

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Časovaná inseminace u krav

Bakalářská práce

Autor práce: Martina Bozděchová

Obor studia: Živočišná produkce

Vedoucí práce: Ing. Jiří Šichtař, Ph.D.

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Časovaná inseminace u krav" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18.4.2018

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Jiřímu Šichtařovi, Ph.D., který mi byl velmi nápomocen při vyhledávání odborných zdrojů a měl se mnou trpělivost. Dále bych ráda poděkovala své rodině a příteli, kteří mě maximálně podporovali.

Časovaná inseminace u krav

Souhrn

Tato bakalářská práce je sepsána formou literární rešerše a týká se časované inseminace u krav. Kráva je polyestrické zvíře, s délkou estrálního cyklu v průměru kolem 21 dní. Vzhledem k navyšující se užitkovosti krav se samotná říje během posledních let velmi zkrátila nebo probíhá tzv. tichá říje, při níž si chování typického pro říji nelze všimnout.

U dojeného skotu se využívá přirozené plemenitby velmi zřídka. Naopak nejvyužívanější metodou plemenitby je inseminace. Aby byla úspěšná, musíme pro ni stanovit optimální dobu. Inseminaci provádí proškolený inseminační technik do krčku dělohy nebo děložního těla pomocí techniky cervikální fixace přes konečník.

Hlavními problémy managementu reprodukce krav je detekce říje a načasování inseminace vzhledem k ovulaci. Detekce říje je časově a pracovně náročný proces, s nímž se nese problém načasování inseminace, která je prováděna na základě detekce říje. Pro efektivitu práce se řadu let vyvíjí mnohé protokoly, které synchronizují a indukují ovulaci. Tyto protokoly jsou řízeny hormonálně buď formou intravaginálních insertů, nebo intramuskulárních injekcí. V roce 1995 byl vytvořen základní protokol synchronizace a indukce ovulace, tzv. Ovsynch. Tento protokol byl založen na dvou injekcích GnRH, jedné injekci PGF_{2α} a po 24 hodinách následovala časovaná inseminace. Aby úspěšnost Ovsynch protokolu byla vyšší, muselo se lépe upravit načasování jednotlivých injekcí a samotné inseminace. Navržený Ovsynch48, u kterého proběhla druhá injekce GnRH 48 hodin po injekci PGF_{2α}, vykazuje lepší výsledky než Ovsynch56, u kterého byl interval mezi injekcemi 56 hodin. Bylo zjištěno, že také načasování inseminace přináší lepší výsledky, a to v případě, že probíhá za 16-20 hodin po poslední injekci. Aby se dosáhlo vyššího podílu zabřezávání, byly vyvinuty jeho různé modifikace klasického Ovsynch protokolu, mezi něž patří Presynch, Heatsynch, Cosynch, Resynch a další. Presynchronizační protokoly slouží k zefektivnění Ovsynchu, se kterým se díky těmto protokolům začíná v nejlepší fázi estrálního cyklu a zvyšuje se tím procento březích krav. Po neúspěšné inseminaci přichází na řadu resynchronizační protokoly, které pomáhají ke zlepšení zabřezávání na druhou a další inseminaci.

Klíčová slova: reprodukce, kráva, inseminace, ovulace

Timed artificial insemination in cows

Summary

This bachelor thesis is written in the form of literary research and concerns to timed artificial insemination in cows. Cow is a polyestric animal that an estral cycle takes in average time about 21 days. Due to the increasing cow productivity, the itself heat has been shortened during last years or a socalled silent heat which typical behavior of the cow can not be noticed takes place.

The natural breeding is rarely used in dairy cattle. On the contrary, the most used method of breeding is insemination. To be successful, we need to set the optimum time for it. The insemination is performed by a trained insemination technician who uses the technique of cervical fixation across the rectum to the uterine cervix or uterine body.

The main problems of the cow reproduction management are the detection of heat and the timing of insemination due to ovulation. The detection of heat is a time-consuming and intensive working process that involves the problem of the timing of insemination which is carried out on the basis of the detection of heat. Many protocols have been developed for many years to synchronize and induce ovulation. These protocols are controlled hormonally either by intravaginal inserts or by intramuscular injections. In 1995 the basic protocol of ovulation synchronization and induction called Ovsynch was created. This protocol was based on two injections of GnRH, one injection of PGF_{2α} and timed artificial insemination followed after 24 hours. To intensify the success of Ovsynch protocol the timing of the individual injections and the insemination itself should be improved. Designed Ovsynch48 which the second injection of GnRH was 48 hours after PGF_{2α} injection it had better results than Ovsynch56 which interval between injections was 56 hours. It has been found that also the timing of insemination brings better results in the case when it takes place 16-20 hours after the last injection. In order to achieve a higher conception rates its various modifications of the classic Ovsynch protocol have been developed, including Presynch, Heatsynch, Cosynch, Resynch and others. Presynchronization protocols are used to make Ovsynch more effective with these protocols it has been possible to begin at the best stage of the estrous cycle and increase the percentage of pregnant cows. After unsuccessful insemination resynchronization protocols are added to help and improve the conception rates and other insemination.

Keywords: reproduction, cow, insemination, ovulation

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Anatomie pohlavní soustavy krávy	3
3.1.1	Vaječníky (samičí gonády)	3
3.1.2	Vejcovody	3
3.1.3	Děloha	4
3.1.4	Pochva	4
3.1.5	Vulva	5
3.2	Fyziologie reprodukce skotu	6
3.2.1	Hormonální řízení	6
3.2.2	Folikulogeneze a oogeneze	8
3.2.3	Estrální cyklus	10
3.2.3.1	Proestrus	11
3.2.3.2	Estrus	11
3.2.3.3	Metestrus	12
3.2.3.4	Diestrus	12
3.2.4	Oplození	12
3.3	Přirozená plemenitba	14
3.4	Inseminace (UI)	14
3.4.1	Časovaná inseminace	15
3.4.2	Synchronizace říje	16
3.4.2.1	Zkracování luteální fáze	16
3.4.2.2	Prodlužování luteální fáze	17
3.4.3	Synchronizace ovulace a časovaná inseminace	18
3.4.4	Ovsynch	19
3.4.4.1	Ovsynch48	22
3.4.4.2	Ovsynch56	23
3.4.5	Modifikace Ovsynchu	23
3.4.6	Presynchronizační protokoly	24
3.4.6.1	Presynch-12 a její obměny	25
3.4.6.2	Double-Ovsynch (DOv)	26
3.4.6.3	G-6-G	26
3.4.6.4	PG-3-G	27
3.4.7	Resynch	27
4	Závěr	29
5	Seznam použité literatury	30

1 Úvod

Problémy v reprodukci skotu jsou v současné době stále častější otázkou, se kterou se potýká řada chovatelů. Vzhledem k čím dál tím vyšší užitkovosti dojnic se jejich reprodukční schopnost snížila, protože tyto dvě vlastnosti jsou v negativní korelaci. Standardem chovu je od jedné krávy vyprodukovat jedno tele ročně. Velký problém představuje detekce říje, která je společně s načasováním inseminace klíčovou pro získání tohoto standardu. Tyto nedostatky znamenají pro chovatele obrovské ztráty, zejména finanční. Rozvoj inseminace, která se díky poznatkům fyziologie skotu neustále vyvíjí, se snaží eliminovat tyto ztráty. Aby nebyla potřeba detekce říje, docházelo k vývoji synchronizačních protokolů, které se bez ní obejdou. Nejvyužívanějšími protokoly jsou ty, které synchronizují ovulaci. Díky nim se zvyšuje počet březích zvířat, a tím se snižují finanční ztráty.

2 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je vytvoření literární rešerše shrnující nejnovější poznatky pojednávající o časované inseminaci u krav.

3 Literární rešerše

3.1 Anatomie pohlavní soustavy krávy

Pohlavní aparát je specializované ústrojí, které slouží k rozmnožování druhu a jeho zachování (Kudláč, 1987). Reprodukční funkce u samic se zakládá na tvorbě hormonů, tvorbě vajíček a k opatření příznivého prostředí pro růst a výživu plodu, který se vyvíjí po splnutí vajíčka se spermií (Reece, 2010).

Rozděluje se na vnitřní a vnější část. Mezi vnitřní pohlavní orgány řadíme párové pohlavní žlázy, což jsou vaječníky a převážnou část vývodných pohlavních cest, kam patří dva vejcovody, děloha a pochva. Mezi vnější pohlavní orgány pak řadíme poševní předsíň, vulvu a poštváček. Významná pro reprodukci je i mléčná žláza, která se díky své těsné funkční spojitosti s pohlavními orgány označuje jako přídatný pohlavní orgán (Kudláč, 1987).

3.1.1 Vaječníky (samičí gonády)

Vaječníky jsou párovou samičí pohlavní žlázou, kde dochází k tvorbě samičích buněk a pohlavních hormonů. Jsou uloženy kaudálně v břišní dutině. Tuto polohu zaujímají díky vaječnickovému okruží, které je kraniálním pokračováním širokého děložního okruží (Marvan, 1992).

Jsou složeny z kůry a dřene (Urban, 1997). Na jejich povrchu je zárodečný epitel, který pod sebou skrývá bělavou vazivovou korovou vrstvu, která obklopuje vlastní tkáň vaječnicku skládající se z hutné a povrchově uložené korové vrstvy, a uvnitř se nachází dřeň. Ta obsahuje hladkosvalové buňky a větví se v ní početné cévy a nervy. V kůře vaječnicků se nachází folikuly (Marvan, 1992).

Vaječníky leží přibližně 30 cm kraniálně od vulvy. Mají vejčitý tvar, tuhý a elastický charakter, a jejich velikost závisí na stádiu pohlavního cyklu a věku plemenic. Délka vaječnicků je cca 3-5 cm a silné jsou 2-3 cm. Vaječnick je veliký přibližně jako švestka, pravý z nich bývá větší (Burda, 1986). Váží přibližně 15-20 g (Marvan, 1992).

3.1.2 Vejcovody

Vejcovod je párová hladkosvalová a slizniční trubička. Vnější průměr činí 3-5 cm (Urban, 1997). Dosahuje délky 20-30 cm. Je zavěšen na vejcovodovém okruží a jeho průběh je silně zvlněný a klikatý. V těsné blízkosti vaječnicku začíná vejcovod širokou nálevkou, která

má na dně otvor břišního ústí, jehož šířka činí přibližně 2 mm. Končí děložním ústím, který vejcovod otevírá do děložního rohu (Marvan, 1992). Vnitřek vejcovodu vystylají sekreční a řasinkovité buňky (Urban, 1997).

Vejcovodová stěna se skládá ze sliznice, hladké svaloviny a pobřišnice (Marvan, 1992). Dochází zde k oplození a oplozená vajíčka se poté přesouvají do děložních rohů (Kovář a kol., 1973).

3.1.3 Děloha

Děloha je dutý orgán se silnou stěnou (Marvan, 1992). Je uložen v břišní dutině, částečně i v pánevní (Kovář a kol., 1973). K těmto dutinám ho upevňují široké děložní vazy, které jsou klikatě zásobeny cévami a nervy (Kudláč, 1987). Skládá se z krčku, těla a dvou rohů (Reece, 2011). Stěna dělohy se skládá ze tří vrstev. Na povrchu se nachází pobřišnice, střední vrstva je tvořena podélnou a kruhovou svalovinou a vnitřek vystylá sliznice, nazývaná endometrium (Kovář a kol., 1973).

