

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat



Hormonální řízení reprodukčního cyklu klisen

Bakalářská práce

Autor práce: Michaela Králová

Obor studia: Živočišná produkce

Vedoucí práce: Ing. Martina Janošíková

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Hormonální řízení reprodukčního cyklu klisen“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18.4.2019

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Martině Janošíkové, za trpělivost, cenné rady, a odborné vedení bakalářské práce.

Hormonální řízení reprodukčního cyklu klisen

Souhrn

Evolučním významem výrazné pohlavní sezónnosti klisen je narození hříbat do optimálního období.

Řízení reprodukčního cyklu je závislé na délce světelného dne, výrazně ovlivňujícího jejich pohlavní aktivitu. Hormonální procesy organismu jsou řízeny neurohumorálně, tedy dvěma hlavními systémy. Koncentrace hormonů jsou regulovány prostřednictvím systému zpětné vazby, kde nadřazená centra ovládají centra podřízená a naopak. U řízení pohlavní činnosti platí hierarchické uspořádání. Kůra mozková ovlivňuje činnost reprodukčních funkcí. Díky fotoreceptorům na sítnici dochází k sekreci/inhibici melatoninu, který patří do skupiny serotogenních hormonů ovlivňujících pohlavní aktivitu klisny. Limbický systém řeší organismus více komplexně. Ovlivňuje hypotalamus, který hypotalamo-hypofyzárním portálním oběhem ovlivňuje sekreci hormonů hypofýzy. Zvláštností klisen je extrahypofyzární hormon equinní choriový gonadotropin, vyskytující se pouze u březích klisen. Specifita klisen spočívá i v perzistenci žlutých tělísek v průběhu březosti.

Reprodukční období klisen začíná dosažením chovatelské dospělosti a trvá do počátku období senia. Připouštěcí období začíná na počátku února. Díky technologiím stimulujičím časnější nástup plnohodnotných říjí tak můžeme získat hříbata narozená již v prvních měsících roku.

Klíčová slova: Hormony, klisna, reprodukční cyklus

Hormonal control of mares reproduction cycle

Summary

The evolutionary meaning of a significant mare sexual seasonality is the birth of the foal during the optimal season.

The control of the reproduction cycle is depended on the length of the daylight, which influence sexual activity very significantly. The hormonal processes of the organism are managed neurohumorally, which means that the two main systems are presented. The concentration of the hormones is regulated by a feedback system, where the superior center control the subordinate center and this mechanism is applicable conversely, too.

When we are talking about the control of the sexual activity it is valid and applied the hierarchical organization. The cerebral cortex influences the function of reproductive functions. The photoreceptors on eye retina cause the melatonin secretion/inhibition which belongs to the group of the serotogenic hormones influencing the mare's sexual activity. The limbic system solves the organisms more complexly. It influences the hypothalamus, which via hypothalamic-pituitary circulation influence the hypophysis hormone secretion. The peculiarity of mares is the extrahypophyseal hormone - equine chorionic gonadotropin, which can occur just in case of pregnant mares. The specialty contains the persistence of yellow bodies during pregnancy.

The reproduction period of mares begins by the achievement of breeding maturity and insist till the beginning of the senia period. The breeding season starts at the beginning of February. Thanks to the technologies, we are able to stimulate more often mare heat cycles, therefore we can welcome the first foals during the beginning of the spring.

Keywords: Hormones, mare, reproduction cycle

Obsah

Úvod.....	7
Cíl práce	8
Literární rešerše	9
3.1. Anatomie pohlavní soustavy klisny	9
3.1.1. Vaječník	9
3.1.2. Vejcovod (tuba uterina)	9
3.1.3. Děloha	10
3.1.4. Pochva (vagina)	10
3.1.5. Poševní předsíň, vulva	11
3.2 Pohlavní cyklus klisen	11
3.2.1 Anestrie	11
3.2.1 Pohlavní cyklus	12
3.2.2 Pohlavní vytrálost	13
3.2.3 Reprodukční buňka a její vývoj	14
3.2.4 Vliv na plodnost.....	15
3.3. Hormonální řízení.....	16
3.3.1. Nervová a endokrinní soustava	16
3.3.1. Systém receptorů	17
3.3.2. Systém zpětné vazby	17
3.3.3 Hypotalamo – hypofyzární-ovarální osa	18
3.4. Hormony	18
3.4.1. Hormony kůry mozkové, podkorová centra.....	18
3.4.2. Hormony Hypotalamu	19
3.4.3. Hormony hypofýzy	20
3.4.4. Extrahypofyzární hormony.....	20
3.4.5. Steroidní pohlavní hormony.....	21
3.4.5. Děložní prostaglandiny.....	22
3.4.6. Ostatní hormony související s reprodukcí	22
3.5. Vnější faktory ovlivňující pohlavní aktivitu	23
3.5.1. Fotoperioda.....	23
3.5.3 Výživa	24
3.6. Březost a porod klisny	25
3.6.1. Připouštění	26
3.6.2. Moderní biotechnologie.....	26
3.6.3. Oplození	27
3.6.3. Březost	28
3.6.4. Porod.....	29
Závěr	31
Literatura	32

Úvod

Klisny patří do skupiny polyestrických zvířat s výraznou pohlavní sezonností, která je ovlivňována délkou světelného dne, který je zaznamenáván sítnicí oka. Podle toho klisny řídí svou pohlavní aktivitu, která se liší v průběhu roku. Nejvíce aktivní jsou z jara, nejméně pak koncem listopadu. Je to dáno evolučním vývojem, kdy klisny chtěli rodit svá hříbata do co možná nejlepších podmínek. Všechny hormonální pochody v těle klisny jsou řízeny na principu zpětných vazeb a hierarchických uspořádání, které se ale ovlivňují navzájem. Nejvýš je kůra mozková, na nejnižší pozici najdeme vaječníky. Velký vliv na pravidelnou, chovateli požadovanou pohlavní aktivitu se z velké části podílí hypotalamo-hypofýzo-ovariální osa, která má za úkol řídit utlumení či aktivitu sexuální aktivity.

Cíl práce

Sestavení literárního přehledu na téma hormonální řízení reprodukčního cyklu klisen.
Vliv hormonů na jednotlivé fáze cyklu a principy fungování hormonů.

Literární rešerše

3.1. Anatomie pohlavní soustavy klisny

Hlavní úkol pohlavní soustavy klisen je reprodukce. Důležitá funkce je produkce pohlavních buněk, umožnění vývoje zárodku a následně plodu (Kudláč et al. 1985).

Reprodukční systém se dělí, na vnitřní a vnější pohlavní orgány. Mezi vnitřní pohlavní orgány patří párové vaječníky a hlavní část vývodných pohlavních cest, které umožňují kopulaci a oplození. Mezi ně řadíme vejcovod, pochvu a dělohu. Do vnějších pohlavních orgánů řadíme předsíň, vulvu a klitoris (Budras et al. 2009).

Více než polovina reprodukčního traktu leží uvnitř břišní dutiny, zbytek v pánevní dutině (Brinsko & Blanchard 2011).

3.1.1. Vaječník

Vaječníky (ovaria) jsou párové pohlavní orgány, které produkují pohlavní hormony estrogen a progesteron. Jejich další funkce je tvorba pohlavních buněk (oocytů) (Marvan & Hampl 2011). Uloženy jsou v kaudální části dutiny břišní na úrovni pátého bederního obratle. Zavěšeny jsou pomocí vaječnickového okruží, které je dlouhé asi 15 cm (Brinsko et al. 2010). K děložnímu rohu jsou připevněny pomocí vaječnickového vazů (mesovarium). Tento vaz je zároveň součástí děložního vazů (mesometrium). Vaječníky jsou volněji zavěšeny, což nám umožní při rektální palpaci lepší manipulaci (Stubbs et al. 1976).

Mezi hospodářskými zvířaty mají klisny největší vaječníky, které mají typický tvar fazole. Tento tvar je pro klisny naprosto typický, jejich velikost záleží na ovariální aktivitě. (Budras et al. 2009) Největší jsou z jara a během léta, nejmenší jsou v období zimního anestru. Jejich průměrná délka je kolem 6 až 8 cm, výška 2-3 cm a hmotnost je v rozmezí 70-80 g. Jejich zvláštností je tkz. ovulační jamka (fossa ovarii), na které dochází k ovulaci (uvolnění zralého vajíčka) (Budras et al. 2009). Tato jamka vzniká v průběhu postnatálního vývoje. U narozených klisen ještě vyvinuta není.

3.1.2. Vejcovod (tuba uterina)

Je dlouhá, zvlněná, párová trubice tvořena z hladké svaloviny, dlouhá kolem 20 až 30 cm. Na kraniální část vaječnicku se připojuje pomocí třásní do nálevkovitého tvaru. Stěna vejcovodu je tvořena sliznicí, která vytváří podélné řasy, které pak pomáhají vajíčku posouvat se dál do dělohy. (Brinsko et al. 2011)

Vejcovod spojuje vaječníky s dělohou. Jeho hlavním úkolem je zachytit a dopravit ovulovaná vajíčka do dělohy. Vajíčka se zde zdržují cca 3-8 dní, aby dozrála a byla tak připravena pro spermie a oplození. V tomto úseku dochází ke splynutí samčí a samičí buňky (fertilizaci) (Červený 2011).

Vejcovod je rozdělen na tři části. Jedna z nich je široká nálevka (Inundibulum tubae uterinae), přiléhající k vaječníkům a tvoří nálevku vejcovodu. Na nálevce vejcovodu nalezneme fimbrie, které napomáhají správně nasměrovat vajíčko směrem k vejcovodu. Druhý konec vejcovodu ústí do děložního rohu (Slezáková & Najbrt 1980).

