



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Vätskeförlust och stressrespons i samband med transport och arbete hos hästar på två olika foderstater

Karin Lannér

Uppsala

2012

Examensarbete inom veterinärprogrammet

English title: Fluid balance and stress response during transport and exercise in horses on two different feeding regimes

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2012:39

Vätskeförlust och stressrespons i samband med transport och arbete hos hästar på två olika foderstater

Karin Lannér

Handledare: Kristina Dahlborn, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator: Anna Jansson, Institutionen för husdjurens utfodring och vård

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2012
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi
Kurskod: EX0329, Nivå X, 30hp*

Nyckelord: häst, stress, kortisol, glukos, foder, transport, vätskeförlust, osmolalitet, hematokrit, total plasmaproteinkoncentration

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2012:39

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING	3
Syfte	3
Hypotes	3
BAKGRUND	4
Stress och transport	4
Kortisol och glukos	4
Hjärtfrekvens	5
Fodrets påverkan på fysiologi och vätskebalans	6
Vätskebalans och arbetsfysiologi	7
Påverkan på fysiologiska parametrar vid träning och arbete	8
MATERIAL OCH METODER	9
Djurmaterial samt studiedesign	9
Foder och utfodring	10
Vilodygn	11
Transport med arbete på rullmatta	11
Arbetstestets utförande	13
Analyser	13
Osmolalitet	14
Glukos	14
Kortisol	14
Statistiska analyser	14
RESULTAT	14
Stressparametrar	14
Hjärtfrekvens	14

Kortisolvärden	16
Glukosvärden	19
Hematokrit	20
Vätskeparametrar	21
Total plasmaprotein koncentration	21
Osmolalitet.....	22
Vattenintag & vikt	23
Återhämtning	26
DISKUSSION.....	27
Transportens påverkan	27
Arbete.....	29
Vätskeparametrar under transportdagarna	31
Återhämtning	33
Vila.....	33
SLUTSATS	35
TACK	35
LITTERATURFÖRTECKNING	36

SAMMANFATTNING

Hästen är en utpräglad grovfoderätare som i det vilda spenderar större delen av sin vakna tid med att äta och söka föda. Dagens moderna sporthästar utfodras ofta med en lägre andel grovfoder och en högre andel kraftfoder för att täcka ett högt energibehov. Under en tävlingsdag utsätts våra sporthästar för stora fysiska och psykiska påfrestningar då en tävlingsdag involverar transporter, arbete (fysisk prestation) samt ofta ett minskat vätske- och födointag. Det är inte helt klarlagt hur pass påverkade hästarna blir av en tävlingsdag samt om foderstaten har någon betydelse för prestation eller för deras förmåga att kompensera för dehydrering och stress. I föreliggande studie observerades sex hästar av rasen svensk varmblodig travhäst. Hästarna stod i uteboxar och studien genomfördes under hösten-vintern 2010 med yttertemperaturer på mellan +14,8 till -19,8 °C. Hypotesen för studien var att förmågan att hantera stress och kompensera för en dehydrering skiljer sig beroende på vilken foderstat hästarna utfodras med. Hästarna var i god kondition och kördes i snabbjobb två gånger i veckan. Studien hade en cross-over design med två olika foderstater. Tre av hästarna åt först foderstat F (hög andel grovfoder) och tre åt foderstat K (hög andel kraftfoder). Efter tre veckor på foderstaten utfördes en simulerad tävlingsdag ("transportdag") som inkluderade transporter 200km och ett arbetstest på rullmatta. Sedan bytte hästarna foderstat så att de som tidigare åt F nu åt K. Efter tre veckor upprepades den simulerade tävlingsdagen med transport och arbete på rullmatta. Hästarna hade pulsband och blodprover togs kontinuerligt. Parametrarna kortisol, glukos, hematokrit, totalt plasmaprotein samt osmolalitet mättes. Hästarnas puls under dagen registrerades samt vikt förlust och vattenintag. Dessa parametrar analyserades statistiskt med avseende på skillnad beroende av foderstat och tillfälle på dagen som blodprovet togs. Samtidigt gjordes en jämförelse med värden uppmätta hos samma hästar i vila beroende på om de hade fri eller begränsad tillgång till vatten. Även här gjordes en jämförelse med avseende på skillnader mellan foderstaterna. Hästarna i denna studie hade högre kortisol- samt glukosvärden och totala plasmaproteiner under transportdagarna på foderstat K än på foderstat F. Det tyder på att foderstaten har påverkat dessa värden troligen genom att metabolismen påverkats. Däremot sågs ingen skillnad i hematokrit, hjärtfrekvens, vikt förlust, vätskeintag eller osmolalitet beroende på foderstat. Det fanns inga signifikanta skillnader efter själva transporten, hästarna upplevde den inte som särskilt stressande och ingen skillnad förelåg beroende på foderstat. Inga säkra slutsatser kan dras från vilodyggen beroende på foderstat och vattentillgång, dock sågs en tendens till högre vattenintag då hästarna åt foderstat F än foderstat K både vid fri och vid begränsad tillgång på vatten.

SUMMARY

Horses have developed during centuries to feed from grass and are thus specialized to digest a diet high in fibers and cellulose (high in roughage). In the wild, horses spend most of their waking hours to eat and search for food. Modern sport horses are often fed with a lower proportion of roughage and a higher proportion of concentrate feed to meet high energy demands. During a competition day our sport horses are subjected to major physical and mental challenges involving transportation, exercise (physical performance) and often a decreased feed and water intake. The effects of these challenges are not fully investigated and the total effects of stress and dehydration and their impact on performance needs to be better understood. In the present study, conducted during the fall and winter 2010, six horses of the breed Swedish Standardbred were used. They were housed in outdoor boxes and temperature varied between + 14,8 to - 19,8°C. The hypothesis of the study was that the ability to handle stress and to compensate for dehydration vary depending on the diet fed to the horses. The horses, which were in full fitness, were exercised twice a week. The study had a crossover design with two different diets. Three of the horses were first fed a diet high in roughage (diet F) and three of the horses were fed a diet with a high proportion of concentrate feed (diet K). After three weeks the horses performed a simulated competition day including transportation and an exercise test on a treadmill. The horses then switched diets so that horses that previously ate diet F now ate diet K. After another three weeks the simulated competition day was repeated. The horses had heart rate monitors during the test day and blood samples were taken continuously. The parameters measured were cortisol, glucose, hematocrit, total plasma protein and osmolality. The horses' heart rates during the day were registered as well as weight loss and water intake. The parameters were analyzed statistically with regards to difference depending on diet and at which time of day the blood sample was taken. Also, a comparison was made with values obtained from the same horses at rest, depending on whether they had limited or unlimited access to water. Again, a comparison was made with regards to differences between the diets. The horses in this study had higher cortisol, glucose and total plasma proteins levels during the test day on diet K than diet F, leading to the conclusion that the diet affected these parameters. A possible explanation to that is a changed metabolism. However, there were no differences in hematocrit, heart rate, weight loss, fluid intake and osmolality between the diets. There were no significant differences in any parameters after transport, the horses experienced it as mildly stressful, and there were no differences depending on the diet. No final conclusions can be made from the values obtained at rest depending on diet and water-regime, however, there was a tendency towards a higher water intake when horses were fed diet F than when fed diet K, both with free and limited access to water.

INLEDNING

Hästar är det djurslag som transporteras mest och har även så gjorts genom historien (Schmidt et al., 2010). Först med båt, sedan med tåg, bil och även flyg. Historiskt var anledningarna till transportererna att hästarna behövdes i krig, vid nya bosättningar, till att transportera mat och bidra med arbetskraft (Blancou & Parsonson, 2008). Nuförtiden transporteras hästar till träningar och tävlingar, till veterinär, vid försäljning, för avel och slutligen till slakt. Transportering och tävlande med hästar ökar konstant. Även sträckorna som hästar transporteras ökar (Waran & Cuddeford, 1995). I många fall får hästarna spendera lång tid i transporten utan fri tillgång på vatten eller foder och även om vatten finns tillgängligt så väljer många hästar att inte dricka (Stull, 2008; van den Berg et al., 1998) och många avstår också helt från att äta eller äter betydligt mindre (Waran & Cuddeford, 1995). Trots att det inte är helt klarlagt hur pass påverkade hästarna blir av en transport med avseende på stress och dehydrering förväntas hästarna ändå prestera bra på träning eller tävling.

Hästar är gräsätare och väl anpassade till en fiberrik (grovfoderrik) foderstat (Janis, 1976), ändå utfodras många tävlingshästar idag med en hög andel stärkelserikt kraftfoder för att täcka ett högt energibehov (Connysson et al., 2006, 2010). Hästar som utfodras med hög andel kraftfoder använder mindre tid av dygnet till att äta (Willard et al., 1977) och har setts ha högre risk att utveckla stereotypier samt att få kolik (Tinker et al., 1997). De har också visats att hästar på en hög kraftfodergiva har påverkade fysiologiska parametrar såsom bland annat lägre plasmavolym och en mindre elektrolytreserv i grovtarmen än hästar på en hög grovfodergiva (Connysson, 2010; Meyer, 1987). Detta väcker frågan om hästar som utfodras med en hög andel kraftfoder är sämre på att kompensera för den stress samt dehydrering som kan uppstå i samband med transportering och tävling. Studier har visat att hästar som äter en fiberrik foderstat dricker mer vatten än hästar som äter mer kraftfoder (Connysson et al., 2010; Fannesbeck, 1968). Vidare finns det beskrivet att hästar som äter grovfoder har en större vätskereservoar i sin grovtarm (Meyer, 1987). I nyligen gjorde studier (Connysson et al., 2010) har man också sett att hästar på en grovfoderstat som ej har tillgång till foder klarar att upprätthålla sin totala plasma protein koncentration (TPP) och därmed även den perifera cirkulationen en längre tid än hästar som äter kraftfoder.

Syfte

Syftet var att studera om hästars förmåga att hantera stress och klara uttorkning under transport och arbete skiljer sig mellan hästar som utfodras med en hög andel kraftfoder och hästar som äter en mer ”naturlig” diet med hög andel grovfoder. Arbetet syftar också till att studera om det föreligger någon skillnad i hur hästarnas vattenintag, vikt och blodparametrar (total plasmaproteinkoncentration, hematokrit, osmolalitet) ser ut på två olika foderstater med eller utan fri tillgång på vatten under en viloperiod.

Hypotes

Förmågan att hantera stress och dehydrering skiljer sig på de två olika foderstaterna då hästarna som äter mer grovfoder har en större vätske- och elektrolytreserv i grovtarmen. De torde därmed ha en bättre förmåga att

mobilisera vätske- och elektrolytresurser, omfördela vätska i kroppen och på så sätt klara dehydrering och stress bättre. Detta skulle i sin tur kunna reglera fysiologiska parametrar såsom hjärtfrekvens, TPP, hematokrit, osmolalitet, glukos samt kortisol.

Hypotesen är också att hästarnas vätskebalans skiljer sig i vila mellan de två olika foderstaterna beroende på om hästarna har fri tillgång till vatten eller inte. Detta för att hästar på en grovfoderstat har visats ha en större vätskereserv i grovtarmen och torde därmed klara att upprätthålla sin vätskebalans (undvika uttorkning) bättre utan fri tillgång på vatten än hästar som äter en foderstat rik på kraftfoder.

BAKGRUND

Stress och transport

Stress är ett delvis svårdefinierat begrepp som omfattar en beskrivning över en individs fysiologiska och psykologiska status. Stress har ofta beskrivits som en reaktion som uppstår hos en individ för att kunna hantera sin omgivning, en okänd miljö, hot och liknande situationer (Fazio & Ferlazzo, 2003; Grandin, 1997). Stress och rädsla har också beskrivits ha den naturliga funktionen att få bytesdjur att undvika farliga situationer och vara uppmärksamma på rovdjur (Grandin, 1997). Hur stressad en häst blir under transport beror på många olika faktorer. Exempelvis tidigare erfarenheter, transportens utformning, sällskapet, på vilket sätt hästen blir uppbunden, nya ljud och vibrationer i transporten samt vägens och förarens kör-egenskaper (Fazio & Ferlazzo, 2003; Stull, 2008). För att utvärdera hur stressad en häst blir under transport bör man titta på ett flertal olika faktorer. Direkta jämförelser mellan studier är svåra att göra då försöksuppläggen ofta är olika och man dessutom mätt olika parametrar. Det är således mest lämpligt att utvärdera ett djurs ”stress-svar” under transport vid olika tillfällen med djurets egna värden (Grandin, 1997). Vanliga parametrar, som flertalet studier använder sig av för att utvärdera stress hos häst är bland annat kortisol, glukos och hjärtfrekvens (Grandin, 1997; Stull & Rodiek, 2000; White et al., 1991).

Kortisol och glukos

Kortisol är enligt läroböckerna en av de viktigaste stress-indikatorerna hos djur (Sjaastad et al., 2010). Det är en endogen glukokortikoid som produceras i binjurens cortex. Hos människa finns en dygnsvariation, en så kallad diurnal rytm, gällande kortisolhalten i blodet där högst värden uppmäts på morgonen och lägst på kvällen (Rang et al., 2007). Detta har visat sig stämma även hos hästar i vila under normala förhållanden (Irvine & Alexander, 1994; Jansson, 1999, Stull & Rodiek, 1988 & 2000). När ett djur utsätts för stress aktiveras sympatiska nervsystemet som i sin tur påverkar hypotalamus att utsöndra Adenocorticotropt Releasing Hormone (ACTH-RH). ACTH-RH påverkar i sin tur sedan adenohipofysen att frisätta adenocorticotropt hormon (ACTH). ACTH utövar sin verkan i binjurebarken och ökar omvandlingen av kolesterol till kortisol (Sjaastad et al., 2010). På grund av att sympatiska nervsystemet aktiveras anses kortisol vara ett bra mått på stress hos hästen och har setts stiga under transport i ett flertal studier (Fazio et al., 2008; Fazio & Ferlazzo, 2003; Friend, 2000; Medica et al., 2010; Schmidt et al., 2010). Många studier är gjorda på långdistanstransporter men förhöjningen av kortisol har visat sig signifikant även vid kortare transporter runt 30 minuter (Fazio et al., 2008). Trots att kortisol har en kort halveringstid i

plasma på runt 1,5 timmar (Lassourd et al., 1996) har man sett att ett förhöjt plasma-kortisolvärde efter en transport kan påverka hematologiska parametrar vid arbeten som hästar utför en stund efter transporten. Man har sett signifikant förhöjda kortisol samt glukosvärden under arbetstest efter transport jämfört med hästar som ej transporterats innan samma test (Medica et al., 2010; White et al., 1991).

Kortisolvärden i blodet som uppmätts hos friska hästar varierar över dygnet mellan 30-420 nmol/liter. De lägsta värdena har uppmätts på kvällen och de högsta på morgonen efter måltid. Klinisk kemiska laboratoriet på Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) har referensvärdet <320 nmol/liter för en frisk häst (Hillström et al., 2009). Jansson visade (1999) i sin avhandling att dygnsrytmen och kortisolnivåerna i blodet hos hästar inte skiljde sig när hästarna utfodrades två gånger per dag mot när de utfodrades 6 gånger per dag.

När ett djur är stressat så bidrar höga kortisol-värden till att höja även blodglukos genom att stimulera glukoneogenesen och hindra upptag av glukos i vävnaderna (Sjaastad et al., 2010). Bara stress i sig kan ge en momentan stegring av glukos samt kortisol i blodet. Detta är en av anledningarna till att om ett djur upplever en händelse, t.ex. blodprovstagning, som stressande så kan man få falskt höga värden av glukos och kortisol (Hillström et al., 2009). Glukoshalten i blodet har hos vilande hästar inte setts följa någon dygnsvariation. Glukoshalten i blodet har inte heller setts påverkas av foderstaten, varken i vila eller vid arbete (Conysson et al., 2010; Jansson et al., 2002; Lindberg et al., 2006; Stull & Rodiek, 1988 & 2000). Normalvärde enligt Klinisk kemiska laboratoriet på SLU är i hästserum 3,5–6,1 mmol/liter (Hillström et al., 2009). Signifikant förhöjda glukosvärden i blodet har noterats hos hästar som transporteras både långa och korta distanser och tolkas ofta som ett tecken på stress (Stull & Rodiek, 2000; White et al., 1991).

Det har visats att hästar har förhöjda blodglukosnivåer samt plasmakortisolnivåer efter transport, d.v.s. redan när de kommer till en tävlingsplats. Det tolkas som en indikation på att de redan då är utsatta för stress. Vidare har man sett att dessa initialt förhöjda värden påverkar hästarna i arbetet de utför på tävlingsplatsen genom förändrade fysiologiska parametrar, dvs förhöjt plasmaglukos och kortisol jämfört med en otransporterad kontrollgrupp (Medica et al., 2010; White et al., 1991).

