

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Zhodnocení vlivu sexovaných inseminačních dávek na
reprodukční užitkovost dojnic**

Diplomová práce

Autorka: Magdalena Zajíčková

Obor studia: Živočišná produkce

Vedoucí práce: doc. Ing. Jaroslav Čítek, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Zhodnocení vlivu sexovaných inseminačních dávek na reprodukční užitkovost dojnic" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. května 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Jaroslavu Čítkovi, Ph.D. za vedení mé práce, konstruktivní kritiku při jejím vypracovávání a velmi lidský přístup.

Poděkování dále patří mámě za neúnavné hlídání, manželu Petrovi za trpělivost a nakonec celé široké rodině za rozličnou podporu všeho druhu.

Díky vám všem, že jste mi studium umožnili!

Zhodnocení vlivu sexovaných inseminačních dávek na reprodukční užitkovost dojnic

Souhrn

Využívání sexovaných inseminačních dávek (ID) v chovech skotu se stalo běžnou praxí v souvislosti s tlakem na rentabilitu a efektivitu výroby, udržitelnost živočišné produkce a welfare zvířat. Hlavní nevýhodou využívání sexovaných ID je jejich relativně vyšší pořizovací cena a snížená fertilita. Nové produkty na trhu s inseminačními dávkami nabízí zvýšenou fertilitu díky vývoji nových technologií zpracování a konzervace ejakulátu.

Cílem experimentu bylo srovnat úroveň zabřezávání plemenic dojných plemen v reálných podmínkách českých chovů v závislosti na kvalitativním zpracování ejakulátu v ID a zhodnotit, zda při využívání sexovaných ID vybrané chovy byly schopny dosahovat úrovně zabřezávání srovnatelné jako při používání konvenčních ID; dále zhodnotit význam vlivu podniku a kategorie plemence.

V rámci experimentu byla sbírána data o každé provedené inseminaci z devíti podniků. Všechna použitá data byla podrobena kontrole spolehlivosti a vyhodnocena. Dále bylo provedeno ekonomické zhodnocení modelových příkladů využívání pouze konvenčních ID a využívání 50 % sexovaných ID v připařování.

Na úroveň zabřezávání měl vliv podnik, přičemž některé z nich svou kvalitou ošetřování a zootechnické práce byly schopny při inseminacích sexovanými inseminačními dávkami některých typů dosahovat srovnatelné úrovně zabřezávání jako při inseminacích konvenčními inseminačními dávkami. Vliv na výsledky reprodukce měl zejména způsob vyhledávání říjí a uvážlivé využívání sexovaných inseminačních dávek, zejména individuální zhodnocení kvality říjových projevů v době inseminace a fáze říje v době inseminace. Dalším významným vlivem byla kvalita inseminační dávky, resp. způsob zpracování ejakulátu. Napříč podniky byla zjištěna relativně vysoká míra zabřezávání po inseminacích sexovanými ID kvality SexedULTRA™ (u jalovic a krav) a Sexcel (u jalovic) v porovnání s ID konvenčními a sexovanými typu Sexed 2M.

Naopak vliv kategorie plemence se ukázal jako relativně málo významný. Jalovice obecně zabřezávaly lépe než krávy a byly častěji připouštěny sexovanými ID. Propad úrovně zabřezávání po inseminacích konvenčními, resp. po sexovanými ID byl u jalovic větší než u krav, které byly sexovanými ID připouštěny spíše výběrově, nesystematicky. Potvrdilo se tak výše uvedené, tedy že k úspěšnému využívání sexovaných ID v dojeném stádě je důležité individuální zhodnocení vhodnosti použití sexovaných ID u konkrétního zvířete.

Z ekonomického zhodnocení vyplynulo, že vysoce fertilmí sexované ID za určitých podmínek mají potenciál významně pozitivně ovlivnit ekonomiku chovu skotu a eliminovat nevýhody chovu skotu čistě mléčného užitkového typu.

Klíčová slova: fertilita, zabřezávání, sexované inseminační dávky, SexedULTRA™, Sexcel

The evaluation of the sexed insemination doses effect on the reproductive performance of dairy cows

Summary

The use of sexed insemination doses (ID) in cattle farms has become a common practice, hand in hand with the pressure on profitability and production efficiency, sustainability of animal production and animal welfare. The main disadvantage of using sexed IDs is their relatively higher purchase price and lower fertility. In the today IDs market, new products offer increased fertility due to the development of new technologies for semen processing and preservation.

The aim of the experiment was to compare the level of conception of dairy breeds in real conditions of Czech farms, with dependency on the qualitative processing of semen; as well as to evaluate whether selected farms were able to achieve levels of conception rates comparable to conventional IDs; further evaluate the influence of the farm conditions, together with category of the cow (heifers vs. cows). The experiment collected data of every performed insemination from nine farms. All data used was subject of a reliability check and evaluated. Further, modeled data series were a subject of an economic evaluation for conventional IDs solely, as well as for 50% utilization of sexed IDs in mating plans.

An influencing factor of the level of conception rates, was farm's conditions, whereas some of them, due to its qualitative care and zootechnical handling, were able to achieve comparable levels of conception rates with sexed IDs of some types, as well as in the case of inseminations with conventional IDs. Next high influencing factor was the method of oestrus recognition and considerable usage of sexed IDs, especially the individual qualitative evaluation of oestrus manifestation in the time of service and phase of oestrus. Last, but not the least, the influencing factor was quality of ID, optionally the mode of semen manipulation. Across farms, a relatively high rate of conception was found after inseminations of sexed IDs, quality type SexedULTRA™ (in heifers and cows) and Sexcel (in heifers), compared to conventional and sexed IDs, quality type Sexed 2M.

On the contrary, the influence of the category (heifer or cow) proved to be relatively insignificant. Heifers generally achieved better conception rates than cows and were more often serviced with sexed IDs. However, the decrease in the level of conception rates, after insemination by conventional, alternatively sexed IDs, was larger in heifers than in cows, which were serviced with sexed ID rather selectively and unsystematically. This confirmed the above, i.e. that in order to successfully use sexed IDs in a dairy herd, it is important to individually evaluate the suitability of using sexed IDs for each animal.

The economic evaluation showed that highly fertile sexed IDs, under certain conditions, have the potential to affect, significantly and positively, the economics of cattle breeding and eliminate the disadvantages of purely dairy cattle breeding.

Keywords: fertility, conception, sexed insemination doses, SexedULTRA™, Sexcel

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Historie inseminace	10
3.2	Hodnocení ejakulátu	11
3.3	Zpracování a konzervace spermatu	12
3.4	Sexované sperma – význam a uplatnění	14
3.4.1	Specifika procesu sexace	16
3.4.2	Fertilita sexovaných ID	16
3.4.3	Motivace pro využívání sexovaných inseminačních dávek	17
3.4.4	Welfare telat	18
3.4.5	Welfare krav	18
3.4.6	Akcelerace genetického zisku	19
3.4.6.1	Aditivní genetický zisk	19
3.4.6.2	Heteroze	19
3.4.7	Připařovací plán	20
3.4.8	Odchov jaloviček	20
3.4.9	Sexované sperma v produkci hovězího masa	21
3.4.10	Reprodukční technologie a sexované inseminační dávky	21
3.4.11	Budoucí ekologická omezení	22
4	Metodika	24
4.1	Charakteristika podniků	24
4.2	Sledované soubory dat a jejich charakteristika	26
4.3	Statistické vyhodnocení	28
4.4	Ekonomické zhodnocení	29
5	Výsledky	30
5.1	Vliv podniku	32
5.2	Vliv kategorie plemence	34
5.2.1	Zabřezávání jalovic	35
5.2.2	Zabřezávání krav	36
5.2.3	Zabřezávání jalovic a krav	38
5.3	Vliv kvality inseminační dávky	40
5.4	Ekonomické zhodnocení	44
5.4.1	Modelový příklad 1	44

5.4.2	Modelový příklad 2	44
5.4.3	Srovnání modelových příkladů 1 a 2.....	46
6	Diskuze.....	47
6.1	O vlivu podniku	47
6.2	O vlivu kategorie plemenice	47
6.3	O vlivu kvality ID	48
6.4	Sexované ID v dojných stádech	49
6.5	Sexované ID v chovech BTPM	51
6.6	Chov skotu a budoucí ekologická omezení	51
6.7	Doporučení pro další bádání.....	52
7	Závěr	54
8	Literatura	56
9	Seznam použitých zkratek a symbolů	61

1 Úvod

Konvenční sperma nabízí solidní fertilitu při nižších pořizovacích nákladech, hlavní nevýhodou je však podíl pohlaví narozených telat, který je 51:49 ve prospěch býčků (Seidel, 2003). Sexované sperma oproti tomu nabízí vysokou pravděpodobnost narození telete žádoucího pohlaví, ale při snížené fertilitě a relativně vysokých pořizovacích nákladech (Louda, 2001). Žádoucím pohlavím v našich podmínkách je obvykle u dojných stád jalovička, u masných stád býček.

Výroba sexovaných inseminačních dávek je klíčovou technologií, která umožňuje rychleji zvyšovat užitkovost masného i mléčného skotu, zlepšit ekonomickou bilanci farmy a pozitivně ovlivnit udržitelnost živočišné produkce (Holden, Butler, 2017). Míra využívání sexovaného spermatu závisí na konkrétních podmínkách daného chovu, úrovni managementu stáda a obecných šlechtitelských prioritách. Úspěšné využívání sexovaných ID vyšší měrou může pozitivně ovlivnit výnosnost celého chovu. Možnost efektivně ovlivňovat pohlaví v budoucnu narozených telat umožňuje podstatným způsobem zvýšit šlechtitelský pokrok. Na jedné straně dává zooteknikovi možnost získávat od kvalitních krav jalovičky pro obrat stáda, na straně druhé umožňuje od méně kvalitních dojnic získat lépe zpeněžitelné býčky, křížence masných plemen. Ve spojení s genomickou selekcí má sexované sperma potenciál akcelarovat genetický pokrok rapidně (Vishwanath a Moreno, 2018).

Hlavním úskalím při využívání sexovaných ID je snížená fertilita jako důsledek více než dvaceti kroků, ve kterých je sexované sperma připravováno k zamražení. Sexace spermií však vstoupila do nové éry s využíváním rozvinutých biotechnických metod a zvýšením výkonnosti využívaných strojů. Díky neustálému zlepšování výkonnosti se tato technologie stala dostupnou (Vishwanath a Moreno, 2018). Na trhu se tak objevily cenově dostupné tzv. vysoce fertilmí sexované ID, které deklarují vysokou fertilitu, téměř srovnatelnou s konvenčními ID. Jde o produkty prodávané pod komerčními názvy Sexcel, SexedULTRA™, SeleXYon a jiné. Jejich společným znakem je šetrnější zpracování ejakulátu a obvykle vyšší počet spermií v jedné pejetě.

Protože se tyto tzv. vysoce fertilmí sexované inseminační dávky objevují na trhu teprve v posledních letech, chybí na tomto poli nejen praktické zkušenosti, ale také nezávislé zhodnocení v reálných podmínkách českých farem.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Vysoce fertilní sexované inseminační dávky mohou, při vhodném způsobu využívání a splnění některých podmínek, významně ovlivnit ekonomický výkon chovu stáda skotu. V dlouhodobém horizontu mají potenciál odstranit, resp. kompenzovat hlavní nevýhody chovu skotu čistě mléčného užitkového typu. Nabízí totiž možnost zásadního omezení produkce relativně špatně zpeněžitelných býčků při prodeji do výkrmu. Naopak skýtá možnost cíleně selektovat rodiny, které je žádoucí ponechat si pro obrat stáda, a plně využít reprodukčního potenciálu dojníc nižší kvality pro užitkové křížení a produkci výkrmových telat, kdy je výsledný ekonomický efekt umocněn produkcí telete samčího pohlaví, které je oproti jalovičkám cennější.

Cílem experimentu bylo porovnat úroveň zabřezávání krav dojných plemen v reálných podmínkách českých chovů v závislosti na kvalitativním zpracování spermatu použitého při inseminaci, zejména:

- zhodnotit vliv používání sexovaného spermatu býků v reprodukci dojného skotu;
- zjistit rozdíly v úrovni reprodukce různých technologií sexace se zaměřením na produkt dostupný na trhu pod komerčním názvem „SexedULTRA™ 4M“.

Pro účely své experimentální práce a provedení statistických testů byly formulovány dvě nulové, resp. alternativní hypotézy:

H₁₀: Technologie sexace spermatu býků nemá signifikantní vliv na úroveň zabřezávání plemen dojných plemen.

H₁₁: Technologie sexace spermatu býků má signifikantní vliv na úroveň zabřezávání plemen dojných plemen.

H₂₀: Při inseminacích sexovaným ejakulátem nelze dosahovat srovnatelné úrovně zabřezávání v porovnání se zabřezáváním po inseminacích konvenčními inseminačními dávkami.

H₂₁: Při inseminacích sexovaným ejakulátem lze dosahovat dosáhnout srovnatelné úrovně zabřezávání v porovnání se zabřezáváním po inseminacích konvenčními inseminačními dávkami.

3 Literární rešerše

3.1 Historie inseminace

Než se během 20. století rozšířila metoda umělé inseminace skotu, běžně se využívala přirozená plemenitba a býci působili na vícero farmách, které je de facto sdílely. Původně byla metoda inseminace vyvinuta pro klisny a až později v Rusku a v Dánsku byla její metodika přizpůsobena pro skot (Ivanoff, 1922; Perry, 1945).

První organizací, která se ve větším měřítku zabývala inseminací skotu, byla založena v Dánsku v roce 1936. Podobné organizace vznikly později v USA a jinde ve světě (Perry, 1945). Někteří producenti i chovatelé zpočátku byli nedůvěřiví a této nové metodě se bránili, protože sběr spermatu, manipulace s ním i vlastní inseminace byly dosud poněkud těžkopádné (Polge, 2007; Wilmut, 2007). Brzy však bylo evidentní, že svými přínosy a výhodami umělá inseminace přirozenou plemenitbu zkrátka převyšuje. Umělá inseminace se ukázala být zásadní pro růst reprodukčního potenciálu elitních plemenů. Dále přinesla omezení přenosu chorob, možnost zvýšit produkci spermatu a další výhody (Ivanoff, 1922; Perry, 1945).

Tou největší výhodou však byla možnost precizního prověření býků na stovkách dcer. Během posledních osmdesáti let se rozšířila až na více než 130 milionů inseminačních úkonů ročně v mezinárodním měřítku (Vishwanath, 2003) – a to zejména díky neustálému zlepšování procesů sběru, zpracování, mražení a dlouhodobého uchování semene.

Metody inseminace se v čase vyvíjely. Přirozeně první technikou byla inseminace intravaginální, která napodobuje přirozenou plemenitbu. Vysoká poptávka po plemenném materiálu a zároveň nízká úroveň zabřezávání byly příčinou nedostatečnosti této techniky (Olds, 1978). Již v první polovině 20. století byla zaznamenána podobná úroveň zabřezávání při zavedení 4 ml spermatu do pochvy nebo 0,2 ml spermatu do děložního hrdla za pomoci spekula (Kozlova, 1935). Do dnešní doby běžně a s úspěchem prováděná rektální metoda inseminace byla vyvinuta v Dánsku kolem roku 1937. V devíti různých studiích porovnával Olds (1978) výše zmíněné techniky a zjistil vyšší úspěšnost (60,1 %) při rektální metodě než při inseminaci za pomoci spekula (48,9 %) při nižší spotřebě spermatu. Dalšímu rozšíření rektální metody inseminace dále napomohlo využívání nerezových inseminačních katetrů, jednorázových inseminačních rukavic, výroba plastových pejet a hygienických jednorázových převleček. Celkově tak vývoj dospěl k metodě jednoduché k provedení, velice hygienické a vysoce účinné.

První pokusy o odebrání spermatu rovněž nebyly optimální a byly spojené s velkými ztrátami a vysokým rizikem přenosu chorob. Býk byl připuštěn na krávu a bezprostředně poté bylo sperma získáno přímo z pochvy (Ivanoff, 1922; Perry, 1945). Alternativou bylo vyvolání ejakulace pomocí rektální masáže ampuly chámovodu a přídatných pohlavních žláz. Takto získané sperma však bylo běžně kontaminováno močí a koncentrace ejakulátu byla nedostatečná (Case, 1925; Miller a Evans, 1934). Významné zlepšení komfortu odběru semene a jeho kvality přineslo používání atrapy pro vzeskok a umělé vaginy pro vlastní odběr. Ta byla původně vyvinuta pro odběr semene psů a pro použití pro odběr spermatu býků byla upravena

v Rusku ve 30. letech 20. století. V téže době byla vypracována metoda indukované elektroejakulace (Gunn, 1936), ale u býků byla poprvé využívána až od roku 1954 (Dziuk et al., 1954). Používá se dodnes, ale především u býků, kteří z nějakého důvodu nejsou schopni vzeskoku na atrapu a ejakulace do umělé vaginy (Moore a Hasler, 2017). V dalších letech byly dále zdokonaleny techniky odběru a stimulace býků v zájmu dalšího zvýšení kvality a množství odebraného spermatu v souladu s rostoucí poptávkou po něm (Colins et al., 1951; Bratton and Foote, 1954; Hafs et al., 1959). V současné době je možné od býka plemene holštýn odebrat až 30 miliard spermií týdně, což postačuje k inseminaci 3 000 krav při počtu 10 milionů spermií v jedné pejetě (Moore a Hasler, 2017), přičemž ale platí, že výkonnost býka v produkci spermatu je do značné míry individuální.

3.2 Hodnocení ejakulátu

Jednou z nepřímých výhod umělé inseminace oproti přirozené plemenitbě je vědomí, že plemenice je připuštěna pouze semenem vysoce kvalitním. Tím prvním, co je u odebraného ejakulátu posuzováno, je objem a koncentrace (Salisbury et al., 1943) a vizuální zhodnocení poměru spermií vykazujících progresivní pohyb vpřed ve zředěném ejakulátu při zvětšení 400× (Elliott, 1978). Tyto informace jsou klíčové pro posouzení reprodukčního výkonu plemníka, posouzení vhodnosti ejakulátu k dalšímu zpracování a jsou určující při plánování ředění a množství inseminačních dávek, které lze vyrobit. Kritéria pro posuzování morfologie spermií stanovil Williams (1920), který popsal souvislost mezi abnormalitami spermií a jejich oplozovacími schopnostmi. Hodnocení morfologie spermií je tak dnes rutinním postupem v laboratořích inseminačních stanic; typicky je požadováno, aby ejakulát, který bude dále zpracováván, obsahoval maximálně 35 % morfologicky abnormálních spermií.

Třídění buněk začalo být proveditelné v šedesátých letech 20. století v souvislosti s vývojem průtokové cytometrie (Fulwyler, 1965; Dittrich a Goehde, 1968). Ta byla dále kombinována s barvením spermií a mnoha dalšími morfologickými požadavky na kvalitu (Garner et al., 1986). Dnes je tato metodika využívána k běžnému hodnocení membránové integrity spermie, kvality akrozómu, energetiky spermie a neporušenosti DNA.

Schopnost třídít, počítat a hodnotit spermie dala podnět inseminačním stanicím k automatizaci postupu při kontrole kvality výrobních procesů. Automatizace těchto procesů byla později zásadní při produkci sexovaných inseminačních dávek (Moore a Hasler, 2017).

Využití výpočetní techniky při analýze spermatu významným způsobem přispělo k přesnosti a spolehlivosti jeho hodnocení (Liu a Warme, 1977). Takové systémy byly vyvinuty k objektivnímu měření rychlosti spermií a určení poměru spermií s odpovídajícím a progresivním pohybem vpřed v populaci zárodečných buněk v odebraném ejakulátu. V posledních letech některé systémy jsou schopny automatizovaně zhodnotit také morfologii spermií. Ačkoli v dnešní době je možné objektivně hodnotit mnohé charakteristiky kvality spermií, jde o nepřímé ukazatele fertility, kterou není možné změřit přímo (Moore a Hasler, 2017).

3.3 Zpracování a konzervace spermatu

Problémy spojené s organizací odběrů spermatu a jeho distribuce byly do značné míry vyřešeny s rozvojem účinných metod konzervace. Obecným principem prodloužení životaschopnosti spermií je zpomalení nebo inhibice metabolické aktivity působením nízké teploty. Potenciál konzervace spermatu byl demonstrován pokusy v první polovině 20. století. Ve Velké Británii bylo s úspěchem využíváno krátkodobě konzervované (48 h) sperma králíků (Walton, 1926) a v Nizozemí, kde bylo dosaženo uspokojivé úrovně zabřezávání krav po inseminaci krátkodobě konzervovanými (57 h) inseminačními dávkami (Edwards et al., 1938). Ve zmíněných studiích bylo prokázáno, že skladování neředěného ejakulátu při teplotě 5 °C za pomoci ledu prodloužilo oplozovací schopnost spermií typicky o dva až čtyři dny.