Děložní rohy krávy v dospělosti dosahují délky 35-45 cm. Ve své kaudální části jsou vedle sebe a jejich středové strany srůstají. Děložní rohy se směrem dopředu vidlicovitě rozbíhají (Marvan, 1992). Zpravidla mají válcovitý tvar. Směrem dopředu jsou velmi výrazné (Kudláč, 1987). Na děložní rohy navazuje děložní tělo. Jejich délka je pouhé 3 cm (Marvan, 1992). Spoj mezi tělem dělohy a pochvou zajišťuje děložní krček, jehož délka je 8-12 cm. Jeho charakter je tuhý a tvar válcovitý. Středem krčku prochází úzký kanál, jehož sliznice není hladká a má čtyři záhyby (Marvan, 1992). Fyziologicky dochází k otevření jen v době říje, porodu a krátce po porodu (Kudláč, 1987).

Střední svalová vrstva stěny (myometrium) je složena z hladkosvalových buněk. Tenká vrstva pobřišnice (perimetrium) tvoří serózní povrch dělohy přecházející ze závěsného děložního okruží (mesometria), které vytváří u nebřezích samic závěs. Gravidní děloha nabírá na objemu a hlavní oporou je břišní stěna (Reece, 2011).

3.1.4 Pochva

Pochva je dutý svalnatý orgán, který je vystlaný sliznicí a nachází se v pánvi (Kovář a kol., 1973). Dosahuje délky cca 20 cm (Marvan, 1992). Je složena z vlastní pochvy a poševní předsíně. Mezi nimi je hranice tvořena řasou sliznice – panenskou blánou, která se vyskytuje u jalovic. V tomto místě vertikálně vyúsťuje také močová roura (Kovář a kol., 1973).

Stěna pochvy se skládá ze tří vrstev – sliznice, hladké svaloviny a vrstvy řídkého vaziva (Marvan, 1992). Sliznice má bledě růžovou barvu a je lesklá, hladká a vlhká. Většinou ji pokrývá dláždíkový vrstevnatý epitel (Kudláč, 1987).

3.1.5 Vulva

Vulva je kaudálním směrem poslední částí samičího ústrojí a tvoří jejich vnější vyústění (Urban a kol., 1997). Je to svislá štěrbina, která je ze stran ohraničená stydkými pysky, které se v dorzální a ventrální spojce stýkají. V té dorzální se nachází pošťeváček, který je vývojovým pozůstatkem po základu samčího pyje (Kovář a kol., 1973). Pošťeváček obsahuje senzitivní nervové zakončení a má topořivou tkáň (Reece, 2010). Stydké pysky mají vnější a vnitřní povrch. Vnější povrch je chráněn kůží, která je většinou bez pigmentu, porostlá jemnými chloupky a má mnoho záhybů (Polák, 1956).

3.2 Fyziologie reprodukce skotu

Reprodukční funkce u samic zprostředkovávají tvorbu vajíček a hormonů a poskytují příznivé prostředí pro růst a výživu plodu, který se vyvíjí po oplození zralého vajíčka spermií. Březost je ukončena porodem a samice pokračuje po dobu laktace ve výživě svého potomka (Reece, 2010).

3.2.1 Hormonální řízení

Činnosti pohlavních orgánů a řízení reprodukčního průběhu je založeno na vlivu nervové soustavy a hormonů (Sova a kol., 1981). Hierarchicky uspořádané orgány, do kterých patří kůra mozková, limbický systém, hypotalamus, hypofýza, vaječníky a děloha, jsou zapojeny do řízení pohlavní činnosti (Doležel a Kudláč, 1997). Pohlavní funkce a jejich řízení, stejně jako celý průběh reprodukce, jsou výsledkem působení kůry velkého mozku neboli hypotalamo-hypofyzární soustavy a vlastních genitálií (Kudláč, 1987). Na principech zpětné vazby je založeno neurohumorální řízení. Vylučování ostatních hormonů z mozku tlumí negativní zpětná vazba a uvolňování určitého hormonu podněcuje pozitivní zpětná vazba (Komárek a kol., 1964).

Kůra velkého mozku je úkolujícím aparátem neurohumorální regulace reprodukčních dějů. Tvoří dominující centrálu pro řízení sexuálních funkcí, vyšší orgán rozboru a spojení informací, které přicházejí z vnějšího prostředí. Pomocí nervového systému nepřetržitě přijímá zprávy o vnitřním stavu celého organismu a současně pomocí smyslových orgánů vnímá ekologické vlivy. V centrálně nervových strukturách (tj. limbický systém čichového mozku, lobus limbicus, septum pellucidum, formace hippocampu, amygdala a další podkorová a nervová jádra) jsou analyzovány a syntetizovány přicházející informace a impulsy. Dále přechází do hypotalamu a částečně přes asociační centrum k bederní míše a pohlavním orgánům (Kudláč, 1987).

Hypotalamus z anatomického hlediska představuje koncovou část nervového řízení pohlavní činnosti. Z funkčního pohledu je hlavním centrálním řídicím orgánem reprodukčních funkcí a celého vnitřního prostředí organismu (Doležel a Kudláč, 1997). Dnes můžeme v hypotalamu rozlišovat dvě sexuální centra (přední a zadní), která mají důležitý význam pro řízení pohlavní činnosti (Kudláč, 1987). Přední neboli rostrální sexuální centrum přijímá a převádí podněty, které vysílá dále k zadnímu. Zadní neboli kaudální sexuální centrum tvoří specifické neurohormony na základě impulsů z předního sexuálního centra, které podněcují

nebo tlumí sekreční aktivitu hypofýzy (Doležel a Kudláč, 1997). Hypotalamus produkuje gonadotropin uvolňující hormon (GnRH), jehož zásadní rolí je kontrola a působení na funkci adenohypofýzy (Mardešić a kol., 2013). Dále je nadřízeným a řídicím centrem i pro aktivitu zadního laloku hypofýzy, vytváří se v něm oba hormony spadající pod zadní lalok – antidiuretický hormon (ADH) a oxytocin (Kudláč, 1987).

Výkonným orgánem, který uskutečňuje příkazy přicházející z hypotalamu, je hypofýza a v určitém směru slouží i jako zesilující zařízení. Je tvořena třemi částmi: předním lalokem neboli adenohypofýzou, středním lalokem a zadním lalokem neboli neurohypofýzou (Kudláč, 1987). Na základě vylučování GnRH v hypotalamu se vylučují v adenohypofýze gonadotropiny: folikuly stimulující hormon (FSH), luteinizační hormon (LH) a prolaktin (PRL) (Mardešić a kol., 2013). FSH a LH patří do skupiny glykoproteinových hormonů skládajících se z jedné společné α -podjednotky a jedné hormonálně specifické β -podjednotky (Zhang et al, 2015). FSH je produkován v bazofilních buňkách adenohypofýzy. U samic hormon FSH funguje hlavně jako stimul pro vývoj a zrání folikulů ve vaječnících. FSH nezpůsobuje sekreci estrogenu z vaječníku sama o sobě; místo toho potřebuje přítomnost LH ke stimulaci tvorby estrogenu. LH je tvořen v amfofilních buňkách adenohypofýzy a má na starost u samic dozrávání a ovulaci folikulů. Také podněcuje formování žlutého tělíska (CL). U krav stimuluje CL k tvoření progesteronu. Ve spolupráci s FSH způsobuje tvorbu Graafova folikulu a ovulaci (Kudláč, 1987). Prolaktin (PRL) je peptidický hormon a tvoří se v acidofilních buňkách adenohypofýzy. Jeho důležitou funkcí je rozvoj mléčné žlázy a sekrece mléka a nepřímo tlumí činnost pohlavních žláz. V neurohypofýze se hromadí oxytocin, který je zodpovědný za vyvolání kontrakcí při porodu (Dylevský, 2009).

Gonády jsou vlastními výkonnými orgány reprodukční soustavy a jejich aktivita je plně závislá na hypotalamo-hypofyzárním systému. Tvoří pohlavně specifické hormony podmiňující exteriérové rozdíly mezi pohlavími, také mají vliv na jejich látkovou výměnu, pohlavní chování a vlastní funkci vývodných pohlavních cest (Kudláč, 1987). Gonadotropní hormony podněcují gonády k produkci pohlavních steroidů: estrogenu a progesteronu (Mardešić a kol., 2013). Důležitými z estrogenů u samic jsou steroidy, které jsou produkovány vaječníky (granulózními buňkami folikulu), placentou a kůrou nadledvin. Z nich je nejdůležitější a převládající 17- β -estradiol u nebřezích a estron u březích samic. Hlavní funkcí estrogenů je stimulace buněčné proliferace a růst tkání, které jsou ve vztahu k reprodukci (Reece, 2011). Mezi jejich fyziologické účinky spadá vytvoření sekundárních pohlavních znaků, stimulace růstu vývodných pohlavních cest, růst a vývoj vývodného systému mléčné

žlázy i alveolárního systému. Estrogeny ovlivňují morfologické změny na vejcovodech, děloze a pochvě v průběhu cyklu, zároveň vyvolávají psychické příznaky říje. Zasahují účinně i do látkového metabolismu, kde iniciují syntézu bílkovin, ukládání glykogenu se stupňuje a v organismu se zadržuje voda a některé minerální látky a stávají se nositeli zpětnovazebního mechanismu na hypotalamus a hypofýzu. Progesteron se tvoří ve žlutém tělísku a svým biologickým působením dokončuje na pohlavním aparátu změny, které jsou vyvolány estrogeny. Je nezbytný především pro vznik a zachování březosti. Významný úkol má při vývoji alveolárního systému mléčné žlázy, při vzniku mateřského pudu a též při ovulaci folikulů (Kudláč, 1987). Dalšími funkcemi progesteronu jsou podpora růstu endometriálních žláz, stimulování vyměšování vejcovodu a žláz endometria dělohy poskytující výživu pro vyvíjející se embryo před jeho uhnízděním, regulování sekrece gonadotropinu a prevence stahování dělohy v průběhu březosti (Urban a kol., 1997).

3.2.2 Folikulogeneze a oogeneze

Proces, při kterém vznikají folikuly, se nazývá folikulogeneze a při kterém vznikají oocyty oogeneze (Reece, 2010).

Základní vývojovou jednotkou samičího vaječníku jsou ovariální folikuly (Van der Hurk et al., 1997). Ty byly klasifikovány různými způsoby na základě morfologických charakteristik, jako je počet granulóznic buněčných vrstev obklopujících oocyty, morfologických vlastností granulóznic buněk, průměru oocytů a folikulů a nepřítomnosti či přítomnosti antra na primordiální, primární, sekundární (preantrální) a terciární též antrální či Graafovy (Hopper, 2014). Folikuly rostou postupně v několika stádiích, dokud nedojde k jejich ovulaci nebo k jejich zániku – atrézii (Ferin and Jewelewicz, 1993).

Folikulogeneze je zahájena již v prenatálním stádiu a končí v období senia. Po narození je počet primordiálních folikulů snížen v jednom vaječníku na 50-200 tisíc a nové se již netvoří (Ferin and Jewelewicz, 1993). S pohlavním dospíváním dochází k hlavnímu růstu a zrání folikulů a po dosažení puberty se v průběhu pohlavních cyklů ještě více urychluje (Kudláč et Elečko, 1987). Pouze menšina ze všech folikulů přítomných na vaječníku je schopna ovulovat a vyčerpání jejich zásob signalizuje konec reprodukčního života (Ferin and Jewelewicz, 1993).