3.1.3. Děloha

Slouží hlavně k vývoji nového jedince, od oplození až po narození. Přijímá oplozená vajíčka a zabezpečuje tak jejich další vývoj (Kudláč et al., 1985).

Děloha je orgán uložený zejména v dutině břišní, okrajově najdeme i v dutině pánevní. Připevněný je pomocí širokých děložních vazů, upevněné ke stropu obou dutin, kam děloha zasahuje (Dyce et al. 1996).

Děloha u klisen se skládá ze dvou rohů, těla a krčku. Děložní rohy (cornu uteri) jsou dlouhé asi 20 až 25 cm a nachází se na konci děložní dutiny. Děložní tělo a pochvu spojuje děložní krček. (Slezáková & Najbrt 1980). Děložní krček (cervix uteri) je umístěn kaudálně a je dlouhý pouze 6-7 cm. Díky jeho typické tuhosti a tvaru je dobře hmatatelný. Jeho středem prochází kanál děložního krčku, který je otevřen pouze v době říje nebo porodu (Marvan & Hampl 2011).

3.1.4. Pochva (vagina)

Je reprodukční orgán samice, uložený v pánvi spojující dělohu s vulvou, který umožňuje kopulaci (Reece 2011).

Jedná se o úzkou svalově slizniční trubici, která má schopnost značného rozšíření (Marvan & Hampl 2011). Její velikost záleží na fázi říjového cyklu (Samper 2009). Rozlišujeme klenbu, stěnu a dno poševní. Zdravá klisna by měla mít sliznici bledě růžové barvy.

Kaudálně přechází v poševní předsíň, která se dál otevírá v stydkou štěrbinu.

3.1.5. Poševní předsíň, vulva

Poševní předsíň slouží kromě rozmnožování jako vývodná močová cesta, protože do ní vyúsťuje močová trubice (Marvan & Hampl 2011).

U samic, které se ještě nepářily, najdeme tzv. panenskou blánu která tvoří hranici mezi pochvou a poševní předsíní.

Vulva neboli ochod, tvoří s poševní částí zevní části pohlavní soustavy. Jedná se o zakončení vývodných i pohlavních cest. Nachází se ventrálně od řitního otvoru (Marvan & Hampl 2011). Vulva je tvořena stydkými pysky, které jsou z jemné kůže s aromatickými a mazovými žlázami. Její tvar se od ostatních hospodářských zvířat liší. Ventrální spojka, která se nachází mezi stydkými pysky je zaokrouhlená a dorzálně ostrá (Červený 2011).

3.2 Pohlavní cyklus klisen

Klisny jsou sezonně polyestrycká zvířata, což znamená, že cca od půlky dubna do půlky září, kdy je hlavní připouštěcí sezona a dochází k cyklickým změnám na pohlavních orgánech (Doležel 2003).

Mezi typické znaky klisen patří výrazná pohlavní sezonnost, kterou určuje hypotalamo-hypofýzo-ovariální osa, která je značně ovlivněna měnící se délkou světelného dne (fotoperiodismus) (Doležel 2003; Kudláč et al. 1985).

Tato osa také řídí zimní anestrus neboli inaktivní fázi.

3.2.1 Anestrie

Fyziologický stav pohlavního klidu, který je definován jako období bez říje. Ovaria jsou maximálně 1,5 cm velká a nedochází k folikulárnímu růstu. Tento děj nastává vlivem zkrácení světelného dne, který klisna vnímá sítnicí a informace se dále zpracovává v hypofýze (Hattar, 2002). Nejvyšší hodnoty nabývá v tomto období melatonin, který reaguje na méně světla Oberhaus et Paccamonti (2013) udává, že pokud je délka noci delší než 10 hodin, má depresivní účinek. Tento hormon, který vzniká v šišince tak říká organismu, jaký roční období právě je (Hofman, 2004). Negativní zpětnou vazbou ovlivňuje gonadotropin releasing hormon, což má za následek utlumení reprodukční aktivity (Duruttya 2005). V průběhu září se již říje postupně utlumují. Dle Macečkové (2018) před začátkem úplného anestrus, který trvá od konce prosince do půlky února, předchází ještě přechodné období, které trvá od října do listopadu (Macečková 2018).

V dnešní době však není výjimkou, že se hříbata běžně rodí v lednu či únoru. Žádoucí je to zejména u sportovních koní s předpokladem závodit, protože rozhodující je ročník, nikoliv měsíc narození. Koně jsou pak znevýhodněni v tom smyslu, že stejný závod jde kůň narozený v únoru i kůň, který se narodí pozdějších měsících (Víchová 2005).

3.2.1 Pohlavní cyklus

Délka pohlavního cyklu by měla v ideálním případě být 21 dní, nicméně hodnoty kolísají mezi 17-28 dny. Tato délka se odvíjí na trvání říje, která se pohybuje okolo 3-10 dnů. Tyto rozmezí vznikají v důsledku ročního období, které úzce souvisí s připouštěcím obdobím. Na vrcholu připouštěcího období, kdy je plnohodnotný pohlavní cyklus jsou říje kratší a příznaky ztelnější. Při přechodném období, z jara a na podzim bývají říje delší a méně zřetelné (Brinsko et al 2011; Doležel 2003).

Pohlavní cyklus rozdělujeme na folikulární fázi (proestrus, estrus) a luteální (metestrus, diestrus). Hlavní rozdíl mezi těmi to fázemi, je různá produkce a dominance hormonů. U proliferační neboli estrogenní fáze dominuje estrogen zatím co u luteální fáze, kterou můžeme také nazvat progesteronovou je dominantní působení progesteronu (Kudláč et al. 1985).

Proestrus

Dochází ke stimulaci ovarii pomocí folikulo stimulujícího hormonu, k růstu a dozrávání Graafových folikulů. Zvyšuje se produkce 17 β -Estradiolu, který způsobí větší přívod krve do pohlavních orgánů. Dochází k lehkému zduření vulvy. Děložní krček se otevírá a sekretuje cervikální hlen a je i zvýšená pohlavní aktivita. Graafův folikul na konci proestru na ovarii dobře hmatatelný. Klisna je v této fázi neklidná, a připravuje se estrus, ve kterém dojde k ovulaci (Frandsen et al. 2009).

Estrus

Z pravidla trvá 3-10 dní, záleží na délce světelného dne. Na vrcholu připouštěcí sezony jsou říje kratší s výraznější. Typické pro klisny je tzv. blýskání kdy v této fázi je nejvhodnější připouštět, protože se jedná o nejsilnější projev sexuální receptivity. Krček je v této fázi pootevřen a vytéká čirý hlen. Hlen mění konzistenci v závislosti na fázi estru. Na začátku je spíše řidší, avšak těsně před ovulací svoji konzistenci změní a je více tažný. Klisna svolná k páření. Ovulace nastává v rozmezí 1-2 dny před koncem estru (Yoon 2012).

Metestrus

Nastává postovulační fáze, klisna přestává být svolná k páření, nejeví již známky sexuální aktivity. Na ovarii se v místě prasklého folikulu začíná tvořit hemoragické tělíčko,

ze kterého se později se vytvoří tělísko žluté. Děložní krček se uzavírá. Díky žlutému tělísku se syntetizuje progesteron, který je pak velmi důležitý při udržení březosti (Crowell-Davis 2007).

Diestrus

Období, které trvá okolo 15–16 dní. Typickým znakem je sexuální klid, klisna nejeví zájem o páření a hřebce odbývá. Díky PGF2 α dochází k regresi žlutého tělíska a tím je způsoben nástup dalšího pohlavní cyklus (McKinnon 2011).

Reprodukční cyklus můžeme výrazně ovlivnit podáním veterinárních přípravků. Přípravky lze použít z několika důvodů. Mezi nejdůležitější patří nástup říje, její synchronizace (pokud se provádí embryotransfěr) nebo se využívá u klisen ve sportu.

Mezi nejpoužívanější patří Oestrophan a Regumate. Oestrophan je hormonální přípravek s luteolytickým účinkem. Účinnou látkou je Kloprostamol, jedná se syntetický analog prostaglandinu F2 α , který má luteolytický účinek. Aplikuje se v době luteální fáze estrálního cyklu, aby došlo k zániku žlutého, díky čemuž dojde k nástupu nové říje, která by se měla dostavit maximálně do 96 hodin. Ideální doba pro inseminace je okolo 76 hodin po aplikaci (Anonym 1).

Využití přípravku Regumate je několik. Hlavní účinnou látkou je zde Altrenogestum. Jedná se hormon podobný progesteronu. V dnešní době má využití v chovu ale i ve sportu. Při aplikaci dochází k zastavení říje, které je ve sportu žádoucí z hlediska soustředěnosti klisny. Je prokázáno, že klisny pak nemají výkyvy ve výkonnosti. Podává se také u klisen, které říjí špatně, u těch se pak ještě aplikuje Oestrofan. Dále se využívá jako pomocník pro udržení březosti a zamezení tak abortu (Macečková, 2018). Využívá při načasování říje, po ukončení podávání přípravku se říje dostaví během 5 dnů. Tato výhoda spočívá hlavně při umělé inseminaci, když můžeme s větší přesností naplánovat objednání požadovaného semene (Anonym 2).

3.2.2 Pohlavní vyzrállost

První příznaky pohlavního dospívání se objevují už kolem 12.-18. měsíce. Plnohodnotný cyklus však nastupuje až kolem 24 měsíců. Do reprodukce zařazujeme klisny od věku 3-4 let, aby organismus zvládl zátěž způsobenou březostí a následnou péčí o hříbě, která je na výdej živin náročná.