Hjärtfrekvens

Hästars normala hjärtfrekvens i vila ligger mellan 26-44 slag/minut (Erickson & Poole, 2004; Sjaastad et al., 2010). När en häst blir stressad aktiveras sympatiska nervsystemet och hjärtfrekvensen stiger (Sjaastad et al., 2010), dock är det ovanligt att hjärtfrekvensen stiger över 120 slag per minut till följd av stress (Erickson & Poole, 2004). Att transporterering är stressande för hästar genom att de uppvisar en förhöjd hjärtfrekvens under transport finns det många studier som fastslår (Mars et al., 1992; Schmidt et al., 2010; Waran, 1993; Waran & Cuddeford, 1995). Dessutom har flera studier visat att redan när hästar lastas på en transport så stiger deras puls signifikant (Schmidt et al., 2010; Waran, 1993; Waran & Cuddeford, 1995). I en studie gjord 2010 där man transporterade tidigare otransporterade hästar upprepade gånger en sträcka på 200 km såg man en förhöjd hjärtfrekvens under hela transporten och den sjönk inte till normalvärden

förrän 90 minuter efter hästarna lastats ur (Schmidt et al., 2010). Artikelförfattarna Waran & Cuddeford visade 1995 att hästar som står i en trailer som rör sig har signifikant högre puls än hästar som står i en trailer som står still. Detta tolkar de som att transport är stressande både psykiskt och fysiskt i och med att de i den studien även observerade helt olika kroppspositioner hos hästarna som stod i trailern som röde sig mot hästarna i den trailer som stod still. När trailern började röra på sig ställde sig hästarna med vidare benställning för både fram- och bakben och stödde sig mer på inredningen än när transporten stod still.

Fodrets påverkan på fysiologi och vätskebalans

Hästar är gräsätare och deras digestionssystem är väl anpassat för en diet bestående av en hög andel fiber och en mindre andel stärkelse (lättlösliga kolhydrater) (Janis, 1976). Det vill säga att hästar är anpassade för att äta grovfoder såsom gräs, hö och hösilage. Om hästar har fri tillgång på föda spenderar de i genomsnitt 11-17 timmar om dygnet med att beta/äta (Boyd et al., 1988; Duncan et al., 1980; Sweeting et al., 1985). Många studier har visat att om man begränsar tillgången på grovfoder och istället utfodrar hästar med mycket kraftfoder spenderar de mindre tid över dygnet med att äta (Willard et al., 1977) och dessutom ökar risken för kolik, korsförslamning, magsår och beteendestörningar (Tinker et al., 1997; Willard et al., 1977). En trolig förklaring till det är att lättlösliga kolhydrater, som vid ett överskott inte hinner brytas ned i hästens tunntarm, fortsätter till blindtarm och grovtarm (ceacum och colon). Där sänks då pH kraftigt och påverkar fermentationen negativt (Willard et al., 1977). Lättlösliga kolhydrater ska egentligen tas upp i tunntarmen men fortsätter till grovtarmen om det finns ett överskott som inte hinner tas upp (Janis, 1976). I grovtarmen är fermentationen till för att bryta ned cellulosan i växterna. Detta görs av mikrober som habiterar grovtarmen. Mikroberna lever i symbios med hästen och om pH sänks kraftigt fungerar dessa mikrober sämre samtidigt som andra mikrober växer till. De tillväxande mikroberna producerar mjölksyra, vilket i sin tur sänker pH i grovtarmen ytterligare. Hästen får då svårare att tillgodogöra sig grovfodret genom minskad cellulosanedbrytning samt att tarmslemhinnan kan skadas av det sänkta pH-värdet (Janis, 1976).

Man har även sett att hästens vätskebalans påverkas av dess utfodring. Hästar som äter en högre andel grovfoder har observerats ha ett högre vattenintag än de som utfodras med mer kraftfoder (Ellis et al., 2002; Fannesbeck, 1968; Meyer, 1987). Detta antagligen på grund av det högre fiberinnehållet i grovfoder jämfört med kraftfoder. Fiber anses ha en hög vattenbindande kapacitet (Fannesbeck, 1968). Ytterligare förklaringar till varför hästar har ett högre vattenintag på grovfoder ger Pagan & Harris (1999). De menar att ett ökat torrsbstansintag ger en ökad salivutsöndring samt att mer vätska utsöndras till mag-tarmkanalen. Därmed ökar hästens vätskebehov. En teori finns om att detta ökade vattenintag kan bidra till den ökning i kroppsvikt som observerats hos hästar som utfodras med grovfoder jämfört med kraftfoder (Connysson et al., 2010; Ellis et al., 2002). En av grovtarmens funktioner är att absorbera vätska samt elektrolyter, men dessutom verkar förmågan att lagra vätska och fungera som en vätskereserv vara en av de viktigaste uppgifterna (Meyer, 1987). Hästar som äter en fiberrik diet har setts ha en högre andel vätska i grovtarmen (Erickson & Poole, 2004; Meyer, 1987) samt en lägre TPP (Connysson et al., 2010) än hästar som äter mer kraftfoder. Lägre TPP tyder på större cirkulerande vätskevolym och en ändrad vätskebalans jämfört

med hästar som äter en mer kolhydratrik föda (Connysson et al., 2010). I Connysson et als studie från 2010 såg man dessutom att hästarna på grovfoderdieten behöll TPP på ett stabilt värde så länge som i 11 timmar under en period av fasta innan de började visa tecken på uttorkning (i form av förhöjt TPP). Hästarna som åt en kraftfoderdiet visade en signifikant stegring i TPP redan efter åtta timmars fasta. Detta tolkas således av Connysson et al. som att hästar som äter mer grovfoder kan mobilisera en del av sin vätskevolym från grovtarmen och därigenom bibehålla sin vätskebalans och cirkulerande vätskevolym en längre tid utan föda. I Connysson et als studie (2010) hade dock hästarna fri tillgång på vatten hela tiden och det är fortfarande obesvarat om hästar utan fri tillgång på vatten kan mobilisera vätska från grovtarmen på samma sätt.

Vätskebalans och arbetsfysiologi

Däggdjur, så även hästen, består till 65-70% av vatten. Hästens vattenkällor består av dricksvatten, vatten från föda och till en mindre del metaboliskt vatten som utvinnes då föda bryts ned i mag- tarmkanalen. Hästen förlorar vatten via avdunstning från kroppsytor och luftvägar, via urin och avföring samt under laktation (Sjaastad et al., 2010). Ca 2/3 av vattnet i kroppen återfinns inuti kroppens celler och kallas den intracellulära vätskevolymen. Resterande vätskevolym kallas extracellulär (ECV) och består av blodplasma, lymfvätska och vätska mellan cellerna (Carlson, 1999; Sjaastad et al., 2010). Det totala antalet lösta partiklar i blodet kallas blodets osmolalitet (Andersson, 1978; Carlson, 1999; Sjaastad et al., 2010) och natrium är den viktigaste osmotiska partikelkomponenten i ECV och därmed i blodet.

Likaväl som att högpresterande hästar har ett förhöjt dagligt energibehov (Connysson et al., 2006; Meyer, 1987) så kan de även ha ett vätskebehov som kan vara upp till 200-300% högre än normalt, då en hårt arbetande häst kan förlora 10-15 liter vätska per timme (Carlson, 1987). Vatten utgör det födoämne som intas i störst volym dagligen och hästar som utfodras med enbart grovfoder har ett signifikant högre dagligt vattenintag än hästar som utfodras med en högre andel kraftfoder (Fonnesbeck, 1968).

I försök gjorda under svenska förhållanden har man sett att en häst som inte har tillgång till vatten på ett dygn kan tappa runt 3% av sin kroppsvikt (Nyman, 2002). I vissa studier har hästar setts tappa så mycket som 12% av sin kroppsvikt då de vistats i ett varmt klimat och undanhållits vatten i mer än två dygn. Hästar som hållits lika länge utan vatten på transport har tappat upp till 10% av sin kroppsvikt (Friend, 2000). I samma försök såg man att båda dessa grupper, som inte hade tillgång till vatten, hade en signifikant högre puls och andningsfrekvens i vila än en kontrollgrupp med tillgång till vatten. Dessutom såg man att de hästar som hade tillgång till vatten inte hade ett lika varierande blodkortisolvärde som hästarna utan tillgång till vatten, vilka hade signifikant förhöjda kortisolvärden. Det finns studier som har visat en betydande viktninskning hos hästar redan vid kortare transporter. 3% tappad kroppsvikt, som tolkas som samma dehydreringsgrad, har visats hos hästar efter transport på 600 km (van den Berg et al., 1998). Den tappade kroppsvikten till följd av vattenrestriktionen eller transportstressen kan ha betydelse för prestationen då man sett att redan vid en dehydreringsgrad på 3% så höjs hjärtfrekvensen och plasmalaktatkoncentrationen under arbete (Nyman, 2002), vilket tyder på ökad kroppslig påfrestning.

Att högpresterande tävlingshästar har ett högre dagligt vätskebehov samtidigt som de kan lida av lindrig dehydrering efter en transport kan vara viktigt då många hästar på en tävlingsplats, eller under transport, väljer att inte dricka trots tillgång på vatten (Stull, 2008; van den Berg et al., 1998). Orsakerna till att hästarna väljer att inte dricka är inte helt klarlagda. Teorier finns dock om att det kan bero på att vattnet smakar annorlunda eller att hästen i en stressad situation inte känner av törst (Mars et al., 1992; van der Berg et al., 1998).

Till skillnad från människa, som producerar hypoton svett, så producerar hästar en hyper- eller isoton svett, d.v.s. svetten innehåller mer elektrolyter än blodet (Carlson, 1999; Erickson & Poole, 2004). Hästen förlorar därmed vatten, natrium, kalium och klorid med sin svett och kan snabbt utveckla en negativ elektrolytbalans vid kraftig svettning (Erickson & Poole 2004; Meyer, 1987). En negativ elektrolytbalans kan minska den cirkulerande vätskevolymen i kroppen, d.v.s. den extracellulära vätskevolymen och snabbt bidra till kraftig dehydrering. I detta avseende verkar grovtarmen spela en viktig roll då hästar har en reserv av natrium och kalium i grovtarmen som de i viss mån kan använda för att ersätta det natrium och kalium de förlorar när de svettas (Erickson & Poole 2004; Meyer, 1987). På så vis kan de mobilisera vätska och upprätthålla en större cirkulerande blodvolym. Natrium är, som tidigare nämnt, den viktigaste determinanten av den extracellulära vätskevolymen och upprätthållandet av denna (Andersson, 1978; Carlson, 1999).

Påverkan på fysiologiska parametrar vid träning och arbete

Vid fysiskt arbete aktiveras sympatiska nervsystemet samtidigt som det sker en utsöndring av katekolaminer (adrenalin och noradrenalin) i cirkulationen. Båda dessa faktorer bidrar till att mjälten kontraherar och släpper ut ett förråd av röda blodkroppar (erythrocyter) till blodet. På så sätt ökar antalet cirkulerande röda blodkroppar och ger blodet en större förmåga att transportera syre till kroppen (Erickson & Poole, 2004). Mjälten kan dra ihop sig vid flertalet tillstånd som kräver ökad syretillförsel i kroppen, aktiverar sympatiska nervsystemet eller som ökar koncentrationen cirkulerande katekolaminer i kroppen. Det kan vara vid t.ex. stress, arbete, blödning eller syrebrist. Denna fysiologiska förändring bidrar till en ökning av hemoglobinkoncentration och hematokrit men en relativt oförändrad eller minskad plasmavolym (Erickson & Poole, 2004). Vid arbete sker också en omfördelning mellan vätskerummen där vätskan går från det intracellulära rummet till det extracellulära rummet, alltså mer vätska går in i kärlen, till cirkulationen (Erickson & Poole, 2004). Detta, tillsammans med mjältens kontraktion och frisättning av erythrocyter, bidrar till en generell ökning av den cirkulerande vätskevolymen det vill säga blodvolymen vid arbete, samtidigt som man får en minskning av plasmavolymen (det vill säga högre TPP). Minskningen av plasmavolymen tillskrivs bland annat bero på förlust av vätska via svett och avdunstning (Erickson & Poole, 2004). Under arbete stiger alltså TPP, hematokrit och hemoglobinkoncentrationen fysiologiskt (Erickson & Poole, 2004). En aktivering av sympatiska nervsystemet kan också ge en stegring av dessa värden oberoende av fysiskt arbete. Vid studier gjorda på galoppörer i Australien såg man att TPP, hemoglobin samt hematokrit steg signifikant redan då hästarna blev upphetsade och förväntansfulla på tävlingsplatsen 1-3 timmar innan ett lopp (Revington, 1983).

Vid hård träning ökar kroppens behov av att transportera syre till vävnaderna och metaboliska restprodukter bort från vävnaderna. Detta ställer större krav både på cirkulationen och respirationen. En ökad andningsfrekvens ses till följd av ett större behov av att ventilera ut koldioxid och ta upp nytt syre till blodet. Normal andningsfrekvens i vila för häst är 15-40 och under hård fysisk träning kan den öka till 130-140 andetag per minut (Erickson & Poole, 2004).

Hjärtfrekvensen stiger fort när hästen börjar arbeta, och kan nå ett maxvärde redan efter 30 sekunder vid hårt arbete. Maximal hjärtfrekvens uppmätt hos vuxen häst ligger runt 210 slag per minut. Efter avslutat arbete sjunker hjärtfrekvensen snabbt hos en vältränad individ. Man har, till skillnad från hos människa, inte sett någon påverkan i form av sänkning av hjärtfrekvensen i vila hos en häst som blir mer vältränad (Erickson & Poole, 2004).

Vid arbete och muskelaktivitet så omvandlas kemisk energi till mekanisk energi vilket genererar värme. Kroppen har flera olika sätt för att göra sig av med värmen såsom avdunstning, svettning, och mer ytlig blodcirkulation. Under hård träning är dessa mekanismer inte tillräckliga för att hålla nere kroppstemperaturen som kan stiga ända upp till mellan 41 och 43 grader (Erickson & Poole, 2004).

Vid fysiskt arbete så aktiveras sympatiska nervsystemet och därmed också utsöndringen av ACTH och kortisol. Därför ses högre koncentrationer av kortisol i blodet under och efter arbete hos de flesta djurslag (Erickson & Poole, 2004).

MATERIAL OCH METODER

Djurmateriel samt studiedesign

Sex hästar av rasen svensk varmblodig travhäst användes i studien som genomfördes under perioden 4:e oktober till 3:e december 2010. Hästarna var mellan 5 och 11 år gamla och de var alla valacker som tränades genom att köras i snabbjobb två gånger i veckan. De vägde mellan 470 och 560 kg. De benämns i texten som Häst 1-6.

I studien ingick två transportdagar med arbete på rullmatta (de kallas i texten för transportdagar) och fyra mätdygn i vila (de kallas i texten för vilodygn).

Hästarna gick i en cross-over design vilket innebar att tre av hästarna i en period på tre veckor (period 1) åt en foderstat rik på fiber, d.v.s. grovfoder (F) och tre av hästarna åt en foderstat rik på kraftfoder (K). I period 2 bytte hästarna foderstat så att de som tidigare åt F nu åt K. I slutet av varje period genomgick hästarna en transportdag som var designad för att likna en tävling. Dagen inkluderade en transport på 2*200 km (200 km dit och 200 km hem) och ett arbetstest på rullmatta. Alla hästar var sedan tidigare vana att delta i försök utom en individ (Häst 5) som deltog i sitt första försök. Alla hästarna var vana med att springa på rullmatta samt att ha pulsklockor på sig och de hade alla tidigare tävlingserfarenhet. Hästarna var under studiens utförande uppstallade i uteboxar och yttemperaturen varierade mellan + 14,8 till -19,8 °C. I boxarna hade hästarna fri tillgång på vatten som de fick i 20-litershinkar som var graderade varje ½-liter vilket möjliggjorde avläsning av vattenkonsumtionen. Under dagtid (10.00-15.00) gick hästarna ute tillsammans i en hage som var tillräckligt stor för

att de skulle kunna röra sig fritt och leka. Hästarna hade inte tillgång till vatten i hagen.

Foder och utfodring

Hästarna utfodrades med två olika foderstater beräknade individuellt efter energibehov och kroppsvikt (se Tabell 1 samt 2). De utfodrades tre gånger om dagen, klockan 07.00, 15.00 samt 23.00. Utfodringen skedde med hjälp av utfodringsautomater till både kraftfodret och grovfodret. Den fiberrika, d.v.s. grovfoderrika, foderstaten (F) bestod av hösilage, lusern, vetekli samt vitaminer och mineraler. Den kraftfoderrika foderstaten (K) bestod av hösilage, havre och mineraler. Då studien var en cross-over design åt hälften av hästarna foderstat F och hälften av hästarna åt foderstat K under första perioden. Under andra perioden bytte hästarna foderstat så att de som ätit foderstat F första perioden nu åt foderstat K och tvärtom. Varje period var fyra veckor lång. Hästarna tillvänjdes sin foderstat långsamt under en vecka och stod sedan på foderstaten i två veckor innan transportdagen genomfördes. Efter perioden hade hästarna en vilovecka innan de började vänjas vid sin nya foderstat. De dagar som hästarna kördes under veckorna fick de 50 g NaCl blandat i fodret.

