ^e	122 ^{de}	54 ^d	124 ^c	147 ^f	118 ^{bcd}	87 ^c	217 ^{ef}	18 ^{de}
	V	80/40	0,00 ^c	0,42 ^e	136 ^{de}	39 ^d	94 ^{cd}	131 ^f	142 ^{bc}	104 ^c	223 ^{ef}	15 ^{def}
	VI	80/50	0,00 ^c	0,96 ^e	152 ^d	70 ^d	106 ^{cd}	115 ^f	157 ^b	112 ^c	177 ^{ef}	17 ^{def}
SEM			22,584	36,596	32,576	24,135	9,056	30,872	29,865	15,785	145,576	1,794
P-hodnota	Segment		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Skupina		NS	0,004	<0,001	0,004	0,007	<0,001	NS	0,017	<0,001	<0,001
	Segment x skupina		NS	0,001	<0,001	NS	0,001	<0,001	NS	0,021	<0,001	<0,001

Vyjádřeno jako mg uvolněného cukru/h¹, uvolněné glukózy/h², mg rozloženého azokaseinu/h³, mmol butyrátu uvolněného z tributyrinu/h⁴.

^{a-d}Hodnoty na stejném řádku označené jinými písmeny se průkazně liší; SEM = střední chyba průměru; NS = neprůkazný.

Přídavek lněného a konopného semínka nebo jejich kombinace v krmné směsi se zdá mít velmi příznivý vliv na zvýšení aktivity enzymů a stravitelnosti živin, doplnění látek prospěšných pro organismus, zvýšení růstových parametrů kuřat a snížení konverze krmiva. K hlavní enzymatické přeměně došlo v ileu, kde přidání konopného a lněného semínka do krmiva zvýšilo aktivitu enzymů nejvíce. Nejvyšší úroveň enzymatické aktivity byla zaznamenána u krmiva s kombinací lněného a konopného semínka 80 a 50 g/kg. Hlavní zvýšení aktivity enzymů (amyláza, celuláza, pektináza, xylanáza, maltáza, invertáza, proteinázy a lipáza) na úrovni ilea vykazovaly všechny skupiny s přídavkem konopného semene. Tyto výsledky ukázaly výhody využití diet obsahujících lněné a konopné semínko, a především kombinaci obou.

6. Závěr

Zařazení 30 g/kg konopného semínka do krmiva pro nosnice zvýší užitkovost a pevnost kostí. Pro větší důraz na zvýšení obsahu n-3 mastných kyselin je žádoucí doplnit krmnou směsí i o lněné semínko. V případě kombinace těchto dvou semínek lze doporučit krmnou směs pro slepice se 40 g/kg konopného a 60 g/kg lněného semínka. Konopné semínko má potenciál snížit riziko výskytu zlomenin u nosnic, které vyvstane při přechodu z klecového ustájení na podlahové systémy z důvodu zákazu klecových chovů nosnic od roku 2027. Taktéž u kuřat je nejvhodnější zařadit do krmné směsi 40 g/kg konopného semínka spolu s 60 g/kg lněného semínka. Tato kombinace zajistí zlepšení užitkovosti kuřat, kvality masa a kostí a ukládání α -tokoferolu v játrech. Tento příznivý vliv lze mimo jiné přisuzovat vyšší aktivitě enzymů v trávicím traktu kuřat po podání takovéto krmné směsi, což zajistí vyšší stravitelnost a využití živin. Experimenty byly podpořeny grantem Ministerstva zemědělství České republiky a Technologickou agenturou České republiky a vzešly z nich tři kvalitní zahraniční vědecké publikace, dva užitné vzory a dva funkční vzorky, které byly oceněny na výstavách. Smlouvy o využití krmných směsí byly podepsány s firmou Hemp Solution, s.r.o.

7. Poděkování

Text vznikl s podporou Ministerstva zemědělství České republiky (projekt MZE-RO0723) a Technologické agentury České republiky (projekt TP01010047).

8. Seznam literatury

Anjum FM, Haider MF, Khan MI, Sohaib M, Arshad MS. Impact of extruded flaxseed meal supplemented diet on growth performance, oxidative stability and quality of broiler meat and meat products. *Lipids Health Dis.* 2013; 12: 13.