Důležitým faktorem, je produkce hypotalamického gonadotropin releasing hormon, má značný vliv na výraznost sexuální aktivity a její charakter. Pokud je jeho hladina nízká,

způsobí to nedostatečný signál, a dochází k indukci pouze jednoho gonadotropního impulsu, který způsobuje ovariaální acyklii a anestrui klisen (Kudláč et al. 1985).

3.2.3 Reprodukční buňka a její vývoj

Základní reprodukční buňka je oocyt, bez kterého by reprodukce nemohla probíhat. Gametogeneze začíná v prenatálním období v plodu. Děj, při kterém, vznikají pohlavní buňky (Reece 2011).

Oogeneze

V plodu primární zárodečná buňka migruje ze žloutkového vaku k rozvíjejícím se vaječnům, kdy jedna vrstva obklopuje zárodečnou buňku určenou k vytvoření vajíčka. Centrální zárodečná buňka, která se nazývá oogonium, roste a přechází do meiozy. Oogonium ale meiosu nedokončuje, zastavuje se v profázi, před prvním dělením a z vyvíjejícího se vajíčka se stává primární oocyt, který má haploidní sadu chromozómů a vznikne z něj primární folikul. Před narozením je vytvořeno stovky až tisíce těchto folikulů, nicméně jich mnoho z neznámého důvodu v pubertě zaniká (Fradson et al. 2009).

Folikulogeneze

Primární folikul se skládá ze vzniklých primárních oocytu, nově ho také obklopují ploché a kubické buňky. Díky vrstvení granulozních buněk kolem oocytu se stavá z primárního folikulu sekundární. Obaly, které vznikly, jsou corona radiata a zona pellucida. Corona radiata je skupina folikulárních buněk, které jsou uskupeny kolem zóny pellucidy. Když dojde k uvolnění oocytu z folikulu, tento buněčný obal pokrývá oocyt. Zona pellucida se nachází mezi oocyttem a folikulárními buňkami (Ginter et al. 2003).

Postupným vývojem se vytvářejí dutiny (antrum folliculi) a dochází k vytvoření Graafova folikulu. Za Graafův folikul považujeme ten, který má vytvořenou zonu pellucidu, vnější i vnitřní obal a již zmiňované antrum (McKinnon 2011).

Ovulace

Jedná se o proces, kdy dochází k prasknutí folikulu pod vlivem luteinizačního hormonu, který spustí kaskádu biochemických změn, mezi které patří zvýšení intrafolikulárního tlaku a dojde ke stahům ve stěně folikulu a následnému prasknutí (McKinnon, 2011). Tento děj probíhá na ovulační jamce, která je pro ně typická. Z Graafova folikulu se uvolní zralý oocyt. Na místě, kde došlo k tomuto procesu, vzniká žluté tělísko, které produkuje progesteron a luteinizační hormon, který žluté tělísko udržuje (Reece 2011). Průměrná velikost ovulujícího folikulu je kolem 3,5 až 6 cm. K ovulaci dochází většinou 24 hodin před koncem říje. Pokud nedojde k zabřeznutí, dochází k další říji po 17 až 28 dnech.

Jako průměr se udává 21 dní (Kuller et kol. 1982). Oocyt sestupuje do vejcovodu spolu s viskózní tekutinou, kde se pomocí fimbrií pohybuje. Folikul, který ovuluje většinou bývá ten, který nejrychleji roste (Miro 2012).

3.2.4 Vliv na plodnost

Plodnost je určovaná genetickým založením a vlivem vnějšího prostředí. Všeobecně se má za to, že ukazatel plodnosti je více ovlivněn vlivem vnějšího prostředí než genetické založení. Z hlediska genetického se jedná o vlastnost polygenně založenou. Důležité je, aby organismus byl přizpůsobivý, měl adekvátní reakce a dobrou výkonnost nervového systému, který zodpovídá za činnost žláz s vnitřní sekrecí a další distribuci jejich produktů. Díky nim dochází ke kontrole a udržení vnitřní rovnováhy a pohlavních funkcí jedince.

Znatelný vliv na sexuální aktivitu má vnější prostředí a managementem chovu. Důležitým faktorem, ovlivňujícím sexuální činnost a plodnost je limbický systém, zejména působení hypotalamo-hypofyzárně ovariaálního systému (McKinnon 2011).

Plemeno

Důležitým aspektem je věk klisny. Je obecně známo, že mladý orgasmus lépe regeneruje a zvládá okolní stres. Velmi důležitá je kondice. U moderních teplokrevných klisen nastává problém s odolností, která nastala vlivem prošlechtění. U starších klisen mnohem déle trvá poporodní regenerace pohlavních orgánů, tím pádem i nástup další říje. V dnešní době se stále více rozšiřuje trend zařazování mladých klisen do chovu, a to z důvodu zvýšení pravděpodobnosti narození silného a zdravého plodu. Tedy snížení rizikovosti celého reprodukčního procesu, ze strany matky i plodu (Doležel 2003).

U mladých klisen může nastat problém v podobě fyzické nezralosti. V Belgii u teplokrevných koní je běžnou praxí připouštět již dvouleté klisny, tento trend se začíná objevovat i v Německu, kdy se klisny připouští takto mladé z důvodu výšky (moc vysoké) nebo předčasné zralosti. Někdy je důvodem i narození hříběte, než půjde klisna, jako čtyřletá, do sportu. U některých se ale může vyskytnout problém, kdy ani tříleté nezabřeznou. Často za to může fyzická ale i fyziologická nezralost. U takových klisen je lepší počkat do čtyř, pěti let, kdy jsou připravené zabřeznout (Rozhovor s Lucíí Čížkovou, chov koní Zálezlice).

3.3. Hormonální řízení

Fungování organismu, po hormonální stránce zařizují hormony. Jejich sekrece je ovládána endokrinně, nebo přes centrální nervovou soustavu. Jejich koncentrace v těle je v průběhu celého dne kontrolována, aby byla v těle co nejideálnější homeostáza (Speroff & Fritz 2005).

3.3.1. Nervová a endokrinní soustava

Hormonální pochody v těle organismu, řídí dva hlavní systémy, mezi které patří endokrinní systém (humorální), jehož produkty jsou hormony přenášené pomocí tělních tekutin. Druhý z nich je centrální nervová soustava, díky které dochází k předávání informací přes nervovou síť, od buňky k buňce (Jelínek&Koudela 2003). K přenosu impulzů dochází přes neurony. Společně řídí organismus jako celek a společně řídí různé funkce, které se v těle odehrávají (Reece 2011).

U řízení pohlavních činností, je zásadní hierarchické uspořádání. Nejvýš stojí kůra mozková, poté limbický systém, hypotalamus, hypofýza a na konec gonády (vaječníky). (Doležel 2003)

Mozková kůra ovlivňuje činnost reprodukčních funkcí. Pokud do mozku přijde signál, že daný organismus je vyčerpán nebo je příliš oslaben, dochází k přenosu vzruchů a neurotransmiteru, které pohlavní činnost stimulují nebo potlačují.

Limbický systém řeší organismus více komplexně, kontroluje autonomní funkce, jako jsou pocit hladu, žízně ale i sexuální funkce. Ovlivňuje sekreci hypotalamu a reaktivitu ovarii a také dělohy (McKinnon 2011).

Hypotalamus, je hlavní řídicí jednotka reprodukčních funkcí a má na starost i vnitřní prostředí. Přijímá a zpracovává informace přijaté z vyšších center a na základě toho dochází k vyhodnocení stavu organismu z hlediska reprodukční soustavy. Po zpracování vyše do podřízených organismu signály, které procesy v těle buď, potlačují nebo podporují (Brinsko et. al. 2011).

Hypofýza, podvěšek mozkový, je uložen pod hypotalamem což umožňuje přenosy a komunikaci liberinů (releasing hormonu) z hypotalamu do adenohipofýzy. Sekreční axony vystupují z hypotalamu, komunikují s neurohypofýzou. Komunikace probíhá díky hypotalamo-hypofyzárnímu krevnímu oběhu (Reece 2011). Portální systém se skládá ze sítě kapilár, které se shlukují a obklopují neurosekreční buňky hypotalamu. Touto cévní spojkou jsou neurohormony dopraveny do předního laloku hypofýzy. Výhodou portálního systému je

ten, že neurohormony mají rychlý poločas rozpadu a nestihly by tak předat informaci (Doležel, 2003).

Gonády

Vaječníky vytvářejí reprodukční buňky a pohlavní hormony. S nadřazenými orgány komunikují přes zpětnou vazbu. Zpětná vazba umožňuje to, že daný orgán, ač je v hierarchii nejnižší, může ovlivnit centra vyšší (Jelínek&Koudela 2003).

3.3.1. Systém receptorů

Receptory se mohou nacházet na cytoplazmatické membráně nebo se vyskytují intracelulárně. Jedná se o bílkovinné struktury. Systém receptorů řeší předávání informace mezi buňkami. Aby receptor byl schopen rozpoznat pro něj specifickou signalizační molekulu, musí nejprve vzniknout signalizační buňka. Aby tento systém mohl fungovat, je nutné, aby byla minimálně od každé buňky jedna. Cílová buňka, pro kterou se vytvářejí molekuly, produkuje právě receptor, který je schopen signál zachytit a také rozpoznat. Při přenosu signálu z jedné buňky na druhou dochází právě díky receptorům k amplifikaci neboli zesílení (Kaneko et al. 2008).