Ovariální folikuly se začínají rozvíjet jako primordiální struktury, které se skládají z oocytu zastaveného v profázi I meiotického dělení a z plochých folikulárních buněk (Van der Hurk et al., 1997). Zahájení jejich růstu začíná přeměnou zploštělých buněk primordiálního

folikulu na jednu vrstvu kubických granulózních buněk, v tomto okamžiku se folikul označuje jako primární. Proliferace granulózních buněk vede ke zvýšení počtu vrstev kolem oocytů. Se dvěma až šesti vrstvami granulózních buněk se jedná už o folikul sekundární. Kromě toho během preantrálního růstu dochází k růstu oocytů a tvorbě zóny pellucidy. S více než šesti vrstvami granulózních buněk a s antrem (dutina naplněná tekutinou) se jedná už o terciární folikul (Hopper, 2014). Jakmile vznikne antrum, jsou folikuly závislé na gonadotropinech pro další růst a vývoj (Van der Hurk et al., 1997).

Průměr primárního folikulu bývá přibližně 0,04 mm a nejmenšího antrálního folikulu pak 0,25 mm. Doba potřebná pro růst z velkého sekundárního folikulu na zralou ovulační velikost je přibližně 42 dní (Hopper, 2014).

Oogeneze u savců zahrnuje složitou řadu morfogenetických změn, které se vyskytují uvnitř ovariálního folikulu (Coticchio et al., 2012). Kudláč (1987) rozdělil průběh oogeneze na tři vývojová stádia – období rozmnožování, růstu a zrání.

V prvním období oogonie, které vznikají z primordiálních zárodečných buněk v endodermu, podstupují opakované mitotické dělení ve vaječniku plodu. Tím dochází k navýšení jejich počtu ve vaječnicích. Mitotická fáze oogeneze ustane ihned po narození. Když oogonie dokončí mitózu, vstoupí do profáze prvního meiotického dělení a stanou se primárními oocyty, které jsou diploidní (2n), což znamená, že obsahují úplný počet chromozomů (McGeady et al., 2012). Tyto primární oocyty mají kolem sebe jednu vrstvu epitelových buněk a tvoří tzv. primární folikuly (Kudláč, 1987).

Druhé období charakterizuje zvětšování cytoplazmy oocytů, kdy jádro nejprve podstoupí změny představující profázi prvního meiotického dělení, poté vytvoření vaječné blány (zóny pellicidy) a pomnožení folikulárních buněk, které vytváří mnohvrstevnatý obal. Folikulární buňky se kolem oocytu řadí paprskovitě a tvoří tzv. corona radiata. Ta zůstává kolem vajíčku ještě krátkou dobu po jeho uvolnění z vaječniku (Kudláč, 1987).

V posledním období oocyt podléhá dvěma po sobě jdoucím zracím dělením, která vedou ke vzniku oplození schopného, zralého vajíčka (Kudláč, 1987). Když se dokončí první meiotické dělení, dojde k produkci dvou haploidních buněk nerovnoměrné velikosti. Buňka, která přijímá většinu cytoplazmy, se označuje jako sekundární oocyt a druhá, která přijímá minimální množství, je první polové tělísko (McGeady et al., 2012). Ve stejnou chvíli nebo krátkou dobu po prvním meiotickém dělení se sekundární oocyt společně s pólovým tělískem a coronou radiata oddělí z vejconosného hrbolku a uvolní se do folikulární tekutiny, s níž se dostává po ovulaci do vejcovodu. V té chvíli nastupuje druhé zrací neboli redukční dělení,

kdy se sekundární oocyt znovu rozdělí na dvě nerovnoměrně velké buňky. Buňka, která má větší množství cytoplazmy, se označuje jako zralé vajíčko. Druhá buňka s malým množstvím cytoplazmy se nazývá druhé pólové tělísko (Kudláč, 1987). Dokončení druhého meiotického dělení ve vejcovodu a formování druhého pólového tělíska probíhá až po proniknutí spermie do sekundárního oocyty (McGeady et al., 2012). Jádro zralého vajíčka má haploidní počet chromozómů. Pólová tělíska, která vznikla při zracím dělení, zanikají a můžeme je také označit jako abortivní vajíčka (Kudláč, 1987).

Je nutné důkladně porozumět fyziologii estrálního cyklu krav, a zvláště dynamice folikulárních vln, než se člověk pokusí s ní manipulovat. Každý estrální cyklus má buď dvě nebo tři folikulární vlny, ve kterých rozlišujeme tři fáze (Ginther et al., 1989; Ginther et al., 1996). První z nich je fáze emergence, kdy dochází k objevení folikulů větších než 4 mm. Další fáze se nazývá deviance, kdy nastane zřetelná změna průměru mezi dvěma největšími folikuly, největší folikul měří >9 mm. Všechny ostatní menší folikuly se stávají podřazenými a podléhají atrezii. Poslední fáze je dominance, kdy dochází ke zjevné morfologické a fyziologické nadvládě dominantního folikulu (Sartori et al., 2004; Ginther, 2016).

V obou typech estrálních cyklů (2- a 3-vlnový cyklus) vzniká první vlna růstu folikulů v den ovulace. Ve dvou vlnových cyklech se druhá vlna objeví 9. nebo 10. den. Ve tří vlnových cyklech je druhá vlna 8. nebo 9. den a třetí vlna vzniká 15. nebo 16. den. Doba trvání estrálního cyklu je přibližně 20 dnů ve dvou vlnových cyklech a 23 dní ve třech vlnových cyklech. Dominantní folikul přítomný v době luteolýzy se stane ovulačním folikulem (Kastelic et al., 1990).

3.2.3 Estrální cyklus

Samičí reprodukční systém většiny savců, včetně krav a jalovic, vykazuje rytmickou změnu nazvanou estrální cyklus (Hoard, 1993). Což lze chápat také jako cyklickou změnu organismu samice, která ho připravuje na oplození a uhnízdění oplozeného vajíčka (Lawhead and Baker, 2016). Tyto cykly se u zvířat opakují do té doby, než samice zabřezne. Estrální cyklus je doba od počátku jednoho k druhému období estru (Akers and Denbow, 2013).

Kráva je polyestrické zvíře, což znamená to, že má opakovaně cykly po celý rok. Průměrný estrální cyklus u krávy činí 21 dní, i když se běžně může pohybovat od 17 do 25 dnů (Lawhead and Baker, 2016).

Telata se rodí se založenými reprodukčními orgány, které však nejsou funkčními po několik měsíců. S růstem telete a ovlivněním hormonů hypofýzy se rozmnožovací trakt

postupně rozvíjí až do začátku sexuální aktivity. Puberta u skotu začíná asi v 8-10 měsících, ale může to být dříve nebo i později v závislosti na plemeni a úrovni krmení (Hoard, 1993).

Estrální cyklus má dvě ovariální fáze, luteální a folikulární. Do luteální fáze patří metestrus a diestrus, do folikulární řadíme proestrus a estrus. Jejich klasifikování je založeno na změnách ovariálních, hormonálních a na změnách v chování, ke kterým dochází během estrálního cyklu (Akers and Denbow, 2013).

3.2.3.1 Proestrus

Proestrus představuje dobu přechodu mezi koncem luteální fáze předchozího pohlavního cyklu a začátkem nového folikulárního cyklu (Doležel a Kudláč, 1997). U skotu trvá proestrus tři dny před říjí (Lawhead and Baker, 2016).

Vaječník obsahuje žluté tělísko, které produkuje hormon progesteron. Na začátku proestru se hormon prostaglandin uvolňuje do krevního oběhu z dělohy. Prostaglandin způsobuje, že dojde k regresi CL a snižuje hladinu progesteronu. Klesající progesteron vede ke zvýšení aktivity hypofýzy a uvolňování hormonů FSH a LH. Stoupající hladina FSH vede k vývoji folikulu ve vaječníku. Buňky lemující folikuly vylučují hormonální estrogen jako odpověď na FSH. Estrogen má zodpovědnost za změny chování, které pozorujeme u samic během říje. Den před říjí dochází k ostrému nárůstu uvolňování LH (Lawhead and Baker, 2016).

Estrogenní hormon způsobuje zvýšený přísun krve k pohlavním orgánům, silnou proliferaci a zduření na sliznici vývodných cest. V tomto období můžeme na krávičce pozorovat lehké zduření vulvy, sliznice poševní předsíně se stává zarůžovělou a je překrvená. Dochází také k tomu, že kráva naskakuje na ostatní (erotizace) a sledujeme zvýšený pohlavní pud (Kudláč, 1987).

3.2.3.2 Estrus

Estrus neboli říje z chovatelského hlediska tvoří nejdůležitější část estrálního cyklu. Lze ji zevně detekovat a je třeba zařídit zapuštění (Doležel a Kudláč, 1997). U skotu trvá 8 až 30 hodin, i když většina zvířecích cyklů směřuje ke kratšímu konci tohoto rozmezí (Lawhead and Baker, 2016).

Na vaječnicích dozrává preovulační folikul o velikosti 15-25 mm, který následně ovuluje, a dále se urychluje strukturální zánik žlutého tělíska, u kterého dochází ke zmenšení na 5-10 mm, stává se tuhým, a ovulační papila zaniká. Pohlavní orgány vývodné mají nejvyšší stupeň estrogenizace (Doležel a Kudláč, 1997).

Největší znamení říje nastane, když kráva stojí bez hnutí a nechá na sebe skákat ostatní krávy. Jiné sekundární známky říje zahrnují zvýšenou podrážděnost, nepokoj a bučení. Krávy v estru mohou také vykazovat jasný hlenový výtok z vagíny a začervenalou vulvu (Lawhead and Baker, 2016). Krávy se projevují tím, že jsou neklidné a úzkostné. Někdy může kráva přestat projevovat zájem o krmení a v případě dojnic se může projevit souvisejícím poklesem produkce mléka (Bassert and Thomas, 2014).

3.2.3.3 Metestrus

Tato část pohlavního cyklu tvoří přechod z folikulární (estrogenní) do luteální (progesteronové) fáze. Metestrus následuje po ovulaci (Doležel a Kudláč, 1997).

Po ovulaci se folikul rozpadá a v tomto okamžiku začíná klesat hladina estrogenu. Prudký nárůst LH stimuluje buňky folikulární stěny, aby se vyvinulo žluté tělísko. Buňky, které ho lemují, začínají produkovat progesteron. Ten stimuluje dělohu, aby se připravila na výživu embrya (Lawhead and Baker, 2016).

V tomto období mizí zarůžovění a otok vulvy, kožní kresba je opět zřetelná (Kudláč a Elečko, 1987). Zevně to můžeme také zjistit tím, že 2-3 dny po ovulaci dojde ke krvavě hlenovitému výtoku z pochvy (Doležel a Kudláč, 1997).

3.2.3.4 Diestrus

Toto období můžeme označit jako sekreční nebo klidové, ve kterém jsou genitálie připraveny na graviditu (Doležel a Kudláč, 1997).

V současné době produkuje CL během diestru velké množství progesteronu, který stimuluje růst výstelky dělohy a poskytuje potřebné prostředí pro přežití embrya (Lawhead and Baker, 2016). Pokud dojde k oplození, nedochází k zániku žlutého tělíska, ale přetrvává. Na zevnějšku nepozorujeme žádné typické příznaky (Doležel et Kudláč, 1997).