Tabell 1 samt 2. Hästarnas foderstater i Period 1 och Period 2. Grönmarkerade fält illustrerar foderstat F, rödmarkerade fält foderstat K. Mängden foder angiven i kilogram om annat ej framgår i tabellen

Foderstater Period 1						
	Häst 1	Häst 2	Häst 3	Häst 4	Häst 5	Häst 6
Hösilage	6,4	8,6	6,4	11,9	11,9	10,7
Lusern				0,5	0,5	0,45
Vetekli				0,8	0,8	0,7
Miner grön				200g	200g	200g
Vitaminer				1 mått	1 mått	<1 mått
Havre	4,8	6,4	4,8			
Miner blå	180 g	240g	180g			

Foderstater Period 2						
	Häst 1	Häst 2	Häst 3	Häst 4	Häst 5	Häst 6
Hösilage	10,7	14,3	10,7	7,1	7,1	6,4
Lusern	0,45	0,6	0,45			
Vetekli	0,7	1	0,7			
Miner grön	180g	240g	180g			
Vitaminer	<1 mått	>1 mått	<1 mått			
Havre				5,3	5,3	4,8
Miner blå				200g	200g	180g

Foderstaterna beräknades så att då hästarna åt foderstat F i period 1 fick de i sig 125-168 Megajoule (MJ)/dag och 845-1127 g smältbart råprotein (smb rp)/dag. Då hästarna åt foderstat K i period 1 fick de i sig 114-147 MJ/dag och 779-1003 g smb rp/dag.

Hästarna som åt foderstat F i period 2 fick i sig 144-171 MJ/dag samt 901-1073 g smb rp/dag. Hästarna som åt foderstat K i period 2 fick i sig 111-144 MJ/dag samt 735-943 g smb rp/dag. Ökningen av energiintaget på foderstat F till period 2 gjordes därför att två av hästarna tappade i hull under period 1 när de åt foderstat F.

Vilodygn

I varje period ingick två mätdygn i vila. En cross-over design utfördes även här då hästarna på varje foderstat hade ett mätdygn i vila med fri vattentillgång och ett med begränsad. Hästarna hade under dessa dygn permanentkatetrar i jugularvenen och stod inne i sina boxar. De hästar som hade fri tillgång på vatten hade vatten i hinkar i sina boxar hela dygnet förutom mellan 10.00-15.00, detta för att likna en vanlig dag i hagen, då de inte hade tillgång till vatten denna tidsperiod. De hästar som hölls på en begränsad vattentillgång hade enbart vatten i sina boxar mellan 18.00 och 07.00. För att få en mer representativ mätning av blodparametrar och vätskeintag vid begränsad vattentillgång begränsades vattenintaget redan två dygn innan mätdygnen i vila samt dygnet efter. Vattenkonsumtionen noterades vid 18 tillfällen över dygnet. Blodprover togs vid åtta tillfällen under dygnet, lika många tillfällen som det togs blodprover under transportdagarna. Dessutom togs ett blodprov innan morgonfodringen dygnet efter, blodprov nummer nio. Se Tabell 3 för ungefärligt tidschema. Efter detta avlägsnades permanentkatetrarna.

Tabell 3. Ungefärligt tidschema för blodprovstagning under vilodyggen

	Blodprov
Innan morgonfodring	1
Vid vägning, 3 h senare	2
Innan eftermiddagsfodring	3
En timme efter fodring	4
Vid vägning, 2 h senare	5
1 timme efter vattentillgång	6
Innan kvällsfodring	7
15 min efter kvällsfodring	8
Innan morgonfodring dag 2	9

Transport med arbete på rullmatta

I slutet av varje period fick hästarna genomgå en transport med efterföljande arbete på rullmatta samt transport tillbaka till stallet. Först transporterades hästarna 200 km och fick sedan utföra ett "V_{La}4 arbetstest" på rullmatta. Testet är utformat för att uppnå en mjölksyratröskel på 4 mmol/l vid submaximalt arbete. Sedan transporterades hästarna tillbaka till stallet igen. För ungefärligt tidschema, se Tabell 4. Hästarna hade inte tillgång till vatten under transportdagarna förrän

de återvände till stallet på kvällen. Då mättes deras vattenkonsumtion och fortsatte att mätas i tre dygn efteråt. På transportdagens morgon fick hästarna en permanentkateter insatt i vänstra halsjugularvenen. Hästarna vägdes (Weighing-indicator TI 1200 Vetek, Sweden), rektaltemp kontrollerades som en hälsoparameter, nollblodprov togs, pulsklockor sattes på hästarna (Polar Trainer Equi Professional Edition) och hjärtfrekvensen noterades. Pulsklockorna bestod av ett elastiskt band med en mätare och sändare på, vilket fästes runt bröstkorgen på hästarna. En tillhörande klocka med mottagare till varje band fästes med tejp på bandet för att pulsen lätt skulle kunna läsas av. Till andra transportdagen klipptes två områden i pälsen på hästarna för att mätaren på dessa områden skulle få bättre kontakt med huden. Innan hästarna lastades fick de bomull i öronen. De lastades sedan på i bestämd ordning på en stor häst-trailer (Urban Blomquist Hästtransporter AB). Trailern som användes för att transportera hästarna var av busstyp med plats för 6 hästar. Hästarna stod uppbundna med skiljeväggar med plast nedtill och med huvudena åt samma håll vid båda transporttillfällena. Temperaturen i bussen höll 11 grader. Hästarna transporterades utan tillgång till vatten och foder (transporten varade ca 2,5 timmar) och anlände sedan till Mälaren Hästklirik AB där arbetstestet genomfördes. På kliniken fick alla hästarna varsin box utan tillgång på vatten eller foder. Sedan genomfördes ett arbetstest där hästarna sprang ett simulerat travlopp på rullmatta (SÄTO 1997) i bestämd ordning, samma ordning båda transportdagarna. Ordningen var Häst 3, Häst 4, Häst 1, Häst 5, Häst 2 och Häst 6. För en utförlig beskrivning av arbetstestet se vidare Tabell 4 och 5. Efter testet spolades hästarna av med vattenslang och fick återhämta sig i enskild box utan tillgång till vatten. Hästarna vägdes återigen, lastades sedan på trailern i samma turordning, transporterades 200 km för att återvända till stallet. Där togs pulsklockorna av, hästarna vägdes, blodprov togs och mätning av vattenkonsumtion utfördes när hästarna ställts in i sina boxar igen. Hästarnas vattenhinkar hade redan innan fyllts på med vatten för att de skulle ha fri tillgång så fort de kom tillbaka. På kvällen när de kom hem fick de 50 g NaCl blandat i sitt foder. Ett blodprov togs även dagen efter arbetstestet och efter det avlägsnades permanentkatetern. Vattenintag och kroppsvikt mättes också dagen efter arbetstestet och i ytterligare tre dagar för att se hur lång tid det tog innan hästarna återhämtade sig helt och återfick sin ursprungliga kroppsvikt.

Tabell 4. Ungefärligt tidschema för transportdagarna i Period 1 och Period 2

Tidschema	Period 1	Period 2
Lastning	11.45	11.30
Ankomst	14.15	14.00
Arbete		
Häst 3	14.35	14.20
Häst 4	14.55	14.40
Häst 1	15.23	15.00
Häst 5	15.40	15.17
Häst 2	16.00	15.35
Häst 6	16.26	16.15
Lastning	17.45	17.30
Hemma	20.20	20.10
Morgonen efter		

Arbetsstestetets utförande

Hästarna fick vid varje transportdag utföra ett ”V_{La}4 arbetsstest” på rullmatta. Hästarna var vana vid att springa på rullmatta sedan tidigare och utförde arbetsprovet i samma turordning båda gångerna. Innan de gick upp på rullmattan vägdes de, andningsfrekvens noterades och ett blodprov togs. Hästarna fick värma upp i skritt i en hastighet på 2 m/s under två minuter och sedan i trav vid en hastighet på 6 m/s i två minuter. Själva testet bestod sedan av fyra högre hastigheter. Hästarna sprang på hastigheterna 5,5 m/s, 6,5 m/s, 7,5 m/s samt 8,5 m/s. Bandet höll en lutning på 6,3%. Hästarna sprang på varje hastighet i två minuter och ett blodprov togs varje gång innan hastigheten ändrades. Därefter fick hästarna skritta i fem minuter på hastigheten 2 m/s utan lutning för att varva ned. Hela testet varade ca 20 minuter. När hästarna gick av rullmattan noterades deras andningsfrekvens och rektaltemperatur och ytterligare ett blodprov togs innan de vägdes, spolades av med vattenslang och ställdes tillbaka i sina boxar. För det protokoll som följdes, se Tabell 5.

Tabell 5. Protokoll från transportdagen i Period 1 samt Period 2. X betyder att parametern noterades vid tillfället

	Blodprov	Vikt	Andning	Rektaltemp
Hemma	1	X	-	X
Före arbete	2	X	X	-
Trav 5,5 m/s	3	-	-	-
Trav 6,5 m/s	4	-	-	-
Trav 7,5 m/s	5	-	-	-
Trav 8,5 m/s	6	-	-	-
Skritt 5 min	-	-	-	-
Av mattan	7	X	X	X
Hemma	8	X	-	-
Morgonen efter	9	X	-	-

Analys

Blodproven togs genom hästarnas permanentkatetrar med 10 ml sprutor och överfördes till litiumhepariniserade provrör. Proverna som togs under arbetsstestet förvarades kallt (på is) tills dess att arbetsstestet var avslutat. Proverna centrifugerades i hematokritrör (ALC hematocrit centrifugette 4230, Milano) i två minuter på 1500*g hastighet, därefter mättes hematokriten i proverna. Även de litiumhepariniserade provrören centrifugerades, sedan pipetterades plasma upp och totala plasmaproteinkoncentrationen lästes av med refraktometer (Leica Total Solid Refraktiometer, 10400A, Goldberg, Buffalo, NY, USA). De centrifugerade proverna transporterades därefter på is till laboratorium på SLU, Uppsala, där de frystes för vidare analys. Under v.34 samt v.35 2011 analyserades glukos samt kortisol i proverna vid laboratoriet på institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi, SLU.

Osmolalitet

Osmolaliteten analyserades med Advanced® Osmometer, Norwood, Massachusetts, USA på Kungsängens forskningslaboratorium, SLU, Uppsala.

Glukos

Glukos analyserades från plasma med Glucose liquicolor GOD-PAP Method Enzymatic Colorimetric Test for Glucose Method without Deproteinisation. Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesbaden, Germany. Metoden är validerad för häst med 7,12% CV (variations-koefficient).

Kortisol

Kortisol analyserades på plasma med ELISA, Ref: RE52061. IBL Gesellschaft für Immunchemie und Immunbiologie MBH, Hamburg, Germany. Metoden är validerad för häst med 100,7% recovery i heparin hästplasma. Metoden utfördes enligt beskrivning men med två lägre standardpunkter inlagda i kurvan. Inter assay var 1,2% CV.

Statistiska analyser

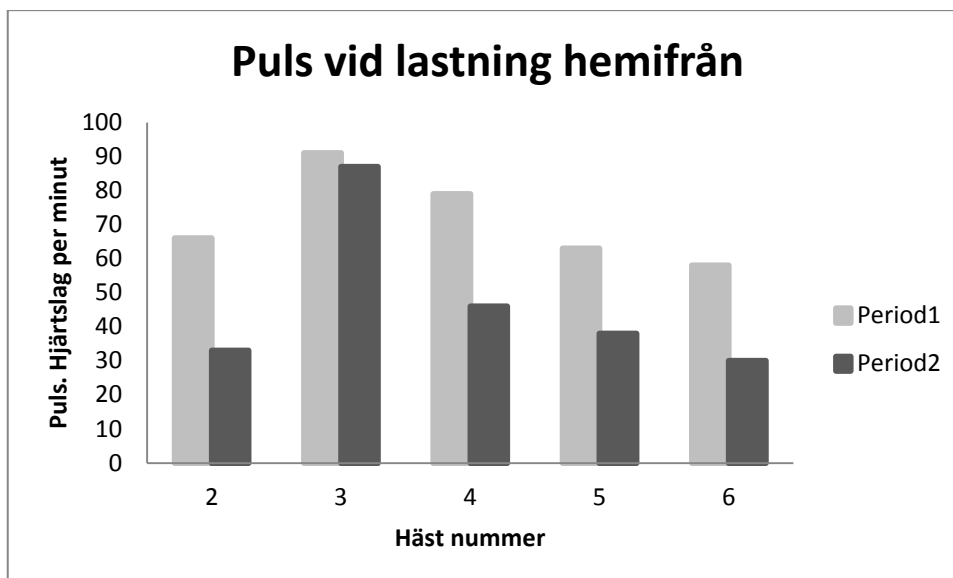
De data som samlades in i studien var klusterdata från samma individer över ett visst tidsspänn. Plasma glukos- samt kortisolkoncentrationen, hemtokrit, TPP, osmolalitet samt vikt- och vattenintag analyserades genom att använda en ”mixed-effect” model (PROC MIXED i SAS, vers 9.2). Signifikansnivån för skillnad mellan behandlingar och prover bestämdes till $p \leq 0,05$. Tendens till signifikant skillnad bestämdes till $0,10 \leq p \leq 0,05$. Proc Mixed modellen kompletterades med en Bonferroni justering för p-värden med säkra konfidensintervall för skillnaderna av Least- squares means (LSMEANS). Data presenteras som LSMEANS och standard error (SE) av LSMEANS. Korrelationen mellan puls vid lastning och kortisolkoncentration efter transport beräknades genom att i Microsoft Excel ställa upp ett diagram med de två variablerna på x- respektive y-axeln och därefter göra en regressionsanalys för att beräkna korrelationskoefficienten och få ut det linjära sambandet.

RESULTAT

Stressparametrar

Hjärtfrekvens

Pulsbanden fungerade ej som det var tänkt och endast en av hästarna hade därför fullständiga pulsmätningar från alla fyra transporter. Häst 1 hade så dåliga mätningar att denne uteslöts från resultaten. Ingen effekt av foderstaten kunde ses på pulsen vid lastning eller under transport. Däremot sågs en periodeffekt. Hästarnas startpuls då de fick på sig klockan hemma i stallet varierade i period 1 mellan 31- 65 slag per minut och i period 2 mellan 31-43 slag per minut. Alla hästarna hade noterbart lägre puls vid lastning hemifrån i period 2, d.v.s. andra transportdagen, se figur 1.



Figur 1. Puls vid lastning hemifrån Period 1 och Period 2. Häst 1 utesluten från resultat p.g.a. ofullständiga mätningar.

Hästarna hade generellt en högre puls vid lastning hemma samt lastning på kliniken än under själva transporten. Deras puls 30 min in i transporten låg inte över värdet för normal vilopuls, se tabell 6 och 7.

Tabell 6 och 7. Hästarnas puls under transportdagarna Period 1 samt Period 2. Transport 1 är transport till Mälaren Hästklirik AB, transport 2 är transport hem. Häst 1 utesluten från resultat p.g.a. ofullständiga mätningar

Period 1.

Häst	Lastning dit	Efter 30 min i transport 1	Maxpuls vid arbete	Lastning hem	Efter 30 min i transport 2
2	66	36	198	41	36
3	96	43	217		
4	79		228	41	47
5	63	40	210	77	36
6	40	38			

Period 2.