3.3.2. Systém zpětné vazby

Hladiny hormonu se mění, proto je důležité, aby byla koncentrace neustále kontrolována. Mechanismy, které zajišťují tyto kontroly, fungují na principu zpětné vazby, které se dále dělí na:

- negativní zpětnou vazbu
- pozitivní zpětnou vazbu
- cyklické změny

Negativní zpětná vazba je mechanismus, který reaguje na hladinu hormonu vyplavenou v krvi. Pokud dojde ke změnám, mění se intenzita sekrece. Když nastane zvýšení hladiny hormonu nebo nastane velká změna, tělo reaguje tak, že sníží další sekreci hormonů. Naopak ke zvýšení produkce hormonu nastane v ten moment, když v krvi není dostatek požadovaného hormonu

Principem jednoduché zpětné vazby je změna v chemickém složení krve, také zabraňuje hypersekreci. Když dojde k požadované úrovni, dochází k utlumení sekrece.

Složité zpětné vazby fungují na principu regulace hormonu v periferní krvi. Nejvíce u hormonů, které ovlivňuje endokrinní žláza jim nadřazená (Kaneko et al. 2008).

Pozitivní zpětná vazba

Dochází ke změnám, které na sebe navazují, a každá zesiluje děj následující. Typický příklad pro pozitivní zpětnou vazbu je ovulace. Děje na sebe navazují a vzájemně se ovlivňují.

Cyklické změny

Jsou součástí běžného dne. Fungují na základě změn aktivity centrální nerovnováhy soustavy. Příkladem je růstový hormon, který se vyplavuje nejvíce během noci, kdy dochází k maximálnímu navýšení a poté se vrátí zpět na udržovací hladinu (Vokurka & Hugo 2004)

3.3.3 Hypotalamo – hypofyzární-ovarální osa

Hlavní centra, která mají za úkol řídit pohlavní aktivitu jsou hypotalamus, hypofýza a ovária. Fungování této osy zajišťuje princip zpětné vazby. Centra nižší jsou díky tomu schopna do jisté míry ovládat centra vyšší, nadřazená, které ovládají centra nižší. Jedná se o uzavřený kruh, který komunikuje pouze mezi sebou (Doležel 2003).

3.4. Hormony

Chemicky vysoce účinné látky produkované endokrinními buňkami. Šíří se pomocí krevního oběhu, kam jsou uvolňovány v malých koncentracích k cílovým orgánům, kde mají své specifické účinky. Jedná se o regulátory biochemických pochodů v těle (Reece 2011).

3.4.1. Hormony kůry mozkové, podkorová centra

Jedná se o limbický systém, který je zodpovědný za řízení a regulace sexuálních funkcí. Přijímá vjemy z okolí, které jsou následně zpracovány. Mezi jeho další funkce patří analyzování informací z celého těla, kdy zjišťuje vnitřní stav organismu a také stav pohlavního ústrojí (Jelínek & Koudela 2003). Tyto informace zpracuje a posílá je dál do hypotalamu. Komunikace probíhá díky neurotransmitterům (McKinnon 2011). Mezi nejdůležitější v rámci reprodukce a ovlivnění sezonnosti jsou ze skupiny serotogenní, kam patří melatonin a serotonin. Právě tyto neurotransmitery mají schopnost pohlavní aktivitu inhibovat, protože melatonin reaguje na délku světelného dne. Tento ukazatel je pro klisny klíčový (Oberhaus&Paccamonti 2013). Neurotransmitery nejsou látky hormonální povahy. Jedná se mechanismus, který funguje na úrovni centrální nervové soustavy. Mezi nervovými buňkami dochází ke komunikaci, ta probíhá díky neurotransmitterům. Úkolem je zprostředkovat předání impulsu a informace mezi buňkami. Elektrickým signálem se přes synapse informace předávají. Mezi cholinergní je řazen acetylcholin, ten dává impuls k sekreci

folikulostimulačního hormonu a luteinizačního, zároveň potlačuje luteotropní hormon (prolaktin). Do skupiny adregerní patří noradrenalin s dopaminem, ovlivňují činnost kontrakcí pohlavní soustavy a stimulují GnRH. Poslední skupinou je sérotogenní neurotransmitery, kam patří serotonin a melatonin, který značně ovlivňuje fungování reprodukčního cyklu. Melatonin je hlavní hormon řídící anestrii (Kudláč et al. 1985; Graybiel 1990).

3.4.2. Hormony Hypotalamu

Hypotalamus nalezneme ventrálně od talamu ve stěně třetí mozkové komory. Jedná se o velice důležitou část mozku, která je zcela nejdůležitější v řízení reprodukčních funkcí a má na starost také fungování celého vnitřního prostředí. Skládá se z předního a zadního sexuálního centra. Tyto dvě centra spolu komunikují pomocí nervových impulsů (Kudláč et al., 1985). Na podněty reaguje přední část hypotalamu, poté je informace poslána ke zpracování do zadní části (Doležel 2003).

Na zadním centru hypotalamu najdeme cévní systém, díky kterému dochází k propojení a komunikaci s hypofýzou (Kudláč et al., 1985) Tento systém je složen ze sítě kapilár.

Hormony zadního hypotalamu produkují neurohormony. Díky neurosekrečním buňkám dochází ke zpracování podnětu, který přijde z přední části hypotalamu, ten dá impuls k tvorbě neurosekrety, který následně ovlivňuje hypofýzu. Podle potřeby mají neurosekrety funkci inhibiční nebo uvolňovací. Mezi uvolňující hormony patří liberiny také označované jako releasing hormones. Naopak statiny mají funkci inhibiční označované jako inhibiting hormones.

Za regulátor reprodukční osy a jeden z nejvýznamnějších neurohormonů je gonadotropin releasing hormon. Nejdůležitější je pro hypofyzární gonadotropiny (Ginther 1992).

V přední neboli rostrálním centru se tvoří oktapeptidy, mezi které patří antidiuretický hormon tzv. ADH a oxytocin (McKinnon 2011).

Důležitější z hlediska působení na rozmnožovací soustavu má oxytocin. Jedná se o peptidický hormon a je uvolňován z neurohypofýzy (Reece 2011). Způsobuje kontrakce dělohy, řeší transport gamet a následně pomáhá vypudit plod při porodu. Kromě vlivu na reprodukční procesy, oxytocin také stimuluje laktaci podrážděním myoepitelových buněk, a díky tomuto stimulu je následně spuštěn vyprazdňovací reflex (Bhargava et al. 2019).

3.4.3. Hormony hypofýzy

Hypofýza se dělí na tři části, které se liší vývojově i morfologicky. Adenohypofýza je složena z předního žláznatého laloku, střední části a neurohypofýzy, zadní nervový lalok (Marvan 2011).

Adenohypofýza

Z funkčního hlediska se dělí na pars distalis a pars tuberalis, díky sekrečním buňkám, které komunikují s hypotalamem. Dochází k potlačení či k tvorbě hormonů a následnému uvolnění do krevního řečiště.

Nachází se zde hormony, řídicí žlázy s vnitřní sekrecí nebo přímo působící na dané orgány a tkáně.

Mezi hlavní hormony adenohypofýzy, které jsou z hlediska pohlavní aktivity nejdůležitější, řadíme gonadotropiny folikulostimulační hormon a luteinizační hormon. Jako hlavní účinek folikulostimulačního hormonu je podpora růstu a zrání folikulu na vaječnicích a zároveň do jisté míry ovlivňuje produkci estrogenu. Luteinizační hormon navazuje na folikulostimulační, a dochází k dozrání a ovulaci, následně i ke stimulaci tvorby žlutého tělíska. Jako společný účinek, který je známý, je stimulace k vytvoření estrogenu (Brinsko et al. 2011).

Dalším hormonem je prolaktin. Jeho nejvýznamnější funkcí je rozvoj mléčné žlázy, která je druhově specifická a také je důležitý při stimulaci žlutého tělíska na ovariích. Podstatnou funkcí je vyvolání a udržení laktace (Crowell-Davis 2007).

Neurohypofýza

Stejně jako adenohypofýza má neurohypofýza dvě části, kterými jsou pars nervosa a pars infundibulum. Neurohypofýza sama o sobě hormony netvoří, ale přijímá signály vyslané pomocí nervů z hypotalamu. Komunikace probíhá srze nervová spojení. Díky tomu zapříčiní vyloučení hormonů, které jsou zde uloženy. Jedná se o antidiuretický hormon a oxytocin. Do těla se dostanou pomocí krevního řečiště (Rossier et al. 1979).

3.4.4. Extrahypofyzární hormony

Jedná se o koňský choriový gonadotropin z angličtiny Equine chorion gonadotropin, eCG. Dříve označován jako sérový gonadotropin březích klisen PMsg. (Starbuck et al. 1998) Detekován může být pouze krví, močí se nevylučuje. Důvodem proč nelze detekovat equinní choriovy gonadotropin v moči je ten, že se jedná velký glykoprotein s vysokou molekulovou hmotností. Díky hladině equinního choriového gonadotropinu lze březost zjistit již od 40. dne gravidity. Nejvyšších hodnot nabývá okolo 70. dne, kdy jsou hladiny hormonu na vrcholu. Je

to analog FSH a LH (Farmer&Papkoff 1979) Vylučován je buňkami endometriláních kalíšků, které vznikají v endometriu v děloze.

Děložní stěna klisny je složena z endometria, myometria a perimetria. Endometrium je vystlané žláznatou sliznicí, myometrium je střední mrtva která je složena z hladkosvalových buněk, perimetrium tvoří sezóní povrch. V endometriu se vytváří látky, které mají schopnost způsobit zánik žlutého tělíska. Hormon, který tento mechanismus zajišťuje, se nazývá prostaglandin $F_2\alpha$, k jeho syntéze dochází pouze tehdy, pokud nedošlo k oplození. Je schopen navodit regresy žlutého tělíska a zastavit tvorbu progesteronu. Důležitý je i při porodu, je uterotonický. Zvyšuje sílu kontrakcí děložního svalstva (McCracken 1970).