Velmi brzy bylo evidentní, že každý ejakulát obsahuje dostatečné množství spermií k inseminaci tisíců plemenic, ale objem neředěného ejakulátu postačuje pouze k provedení deseti až dvaceti inseminací (Ivanoff, 1922). Zpočátku byl ejakulát ředěn roztokem glukózy, fosfátového pufru a síranu sodného. Důležitý průlom nastal v roce 1939, kdy se ukázal být účinným ředidlem vaječný žloutek (Phillips, 1939). Později bylo zjištěno, že srovnatelné úrovně zabřezávání lze dosáhnout také při použití převařeného mléka (Thacker a Almquist, 1953). Roztok vaječného žloutku a fosfátového pufru v poměru 1:1 v pokusu umožnil zabřezávání krav po inseminaci ejakulátem konzervovaným 150 h a 180 h (Phillips, 1939). Následně nahrazení fosfátu citrátovým pufrem přineslo stejné výsledky, a navíc benefit v podobě rozptýlení tukových kapek z vaječného žloutku, které působily problémy při mikroskopickém posuzování spermií (Salisbury et al., 1941).

Ejakulát je nejdříve zahřát na teplotu 37 °C a je ošetřen antibiotiky; později je zchlazen na 5 °C. Zpomalené chlazení po dobu několika hodin zlepšuje úroveň motility a fertility spermií po rozmražení (Graham et al., 1957; Martin, 1965). Pravděpodobně proto, že dává buňce možnost přizpůsobit se sníženým teplotám před vlastní kryokonzervací. Finální ředění poté slouží k dosažení cílené koncentrace spermií v jedné inseminační dávce, typicky deset až dvacet milionů spermií (Moore a Hasler, 2017).

V průběhu čtyřicátých let 20. století vzrůstalo povědomí o mikrobiální kontaminaci a jejích rizicích a vlivech na fertilitu (Gunsalus et al., 1941; Prince et al., 1949) jako důsledku krátkodobé konzervace za použití vaječného žloutku bohatého na živiny. Toto bylo demonstrováno pokusem, při kterém byla do konzervovaného spermatu spolu se žloutkem přidána antibiotika (penicilin a streptomycin) za účelem omezení bakteriálního růstu (Almquist et al., 1949). Příměs antibiotik zvýšila *NR₆₀₋₉₀ test* o 11 % (Foote a Bratton, 1950). Antibiotika se tak stala standardní součástí ředidel. Ve spojení se systematickým screeningem chorob a precizními sanitačními postupy významně přispěla k eradikaci nálezů, zejména pohlavních (Moore a Hasler, 2017).

Všechny výše uvedené studie byly prováděny v době, kdy ještě nebyla známá účinná technika dlouhodobé konzervace ejakulátu, tedy hlubokého zmražení a následného rozmražení. Nebyla známá kryoprotektiva, která by zamezila procesům destruktivně působícím na spermií během mražení a rozmražení. Jde jednak o tvorbu intracelulárních

ledových krystalů, které ovlivňují vnitřní strukturu spermií, a dále o vzrůst osmotického tlaku a interakci mezi nimi (Pickett a Brendtson, 1978). Prakticky byla doba použitelnosti ejakulátu býků dva dny. Po uplynutí této doby bylo sperma kvalitou nedostačující a bylo systematicky vyřazováno. V některých regionech inseminační stanice dokonce denně zasílaly inseminační dávky letecky (Underwood, 2012).

Vývoj na poli ředidel postupně dospěl k možnosti efektivně krátkodobě konzervovat ejakulát při pokojových teplotách (18-24 °C) po dobu 4 dnů bez negativního vlivu na oplozovací schopnosti spermií díky vývoji ředidla se syntetickým progestinem v roce 1965 (Shannon, 1965; Shannon a Curson, 1984). Kaprogen saturuje ředěný ejakulát dusíkem a omezuje koncentraci kyslíku v něm (Shannon, 1965). Bylo také demonstrováno, že krátkodobě konzervovaný ejakulát vykazuje lepší vlastnosti při skladování při pokojové teplotě než při teplotě okolo 5 °C (Shannon a Curson, 1984).

Taková řešení se stala irelevantními, jakmile byl učiněn pravděpodobně vůbec nedůležitější krok ve vývoji metod konzervace ejakulátu. Pro spermie je při procesu zamrazení nejrizikovější ta část, kdy je vystavena teplotám v rozmezí -15 °C až -60 °C (Mazur, 1984). V roce 1949 byly popsány kryoprotektivní vlastnosti glycerolu při zmrazení a rozmrazení spermatu (Polge et al., 1949). Spermie kohouta zmrazené v roztoku glycerolu na teplotu -79 °C (teplota kapalného CO₂) vykazovaly po rozmrazení normální motilitu (Polge et al., 1949). Šlo o vůbec první report o tom, že živé buňky mohou bez úhony přežít proces zmrazení a rozmrazení. Stejný úspěch byl později demonstrován s býčím ejakulátem (Polge a Rowson, 1952). Vhodnost využití glycerolu je připisována jeho schopnosti pufrovat intracelulární elektrolyty spermie (Lovelock, 1953). První telata narozená po inseminaci zamrazenými inseminačními dávkami (Polge a Rowson, 1952) ohlašovala novou éru a revoluci v připařování.

Brzy nato byla vyvinuta pro dlouhodobou konzervaci též vhodná ředidla. Studie publikovaná v roce 1965 demonstrovala motilitu spermií o 18 % vyšší při použití ředidla ve složení vaječný žloutek a trisaminomethan (TRIS) ve srovnání s ejakulátem ředěným pouze žloutkem (Davis et al., 1963 a, b). Ředidla na bázi vaječného žloutku, TRIS a glycerolu se stala široce využívaná v laboratořích zpracovávajících ejakuláty pro dobré vlastnosti při krátkodobé i dlouhodobé konzervaci spermií (Vishwanath a Shannon, 2000).

Jako mrazící médium byl pokusně nejprve využíván oxid uhličitý a alkohol (-79 °C). Tato směs však nebyla vhodná, spermie byly znehodnoceny formovanými krystaly (Polge a Rowson, 1952). Mrazení a skladování za pomoci kapalného dusíku při teplotě byly dobře proveditelné až po nahrazení původních dvouplášťových skleněných nádob novými specializovanými, které vyvinuly americké firmy American Breeding Service (ABS; Deforest, Wisconsin) a Linde Air Products (Murray Hill, New Jersey). Kryokonzervační proces byl později modifikován; inseminační dávky byly postupně zchlazovány parami dusíku na cílovou teplotu -196 °C (Forgason et al., 1961) nebo byla využívána programovatelná mrazící zařízení (Almquist a Wiggin, 1973). Postupně se kapalný dusík stal preferovaným mrazícím médiem, protože ve srovnání s oxidem uhličitým umožnil a také usnadnil dlouhodobé skladování a spermie po rozmrazení vykazovaly vyšší životaschopnost (Fowler et al., 1961).

Podobně jako při zmrazování, i při rozmrazování je pro spermie kritická teplota v rozmezí -15 °C až -60 °C (Mazur, 1984). Obecně platí, že spermie zmrazené prudce by měly být prudce také rozmrazeny (Mazur, 1984). Široce praktikovaná je teplota 35 °C po dobu 45 s, která pozitivně působí na životaschopnost spermií po rozmrazení (Pickett a Brandtson, 1978; Vishwanath a Shannon, 2000).

Kryokonzervace přinesla do šlechtění zásadní výhody, mezi nimi v čase neomezené skladování inseminačních dávek, možnost jednoduchého transportu, možnost širokého výběru plemenika a největší vliv přinesl vznik mezinárodního trhu s dlouhodobě konzervovanými inseminačními dávkami plemeniků s těmi nejlepšími vlastnostmi pro šlechtění stád. Nicméně zmrazení a rozmrazení inseminační dávky stále vedou ke znehodnocení asi 50 % spermií a výsledná fertilita je tak v důsledku snižena (Shannon a Vishwanath, 1995). V některých zemích (například na Novém Zélandu nebo v Irsku) se úspěšně etabloval trh s čerstvými inseminačními dávkami, které nabízí mnoho výhod inseminační techniky při nesnížené plodnosti. Inseminační dávka s čerstvým ejakulátem obsahuje typicky 1 až 5 milionů spermií, tedy 2× až 20× méně než dlouhodobě konzervované inseminační dávky. Díky tomu lze ještě efektivněji využít odebraný ejakulát v plemenitbě (Shannon a Vishwanath, 1995).

3.4 Sexované sperma – význam a uplatnění

Poměr pohlaví při početí je kontrolován geneticky a při využití konvenčního ejakulátu nemůže být, jako jeden z mála znaků, řízen nebo manipulován šlechtitelským programem (Seidel, 2003).

V review o historii využívání sexovaného ejakulátu z roku 2008 Garner a Seidel uvádějí výrok, že „nejvyhledávanější reprodukční biotechnologií všech dob je možnost výběru pohlaví při početí, přičemž její vývoj byl v minulosti spojen s velkým optimismem a mnoha zklamáními“. Historicky je doložen zájem o původ determinace pohlaví při početí již ze starověkého Řecka, když Democritus (470-402 př. n. l.) vyjádřil předpoklad, že pravé varle je zodpovědné za potomka mužského pohlaví a levé za potomka ženského pohlaví. Na tomto poli bylo provedeno mnoho neúspěšných studií a od roku 1958 bylo registrováno velké množství nefunkčních patentů pracujících na různých principech. Až do dnešní doby se ukázala jako jediná účinná metoda třídění spermií využívající barvení pohlavních chromozomů X a Y a průtoková cytometrie (Moore a Hasler, 2017).

Prvotním průlomem a úspěchem zahrnujícím průtokovou laminární cytometrii bylo v Národní laboratoři Lawrence Livermore v Kalifornii (USA) provedené potvrzení, že pohlaví je určeno v závislosti na tom, zda spermie obsahuje chromozom X nebo Y u skotu, ovcí, prasat a králíků (Garner et al., 1983). Tomuto napomohly dva zásadní momenty: (1) užití specifických barviv (Hoechst 33342) vážících se na DNA živých buněk, které umožnilo roztřídění živých a neživých spermií, a (2) modifikace průtokové cytoanalýzy, po které bylo na základě dostatečné úrovně signálu možné účinně diferencovat spermie. Nakonec bylo v tomto procesu využito také potravinářské barvivo, které umožnilo třídění spermií současně v závislosti

na pohlaví a životaschopnosti (Moore a Hasler, 2017). V roce 1989 byl v USA publikován úspěch v podobě narození živých králíčat po inseminaci sexovaným spermatem, z nichž bylo 94 % samičího pohlaví (Johnson et al., 1989). To vedlo v USA k patentovému krytí technických podrobností průtokového sexování spermii (Johnson, 1992). Patent již před lety expiroval, do dnešní doby však bylo registrováno více než dvě stovky patentů stran různých aspektů produkce, kryokonzervace a používání sexovaného spermatu skotu společnostmi XY Inc. (dnešní XY LLC) a Sexing Technologies (Moore a Hasler, 2017).

První živé tele po in vitro fertilizaci (IVF) sexovaným spermatem se narodilo v roce 1993 (Cran et al., 1993). Společnost Cogent (Velká Británie) pak jako první nabídla sexované inseminační dávky pro komerční využití. V současné době je v asi patnácti zemích světa rozmístěno na čtyřicet laboratoří licencovaných společnostmi XY LLC či Sexing Technologies, které se zabývají sexací spermatu. Odhaduje se, že v roce 2013 bylo celosvětově zpracovááno a sexováno sperma asi 1 800 býků, přičemž většinou šlo o plemeny plemen holštýn a jersey. V roce 2016 bylo v USA vyprodukováno 4,5 až 5 milionů sexovaných inseminačních dávek. Více než 90 % z nich bylo dojných plemen (Moore a Hasler, 2017).

V produkci sexovaných inseminačních dávek jsou dva faktory limitující. Prvním je vysoká pořizovací cena průtokových cytometrů a vysoké provozní náklady. V závislosti na konkrétních podmínkách, jako je individualita býka a požadovaná spolehlivost sexace, je možné vyrobit pouze sedm až dvanáct inseminačních dávek za hodinu. Pro zvýšení kapacity a rychlosti výroby je tak třeba užití vícera průtokových cytometrů současně. A to vše i navzdory tomu, že většina sexovaných inseminačních dávek obsahuje pouze dva miliony spermii v porovnání s deseti až dvaceti miliony nesexovaných spermii v konvenčních inseminačních dávkách. Obvyklá spolehlivost sexace je asi 90 % a úzce souvisí s rychlostí sexace. Druhým faktorem limitujícím výrobu sexovaných inseminačních dávek je proměnlivý podíl spermii poškozených vlastním procesem sexace, který se následně projevuje u krav i jalovic sníženým procentem zabřezlých (CR) v porovnání s konvenčními inseminačními dávkami (DeJarnette et al., 2009; Kamio et al., 2013; Mikkola a Taponen, 2017).

Sexované sperma dává u skotu dojeného i masného možnost zvolit s minimálně 90% spolehlivostí pohlaví v budoucnu narozeného telete. K rychlé identifikaci spermii nesoucích pohlavní chromozom X nebo Y se využívá rozdílu v obsahu DNA uvnitř buňky, kdy spermie nesoucí heterochromozom X obsahují DNA o 3,8 % více (Johnson, 1995). V současné době je to jediná spolehlivá metoda zajišťující manipulaci s pohlavím potomka. Prakticky se sexace spermatu provádí za pomoci specializované průtokové cytometrie (fluorescencí-aktivované buněčné třídění; Garner et al., 2013). V nedávné době se však také diskutuje metoda selekce zárodečných buněk za využití laserového paprsku eliminaci nežádoucích heterochromozomů ve výsledném produktu (Faust et al., 2016)

Ačkoli využívání sexovaných inseminačních dávek přináší mnohé benefity, procentuálně je využíváno jen v malé míře (do 5 %). Jeho podíl však v posledních letech stále dynamicky roste (Seidel, 2014). Primárně se používá v dojených stádech, přičemž tradičně bylo využíváno v připařování jalovic (Borchersen a Peacock, 2009; DeJarnette et al., 2009; Frijters et al., 2009) z obav o snížené reprodukční ukazatele krav (Seidel a Schenk, 2008; DeJarnette

et al., 2011; Healy et al., 2013). Pozdější studie však demonstrují, že sexované sperma může být úspěšně využíváno jak u jalovic, tak u laktujících krav (Butelr et al., 2014; Xu, 2014). Každé snížení fertility má negativní vliv na rentabilitu využívání sexovaného spermatu na farmě. Jeho používání bude tedy pravděpodobně nevýhodné v chovech s obecně nízkou úrovní reprodukce.

3.4.1 Specifika procesu sexace

V závislosti na metodě zpracování je konvenční sperma vystaveno jen třem nebo čtyřem intervencím, zatímco sexace ejakulátu obnáší více než dvacet kroků, než je připraveno k zamrazení (Vishwanath, 2014).

Od doby, kdy byly na toto téma publikovány první studie, byl proces sexace zdokonalen. Především nyní zahrnuje zvýšení koncentrace spermií na 60 až 400 milionů v 1 ml, než jsou spermie ošetřeny barvivem H33342 (Seidel a Garner, 2002), a posléze následuje roztřídění. Dále je ejakulát pomalu zchlazen na 5 °C, jsou do něj přidána kryoprotektiva a prochází centrifugací, při které vznikají koncentrované pelety. Následně je ejakulát příslušnými ředidly ošetřen tak, aby bylo dosaženo cíleného počtu spermií v ID. Dalším krokem je ekvilibrace, plnění do pejet a řízené zamrazení (Johnson, 2000; Seidel a Garner, 2002).

Kontrola kvality po rozmrazení obvykle zahrnuje vyhodnocení motility a akrozomální integrity po třech hodinách inkubace při 35 °C a analýzu přesnosti roztřídění spermií, jejímž výstupem je histogram zobrazující relativní zastoupení populací spermií nesoucích chromozom X, resp. Y. Typicky sexované sperma obsahuje 90 % spermií žádoucího pohlaví (Sharpe a Evans, 2009).

Každý z kroků sexace je přirozeně určitou zátěží, a tak výsledkem je vždy kompromis mezi kvalitou sexace a funkčností spermií. Výše uvedený proces byl v minulých letech modifikován a zdokonalován (Vishwanath a Moreno, 2018).

3.4.2 Fertilita sexovaných ID

V současné době může být průtoková cytometrie efektivně využívána v produkci oddělených populací spermií nesoucích chromozomy X nebo Y, které jsou pak využívány v umělé inseminaci skotu (Garner *et al.*, 1983; Johnson *et al.*, 1989; Seidel *et al.*, 1999; Schenk *et al.*, 1999). Nicméně fertilita sexovaného ejakulátu byla obecně snížena v porovnání s konvenčním (Seidel *et al.*, 2002), což bylo připisováno několika faktorům, jmenovitě redukovanému počtu spermií v pejetě a také faktu, že sexované spermie jsou poškozovány nejen ošetřením před zamrazením, poškozují je také rozmrazování a zejména vlastní proces sexace. Časování inseminace ve vztahu k době ovulace ovlivňuje fertilitu, přičemž toto časování je vhodné přizpůsobit konkrétnímu plemeníkovi (Trimberger, 1948; Macmillan a Watson, 1975; Dransfield *et al.*, 1998; Saacke *et al.*, 2000; Dalton *et al.*, 2001). V důsledku uvedených změn je časové okno pro dosažení optimální úrovně zabřezávání při inseminaci

sexovaným ejakulátem poněkud menší a přibližuje se době ovulace (Sales *et al.*, 2011; Bombardellia *et al.*, 2016). To je dobrým argumentem pro využívání sexovaných inseminačních dávek v synchronizačních protokolech (*fixed time artificial insemination*, FTAI; Seidel, 2003 a; Seidel, 2003 b).

V nedávné době se stalo komerčně dostupným sexované sperma vzniklé dokonalejším způsobem třídění spermií. Jde o produkt dostupný pod komerčním názvem SexedULTRA™ americké společnosti Sexing Technologies (Navasota, Texas, USA). Tato nová technologie umožňuje ekonomicky vyrábět pejetý ejakulátu obsahující čtyři miliony spermií. To je dvojnásobné množství, než obsahuje standardní sexovaná ID (sexed 2M nebo též XY; Seidel *et al.*, 1999; Amann, 1999; DeJarnette *et al.*, 2008). Rozsáhlé výzkumy na tomto poli indikují zvýšenou fertilitu technologie známé jako SexedULTRA™ oproti minulé generaci sexovaných ID vzniklé starší metodou (Gonzalez-Marin *et al.*, 2016) a také zvýšenou úroveň zabřezávání při využívání vysoce fertilních ID obsahující čtyři miliony spermií SexedULTRA 4M™ (Lenz *et al.*, 2016). Některé výzkumy také naznačují srovnatelnou úroveň zabřezávání při inseminacích SexedULTRA 4M™ a konvenčními ID (Hutchison a Bickhart, 2016). Technologie SexedULTRA™ je výsledkem kompletní revize a korekce médií a ředidel používaných při zpracování, přehodnocení způsobu skladování a manipulace s ejakulátem, barvení spermií a ošetření před konzervací. Tato technologie byla designována tak, aby byla šetrnější ke spermiím ve všech fázích procesu, zejména jde o řízení pufráčního systému, pH a regulace oxidačního stresu (Gonzalez-Marin *et al.*, 2016; Lenz *et al.*, 2016).

Vishwanath a Moreno (2018) publikují částečně převzatý test, při kterém byl ejakulát osmi plemenů sexován metodou sexed 2M a technologií SexedULTRA™ a vzniklé ID byly využity při inseminacích 6 930 holštýnských jalovic ve čtyřiceti jedna stádech v USA. CR dosažený s ID sexovanými metodou SexedULTRA™ byl statisticky významně o 10,8 % vyšší než při inseminacích spermatem sexovaným technologií sexed 2M. Nejlepší výsledky zabřezávání (NRR test 56. den) byly dosaženy při využití inseminačních dávek SexedULTRA 4M™.

Na základě současného trendu vývoje je zcela reálný předpoklad, že jednoho dne bude fertilita inseminačních dávek SexedULTRA™ vyšší než u současných konvenčních inseminačních dávek (Vishwanath a Moreno, 2018).

Velkou měrou díky těmto pokrokům ve fertilitě většina producentů inseminačních dávek vnímá produkci sexovaných ID jako životaschopnou a konkurenceschopnou technologii. Také oficiální zdroje v USA zaznamenaly zvýšení podílu využívání sexovaných ID i zvýšení úrovně zabřezávání při využívání sexovaného ejakulátu mezi lety 2007 a 2015 (Hutchison a Bickhart, 2016).

Mezi chovateli masného skotu obliba sexovaného spermatu roste podstatně pomaleji v souvislosti se sezónním charakterem chovu (Thomas *et al.*, 2019).