Häst	Lastning hemifrån	Efter 30 min i transport 1	Maxpuls vid arbete	Lastning kliniken	Efter 30 min i transport 2
2	33	36	196		
3	87	32		49	38
4	46	38	192	44	42
5	38	38	189		
6	30	38	197	51	36

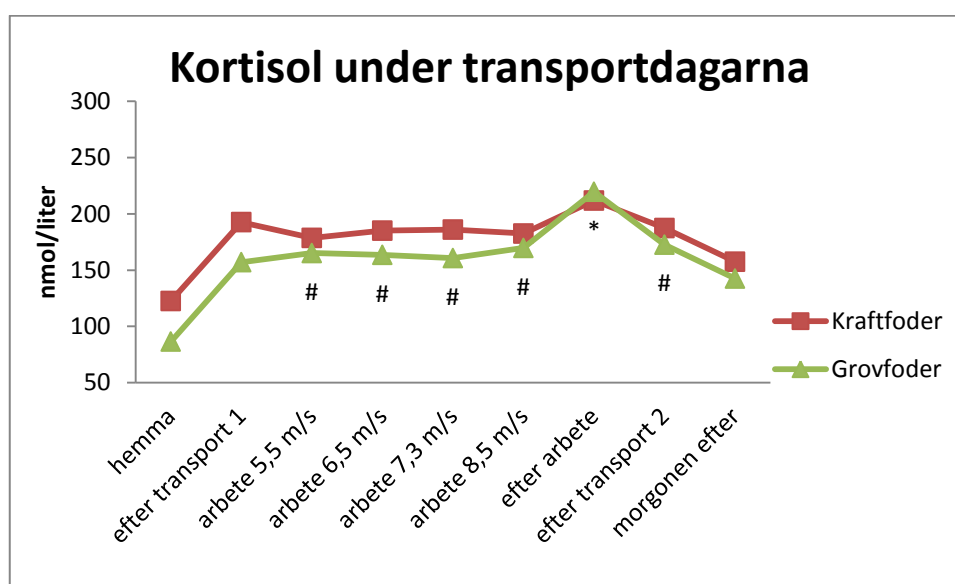
Kortisolvärden

Transportdagarna

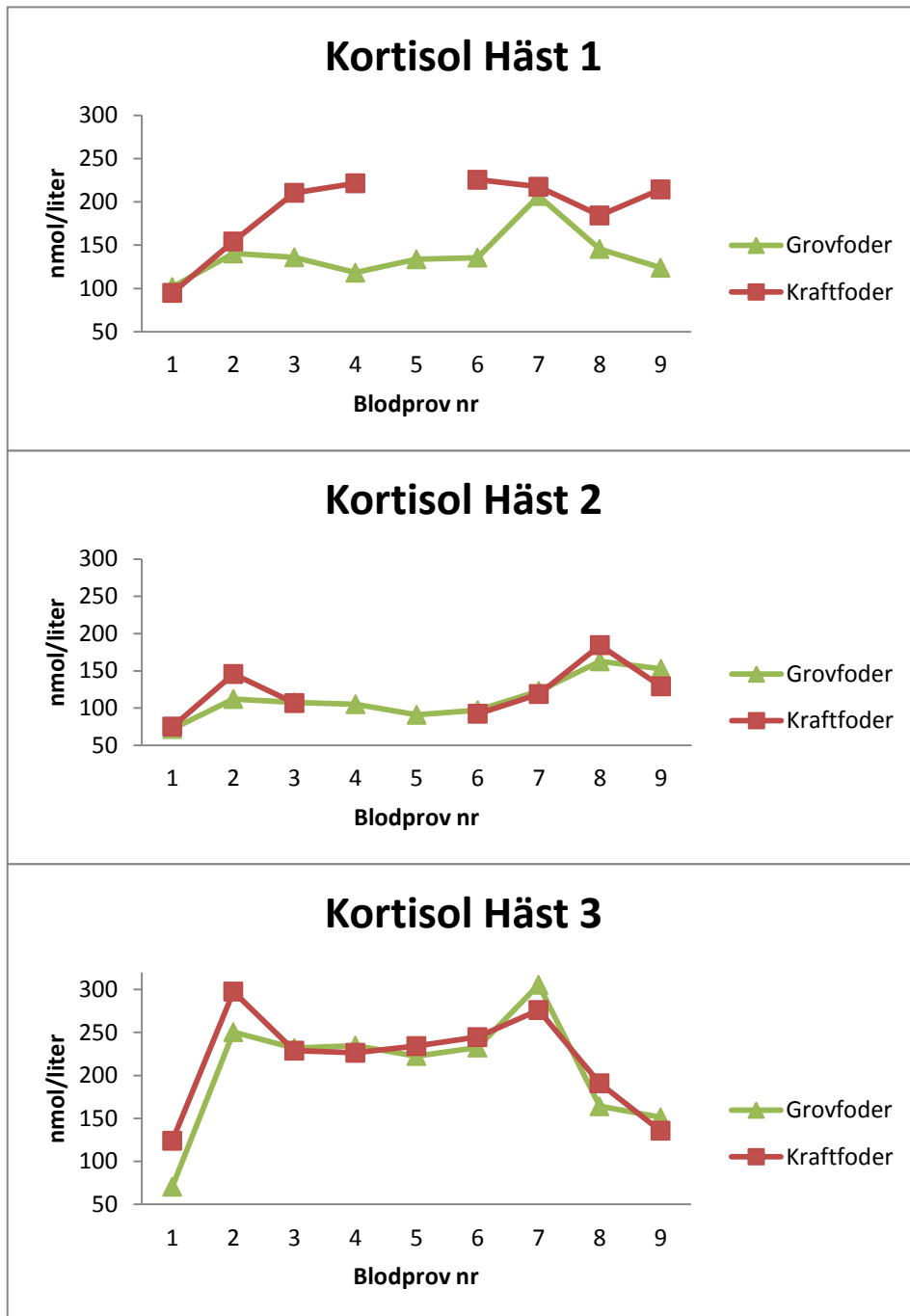
Hästarnas kortisolvärden vid första blodprovet på morgonen för transportdagen varierade mellan 70,5 - 185,3 nmol/. Alla hästarna utom Häst 1 hade ett högre värde på kortisolkoncentrationen på morgonen när de åt foderstat K än när de åt foderstat F. Alla hästarna hade högre kortisolkoncentration i blodet morgonen efter transportdagen jämfört med transportdagens morgon, förutom Häst 5. Det högsta uppmätta kortisolvärdet varierande bland de individuella hästarna från 183,6 (Häst 6, prov 7, foderstat K, period 2) till 305,6 (Häst 3, prov 7, foderstat F, period 2). För individuella kortisolvärden se Figur 3.

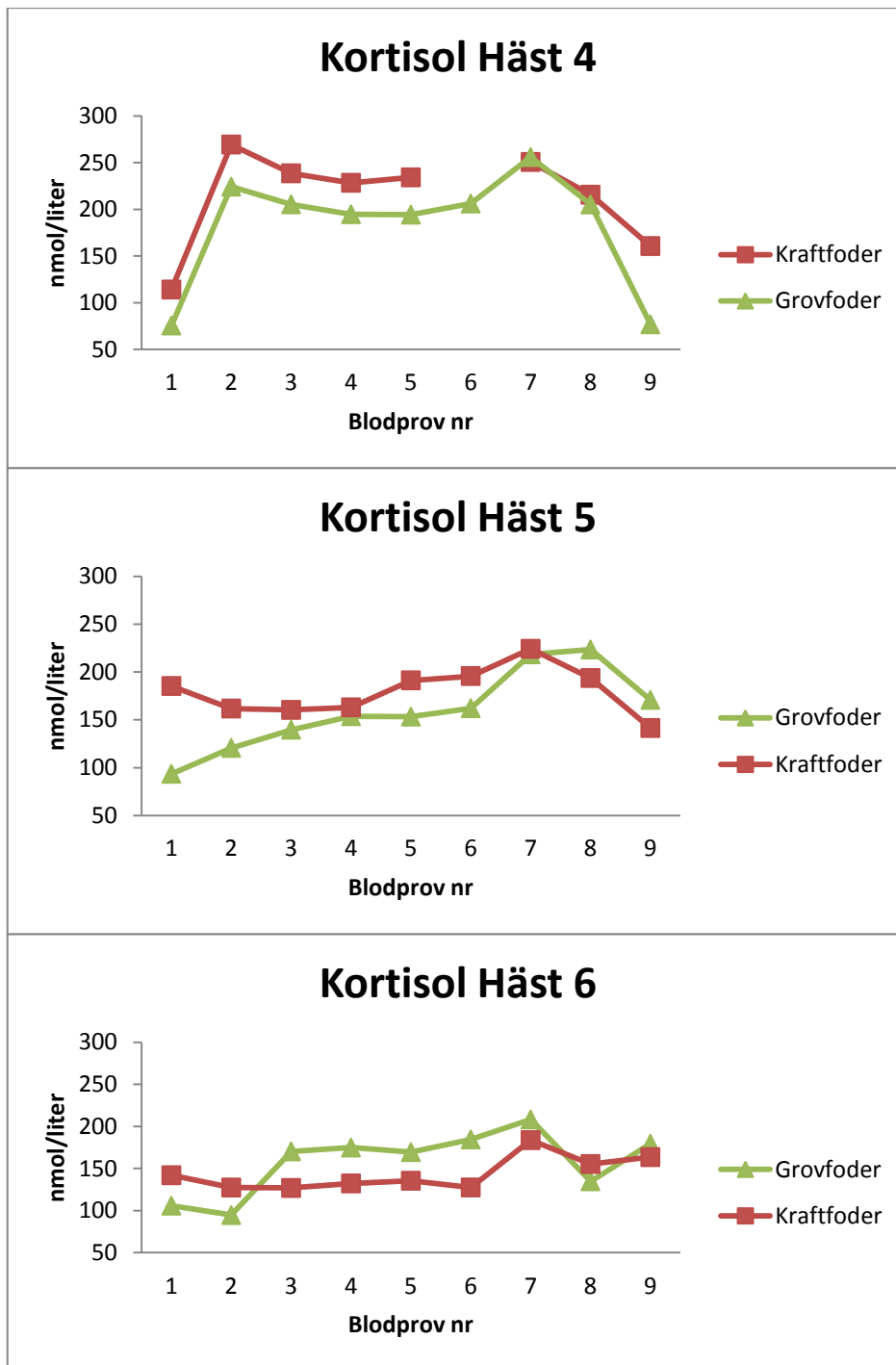
Hästarna hade en signifikant högre kortisol-koncentration under transportdagarna på foderstat K än på foderstat F. Generellt låg hästarna högre i kortisolkoncentration vid varje enskilda provtillfälle på foderstat K men skillnaden för varje provtillfälle var inte signifikant mellan foderstaterna, se Figur 2. Det förelåg en kortisohlöjning efter transport 1 på båda foderstaterna men den var inte statistiskt signifikant jämfört med morgonprovet. Även här fanns en stor variation beroende på individ, se figur 3. Häst 3 och Häst 4 hade ökningarna i kortisolvärdet med 136-255% efter transport 1 båda transportdagarna, oberoende av foderstat, en stegring betydligt högre än de andra hästarnas.

Kortisolkoncentrationen steg under arbete på rullmatta men stegringen var enbart signifikant på foderstat F. På foderstat K sågs enbart en signifikant skillnad mellan blodprov 1 på morgonen och blodprov 7, direkt efter arbete. På foderstat F var stegringen i kortisol signifikant jämfört med blodprov 1 för alla blodprov som togs under arbete på rullmatta samt även för blodprov 8 som togs efter transporten hem. Blodproven på morgonen efter transportdagen skiljde sig inte signifikant i kortisolkoncentration från blodprovet på morgonen för transportdagen på någon av foderstaterna.



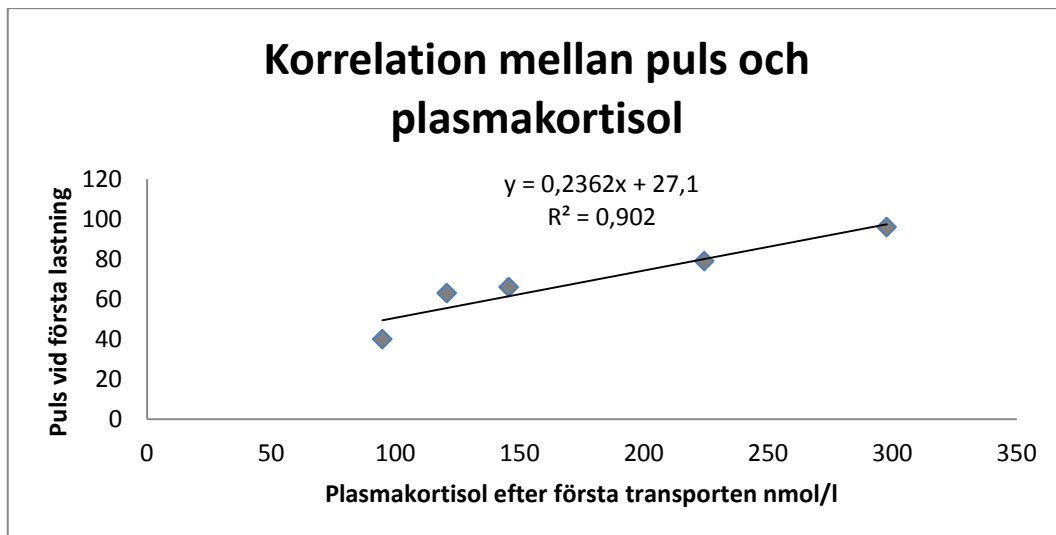
Figur 2. Kortisolvärden för alla hästarna under transportdagarna på Foderstat K samt F. * = signifikant skillnad mot blodprov 1, hemma, på både foderstat K samt F. # = signifikant skillnad mot blodprov 1, hemma, på foderstat F. SE=19,8.





Figur 3. Kortisolvärden under transportdagen Häst 1-6 på foderstat K samt F.

Kortisolvärdet efter transport 1 var starkt korrelerat till hästens puls vid lastning, se figur 4. Figuren illustrerar hästarnas puls vid lastning hemifrån vid första transportdagen korrelerat till kortisolvärdet efter transporten till Mälaren Hästklirik AB första transportdagen. $R^2=0,9$ vilket visar på en stark korrelation.

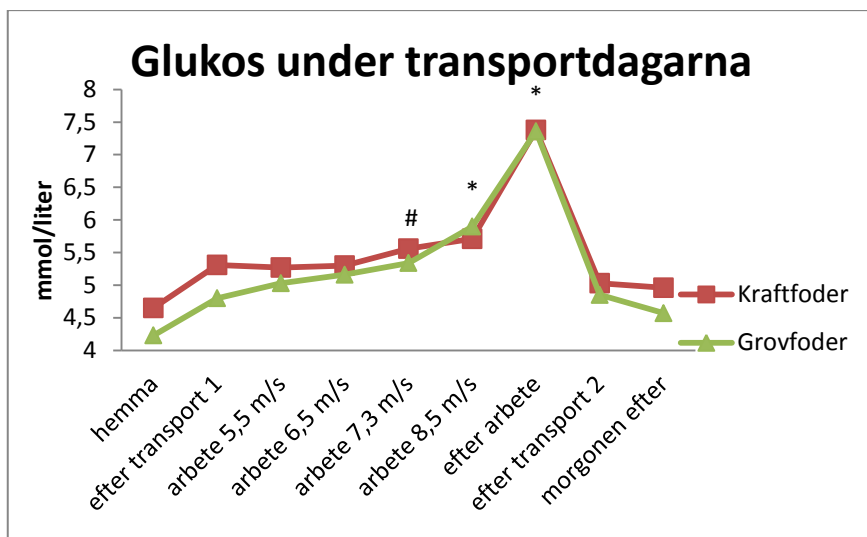


Figur 4. Hästarnas puls vid lastning hemifrån första transportdagen i korrelation till plasmakortisol efter första transporten. En romb i diagrammet motsvarar en individs specifika puls och kortisolkoncentration. Häst 1 utesluten från resultat p.g.a. ofullständiga mätningar.

Glukosvärden

Hästarna hade signifikant högre glukosvärden under transportdagarna på foderstat K än på foderstat F.

En höjning av glukos förelåg efter transport 1 på båda foderstaterna, den var dock inte signifikant. Glukoskoncentrationen steg under arbete på båda foderstaterna. På foderstat K var inte skillnaden signifikant mot morgonvärdet förrän vid blodprov 6, d.v.s. sista steget i arbete på rullmatta. På foderstat F var stegringen signifikant redan vid blodprov 5, d.v.s. näst sista steget i arbete på rullmatta. Efter transport 2, blodprov 8, hade blodglukosen sjunkit signifikant igen på båda foderstaterna och ingen skillnad förelåg mellan morgonprovet och provet efter transport 2, se Figur 5.

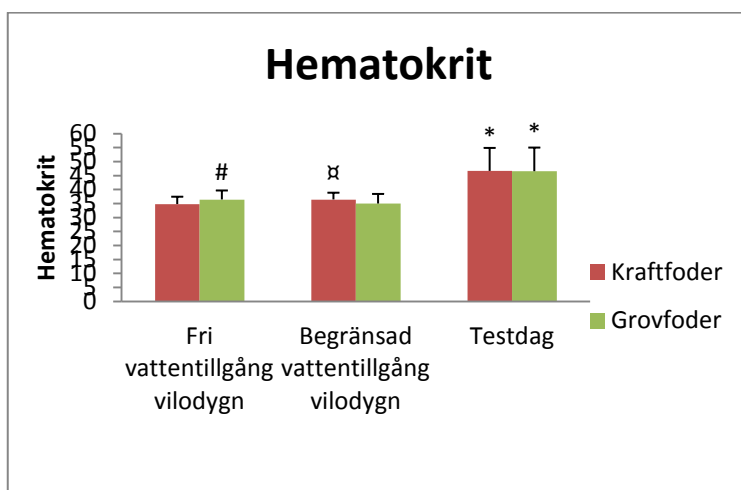


Figur 5. Glukosvärden för alla hästarna under transportdagarna på foderstat K samt F. * = Signifikant skillnad på både foderstat K och F jämfört med blodprov 1, hemma. # = signifikant skillnad på foderstat F jämfört med blodprov 1, hemma. SE=0,2.