3.2.4 Oplození

Oplození neboli fertilizace znamená spojení samčí a samičí buňky (gamety) za vzniku jedné buňky, která se nazývá zygota (McGeady et al., 2012). Během páření býk ejakuluje několik miliard spermií do přední části vagíny krávy. Vzhledem k tomu, že je děložní krček hlavní překážkou jejich transportu, počet spermií, které nakonec dosáhnou děložního těla, obvykle nepřesahuje 1 % (López-Gatius, 2000). Oplození probíhá v kraniální části vejcovodu

v ampuli. Aby byla spermie schopná oplození, musí nejprve projít biochemickou a fyziologickou změnou v samičím reprodukčním traktu, mezi které patří kapacitace, hyperaktivace a akrozomální reakce (McGeady et al., 2012).

Když dochází k oplození, je potřeba deponovat spermie při přirozené plemenitbě do kraniální části pochvy a při inseminaci se sperma zavádí do poslední části děložního krčku nebo na začátek děložního těla. Délka života spermie po zavedení do samičího reprodukčního aparátu, ať už inseminací či přirozeně, je přibližně 12-24 hodin (Hoard's Dairyman, 1996).

Při kapacitaci dochází k dozrávání spermií a stávají se z nich oplození schopné buňky (Frandsen et al., 2009). Tento proces také zahrnuje odstranění nebo změnu inhibičních faktorů pocházejících ze semenné plazmy, která obklopuje spermie. Kapacitace začíná v děloze a je dokončena v isthmické části (zúženina) vejcovodu, kde jsou spermie seskupeny v rezervoáru (McGeady et al., 2012). Potřebný čas pro kapacitaci ejakulovaných spermií je odhadován přibližně na 6 hodin (Hafez, 2000).

Hyperaktivace spermií, která nastává po kapacitaci, je charakteristická zvýšeným pohybem spermií způsobeným zvýšenou amplitudou úderů bičíku (Schmidt and Kamp, 2004). Uspadňuje jejich průchod vejcovodem a poskytuje jim potřebnou sílu k vyhledání a proniknutí do buněčných vrstev vajíčka. Spermie se uvolňují z rezervoáru postupně, jejich výraznější uvolňování nastává tehdy, když dojde k ovulaci (McGeady et al., 2012).

Akrozomální reakce je zahájena ve chvíli, kdy se spermie dostane k vajíčku. První krok vlastního oplození je penetrace (průnik) spermie zónou pellucidou, která nastává během 5 až 15 minut po přichycení spermií na vajíčko. Dojde k uvolnění enzymů z akrozomálního váčku, které způsobí rozrušení corony radiaty a zóny pellucidy. Spermie se tak dostává do kontaktu s membránou vajíčka (Hafez, 2000). Pouze jedna spermie pronikne membránou vajíčka a dojde ke spojení dvou jader (spermie a vajíčka) (Hoard's Dairyman, 1996).

Z výše uvedeného vyplývá, že ideální čas pro zabřeznutí je krátce před či těsně po skončení říje. Když je detekována kráva v říji ráno, musí být zajištěno připuštění stejný den odpoledne, a když večer či v noci, zapouští se následující ráno (Hoard's Dairyman, 1996).

3.3 Přirozená plemenitba

Přestože se tato bakalářská práce zabývá inseminací, je potřeba zmínit i přirozenou plemenitbu, která se v dnešní době využívá minoritně a převážně u masného skotu neboli krav bez tržní produkce mléka. V systému chovu masného skotu jsou krávy zapouštěny býkem, který je zařazený do stáda. Chovatel musí evidovat dobu zařazení ke kravám a dobu přítomnosti býka ve stádě proto, aby mohl po narození telat určit jejich původ (Louda a kol., 2007).

Další možností přirozené plemenitby je připouštění z ruky, kdy je kráva fixována v připouštědle a plemenný býk je ošetřovatelem přiveden k plemenci a zapustí ji, tento způsob se provádí ojediněle v malých stádech. Pro běžnou praxi se nedoporučuje (Louda a kol., 2007).

U krav bez tržní produkce mléka se v praxi často využívá kombinace inseminace a přirozené plemenitby. Primárně se použije inseminace, a aby došlo ke zvýšení procenta zabřezlých plemenic, jako druhá možnost se využije přirozené připouštění (Zahrádková a kol., 2009).

3.4 Inseminace (UI)

Mezi jednu z nejpokrokovějších metod šlechtění skotu a kontroly reprodukčního procesu se řadí inseminace. Jedná se i o jednu z nejčastěji používaných metod oplození u skotu a jiných hospodářských zvířat (Ball and Peters, 2004).

Mezi hlavní důvody využívání této metody patří ekonomický fakt, kdy není potřeba chovat příliš mnoho býků a přepravit inseminační dávku je snazší než býka přepravit, a další výhodou je, že od geneticky kvalitního býka můžeme získat více potomků, než je tomu u přirozené plemenitby. K tomu také přispělo uchování zmrazeného spermatu i po několik let, kdy můžeme počkat, až dojde ke kontrole dosažení zamýšlené užitkovosti (např. doživost mléka a produkce masa) a případně použít sperma za několik let (Ball and Peters, 2004).

Mezi další výhody ve srovnání s přirozenou plemenitbou se řadí eliminace pohlavních chorob, přesnější datum zaprahnutí, zvýšená bezpečnost pro chovatele a větší genetické zlepšení nově narozených jaloviček, které jsou produktivnější a ziskovější (Lima et al., 2010).

Pro efektivní řízení produkce mléka je důležitá včasná inseminace krav po porodu. Optimální načasování inseminace ve vztahu k ovulaci je důležité proto, aby kráva zabřezla a nedocházelo k přebíhání. Hlavní překážkou v praxi je co nejpřesněji predikovat ovulaci, s tím souvisí špatná detekce estru, která výrazně zhoršuje reprodukční výkonnost a ziskovost laktujících dojnic (LeRoy et al., 2018). Jednou z možností, jak správně určit říji, je buď vizuální

detekce nebo rektální vyšetření palpací nebo sonograficky. Dalším rizikem pro chovatele je zvolení správného inseminačního technika, protože ne každý je šetrný ke kravám a jejich pohlavnímu aparátu, a ne každý umí správně krávu vyšetřit a detekovat říji. K inseminaci by mělo dojít do 12 hodin po zjištění říje (López-Gatius and Hunter, 2017).

Místo depozice spermatu je dalším důležitým faktorem úspěchu inseminace skotu (Dalton et al., 1999). Ve 40. letech 20. století byla vaginální nebo mělká cervikální inseminace prováděná pomocí vaginálního zrcátka nahrazena hlubokou cervikální nebo intrauterinní inseminací, která zahrnuje techniku cervikální fixace přes konečník. Tato metoda se ukázala být účinnější a technika byla rychle přijata jako standardní metoda UI. Později další studie ukázala, že ukládání spermií až do děložního těla dosahovalo vyšší plodnosti, proto se dnes při inseminaci sperma obvykle ukládá přímo do děložního těla, čímž dochází k překonání děložního čípku a umožňuje použití výrazně nižšího počtu spermií (López-Gatius, 2000).

3.4.1 Časovaná inseminace

Detekce estru a správné načasování inseminace představují hlavní problémy omezující reprodukční činnost stád dojeného skotu (Larson and Ball, 1992). Vzhledem k této problematice je hlavní pozornost věnována tomu, aby se tyto dvě složky v managementu reprodukce zlepšovaly (Thatcher et al., 2002).

Efektivní detekce říje je důležitá pro lepší reprodukci. Tradiční metoda pro odhalení říje je vizuální pozorování, což je časově a pracovně náročný proces. Je těžké pracovníky naučit správnou detekci říje, která by nepodléhala chybám. Díky technickému pokroku je možné krávy monitorovat pomocí počítačů a využít automatické pomůcky pro rozpoznání estru (Firk et al., 2002). Avšak ani tyto způsoby detekce nejsou optimální, protože mnoho faktorů zkracuje dobu trvání říje a rovněž oslabuje projevy chování tomu charakteristické (Lopez et al., 2004).

Špatná detekce estru souvisí se ztrátou zisku v důsledku prodloužení mezidobí (počet dnů od jednoho porodu do druhého), ztrátami mléka, veterinárních nákladů apod. K dosažení dobré detekce estru je třeba vzít v úvahu mnoho faktorů. Kráva musí na jedné straně projevit říji a na druhé straně ji musí chovatel odhalit. Je známo, že dědičnost, počet dní po porodu, počet laktací, produkce mléka a zdravotní stav ovlivňují projevy estru. Environmentální faktory, jako je výživa, roční období, ustájení, velikost stáda atd., hrají také důležitou roli v expresi říje (Roelofs et al., 2010). Detekovat zvířata v říji jak vizuálně, tak automaticky je velmi obtížné, proto se začalo uvažovat o tom, jestli by to nešlo načasovat lépe, a proto se neustále vyvíjejí programy pro synchronizaci říje (Giordano et al., 2016; Ricci et al., 2017).

3.4.2 Synchronizace říje

Možností, jak zefektivnit detekci říje, je využití synchronizačních programů. K synchronizaci říje se používají hormonální přípravky, které obsahují syntetický progesteron (P4), analoga prostaglandinů a progestiny (Islam, 2011). Tyto synchronizační programy lze úspěšně aplikovat u krav i jalovic (Odde, 1990). Nabízí se dva základní způsoby, kterými lze dosáhnout synchronizace říje, a to zkracování či prodlužování luteální fáze cyklu (Murugavel et al., 2003).

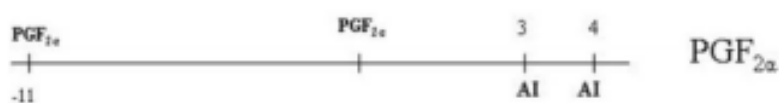
3.4.2.1 Zkracování luteální fáze

Zkracování luteální fáze se docílí podáním přípravků s luteolytickým účinkem. Dojde k regresi CL, snížení hladiny progesteronu a následnému zrychlení růstu a zrání Graafova folikulu (Murugavel et al., 2003).

Použití prostaglandinu $F_{2\alpha}$ a jeho analogů je jednou z nejstarších metod pro synchronizaci říje, v jejímž důsledku dojde k regresi CL (Stötzel et al., 2012). Pro účinek této léčby je důležitá aplikace ve správné fázi, protože fáze estrálního cyklu určuje citlivost žlutého tělíska na $PGF_{2\alpha}$, které reaguje 6.-16. den cyklu. Navíc doba, kdy zvíře dojde do říje, je různá a závisí na folikulárním vývoji. Když se $PGF_{2\alpha}$ aplikuje v době, kdy začíná nová folikulární vlna, trvá mnohem déle než folikul zovuluje a říje se dostaví třeba až za týden. Naopak, když se aplikuje v době růstu folikulu, folikul doroste brzo a říje přichází za 2-3 dny (Skarzynski et al., 2008). Pokud se na vaječnicích zjistí přítomnost funkčního CL, stačí zpravidla jedno použití látky s luteolytickými účinky (Murugavel et al., 2003). Dojnice, které dostaly $PGF_{2\alpha}$ 40 dní po porodu, reagovaly na léčbu z 80 %. Čtyřicet procent z nich vykazovala říji mezi 4. a 6. dnem po aplikaci, 7 % po 10 dnech a více. Březost po první inseminaci se u takto léčených krav prokázala ze 70 %. Dojnice, které dostaly tuto léčbu 50 dní po porodu, vykazovaly říji z 87 %. Z toho 40 % vstoupilo do říje během prvních tří dnů po léčbě, zatímco 3 % reagovalo mezi 7. a 9. den a 10 % po 10 dnech. Krávy, které byly léčené $PGF_{2\alpha}$ 50 dní po porodu, vykazovaly březost ze 75 % (Mujić et al., 2012).