3.4.5. Steroidní pohlavní hormony

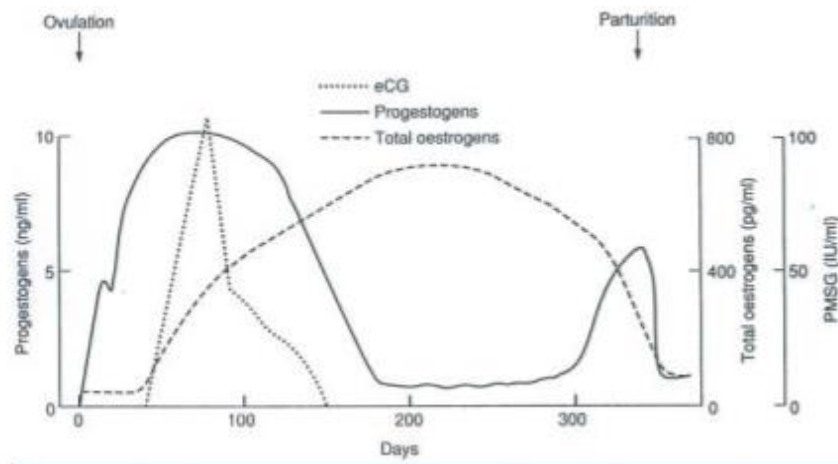
Jedná se o hormony produkované vaječníky. Mezi steroidní hormony se řadí estrogen, progesteron a relaxin.

Estrogeny jsou skupina steroidních hormonů. Jedná se o 17β estradiol, estron a estriol. Estrogeny řídí vytvoření sekundárních pohlavních znaků, hlavně vývoj a rozvoj mléčné žlázy. Také má za úkol stimulovat růst vývodných cest. Významný je při říjovém cyklu, kdy díky němu dochází k typickým příznakům říje, ovlivňuje změny na děloze, vejcovodech a pochvě. Změny na pochvě jsou důležitým indikátorem pro chovatele k detekci říje (Auperle et al. 2010).

Mezi hlavní estrogeny řadíme 17β estradiol, který vytváří vaječníky ve velkém množství v placentě během březosti. Metabolity tohoto hormonu jsou estron a estradiol, které ale mají nižší biologický účinek (Hafez 2000).

Progesteron

Je dalším ovariálním hormonem, nezbytně nutným pro správný říjový cyklus. Vytvářen je pomocí CL. Tento hormon je důležitý v březosti, neboť zajišťuje její udržení a zamezuje nástupu nové říje. U březích klisen je však výjimka, kdy progesteron vrcholí mezi 50. až 140. dnem (obrázek č. 1), poté tuto funkci přebírá žluté tělísko a přídatná žlutá tělíska produkovaná vaječníky. Funkce je však stejná jako u progesteronu (Kudláč et al. 1985; Doležel 2003).



Obrazek 1. Pohlavní hormony v průběhu březosti klisny (Doležel 2003)

Relaxin

Vytvářen je až v pozdním stadiu gravidity pomocí žlutého tělíska. Jeho hlavní a nejdůležitější funkcí je příprava porodních cest na porod. Rozvolňuje vazy v oblasti pánve a křížokyčelního kloubu také způsobuje zvětšování děložního krčku. Společně s progesteronem a estrogenem podněcuje růst mléčné žlázy (Noakes et al. 2001).

3.4.5. Děložní prostaglandiny

Prostaglandiny se řadí do skupiny hormonů, nicméně se o pravé hormony nejedná, mají pouze podobný účinek. Jsou to látky odvozené od kyseliny prostanové a nazývané tkáňovými hormony. Nejdůležitější zástupce je PGF 2 α , který je vytvářen v endometriu dělohy. Má schopnost navodit zánik žlutého tělíska a zastavit produkci progesteronu. Na jeho produkci je závislá délka fungování žlutého tělíska a také pohlavní cyklus. Je schopen navodit luteolýzu, díky které dojde k nástupu nového cyklu. K syntéze dochází tehdy, kdy přijde informace, že vajíčko nebylo oplozeno a přes krevní řečiště se dostává k vaječnům (Aurich 2011).

3.4.6. Ostatní hormony související s reprodukcí

Jedná se o hormony, které nemají přímý vztah a v těle mají až sekundární funkci nicméně vztah k reprodukcí mají. Mezi ně patří hormony produkované adenohipofýzou somatotropin, Adrenokortikotropní hormon a Tyreotropin. Dále hormony štítné žlázy, mezi které řadíme tyroxin a trijodotyronin

Somatotropní hormon ovlivňuje růst organismu, ale je potvrzeno, že stimuluje růst dělohy. V průběhu březosti je vytvářen placentou a jeho uvolňování z adenohipofýzy se tak zvyšuje.

Tyreotropní hormon stimuluje hormony štítné žlázy. Spolu s adrenokortikotropní hormonem řídí látkový mechanismus.

Tyroxin s trijodtyroninem řídí látkový metabolismus včetně dodání energie do pohlavních orgánů a během březosti. Jsou důležité kvůli vývoji gonád a pohlavního dospívání. U březích zvířat zvýšená aktivita má za negativní následek aborty, porody mrtvých plodů a tomu podobné (Kudláč et al. 1985).

3.5. Vnější faktory ovlivňující pohlavní aktivitu

Vnější faktory značně ovlivňují fungování organismu, a to až z 80%. Mezi faktory, které ovlivňují pohlavní aktivitu klisny, řadíme lidský faktor, podnebí, délku světelného dne, také způsob chovu a výživu, která je velice důležitá (Pérez et al. 2003).

3.5.1. Fotoperioda

Klisny patří ke skupině polyestrických zvířat s výraznou sezónností, která je dána evolučním vývojem. Sezónnost znamená, že jejich maximální reprodukční schopnost je v takovém období, aby se hříbě narodilo, pokud možno do co nejlepších podmínek, ideálně z jara, kdy je pastva a vegetace nejbohatší z nutričního hlediska (Walton et al. 2011; Bronson & Heideman 1994).

Fotoperioda značně ovlivňuje fungování pohlavní aktivity klisny. Je to reakce na délku dne a noci. Konkrétně na zkracování světelného dne (Walton et al. 2011).

Je jedním z důležitých faktorů pro chovatele z hlediska připouštěcí sezony. Reprodukční sezona je individuální a nastává s nástupem pravidelně se opakujících říjí. Jsou známa čtyři období, typické pro klisny.

- Jarní přechodné období – od konce února do ½ dubna
- Pravidelné říje – od poloviny dubna do ½ září
- Podzimní přechodné období – od října do listopadu
- Zimní anestrus – konec prosince – do 1/2 února

(Nagy et al. 2000)

Hlavní stimul, který nastane, je změna délky světla, na který klisny reagují. Na podzim, kdy se dny zkracují, dochází k přechodnému období, (období kdy pohlavní aktivita ustává) a poté nastane zimní anestrus (inaktivní fáze) (Duruttya 2005).

Nyní se běžně v chovech používá stimulace a intenzita délky osvětlení na 14-16 hodin při 100 lux. Důležité ale je dodržování střídání světla a tmy (Walton et al. 2011). Je prokázáno, že umělé osvětlení funguje na klisny natolik, že posouvá po zimní pauze první ovulaci (Valera et al. 2006).

Z hlediska hormonální činnosti a řízení pohlavní aktivity hlavní roli hraje melatonin. Informace o délce světla získává klisna díky fotoreceptorům, které se nachází v oku. Impuls vede přes centripetální nervové dráhy (dostředivé), které mají schopnost nést informace od smyslových orgánů, tedy oka, do orgánů, kde dochází ke zpracování. V tomto případě do hypotalamu. Sekrece gonadotropního releasing hormonu, v předním laloku hypofýzy následně řídí syntézu folikulostimulačního hormonu a luteinizačního hormonu. Inhibice gonadotropního releasing hormonu nastává právě při nárůstu melatoninu, tedy v období, kdy se dny zkracují a délka tmy prodlužuje. V období, kdy se koncentrace melatoninu v organismu sníží, obnoví se i reprodukční schopnost klisny (Kliement et al. 1989).

Dle Novohradské & Jiskrové, které zkoumaly vlivy na zabřeznutí klisen, bylo zjištěno, že veliký rozdíl byl v ročním období, kdy byly klisny inseminovány. V roce 2002 bylo třeba více inseminačních dávek než v roce 2006. Bylo zjištěné, že v roce 2002 bylo zjištěno 90 zimních dní, zatímco v 2006 bylo pouhých 36 dní (Novohradská & Jiskrová 2009). Tím bylo potvrzeno, že délka světelného dne značně ovlivňuje pohlavní aktivitu klisen a rozmnožovací cykly, kterou ovlivňuje fotoperiodismus (Buiten&Westers 2003).

3.5.3 Výživa

Výživa je jeden ze základních pilířů pro kvalitní říje a plodnost. S výživou úzce souvisí kondice dané klisny. Kondici hodnotíme pomocí kondičních stupňů, které jsou v rozmezí 1 až 9, kdy 9 je hodnocena jako obézní zvíře a 1 jako podvyživené. Jako ideální, se uvádí stupeň 5 (Henneke et al.1983).

Oba extrémů způsobují horší zabřezávání nebo přerušení pohlavních funkcí. U velmi hubených klisen je často popisováno prodloužení anestru nebo estrálního cyklu.

Pro kvalitní říje by krmná dávka měla obsahovat kvalitní přísun bílkovin, které příznivě ovlivňují pohlavní cyklus zejména produkci folikulostimulačního hormonu. Kromě bílkovin, by měla být krmná dávka pestrá, chutná a bohatá na minerální látky a vitamíny, v ideálním poměru, který musí být v souladu s užitkovostí a fází reprodukčního cyklu (Vick et al. 2006).