Hematokrit

Vilodygn

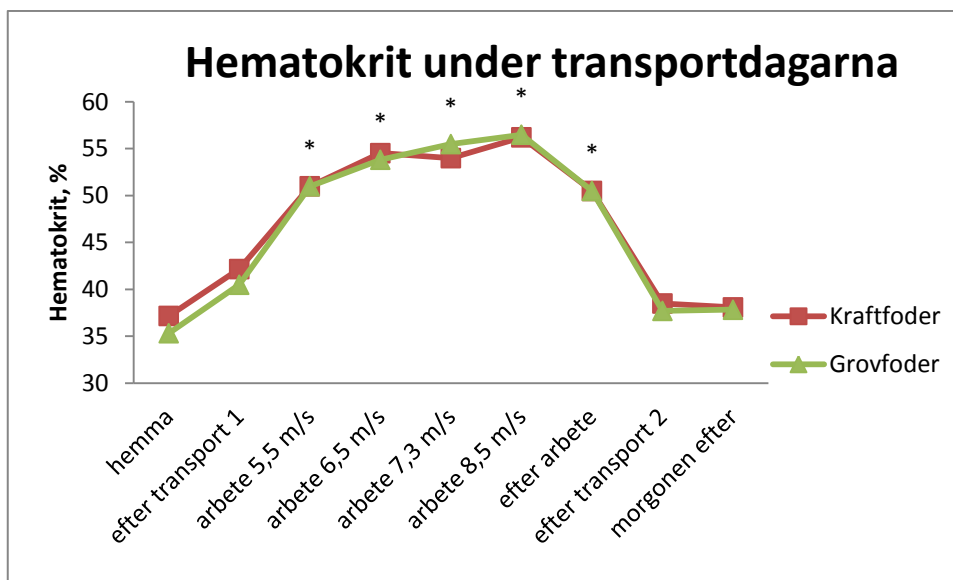
Hästarna hade en signifikant högre hematokritkoncentration på foderstat F då de i vila hade fri tillgång på vatten. Däremot sågs ingen signifikant skillnad mellan foderstaterna i vila med begränsad tillgång på vatten. På foderstat K hade hästarna en signifikant högre hematokritkoncentration när de hade begränsad tillgång på vatten än när de hade fri tillgång. Ingen skillnad beroende på vattentillgång sågs på foderstat F. Hematokritvärdena var signifikant högre under transportdagarna än under vilodyggen däremot sågs ingen signifikant skillnad under transportdagarna mellan foderstaterna, se Figur 6.



Figur 6. Hematokritkoncentration för alla hästarna på de olika behandlingarna. * = Signifikant högre hematokrit under transportdagarna på foderstat K samt F än under vilo- och mätdygn. # = signifikant högre hematokrit på foderstat F vid fri tillgång på vatten. α = signifikant högre hematokrit på foderstat K vid begränsad tillgång på vatten. SE=0,5 vilodygn, SE 0,7 transportdag.

Transportdagarna

Ingen signifikant förhöjning i hematokritkoncentration sågs efter transport 1 eller 2 på någon av foderstaterna. Under arbete på rullmatta steg hematokritkoncentrationen signifikant på båda foderstaterna för att sjunka igen efter arbete, se figur 7. Ingen signifikant skillnad i hematokritkoncentration sågs under arbete mellan foderstaterna.

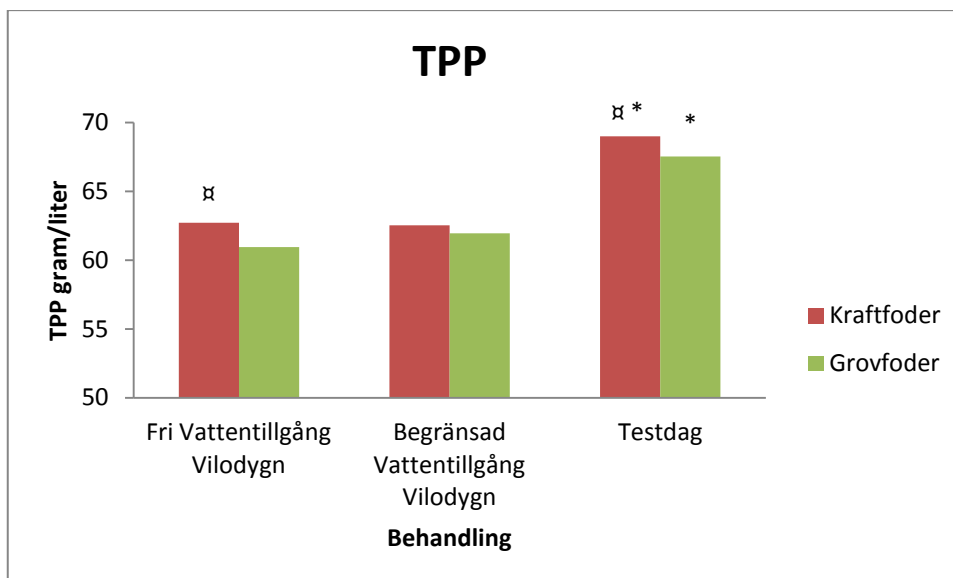


Figur 7. Hematokritkoncentration under transportdagarna för alla hästar på foderstat K samt F. * = Signifikant högre koncentration på båda foderstater jämfört med blodprov 1, hemma. SE=1,2.

Vätskeparametrar

Total plasmaproteinkoncentration

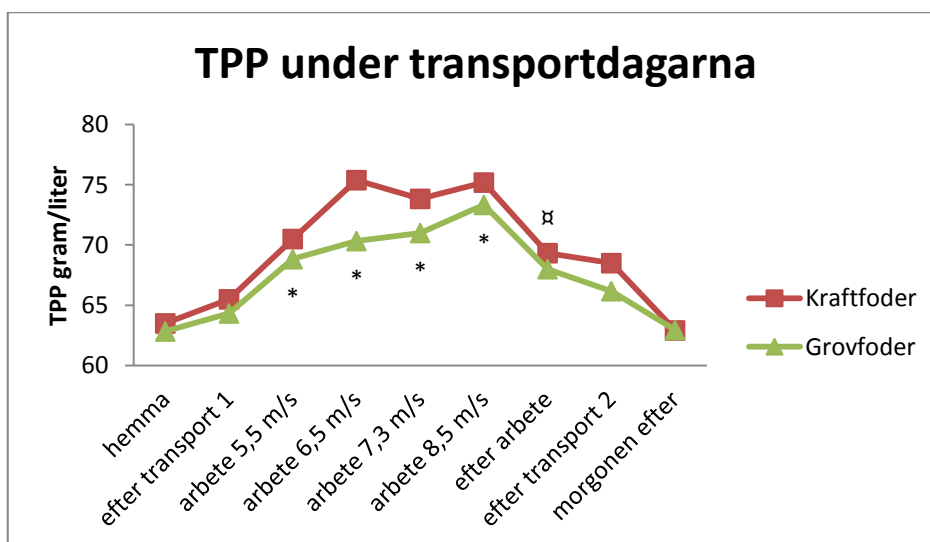
Under vilodygnet med fri tillgång på vatten hade hästarna när de åt foderstat K en signifikant högre TPP än när det åt foderstat F. Under vilodygnet med begränsad tillgång på vatten fanns det ingen signifikant skillnad mellan foderstaterna. Det fanns ingen signifikant skillnad i TPP inom foderstaterna beroende på om vattentillgången var fri eller begränsad, se figur 8.



Figur 8. TPP på de olika behandlingarna. * = Signifikant högre TPP under transportdagarna än under vilodygnen. α = Signifikant högre TPP på foderstat K än F under vilodygn med fri tillgång på vatten samt under transportdagarna. SE=1,7.

Under transportdagarna

Hästarna hade signifikant högre värden i TPP under transportdagen då de åt foderstat K än F. Efter transport 1 var höjning i TPP inte signifikant på någon av foderstaterna. Alla prover som togs under arbetet på rullmattan var signifikant högre än blodprov 1 på båda foderstaterna. Ingen signifikant skillnad fanns mellan foderstaterna däremot är blodprov 7 (direkt efter arbete) signifikant förhöjt på foderstat K men inte på foderstat F, se figur 9.

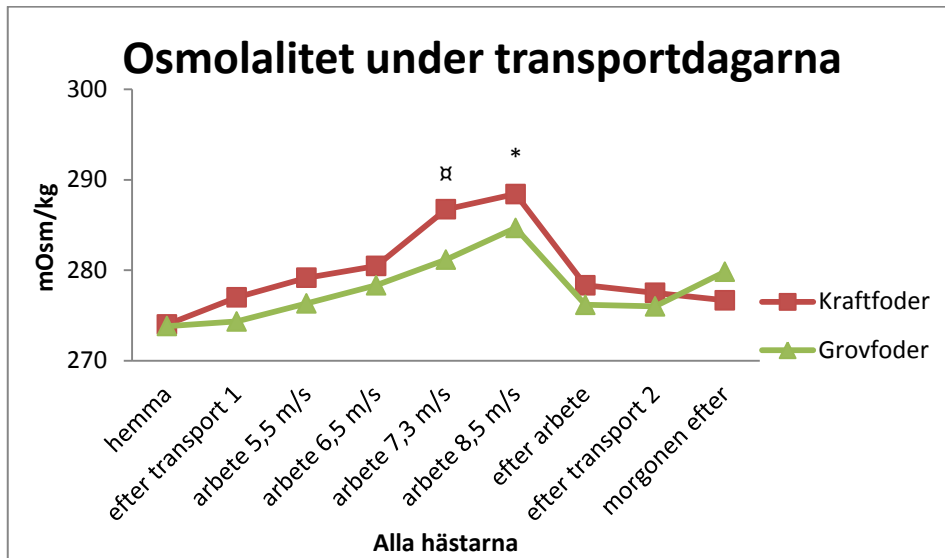


Figur 9. TPP under transportdagarna för alla hästarna. Signifikant högre värden på foderstat K. * = Signifikant skillnad mot blodprov 1, hemma, på både K samt F. α = signifikant högre värde mot blodprov 1, hemma, på foderstat K. SE=1,9.

Osmolalitet

Det förelåg ingen skillnad i omsolalitet med avseende på foderstat eller tillgång på vatten under vilodygnen.

Under transportdagarna låg hästarna högre i osmolalitet på foderstat K än på foderstat F men skillnaden var inte signifikant. Osmolaliteten ökade signifikant under arbete. På foderstat K var prov 5 samt 6 signifikant högre än prov 1. Osmolaliteten sjönk signifikant igen efter arbete (prov 7 mot prov 6) på foderstat K. Osmolaliteten steg även under arbete på foderstat F men det vara bara prov 6, d.v.s. under högsta hastigheten som stigningen var signifikant mot prov 1. Prov 7 hade sjunkit signifikant mot prov 6 även på foderstat F. Ingen signifikant ökning sågs efter transport 1, se figur 10.

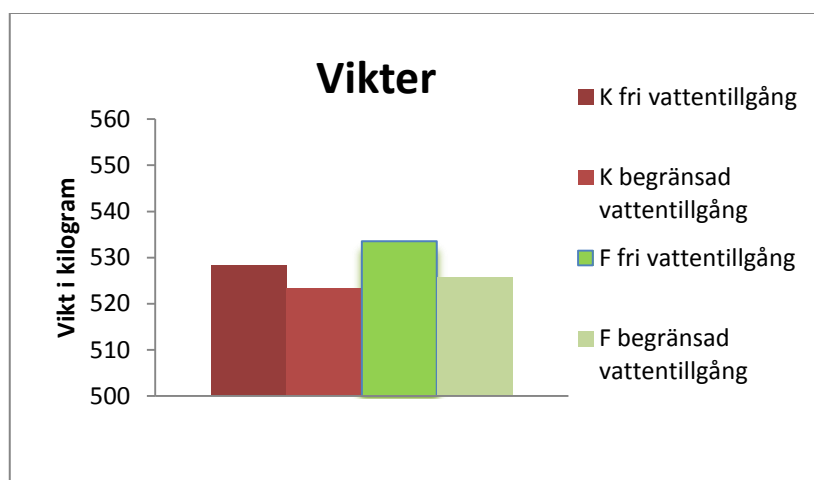


Figur 10. Osmolalitet under transportdagarna för alla hästarna. * = Signifikant högre värde på båda foderstaterna jämfört med blodprov 1, hemma. x = Signifikant högre värde på foderstat K jämfört med blodprov 1, hemma. SE=1,6.

Vattenintag & vikt

Vilodygn

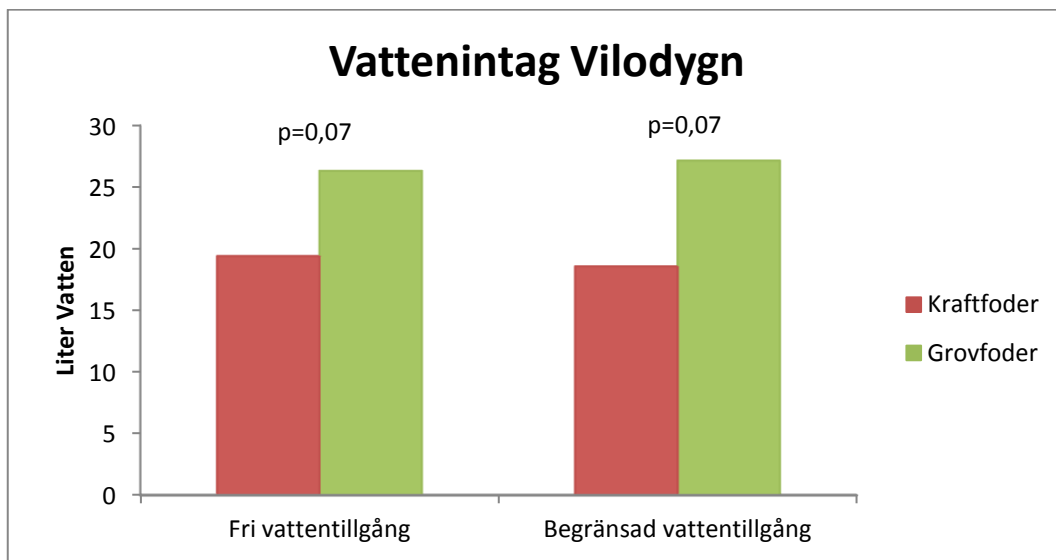
Ingen signifikant skillnad förelåg i kroppsvikt beroende på foderstat eller vattentillgång under vilodygnet, se figur 11.



Figur 11. Hästarnas vikter vid foderstat K samt F under vilodygnet. SE=26.

Hästarna hade ett högre vattenintag under vilodygnet på foderstat F men skillnaden var inte signifikant. Angående vattenintaget så skiljde sig hästarna mycket från individ till individ.

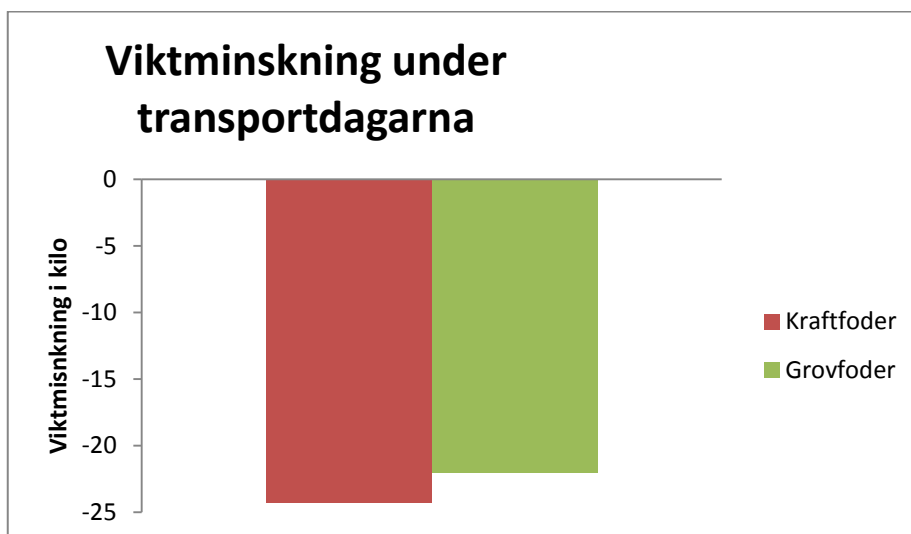
Vattenintaget skiljde sig inte beroende på om tillgången på vatten var fri eller begränsad på någon av foderstaterna. Däremot fanns en tendens ($p=0,07$) till signifikant högre vattenintag på foderstat F än K vid fri tillgång på vatten, se figur 11. Tendens ($p=0,07$) till signifikant skillnad fanns också vid begränsad vattentillgång då vattenintaget på foderstat F var högre än K, se figur 12.



Figur 12. Hästarnas vattenintag under vilodygnet på foderstat K och F. Tendens till signifikant skillnad mellan behandling F och K vid både fri och begränsad tillgång på vatten, $p=0,07$. $SE=2$.