Pokud je $PGF_{2\alpha}$ aplikován bez předešlého vyšetření, doporučuje se dvojitá aplikace v rozmezí 11 až 14 dní od sebe. Podle Murugavel et al. (2003) 14denní interval vede ke zlepšení zabřezávání, protože většina krav se nacházela v pozdní luteální fázi v době podání druhého $PGF_{2\alpha}$ (Murugavel et al., 2003). Lze předpokládat, že se říje dostaví 2 až 5 dní (průměrně 3 dny) po podání. Podíl prvotek (primiparních), které zabřezly po této léčbě,

se pohybuje kolem 82 % a podíl krav po porodu (pluriparních) kolem 85 % (Bülbül and Ataman, 2006).



Obrázek č. 1: Schéma podání dvou injekcí prostaglandinu $F_{2\alpha}$ v 11denním intervalu (Bülbül and Ataman, 2006).

3.4.2.2 Prodlužování luteální fáze

Prodloužení luteální fáze cyklu se dosáhne použitím syntetického progesteronu (P4) nebo progestinů (Islam, 2011). Základem toho je potlačení říje a ovulace tlumením uvolňování LH a zamezením konečného zrání folikulů (Murugavel et al., 2003). Progesteron tlumí uvolňování gonadotropinu, což znamená, že dochází k potlačování zrání folikulů. Využívají-li se k tomuto synchronizačnímu protokolu krávy, které se nacházejí v náhodné fázi estrálního cyklu, je potřeba vybrat takovou léčbu, která časově odpovídá délce luteální fáze, což je 16 dní (Austin et al., 1999).

Selhání synchronizace může způsobit malý nebo žádný účinek vnějšího použití progesteronu na životnost fyziologického CL, a proto v některých případech může toto žluté tělísko přežít ošetření P4 (Austin et al., 1999). Kratší doba používání P4 (7-12 dní) přináší přijatelné výsledky zabřezávání. Tento způsob synchronizace klade důraz na to, aby se začalo s podáním P4 v časně fázi luteálního vývoje, protože by CL mohlo přetrvávat i po dokončení aplikace P4, a proto se obvykle aplikuje luteolytikum za účelem regrese CL. Ke sníženému zabřezávání vede naopak delší doba podání (18-21 dní), které by mohlo být následkem ovulací folikulů, které obsahují přezrálé oocyty. Aby se eliminoval výskyt přirozeného CL, je žádoucí, aby se P4 podával v krátkodobějších léčbách (Ball and Peters, 2004).

Existují preparáty na bázi progesteronu nazývané PRID a CIDR inserty, které jsou komerčně dostupné jako progesteronová intravaginální zařízení. PRID má trojúhelníkový tvar a CIDR je tvaru T (van Werven et al., 2013).

PRID se vkládá do vagíny a může se zde ponechat po dobu až 12 dní. Dvacet čtyři hodin před vyjmutím insertu nebo společně s ním se aplikuje injekce $PGF_{2\alpha}$, jak je znázorněno na obrázku č. 2. Říje se dostaví za 3 až 5 dní po vyjmutí. Po použití insertu PRID zabřezávaly

pluriparní krávy z 91 % a primiparní z 83 % (Bülbül and Ataman, 2006). Ball and Peters (2004) uvádí, že tato léčba je účinná i u acyklických krav.



Obrázek č. 2: Schéma podání PRID (Bülbül and Ataman, 2006).

CIDR insert se zavádí do vagíny na různě dlouho dobu až na 14 dní. Nejčastěji ovšem na 7 dní s tím, že se 24 hodin před vyjmutím nebo současně s ním aplikuje injekce PGF_{2α} (von Krüger et al., 2011). Luteolýza injekcí prostaglandinu v den před odebráním CIDR se ukázala jako účinná (Ball and Peters, 2004). Stevenson (2008) tvrdí, že do 96 hodin po odstranění CIDR se u 91 % jalovic dostavila říje. Von Krüger et al. (2011) použil také metodu CIDR s tím, že u jalovic probíhala inseminace do 4 dnů po léčbě. Výsledkem zabřezávání u těchto jalovic po první UI bylo 84 % (von Krüger et al., 2011). Ve studii Romano and Fahning (2013) srovnávali nástup estru a zabřezávání po vyjmutí CIDR po 7 a 9 dnech u dojnic, kde bylo zjištěno, že u CIDR-7 a u CIDR-9 je nástup estru do pěti dnů 80 % a 88 % a podíl zabřeznutých krav po první inseminaci 51,5 % a 45,5 %, dle uvedeného pořadí. Tato léčba se může použít i v kombinaci se synchronizací ovulace a časovanou inseminací nebo samostatně (Thomas et al., 2014).

3.4.3 Synchronizace ovulace a časovaná inseminace

Kromě synchronizace říje je potřeba řešit i načasování inseminace ve vztahu k ovulaci, proto se začaly rozvíjet další protokoly, které se touto problematikou zabývají, což jsou ty s časovanou inseminací (Campos and Santos, 2015). Principem protokolů upravující dobu ovulace je synchronizace vývoje folikulů, vyvolání regrese CL, poté přichází indukce ovulace a inseminace provedená v dopředu stanoveném časovém horizontu (Roelofs et al., 2010).

Nízká úspěšnost detekce říje vzbuzuje potřebu se bez ní obejít a k tomu slouží předem načasovaná inseminace, která je závislá na načasování ovulace na přesný termín (Ferguson and Galligan, 2000). Protože inseminace probíhá až u 30 % krav v nesprávné fázi pohlavního cyklu i přesto, že prokazovaly viditelné projevy říje, je žádoucí, aby nebyla detekce estru potřebná (Roelofs et al., 2010). Schopnost ovládnutí doby ovulace přesně na období, ve kterém byl vývoj folikulů a regrese CL postupně naprogramován, umožňuje časovanou inseminaci

(Thatcher et al., 2002). Tyto protokoly mají za následek lepší reprodukční výkon, protože všechna zvířata jsou inseminována, ať už vykazují říji nebo ne (Colazo and Mapletoft, 2014).

Je zřejmé, že dynamika folikulárních vln může mít hluboký vliv na účinnost ovulačních synchronizačních programů (Colazo and Mapletoft, 2014). Z tohoto důvodu je potřeba protokol začít 5.-12. den cyklu, protože dominantní folikul je cílem pro první injekci GnRH při časované inseminaci. V počátečních stádiích cyklu (2. až 4. den) není vybraný dominantní folikul dostatečně vyvinutý pro ovulaci v odpovědi na GnRH. V důsledku toho je dominantní folikul při druhé injekci GnRH považován za stárnoucí a vykazuje dominanci po dobu 5 dnů nebo déle (Austin et al., 1999). Špatná doba pro zahájení programu je i 13. až 17. den cyklu, ve kterém dochází k spontánní regresi CL (Thatcher et al., 2002).

Protokoly synchronizující ovulaci využívají preparáty na bázi GnRH, prostaglandinu $F_{2\alpha}$, progesteronu, případně estradiolu (Thatcher et al., 2001). Od října 2006 je však používání 17-beta-estradiolu a jeho příbuzných esterových derivátů v chovech určených k produkci potravin v Evropské unii zakázáno (Lane et al., 2008).

Tyto programy jsou nezbytné u vysoce produkčních dojnic (Thatcher et al., 2002). Různá uzpůsobení této technologie se nyní v celosvětovém měřítku používá v odvětví masného a mléčného skotu (Wiltbank and Pursley, 2014). Základním programem synchronizující ovulaci je Ovsynch (Pursley et al., 1995), ale neustále se i vyvíjí jeho různé modifikace např. Presynch, Resynch, Cosynch atd., které zvyšují míru synchronizace a zabřezávání jalovic a krav (Meyer et al., 2007; Silva et al., 2007; Sterry et al., 2006).

3.4.4 Ovsynch

Protokoly s časovanou UI používají injekce $PGF_{2\alpha}$ a GnRH k synchronizaci ovulace (Meyer et al., 2007). Tyto protokoly se můžou provádět pouze u cyklujících zvířat, protože je nutností přítomnost dominantního folikulu (Stevenson, 2016). Jeden ze základních hormonálních protokolů synchronizujících ovulaci je Ovsynch protokol, který umožňuje provádět umělé oplodnění v přesném optimálním čase bez kontroly vaječnicků a dělohy. Použití takových protokolů v reprodukčním řízení umožňuje synchronizovat estrální cykly a účinně inseminovat krávy bez detekce říje. Během dvaceti let od svého prvního provedení byla aplikace Ovsynch mnohokrát upravena, aby se zlepšily reprodukční výsledky a umožnilo se širší využití tohoto programu (Nowicki et al., 2017).

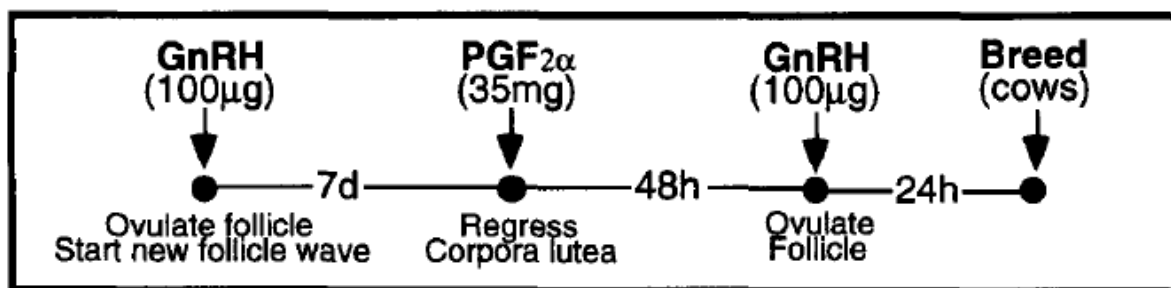
Základem Ovsynch protokolů je aplikace tří injekcí (GnRH, $PGF_{2\alpha}$, GnRH). Ovulační odpověď na první injekci GnRH je rozhodujícím faktorem celkového výsledku synchronizace.

(Bello et al., 2006). Je však třeba si uvědomit, že pokud se tento protokol používá pro všechny krávy stejně, aniž by každá z nich podstoupila předchozí gynekologické vyšetření, nemusí některá z nich reagovat kvůli nezjištěným reprodukčním poruchám, jako je anestrus, ovariální cysty nebo endometritida (Opsomer et al., 2000).

První zmínky o jeho použití mají původ v Americe. Pursley et al. (1995) navrhli tento postup k tomu, aby se zvýšilo procento zabřeznutých krav a nemuselo docházet k detekci říje.