3.4.3 Motivace pro využívání sexovaných inseminačních dávek

Primární motivací pro připarování skotu je zahájení laktace, produkce plemenných zvířat k obratu stáda a produkce telat pro výkrm (Hohenboken, 1999). Všechny zmíněné

produkty jsou důsledkem úspěšného zabřeznutí. To činí z úrovně reprodukce jeden z nejdůležitějších ukazatelů v chovech dojeného i masného skotu. Využívání dlouhodobě konzervovaných inseminačních dávek je vůbec nejběžnější praktikou v chovech dojených stád na celém světě. Při inseminaci konvečním spermatem je minimálně 50% šance na narození býčka. Z některých studií vyplývá, že při umělé inseminaci je pravděpodobnost narození telete samčího pohlaví mírně vyšší v porovnání s přirozenou plemenitbou (Berry a Cromie, 2007; Xu et al., 2000). Hlavní motivací pro využívání sexovaných inseminačních dávek v dojených i nedojených stádech tak je produkce telat žádoucího pohlaví. V chovech dojného skotu jsou jalovičky potřebné pro vlastní obrat stáda i jeho expanzi. V regionech s vysokou poptávkou po jalovičkách představuje také každá prodaná jalovička či březí jalovice podstatný příjem (De Vries et al., 2008). Dále bylo zjištěno, že březí krávy, které porodily tele samčího pohlaví, se vyznačovaly zvýšenou mléčnou produkcí, a to zejména tehdy, když zabřezly po první inseminaci (Hinde et al., 2014). V chovech bez tržní produkce mléka (BTPM) jsou jalovičky s vysokými maternálními indexy žádoucí pro obrat stáda; býčci vykazují lepší růstovou schopnost a v době jatečné zralosti je cena jejich JUT vyšší (Holden a Buttler, 2017).

3.4.4 Welfare telat

Inseminace nesexovanými konvenčními dávkami nevyhnutelně vede v přibližně polovičním podílu k produkci telat nežádoucího pohlaví, což je velmi podstatná skutečnost zejména v chovech dojných stád. Například v USA je pouze 0,1 % býčků kvalitou dostačujících pro plemenitbu v dojených stádech (De Vries et al., 2008) a důsledkem je nadměrná produkce špatně zpeněžitelných býčků mléčných plemen. Jejich další osud je odlišný a závisí na regionu. V některých oblastech jsou využiti k produkci čistě telecího masa, většinou se ale vykrmují do nižších porážkových hmotností. Každé zvíře, jehož nominální hodnota je nízká, je vystaveno riziku zhoršených životních podmínek a pohody, protože jeho nízká cena nemotivuje k velmi dobrému zacházení. Průzkum provedený v Brazílii na 242 farmách ukázal, že na 35 % farem jsou narození býčci okamžitě na místě usmrceni (Hötzel et al., 2014). Využívání sexovaného spermatu by tak omezilo produkci těchto nežádoucích býčků, jejichž budoucí očekávaný welfare ani cena nejsou vysoké úrovně (Holden a Butler, 2017).

3.4.5 Welfare krav

Protože telata samčího pohlaví bývají menší a umožňují obecně snazší porody, má sexované sperma potenciál snížit incidenci dystokie o přibližně 20 % (Seidel, 2003; Norman et al., 2010). Navíc v případě dystokie je perinatální morbidita plodu o asi 57 % vyšší u býčků než u jaloviček (Dematawena a Berger, 1997). V chovech skotu je obecně důležité u krav udržet mezidobí na úrovni blízké 365 dnů z důvodu rentability a sezónních cyklů v managementu chovu. Dystokie je rizikovým faktorem pro řadu poporodních problémů spojených s následnými poruchami plodnosti, jako je zadržaná placenta, onemocnění dělohy, opožděný

nástup ovariálního cyklu a poruchy zabřezávání. Omezení výskytu dystokie tak má řadu okamžitých i potenciálních výhod pro dojenou plemeni (Holden a Buttler, 2017).

Využívání sexovaných inseminačních dávek umožňuje v rámci chovu vyprodukovat dostatek zvířat pro uzavřený obrot stáda. To může pomoci zvýšit úroveň biosecurity podniku, protože odpadá potřeba nakupovat jalovice nebo krávy z jiných chovů s neznámou či nejistou zdravotní situací. Ušlechtlí to tak bezpečnou expanzi stáda produkcí jalovic od plemenic známé genetické hodnoty (Weigel, 2004).

A konečně k maximalizaci benefitů využívání sexovaných inseminačních dávek je třeba chov velmi dobře organizovat, což úzce souvisí s vysokou úrovní welfare každé jednotlivé krávy ve stádě (Holden a Butler, 2017).

3.4.6 Akcelerace genetického zisku

3.4.6.1 Aditivní genetický zisk

Genomická selekce umožnila dřívější identifikaci další generace plemeníků (Calus *et al.*, 2015). Jedním z důležitých potenciálních benefitů využívání sexovaných inseminačních dávek, který je však často přehlížen, je účinnější selekce plemenic. Při využívání pouze konvenčních inseminačních dávek je genetický zisk denního nádoje z 90 % určen selekcí plemeníků (Wilcox *et al.*, 1992). Ve stádech, kde je intenzivně využíváno sexované sperma, se podíl na genetickém zisku mezi plemeníky a plemenicemi stírá, což potenciálně umožňuje zvýšit genetický zisk o přibližně 15 % (Weigel, 2004).

3.4.6.2 Heteroze

Využití efektů heteroze F1 generace kříženců dvou plemen může rychle zlepšit zdravotní stav, fertilitu i dlouhověkost stáda. Křížení holštýnských jalovic s vysoce kvalitními jerseykými plemeníky poskytne rapidně potomky s mnoha výhodnými vlastnostmi – jsou to krávy velice přizpůsobivé, vhodné do nejrůznějších systémů chovu a výroby mléka, s vysokou produkcí mléčného tuku a bílkoviny, menšího až středního tělesného rámce, skvělou fertilitou, excelentní relativní užitkovostí a využitím krmiv (Prendiville *et al.*, 2014; Buckley *et al.*, 2014).

Efekt heteroze je v případě křížení plemen holštýn a jersey velice příznivý, protože se tato plemena vhodně doplňují a zároveň jsou relativně málo geneticky příbuzná. Jednou z hlavních nevýhod a překážkou při křížení holštýnských krav a jerseykých plemeníků je však extrémně nízká cena býčků narozených z těchto spojení. Proto připařování jerseykých plemeníků na holštýnská stáda je podmíněno využíváním sexovaných inseminačních dávek. Cena vyřazených krav je relativně nízká, křížených krav ještě nižší. Kříženky však tuto ztrátu bohatě vynahradí svou lepší plodností a vysokou relativní užitkovostí během své dlouhé produkční dlouhověkosti (Holden a Butler, 2017).

3.4.7 Přípařovací plán

Až do roku 2014 studie publikované na téma zabřezávání po sexovaných inseminačních dávkách reportovaly obecně signifikantně snížený *SS-CR*, konkrétně 70 až 80 % v porovnání s *CR* po konvenčních inseminačních dávkách (review Butler *et al.*, 2014 b). Také v systémech se sezónním telením snížený *CR* znamená vždy finanční ztrátu, protože narušuje dlouhodobé systémy a plány reprodukce a odchovu (Dillon *et al.*, 1995; Shalloo *et al.*, 2004 a 2014). Obecně tedy jakékoliv snížení *CR* neguje výhody, které sexované inseminační dávky skýtají. Po roce 2014 se však začaly objevovat studie popisující zvýšený *SS-CR*, konkrétně 87 % (Butler *et al.*, 2014 a), 94 % (Xu, 2014), 90 % (Vishwanath a Moreno, 2018). Tyto vysoké *SS-CR* byly pozorovány pouze ve stádech s vysokým standardem managementu. Naopak nízký *SS-CR* brzy odradí od používání sexovaných inseminačních dávek ve stádech s méně kvalitním managementem, kde možnost dosahovat srovnatelných výsledků při inseminacích sexovaným a konvenčním spermatem vyžaduje fundamentální a hluboké změny ve strategii řízení stáda. Zaprvé je třeba ujasnit si, kolik narozených jaloviček je potřeba pro chov, a zapouštět pro tento účel adekvátní počet těch nejlepších krav těmi nejlepšími plemeníky v sexované kvalitě. Zadruhé, plemenice nepotřebné k produkci následující generace chovných krav zapouštět spermatem býků masných plemen. Ekonomické modely, které implementují takovou strategii přípařování do řízení stáda, indikují zvýšenou ziskovost v porovnání s využíváním pouze konvenčních sexovaných dávek býků mléčných plemen (Murphy *et al.*, 2016).

3.4.8 Odchov jaloviček

Aby bylo dosaženo maximální celoživotní užitkovosti, všechny jalovice by měly být zapouštěny poprvé ve věku okolo 15 měsíců (první telení okolo věku 24 měsíců). Toto pravidlo je zvláště důležité dodržet v systémech sezónního telení a pastvy, kde je žádoucí, aby jalovičky určené k obratu stáda (budoucí plemenice) byly narozené na začátku období telení. Toho lze docílit tím, že krávy budou zapouštěny sexovanými inseminačními dávkami pouze první tři týdny připouštěcího období. Jalovičky z těchto inseminací se pak narodí na začátku následujícího období telení a budou tedy při svojí první inseminaci starší, což pozitivně působí na produktivitu a dlouhověkost stáda (Archbold *et al.*, 2012; Butler *et al.*, 2014 b).

Jalovice je dále možné poprvé připouštět při inseminacích sexovanými inseminačními dávkami asi o tři týdny dříve než při inseminacích konvenčním spermatem. Toto opatření limituje případné finanční ztráty způsobené opožděným zabřezáváním a případné komplikace spojené s dřívějšími teleními jsou kompenzovány porodem jalovičky, při kterém je redukován výskyt dystokie (Weigel, 2004).

V současné době je obecně potřeba asi 75 % krav a jalovic v dojném stádě k obratu a až 35 % může být brakováno (De Vries *et al.*, 2008). Při využívání sexovaných inseminačních dávek v přípařovacích plánech může být počet potřebných plemenic významně nižší (Hutchinson *et al.*, 2013; McCulloch *et al.*, 2013) Crosson (2008) ve své práci popisuje, že také v masných stádech se ekonomicky lépe uplatní plemenice pocházející původem z užitkového křížení

dojného a masného plemene oproti čistokrevným masným plemenicím, kde chovatel přichází o výhodný efekt heteroze. To naznačuje prostor pro trh s kříženými plemenicemi z dojných stád určených pro produkci masných plemenic a zástavu. Zároveň odstranění plemenic s nízkými plemennými hodnotami z dojeného stáda pomáhá zlepšit jeho genofond jako celek. Také McCulloch *et al.* (2013) uskutečnil simulované modely, kdy porovnával efekty používání sexovaných inseminačních dávek v připouštění těch nejlepších jalovic a krav a připouštění všech ostatních krav spermatem býků masných plemen na straně jedné, a využíváním konvenčního spermatu v celém stádě na straně druhé. První strategie připouštění byla výhodnější a vedla k vyššímu genetickému zisku a rychlejšímu genetickému pokroku.

3.4.9 Sexované sperma v produkci hovězího masa

Míra využívání inseminace je mnohem nižší v masných stádech v porovnání s dojnými. V souvislosti s tím je v chovech BTPM tedy adekvátně k tomu málo využívané také sexované sperma. Nicméně i v chovech BTPM mohou vysoce fertilní sexované inseminační dávky pozitivně zapůsobit. Úspěšné využívání inseminace (a zejména sexovaných inseminačních dávek) je závislé na spolehlivém systému detekce říje, což v chovech BTPM může být problematické, zejména ve velkých a extenzivně chovaných stádech. Nicméně implementace inseminačních protokolů ve stádech BTPM, byť za cenu vyšší pracnosti, usnadní synchronizované a turnusové připouštění a zabřezávání stáda na začátku připouštěcí sezóny. V jednoduché změně tradičního způsobu připouštění tkví možnost volby pohlaví v budoucnu narozeného telete, což umožňuje generovat samičí potomstvo s vysokými plemennými hodnotami pro reprodukci a mateřské schopnosti a hodnotnější samčí potomstvo (budoucí býčci pro výkrm; Holden a Butler, 2017).

3.4.10 Reprodukční technologie a sexované inseminační dávky

Superovulace a embryotransfer (ET) jsou metody, které umožňují získat od každé krávy násobně více potomstva, než kolik by byla schopna fyziologicky poskytnout při přirozeném telení přibližně jednou v roce. Walter Heape byl prvním, komu se úspěšně podařil transfer savčího embrya již v roce 1890, kdy provedl přenos čtyř embryí angorského králíka do inseminované samice belgického obra. Ta následně porodila čtyři belgická a dvě angorská králíčata (Heape, 1897).

Jako alternativa k superovulaci, inseminaci a následnému odběru embryí byla vyvinuta metoda produkce embryí *in vitro*, která zahrnuje OPU, IVF (sexovanými nebo nesexovanými spermii) a ET. Díky vhodným kultivačním médiím je dnes možné embrya mrazit, skladovat je pro budoucí použití nebo přenášet okamžitě, eliminovat výskyt určitých chorob, sexovat, hodnotit je (stanovení genomických PH nebo nositelství některých chorob) před transferem a rozmnožovat samice dosud reprodukčně nedospělé (Moore a Hasler, 2017).

ET v současné době reprezentuje malý podíl na komerčním trhu v reprodukčních biotechnologiích, poslední trendy však naznačují, že je na vzestupu. *In vitro* produkce embryí mezi lety 2000 a 2012 vzrostla sedmkrát (Stroud, 2012) a v roce 2012 a 2014 byl podíl produkce embryí *in vitro* a *in vivo* srovnatelný (Blondin, 2017). Využívání sexovaného spermatu v ET podstatným způsobem zvyšuje šance na produkci násobného množství potomstva žádoucího pohlaví od konkrétní plemence nebo z konkrétního spojení dvou zvířat (Hayakawa *et al.*, 2009). Dosáhnout tohoto lze buď identifikací embryí žádoucího pohlaví a transferem pouze vybraných embryí, anebo fertilizací sexovaným spermatem (Holden a Butler, 2017).

Během procesu sexace jsou spermie nesoucí chromozom X, resp. Y rozlišeny na základě své fluorescenční intenzity. Během tohoto procesu je též možno provést selekci dle jiných fyziologických charakteristik spermií na principu fluorescenčních technik. Například, je-li spermie inkubována za přítomnosti propidium iodidu, neživé spermie přijímají přítomné fluorescenční barvivo a mohou být ze vzorku relativně jednoduše odstraněny současně se sexací. Podobně mohou být spermie během sexace selektovány dle jiných požadavků, např. v závislosti na akrozomální integritě, mitochondriálních funkcí apod. (Holden a Butler, 2017).

Kompozice takových postupů sice proces zpracování ejakulátu bezpochyby zpomalí, ale může se vhodně uplatnit v některých konkrétních reprodukčních biotechnologických postupech, jako je například právě IVF. Vysoké kvality kultivovaných blastocyst lze docílit kombinací OPU a IVF sexovanou spermií (Matoba *et al.*, 2014). Technologie, jako je IVF, vyžadují podstatně menší počet spermií na jeden oocyt v porovnání s inseminací. Následně byl v laboratořích zabývajících se produkcí embryí *in vitro* využíván proces tzv. obrácené selekce, který zahrnuje sexaci původně kryokonzervovaných konvenčních ejakulátků (Morotti *et al.*, 2014) v kompozici s eliminací spermií neživých, poškozených zamrazením a rozmrazením nebo subfertilních (Holden a Butler, 2017).

3.4.11 Budoucí ekologická omezení

Problematika rostoucí poptávky a produkce mléka a hovězího masa souvisí úzce též s ekologickými otázkami. Alexandratos a Bruinsma (2012) ve své studii předpovídají, že v roce 2050 vzroste světová produkce mléka o 62 % na 1 075 milionů tun a produkce hovězího masa vzroste na 112 milionů tun (obojí odpovídá relativně meziročnímu nárůstu mezi lety 2005 až 2007). Tyto očekávané nárůsty vyžadují zefektivnění výroby, protože množství zemědělské půdy růst nemůže (Bouwman *et al.*, 2005). Do budoucna tak bude narůstat kompetitivní vztah mezi lidmi a zvířaty o prostor a půdu (Vishwanath a Moreno, 2017).

Spolu s rostoucí poptávkou po mléce se v mnoha zemích rozrůstají dojná stáda. Nicméně lze očekávat, že budoucí ekologická opatření budou výrobu mléka a hovězího masa limitovat v souvislosti se snahou omezovat produkci skleníkových plynů (greenhouse gas, GHG). Kupříkladu členské státy EU se zavázaly snížit produkci GHG oproti roku 1990 o 30 % do roku 2020 a o 60-80 % do roku 2050 (směrnice EU 406/2009/EC). Napříč EU produkce mléka a masa je zodpovědná za 70 % emisí GHG produkovaných zemědělským sektorem (Lesschen

et al., 2011). Norská studie, která se zabývá mj. cykly prvků, odhaduje, že minimálně 45 % CO₂ a CH₄ je produkováno přímo skotem (nezapočítává emise produkové v souvislosti s produkcí pícnin; Roer et al., 2013).

4 Metodika

4.1 Charakteristika podniků

Vyhodnocení úrovně zabřezávání v závislosti na kvalitě inseminační dávky (konvenční, resp. sexované), podniku a kategorie plemence probíhalo v devíti různých podnicích (celkem v patnácti stájích) v České republice.

Zúčastněné podniky si přály zůstat v anonymitě, proto jsou označeny pouze číselně.

Tab. č. 1: Charakteristika podniků, které se účastnily experimentu

Podnik číslo	Kategorie plemenic J/K	Počet dojnic	Průměrná užitkovost (kg mléka)	N inseminací	Inseminací sexovanými ID (%)	Systém využívání sexovaných ID	Způsob zajištění inseminace	Inseminační služba denně	Způsob vyhledávání říjí	Obrat stáda
1	J	300	11 305	1 614	26	Nesystematické, dle kvality a fáze říje	Dodavatelsky	2x	Vyhledávání pohybové aktivity, vizuální kontrola, palpáce	Uzavřený
	K									
2	J	661	12 395	3 350	12	Výběrová zvířata, 1. až 3. inseminace	U přirozených říjí dodavatelsky, u indukovaných říjí servisně	1-2x	Vyhledávání pohybové aktivity a změn v přežvykování + léčebně ovsynch	Uzavřený
	K									
3	J	726	9 728	3 736	13	1. a 2. ins.	Převážně dodavatelsky	1-2x	Vizuálně	Otevřený
	K					Výběrové prvotelky při 1. ins.			Převážně synchronizační protokoly	
4	J	448	11 485	3 478	13	Inseminace výběrových plemenic	Dodavatelsky	2x	Vyhledávání pohybové aktivity	Uzavřený
	K								Vyhledávání pohybové aktivity a změnách v přežvykování	
5	J	773	12 435	596	17	Výběrově 1. až 3. ins.	Servisně	1x	Vizuálně	Uzavřený
6	J	395	9 672	348	51	Dle vhodnosti fáze říje	Servisně	1x	Vizuálně	Uzavřený
7	J	218	9 622	1 498	8	Nesystematické, dle kvality říje	Servisně	1x	Vizuálně	Uzavřený
	K								Vyhledávání aktivity	
8	J	1017	11 768	3 212	4	Výběrově při 1. ins.	Dodavatelsky	1x	Synchronizační protokoly	Uzavřený
	K									
9	J	165	9 547	2 032	8	Výběrová zvířata, dle kvality říje	Dodavatelsky	2x	Vizuálně	Uzavřený
	K								Vyhledávání aktivity, vizuální kontrola	

Všechny zúčastněné podniky se zabývají chovem dojnic a výrobou mléka. Primárně se jednalo o plemeno holštýnské, v malé míře se v souboru vyskytovaly dojnice plemen brown swiss nebo jersey. Všechny zúčastněné podniky se dále zabývají rostlinnou výrobou a dalšími přidruženými aktivitami více či méně související s živočišnou, resp. rostlinnou výrobou. Podniky ve sledovaném období využívaly kromě konvenčních také sexované inseminační dávky minimálně dvou plemenů po dobu alespoň šesti měsíců za sebou. Plemenici vyskytující se v datovém souboru byli převážně mléčného užitkového typu plemene holštýn, druhým nejčastějším užitkovým typem plemenů byli býci masných plemen využívaní v užitkovém křížení s dojnými plemeny. Dále se v souboru vyskytovali plemenici dojného plemene brown swiss.

Všechny podniky účastníci se experimentu byly klienty plemenářské firmy Inplem, s. r. o., která byla vždy dodavatelem inseminačních dávek konvenčních i sexovaných v různých kvalitách a zajišťovala zpravidla také praktické provedení inseminace nebo pořízení a zpracování inseminačních vět a pořízení případné březosti v centrální evidenci.