Huntington (2012), uvádí, že větší pravděpodobnost pro narození hříběte s angulárními deformitami (onemocnění končetin) (Vinčálek 2015) u klisen které jsou

hodnoceny dle kondiční stupnice jako tlusté. Hlavní problém u těchto klisen spočívá v tom, že vyšší procento tuku, které se ukládá do reprodukční soustavy způsobuje hormonální změny. Nejčastěji se jedná o inzulínovou rezistenci.

Součástí equinního metabolického syndromu je inzulínová rezistence. Tkáně mají sníženou citlivost na přítomnost inzulínu v těle a není tak správně odplavována glukóza z krve. Rozlišujeme tři typy, kompenzovaná inzulínová rezistence, která je nejčastější, nekompenzovaná inzulínová rezistence, kdy selže slinivka břišní a glukóza se zvyšuje v krvi, zatímco hladina inzulínu různě kolísá. Třetí typ je vzácný ale i tak se mezi koňmi vyskytuje jedná se o Diabetes mellitus 2. typu, nedostatečná produkce inzulínu nebo buňky nereagují na jeho přítomnost vůbec (Lesté-Lasserre 2018). Všechny tyto typy snižují reprodukční schopnost klisen.

U chovatelů se využívá flushing efekt, kdy dochází k navýšení krmné dávky v rozmezí 2-3 týdnů před zapuštěním. Podstatou flushingu je krátkodobé zvýšení krmné dávky, díky které se zvyšuje pravděpodobnost zabřeznutí a následné udržení březosti (Kelley et al. 2011).

Krmná dávka pro březí klisny se nemění v první třetině březosti. Důležité je mít dobře nastavenou krmnou dávku před plánovaným zapuštěním, poté nastává změna v poslední třetině březosti, kdy navýšíme krmnou dávku. Hlavní důvod navýšení kolem 8. měsíce jen ten, že plod zrychluje svůj růst. Nárůst hmotnosti plodu je o 450-500g na den, tím zvýší požadavek na energii (Meyer & Coenen 2003).

Bylo prokázáno, že pokud mají klisny přístup ke kvalitní krmné dávce a senu, produkce folikulo stimulační hormon se zvyšuje a k nástup první ovulace dochází až o 3 až 6 týdnů dříve (Van Niekerk 1997).

3.6. Březost a porod klisny

Jako začátek březosti bereme uhníždění embrya v děloze, ke kterému dochází kolem 16. dne. Mezi nejpřesnější metody zjištění březosti patří sonografické vyšetření, kterým lze březost určit už 14. den po ovulaci. Během březosti není klisna nijak limitována, pravidelný pohyb je doporučován. Od 5. měsíce bychom ale klisnu neměli nechat dál sportovat a více fyzicky namáhat. Důležité je řádné naočkování proti herpes viru, chřipce a tetanu, dále proti virovému zmetání, které se očkuje 5., 7., 9. měsíc. Měsíc před porodem se klisna odčervuje První nástup poporodní říje se objevuje kolem 7. až 9. dne. (MVDr Macečková 2018; Samper 2009)

3.6.1. Připouštění

Chovatel si může vybrat ze dvou způsobů, jak klisnu připustit. Dělí se na přirozenou plemenitbu a moderní biotechnologie.

Přirozená plemenitba

U přirozené plemenitby, se provádí kontrolní vyšetření hřebců i klisen. Hřebci jsou ustájeni v hřebčincích nebo v reprodukčních centrech. U hřebců probíhá kontrola spermatu, hodnotí se především množství a také procentuální podíl spermií jdoucí vpřed za hlavičkou, dále je sperma kontrolováno kvůli pohlavním nemocem. U klisen se provádí kontrolní stěry, které musí být negativní vůči infekční metritidě. U nás se více používá pouštění přímo z ruky. Ošetřovatel si musí být jistý, že klisna je v říji. Proces začíná fixací klisny, je to jako prevence před poranění hřebce ale i klisny. Hřelec je přiveden ošetřovatelem a po ztopoření pyje nechá hřebce na klisnu skočit. Po skoku hřebce i klisnu omyjeme dezinfekcí (Kliement et al. 1983).

3.6.2. Moderní biotechnologie

Patří sem umělá inseminace, embryotransfer a intracytoplazmatická injekce spermií (ICSI) a klonování.

Umělá inseminace má řadu výhod. Jedná se o moderní biotechnologii, která je chovateli hodně využívána. Je zde možnost výběru ideálního hřebce (kvalitní charakter, schopnost, barva) pro klisnu. Probíhá velká kontrola kvality spermatu a její mikrobiologické zhodnocení, zdali tam není zanesena nějaká infekce či patogen. Další výhodou je ta, že klisna nemusí být přepravována k hřebci a mizí riziko poranění klisny i hřebce. Nedochozí k přetěžování hřebce, díky vytvoření inseminačních dávek, které se získávají ředěním spermatu. Využívá se u klisen, které nemají kvalitní říje nebo nejsou schopny hříbě donosit. Díky klonování, vznikne potomek slavného šampiona i přes to, že on sám jako otec je valach. U plnokrevných koní je inseminace zakázána (Rastogi 2007).

Embryotransfěr

Princip je založen na vyjmutí z embrya dárkyně, které je vloženo do dělohy příjemkyně. Cíl embryotransferu je získání potomků, geneticky cenných rodičů. Využití je u klisen, které by zdravé hříbě nedonosily, při poruše pohlavní aktivity, získání více než jednoho potomka. Také u sportovních klisen, ze kterých chceme potomky, aniž by došlo k přerušování její sportovní kariéry. Může nastat i problém s nástupem pravidelné říje.

Základním principem této biotechnologie je najít ideální příjemkyni, která by byla schopná přijmout embryo dárkyně a donosit hříbě. U obou klisen dárkyně i příjemkyně, musí dojít

k synchronizaci říjí. Děloha příjemkyně musí být připravena embryo přijmout. Emybrotrasfěr se řadí ke složitým procesům. Načasování správného výplachu dělohy a zachycení embryí se provádí kolem 7. až 8. dne od inseminace. Pokud je vše v pořádku, embryo se vloží do příjemkyně. Jedná se o velmi nákladný zákrok, hormonální léčba obou klisen, časté návštěvy veterináře a sonografická vyšetření (Louda 2001).

Intracytoplazmatická injekce spermie

Biotechnologie, která vznikla v 90. letech, je alternativa pro klisny, které mohou pro embryo mít nepřátelskou dělohu, tělo příjemkyně embryo odmítne a vypudí. Metoda spočívá v tom, že injekce spermatu je přímo vpravena do vajíčka, vše se děje v laboratorním prostředí. Výhoda spočívá v tom, že i nezralý oocyt může být oplodněn, je speciálně uschován a dochází k jeho dozrání. Týká se to hlavně klisen, u kterých neleze provést embryotransfěr. Využívají se spermie i nepohyblivé a lyofilizované (Choi 2004; Šichtář 2018).

Klonování

Klonování je stále složitá záležitost, která je vysoce nákladná. První, komu se podařilo klon vytvořit, byl Cesare Galli. Cesta k vytvoření klonu byla složitá. První klon, který vznikl v roce 2002 byl hřebec Prometheus, kopie úspěšného vytrvalce. Veterináři, kteří se podíleli na klonování dalšího koně byli Palmer a Galli. Výsledkem spolupráce byl Pieraz-Cryozootech-Stallion, který se narodil 25. února 2005. Zajímavostí je, že jako náhradní matku vybrali plemeno haflinga a to z důvodu ochotné spolupráce a produkující velké množství mléka. Narozené hříbě vážilo 42 kilo. Palmer odůvodňuje klonování tím, že i vykastrování hřebci šampioni, mohou dát hřebce. Umožňují tak nejlepším závodním koním se stát otci budoucí generace. Účast klonu je zakázána pouze u dostihů (Stewart-Spears 2005).

3.6.3. Oplození

Fertilizace je proces, při kterém dochází k oplození tím, že splyne samčí buňka (spermie) a samičí buňka (oocyt).

Dochází k ovulaci a uvolněný oocyt sestupuje do nálevky vejcovodu, to probíhá díky fimbriím. Ve vejcovodu je díky řasinkám dále posouván k děloze. Pokud klisnu inseminujeme je pejeta spolu s inseminační dávkou vpravena přímo do děložního krčku zhruba 10-15 cm. Při přirozené plemenitbě jsou spermie po ejakulaci transportovány vejcovodu (Wilsher 2019). Důležitá je pro spermie kapacitace. Jedná se o změny, ke kterým dochází při průchodu reprodukčním systémem klisny a trvají i několik hodin. Vajíčko je obaleno primárním obalem (zona pellucida) který je složen ze sulfátových glykoproteinu (Leemans et al., 2019). Důležitou roli zde hraje akrozom. Obsahuje enzymy, které jsou schopny rozštěpit

glykoproteinový obal vajíčka, tím je umožněn průnik spermií do vajíčka, díky kterému vznikne zygota a následně dochází k postupnému vývoji nového jedince (Kawano et al. 2011).