První Ovsynch protokol podle Pursley et al. (1995)

Synchronizační režim používající $\text{PGF}_{2\alpha}$ a GnRH byl testován u laktujících dojnic a jalovic. Protokol se skládal z počáteční intramuskulární injekce GnRH v náhodném stádiu estrálního cyklu. Bylo předpokládáno, že buď injekce způsobí ovulaci dominantního folikulu, čímž dojde k zahájení nové folikulární vlny, nebo by byla injekčně aplikována během estru v době, kdy se spontánně vytvářela nová folikulární vlna. O sedm dní později byl intramuskulárně aplikován $\text{PGF}_{2\alpha}$, aby došlo k regresi CL. Jestliže by CL vzniklo po počáteční injekci GnRH, měl by sedmidenní interval poskytnout dostatek času, aby CL mohlo dozrát a bylo schopno reagovat na $\text{PGF}_{2\alpha}$. O 48 hodin později dostaly krávy druhou injekci GnRH k ovulaci nového dominantního folikulu. Doba mezi první a druhou injekcí GnRH by měla stačit k tomu, aby vznikl nový folikul, dorostl do preovulační velikosti a byl vnímavý na indukovaný nárůst LH (Pursley et al., 1995).



Obrázek č. 3: Popis časování a hypotetického účinku pro každou z injekcí používaných k synchronizaci ovulace u dojnic. Na injekci GnRH by měl folikul zovulovat a měla by začít nová folikulární vlna. O sedm dní později se aplikoval $\text{PGF}_{2\alpha}$, kdy by mělo dojít k regresi žlutého tělíska, za 48 hodin byla použita druhá injekce GnRH, po které by měl ovulovat další folikul a 24 hodin poté došlo k inseminaci (Pursley et al., 1995).

Pursley et al. (1995) ve své práci popisuje dva experimenty. V prvním experimentu bylo cílem zjistit, zda ovulace může být synchronizována a pozorovat změny v morfologii vaječnicků

u laktujících krav. Bylo využito 18 dojnic holštýnského skotu a 2 laktující krávy plemene Brown Swiss v rozmezí od 36. do 280. dne po porodu. Všechny krávy byly dojeny dvakrát denně a byly inseminovány 24 hodin po druhé injekci GnRH, jak je uvedeno na obr. 3 (Pursley et al., 1995).

Na první injekci GnRH reagovalo 18 z 20 krav ovulací dominantního folikulu, který v průměru dosahoval $14,21 \pm 0,75$ mm. Díky injekce GnRH se objevila u těchto krav nová folikulární vlna o cca 2,5 dne později, v rozmezí od 2. do 4. dne od aplikace. Dvě krávy, které nereagovaly ovulací folikulu na počáteční injekci GnRH, začaly novou folikulární vlnu spontánně v 0. a 1. den od aplikace. Jejich největší rostoucí folikuly v den injekce GnRH byly 7 mm a 5 mm. Průměrný den vzniku nové folikulární vlny u všech krav byl $2,1 \pm 0,31$ dne po injekci GnRH (Pursley et al., 1995).

Ve druhém experimentu Pursley et al. (1995) řeší, jak je to s Ovsynch protokolem u jalovic. Za účelem vyhodnocení použití GnRH a PGF_{2α} pro synchronizaci ovulace u jalovic se ve studii použilo 24 holštýnských jalovic ve věku 14 až 16 měsíců. Všechny jalovice byly podrobeny synchronizačnímu protokolu popsanému na obr. 1 s tím, že druhá injekce GnRH byla podána 24 hodin po PGF_{2α}, protože bylo zjištěno, že některé jalovice můžou začít s estrem po 36 hodinách po podání luteolytické dávky PGF_{2α} (Pursley et al., 1995).

Výsledkem tohoto experimentu bylo, že 13 z 24 jalovic reagovalo na první injekci GnRH ovulací dominantního folikulu, který měl v průměru přibližně 15,2 mm. Den vzniku byl měřen v subpopulaci dvanácti jalovic. Ovulace se vyskytla u 8/12 jalovic a u těchto 8 jalovic se objevila nová folikulární vlna přibližně 2,5 po GnRH v rozmezí 2 až 4 dny od aplikace. Průměrný den výskytu ovulace u všech jalovic v subpopulaci byl $1,5 \pm 0,47$ dne od injekce GnRH (Pursley et al., 1995).

Pursley et al. (1995) v tomto protokolu navrhli jako první injekci GnRH, aby došlo k ovulaci a zvýšila se pravděpodobnost velkého rostoucího folikulu v době injekce PGF_{2α}. Injekce byla úspěšná při synchronizaci nové folikulární vlny, zvláště u těch zvířat, která ovulovala folikul po injekci GnRH. Překvapivě vysoké procento laktujících krav (až 90 %) v náhodném stádiu estrálního cyklu a naproti tomu pouze cca 50 % jalovic po této první injekci GnRH ovulovalo (Pursley et al., 1995).

Ve třetím experimentu Pursley et al. (1995) rozdělili 66 dojnic do tří skupin, aby předběžně stanovili flexibilitu načasování druhé injekce GnRH vzhledem k předešlé injekci PGF_{2α}. První z nich byla podrobena léčbě znázorněné na obr. 3. Pro zajištění stejného stáří folikulu při přípuštění dostala druhá a třetí skupina injekci PGF_{2α} 8 a 9 dní po první GnRH

a druhá injekce GnRH následovala za 24 nebo 0 hodin po PGF_{2α} v uvedeném pořadí. Všechny skupiny byly připuštěny 20 až 24 hodin po druhé injekce GnRH (Pursley et al., 1995).

V tomto experimentu bylo zjištěno, že první a druhá skupina dosáhla většího počtu zabřezlých krav než skupina třetí. První skupina zabřezla z 55 % a druhá ze 46 %. Naproti tomu třetí skupina měla nejmenší procento zabřezlých krav, a to 11 % (Pursley et al., 1995).

Díky tomuto prvnímu pokusu vytvořit protokol na synchronizaci ovulace se zjistilo, že není stejně účinný pro synchronizaci jalovic a dojníc. V této práci se vyskytlo průkazně nižší procento jalovic, které reagovaly na první injekci GnRH. Používání tohoto protokolu u jalovic tedy není vhodné, pokud se nedosáhne větší synchronizace (Pursley et al., 1995).

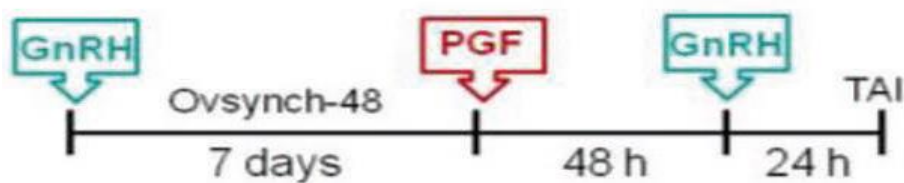
Bohužel tato jednoduchá metoda založená na dvou aplikacích GnRH a jedné PGF_{2α} nevytvářela ani perfektní synchronizaci všech krav. Proto se na základě tohoto protokolu vyvíjely další, které měly jiné načasování a byly úspěšnější. Dnes se nejvyužívanější z nich skládá z injekce GnRH, o 7 dní později injekce PGF_{2α}, 48 nebo 56 hodin poté druhá injekce GnRH a krávy jsou inseminovány 16-20 hodin po druhé injekci GnRH. Tento systém synchronizuje dozrávání folikulů s regresí CL před GnRH indukovanou ovulací a časovanou inseminací (Thatcher et al., 2002).

Provedení časované UI 32 hodin po druhé injekci GnRH v programu Ovsynch vedlo ke snížení plodnosti ve srovnání s časovanou UI prováděnou od 0 do 24 hodin po druhé injekci GnRH. Nejlepší výsledky zabřezávání přinesl 16hodinový interval od druhé injekce GnRH k inseminaci. Často je obtížné tento časový rozestup realizovat v terénních podmínkách, zvláště u hospodářství s programem dojení třikrát denně (Sterry et al., 2007). Interval 0 hodin přináší míru březosti 48 %, 12 hodin 47 % a 24 hodin 52 % (Bayril and Yilmaz, 2012).

3.4.4.1 Ovsynch48

Protokol Ovsynch48, který je vyobrazen na obr. 4, je zahájen injekcí GnRH, po níž následuje injekce PGF_{2α} o 7 dní později, poslední injekce GnRH po dalších 48 hodinách a časovaná inseminace probíhá přibližně po 16-20 hodinách (Akhtar et al., 2013).

Cordoba and Fricke (2001) v jejich výzkumu tvrdí, že pomocí tohoto protokolu došlo k synchronizaci 82 % krav a 50 % z nich zabřezlo. Forro et al. (2012) naproti tomu uvádí, že bylo březích pouze 44 %. Ahmed et al. (2016) zahájili ošetření Ovsynch48 6 dní po estru a říje se dostavila u všech krav přibližně po 48 hodinách od injekce PGF_{2α}. Podíl zabřezlých krav se pohyboval kolem 60 % (Ahmed et al., 2016). Gordon et al. (2010) zjistili, že jalovice prokazují vyšší březost oproti laktujícím kravám (66 % vs. 43 %).

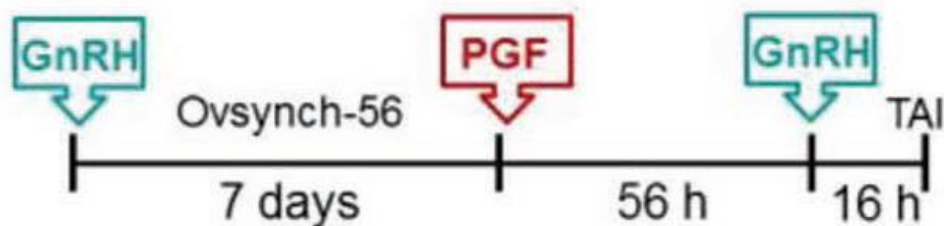


Obrázek č. 4: Schéma protokolu Ovsynch48 (Stevenson, 2016).

3.4.4.2 Ovsynch56

V protokolu Ovsynch56 se začne aplikací GnRH, o 7 dní později se aplikuje injekce $\text{PGF}_{2\alpha}$, druhá injekce GnRH se podá 56 hodin po $\text{PGF}_{2\alpha}$ a následuje UI cca o 16-20 hodin později, jak znázorňuje obr. 5 (Carvalho et al., 2014).

Samostatná léčba Ovsynch56 přináší 88 % synchronizaci a 42 % březost (Yilmazbas-Mecitoglu et al., 2014). Naproti tomu Keskin et al. (2010) ve svém výzkumu uvádí, že zabřezlo až 48 % krav.



Obrázek č. 5: Schéma protokolu Ovsynch56 (Stevenson, 2016).

3.4.5 Modifikace Ovsynchu

V průběhu času se začaly za účelem zlepšení efektivity vyvíjet různé modifikace klasického Ovsynch protokolu jako jsou Heatsynch, Cosynch, progesteronové inserty a další (Sterry et al., 2007).

Pod názvem Heatsynch bylo u jalovic a laktujících krav popsáno nahrazení druhé GnRH injekce v Ovsynch protokolu za estrogenní sloučeninu estradiol-ciprionát (ECP), který byl aplikován po 24 hodinách po $\text{PGF}_{2\alpha}$ a po 48 hodinách následovala časovaná UI. Mírou zabřezávání se léčby Ovsynch a Heatsynch celkově nelišily (Lane et al., 2008). Yusuf et al. (2016) uvádí, že vyvolání estru u jalovic bylo téměř 95 % a po inseminaci zabřezlo 46 % z nich. U jalovic je tento protokol účinnější než u krav. Březost po Heatsynch protokolu

je výrazně ovlivněna ročním obdobím, která je v letním období nižší až o 20 % než v chladné části roku (Shabankareh et al., 2010).