Jednotlivé podniky byly charakteristické využíváním sexovaných inseminačních dávek v připařování pouze jalovic nebo jalovic i krav, velikostí stáda a průměrnou užitkovostí na všech laktacích (dle Výsledky Kontroly užitkovosti v České republice za kontrolní rok 2018/2019), počtem inseminačních úkonů a měrou využívání sexovaných inseminačních dávek, způsobem zajištění a četností inseminace během jednoho dne, způsobem vyhledávání říjí a uzavřeným či otevřeným obratem stáda.

4.2 Sledované soubory dat a jejich charakteristika

Experiment byl prováděn na základě sběru dat za zcela reálných podmínek vybraných chovů holštýnských krav v České republice v období 1. 3. 2018 – 31. 7. 2019. Celkově ve vyhodnocovaných souborech dat byly informace o 9 259 plemenících a 22 836 inseminačních vět (bez reinseminací).

Zdrojovým souborem pro vyhodnocení byly inseminační větvy. Přímým zdrojem inseminačních vět byl systém WebSkot, která je produktem společnosti Neuman Company, s. r. o., a slouží ke zpracování výsledků kontroly užitkovosti a inseminací. Její databáze vzniká přímo automatizovaným sběrem dat od jednotlivých inseminačních techniků prostřednictvím mobilní aplikace WebSkot pro jednotlivé klienty odděleně. INPLEM, s. r. o., jako oprávněná organizace Ministerstva zemědělství ČR těmito daty disponuje a poskytl je ke zpracování za souhlasu zodpovědných zástupců klientských firem. U podniků, kde firma INPLEM, s. r. o., byla pouze dodavatelem inseminačních dávek, byla data zajištěna stejným způsobem v součinnosti se zootechnikem z faremního programu pro management stáda a reprodukce AfiFarm od společnosti LUKROM milk, s. r. o., kam data o provedených inseminacích zootechnici zadávali osobně bezprostředně po provedení inseminace.

Sledovanými informacemi byly:

- číslo plemenice
- kategorie
 - jalovice (J)
 - kráva (K)
- podnik a stáj
- vlastní inseminace
 - datum provedení
 - datum pořízení do databáze
 - inseminační interval
 - pořadí
 - 1. až 12.
 - reinseminace (99)
Reinseminací se rozumí inseminace do sedmnáctého dne (včetně) po předchozí inseminaci stejným plemeníkem.
- plemeník
 - jméno
 - státní registr
 - plemeno
 - užitkový typ
- kvalita inseminační dávky
 - konvenční
 - sexovaná (39)

- sexed 2M (sexované tradiční technologií; 2 miliony spermií v pejetě před zamrazením)
 - SexedULTRA™ 4M (komerční název produktu firmy ST Genetics; 4 miliony spermií v pejetě před zamrazením)
 - Sexcel (komerční název produktu firmy ABS; 4 miliony spermií v pejetě před zamrazením)
- výledek inseminace



Obr. č. 1: Náhled rozhraní mobilní aplikace WebSkot sloužící k pořizování dat o provedených inseminacích z terénu

Výsledek inseminace byl po vyšetření nahlášen do databáze zootechnikem prostřednictvím formuláře, který obdržel od pověřeného pracovníka Inplem, s. r. o., který také zajistil vlastní párování s konkrétním inseminačním výkonem. Každou pozdější změnu (zmetání) zootechnik do databáze hlásil stejným způsobem.

Před vlastním vyhodnocením byla provedena důkladná kontrola věrohodnosti jednotlivých inseminačních vět a nespolehlivé soubory byly vyřazeny ze zpracování. Kontrola probíhala na základě znalosti dostupnosti jednotlivých plemenů v různých kvalitách na území ČR v různých obdobích; na základě inventarizace nákupů inseminačních dávek jednotlivých podniků; v případě potřeby na základě fyzické kontroly evidenčních karet jednotlivých zvířat. Vyhodnoceny tak byly pouze soubory spolehlivé.

4.3 Statistické vyhodnocení

Do statistického vyhodnocení bylo zahrnuto celkem 22 836 inseminačních vět (bez reinseminací). Data byla zpracována ve statistickém programu SAS (Statistický systém analýzy) verze 9.4; 2012, SAS Institute; Cary; NC; USA. Analýza rozptylu, procedura GLM a MEANS byla použita pro vyhodnocení všech jednotlivých efektů:

- pořadí inseminace (1 až 12, 99)
- kvalita ID (konvenční, Sexed 2M, SexedULTRA™ 4M, Sexcel)
- kategorie plemenice (jalovice, kráva)
- plemeno (holštýnské, jersey, brown swiss, jiné) a užitkový typ (masný, dojný) plemeníka

Výsledky jsou v práci uvedeny formou základních statistických charakteristik sledovaného souboru (průměry, směrodatné odchylky, do třetí inseminace hodnota P). Rozdíly mezi jednotlivými průměry byly stanoveny Duncanovým testem (P <0,01; P <0,05; NS = nesignifikantní).

Pro výpočet byla použita následující rovnice: $Y_{ij} = \mu + g_i + e_{ij}$, kde Y_{ij} = hodnota znaku, μ = celkový průměr, g_i = sledovaný efekt a e_{ij} = náhodný zbytek.

Grafické znázornění výsledků bylo zprostředkováno pomocí programu Microsoft Office Excel 2019.

4.4 Ekonomické zhodnocení

Při ekonomickém zhodnocení byla porovnávána dvě modelová dojná stáda holštýnských krav, z nichž každé mělo 500 ks dojnic. Byly porovnány tržby při využívání pouze konvenčních ID nebo využívání 50 % sexovaných ID v kvalitě SexedULTRA™ 4M a 50 % konvenčních ID.

Dále byly porovnány náklady na nákup inseminačních dávek, a to dvě varianty pro případ lepší, resp. horší úrovně zabřezávání. Předpokládaný průměrný inseminační index všech krav a kvalit ID byl 2,5, resp. 3 pro případ zhoršené úrovně zabřezávání.

V reálných podmínkách lze při použití sexovaných inseminačních dávek očekávat poměr pohlaví narozených telat 93:7 ve prospěch jaloviček. Poměr pohlaví byl pro účely tohoto orientačního výpočtu zanedbán a bylo kalkulováno se 100 % telat žádoucího pohlaví.

Odbyt telat nepotřebných k zajištění obratu stáda byl realizován formou prodeje ve dvou měsících věku k výkrmu. Na základě znalosti aktuální situace na trhu byly předpokládány následující výkupní ceny:

- čistokrevné holštýnské tele H100 (býček) 3 200 Kč (tele o živé váze 80 kg a ceně za kg 40 Kč)
- kříženec holštýnské plemence a masného býka (H50X)
 - jalovička 4 800 Kč (tele o živé váze 80 kg a ceně za kg 60 Kč)
 - býček 6 400 Kč (tele o živé váze 80 kg a ceně za kg 80 Kč)

Potenciální rozdíl ve váze holštýnského telete a křížence, resp. býčků a jaloviček byl zanedbán.

Genetický zisk (ΔG) je stanoven výpočtem $\Delta G = \frac{I \times R \times \sigma}{GI}$, kde I je intenzita selekce, R je přesnost selekce a σ vyjadřuje směrodatnou odchylku. Při tradičním způsobu plemenitby (inseminace pouze konvenčními ID) je průměrný genetický zisk 38,5 kg mléka ročně, využívání sexovaných ID může přinést zvýšení genetického zisku na úroveň 105,6 kg mléka ročně (Vishwanath a Moreno, 2018). Výkupní cena mléka v ekonomickém zhodnocení byla kalkulována ve výši 9 Kč/kg, což odpovídalo aktuálním výkupním cenám v mlékárnách. Průměrná produkce generace matek byla stanovena jako vážený průměr ročních užitkovostí dojnic v podnicích, které se účastnily experimentu (11 150 kg mléka za normovanou laktaci).

Nákupní ceny ID byly předpokládány dle znalosti aktuální situace na trhu následující:

- holštýnské plemeno
 - konvenční 450 Kč/ks
 - sexovaná 850 Kč/ks
- masné plemeno
 - konvenční 100 Kč/ks
 - sexovaná 490 Kč/ks

5 Výsledky

V celkovém souboru inseminačních vět dominovaly inseminace býky holštýnského plemene (87 %), což koresponduje se skutečností, že zúčastněné chovy se zabývaly primárně chovem holštýnských krav.

Druhou nejpočetnější skupinou býků využívaných při inseminaci byli býci masných plemen (10 %), převážně belgického modrobílého, které bylo široce využíváno v užitkovém křížení pro produkci zástavových terminálních hybridů. Využívání byli různou měrou od třetí inseminace s výjimkou Podniku 8, kde byli masivně využíváni v připarování vybraných podprůměrných plemenic již od první inseminace.

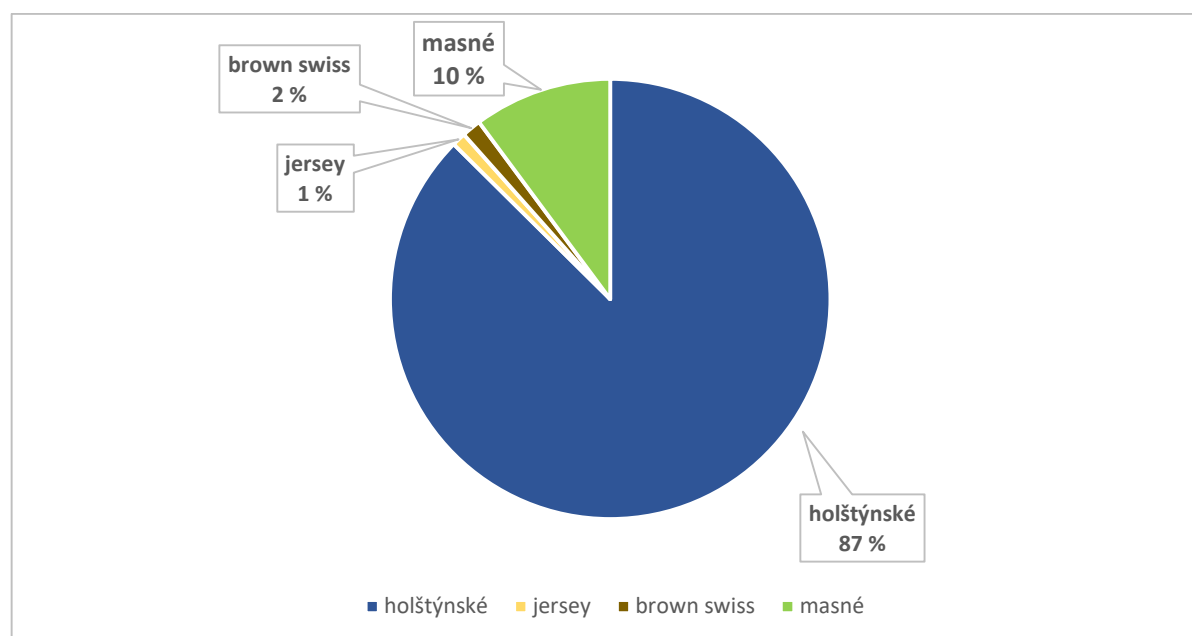
Minoritní zastoupení ve vyhodnoceném souboru měli býci jiných dojných plemen (brown swiss a jersey). Ti byli využíváni při inseminacích čistokrevných plemenic, častěji však v křížení (přilítí krve) či při heterospermích.

Souboru přirozeně dominovaly inseminace konvenčními inseminačními dávkami, které v České republice dosud tvoří standard v připarování.

Sexované inseminační dávky různých kvalit tvořily pouze 12 % všech provedených inseminací v souboru. Nejčastěji se vyskytujícím kvalitativním typem sexovaných ID byl SexedULTRA™ 4M, dále sexed 2M a pouhým jedním procentem byl zastoupen Sexcel.

Tab. č. 2: Počet inseminací dle plemene, resp. užitkového typu býka

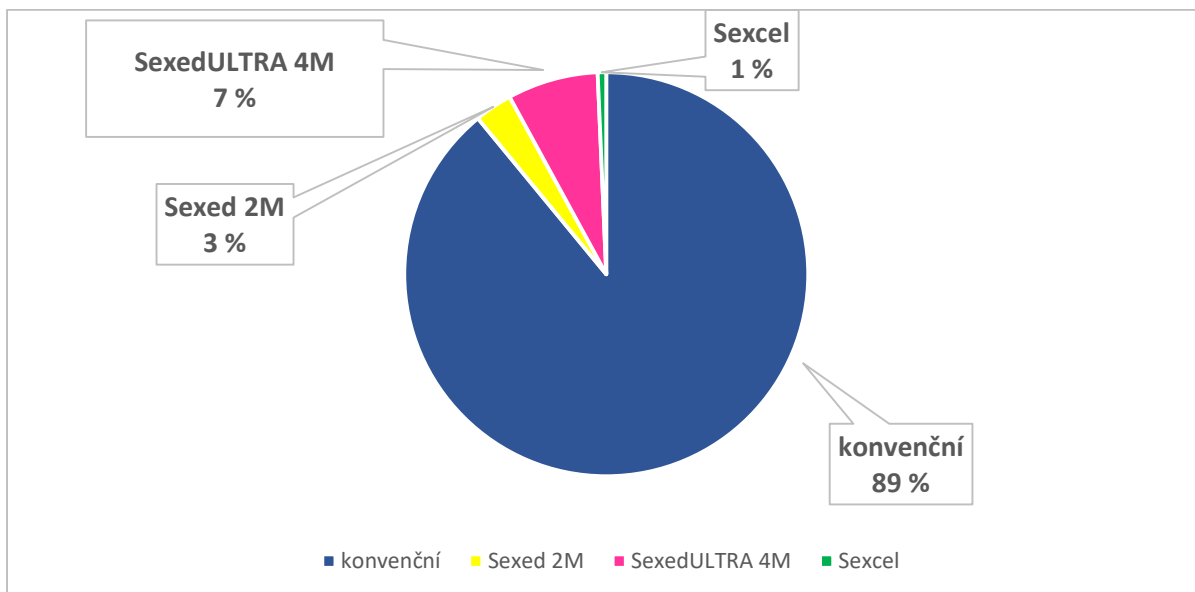
Plemeno či užitkový typ	N
holštýnské	19 144
jersey	222
brown swiss	313
masné	2 223



Graf č. 1: Podíl inseminací dle plemene, resp. užitkového typu plemenika

Tab. č. 3: Počet inseminací dle kvality inseminační dávky, resp. kvalitativního způsobu zpracování sexovaného ejakulátu

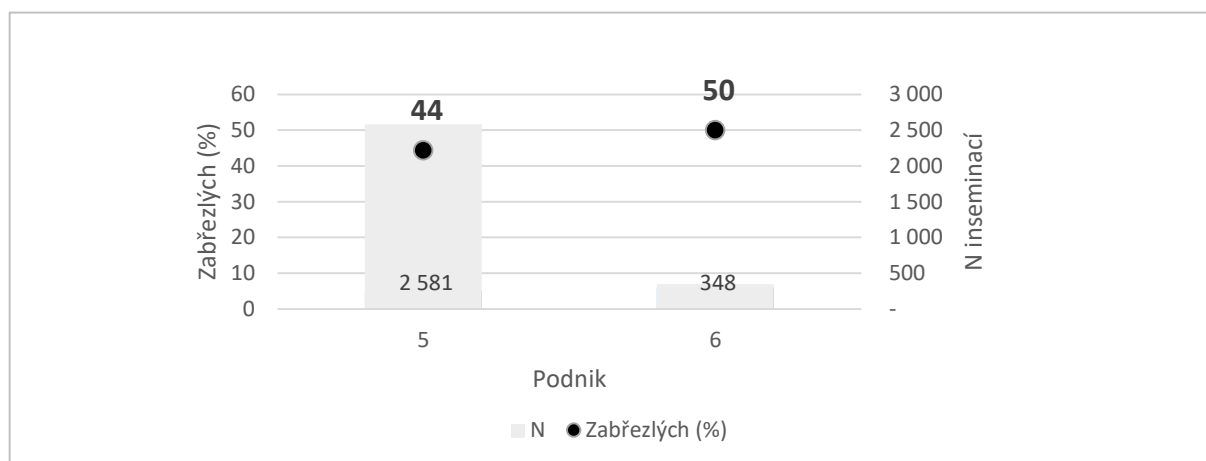
Kvalita	N
Konvenční	19 453
Sexed 2M	660
SexedULTRA™ 4M	1 588
Sexcel	150



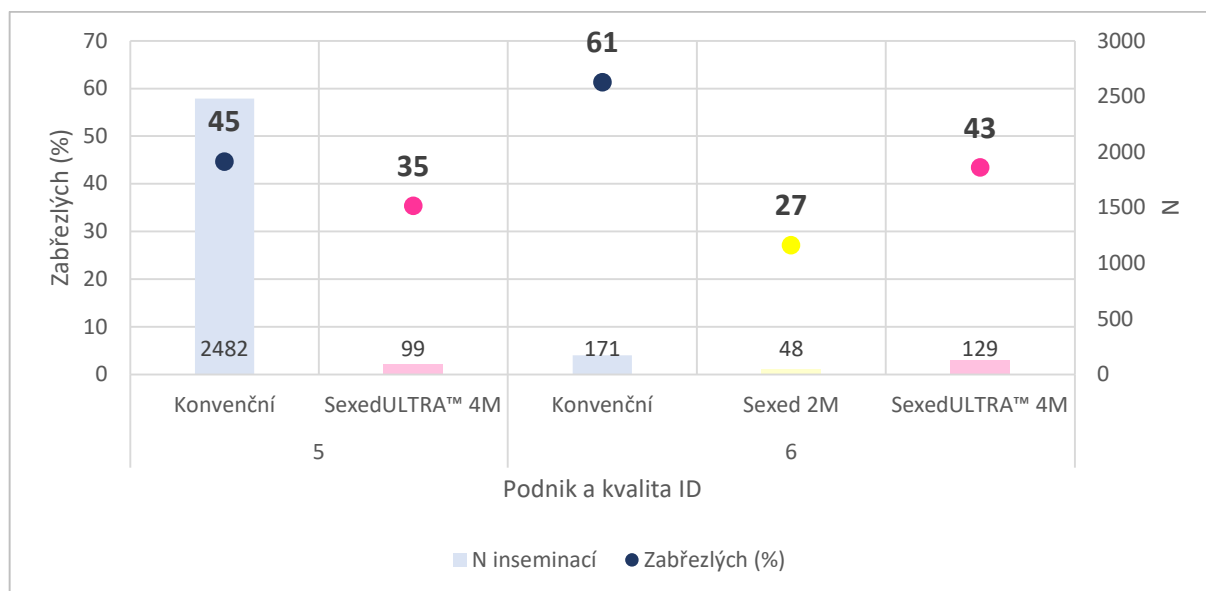
Graf č. 2: Podíl inseminací dle kvality inseminační dávky, resp. kvalitativního způsobu zpracování sexovaného ejakulátu

5.1 Vliv podniku

Nejlepšího zabřezávání dosáhly podniky 5 a 6. Jejich výsledky zde byly pozitivně ovlivněny tím, že v souboru z těchto dvou podniků byly pouze jalovice. Z těchto dvou podniků lepšího výsledku dosáhl Podnik 6, který byl zároveň tím, který sexované inseminační dávky využíval nejčastěji (51 % inseminací). V Podniku 5 byly sexované ID využívány v 17 % případů. Oba tyto podniky mají inseminaci zajištěnou servisně jednou denně. V Podniku 5 jsou sexovanými ID inseminovány výběrové jalovice na 1. a 2. inseminaci. V Podniku 6 jsou sexovanými ID připouštěny všechny jalovice v druhé polovině říje.