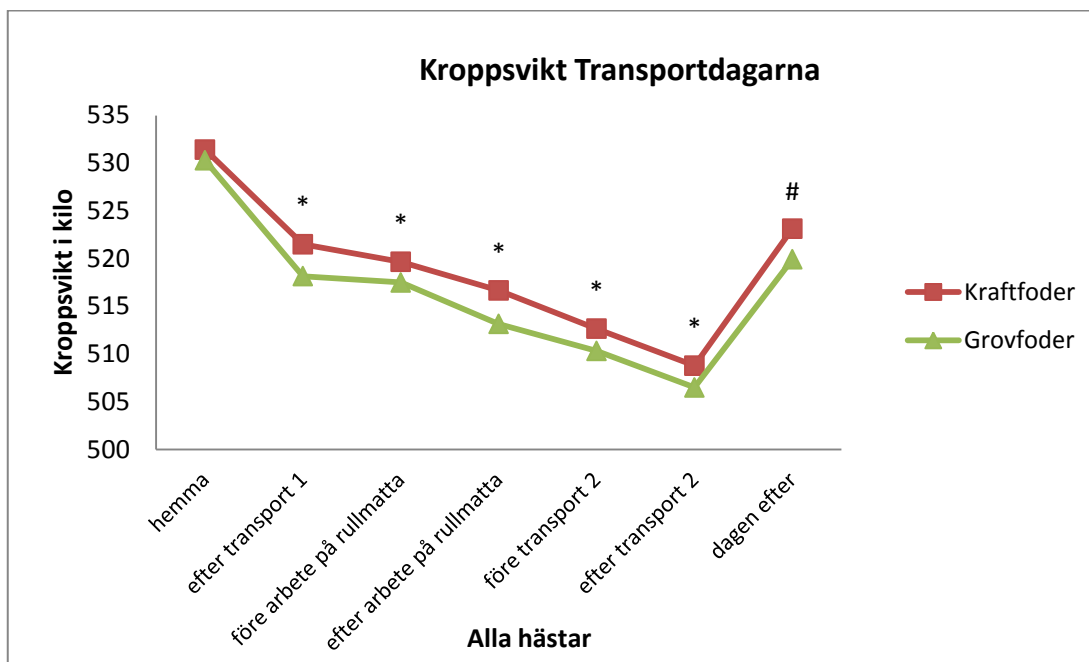
Under transportdagarna

Under transportdagarna förlorade hästarna mer i kroppsvikt på foderstat K än på foderstat F men skillnaden var inte signifikant, se figur 13.



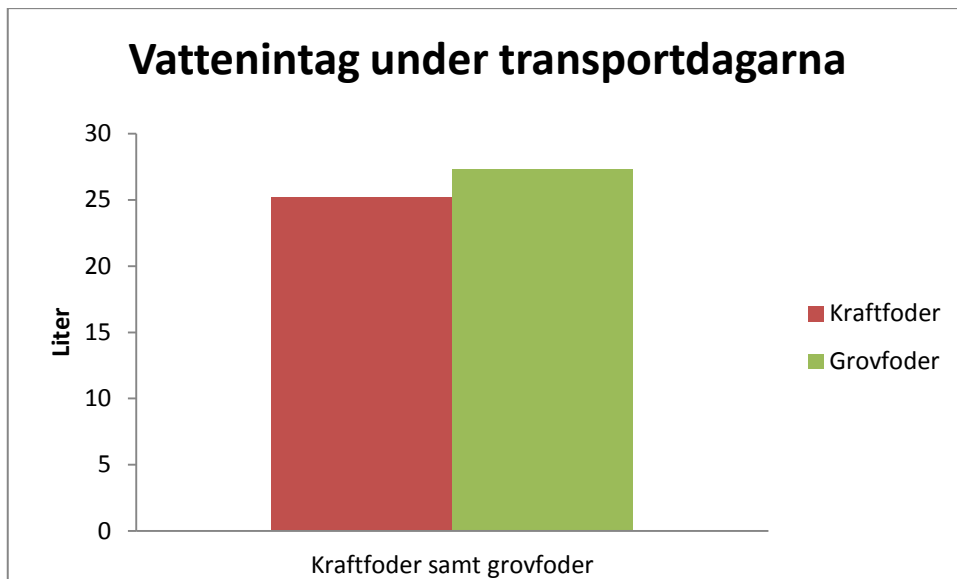
Figur 13. Hästarnas viktninskning under transportdagarna på foderstat K samt F. $SE=3$.

Hästarna förlorade i medeltal -24 kg i vikt under transportdagen på foderstat K, det vill säga -4,5% i kroppsvikt. På foderstat F förlorade hästarna i medeltal -22,5 kg det vill säga -4,2% i kroppsvikt. Skillnaden i viktnedgång mellan foderstaterna var inte signifikant. Hästarna visade procentuellt sett den största viktnedgången efter transport 1 då de på foderstat K förlorade -1,9% i kroppsvikt och på foderstat F -2,8% i kroppsvikt. Denna viktnedgång var statistiskt signifikant mot morgonvikten men inte mellan foderstaterna. Alla kroppsvikter under transportdagen på foderstat K var statistiskt signifikant lägre än första vikten på morgonen. Vikten morgonen efter transportdagen var lägre men skiljde sig inte signifikant från morgonvikten för transportdagen på foderstat K. På foderstat F var alla vikter under transportdagen signifikant lägre än morgonvikten. Även morgonvikten dagen efter transportdagen var signifikant lägre på foderstat F. Under arbetet på rullmatta förlorade hästarna endast -0,9% på foderstat K respektive -0,5% på foderstat F, se figur 14.



Figur 14. Hästarnas viktminskning under transportdagarna. * = Signifikant skillnad i vikt mot morgonvikten dag 1 båda foderstater. # = Signifikant skillnad på foderstat F mot morgonvikten dag 1. SE=3.

Under transportdagarna drack hästarna mer vatten på foderstat F än på foderstat K men skillnaden var inte signifikant, se figur 15.

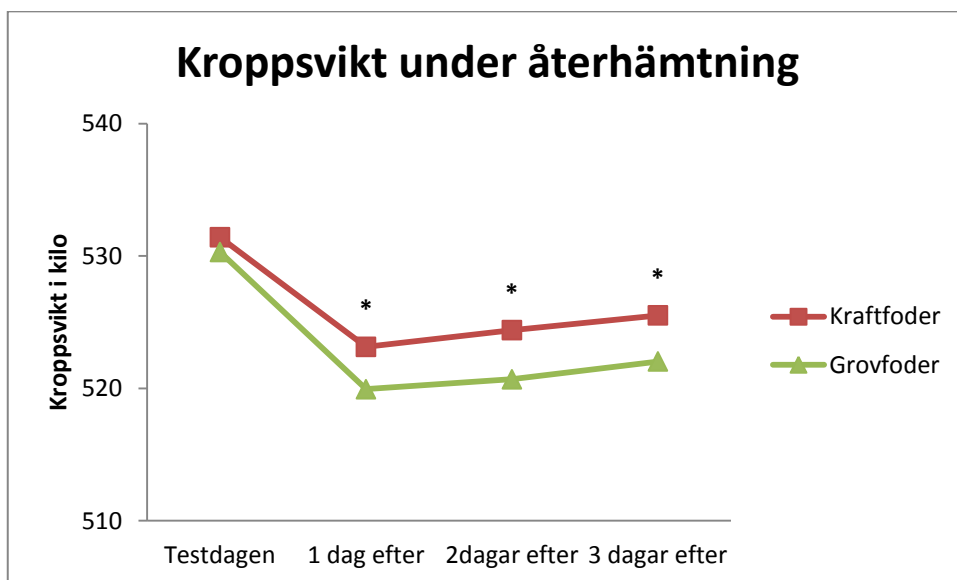


Figur 15. Vattenintag under transportdagarna på foderstat K samt F. SE=2.

Återhämtning

Hästarnas vikt och vattenintag fortsatte att mätas i tre dagar efter transportdagarna. Det var ingen av individerna som återhämtat sig till den ursprungliga kroppsvikt de hade innan transportdagen efter dessa mätdagar, se figur 16. Mätdag tre var kroppsvikten fortfarande signifikant lägre mot vikten på transportdagens morgon.

Det förelåg ingen signifikant skillnad i vattenintag mellan foderstaterna under återhämtningsdygnet.



Figur 16. Hästarnas kroppsvikt i medelvärde under transportdagarna och tre dagar efter. * = signifikant lägre kroppsvikt mot transportdagarna på båda foderstater.

DISKUSSION

Den första transporten (till Mälaren Hästklirik AB) gav inga signifikanta förändringar i några parametrar, dock gav den upphov till den största viktminskningen i procent under dagen. Pulsen vid lastning var starkt korrelerad till plasmakortisol efter transport. Under arbete på rullmatta påverkades alla parametrar signifikant och även om vikt förlusten var relativt liten så skedde det en omfördelning av kroppsvattnet hos hästarna. Under hela transportdagen låg hästarna högre i glukos- och kortisolkoncentration på foderstat K än foderstat F. Efter transporten hem hade hästarna återhämtat sig i alla parametrar förutom vikt förlusten som de inte heller hade återhämtat tre dagar efteråt. Detta visar att hästarna behövde äta och dricka ikapp i flera dygn för att återhämta förlorad kroppsvikt.

Transportens påverkan

Transporten gav ingen signifikant påverkan på någon av parametrarna. Inte heller pulsen under transport var högre än normal vilopuls. Detta skiljer sig från tidigare studier, t.ex. Waran & Cuddefords studie från 1995 då hästar som stod i en transport som rörde sig hade signifikant högre puls än hästar som stod i en transport som stod till. Hästarna i vår studie var dock vana att bli transporterade och alla hästarna transporterades i samma trailer. Detta kan ha bidragit till att de kände sig vana och trygga i transporten varför ingen pulshöjning kunde uppmätas. Däremot sågs en pulshöjning vid lastning som var högst vid första transportdagen (första transporten) och lägre vid andra transportdagen. Ingen av hästarna hade tidigare åkt med den transport som användes och detta kan ha bidragit till den mer uttalade pulshöjningen vid första transportdagen. I denna studie tycks vanan att bli transporterad ha bidragit till ett minskat stresspåslag och en lägre puls vid lastning andra transportdagen. Detta stämmer väl överrens med andra studier t.ex. Schmitd et als studie från 2010 i vilken slutsatsen var att hästarnas puls stiger signifikant vid lastning, men vid flera lastningstillfällen så minskar pulshöjningen för varje tillfälle. Hästarna vänjer sig med lastningsproceduren. Tyvärr satt pulsmätarna dåligt på hästarna i denna studie vilket måste betraktas som en felkälla och flera av hästarna saknar fullständiga mätningar. Vilken foderstat hästarna stod på vid transporteringsstillfället har inte påverkat dem i deras förmåga att hantera stress vid transport.

Pulsens vid första lastningen hemma var, som illustrerat i figur 4, starkt korrelerad till hästarnas plasmakortisol efter transporten. Desto högre puls en individ hade vid lastningen, desto högre plasmakortisol hade samma individ efter första transporten. Att en pulshöjning i en stress-situation ger en likartad höjning i plasmakortisol har tidigare visats på föl som frysmärks eller får ett mikrochip implanterat (Erber et al., 2011). Denna korrelation kan tänkas förklaras med en aktivering av sympatiska nervsystemet och därmed en högre puls samt utsöndring av mer ACTH-RH från hypothalamus. Detta tyder på, att trots en vilopuls under transport, så har hästarna påverkats av framförallt lastningen och fått ett visst "stress-påslag" i form av ökad puls och ökat plasmakortisol. Figur 4 visar också på den stora skillnaden mellan individerna i denna studie.

Under transporterung utför hästarna ett visst fysiskt muskelarbete genom att parera för skakningar och vibrationer i transporten samt accelerering och inbromsning

(Waran & Cuddeford, 1995). Om det föreligger en förhöjd puls under transport bör man därför försöka analysera om den beror på stress eller på ett ökat muskelarbete. Eriksson & Poole diskuterar 2004 pulshöjning till följd av muskelarbete eller stress. De anser att hjärtfrekvensen sällan stiger till över 120 slag per minut till följd av stress. Men under transport råder sällan sådana krävande förhållanden att pulsen skulle stiga till över 120 slag per minut till följd av fysiskt muskelarbete, alltså kvarstår problemet att särskilja en stressbetingad pulshöjning från en arbetsfysiologisk. Det man då får ta i beaktande är hästens beteende i övrigt för att se om den verkar lugn eller stressad, detta diskuteras mer ingående längre fram i diskussionen.

För att få en uppfattning om den sammanlagt upplevda transportstressen kan man jämföra hästarnas puls med deras blodparametrar såsom kortisol, glukos och hematokrit. I denna studie stiger dessa värden under transporten men inga signifikanta skillnader kan påvisas. Om man däremot tittar på responsen på individnivå ser man att Häst 3 och Häst 4 hade ökning i plasmakortisol efter första transporten som motsvarade en ökning på 136-255% vid båda transportdagarna. Dessa individer upplever helt klart transporten och lastningen som mer stressande än de övriga hästarna eftersom samma individer också har de högsta pulsvärdena vid lastning båda transportdagarna. Avsaknaden av signifikans för de övriga blodparametrarna skulle kunna bero på att hästarna i studien var vana att transporteras och därmed inte blev så stressade av situationen. Avsaknaden av signifikant stegring för hematokrit talar för att inte heller en signifikant stegring har skett av adrenalin eller noradrenalin hos hästarna. Om ett sådant stresspåslag föreligger att adrenalin och noradrenalin ökar så drar mjälten ihop sig och bidrar till en ökning av hematokrit i blodet (Sjaastad et al., 2010). Detta verkar inte ha skett under transport i denna studie.

Transporten hade en signifikant påverkan på hästarnas vikt. Den största procentuella viktnedgången under dagen sågs efter transporten till Mälaren Hästklirik AB. Den var i medeltal -2,8% på foderstat F och -1,9% på foderstat K. Under hela transportdagen förlorade hästarna runt 4-5% i kroppsvikt och arbete på rullmattan motsvarade enbart runt 0% till -1,5% förlust i kroppsvikt. Transporten hade därmed en större betydelse för viktnedgången. Den stora procentuella viktnedgången efter transport torde tillskrivas andra faktorer än att hästarna inte hade tillgång på vatten och foder eftersom 2,5 timmar utan vatten och foder i vanliga fall inte kan förväntas leda till en så stor viktförlust. Det är mycket troligt att en ökad defekationsfrekvens och eventuellt även urinerings kan ligga till grund för en snabb, stor viktnedgång. När hästar blir stressade och hjärtfrekvensen (samt blodtrycket) går upp så ökar urinproduktionen p.g.a. att mer blod passerar njurarna per minut (Sjaastad et al., 2010). Nu var inte pulsen så hög under transport när vi mätte den 30 min in i transport, men det kan tänkas att den initiala pulshöjningen vid lastning har gett upphov till en ökad urinproduktion. Mest troligt är att viktnedgången beror på att hästarna avger träck på transporten och därigenom snabbt förlorar mycket vikt.

Hästarna i denna studie bedömdes överlag inte bli särskilt stressade av transporten utan den största påverkan var att de tappade i kroppsvikt. Däremot finns det helt klart en individvariation och hästar i allmänhet anses ofta uppleva en viss stress i samband med transporter. Som nämnts tidigare så kan många faktorer bidra till stress under transport. En ny miljö, social stress, värme, och ett något ökat

muskelarbeta skulle kunna bidra till en stress som kan ha betydelse för viktnedgången. Däremot verkar foderstaten inte ha någon betydelse då viktnedgången mellan foderstaterna inte är signifikant samt inte heller puls eller blodparametrar skiljer under och efter transport beroende på foderstat.

Arbete

Hästarna i denna studie hade under transportdagen en signifikant högre kortisolkoncentration över dagen på foderstat K än på foderstat F. Även värdet vid blodprov 1 på morgonen var högre på foderstat K än foderstat F även om skillnaden inte var signifikant. Det förelåg inte heller någon signifikant skillnad i kortisolkoncentration mellan foderstaterna vid något enstaka blodprov, men det bör noteras att kortisolvärdet ligger lägre på F än på K vid alla provtagningstillfällen. Detta tyder på att hästarnas kortisolvärden har påverkats av den foderstat de utfodras med. Foderstat K har ett högre stärkelseinnehåll och ger troligen en annan metabolism där hästarna använder mer glykogenä ämnen än på foderstat F. Foderstat F ger vid metabolisering mer flyktiga fettsyror och hästarna på foderstat F har troligen en högre fettmetabolism. Detta skulle i sin tur kunna påverka muskelmetabolismen. Det pågår en hel del forskning kring metabolisk respons hos häst beroende på foderstat men få studier görs med fokus på kortisol i samband med arbete. Många av de studier som är gjorda fokuserar på glukos- och insulinmetabolismen eller skillnaden vid arbete mellan foderstater med hög sockerhalt och foderstater med hög fetthalt. Finno et al. visade 2010 att hästar har högre blodglukos efter en stärkelsesrik måltid än en fettrik måltid samt att hästar i god kondition har högre glukos och kortisolvärden efter måltid än otränade hästar. Stewart-Hunt et al. visade 2010 att otränade hästar på en stärkelsesrik foderstat ökade sitt glykogenförråd och sin glukosmetabolism i musklerna. Hittills har dock inga studier direkt påvisat ett förändrat glukosvärde vid arbete eller hos vältränade individer beroende på foderstat (Connysson et al., 2010; Stull & Rodiek, 1988). Eftersom det idag finns få studier som berör hästarnas kortisolkoncentration vid arbete på olika foderstater är fler studier inom detta område önskvärda, så att foderstatens effekter på metabolismen kan utvärderas bättre. I denna studie följer glukoskurvan kortisolkurvan ganska väl. I motsats till tidigare nämnd forskning förligger det en signifikant skillnad mellan foderstaterna då glukosvärdena över dagen är högre på foderstat K än på foderstat F. Det högsta värdet på glukos uppmäts vid blodprov 7, direkt efter arbete, på båda foderstater. Det finns många studier med liknande resultat, bland annat Kedzierski et als studie från 2009 utförd på fullblodsgaloppörer och arabiska fullblod. De hade ett högsta värde av blodglukos direkt efter ett utförd arbetstest på galoppbana. I Kedzierski et als studie togs ingen hänsyn till den foderstat hästarna stod på.