Ve snaze ulehčit manipulaci s krávami se vyvinula modifikace protokolu Ovsynch, která dostala název Cosynch. U toho byl postup stejný jako u Ovsynchu s tím rozdílem, že s druhou injekcí GnRH současně proběhla inseminace, což eliminovalo jednu manipulaci s krávami (Lane et al., 2008). Portaluppi and Stevenson (2005) zkoumali podíl zabřezávání, když bude odlišná doba po PGF_{2α} do podání druhé injekce GnRH s inseminací. Inseminace probíhající s podáním GnRH po 72 hodinách měla 31 % úspěch a po 48 hodin 23 % (Portaluppi and Stevenson, 2005). Nicméně, Sterry et kol. (2007) prokázali, že na míru zabřezávání nemá zřetelný vliv 48 (29 %) nebo 72 (33 %) hodinový interval mezi aplikací PGF_{2α} a následující injekcí GnRH s inseminací.

Určitou alternativou ke zlepšení synchronizace bez prodloužení programů časované UI je doplňování progesteronu během protokolu. Použití intravaginálních zařízení (CIDR a PRID) pro řízené uvolňování progesteronu z GnRH na PGF_{2α} injekce udržují koncentrace progesteronu v krvi, které zabraňují předčasnému estru, nárůstu hladiny LH a ovulaci. Použití doplňkového progesteronu namísto presynchronizace může být obzvláště lákavé pro protokoly se sníženým intervalem folikulární dominance, neboť obrat folikulů a stárnutí oocyty mohou být v těchto programech méně důležité (Ribeiro et al., 2012). Když se CIDR zavedl na dobu sedmi dní v den, kdy se v Ovsynch protokolu aplikovala první injekce GnRH, krávy vykazovaly březost ze 49 %. Druhou možností bylo zavedení CIDR o den později, než proběhla první injekce GnRH a výsledkem byla také 49 % březost (Yilmazbas-Mecitoglu et al., 2014). Pursley et al. (1995) poznamenali, že anovulační krávy vybavené CIDR insertem v období mezi podáním GnRH a PGF_{2α} v Ovsynch protokolu vykazovaly vyšší březost (55 %) než anovulační krávy podrobené Ovsynchu bez CIDR (35 %). Murugavel et al. (2003) uvádí, že kombinace PRID a Ovsynch poskytla vyšší podíl březosti u krav s nízkými hladinami progesteronu, zatímco u krav s vyššími hladinami progesteronu nedošlo k žádnému účinku. Jinými slovy, použití přípravku PRID s přípravkem Ovsynch účinněji ošetřilo krávy v anestrech a mohlo vyvolat ovulaci u těchto zvířat. Podíl krav, které zabřezly po léčbě Ovsynch56 s PRID insertem, byl 53 % (Murugavel et al., 2003).

3.4.6 Presynchronizační protokoly

Nejprve bylo zjištěno, že výsledky zabřezávání krav po otelení na první inseminaci mohou být zlepšeny, když budou před zahájením programu časované UI v určitých stádiích

estrálního cyklu. Krávy, u kterých se začalo s programem časované UI v 5. až 12. dni estrálního cyklu, měly větší ovulační odezvu na podávání GnRH a prokazovaly větší plodnost než krávy v jiných stádiích cyklu (Larson, 2016). Proto byl vyvinut program definovaný jako Presynch-Ovsynch, v němž se presynchronizace dosáhne standardními presynchronizačními protokoly a po něm následuje program Ovsynch. Tato stimulace zapříčinila to, že Ovsynch protokol je zahájen v nejpříznivějším stádiu estrálního cyklu (Thatcher et al., 2002).

Presynchronizace estrálního cyklu dojníc a jalovic byla docílena dvěma injekcemi $\text{PGF}_{2\alpha}$ nebo kombinací GnRH a $\text{PGF}_{2\alpha}$ a zvyšuje podíl krav iniciující protokol časované UI v časném diestru. Navíc začlenění GnRH do presynchronizačních protokolů indukuje estrální cyklicitu u neovulujících krav (Ribeiro et al., 2012). Použití protokolu Presynch-Ovsynch účinně synchronizuje ovulaci pro první časovanou inseminaci po porodu. V USA byla tato kombinace farmáři široce přijata, kdy ji zhruba 75 % z nich používá (Sterry et al., 2007).

3.4.6.1 Presynch-12 a její obměny

Aby měly Ovsynch protokoly dobré výsledky, bylo třeba, aby první injekce GnRH byla podána mezi 5. a 12. dnem cyklu. Toho se docílilo dvěma injekcemi $\text{PGF}_{2\alpha}$, které byly podány 14 dní od sebe a následně po druhé aplikaci $\text{PGF}_{2\alpha}$ byl zahájen program časové inseminace 12 dní (Presynch-12), jak je znázorněno na obrázku 6. Byly aplikovány různé obměny standardního přípravku Presynch (např. Presynch-14, Presynch-11 a Presynch-10), kde byly 2 injekce $\text{PGF}_{2\alpha}$ trvale podávány 14 dnů od sebe, avšak interval od poslední injekce do nástupu programu časované UI byl buď 14, 11 nebo 10 dní, což je vyobrazeno na obrázku 6 (Larson, 2016). Tento způsob presynchronizace se doporučuje u cyklických krav, protože u necyklických krav není přítomno CL, které reaguje na $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Pfeifer et al., 2009).

V téměř všech publikovaných studiích tyto systémy Presynch vylepšily výsledky zabřezávání u krav oproti těm, které byly v programu časované UI v náhodných fázích estru bez Presynchu. Celkově laktující dojnice zařazené do programu Presynch $\text{PGF}_{2\alpha}$ pro presynchronizaci mají o 42 % vyšší pravděpodobnost zabřeznutí ve srovnání s krávami, které jsou zařazené pouze do programu Ovsynch. Hlavním omezením těchto programů je jejich neschopnost zlepšit plodnost u neovulujících krav, tj. u těch, u kterých od otelení nenastal estrální cyklus, což může představovat až 41 % dojníc (Larson, 2016). Dalším omezením je i nedostatečně přesná synchronizace folikulární a luteální fáze a odchylka v načasování ovulace (Souza et al., 2008).

U těchto protokolů záleží na době po porodu, kdy se s nimi začíná (El-Tarabany, 2017). El-Tarabany (2017) zjistil, že zabřezávání a březost se významně zvýšila ve skupině Presynch z 27 % a 19 % v období, kdy inseminace proběhla do 50 dnů po porodu, na 36 % a 29 % u krav, které byly inseminovány v 51-65 dni po porodu. Galvão et al. (2007) zjistili, že Presynch-11 byl účinnější než Presynch-14. Toto zlepšení bylo pravděpodobně způsobeno vyšším podílem krav, které ovulují v reakci na první léčbu GnRH po Presynch-11 ve srovnání s Presynch-14. Snížení intervalu mezi druhou injekcí PGF_{2α} (Presynch) a první GnRH (Ovsynch) ze 14 na 11 dní zvýšilo procento krav ovulujících na první GnRH ze 45 % na 61 % a následně i březost ze 34 % na 41 % (Galvão et al., 2007). Stevenson (2016) naproti tomu uvádí, že po Presynch-11 je podíl zabřezlých krav pouze 35 %. Gordon et al. (2010) zjistili, že po Presynch-14 je podíl březích jalovic 59 % a zabřezlých dojníc 48 %. Podle El-Zarkouny et al. (2004) zvýšil Presynch-12 zabřezávání z 38 %, což bylo u klasického Ovsynch protokolu, na 47 %.

3.4.6.2 Double-Ovsynch (DOv)

System DOv zahrnuje léčbu injekcí GnRH a o 7 dní později injekcí PGF_{2α}, jak je vidět na obr. 6. Poté následuje za 3 dny druhá injekce GnRH, která už je součástí protokolu Ovsynch (Astiz and Fargas, 2013). Herlihy et al. (2012) zjistili, že tímto protokolem se u neovulujících krav docílí zlepšení jejich cyklicity. Souza et al. (2008) uvádí, že tento protokol je vhodný i pro první inseminaci po porodu.

Tento postup, který trvá 28 dní od presynchronizace k časované UI, vede k zabřezávání cca 50 % krav po první inseminaci (Astiz and Fargas, 2013). Astiz and Fargas (2013) uvádí, že protokol DOv vykazuje vyšší procento zabřezávání u prvotek (průměrně 44 %) než u pluriparních krav (průměrně 31 %). Souza et al. (2008) v první studii DOv uvádí, že se březost prokazovala u 65 % primiparních a pouze u 38 % pluriparních, proto je tento protokol doporučován provádět spíše u jalovic.

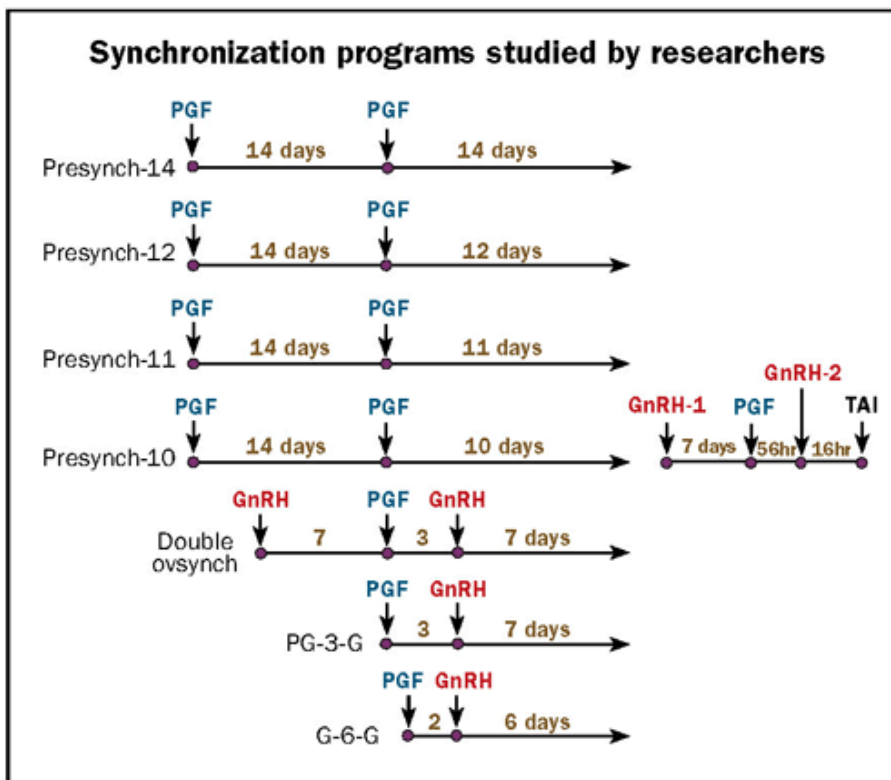
3.4.6.3 G-6-G

G-6-G protokol zahajuje presynchronizací s injekcí PGF_{2α} a o 2 dny později se podává injekce GnRH, jak je znázorněno na obr. 6. Za dalších 6 dní se začne s první GnRH injekcí spadající pod Ovsynch protokol, který je následně dokončen (Astiz and Fargas, 2013).

Celý proces trvá 18 dní od presynchronizace k časované UI. Úspěšnost G-6-G protokolu byla u jalovic i dojníc podobná, a to 35 ± 9 % (Astiz and Fargas, 2013). Bello et al. (2006) uvádí, že březost byla prokázána po G-6-G s Ovsynch protokolem u 50 % krav.