Graf č. 3: Průměrná úroveň zabřezávání jalovic v podnicích 5 a 6 ($P < 0,0001$)

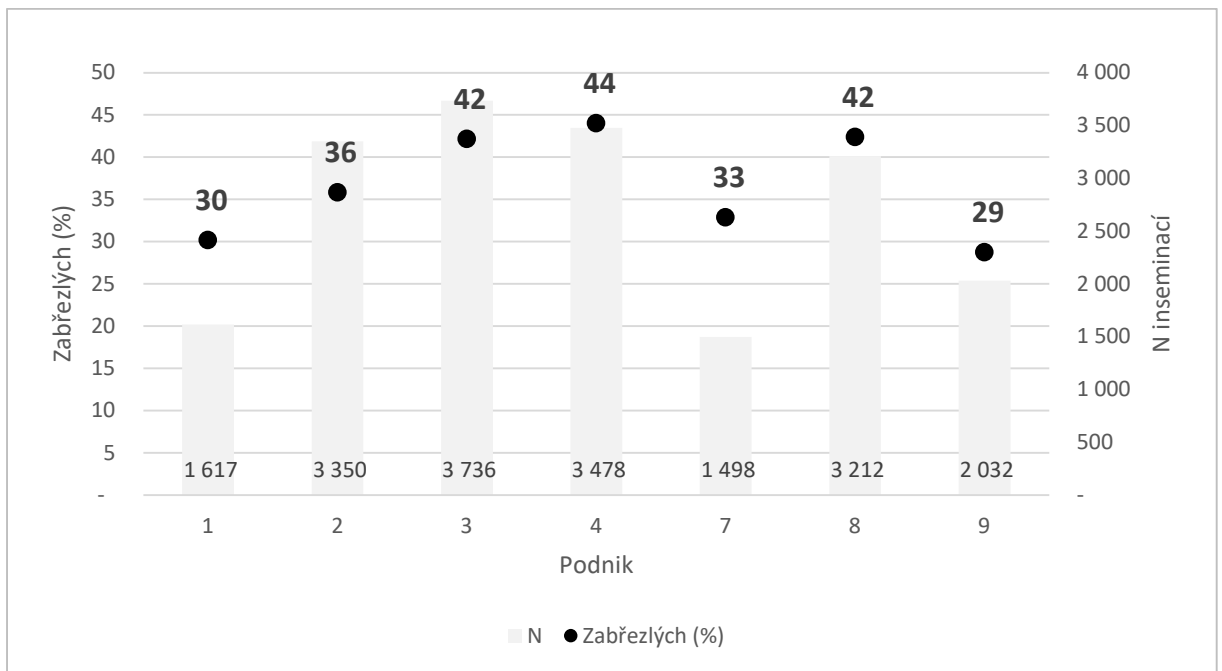


Graf č. 4: Průměrná úroveň zabřezávání jalovic dle kvality ID v podnicích 5 a 6

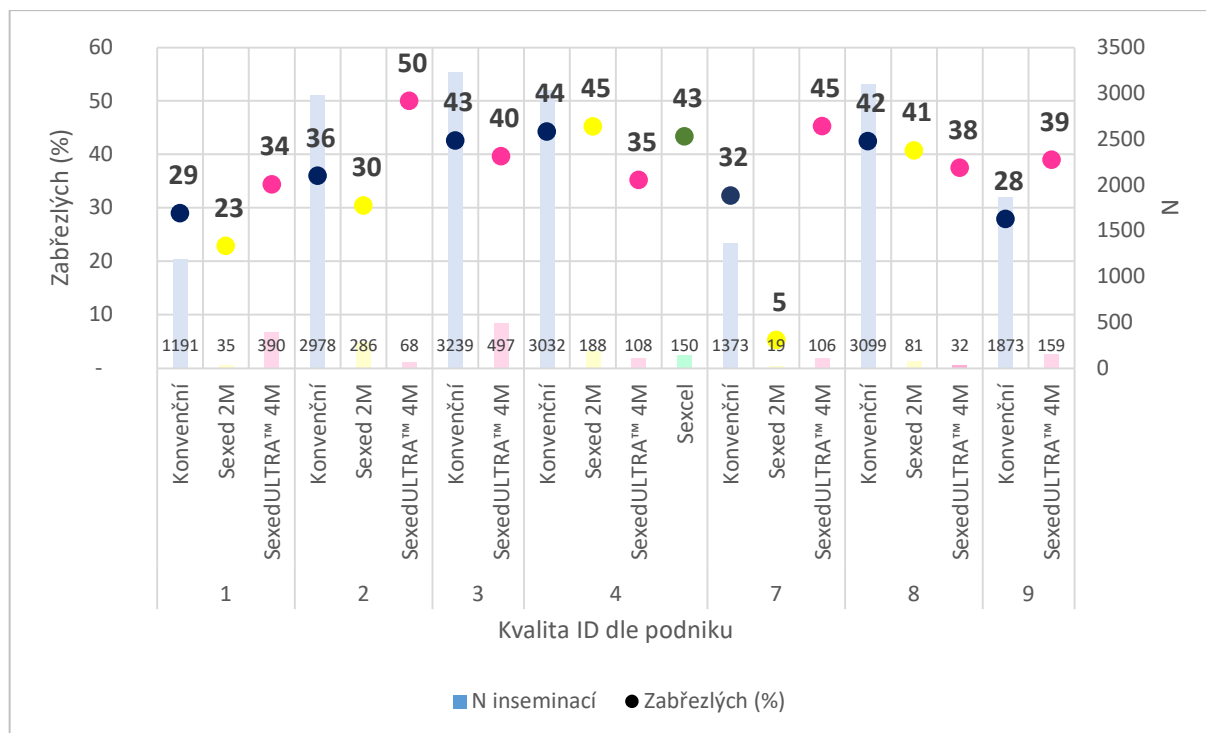
Průměrná úroveň zabřezávání jalovic a krav v podnicích 1 až 4 a 7 až 9 kolísala od 29 % do 44 %. Nejlepších výsledků dosáhl Podnik 4, který si zajišťuje inseminace prostřednictvím vlastního technika dvakrát denně. Sexované sperma zde tvořilo 13 % použitých ID bez ohledu

na kategorii plemenice. Byly jím připouštěny všechny plemenice ve vhodné fázi říje a s výraznými říjovými projevy.

Druhého nejlepšího výsledku dosáhly podniky 3 a 8. Tyto podniky spojuje intenzivní využívání synchronizací říje u krav a snaha inseminovat sexovanými ID jalovice i krávy při první, případně druhé inseminaci. Při dalších inseminacích v těchto podnicích je využíváno pouze sperma konvenční. Podnik 3 využíval sexované ID ve 13 % inseminací, Podnik 8 pouze ve 4 % inseminací. V Podniku 8 bylo také častěji (20 % inseminací) využíváno ID býků masných plemen již od první inseminace.



Graf č. 5: Průměrná úroveň zabřezávání jalovic a krav dle podniku (1 až 4 a 7 až 9)



Graf č. 6: Průměrná úroveň zabřezávání a počet pozorování jalovic a krav dle podniku (1 až 4 a 7 až 9)

Tab. č. 4: Průměrná úroveň zabřezávání jalovic a krav dle podniku. Statistická průkaznost: rozdíly mezi podniky označené různými písmeny jsou statisticky významné na hladině významnosti $P < 0,05$.

Podnik	Průměrně zabřezlých (%)	Statistická průkaznost	σ
1	30	B	0,01
2	36	A	0,01
3	42	DEFI	0,01
4	44	EFI	0,01
5	44	FI	0,01
6	50	G	0,03
7	33	HB	0,01
8	42	I	0,01
9	29	CB	0,01

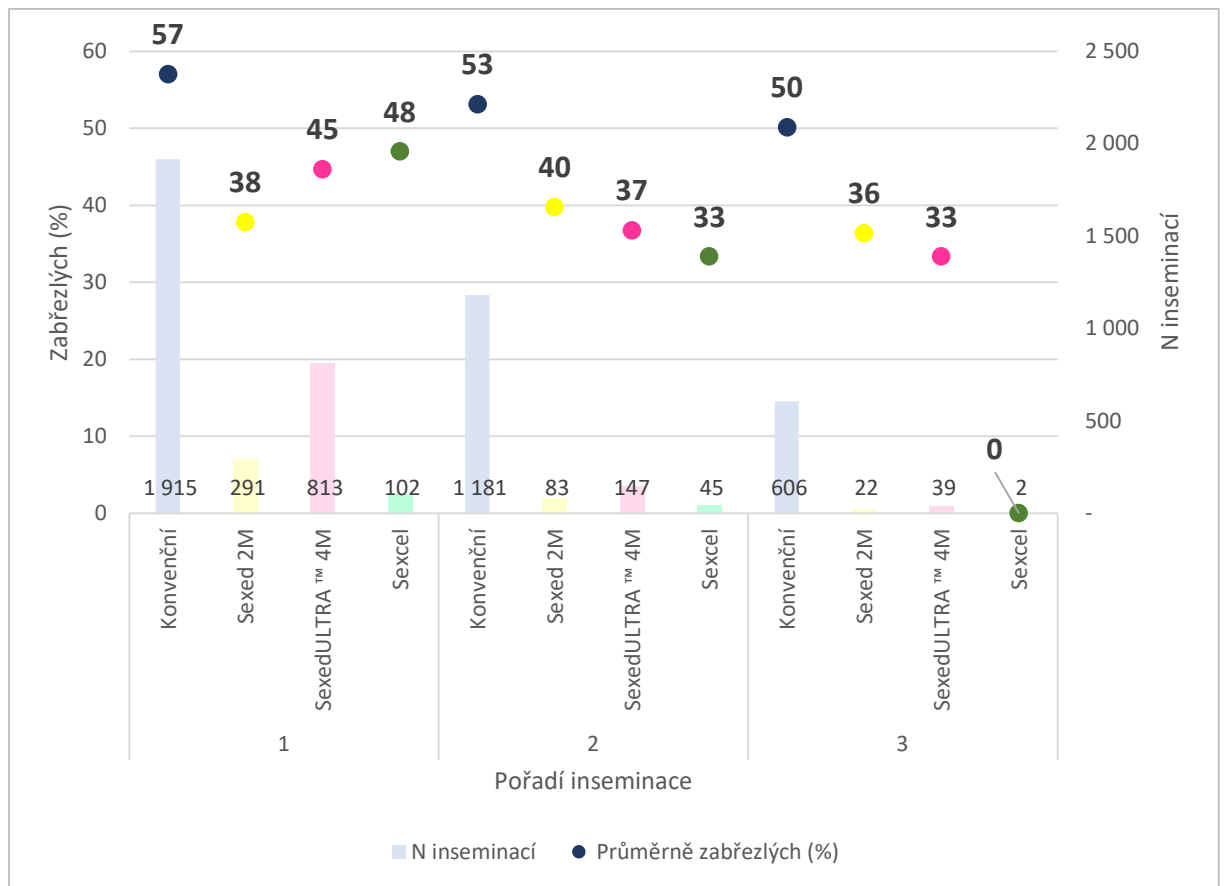
5.2 Vliv kategorie plemence

V sedmi z devíti podniků byly sexované ID využívány na jalovice i krávy. Obvykle byly využívány převážně na první a druhé inseminace jalovic a první inseminace prvotetek. Obecně však bylo faktem, že systém byl záměrně a často narušován a hlavním kritériem byla kvalita a fáze říje v době inseminace a také celková kvalita plemence. Pouze v Podniku 5 a Podniku 6 byly sexovanými inseminačními dávkami připouštěny výhradně jalovice.

5.2.1 Zabřezávání jalovic

Jalovice byly inseminovány maximálně devětkrát, přičemž sexované inseminační dávky byly relativně hojně využívány při první a druhé inseminaci. Při pozdějších inseminacích byly využívány spíše sporadicky. Sexované inseminační dávky se zde běžně vyskytovaly ve třech různých kvalitách: Sexed 2M, SexedULTRA™ 4M a v Podniku 4 také Sexcel.

Nejvyššího zabřezávání bylo dosaženo po prvních inseminacích konvenčními ID (57 %). Naopak nejnižší úroveň zabřezávání bylo dosaženo při inseminacích sexovanými ID Sexed 2M (38 %).



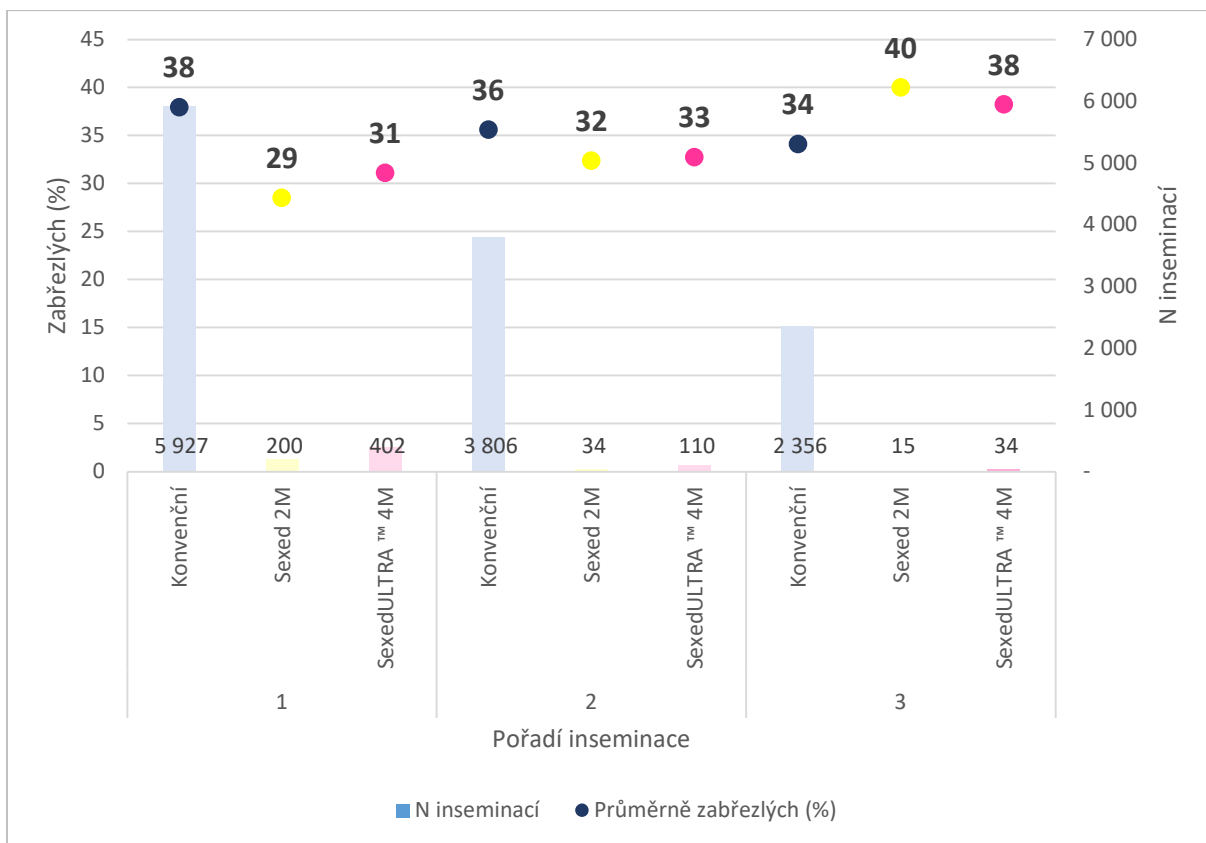
Graf č. 7: Průměrná úroveň zabřezávání jalovic (%) a četnost pozorování dle pořadí inseminace a kvality ID, 1. až 3. inseminace

Tab. č. 5: Průměrná úroveň zabřezávání jalovic (%) a četnost pozorování dle pořadí inseminace a kvality ID. Statistická průkaznost: rozdíly mezi podniky označené různými písmeny jsou statisticky významné na hladině významnosti $P < 0,05$.

	Pořadí inseminace	Kvalita	N	Průměrně zabřezlých (%)	Statistická průkaznost	σ
Jalovice	1	Konvenční	1 915	57	B	0,50
		Sexed 2M	291	38	C	0,49
		SexedULTRA™ 4M	813	45	A	0,50
		Sexcel	102	48	A	0,50
	2	Konvenční	1 181	53	B	0,50
		Sexed 2M	83	40	D	0,49
		SexedULTRA™ 4M	147	37	ACD	0,48
		Sexcel	45	33	AC	0,48
	3	Konvenční	606	50	B	0,50
		Sexed 2M	22	36		0,49
		SexedULTRA™ 4M	39	33	A	0,48
		Sexcel	2	0		
	4	Konvenční	284	45		0,50
		Sexed 2M	4	50		0,58
		SexedULTRA™ 4M	9	22		0,44
	5	Konvenční	142	42		0,50
		Sexed 2M	1	0		
		SexedULTRA™ 4M	4	25		0,50
	6	Konvenční	64	30		0,46
		SexedULTRA™ 4M	1	100		
	7	Konvenční	26	38		0,50
	8	Konvenční	8	0		0,00
		SexedULTRA™ 4M	1	0		
	9	Konvenční	4	50		0,58

5.2.2 Zabřezávání krav

Krávy byly inseminovány maximálně dvanáctkrát, přičemž sexované inseminační dávky byly relativně hojně využívány při první a druhé, případně třetí inseminaci. Při pozdějších inseminacích byly využívány spíše sporadicky. Sexované inseminační dávky se zde běžně vyskytovaly ve dvou různých kvalitách: Sexed 2M a SexedULTRA™ 4M. Sexované ID Sexcel se v této kategorii nevyskytovaly.



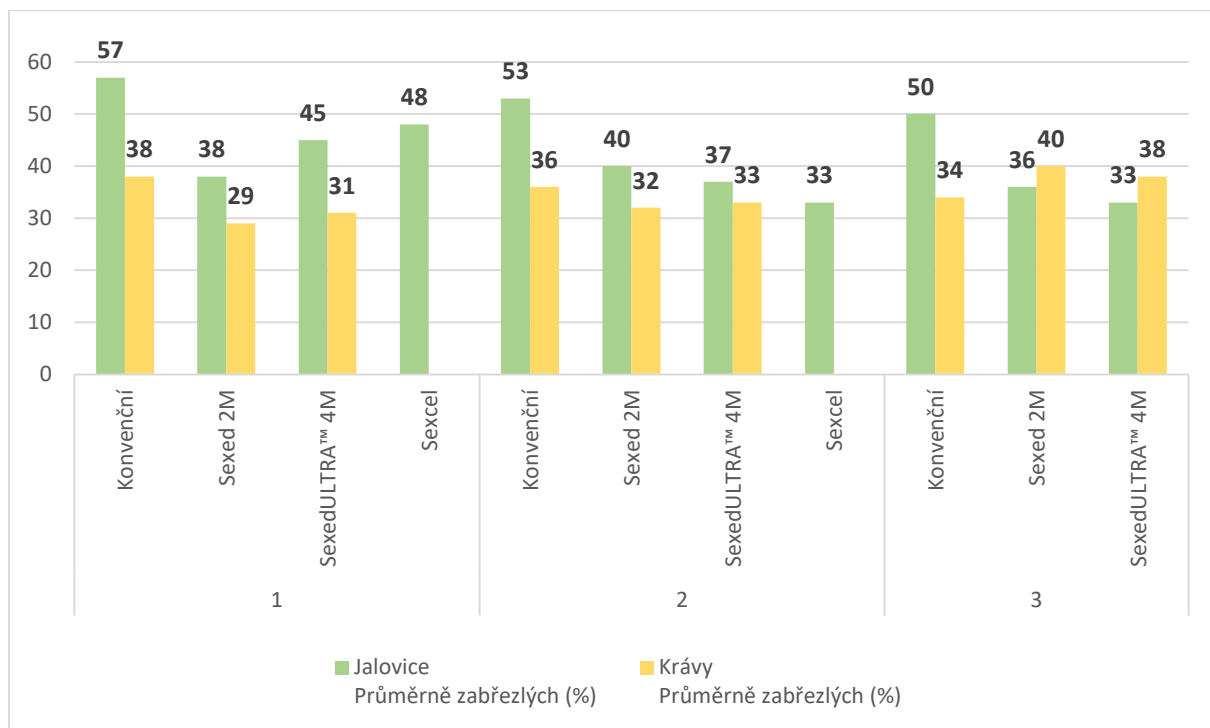
Graf č. 8: Průměrná úroveň zabřezávání krav (%) a četnost pozorování dle pořadí inseminace a kvality ID

Tab. č. 6: Průměrná úroveň zabřezávání krav (%) a četnost pozorování dle pořadí inseminace a kvality ID. Statistická průkaznost: rozdíly mezi podniky označené různými písmeny jsou statisticky významné na hladině významnosti $P < 0,05$.

	Pořadí inseminace	Kvalita	N	Průměrně zabřezlých (%)	Statistická průkaznost	σ
Krávy	1	Konvenční	5 927	38	B	0,49
		Sexed 2M	200	29	C	0,45
		SexedULTRA™ 4M	402	31	AC	0,46
	2	Konvenční	3 806	36		0,48
		Sexed 2M	34	32		0,47
		SexedULTRA™ 4M	110	33		0,47
	3	Konvenční	2 356	34		0,47
		Sexed 2M	15	40		0,51
		SexedULTRA™ 4M	34	38		0,49
	4	Konvenční	1 437	34		0,47
		Sexed 2M	2	0		
		SexedULTRA™ 4M	13	38		0,51
5	Konvenční	847	32		0,47	
	Sexed 2M	3	0			
	SexedULTRA™ 4M	11	27		0,47	
6	Konvenční	466	28		0,45	
	Sexed 2M	1	0			
	SexedULTRA™ 4M	3	0			
7	Konvenční	225	29		0,45	
	Sexed 2M	1	0			
8	Konvenční	93	18		0,39	
9	Konvenční	31	26		0,44	
10	Konvenční	13	15		0,38	
11	Konvenční	5	0		0,00	
	SexedULTRA™ 4M	1	0			
12	Konvenční	2	100		0,00	

5.2.3 Zabřezávání jalovic a krav

Napříč všemi plemenicemi bylo zjištěno vyšší zabřezávání jalovic oproti laktujícím plemenicím bez ohledu na kvalitu ID s výjimkou třetích inseminací sexovanými ID, kdy bylo zabřezávání po sexovaných ID v průměru vyšší u krav.