- Antalis TM, Shea-Donohue T, Vogel SN, Sears C, Fasano A. Mechanisms of disease: protease functions in intestinal mucosal pathobiology. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2007; 4: 393–402.
- Bhatty RS. Nutritional composition of whole flaxseed and flaxseed meal. In: *Flaxseed in human nutrition*. Cunnane SC; Thompson LH, Eds.; AOCS Press: Illinois, 1995; pp. 22–45.
- Bond JM, Julian RJ, Squires EJ. Effect of dietary flaxseed on broiler growth, erythrocyte deformability, and fatty acid composition of erythrocyte membranes. *Can. J. Anim. Sci.* 1997; 77: 279–286.
- Borhanuddin B, Fozi NFM, Mohamed IN. Vitamin E and the healing of bone fracture: The current state of evidence. *Evid.-based Complement Altern. Med.* 2012; Article ID 684510.
- Brenner RR. The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals. *Mol. Cell. Biochem.* 1974; 3: 41–52.
- Budgell KL, Silversides FG. Bone breakage in three strains of end-of-lay hens. *Can. J. Anim. Sci.* 2004; 84: 745–747.
- Clavijo V, Vives Flórez MJ. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poultry Science*. 2018; 97: 1006–1021.
- Connor WE. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 171S–175S.
- Cooney RV, Franke AA, Harwood PJ, Hatch-Pigott V, Custer LJ, Mordan LJ. γ -Tocopherol detoxification of nitrogen dioxide: superiority to α -tocopherol. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993; 90: 1771–1775.
- Cowieson AJ, Vieira SL, Stefanello C. Exogenous microbial amylase in the diets of poultry: What do we know? *Journal of Applied Poultry Research*. 2019; 28: 556–565.
- Crescento G, Piccolella S, Esposito A, Scognamiglio M, Fiorentino A, Pacifico S. Chemical composition and nutraceutical properties of hempseed: an ancient food with actual functional value. *Phytochem. Rev.* 2018; 17: 733–749.
- Eriksson M, Wall H. Hemp seed cake in organic broiler diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2012; 171: 206–213.
- Filipovic J, Ivkov M, Košutić M, Filipovic V. Ratio of omega-6/omega-3 fatty acids of spelt and flaxseed pasta and consumer acceptability. *Czech Journal of Food Sciences*. 2016; 34: 522–529.

- Gabet Y. Cannabidiol enhances fracture healing by targeting collagen crosslinking. *Osteoporosis Int.* 2017; 28: S124.
- Galasso I, Russo R, Mapelli S, Ponzoni E, Brambilla IM, Battelli G, Reggiani R. Variability in Seed Traits in a Collection of *Cannabis sativa* L. Genotypes. *Front. Plant Sci.* 2016; 7: 688.
- Garg ML, Sebokova F, Thomson BR, Clandinin MT. 6-Desaturase activity in liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or Ω -3 fatty acids. *Biochem. J.* 1988; 98: 19i–26i.
- Goldberg EM, Gaghar N, Ryland D, Allani M, Gibson RA, House JD. Fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hen fed hempseed and hempseed oil. *J. Food Sci.* 2012; 77: 153–160.
- Gracia MI, Arabinar MJ, Lázaro R, Medel P, Mateos GG. A-Amylase supplementation of broiler diets based on corn. *Poultry Science.* 2003; 82: 436–442.
- Gregory NG, Wilkins LJ. Broken bones in domestic fowl: handling and processing damage in end-of-lay battery hens. *Br. Poult. Sci.* 1989; 30: 555–562.
- Guinazi M, Milagres RCRM, Pinheiro-Sant’Ana HM, Chaves JBP. Tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and eggs. *Quim. Nova.* 2009; 32: 2098–2103.
- Hale I, Schone F. Influence of rapeseed cake, linseed cake and hemp seed cake on laying performance of hens and fatty acid composition of egg yolk. *J. Verbrauch. Lebensm.* 2013; 8: 185–193.
- Hamidi MS, Corey PN, Cheung AM. Effect of vitamin E on bone turnover markers among US postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 2012; 27: 1368–1380.
- Hu YD, Lan D, Zhu Y, Pang HZ, Mu XP, Hu XF. Effect of diets with different energy and lipase levels on performance, digestibility and carcass trait in broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences.* 2018; 31: 1275–1284.
- Chin KY, Ima-Nirwana S. The Effects of α -Tocopherol on Bone: A Double-Edged Sword? *Nutrients.* 2014; 6: 1424–1441.
- Jiang Q, Christen S, Schigenava MK, Ames BN. γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the USA diet, deserves more attention. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001; 74: 714–722.
- Kamal-Eldin A, Appelqvist LA. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 1996; 31: 671–701.
- Kasai S, Ito A, Shindo K, Toyoshi T, Bando M. High-Dose α -Tocopherol Supplementation Does Not Induce Bone Loss in Normal Rats. *PLoS ONE.* 2015; 10: e0132059.