3.6.3. Březost

Březost klisny je definována na 333 dní. Většinou se však setkáváme s rozpětím fyziologické gravidity v rozpětí 310 až 360, není výjimkou i 365 dnů. Na délku má vliv i pohlaví plodu. Většinou za prodloužení březosti může samčí pohlaví. Mezi další vlivy na délku má výživa a pohyb klisny (Ende et al. 2006). Pokud se hříbě narodí před 300 dnem je hříbě neživota schopné, nedojde k vývinu plicního surfaktantu. Jedná se o látku nezbytně nutnou k dýchání, která je složena ze směsi proteinu a fosfolipidů. Jeho hlavní funkce je zabránit zkolabování plic na konci výdechu a také snižuje povrchové napětí, které na plicích vzniká (Roohbakhshan & Sauer 2019). Zakládání orgánů dochází ke konci první třetiny březosti a embryo přechází do stadia fetálního. Po celou dobu březosti je plod uložen v amniotickém vaku. Plíce plodu jsou během celé březosti nečinné. Díky spojení ductus arteria Botalli je vedena polookysličená krev z pravého srdce přímo do aorty. Prochází také přes foramen ovale z pravé před síně do levé přes otvor, který je ve stěně. Po narození se tento otvor uzavírá. Plíce se aktivují až po narození. Za plod se považuje takový stupeň vývoje, který umožňuje život mimo dělohu (Doležel 2003).

Klisny v porovnání s ostatními hospodářskými zvířaty mají jiný mechanismus hormonálního řízení zodpovědného za udržení březosti. U klisen celou březost nezabezpečuje progesteron jako je tomu u jiných zvířat. Původní gravidní žluté tělísko je zachováno, vlivem folikulostimulačního hormonu, vytvořeného hypofýzou dochází k růstu a následně zrání folikulu, které ovulují a dojde k vytvoření přídatných žlutých tělísek (corpus luteum accessorium) ty následně vytvářejí progesteron. Obě žlutá tělíska ale v průběhu zaniknou. Nejdříve zaniká žluté tělísko, kolem 6. týdne, pak se vytváří přídatná žlutá tělíska kolem 6. až 20. týdne. Ty regresují kolem pátého měsíce gravidity (Kudláč et al. 1987).

Diagnostikovat březost pomocí sonografického vyšetření můžeme již 16. den po inseminaci, nebo přirozeném připouštění. Sestup embrya do dělohy se pohybuje mezi 6 až 7 dny. Nedochozí k okamžitému uchycení, ale embryo obíhá dělohu, aby nedošlo ke spuštění dalšího cyklu. Poté dojde k uchycení v děložním rohu. Zhruba od 30. až 33. dne lze březost zjistit pomocí rektální palpce. Na obězhlém rohu, kde se uhníždí blastocysta, vzniká typická výduť. Kolem 4. měsíce březosti může provést tzv. balotáž, která nám prokáže přítomnost plodu. Brzká detekce březosti je u klisen velice důležitá kvůli možnému výskytu dvojčat.

Vzhledem k tomu, že klisny z pravidla rodí jedno hříbě je výskyt dvojčat jeden z důvodu potratu, a to až z 30% (Macpherson et al. 2000).

Další diagnostiky březosti, které patří mezi základní je nedostavení další říje po cca 21 dnech. Březost lze zjistit zejména díky nepřímým metodám, které se provádějí laboratorně. U klisen je známý Cubonihův test. Jedná se o test, který prokazuje přítomnost vylučovaného estrogenu močí, který se od 120. dne zvyšuje. Od 40. dne gravidity se začíná do krve vylučovat equinní choriový hormon, jehož nejvyšší hodnoty dosahují kolem 70 dne do 120. dne. Zjistit lze pouze odebráním krve (Kudláč et al. 1987).

3.6.4. Porod

Fyziologické ukončení březosti, kdy je z matky vypuzen plod a plodové obaly. Příchod blížícího se porodu může na klisně pozorovat i několik dní. Jeden z příznaků je zvětšování mléčné žlázy vlivem prolaktinu a vznik tzv. jantarku, což je zaschlé mlezivo na vemínku. Také se zvyšuje hladina relaxinu a oxytocinu, který rozvolňuje porodní cesty, zejména stydkou sponu, rozvolnění vazů a svalů. U klisen není tak zřetelný opad širokých pánevních vazů, jako je tomu například u krav, díky mnohem většímu osvalení zádě. Také odchází hlenová zátka, břicho klesne a vulva oteče (Brinsko et al. 2011).

Pokud je hříbě ve fyziologické poloze, nebývají problémové porody. Je to zejména díky dobře utvořené pánvi, kvůli které probíhá porod lehce a celkem rychle, pokud se jedná o zdravou matku a hříbě je v ideální poloze. Ideální poloha pro hladký průběh porodu je v pozici podélné přední, postavení horní, držení hrudní končetiny vstupují do porodních cest (Kliement 1983).

Hlavní stimul, který přijde, jde od plodu k matce, nikoliv naopak. Hlavní spouštěč porodu je hormonální změna u plodu. Jako spouštěcí mechanismus se udává rychlý nárůst nadledvin a také se zvyšující hladina kortikosteroidu, k tomuto nárůstu dochází 1-2 dny před porodem. Produkci adrenokortikotropního hormonu zajišťuje hypotalamus a díky hypofýze dochází k produkci kortikosteroidu. Společným působením dojde na ovariích k náhlé regresi žlutého tělíska a maximální snížení progesteronu, díky tomu může začít působit oxytocin, který dá hlavní stimul matce. Nárůstem estrogenu se zvýší počet receptorů pro oxytocin, stimul přijde z fetálních gonád. Pod působením oxytocinu dojde k nárůstu tlaku v děloze a díky tomu se děložní krček roztahuje. Začnou kontrakce děložní svaloviny, které se postupně zkracují (McKinnon 2011).

Fáze porodu

1. Fáze otevírací

2. Fáze vypuzení plodu
3. Vypuzení placenty (Reece 2011)

Fáze otevírací

Délka této fáze se pohybuje v rozmezí 0,5 až 4 hodin. Klisny jsou výrazně neklidné, točí se v porodním boxe, okusují si břicho, kolikové příznaky, časté kálení, močení. Dochází k fyziologickému otočení plodu do správné polohy. Na děložní krček se natlačí alantochoriový vak, který způsobí jeho postupné rozevření. Prasknutí plodových vod zajistí zvlhčení porodních cest a snadnější průnik plodu z těla matky (Doležel 2000).

Fáze vypuzení plodu

Vypuzení plodu by neměl přesáhnout 20 minut. Pokud trvá porod dlouho, může dojít k úhynu hříběte v důsledku udušení v porodních cestách nebo z důvodu vysílení matky. V této fázi se již zapojuje svaly břišní stěny a také břišní lis. Stahy jsou mnohem silnější, v krátkých intervalech. Klisny rodí až z 90% v leže. Po vypuzení hříběte je důležité uvolnit cesty dýchací. Pupeční provazec se trhá v průběhu porodu v porodních cestách. K odtržení nastane po vypuzení plod v místě zúžení. Pokud k odtržení nedojde, nedoporučuje se ihned přerušit přestřihnutím. Doporučuje se počkat až ustane pulsace. Hříbě při příliš brzkém přerušení pupečního provazce přijde až litr krve (Zakopal 1985). Pupeční pahýl je nutno důkladně dezinfikovat a kontrolovat zaschnutí. Hříbě by se mělo v co nejbližší době napít mleziva z důvodu získání pasivní imunity (Dvořáček 1922). Hříbě by se mělo po narození napít kolostra do 2 hodin. Mlezivo je hlavním zdrojem energie, minerálních látek, imunoglobulinu, vysoký obsah hořčiku, ten je důležitý pro odchod střevní smolky. V tenkém střevě jsou speciální buňky, díky kterým dochází ke vstřebání mleziva a imunoglobulinu. Pokud se hříbě napije po uplynutí 36 hodin, tyto speciální buňky chybí a nevstávají se. Od 7. Dne má klisna normální mléko (Mísař & Jirsková 2005).

Vypuzení placenty

Nejdůležitější je zkontrolovat vypuzení lůžka, aby nedošlo k jeho zadržení v těle matky. Pokud k vypuzení nedojde, je nutné podat oxytocin, který ještě způsobí stahy dělohy a díky nim dojde k dočištění (Kudláč et al. 1987). Lůžko může uvíznout v porodních cestách. Pravděpodobnost zánětu dělohy či porodních cest je vysoká. Nutné jsou výplachy dělohy, aplikace antibiotik (Filla 2005). Existuje mnoho důvodů, proč dochází k zadržení. Jedním z nich je dlouhý porod a vyčerpaní, špatná výživa během březosti, poranění během porodu. Rychle dochází k involuci a regeneraci dělohy od 7. - 9. den po porodu se opět objevuje první poporodní říje (Bečka 1946).

Závěr

Reprodukční cyklus klisny je závislý na délce světelného dne. Hormonální procesy organismu jsou řízeny neurohumorálně. Důležitým systémem, kterým je koncentrace hormonu regulována, je systém zpětné vazby. U řízení pohlavních činností platí hierarchická upořádání. Kůra mozková ovlivňuje činnost reprodukčních funkcí. Limbický systém řeší organismus více komplexně. Ovlivňuje hypotalamus, který hypotalamo-hypofyzárním portálním oběhem ovlivňuje sekreci hormonů hypofýzy. Klisny během březosti produkují extrahypofyzární hormon equinní choriový gonadotropin. Březost je u klisen dlouhá, trvá v rozpětí 310 až 360 dní, proto je důležité aby chovatel zvolil kvalitní a geneticky cenný pár. Díky moderním biotechnologiím jsme schopni více využít klisny i hřebce v případě klony k zajištění budoucí kvalitní generece.