Graf č. 9: Průměrná úroveň zabřezávání plemenic (%) a dle pořadí inseminace (1 – 3) a kvality ID

5.3 Vliv kvality inseminační dávky

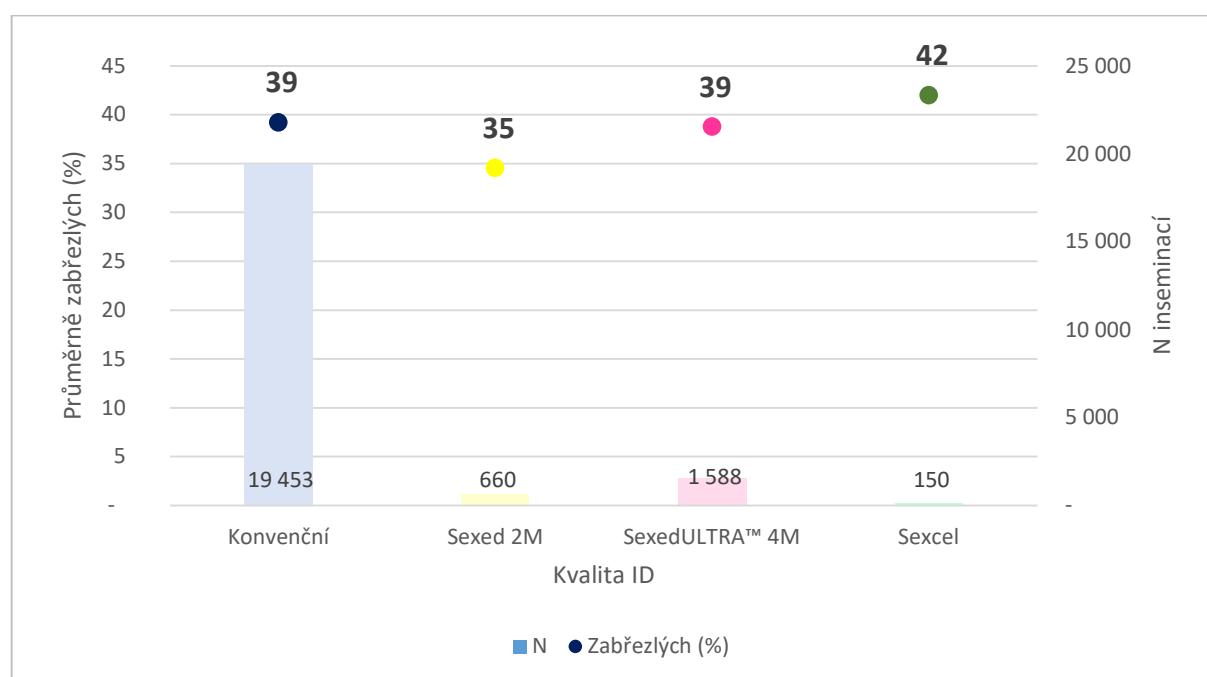
Jalovice a krávy byly připouštěny především konvenčními inseminačními dávkami. Ze sexovaných inseminačních dávek byl nejčastěji využíván produkt SexedULTRA™ 4M před kvalitou Sexed 2M. Nejméně zastoupeny byly sexované ID Sexcel. Podíl využívání sexovaných inseminačních dávek různých kvalit mezi podniky kolísal od 4 do 51 %.

Průměrné zabřezávání jalovic a krav po všech inseminacích bylo nejvyšší v případě produktu Sexcel (42 %) před inseminačními dávkami konvenčními a produktem SexedULTRA™ 4M, kdy podíl zabřezlých po inseminacích ID těchto kvalit dosahoval shodné úrovně (39 %). Nejnižší zabřezávání bylo pozorováno při inseminaci sexovanými inseminačními dávkami Sexed 2M (35 %).

Nejvyšší zabřezávání po inseminacích sexovanými ID typu Sexcel koresponduje se skutečností, že Sexcel byl využíván pouze v jediném podniku (4) a to pouze k inseminaci jalovic. Ostatní kvality ID byly využívány k inseminaci obou kategorií plemenic (jalovic i krav).

Tab. č. 7: Průměrná úroveň zabřezávání plemenic dle kvality ID. Statistická průkaznost: rozdíly mezi podniky označené různými písmeny jsou statisticky významné na hladině významnosti $P < 0,06$.

Kvalita	Průměrně zabřezlých (%)	Statistická průkaznost	σ
Konvenční	39,3	D	0,00
Sexed 2M	34,6	B	0,02
SexedULTRA™ 4M	38,8	CD	0,01
Sexcel	42,3	ACD	0,04



Graf č. 10: Průměrná úroveň zabřezávání plemenic dle kvality ID a četnost pozorování

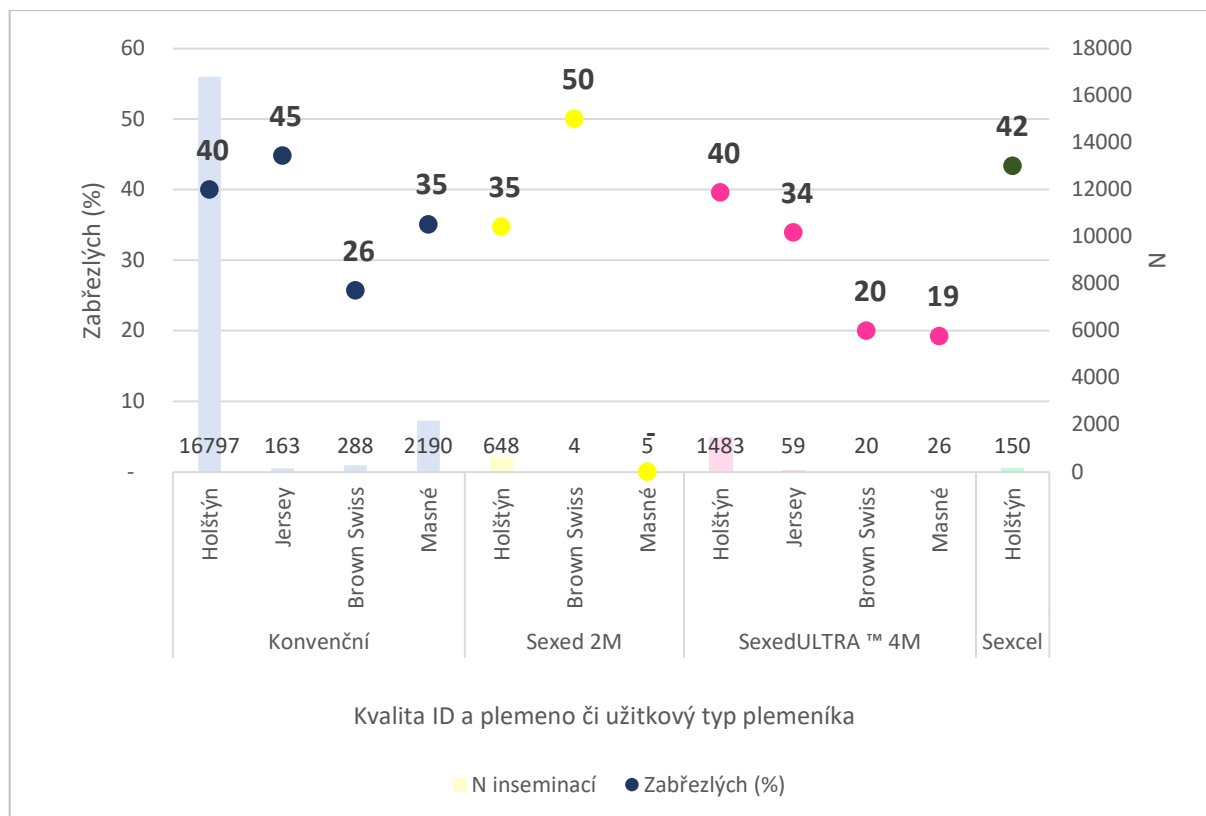
Plemenice v souboru byly připouštěny čtyřmi kvalitami ejakulátu býků třech dojných plemen (holštýnské, jersey a brown swiss) a býků masných plemen (belgické modrobílé a limousine). Všechna tato plemena se vyskytovala s různými četnostmi v kvalitě konvenční a dvou typech sexované ID (Sexed 2M a SexedULTRA™ 4M). Sexcel byl zastoupen pouze býky holštýnskými.

Holštýnští plemeníci byli v souboru zastoupeni v kvalitě konvenční a sexované metodou Sexed 2M, SexedULTRA™ 4M a Sexcel. Po inseminacích konvenčními ID a sexovanými SexedULTRA™ 4M bylo dosaženo průměrného zabřezávání shodně 40 %. Vyššího zabřezávání bylo dosaženo při využívání produktu Sexcel (42 %), zde je však třeba říci, že Sexcelem byly ve vyhodnoceném souboru inseminovány výhradně jalovice. ID v kvalitě Sexed 2M vykazovaly zabřezávání nižší (35 %).

Býci plemene jersey byli v souboru zastoupeni v kvalitách konvenční a sexované SexedULTRA™ 4M. Při inseminacích konvenčními ID bylo dosaženo zabřezávání 45 %, u sexovaných ID bylo zabřezávání 34 %.

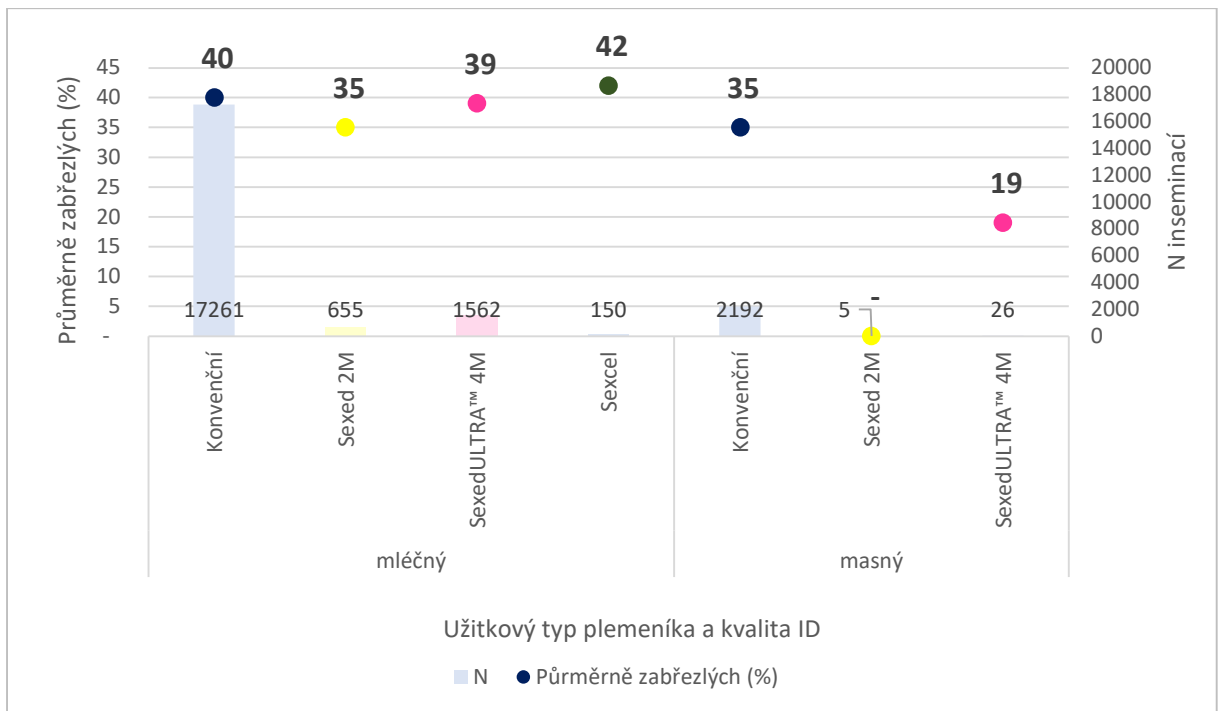
Býci plemene brown swiss se v souboru vyskytovali v konvenční a dvou sexovaných kvalitách. Konvenční ID poskytly průměrný výsledek zabřezávání relativně nízký (26 %), což je možné přičítat skutečnosti, že jsou často využíváni v holštýnských stádech na plemenice opakovaně se přebíhající. Vyššího zabřezávání bylo dosaženo při inseminacích sexovanými ID Sexed 2M (50 %), šlo však o nízký počet pozorování. Sexované ID SexedULTRA™ 4M přinesly výsledek nejnižší (20 %).

Býci masných plemen se ve vyhodnocených datech vyskytovali převážně v kvalitě konvenční, kde bylo dosaženo zabřezávání na úrovni 35 %. Nižší výsledek byl dosažen po inseminacích sexovanými ID – v případě SexedULTRA™ 4M 19 % (26 pozorování), v případě Sexed 2M 0 % (ale v souboru bylo jen pět pozorování).



Graf č. 11: Průměrná úroveň zabřezávání plemenic dle kvality ID, plemene či užitkového typu plemeníka a četnost pozorování

Při rozdělení dle užitkového typu plemeníka v konkurenci dojných plemen nejvyššího průměrného zabřezávání (42 %) bylo dosaženo při inseminacích sexovanými ID Sexcel (v souboru jím byly inseminovány pouze jalovice). Druhý nejlepší výsledek (40 %) poskytly konvenční ID. Třetího nejlepšího výsledku (39 %) bylo dosaženo se sexovanými ID SexedULTRA™ 4M. Mezi býky masných plemen bylo nejvyššího zabřezávání (35 %) dosaženo s konvenčními ID, ze sexovaných ID kvalita Sexed 2M měla výsledek 0 % a SexedULTRA™ 4M 19 %. Souhrnně býci dojných plemen ve všech kvalitách ID dosáhli průměrně vyšší úrovně zabřezávání (40 %) než býci masných plemen (35 %).



Graf č. 12: Průměrně zabřezlých (%) a počet pozorování dle užitkového typu plemeníka a kvality ID

5.4 Ekonomické zhodnocení

Pro vyhodnocení vlivu použití konvenčních a sexovaných ID byly vytvořeny dva modelové příklady a vypočteny rozdíly vybraných přímých tržeb a nákladů.

Plemenná příslušnost zvířat byla vyjádřena podílem krve holštýnského plemene následovně: H100 označuje zvíře čistokrevné holštýnského plemene, H50X označuje křížence s podílem holštýnského plemene 50 %.

5.4.1 Modelový příklad 1

V prvním modelovém stádě bylo předpokládáno využívání pouze konvenčních ID holštýnských býků a všechny vyprodukované jalovice byly využity pro obrat stáda a produkci mléka.

Předpokládané roční tržby za mléko vyprodukované další generací jaloviček byly vyčísleny dle vzorce

$$T_{mléko} = (\text{průměrná produkce generace matek} + \Delta G) \times \text{počet narozených jaloviček} \times \text{cena mléka}$$

$$T_{mléko} = (11\,150 + 38,5) \times 250 \times 9 = 25\,174\,125 \text{ Kč}$$

Předpokládané roční tržby za zástavové holštýnské býčky byly vyčísleny dle vzorce

$$T_{zástav} = \text{váha telete} \times \text{cena za kg} \times \text{počet telat}$$

$$T_{zástav} = 80 \times 40 \times 250$$

$$T_{zástav} = 800\,000 \text{ Kč}$$

Celkové tržby za mléko vyprodukované následující generací dojnic a za prodej zástavových telat v součtu činily 25 974 125 Kč.

Náklady na nákup 1 250 ks konvenčních ID činily 563 000 Kč.

Rozdíl tržeb a nákladů na ID činil 25 411 125 Kč.

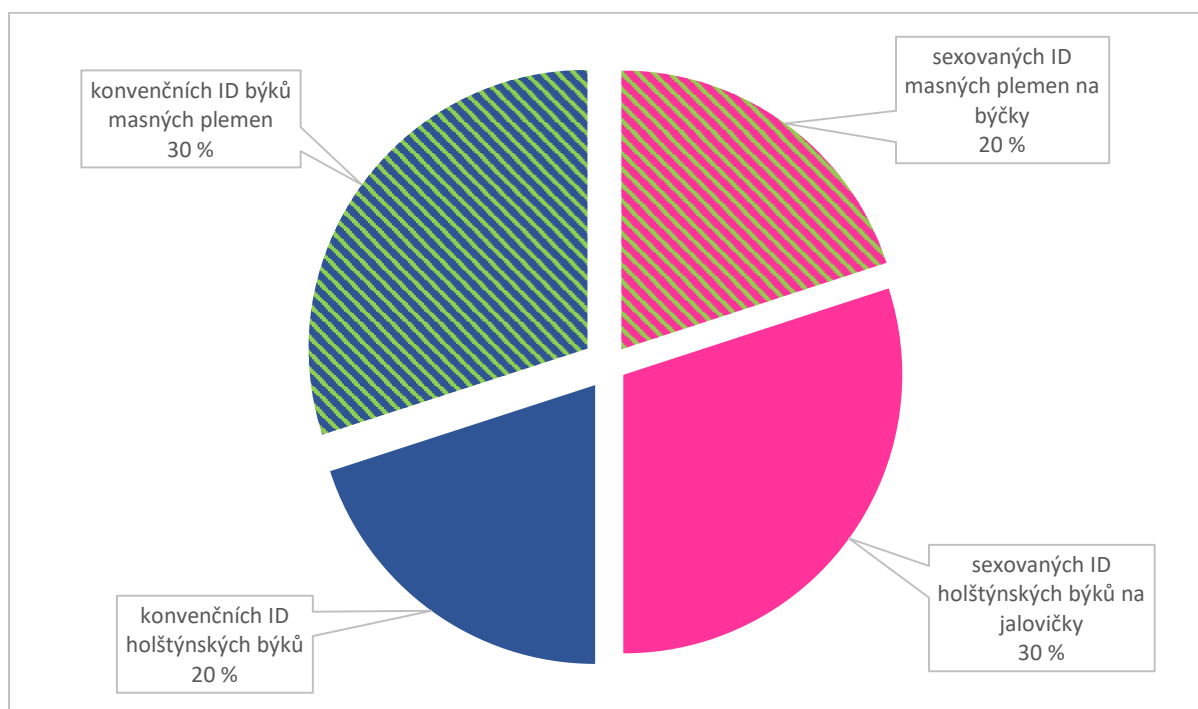
5.4.2 Modelový příklad 2

Ve druhém modelovém stádě bylo předpokládáno následující využívání typů ID:

- 20 % ID býků masných plemen sexovaných na býčky (pro užitkové křížení, tzv. systém *Beef on Dairy*)
- 30 % ID holštýnských býků sexovaných na jalovičky
- 20 % ID holštýnských býků konvenčních
- 30 % ID býků masných plemen konvenčních

Výsledkem tohoto systému připárování byla tato narozená telata:

- 100 býčků plemene H50X (kříženci holštýnských matek a masných býků)
- 150 jaloviček H100
- 50 jaloviček H100 a 50 býčků H100
- 75 jaloviček H50X a 75 býčků H50X



Graf č. 13: Podíl typů ID využívaných v připárování

Tržby za mléko vyprodukované následující generací byly stanoveny jako

$$T_{mléko} = (\text{průměrná produkce generace matek} + \Delta G) \times \text{počet jaloviček} \times \text{cena mléka}$$

$$T_{mléko} = (11\,150 + 105,6) \times 250 \times 9 = 25\,325\,100 \text{ Kč}$$

Při stanoveném způsobu zpeněžení zástavových telat byly tržby za jejich prodej stanoveny jako suma násobků počtu narozených telat dle plemenné příslušnosti, jejich výkupní ceny a váhy:

$$T_{zástav} = (100 \times 80 \times 80) + (50 \times 40 \times 80) + (75 \times 60 \times 80) + (75 \times 80 \times 80)$$

$$T_{zástav} = 640\,000 + 160\,000 + 360\,000 + 480\,000 = 1\,640\,000 \text{ Kč}$$

Celkové tržby za mléko vyprodukované následující generací dojníc a za prodej zástavových telat v součtu činily 26 965 100 Kč.

Náklady na ID činily 591 250 Kč.

Tab. č. 8: Náklady na nákup ID

ID	Průměrná cena/ks	Počet	Náklady celkem
Sex. H100 – jalovičky ♀	850 Kč	375	318 750 Kč
Sex. masná – býčci ♂	490 Kč	250	122 500 Kč
Konv. H100	450 Kč	250	112 500 Kč
Konv. masná	100 Kč	375	37 500 Kč
Σ		1 250	591 250 Kč

Rozdíl tržeb a nákladů na ID činil 26 373 850 Kč.

Při případné zhoršené úrovni zabřezávání vlivem využívání sexovaných ID vysokou měrou, a tedy zvýšeném inseminačním indexu (3) by byly náklady na nákup ID vyšší o 118 250 Kč (tab. č. 7). Celková bilance druhého modelového příkladu při zvýšeném inseminačním indexu byla 26 255 600 Kč.