- Khan RU, Durrani FR, Chand N, Anwar H. Influence of feed supplementation with Cannabis Sativa on quality of broiler carcass. Pak. Vet. J. 2010; 30: 34–38.
- Kopečný J, Bartoš S. Activity of hydrolases in the gastrointestinal tract of goats. Small Ruminant Research. 1990; 3: 25–35.
- Kriese U, Schumann E, Weber WE, Bayer M., Brühl L, Matthäus B. Oil content, tocopherol composition and fatty acid patterns of the seeds of 51 Cannabis sativa L. genotypes. Euphytica. 2004; 137: 339–351.
- Leger CL. Vitamin E: current state of knowledge, role in the prevention of cardiovascular disease, bioavailability. OCL-Oleagineux Corps Gras Lipides. 2000; 7: 258–265.
- Lisiak D, Grzeškowiak E, Borzuta K, Raj S, Janiszewski P, Skiba G. Effects of supplementary vegetable and animal fats on the slaughter values of fatteners, meat quality, and fatty acid profile in pigs. Czech J. Anim. Sci. 2013; 58: 497–511.
- Mabelebele M, Alabi OJ, Hg`ambi JW, Norris D, Ginindza MM. Comparison of gastrointestinal tracts and pH values of digestive organs of Ross 308 broiler and Indigenous Venda chickens fed the same diet. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. 2014; 9: 71–76.
- Mahmoudi M, Farhoomand P, Nourmohammadi R. Effects of different levels of hemp seed (Cannabis sativa L.) and dextran oligosaccharide on growth performance and antibody titer response of broiler chickens. Ital. J. Anim. Sci. 2015; 14: 114–119.
- Marounek M, Vovk SJ, Skřivanová V. Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. British Journal of Nutrition. 1995; 73: 463–469.
- Mridula D, Kaur D, Nagra SS, Barnwal P, Gurumayum S, Singh KK. Growth performance and quality characteristics of flaxseed-fed broiler chicks. J. Appl. Anim. Res. 2015; 43: 345–351.
- Neijat M, Gaghar N, Neufeld J, House JD. Performance, egg quality, and blood plasma chemistry of laying hens fed hempseed and hempseed oil. Poult. Sci. 2014; 93: 2827–2840.
- Oomah BD, Busson M, Godfey GD, Drower JCD. Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. Food Chem. 2002; 76: 33–43.
- Parker TD, Adams DA, Zhou K, Harris M, Yu L. Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. J. Food Sci. 2003; 68: 1240–1243.
- Popescu RG, Voicu SN, Pircalabioru GG, Gharbia S, Hermenean A, Georgescu SE, Panaite T., Turcu RP, Dinischiotu A. Impact of dietary supplementation of flaxseed meal on

- intestinal morphology, specific enzymatic activity, and cecal microbiome in broiler chickens. *Applied Sciences*. 2021; 11: 6714.
- Høøk Presto M, Lyberg K, Lindberg JE. Digestibility of amino acids in organically cultivated white-flowering faba bean and cake from cold-pressed rapeseed, linseed and hemp seed in growing pigs. *Archives of Animal Nutrition*. 2011; 65: 21–33.
- Rodriguez ML, Alzueta C, Rebol A, Ortiz LT, Centeno C, Trevio J. Effect of inclusion level of linseed on the nutrient utilisation of diets for growing broiler chickens *British Poultry Science*. 2001; 42: 368–375.
- Sazmand M, Mehrabani D, Hosseini SE, Amini M. The effect of hydroalcoholic extract of *Cannabis Sativa* on morphology and growth of bone marrow mesenchymal stem cells in rat. *Electron. J. Gen. Med*. 2018; 15: em32.
- Schultz CJ, Lim WL, Khor SF, Neumann KA, Schulz JM, Ansari O, Skewes MA, Burton RA. Consumer and health-related traits of seed from selected commercial and breeding lines of industrial hemp, *Cannabis sativa* L. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2020; 2: 100025.
- Skiba G, Polawska E, Sobol M, Raj S, Weremko D. Omega-6 and omega-3 fatty acids metabolism pathways in the body of pigs fed diets with different sources of fatty acids. *Arch. Anim. Nutr*. 2015; 69: 1–16.
- Skřivan M, Englmaierová M, Vít T, Skřivanová E. Hempseed increases gamma-tocopherol in egg yolks and the breaking strength of tibias in laying hens. *PLoS ONE*. 2019; 14(5): e0217509.
- Skřivan M, Englmaierová M, Taubner T, Skřivanová E. Effects of dietary hemp seed and flaxseed on growth performance, meat fatty acid compositions, liver tocopherol concentration and bone strength of cockerels. *Animals*, 2020; 10: Article number 458.
- Skřivan M, Skřivanová V, Englmaierová M. Krmná směs pro slepice. Užitný vzor CZ 34942 U1. 2021-03-31. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Česká republika.
- Smolová J, Němečková I, Klimešová M, Švandrlík Z, Bjelková M, Filip V, Kyselka J. Flaxseed varieties: Composition and influence on the growth of probiotic microorganisms in milk. *Czech Journal of Food Sciences*. 2017; 35: 18–23.
- Stratmann A, Fröhlich EKF, Gebhardt-Henrich SB, Harlander-Matauschek A, Würbel H, Toscano MJ. Modification of aviary design reduces incidence of falls, collisions and keel bone damage in laying hens. *Appl. Anim. Behav. Sci*. 2015; 165: 112–123.
- Tabata E, Kashimura A, Wakita S, Ohno M, Sakaguchi M, Sugahara Y, Kino Y, Matoska V, Bauer PO, Ovama F. Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic

chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry. *Scientific Reports*. 2017; 7: 6662.

van Doorn D. Preventing keel bone damage. *Poultry World*. 2018; dostupné z: <https://www.poultryworld.net/Health/Articles/2018/10/Preventing-keel-bone-damage-349301E/>