På foderstat F hade alla prov som togs under arbete på rullmatta ett signifikant högre kortisolvärde än blodprov 1 som togs hemma på morgonen. På foderstat K var endast blodprov 7, direkt efter arbete, signifikant högre än morgonprovet. Vid detta blodprov, 7, uppmätte båda foderstaterna det allra högsta kortisolvärdet på runt 220 nmol/liter. Att kortisolkoncentrationerna under arbete enbart är signifikant förhöjda på foderstat F tolkas bero på att kortisolvärdet vid blodprov 1 var lägre på foderstat F än på K. Det medför att en signifikant skillnad fås då den procentuella höjningen i kortisolkoncentration är högre på foderstat F än K trots att hästarna på foderstat K konstant har ett högre värde på kortisolkoncentrationen. På foderstat F är även blodprov 8, direkt efter transport hem,

signifikant högre än blodprov 1. Det gäller inte för foderstat K. Dock måste man även här tänka på att den procentuella nedgången mellan blodprov 7 och 8 är större (dock inte signifikant) på foderstat F och återhämtningen därmed kan tänkas vara snabbare, alltså sänks kortisolhalten i blodet snabbare på foderstat F. Men det faktum att kortisolkoncentrationen hela tiden är lägre, samt sjunker snabbare på foderstat F, framgår inte om man bara ser till statistiken. Att hästarna på foderstat K har ett högre initialt kortisolvärde än hästarna på foderstat F kan tolkas som att de inte behöver ett lika stort kortislopåslag vid arbete och skillnaden mot värdet innan arbete därmed inte blir så stor. Det kan också tänkas vara en del i förklaringen till den generella uppfattningen bland hästmänniskor om att hästar som utfodras med mycket kraftfoder är mer ”heta”, ”tittiga”, och ”på tårna” än hästar som utfodras med mer grovfoder. Inte heller inom detta område finns det många studier gjorda och fler studier som berör foderstat och temperament efterfrågas. En av få studier gjorda på senare år är Nicol et al. studie från 2005. Där studerades föl som fick äta en hög socker- eller en hög fett- och fiberfoderstat. I ett beteende-test utfört efter avvänjning verkade de föl som fått äta foderstaten med mycket fett och fiber lugnare och mer stabila i sitt temperament än de föl som fått äta foderstaten med högt sockernehåll. Resultaten från Nicol et al. och resultaten från denna studie indikerar på att detta är ett intressant framtida forskningsområde.

Det finns studier som använder sig av ett påvisat högt kortisolvärde under arbete (t.ex. banhoppning) för att påstå att hästarna blir stressade av dessa aktiviteter (Cayado et al., 2006; Fazio et al., 2008). De kan framföras en viss kritik mot användandet av ett förhöjt kortisolvärde under arbete för att påvisa stress hos en individ. Att kortisolkoncentrationen i blodet hos häst ökar drastiskt då fysiskt arbete påbörjas och sjunker igen då det avslutas är känt sedan över ett decennium tillbaka. Mekanismerna till ökat kortisol under träning är dock fortfarande inte helt klarlagda. Enligt många läroböcker så aktiveras det sympatiska nervsystemet vid fysisk aktivitet och därmed ökar också utsöndringen av ACTH och kortisol. Därför ses högre koncentrationer av kortisol i blodet under och efter arbete hos de flesta djurslag. Kortisol stimulerar glukoneogenesen och bidrar således till ökad omvandling av aminosyror till nytt glukos som kroppens muskler behöver vid arbete (Champe et al., 2005). Det är den vanliga fysiologiska förklaringen till att högt kortisol (och glukos) uppmäts i samband med fysiskt arbete. Dock råder inte fullständigt samtycke till att aktiveringen av sympatiska nervsystemet skulle vara den enda orsaken till ett ökat kortisolvärde under arbete. Lassourd et al. (1996) belyser att mekanismerna till den kraftiga kortisolökningen i blodet vid träning fortfarande inte är klarlagda. Lassourd et al. vill i sin artikel också särskilja den fysiologiska kortisolhöjningen från den mer psykologiska, stressrelaterade kortisolhöjningen. Enligt deras studie kan inte kortisolhöjningen vid arbete enbart förklaras med aktiveringen av det sympatiska nervsystemet och en stressrelaterad ökad utsöndring av ACTH-RH. Lassourd et al. föreslår istället ett direkt samband mellan rörelse och muskelaktivitet som skulle verka genom att afferenta nerver ökar kortisolutsöndringen direkt från binjurecortex när nerverna stimuleras vid muskelarbete. Denna teori har i försök på människa och katter visat sig ha belägg (Kjaer et al., 1989; Vissing et al., 1994). Sammanfattat menar Lassourd et al. (1996) att det är muskelarbetet och muskelaktiveringen i sig som bidrar till det snabbt förhöjda kortisolvärdet under arbete.

Precis som Lassourd et al. (1996) påpekar så ger fysisk aktivitet (träning och arbete) en ökning av plasmakortisol och likaså ger även psykologisk stress (ex. transport) en likartad ökning (Erickson & Poole, 2004), vilket kan göra det svårt att utvärdera vad som är orsaken till ett högre kortisolvärde. I föreliggande studie får man därför skilja ett högt kortisolvärde som fås vid arbete på rullmatta mot ett högt kortisolvärde efter en stresspåverkan. För att kunna skilja om ett högt kortisolvärde hos en individ härrör från psykisk stress (upplevd oförmåga att hantera en situation) eller ökat fysiskt arbete får man titta på individen utifrån flera perspektiv. Hästar kan uppleva psykisk stress och rädsla från flertalet faktorer, bland annat hantering, fasthållning och nya, okända situationer. De kan också uppleva fysisk stress såsom törst, hunger, utmattning, skada eller värmestress. Under en tävlingsdag med transport och arbete kan det tänkas att hästarna upplever både psykisk och fysisk stress. Hur pass stressad en individ blir i en situation kan också bero på tidigare erfarenheter från liknande situationer (Grandin, 1997). Man kan utvärdera stress genom att följa blodparametrar och hjärtfrekvens men det är även viktigt att ta hänsyn till hästens beteende. För att avgöra om en häst är stressad så är det nödvändigt att besitta god kunskap om hästens naturliga beteende (Jensen, 1996). Tydliga signaler som hästen använder för att uttrycka sig är kroppshållning, rörelser, mimik och ibland även vokalisering (Simonsen, 1999). Beteenden som tyder på stress är flyktbeteenden och försök att slå sig fri, skrapningar med hovar i underlag eller sparkar i väggar, rullande med ögonvitor, vidgade näsborrar, upphöjd huvudposition, ointresse av föda och vatten, ökad defektering samt urinering (Haupt, 1998; Jensen, 1996; Simonsen, 1999). Observationer av hästens beteende måste så vägas samman med dess fysiologiska parametrar för att kunna utvärdera om t.ex. ett ökat kortisolvärde härrör från stress eller rent muskelarbete eller både och. Detta får illustreras genom ett direkt citat från Per Jensens bok ”Stress i djurvärlden” (1996): *”Fysiologiska mått kommer alltid att vara hörnstenar i stressforskningen men de kommer aldrig att kunna förstås i detalj om man inte ser dem mot bakgrund av djurens beteende”*.

Vätskeparametrar under transportdagarna

Under transportdagarna hade hästarna signifikant högre TPP på foderstat K än F. Under arbete på rullmatta steg TPP signifikant på båda foderstater. TPP steg högre på foderstat K men skillnaden var inte signifikant. Tidigare studier (Pagan & Harris, 1999) har visat motsatta resultat som istället säger att TPP stiger mer på en foderstat bestående av mycket grovfoder (F) än vad det stiger på kraftfoder. Pagan & Harris har förklarat detta med att ett ökat fiberinnehåll i födan skulle leda till mer salivproduktion och att mer vatten går in i tarmen och binds upp av fibrerna i födan. Det som gjorde att Pagan & Harris kom fram till den slutsatsen var att hästarna i deras studie utfodrades precis innan ett arbetstest. Hästarna i föreliggande studie utfodrades på morgonen innan transport och fick sedan inte tillgång till någon föda innan sitt arbetstest. Tiden mellan utfodring och arbete har därmed haft betydelse för värdet på TPP. Att TPP är lägre under transportdagen på foderstat F kan tyda på en större plasmavolym och en förmåga att mobilisera vätska från grovtarmen. Även det faktum att blodprov nummer 7 under transportdagen, direkt efter arbete på rullmatta, är signifikant högt mot blodprov 1 på foderstat K men inte på foderstat F tyder på att en viss omfördelning av vätska kan ha skett på foderstat F. Denna omfördelning skulle då kunna vara vätska från

mag-tarmkanalen som gått ut i blodet och håller TPP på en lägre nivå. Meyer visade redan 1987 att beroende på foderstat kan hästarna absorbera olika mycket vätska från mag-tarmkanalen. TPP är en indikator på uttorkning (Erickson & Poole, 2004) och det faktum att TPP är signifikant lägre på foderstat F hela transportdagen än på foderstat K kan tyda på att hästarna är bättre på att kompensera för en uttorkning vid transport och arbete på foderstat F. Vid det sista blodprovet under transportdagen, efter transport hem, hade hästarna återhämtat sig till ett värde på TPP som inte skiljde signifikant från deras ursprungliga TPP nivå. Vid blodprov 9, morgonen efter, hade hästarna återhämtat sig helt till ursprunglig TPP nivå. Vid blodprov nio hade hästarna haft fri tillgång till vatten under natten och detta visar på det viktiga i att ge hästarna foder och fri tillgång på vatten för att återhämta sig från dehydreringen. Förutom vatten är det viktigt att ersätta saltförluster till hästar som har utfört hårt arbete och därmed svettats och förlorat mycket elektrolyter. 1996 visade Nyman et al. att hästar som erbjöds 0,9% NaCl lösning under och efter ett distanslopp drack en större mängd än hästar som endast erbjöds vatten. Hästarna som erbjöds NaCl lösningen återhämtade även sin TPP koncentration snabbare. Hästarna i föreliggande studie fick 50 g NaCl tillsatt i fodret de dagar de arbetade (kördes).

Under transportdagen låg hästarna högre i osmolalitet på foderstat K än på F men skillnaden var inte signifikant. Trots det så följer osmolaliteten värdena för TPP och även osmolaliteten ökade signifikant under arbete på båda foderstater. Osmolaliteten ökar för att hästarna inte har tillgång till vatten under transport och arbete samt att de förlorar vätska och elektrolyter via svett. Även osmolaliteten är lägre på foderstat F vilket ytterligare tyder på att en viss omfördelning av vätska har skett. Osmolaliteten var som allra högst under arbete på båda foderstaterna och återhämtade sig snabbt efter avslutat arbete, ingen skillnad beroende på foderstat förelåg.

Trots att TPP (men inte osmolaliteten) skiljde signifikant mellan foderstaterna under transportdagarna så fanns det ingen signifikant skillnad i vattenintag beroende på foderstat. Dock hade hästarna i studien inte tillgång till vatten under transportdagarna. De fick möjlighet att dricka först när de kom hem till stallet på kvällen, ca 20.30. Det är därmed möjligt att de inte hann dricka sin önskade mängd vatten under dygnet. Med tanke på det talar det också för att hästarna bättre kompenserar för dehydrering, arbete och minskat vätskeintag på foderstat F än på foderstat K. Detta eftersom de, trots att de inte hade tillgång på vatten, bibehöll TPP på lägre värden på foderstat F än på foderstat K. Det är också troligt att om hästarna hade haft fri tillgång till vatten under transportdagarna så hade man sett samma tendens till högre vattenintag på foderstat F än på K som sågs under vilodygnet.

Hästarna i denna studie vägde något mer (ej signifikant skillnad) på foderstat K än på foderstat F under transportdagarna. Detta skiljer sig från flertalet tidigare studiers resultat då hästarna vägt mer på en grovfoderstat än en kraftfoderstat (Connysson et al., 2010; Ellis et al., 2002). Att kroppsvikten borde vara högre på en grovfoderrik foderstat förklaras av Ellis et al. (2002) med att hästarna måste äta mer massa (kilo) foder för att få i sig samma mängd energi än vad de behöver äta på en kraftfoderrik foderstat. Därmed blir det ett större och tyngre innehåll i mag-tarmkanalen. Den förklaringen håller enbart om man har ett grovfoder med lågt energi-innehåll. Hästarna i denna studie åt ett energi-rikt grovfoder och den totala

mängden föda i kilo skiljer sig inte särskilt mellan foderstaterna i denna studie, se tabell 1 och 2. Förklaringen till att hästarna i föreliggande studie väger mer på kraftfoderstaten kan ligga i att analysvärdena för hösilaget inte stämmer och hästarna därmed kan ha fått i sig för lite energi mot vad de borde i förhållande till sitt behov. Den teorin stärks av att hästarna som åt grovfoder i period 1 tappade något i hull (detta syntes framförallt över kors och rygg där kroppsmassan minskade). Därför ökades energiintaget för de hästar som åt grovfoder i period 2.

Återhämtning

Det är intressant att notera att ingen av de sex hästarna återhämtade sin ursprungliga kroppsvikt på tre dagar efter transportdagarna. Det har tidigare visats att hästar i varm och fuktig miljö behöver runt 7 dagar på sig för att återhämta sig efter en transport (med flyg) med en påföljande förlust i kroppsvikt på ca 4% (Marlin et al., 2001), vilket är samma förlust som hästarna i föreliggande studie hade efter transportdagarna. Det kan då tänka sig att även hästarna i denna studie skulle behöva runt sju dagar på sig för att återhämta viktförlusten helt. Det som dock skiljer Marlin et als studie radikalt från denna är att hästarna i föreliggande studie stod i uteboxar i ett vinterklimat med en temperatur som varierade mellan -19,8 och +14,8 grader, medans hästarna i Marlin et als studie vistades i ett subtropiskt klimat med en medeltemperatur på +27 grader. Överlag finns det få studier som beskriver hästars träningsfysiologi och återhämtningsförmåga i ett kallt nordiskt vinterklimat och därför efterfrågas fler sådana studier. En trolig felkälla i denna studie är att det var så kallt att vattnet i hästarnas hinkar frös över natten vid åtminstone ett tillfälle. Hästarna hade inget vatten ute i hagen, däremot hade de tillgång till snö som de kan ha ätit. Det kan därför tänkas att uppmätt vattenintag och faktiskt vattenintag inte stämmer överrens helt, samt att hästarna eventuellt skulle ha druckit en större mängd om vattnet inte frusit. Detta skulle teoretiskt kunna vara en förklaring till den långsamma återhämtningen hos hästarna i denna studie. Ett par individer lämnade också en del av sitt grovfoder under första återhämtningsdygnet vilket kan ha gett en långsammare återhämtning i och med ett för litet energiintag. I Marlin et als studie från 2001 hade de även med en jämförelse när samma hästar transporterades i Europa med trailer (till Frankfurt) innan en flygning över Atlanten. Under denna vägtransport förlorade hästarna också ca 4,5% i kroppsvikt men i det Europeiska klimatet återhämtade dessa hästar sin kroppsvikt på 3-4 dagar. Det är således troligt att även hästarna i vinterklimatet hade återhämtat sig om kroppsvikten fortsatt att mätas i 1-2 dagar till. Men det är värt att uppmärksamma och notera hur pass lång återhämtningen efter en tävlingsdag kan vara för våra sporthästar. Det belyser vikten av att alltid ge hästen fri tillgång till vatten och föda under transporter och på tävlingsplatser så att de har en chans att kompensera en del av de ökade vätskeförlusterna med ett visst intag. Det belyser också vikten av att se till helheten hur hästen påverkas av en tävlingsdag. Om vi bara hade sett till de blodparametrar vi mätte så hade hästarna återhämtat sig redan när de kom tillbaka till stallet på kvällen. Om man däremot ser till viktförlusten så tar det många dagar för hästarna att återhämta sig från den krävande transportdagen.