Tab. č. 9: Náklady na ID při inseminačním indexu 3

ID	Průměrná cena/ks	Počet	Investice celkem
Sex. H100 ♀	850 Kč	450	382 500 Kč
Sex. masná ♂	490 Kč	300	147 000 Kč
Konv. H100	450 Kč	300	135 000 Kč
Konv. masná	100 Kč	450	45 000 Kč
Σ		1 500	709 500 Kč

5.4.3 Srovnání modelových příkladů 1 a 2

Bilance tržeb za mléko vyprodukované následující generací dojníc a zástavová telata prodávaná ve dvou měsících věku a nákladů na ID vyšla v případě prvního modelového příkladu (využívání pouze konvenčních ID) 25 411 125 Kč; v případě druhého modelového příkladu (využívání 50 % konvenčních a 50 % sexovaných ID) 26 373 850 Kč. Modelový příklad 2 tedy přináší roční tržby vyšší o 962 725 Kč; v případě zhoršeného zabřezávání při využívání vysokého podílu sexovaných ID přináší roční tržby vyšší o 844 475 Kč.

V tomto výpočtu byl pro jednoduchost zahrnut pouze genetický zisk v podobě zvýšené produkce mléka (kg). Genetický zisk však není jen zvýšená produkce mléka, ale také vyšší kvalita mléka (mléčné složky a jejich podíl), lepší zdravotní stav a odolnost organismu apod. Různé mezinárodní selekční indexy přikládají produkci různou váhu, maximálně však 52 % (Cheese Merit). Tyto další složky genetického zisku ve výpočtu byly zanedbány.

6 Diskuze

6.1 O vlivu podniku

Podniky 5 a 6 využívaly sexované ID výhradně k inseminacím jalovic. Oba podniky inseminační službu zajišťují servisně jeden krát denně a říje jsou vyhledávány primárně vizuální kontrolou stáda. Podnik 6 dosáhl ve sledovaném období lepších výsledků zabřezávání po všech inseminacích jak konvenčními (61 % zabřezlých), tak sexovanými ID (27, resp. 43 % zabřezlých), ačkoliv byl zároveň chovem, kde byly využívány sexované ID nejčastěji (51 % inseminací). Jde o významně menší chov než Podnik 5 a sexované ID jsou zde využívány při všech inseminacích jalovic, které jsou v době inseminace ve vhodné fázi říje (druhé polovině). Naproti tomu Podnik 5 je dvojnásobně větším chovem a sexovanými ID jsou připouštěny výběrové plemenice na 1. až 3. inseminaci bez ohledu na fázi říje.

Napříč podniky, kde byly sexovanými ID připouštěny jalovice i krávy, průměrná souhrnná úroveň zabřezávání kolísala mezi 29 a 44 %. Zabřezávání po inseminacích konvenčními ID se pohybovalo od 28 do 44 %, po inseminacích sexovanými ID od 23 do 50 % (pouze v jednom případě při nízkém počtu pozorování bylo zabřezávání po inseminacích sexovanými ID 5 %). Holden a Butler (2017) uvádějí, že k maximalizaci benefitů využívání sexovaných inseminačních dávek je třeba chov velmi dobře organizovat, což koresponduje se zjištěnými výsledky, kde zabřezávání po inseminacích sexovanými ID obecně není podstatně sniženo oproti zabřezávání po konvenčních ID. Zdá se tedy, že chovatelé jsou schopni využívat sexované ID relativně úspěšně a případnou nižší úroveň zabřezávání po inseminacích sexovanými ID nelze přičítat kvalitě obsahu pejety.

Přestože rozdíly v úrovni reprodukce mezi jednotlivými podniky prokazatelně existují, nebyla vysledována evidentní souvislost mezi počtem inseminací během 24 hodin, využíváním inseminačních protokolů, selekcí plemenic v připařování, velikostí stáda, měrou využívání sexovaného ejakulátu apod. Podniky, jejichž data byla vyhodnocována, se vzájemně dále odlišovaly úrovní welfare zvířat; způsobem vyhledávání říjí; optimalizací času inseminace; množstvím osob, které se fyzicky podílely na inseminaci plemenic; krátkodobými a dlouhodobými šlechtitelskými cíli a prioritami; mírou využívání reprodukčních biotechnologií v reprodukci stáda; kontrolou výsledků reprodukce; celkovou úrovní managementu stáda.

Dále bylo zjištěno, že v některých podnicích byly různou měrou a nesystematicky hodnotné ID (včetně sexovaných) při inseminacích půleny s cílem snížit náklady. To mohlo spolu s celkovou kvalitou manipulace s ID negativně ovlivnit výsledky zabřezávání.

6.2 O vlivu kategorie plemenice

Sexovanými ID jsou obecně častěji připouštěny jalovice, neboť v průměru dosahují lepšího zabřezávání. Koresponduje to se zjištěnými výsledky, kdy zabřezávání jalovic po 1. inseminaci konvenčními ID bylo průměrně 57 %, po 1. inseminaci konvenční ID zabřezlo 38 % laktujících krav. Po inseminacích sexovanými ID zabřezávání jalovic po 1. inseminaci

dosahovalo 38–48 % (dle kvality ID), laktujících krav po 1. inseminaci sexovanou ID zabřezlo 29-31 %. Ze zjištěných výsledků obecně vyplývá, že rozdíl v zabřezávání po 1. až 3. inseminaci v závislosti na kvalitě ID (konvenční či sexovaná) je menší u krav než u jalovic. Důvodem může být méně časté, ale o to rozvážnější používání sexovaných ID při inseminacích krav dle kvality a fáze říje a častější využívání synchronizačních protokolů při řízení reprodukce. Dále ve sledovaném období všechny podniky vyhledávaly říje u krav také aparativně, zatímco u jalovic sedm z devíti podniků vyhledávalo říje pouze vizuální kontrolou. Ve sledovaných stádech byla úroveň welfare (stájového prostředí) u jalovic často evidentně nižší než u dojníc.

Vishwanath a Moreno (2017) ve své práci uvádějí průměrné zabřezávání dle kvality ID a kategorie plemence. I přes stoupající trend mezi lety 2007 a 2015 v zabřezávání jalovic i krav po sexovaných i konvenčních ID zůstávají mezi jednotlivými hodnotami rozdíly. V roce 2015 uvádějí průměrné zabřezávání jalovic po inseminacích konvenčními ID 59 %, resp. sexovanými 49 %; zabřezávání krav po inseminacích konvenčními ID 32 %, resp. sexovanými 30 %.

Také ze zjištěných dat vyplývá, že jalovice bez ohledu na kvalitu ID zabřezávají v průměru lépe. Lepšího zabřezávání dosahovaly krávy pouze při inseminacích sexovanými ID na třetí inseminaci o 4, resp. 5 %. Může to souviset s uvážlivým využíváním hodnotnějších sexovaných ID v případech, kdy je obecně pravděpodobnost zabřeznutí poněkud nižší.

6.3 O vlivu kvality ID

Gonzales-Marin *et al.* (2016) ve své práci srovnává čerstvé spermie po technologickém zpracování před zamražením kvalit Sexed 2M (XY Legacy) a SexedULTRA™, přičemž u ejakulátu zpracovaného technologií SexedULTRA™ popisuje 3 hodiny po třídění signifikantně vyšší úroveň motility, progresivního pohybu vpřed a významně vyšší akrozomální integritu.

Vishwanath a Moreno (2017) ve svém review uvádějí, že úroveň zabřezávání po inseminacích čerstvým sexovaným ejakulátem v kvalitě Sexed 2M dosahuje 75 % zabřezávání po inseminacích konvenčním ejakulátem; po inseminacích čerstvým ejakulátem sexovaným technologií SexedULTRA™ dosahuje 97% úrovně zabřezávání po konvenčních ID. Dále sumarizují data ze dvou různých pokusů, při kterých byla shodně zjištěna signifikantně vyšší míra zabřezávání jalovic při inseminacích SexedULTRA™ oproti Sexed 2M.

Tab. č. 10: Úroveň zabřezávání (CR) jalovic dle technologie zpracování sexované ID, pokus 1 (ST Genetics). Statistická průkaznost: rozdíly mezi podniky označené různými písmeny jsou statisticky významné na hladině významnosti $P < 0,05$.

	Počet inseminací	CR (%)	Statistická průkaznost
Sexed 2M	1 166	47,3	A
SexedULTRA™	957	54,7	B
Rozdíl		7,4	

Tab. č. 11: Úroveň zabřezávání (CR) jalovic dle technologie zpracování sexované ID, pokus 2 (Select Sires). Statistická průkaznost: rozdíly mezi podniky označené různými písmeny jsou statisticky významné na hladině významnosti $P < 0,05$.

	Počet inseminací	CR (%)	Statistická průkaznost
Sexed 2M	3 384	41,6	A
SexedULTRA™	3 546	46,1	B
Rozdíl		4,5	

S uvedenými výsledky korespondují také výsledky provedeného experimentu, ve kterém u jalovic zabřezávání po první inseminaci bylo statisticky významně vyšší při využití sexovaných ID SexedULTRA™ 4M (45 %) oproti Sexed 2M (38 %). U dalších inseminací v pořadí rozdíly nebyly signifikantní.

Napříč všemi plemenicemi a inseminacemi byla zjištěna relativně vysoká úroveň zabřezávání sexovaných ID v kvalitě SexedULTRA™ 4M (39 %) a Sexcel (42 %) v porovnání s konvenčními ID (39 %). Rozdíly mezi těmito kvalitami ID nebyly statisticky významné navzdory tomu, že pouze v případě sexovaných ID v kvalitě Sexcel byly připouštěny pouze jalovice. Oproti tomu statisticky významně nižší zabřezávání bylo dosaženo po inseminacích sexovanými ID Sexed 2M (35 %).

6.4 Sexované ID v dojných stádech

Moore a Hasler (2017) uvádějí, že v roce 2016 bylo v USA vyprodukováno 4,5 až 5 milionů sexovaných inseminačních dávek, z nichž více než 90 % bylo dojných plemen. U dojných plemen je v praxi tlak na využívání sexovaných ID nepoměrně významnější. Souvisí to s populačním růstem a omezenou plochou půdy, kdy roste kompetitivní vztah mezi lidmi a zvířaty (Vishwanath a Moreno, 2018). Je tedy přirozenou snahou chovatelů, aby byla maximalizována efektivita využití stáda a aby každá reprodukce schopná plemnice porodila tele co možná nejvyšší hodnoty.

V dojných stádech žádanějším pohlavím je přirozeně jalovička, budoucí dojnice. Hodnotnější jsou jalovičky s příznivými plemennými hodnotami, které umožňují při stejných nákladech dosahovat vyšší rentability chovu. Schaeffer (2006) uvádí, že historicky probíhala jen velmi omezená nebo žádná selekce v populaci matek, protože při využívání konvenčních ID je v podstatě každá jedna narozená jalovička potřebná pro vlastní obrat stáda. Dosažený genetický zisk mezi generací matek a generací dcer tak je dosaženou pouze selekcí na straně otců.

Vishwanath a Moreno (2018) ve své práci vyčíslují, že využíváním sexovaných ID lze za identických podmínek provádět efektivní selekci na straně matek a dosahovat více než dvojnásobného ročního genetického zisku. Roční genetický zisk (kg mléka) při využívání

sexovaných ID je 2,7× vyšší (105,6) než při využívání pouze konvenčních ID (38,5). Při zpřesnění selekce genomickým testováním narozených jaloviček je genetický zisk vyšší 4,8× (184,8).

V podnicích, které se účastnily experimentu, byly ve sledovaném období sexované ID využívány až v 51 % inseminací, průměrně bylo sexovanými ID provedeno 9 % všech inseminací. Tento podíl každoročně roste asi o 2 %.

Seidel (2003) a Normal *et al.* (2010) shodně uvádějí, že sexované sperma má potenciál zvýšit welfare krav, neboť skýtá potenciál snížit incidenci dystokie o přibližně 20 %, protože telata samičího pohlaví bývají menší. Této skutečnosti šlechtitelé skotu využívají spolu s informací o prověření býka na snadnost telení. V případě zvýšeného rizika obtížného telení je konkrétní plemeník pravděpodobněji využitý v podobě ID sexované na jalovičky.

V USA je pouze 0,1 % býčků kvalitou dostačujících pro plemenitbu v dojených stádech (De Vries *et al.*, 2008). Býčci dojných plemen obecně nedisponují dostatečnou intenzitou růstu k tomu, aby jejich výkrm byl rentabilní a na některých farmách bylo dokonce zjištěno okamžité utrácení čistokrevných býčků dojných plemen ihned po narození (Hötzel *et al.*, 2014) jako varianta finančně nejvýhodnější. V praxi v ČR je běžné, že býčci dojných plemen jsou po odstavu prodáváni k výkrmu do nižších porážkových hmotností (tzv. Calf-to-beef) do zahraničí (zejména Itálie a Španělsko), ale jejich výkupní ceny na trhu dlouhodobě klesají (mezi lety 2017–2019 byl pokles výkupních cen 30 %) a saldo nákladů a tržeb se tak často dostává do záporných hodnot. Zvláště problematické je zpeněžení býčků plemene jersey. Tento fakt zakraktivňuje využívání sexovaných ID, které ztratovou produkci býčků eliminují.

Využívání sexovaných ID umožňuje provádět intenzivní selekci na straně matek na straně jedné, na straně druhé umožňují rozšíření využívání spermatu býků masných plemen pro produkci zástavových telat. Na českém trhu jsou dosud lépe zpeněžitelní býčci, kříženci masných plemen, jehož výkupní cena je podstatně vyšší. To vytváří prostor pro trh se spermatem býků masných plemen sexovaným na býčky, které je vhodné k připouštění dojnic s dobrou reprodukční užitkovostí a podprůměrnými znaky fitness a produkce. Tomuto systému se v praxi přezdívá „Beef On Dairy“ a podniky, které se účastnily experimentu, jej v posledních letech začínají aplikovat jako přirozený důsledek využívání sexovaných ID v produkci čistokrevných dojnic.

Sexované ID jsou dnes produktem industrializované výroby a jsou dostupné. V budoucnu lze očekávat na tomto poli další vývoj a zlepšení a zrychlení procesů automatizace. Vishwanath a Moreno (2018) uvádějí, že je zcela reálné očekávání, že v budoucnu bude fertilita sexovaného ejakulátu vyšší než současná úroveň fertility konvenčních ID. Sexované ID jsou celosvětovým trendem a jejich výrobou se různou měrou zabývá většina inseminačních stanic.

V zemích západní Evropy je sexované sperma v reprodukci dojných stád využíváno intenzivněji a stále častěji se objevují chovy, kde jsou sexované ID využívány téměř při veškerých inseminacích spermatem býků dojných plemen. Úspěšné využívání sexovaných ID v dojených stádech skotu z pohledu praxe znamená faktickou eliminaci výhod a argumentů pro chov skotu kombinovaných plemen.

6.5 Sexované ID v chovech BTPM

Míra využívání umělé inseminace v chovech BTPM je podstatně nižší než v dojených stádech. Adekvátně tomu jsou sexované ID v masných stádech využívány jen velmi omezeně. Nicméně sexované sperma skýtá potenciál i pro tyto chovy.

Úspěšné využívání ID, a sexovaných zejména, je silně závislé na přesné a včasné detekci říje, což je hlavní překážkou inseminace v chovech BTPM, zejména ve velkých stádech chovaných extenzivním způsobem. Rozvoj a osvojení si inseminačních protokolů ve spojení s vysoce fertilitními sexovanými ID usnadní, byť za cenu vysokých nároků na práci, synchronizaci říjí a inseminace na začátek připouštěcího období (Holden a Butler, 2017). Umožní to provádět předběžnou selekci budoucího potomstva, a tedy získat jalovičky se silnými maternálními vlastnostmi a býčky s vysokými terminálními indexy.

Sexované ID mohou být v masných stádech využívány různými způsoby ke zefektivnění výroby hovězího masa. Například mohou být sexovanými ID (nesoucí chromozom X) připouštěny jalovice pro produkci chovných zvířat a jejich matky prodány na jatky po prvním otelení. V takovém případě nebude výkupní cena za kg hmotnosti krávy negativně ovlivněna jejím věkem. Jinou variantou využívání je produkce tříplemenných finálních hybridů, kdy vybrané plemenice jsou inseminovány sexovanými ID plemeníků se silně pozitivními maternálními vlastnostmi pro produkci hybridních matek, které následně budou inseminovány sexovanými ID býků se silně pozitivními terminálními indexy pro produkci hodnotných terminálních kříženců. Tento systém kromě obecných výhod využívání sexovaných ID nabízí přínosy heterozního efektu.

Archbold *et al.* (2012) a Butler *et al.* (2014 b) pro dosažení vysoké produktivity a dlouhověkosti stáda doporučují využít sexovaných ID zejména v systémech se sezónním telením a pastvou. Sexovanými ID by podle těchto autorů měly být inseminovány plemenice první tři týdny připouštěcího období. Jalovičky z těchto inseminací se pak narodí na začátku následujícího období telení a budou tedy při svojí první inseminaci starší.

Výše uvedené není nijak v rozporu s výsledky, které přinesl provedený experiment – vysoce fertilitní sexované ID umožňují dosahovat srovnatelné úrovně zabřezávání jako konvenční ID, a to zejména při aparativním vyhledávání říjí nebo využíváním synchronizačních protokolů.

Chovy BTPM mohou z využívání sexovaných ID efektivně profitovat jen za předpokladu, že náklady spojené s implementací nových postupů nebudou převyšovat jejich ekonomické přínosy.

6.6 Chov skotu a budoucí ekologická omezení

Spolu s rostoucí poptávkou po mléce se v mnoha zemích rozrůstají dojná stáda. Nicméně lze očekávat, že budoucí ekologická opatření budou výrobu mléka a hovězího masa limitovat v souvislosti se snahou omezovat produkci skleníkových plynů (greenhouse gas, GHG). Kupříkladu členské státy EU se zavázaly snížit produkci GHG oproti roku 1990 o 30 % do

roku 2020 a o 60-80 % do roku 2050 (směrnice EU 406/2009/EC). Napříč EU produkce mléka a masa je zodpovědná za 70 % emisí GHG produkovaných zemědělským sektorem (Lesschen et al., 2011). Norská studie, která se zabývá mj. cykly prvků, odhaduje, že minimálně 45 % CO₂ a CH₄ je produkováno přímo skotem (nezapočítává emise produkované v souvislosti s produkcí pícnin; Roer et al., 2013).

Využívání sexovaných ID skýtá příležitost zvýšit efektivitu výroby hovězího masa dojnými stády. Modelová studie srovnává očekávaný vliv využívání konvenčních, resp. sexovaných ID pro produkci chovných zvířat pro uzavřený obrat stáda na ekonomickou hodnotu a produkci GHG mezi lety 2018 a 2030 za předpokladu konstantní produkce hovězího masa 100 000 kg JUT. Studie předpokládá nárůst populace dojných krav o 50 %.

Tab. č. 12: Vliv využívání konvenčních, resp. sexovaných ID pro produkci chovných zvířat na ekonomickou hodnotu a produkci GHG; 2018-2030 (Holden a Buler, 2017 - zkráceno)

	Status quo, 2018	Využívání konvenčních ID - 2030	Využívání sexovaných ID - 2030
Produkce hovězího masa (kg JUT)	100 000	100 000	100 000
Počet dojných krav	189 193	283 790	283 790
Počet býčků dojných plemen	53 352	80 029	8 003
Počet telat dojně × masné plemeno	73 407	110 111	184 435
Hmotnost (t) JUT z dojných stád	50 000	74 677	77 573
Hodnota kříženců dojných a masných plemen (EUR)	192 921 237	288 936 815	309 456 535
Emise GHG (t) / Hmotnost (t) JUT z dojných stád	588 846	805 726	840 105
Produkce hovězího masa z masných stád (t JUT)	50 000	25 323	22 427
Emise GHG (t) / Hmotnost (t) JUT z masných stád	1 150 002	531 793	470 970
Emise GHG (t) / Hmotnost (t) JUT z dojných a masných stád	1 738 848	1 337 520	1 311 075
Změna v produkci GHG (%)	100	76,9	75,4
Průměrná produkce GHG (t) / hmotnost JUT (t)	17,4	13,4	13,1
Podíl hovězího masa vyprodukovaného dojnými stády (%)	50	75	78
Podíl hovězího masa vyprodukovaného masnými stády (%)	50	25	22

6.7 Doporučení pro další bádání

Experiment poskytl pozoruhodné výsledky, které by bylo vhodné a podnětné dále rozvíjet. Výsledky jsou originální tím, že jako jedny z prvních na tomto poli pocházejí z reálných podmínek českých chovů. V současné době, kdy využívání sexovaných ID i v České republice získává na významu, je důležité věnovat se efektivitě jejich využívání. V posledních letech podíl využívání sexovaných ID v připarování plemenic v ČR roste a do budoucna lze očekávat nezměněný trend v souvislosti s tlakem na efektivitu chovů. Proto by bylo vhodné a zajímavé tento experiment v horizontu několika let opakovat, neboť bude k dispozici širší základna pro sběr dat.