Literatura

- Aurich C. 2011. Reproductive cycles of horses. *Animal reproduction science*. **124**:220–228.
- Bečka J. 1946. *Zvěrolékařský rádce pro zemědělce a chovatele, domácích a užitkových zvířat. Dům zdravotnictví*. Brno.
- Bhargava R, Daughters KL, Rees A. 2019. Oxytocin therapy in hypopituitarism: Challenges and opportunities. *Clinical Endocrinology* **90**:257-264.
- Blackwall B, Miro J. 2012. Ovarian ultrasonography in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*. **47**:30–33
- Brinsko SP, Blanchard TL. 2011. *Manual of equine reproduction*, 3rd ed. Mosby/Elsevier, St. Louis, Mo.
- Bronson FH, Heideman PD. 1994. Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals. In: Knobit E, Neil JD. *The Physiology of Reproduction*, 2nd ed. Raven Press. New York.
- Budras KD, Sack WO, Röck S. 2009. *Anatomy of the horse*, 5th ed. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG., Hannover.
- Buiten van A, Westers P. 2003. Male, female and management risk factors for non – return to service in Dutch mares. *Preventive Veterinary Medicine*. **61**:17-26.
- Crowell-Davis, Sharon L. 2007. Sexual behavior of mares. *Hormones and Behavior*. **52**:12–17.
- Cupps PT. 1991. *Reproduction in domestic animals*, 4th ed. Academic Press, San Diego.
- Červený, Č. 2011. *Vademecum anatomie domácích savců pro studium a veterinární praxi*. Brázda. Praha
- Doležal, R. 2003. *Vybrané kapitoly z veterinární gynekologie a porodnictví pro výuku porodnictví*. Zemědělská fakulta České Budějovice
- Duruttya, M. 2005. *Velká etologie koní*. Košice-Praha. Hipo-Dur
- Duruttya, M. 2005. *Velká etologie koní*. Košice-Praha. Hipo-Dur
- Dvořáček F. 1908. *Pravidelný, těžký a nepravidelný porod u domácího zvířectva*. Hejda a Tuček. Praha.
- Dvořáček F. 1908. *Pravidelný, těžký a nepravidelný porod u domácího zvířectva*. Hejda a Tuček. Praha.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. 1996. *Textbook of veterinary anatomy*, 2nd ed. Saunders. Philadelphia.
- Ende H, Isenbügel E, Wilkens H. 2006. *Péče o zdraví koně*. Brázda, Praha.
- Filla J. 2005. Komplikace doprovázející poporodní období u klisny. *Jezdeckví*. **53**:74-75.
- Fitzgerald BP, McManus JCh. 2000. Photoperiodic Versus Metabolic Signals as Determinants of Seasonal Anestrus in the Mare. *Biology of reproduction*. **63**:335–340
- Frandsen RD, Wike WL, Fails AD. 2009. *Anatomy and psychology of farm animals*, 7th ed Wiley Blackwell, Ames, Iowa
- Ginther OJ, Woods BG, Meira C, Beg MA, Bergfelt DR. 2003. Hormonal mechanism of follicle deviation as indicated by major versus minor follicular waves during the transition into the anovulatory season in mares. *Reproduction*. **126**:653–660

- Ginther OJ. 1992. Reproductive biology of the mare. Basic a Hofman MA. 2004. The brain's calendar: neural mechanisms of seasonal timing. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society. **79**:61–77.
- Graybiel AM. 1990. Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia. Trends in Neuroscience. **13**:244-254.
- Hafez B, Hafez ESE. 2000 Reproduction in farm animals, 7th ed. Philadelphia.
- Hattar S. 2002. Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells; Architecture, Projections and Intrinsic Photosensitivity. Science **295**:1065-170
- Hofman MA. 2004. The brain's calendar: neural mechanisms of seasonal timing. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society. **79**:61–77.
- Huntington P. 2012. Feeding Management of Broodmares. Kentucky Equine Research, Inc., Versailles, Kentucky, USA. **31**:315-316
- Choi YH, Love LB, Varner DD, Hinrichs K. 2004. Factors affecting developmental competence of equine oocytes after intracytoplasmic sperm injection. Reproduction. **127**:187-94.
- Jelínek P, Koudela K. 2003. Fyziologie hospodářských zvířat. 1. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno.
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss M. 2008. Clinical biochemistry of domestic animals, 6th ed. Academic Press/Elsevier, Boston.
- Kawano N, Yoshida K, Miyado K, Yoshida M. 2011. Lipid rats: keys to sperm maturation, fertilization and early embryogenesis. Journal lipids. **39**:125-132.
- Kliement et al. 1983. Reprodukcia hospodářských zvířat. Praha
- Kudláč E, Elečko J. 1987. Veterinární porodnictví a gynekologie. 2nd ed. Státní zemědělské nakladatelství. Praha
- Kuller HJ. 1982. Überwachung and Kontrolle der Fortflanzung. Dietz. Handbuch der Pferdekrankheiten für Wissenschaft und Praxis. **32**:733-742 .
- Leemans B, Stout TAE, De Schauwer C, Heras S, Nelis H, M, Van Soom, Gadella. 2019.. Reproduction **157**:181-197
- Lesté-Lasserre Ch. 2018. Grasping Insulin Resistance in Horses. The Horse. **65**:20-24
- Louda F. 2001. Inseminace hospodářských zvířat se základy biotechnických metod. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Macpherson, ML, Reimer M, 2000: Twin reduction in the mare current options animal reproduction sci **12**:233-234.
- MVDr. Macečková G. 2018. Seminář gynekologie a porodnictví klisen. Královický dvůr.
- Marvan F, Hampl A. 2011. Morfologie hospodářských zvířat, Vyd. 5. Vydala Česká zemědělská univerzita v Praze v nakl. Brázda, Praha.
- Mc Cracken JA, Glew ME, Scaramuzzo RJ. 1970. Corpus Luteum Regression Induced by Prostaglandin F₂. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. **30**:544–546.
- McKinnon AO. 2011. Equine reproduction, 2nd ed. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, U.K.
- Meyer H, Coenen M. 2003. Krmění koní: současné trendy ve výživě. Ikar, Praha.

- Miro J. 2012 Ovarian ultrasonography in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*. 47:30-33
- Misař D. 2001. Chov a šlechtění koní. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.
- Nagy P, Huszenicza G, Juhasz J, Kulcsar M, Solti L, Reiczigel J, Abavary K. 1998: Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of postpartum mares under farm conditions. *Theriogenology* **50**:1109–1119.
- Nagy P, Guillaume D, Daels P. 2000. Seasonality in mares. *Animal reproduction science*. **60**:245–262.
- Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW. 2009. *Veterinary reproduction and obstetrics*, 9th ed. Saunders Elsevier, Edinburgh.
- Oberhaus ER, Paccamonti D. 2013. Review of Management of Anestrus and Transitional Mares. *Reproductive endocrinology*. **59**:325-330.
- Pérez CC, Rodríguez I, Mota J, Dorado J, Hidalgo M, Felipe M, Sanz J. 2003. Gestation length in Carthusian Spanishbred mares. *Livest. Prod. Sci.* **82**:181-187.
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada, Praha.
- Rastogi SC. 2007. *Biotechnology: principles and applications*. Oxford, Alpha Science International. UK.
- Robinson NE, Sprayberry KA. 2008. *Current therapy in equine medicine*. Saunders Elsevier. St. Louis.
- Rossier J, Battenberg E, Pittman Q, Bayon A, Koda L, Miller R, Guillemin R, Bloom F. 1979. Hypothalamic enkephalin neurones may regulate the neurohypophysis. *Nature*. **277**:653-655.
- Samper JCW. 2009. *Equine breeding management and artificial insemination*. Saunders Elsevier, St. Louis. Missouri.
- Slezáková N, Najbrt R. 1982. *Veterinární anatomie*. 2nd ed. SZN. Praha.
- Speroff L, Marca A. 2005 *Clinical gynecologic, endocrinology and infertility*. 7th ed. Lippincott Williams&Wilkins. Philadelphia.
- Starbuck GR, Stout TAE, Lamming GE, Allen WR, Flint APF. 1998. Endometrial oxytocin receptor and uterine prostaglandin secretion in mares during the oestrous cycle and early pregnancy. *Journal of reproduction and fertility*. **113**:173-179.
- Stewart-Spears G. 2005. Champion Endurance Horse Successfully Cloned. *The Horse*. **35**:40-45
- Šichtař J. 2018 in vitro produkce embryí u koní. *Veterinářství* **68**:716-720
- Valera, M., Blesa, F., Santos, R. D., Molina, A. 2006. Genetic study of gestation length in Andalusian and Arabian mares. *Anim. Reprod. Sci.* **95**:75-96.
- Van Buiten A, Westers P, Colenbrander B. 2003. Male, female and management risk factors for non-return to service in Dutch mares *Preventive Veterinary Medicine*. **61**:17-26
- Van Niekerk FE, Van Niekerk CH. 1997. The effect of dietary protein on reproduction in the mare. III. Ovarian and uterine changes during the anovulatory season, transitional and ovulatory periods in the non-pregnant mare. *Journal of the south african veterinary association*. **68**:86–92.
- Víchová J. 2005. Koňská láska: Intimní život klisen. *Jezdeckví*. **11**:70-71

Walton JC, Weil ZM, Nelson RJ. 2011. Influence of photoperiod on hormones, behavior, and immune function. *Frontiers in Neuroendocrinology*. **32**:303–319.

Wilsher S. 2019. The uterus and early pregnancy failure in the mare. *Equine Veterinary Education* **31**:214-224.

Yoon M-J. 2012. The Estrous Cycle and Induction of Ovulation in Mares. *Journal of Animal Science and Technology* **54**:165-174.

Internetové zdroje:

Anonym 1. Bioveta. Available from <https://www.bioveta.cz/pripravky/veterinarni-pripravky/oestrophan-025-mg-ml-injekcni-roztok.html>

Anonym 2. Regumate. Available from <https://pribalovy-letak.info/regumate-porcine-4-mg-ml>