Vila

Alla blodparametrar var som förväntat signifikant lägre under vilodygnet än under transportdagarna. Det fanns en tendens till signifikant högre vattenintag då

hästarna i vila åt foderstat F ($P=0,07$) vid både fri och begränsad vattentillgång. Detta stämmer väl överrens med många tidigare observationer om att hästar har ett högre vattenintag på grovfoder än på kraftfoder (Conysson et al., 2010; Ellis et al., 2002; Fannesbeck, 1968). Förutom de anledningar som togs upp i bakgrunden till ett högre vattenintag på grovfoder (högt fiberinnehåll som binder vatten, ökad salivsekretion och vätskeinsöndring till tarmen) kan man tänka sig ytterligare faktorer som borde ge ett högre vattenintag på grovfoder. När hästarna äter grovfoder spenderar de mer tid över dygnet med att äta och de tuggar därmed mer frekvent (Willard et al., 1977). Mycket energi används när käkmuskulaturen hela tiden är aktiv och värmeproduktionen ökar därmed. Den mikrobiella förjäsningen av fodret i grovtarmen torde också kunna bidra till en högre värmeproduktion på en grovfoderstat. Högre värmeproduktion skulle således kunna bidra till ett högre vätskebehov. I enlighet med tidigare studier (Connysson et al., 2010) hade hästarna i föreliggande studie signifikant lägre TPP på foderstat F än K vid vila och fri tillgång på vatten, en indikation på en större cirkulerande plasmavolym. Dock sågs ingen signifikant skillnad i TPP vid begränsad tillgång på vatten i vila. Inte heller förelåg någon signifikant skillnad inom foderstaterna (F samt K) beroende på om vattentillgången var fri eller begränsad. Detta stödjer teorin om att hästar som äter grovfoder har en större vätskereservoar (i form av cirkulerande plasmavolym) men stödjer inte direkt teorin om att de skulle kunna mobilisera denna vätskereservoar eftersom ingen signifikant skillnad kan ses i TPP under dygnet med begränsad tillgång på vatten. Det kan i sammanhanget poängteras att eftersom vattenintaget inte skiljde signifikant mellan foderstaterna i denna studie är det att vänta att inte heller TPP skiljer sig signifikant mellan foderstaterna. Om skillnaden i vattenintag hade varit större kunde man också förvänta sig att vätskereserv och cirkulerande plasmavolym skulle skilja sig mer mellan foderstaterna. En anledning till att vi enbart såg tendenser till signifikanta skillnader i vattenintag beroende på foderstat och vattentillgång kan vara att tiden som hästarna hade begränsad tillgång till vatten inte var särskilt lång. Hästarna med fri tillgång till vatten hade vatten i sina boxar hela dygnet förutom mellan 10.00 och 15.00. Denna begränsning gjordes av praktiska skäl så att dagarna skulle bli så lika varandra som möjligt eftersom hästarna inte hade tillgång till vatten ute i hagen. Hästarna på begränsad tillgång till vatten hade inget vatten mellan 07.00 och 18.00. Det betyder att deras vattentillgång begränsades tre timmar före hästarna med fri tillgång, samt att de fick tillgång till vatten igen tre timmar efter hästarna med fri tillgång. Det ger sammanlagt en skillnad på sex timmar över hela dygnet, tre timmar på förmiddagen och tre timmar på eftermiddagen. Det kan tänkas att denna tidsperiod inte var tillräcklig för att påvisa signifikanta skillnader och att resultaten hade blivit annorlunda om de som hade fri tillgång till vatten hade haft fri tillgång i 24 timmar och de som hade begränsad tillgång hade haft begränsad tillgång i 12 timmar. Det vore intressant att studera närmare eftersom det kan se ut så i verkligheten då vissa hästar släpps ut i hagen sju på morgonen och inte tas in förrän sju på kvällen igen. I nordiska vinterklimat kan de då bli utan vatten under hela hagvistelsen eftersom vattnet utomhus lätt kan frysa.

SLUTSATS

Hästarnas förmåga att hantera stress och dehydrering under transport skiljer sig inte beroende på vilken foderstat de utfodras med. Pulsen vid lastning var starkt korrelerad till kortisolvärdet efter transport. Hästarnas vätskeförlust (viktförlust) under arbete påverkades inte av deras foderstat. Hästarnas glukos- och kortisolkoncentration under arbete (och hela transportdagen) var signifikant högre på foderstat K än F vilket tyder på en ändrad metabolism beroende på foderstat. Detta bör utvärderas i mer detaljerade studier framöver. Det finns en tendens till att hästarna har ett högre vattenintag i vila på foderstat F än K samt att TPP är lägre på foderstat F, men inga andra säkra slutsatser kan dras angående vätskebalansen i vila beroende på foderstat utifrån resultaten i föreliggande studie.

Hästarna påverkas av transporten och utsätts för en liten stress i och med att kortisol, glukos och hematokrit stiger efter transport 1 till Mälaren Hästklirik AB. Dock är stigningen inte signifikant för någon av parametrarna och hjärtfrekvensen är enbart förhöjd vid lastningen och inte under själva transporten. Hästarna i vår studie klarar därmed att hantera transportstressen bra. Ingen skillnad föreligger i förmågan att klara transportstress beroende på vilken foderstat hästarna äter. Det som påverkar hästarna mest efter transporten och transportdagarna är den omfattande vätskeförlusten men inte heller den skiljer sig beroende av foderstat. Däremot kan det tänkas att hästarna på foderstat F är bättre på att kompensera för en lätt dehydrering under transport och arbete eftersom de hela tiden ligger lägre i TPP. Återhämtningen dagarna efter skiljer sig inte heller beroende på foderstat, ingen av hästarna hade återhämtat sig till ursprunglig kroppsvikt på tre dagar. Den största utmaningen för våra sporthästar idag tycks därmed vara att återhämta sig från en stor dehydrering och vätskeförlust under en tävlingsdag med transporter och arbete. Det är därmed av yttersta vikt att tränare och hästägare är medvetna om detta och gör allt för att ge hästarna fri tillgång till vatten och uppmana dem att dricka.

TACK

Ett stort tack till min handledare Kristina Dahlborn som med gott mod svarat på alla mina frågor. Jag vill också rikta ett stort tack till min pojkvän och min familj som hjälpt mig mycket, som läst igenom arbetet flera gånger och framförallt stått ut med mitt humör de stunder det inte varit på topp. Tack till Gunilla Drugge som hjälpte mig att analysera plasmakortisol samt glukos. Tack Sara Nyman för trevligt sällskap under de praktiska försöken och för kommentarerna angående arbetet. Även ett tack till Urban Blomquist Hästtransporter AB som transporterade hästarna båda transportdagarna. Jag vill också tacka alla andra som hjälpt mig med examensarbetet, ingen nämnd, ingen glömd.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Andersson, B. 1978. Regulation of Water Intake. *Physiological Reviews* Vol 58, No 3, 582-603.
- Blancou, J. & Parsonson, I. 2008. Historical perspectives on long distance transport of animals. *Veterinaria Italiana* 44, 19-30.
- Boyd, L., Carbonaro, A., Houpt, K.A. 1988. The 24-hour time budget of Przewalski horses. *Applied Animal Behavioural Science* 21, 5-17.
- Carlson, G.P. 1999. *Regulation of body fluids and electrolytes*. University of California at Davis.
- Carlson, G.P. 1987. Hematology and body fluids in the equine athlete: A review. In: Gillespie J.R & Robinson N.E (eds.) *Equine Exercise Physiology* 2, 393-425.
- Cayado, P., Muñoz-Escassi, B., Dominguez, C., Manley, W., Olabarri, B., Sánchez de la Muela, M., Castejon, F., Marañón, G., Vara, E. 2006. Hormone response to training and competition in athletic horses. *Equine Exercise Physiology 7. Equine Veterinary Journal Supplement* 36, 274-278.
- Champe, P.C., Harvey, R.A., Ferrier, D.R. 2005. *Biochemistry 3rd edition*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, USA.
- Connysson, M., Essén-Gustavsson, B., Lindberg, J.E., Jansson, A. 2010. Effects of feed deprivation on Standardbred horses fed a forage-only diet and a 50:50 forage-oats diet. *Equine Veterinary Journal* 42, 335-340.
- Connysson, M., Muhonen, S., Lindeberg, J.E., Essén-Gustavsson, B., Numan, G., Nostell, K., Jansson, A. 2006. Effects on exercise response, fluid and acid-base balance of protein intake from forage-only diets in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal Supplement* 26, 648-653.
- Duncan, P. 1980. Time-budgets of Camargue horses II. Time budgets of adult horses and weaned sub-adults. *Behaviour* 72, 26-48.
- Ellis, J.M., Hollands, T., Allen, D.E. 2002. Effect of forage intake on bodyweight and performance. *Equine Exercise Physiology 6. Equine Veterinary Journal Supplement* 34, 66-70.
- Erber, R., Wulf, M., Becker-Birck, M., Kaps, S., Aurich, J.E., Möstl, E., Aurich, C. 2011. Physiological and behavioural responses of young horses to hot iron branding and microchip implantation. *The Veterinary Journal*, In press, corrected proof, available online 13 september 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.08.008>
- Erickson, H.H. & Poole, D.C. 2004. *Duke's physiology of domestic animals. Twelfth edition*. Cornell University Press, New York, USA.
- Fazio, E. & Ferlazzo, A. 2003. Evaluation of stress during transport. *Veterinary Research Communications* 27, 519-524.
- Fazio, E., Medica, P., Aronica, V., Grasso, L., Ferlazzo, A. 2008. Circulating beta-endorphin, adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels of stallions before and after short road transport: stress effect of different distances. *Acta Veterinaria Scandinavica* 3;50:6
- Finno, C.J., McKenzie, E., Valberg, S.J., Pagan, J. 2010. Effect of fitness on glucose, insulin and cortisol responses to diets varying in starch and fat content in Thoroughbred horses with recurrent exertional rhabdomyolysis. *Equine Veterinary Journal* 42, 323-328.
- Fonnesbeck, P. 1968. Consumption and excretion of water by horses receiving all hay and hay-grain diets. *Journal of Animal Science* 27, 1350-1356.

- Friend, T.H. 2000. Dehydration, stress, and water consumption of horses during long-distance commercial transport. *Journal of Animal Science*, 78:2568-2580.
- Grandin, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science* 75, 249-257.
- Hillerström, A., Jones B., Lilliehöök, I., Strage, E., Ström Holst, B., Öberg, J. 2009. *Kompendium i klinisk kemi*. Sveriges lantbruksuniversitet.
- Houpt, K. A. 1998. *Domestic animal behavior for veterinarians and animal scientists. Third Edition*. Iowa State Univeristy Press, Ames, Iowa, USA.
- Irvine, C.H.G. & Alexander, S.L. 1994. Factors affecting the circadian rhythm in plasma cortisol concentrations in the horse. *Domestic Animal Endocrinology* 11, 227-238.
- Janis, C. 1976. The evolutionary strategy of the equidae and the origins of rumen and cecal digestion. *Evolution* 30, 757-774.
- Jansson, A. 1999. *Sodium and potassium regulation with special reference to the athletic horse*. Akad.avh. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Jansson, A., Nyman, S., Lindholm, A., Lindberg, E. 2002. Effects of exercise metabolism of varying dietary starch and sugar proportions. *Equine Exercise Physiology* 6. *Equine Veterinary Journal Supplement* 34, 17-21.
- Jensen, P. 1996. *Stress i djurvärlden*. LT's förlag. Gummessons tryckeri, Falköping. Sverige.
- Kedzierski, W., Bergero, D., Assenza, A. 2009. Trends of hematological and biochemical values in the blood of young race horses during standardized field exercise tests. *Acta Veterinaria* 59, 457-466.
- Kjaer, M., Secher, NH., Bach, FW., Sheikh, S., Galbo H. 1989. Hormonal and metabolic response to exercise in humans: effect of sensory nervous blockade. *American Journal of Physiology* 257, 95-101.
- Lassourd, V., Gayraud, V., Laroute, V., Alvinerie, M., Benard, P., Courtot, D., Toutain, P.L. 1996. Cortisol disposition and production rate in horses during rest and exercise. *American Journal of Physiology* 271, 25-33.
- Lindberg, JE., Essén-Gustavsson, B., Dahlborn, K., Gottlieb-Vedi, M., Jansson, A. 2006. Exercise response, metabolism at rest and digestibility in athletic horses fed high-fat oats. *Equine Veterinary Journal Supplement* 36, 626-630.
- Marlin, D.J, Schroter, R.C., White, S.L., Maykuth, P., Matthesen, G., Mills, P.C., Waran, N., Harris, P. 2001. Recovery from transport and acclimatization of competition horses in a hot humid environment. *Equine Veterinary Journal* 33, 371-379.
- Mars, L.A., Kiesling, H.E., Ross, T.T, Armstrong, J.B., Murray, L. 1992. Water acceptance and intake in horses under shipping stress. *Equine Veterinary Science* 12, 17-20.
- Medica, P., Giacoppo, E., Fazio, E., Aveni F., Pellizzotto, R., Ferlazzo, A. 2010. Cortisol and heamatological variables of horses during a two day trekking event: effect of preliminary transport. *Equine Veterinary Journal* 42. 167-170.
- Meyer, H. 1987. Nutrition of the equine athlete. In Gillespie J.R- & Robinson N. E (eds.) *Equine Exercise Physiology* 2, ICEEP Publications Davis, CA, 644-673.
- Micera, E., Moramarco, A.M., Zarilli, A. 2012. Reduction of olfactory cognitive ability in horses during preslaughter: Stress-related hormones evaluation. *Meat Science* 90, 272-275.

- Nicol, C.J., Badnell-Waters, A.J., Bice, R., Kelland, A., Wilson, A.D., Harris, P.A. 2005. The effects of diet and weaning method on the behavior of young horses. *Applied Animal Behaviour Science* 95, 205-221.
- Nostell, K., Funkquist, P., Nyman, G., Essén-Gustavsson, B., Connysson, M., Muhonen, S., Jansson, A. 2006. The physiological responses to simulated race tests on a track and on a treadmill in Standardbred trotters. *Equine Veterinary Journal* 38, 123-127.
- Nyman, S. 2002. Water intake and fluid shift in horse: effects of hydration status during two exercise tests. *Equine Veterinary Journal* 34, 133-142.
- Nyman, S., Jansson, A., Dahlborn, K., Lindholm, A. 1996. Strategies for voluntary rehydration in horses during endurance exercise. *Equine Veterinary Journal* 22, 99-106.
- Pagan, J.D. & Harris, Pat. A., 1999. The effects of timing and amount of forage and grain on exercise response in Thoroughbred horses. *Equine Exercise Physiology 5. Equine Veterinary Journal Supplement* 30, 451-457.
- Rang, H.P. & Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J. 2007 (1987). *Rand and Dale's Pharmacology*. 6:e upplagan. Philadelphia. Elsevier.
- Revington, M. 1983. Hematology of the racing Thoroughbred, Australia 1: Reference values and the excitement. *Equine Veterinary Journal* 83, 141-144.
- Schmidt, A., Hödl, S., Möstl, E., Aurich, J., Müller, J., Aurich, C. 2010. Cortisol, heart rate and heart rate variability in transport-naïve horses during repeated road transport. *Domestic Animal Endocrinology* 39, 205-213.
- Simonsen, H B. 1999. *Hästens naturliga beteende och välbefinnande*. Svenska utgåvan. Natur och Kultur/LT's förlag. Århus, Danmark.
- Sjaastad O.V., Hove, K., Sand, O. 2010. *Physiology of Domestic Animals*. Second edition. Scandinavian Veterinary Press, Oslo, Norge.
- Stewart-Hunt, L., Pratt-Phillips, S., McCutcheon, L.J., Geor, R.J. 2010. Dietary energy source and physical conditioning affect insulin sensitivity and skeletal muscle glucose metabolism in horses. *Equine Veterinary Journal* 42, 355-360.
- Stull, C.L. 2008. Engineering and performance standards parameters for long distance road transport in the United States: the special case of horses. *Veterinaria Italiana*, 44(1):223-233.
- Stull, C.L. & Rodiek, A.V. 2000. Physiological response of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *Journal of Animal Science*, 78:1458-1466.
- Stull, C.L. & Rodiek, A.V. 1988. Responses of blood glucose, insulin and cortisol concentrations to common equine diets. *The Journal of Nutrition* 2, 206-213.
- Sweeting, M.P., Houpt, C.E., Houpt, K.A. 1985. Social facilitation and time budgets in stabled ponies. *Journal of Animal Science* 60, 369-374.
- Tinker, K., White, N.A, Lessard, P., Tatcher, C.D., Pelzer, K.D., David, B., Carmel, D.K. 1997. Prospective study of equine colic risk factors. *Equine Veterinary Journal* 29, 454-458.
- Van den Berg, J.S., Guthrie, A.J., Meintjes, R.A., Nurton, A.P., Adamson, D.A., Travers, C.w., Lund, R.J, Mostert, H.J. 1998. Water and electrolyte input and output in conditioned Thoroughbred horses transported by road. *Equine Veterinary Journal* 30, 316-323.

- Vissing, J., Iwamoto, GA., Fuchs, IE., Galbo, H., Mitchell, JH. Reflex control of glucoregulatory exercise responses by group III and group IV muscle afferents. *American Journal of Physiology* 266, 24-30.
- Waran, N.K, 1993. The behavior of horses during and after transport by road. *Equine Veterinary Education* 5, 129-132.
- Waran, N.K. & Cuddeford, D. 1995. Effects of loading and transporting on the heart rate and behavior of horses. *Applied Animal Behaviour Science* 43, 71-81.
- White, A., Reyes, A., Godoy, A., Martínez, R. 1991. Effects of transport and racing on ionic changes in thoroughbred race horses. *Comparative Biochemistry and Physiology* 99A, 343-346.
- Willard, J.G., Willard, S.A., Wolfram and Baker, J.P. 1977. Effect of diet on cecal pH and feeding behaviour of horses. *Journal of Animal Science* 45, 87-93.