Pro správné posouzení sledovaného vlivu je zásadní věrohodnost získaných údajů. Ta patří mezi problematické momenty experimentu. Při kontrole spolehlivosti dat bylo zjištěno, že mnoho inseminačních techniků je evidentně nedostatečně motivováno ke kontrole správnosti pořizování inseminačních vět. Relativně mnoho času tak bylo vynaloženo na kontrolu věrohodnosti dat a v případech, kde ji nebylo možno spolehlivě provést, byla data z vyhodnocení vyloučena. Vede to k zamyšlení, nakolik jsou obecně data v centrální evidenci věrohodná a jaká je smysluplnost jejich sběru a analýzy. Do budoucna by tak bylo vhodné na tomto poli provést určitou revizi toho, jakým způsobem jsou data sbírána, vyhodnocována a kontrolována a jsou-li tyto úkony prováděny věrohodně a smysluplně na všech zúčastněných stranách.

Z výsledků dále vyplývá v průměru relativně vysoká úroveň zabřezávání plemenic po inseminacích sexovanými dávkami v kvalitě SexedULTRA™ 4M a Sexcel. Je obecně známo, že míra fertility spermií negativně koreluje s přesností procesu třídění spermií. Bylo by vhodné se tedy dále zabývat poměrem pohlaví narozených telat po inseminacích sexovanými ID různých kvalit.

Ze sexovaných ID dosáhly kvality SexedULTRA™ 4M a Sexcel úrovně zabřezávání statisticky srovnatelné s konvenčními ID. Z hlediska sexovaných ID Sexcel však srovnání lze považovat za nedostatečné, protože se v souboru vyskytoval pouze v inseminacích jalovic, a to ve významně nižší četnosti. Z důvodu nízké četnosti využívání je pro věrohodné vyhodnocení fertility ID typu Sexcel potřeba provést nový experiment.

Je známo, že úspěšnost zabřezávání po inseminacích sexovanými ID úzce souvisí s načasováním inseminace ve vztahu k době ovulace. Současný výzkum vlivu zpracování ejakulátu na fertilitu spermií naznačuje, že změna ve fertilitě spermií (procesu kapacitace) procesem třídění je do značné míry individuální pro jednotlivé býky. Proces sexace může kapacitační křivku posunout k abnormálnímu, ale též směrem k normálnímu průběhu. Bylo by vhodné a přínosné zabývat se dále fertilitou jednotlivých plemeníků dle kvality zpracování ID a načasování inseminace a využíváním synchronizačních protokolů pro dosažení vysoké úrovně zabřezávání.

7 Závěr

Cílem experimentu bylo porovnat úroveň zabřezávání krav dojných plemen v reálných podmínkách českých chovů v závislosti na kvalitativním zpracování spermatu použitého při inseminaci se zaměřením na technologii sexace sexovaných ID. Pro účely experimentu byly stanoveny dvě nulové, resp. alternativní hypotézy.

Nebyla potvrzena první nulová hypotéza: Technologie sexace spermatu býků nemá signifikantní vliv na úroveň zabřezávání jalovic a krav dojných plemen.

Z výsledků vyhodnocení experimentu bylo zřejmé, že různé kvality sexovaných ID umožnily dosahovat často statisticky významně rozdílné úrovně zabřezávání oproti konvenčním ID. V celém souboru platilo, že úroveň zabřezávání po inseminacích sexovanými ID Sexed 2M byla statisticky významně nižší, než po inseminacích sexovanými ID typu SexedULTRA™ 4M a Sexcel (tab. č. 7). Mezi kvalitami SexedULTRA™ 4M a Sexcel nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v zabřezávání. Rozsah souborů inseminací sexovanými ID SexedULTRA™ 4M a Sexcel však nebyl srovnatelný a sexovanými ID v kvalitě Sexcel byly inseminovány pouze jalovice. Proto pro věrohodné vyhodnocení fertility ID Sexcel je potřeba experiment opakovat a rozšířit.

Ani druhá stanovená nulová hypotéza nebyla potvrzena: Při inseminacích sexovaným ejakulátem lze za určitých podmínek dosahovat srovnatelné úrovně zabřezávání v porovnání se zabřezáváním po inseminacích konvenčními ID. Sexované ID SexedULTRA™ 4M a Sexcel poskytly úroveň zabřezávání všech plemenic statisticky srovnatelnou s konvenčními ID (tab. č. 7), naopak významně nižší úrovně zabřezávání bylo dosaženo při inseminacích sexovanými ID Sexed 2M.

Ačkoliv i z výsledků experimentu bylo zřejmé, že jalovice obecně zabřezávaly lépe než laktující plemenice, vzhledem k obecné úrovni zabřezávání plemenic v souboru nebyl jednoznačně prokázán vliv kategorie plemenice. Tedy, obě kategorie vykazovaly při inseminacích sexovanými ID zabřezávání srovnatelné nebo nižší, než při inseminacích konvenčními ID. Rozdíl v zabřezávání mezi jalovicemi a kravami a mezi konvenčními a sexovanými ID však nebyl při druhých a třetích inseminacích, kdy laktující krávy při inseminacích sexovanými ID zabřezávaly lépe, než při inseminacích konvenčními ID (graf č. 9). Na úroveň zabřezávání tedy může mít významný vliv především uvážlivost využívání (sexovaných) ID a individuální posuzování vhodnosti plemenice k inseminaci sexovanou ID.

Konkrétní podmínky a kvalita zootecnické práce (vliv podniku) se ukázaly být významným vlivem na úroveň zabřezávání plemenic (tab. č. 4). U jalovic byly říje vyhledávány převážně vizuálně. Nejlépe jalovice zabřezávaly v podniku, kde byl při posuzování vhodnosti jalovice k inseminaci sexovanou ID kladen maximální důraz na fázi říje. Ze souboru jalovic a krav nejlépe zabřezávaly plemenice v těch podnicích, kde byly při inseminacích krav zvýšenou měrou využívány synchronizační protokoly (tab. č. 1, graf č. 5). Z výsledků tedy vyplývá, že pro dosažení vysoké úrovně zabřezávání má významný vliv čas inseminace ve vztahu k době ovulace a je vhodné inseminovat v druhé polovině říje či při indukovaných říjích krav se známým časem ovulace oocyty.

Z hlediska provedeného ekonomického zhodnocení lze konstatovat, že vysoce fertilní sexované inseminační dávky mohou, při vhodném způsobu využívání a splnění některých podmínek, významně ovlivnit ekonomický výkon chovu stáda skotu. V dlouhodobém horizontu mají potenciál odstranit, resp. kompenzovat hlavní nevýhody chovu skotu čistě mléčného užitkového typu. Nabízí možnost plně využít reprodukčního potenciálu dojnic a maximalizovat efektivitu výroby mléka a masa a významnou selekcí také na straně plemenic a preselekcí pohlaví a užitkových vlastností budoucího potomstva. Potenciál dále zvýšit efektivitu výroby má také genomické testování jalovic. Zvýšení efektivity výroby mléka a masa využíváním sexovaných ID má dále potenciál snížit produkci GHG (tab. č. 12).

8 Literatura

- Almquist, J. O., Glantz, P. J., and Shaffer, H. E. 1949. The effect of a combination of penicillin and streptomycin upon the livability and bacterial content of bovine semen. *J. Dairy Sci.* 32:183–190.
- Almquist, J. O., and Wiggin, H. B. 1973. Survival of bull spermatozoa frozen and thawed by different methods in plastic straws. *AI Dig.* 21:12.
- Berry, D., and Cromie, A. 2007. Artificial insemination increases the probability of a male calf in dairy and beef cattle. *Theriogenology* 67, 346–352.
- Borchersen, S., and Peacock, M. 2009. Danish A.I. field data with sexed semen. *Theriogenology* 71, 59–63.
- Bratton, R. W., and Foote, R. H. 1954. Semen production and fertility of dairy bulls ejaculated either once or twice at intervals of either four or eight days. *J. Dairy Sci.* 37:1439–1443.
- Butler, S. T., Hutchinson, I. A., Cromie, A. R., and Shalloo, L. 2014b. Applications and cost benefits of sexed semen in pasture-based dairy production systems. *Animal* 8, 165–172.
- Case, C. H. 1925. Handling cases of sterility in practice. *Cornell Vet.* 15:37–45.
- Českomoravská společnost chovatelů a.s. 2019. Výsledky kontroly užítkovosti v České Republice: Kontrolní rok 2018 – 2019. https://www.cmsch.cz/CMSCH.cz/media/docs/Ro%c4%8denky%20KU/vysledky_ku_za_rok_2018-2019.pdf.
- Collins, W. J., Bratton, R. W., and Henderson, C. R. 1951. The relationship of semen production to sexual excitement of dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 34:224–227.
- Cran, D. G., Johnson, L. A., Miller, N. G., Cochrane, D., and C. Polge. 1993. Production of bovine calves following separation of X- and Y-chromosome bearing sperm and in vitro fertilization. *Vet. Rec.* 132:40–41.
- Crites, B. R., Vishwanath, R., Arnett, A. M., Bridges, P. J., Burris, W. R., McLeod, K. R., Anderson, L. H. ROK. Conception risk of beef cattle after fixed-time artificial insemination using either SexedUltra™ 4M sex-sorted semen or conventional semen. *Theriogenology* 118:126-129. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.003>.
- Davis, I. S., Bratton, R. W., and Foote, R. H. 1963a. Livability of bovine spermatozoa at 5, –25, and –85 C in tris-buffered and citrate-buffered yolk-glycerol extenders. *J. Dairy Sci.* 46:333–336.
- Davis, I. S., Bratton, W. R., and Foote, R. H. 1963b. Livability of bovine spermatozoa at 5 C in tris-buffered and citrate-buffered yolk-glycerol extenders. *J. Dairy Sci.* 46:57–60.
- DeJarnette, J. M., Nebel, R. L., and Marshall, C. E. 2009. Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. *Theriogenology* 71:49–58.
- DeJarnette, J. M., Leach, M. A., Nebel, R. L., Marshall, C. E., McCleary, C. R., and Moreno, J. F. 2011. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? *Journal of Dairy Science* 94, 3477–3483.

- De Vries, A., Overton, M., Fetrow, J., Leslie, K., Eicker, S. and Rogers, G. 2008. Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *Journal of Dairy Science* 91, 847–856.
- Dittrich, W., and Goehde, W. 1968. Flow-through chamber for photometers to measure and count particles in a dispersion medium. US Government, assignee. US Pat. No. DE1815352.
- Dziuk, P. J., Graham, E. F., and Petersen, W. E. 1954. The technique of electroejaculation and its use in dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 37:1035–1041.
- Edwards, J., A. Walton, and Siebenga, J. 1938. On the exchange of bull semen between England and Holland. *J. Agric. Sci.* 28:503–508.
- Elliott, F. I. 1978. Semen evaluation. Pages 400–427 in *Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle*. 2nd ed. G. W. Salisbury, N. L. VanDemark, and J. R. Lodge, ed. Freeman, New York, NY.
- Faust, M. A., Betthausen, J., Storch, A., and Crego, S. 2016. Effects for fertility of processing steps of a new technology platform for producing sexed sperm. *Journal of Animal Science* 94 (suppl. 5), 544–544.
- Foote, R. H., and Bratton, R. W. 1950. The fertility of bovine semen in extenders containing sulfanilamide, penicillin, streptomycin and polymyxin. *J. Dairy Sci.* 33:544–547.
- Forgason, J. L., Berry, W. T. Jr., and Goodwin, D. E. 1961. Freezing bull semen in liquid nitrogen vapor without instrumentation. *J. Anim. Sci.* 20:970.
- Fowler, A. K., Pickett, B. W., Gosslee, D. G., and Cowan, W. A. 1961. Effects of –196 and –76 °C storage on the resistance of bull sperm to three repeated freeze-thaw treatments. *J. Dairy Sci.* 44:715–720.
- Frijters, A. C., Mullaart, E., Roelofs, R. M., Van Hoorne, R. P., Moreno, J. F., Moreno, O., and Merton, J. S. 2009. What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology* 71, 64–67.
- Fulwyler, M. J. 1965. Electronic separation of biological cells by volume. *Science* 150:910–911.
- Garner, D. L., Gledhill, B. L., Pinkel, D., Lake, S., Stephenson, D., Van Dilla, M. A., and Johnson, L. A. 1983. Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. *Biol. Reprod.* 28:312–321.
- Garner, D. L., Pinkel, D., Johnson, L. A., and Pace, M. M. 1986. Assessment of spermatozoal function using dual fluorescent staining and flow cytometric analyses. *Biol. Reprod.* 34:127–138.
- Garner, D. L., and Seidel Jr., G. E. 2008. History of commercializing sexed semen in cattle. *Theriogenology* 69:886–895.
- Garner, D. L., Evans, K. M., and Seidel, G. E. 2013. Sex-sorting sperm using flow cytometry/cell sorting. In *Spermatogenesis*, pp. 279–295. Humana Press, Totowa, NJ, USA.
- Graham, E. F., Erickson, W. E., and Bayley, N. D. 1957. Effect of glycerol equilibration on frozen bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 40:510–515.

Gunn, R. M. C. 1936. Artificial production of seminal ejaculation and the characters of the spermatozoa therein. *Counc. Sci. Ind. Res. Bul.* 94. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Melbourne, Australia.

Gunsalus, I. C., Salisbury, G. W., and Willett, E. L. 1941. The bacteriology of bull semen. *J. Dairy Sci.* 24:911–919.

Hafs, H. D., Hoyt, R. S., and Bratton, R. W. 1959. Libido, sperm characteristics, sperm output, and fertility of mature dairy bulls ejaculated daily or weekly for thirty-two weeks. *J. Dairy Sci.* 42:626–636.

Healy, A. A., House, J. K., and Thomson, P. C. 2013. Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 96:1905–1914. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5465>.

Heape, W. 1897. Further note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster-mother. *Proc. R. Soc. Lond.* 62:178–183.

Hinde, K., Carpenter, A. J., Clay, J. S. and Bradford, B. J. 2014. Holsteins favor heifers, not bulls: biased milk production programmed during pregnancy as a function of fetal sex. *PLoS One* 9, e86169.

Hohenboken, W. D. 1999. Applications of sexed semen in cattle production. *Theriogenology* 52, 1421–1433.

Holden, S. A., and Butler, S. T. 2018. Review: Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. *Animal, The Animal Consortium*, 97-103.

Ivanoff, E. I. 1922. On the use of artificial insemination for zootechnical purposes in Russia. *J. Agric. Sci.* 12:244–256. Perry, E. J. 1945. *The Artificial Insemination of Farm Animals*. Rutgers University Press, New Brunswick, NJ.

Johnson, L. A. 1992. Method to preselect the sex of offspring. US Government, assignee. US Pat. No. 5,135,759.

Johnson, L. A. 1995. Sex preselection by flow cytometric separation of X and Y chromosome-bearing sperm based on DNA difference: a review. *Reproduction, Fertility and Development* 7, 893–903.

Kaimio, I., Mikkola, M., Lindeberg, H., Heikkinen, J., Hasler, J. F., and Taponen, J. 2013. Embryo production with sex-sorted semen in superovulated dairy heifers and cows. *Theriogenology* 80:950–954.

Kozlova, V. M. 1935. The optimal dosage of whole sperm in artificial insemination of farm animals. *Prob. Zhiv.* 4–5:233–234.

Liu, Y. T., and Warne, P. K. 1977. Computerized evaluation of sperm cell motility. *Comput. Biomed. Res.* 10:127–138.

Louda, F. 2001. *Inseminace hospodářských zvířat se základy biotechnických metod*. Česká zemědělská univerzita, 1. vyd. ISBN 80-213-0702-1.

Lovelock, J. E. 1953. The mechanism of the protective action of glycerol against haemolysis by freezing and thawing. *Biochim. Biophys. Acta* 11:28–36.

- Martin, I. C. A. 1965. Effects of rate of cooling to 5°C, storage at 5°C, glycerol concentration, sodium chloride, fructose and glycine on the revival of deep-frozen bull spermatozoa. *J. Agric. Sci.* 64:425–432.
- Mazur, P. 1984. Freezing of living cells: Mechanisms and implications. *Am. J. Physiol.* 247:C125–C142.
- Mikkola, M., and Taponen, J. 2017. Quality and developmental rate of embryos produced with sex-sorted and conventional semen from superovulated dairy cattle. *Theriogenology* 87:135–140.
- Miller, F. W., and Evans, E. I. 1934. Technic for obtaining spermatozoa for physiological dairy studies and artificial insemination. *J. Agric. Res.* 48:941–947.
- Moore, S. G., and Hasler, J. F. 2017. A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science. *J. Dairy Sci.* 100:10314–10331. <http://doi.org/10.3168/jds.2017-13138>.
- Olds, D. 1978. Insemination in the cow. Pages 555–576 in *Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle*. 2nd ed. G. W. Salisbury, N. L. VanDemark, and J. R. Lodge, ed. Freeman, New York, NY.
- Phillips, P. H. 1939. Preservation of bull semen. *J. Biol. Chem.* 130:415.
- Pickett, B. W., and W. E. Berndtson. 1978. Principles and techniques of freezing spermatozoa. Pages 494–554 in *Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle*. 2nd ed. G. W. Salisbury, N. L. VanDemark, and J. R. Lodge, ed. Freeman, New York, NY.
- Polge, C. 2007. The work of the Animal Research Station, Cambridge. *Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* 38:511–520.
- Polge, C., Smith, A. U., and Parkes, A. S. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164:666.
- Polge, C., and Rowson, L. E. A. 1952. Fertilizing capacity of bull spermatozoa after freezing at –79°C. *Nature* 169:626–627.
- Prince, P. W., Almquist, J. W., and Reid, J. J. 1949. Bacteriological studies of bovine semen. II. The incidence of specific types of bacteria and the relation to fertility. *J. Dairy Sci.* 32:849–855.
- Salisbury, G. W., Beck, G. H., Elliott, I., and Willett, E. L. 1943. Rapid methods for estimating the number of spermatozoa in bull semen. *J. Dairy Sci.* 26:69–78.
- Salisbury, G. W., Fuller, H. K., and Willett, E. L. 1941. Preservation of bovine spermatozoa in yolk-citrate diluent and field results from its use. *J. Dairy Sci.* 24:905–910.
- Seidel, G. E. Jr. 2014. Update on sexed semen technology in cattle. *Animal* 8, 160–164.
- Seidel, G. E. Jr, and Schenk, J. L. 2008. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Animal Reproductive Science* 105, 129–138.
- Shannon, P. 1965. Contribution of seminal plasma, sperm numbers, and gas phase to dilution effects of bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 48:1357–1361.
- Shannon, P., and Curson, B. 1984. Effect of storage temperature on the viability and fertility of bovine sperm diluted and stored in Caprogen. *N. Z. J. Agric. Res.* 27:173–177.

- Shannon, P., and Vishwanath, R. 1995. The effect of optimal and suboptimal concentrations of sperm on the fertility of fresh and frozen bovine semen and a theoretical model to explain the fertility differences. *Anim. Reprod. Sci.* 39:1–10.
- Siqueira, L. G. B., Dikmen, S., Ortega, M. S., and Hansen, P. J. 2017. Postnatal phenotype of dairy cows is altered by in vitro embryo production using reverse X-sorted semen. *J. Dairy Sci.* 100:5899–5908. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12539>.
- Thacker, D. L., and Almquist, J. O. 1953. Diluters for bovine semen. I. Fertility and motility of bovine spermatozoa in boiled milk. *J. Dairy Sci.* 36:173–180.
- Underwood, J. 2012. *Sires of Distinction. The M.F.A. Artificial Breeding Association and its Impact on Missouri's Dairy Industry.* 1st ed. Donning, Virginia Beach, VA.
- Vishwanath, R. 2003. Artificial insemination: The state of the art. *Theriogenology* 59:571–584.
- Vishwanath, R., and Shannon, P. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* 62:23–53.
- Walton, A. 1926. Preservation of mammalian spermatozoa. *Nature* 118:265.
- Williams, W. W. 1920. Diseases of the bull interfering with reproduction. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 11:29–41.
- Wilmot, S. 2007. Between the farm and the clinic: Agriculture and reproductive technology in the twentieth century. *Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* 38:303–315.
- Xu, Z. 2014. Application of liquid semen technology improves conception rate of sex-sorted semen in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 97, 7298.
- Xu, Z., Johnson, D. and Burton, L. 2000. Factors affecting the sex ratio in dairy cattle in New Zealand. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 60, 301–302.

9 Seznam použitých zkratk a symbolů

- NR₆₀₋₉₀ test (test nepřeběhlých plemenic mezi 60. a 90. dnem od porodu)
- CR (Conception Rate)
- SS-CR (Sexed Semen Conception Rate)
- IVF (In vitro fertilizace)
- OPU (pick-up oocytů in vivo)
- ET (embryotransfer)
- PH (plemenná hodnota)
- BTM (bez tržní produkce mléka)
- JUT (jatečně upravený trup)
- GHG (skleníkové plyny)