3.4.6.4 PG-3-G

V tomto protokolu je podána první injekce $\text{PGF}_{2\alpha}$ 3 dny před aplikací GnRH a od injekce GnRH následuje za 7 dní program Ovsynch, jak je vyobrazeno na obr. 6. Přestože koncentrace progesteronu se nelišila mezi ošetřeními před injekcí GnRH, podíl krav s alespoň jedním CL měl tendenci být vyšší u krav s postupem PG-3-G než u krav Presynch-10. Také více krav v programu PG-3-G ovulovalo po GnRH než krávy, které ovulovaly spontánně v protokolu Presynch-10 (Stevenson et al., 2012). Podíl březích krav po časované UI s kombinací protokolu PG-3-G s Ovsynch56 byl 41 % (Stevenson and Pulley, 2012). Naproti tomu Pulley et al. (2015) ve svém výzkumu uvádí, že míra březosti po PG-3-G byla 57 %.



Obrázek č. 6: Schémata různých modifikací presynchronizačních protokolů (<https://hoards.com/article-2395-hoards-dairyman-to-presynch-or-not-to-presynch.html>).

3.4.7 Resynch

Ziskovost mlékárenského průmyslu závisí na reprodukční schopnosti krav, která je daná schopností zabřeznout co nejdříve po otelení. Přestože došlo k nárůstu zabřezávání po první inseminaci díky Presynch a Ovsynch protokolům, podstatná část krav (65-70 %) potřebuje okamžitou reinseminaci. Proto, aby se minimalizovala délka mezidobí, mnohé farmy používají

strategie reprodukčního řízení pro druhou a další UI, které kombinují resynchronizaci ovulace s protokoly typu Ovsynch označované jako Resynch (Wijma et al., 2018).

Za předpokladu, že délka estrálního cyklu trvá 21 ± 2 dny, by zahájení Resynch protokolu 32 ± 3 dny po časované UI mělo zajistit, že první injekce GnRH protokolu Resynch bude dána mezi 8. a 12. dnem estrálního cyklu, což je fáze cyklu, kdy je přítomno CL, což vede k vyššímu zabřezávání při zahájení Ovsynch (Silva et al., 2007). S těmito protokoly se tedy standardně začíná 32 ± 3 dny po první časované inseminaci bez ohledu na stav gravidity. Injekce GnRH Ovsynch protokolu se aplikuje 7 dní před ultrazvukovou diagnózou březosti. V den ultrazvuku se u březích krav v léčbě nepokračuje, naopak u nebřezích se ihned podá injekce PGF_{2α}. Dále se pokračuje druhou injekcí GnRH po 48 nebo 56 hodinách podle druhu protokolu. Následuje časovaná inseminace za 16 až 20 hodin (Giordano et al., 2016).

Když byly krávy podrobeny protokolu Resynch pro druhou a vyšší časovanou inseminaci po porodu, bylo vyšší zabřezávání po UI u prvotetek (36 %) než u pluriparních krav (26 %) (Sterry et al., 2007). Sterry et al. (2006) porovnávali, zda začátek Resynch protokolu po inseminaci ovlivní březost, proto zkoušeli zahájit tento protokol ve 26 nebo 33 dnech, kde byla větší míra březosti u 33 dní po UI a to 39 % vs. 29 % při 26 dnech. Stevenson and Phatak (2010) ve svém výzkumu uvádí, že březost byla 32 %.

Dewey et al. (2010) porovnávali klasický Resynch se dvěma jeho obměnami. U první z nich byla přidána injekce GnRH 7 dní před první injekcí GnRH z klasického Resynch protokolu. U tohoto způsobu Dewey et al. (2010) uvádí zabřezávání ze 34 % oproti klasickému, u kterého uvádí 25 %. Druhá obměna obsahovala navíc insert CIDR, který byl zaveden ve stejný den jako první injekce GnRH klasického Resynch a byl tam ponechán na 7 dní. U tohoto Dewey et al. (2010) uvádí míru zabřezávání 31 %.

4 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo vytvořit přehled o výsledcích synchronizace ovulace a zabřezávání dojníc a jalovic po ošetření různými synchronizačními protokoly s časovanou inseminací. Pokud chce chovatel zavést časovanou inseminaci ve svém stáde, musí k tomu přistoupit z pohledu synchronizace říje a ovulace.

Existuje základní protokol Ovsynch, který se skládá ze zahajující injekce GnRH, po 7 dnech PGF_{2α}, po 48 nebo 56 hodinách druhá GnRH a následné inseminace v časovém horizontu 16-20 hodin po poslední injekci. Rozdílný interval mezi PGF_{2α} a GnRH měl vliv na podíl zabřezávání. U protokolu Ovsynch48 zabřezlo kolem 50 % krav a u Ovsynch56 45 %.

Existují různé modifikace tohoto základního protokolu, které se výrazně neliší ve výsledcích synchronizace a zabřezávání. Ke zlepšení efektivity Ovsynch protokolů byly vyvinuty presynchronizační protokoly, které jsou složeny buď ze dvou injekcí PGF_{2α} nebo z kombinace PGF_{2α} a GnRH. Díky nim dochází k předběžné synchronizaci, která umožňuje začít Ovsynch protokol 5.-12. den cyklu bez kontroly stavu dělohy a vaječníků. Tyto protokoly zvýšily procento březích jalovic a dojníc až o 10 %.

Resynch protokoly slouží k synchronizaci ovulace po předchozí neúspěšné inseminaci, jejichž míra zabřezávání se pohybuje kolem 30 %.

5 Seznam použité literatury

Ahmed, N., Kathiresan, D., Ahmed, F. A., Lalrintluanga, K., Mayengbam, P., Gali, J. M. 2016. Pattern of induced estrus and conception rate following Ovsynch and Ovsynch based gonadotropin-releasing hormone treatments initiated on day 6 of estrous cycle in repeat breeding crossbred cows. *Veterinary World*. 9 (4). 342-345.

Akers, R. M., Denbow, D. M. 2013. *Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. John Wiley & Sons. p. 704. ISBN: 9781118688601.

Akhtar, M. S., Ullah, S., Farooq, A. A., Ayaz, M.M., Murtaza, S., Arshad, M., Hussain, I., Hussain, M. 2013. Pregnancy Rate in Lactating Buffaloes Treated with or without Estradiol after Estrus Synchronization Protocols at Timed AI. *Buffalo Bulletin*. 32 (2). 366-369.

Astiz, S., Fargas, O. 2013. Pregnancy per AI differences between primiparous and multiparous high-yield dairy cows after using Double Ovsynch or G6G synchronization protocols. *Theriogenology*. 79 (7). 1065-1070.

Austin, E. J., Mihm, M., Ryan, M. P., Williams, D. H., Roche, J. F. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *Journal of Animal Science*. 77 (8). 2219–26.

Ball, P. J. H., Peters, A. R. 2004. *Reproduction in cattle*. Blackwell Publishing. Oxford. p. 248. ISBN: 1-4051-1545-9.

Bassett, J. M., Thomas, J. 2014. *McCurnin's Clinical Textbook for Veterinary Technicians*. Elsevier Health Sciences. p. 1496. ISBN: 9780323290845.

Byaril, T., Yilmaz, O. 2012. Effect of timing of artificial insemination after synchronization of ovulation on reproductive performance in Holstein dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*. 45 (2). 411-416.

Bello, N. M., Steibel, J. P., Pursley, J. R. 2006. Optimizing ovulation to First GnRH improved Outcomes to Each Hormonal Injection of Ovsynch in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 89 (9). 3413-3424.

Burda, F. 1986. *Základy živočišné výroby*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 472 s. ISBN: 0700786.

Bülbül, B., Ataman, M. B. 2006. Effect of parity on oestrus synchronization success in cows. *Revue de medecine veterinaire*. 157 (3). 158-162.

Campos, C. C., Santos, R. M. 2015. Conception rate and estrous return detection after TAI in Holstein cows. *Semina: Ciencias Agrarias*. 36. 1945-1954.

Carvalho, P. D., Guenther, J. N., Fuenzalida, M. J., Amundson, M. C., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M. 2014. Presynchronization using a modified Ovsynch protocol or a single gonadotropin-releasing hormone injection 7 d before an Ovsynch-56 protocol for submission of lactating dairy cows to first timed artificial insemination. 97 (10). 6305-6315.

Colazo, M. G., Mapletoft, R. J. 2014. A review of current timed-AI (TAI) programs for beef and dairy cattle. *The Canadian veterinary journal*. 55 (8). 772-80.

Cordoba, M. C., Fricke, P. M. 2001. Evaluation of Two Hormonal Protocols for Synchronization of Ovulation and Timed Artificial Insemination in Dairy Cows Managed in Grazing-Based Dairies. *Journal of Dairy Science*. 84 (12). 2700-2708.

Coticchio, G., Albertini, D. F., Santis, L. D. 2012. *Oogenesis*. Springer Science & Business Media. p. 364. ISBN: 9780857298263.

Dalton, J. C., Nadir, S., Bame, J. H., Saacke, R. G. 1999. Effect of a deep uterine insemination on spermatozoal accessibility to the ovum in cattle: A competitive insemination study. *Theriogenology*. 51 (5). 883-890.

Dewey, S. T., Mendonca, L. G. D., Lopes Jr., G., Rivera, F. A., Guagnini, F., Chebel, R. C., Bilby, T. R. 2010. Resynchronization strategies to improve fertility in lactating dairy cows utilizing a presynchronization injection of GnRH or supplemental progesterone: I. Pregnancy rates and ovarian responses. *Journal of Dairy Science*. 93 (9). 4086-4095.

Doležel, R., Kudláč, E. a kol. 1997. *Veterinární gynekologie*. Veterinární a farmaceutická univerzita. Brno. 144 s. ISBN: 8085114046.

Dylevský, I. 2009. *Funkční anatomie*. Grada publishing a.s. Praha. 532 s. ISBN: 9788024732404.

El-Tarabany, M. S. 2017. Impact of days in milk at the initiation of ovulation synchronization protocols on the efficiency of first AI in multiparous Holstein cows. *Animal Reproduction Science*. 182. 104-110.

El-Zarkouny, S. Z., Cartmill, J. A., Hensley, B.A., Stevenson, J.S. 2004. Presynchronization of estrous cycles before Ovsynch and progesterone in dairy cows: Ovulation, pregnancy rates, and embryo survival. *Journal of Dairy Science*. 87. 1024–1037.

El-Zarkouny, S. Z., Cartmill, J. A., Hensley, B. A., Stevenson, J. S. 2004. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. *Journal of Dairy Science*. 87 (4). 1024–1037.

Ferguson, J. D., Galligan, D. T. 2000. Assessment of reproductive efficiency in dairy herds. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*. 22 (11). 150-159.

Ferin, M., Jewelewicz, R. 1993. *The Menstrual Cycle: Physiology, Reproductive, Disorders, and Infertility*. Oxford University Press. Oxford. P. 250. ISBN: 9780195061932.

Firk, R., Stamer, E., Junge, W., Krieter, J. 2002. Automation of oestrus detection in dairy cows: a review. *Livestock Production Science*. 75 (3). 219–232.

- Forro, A., Tsousis, G., Beindorff, N., Sharifi, R., Jäkel, L., Bollwein, H. 2012. Combined use of Ovsynch and progesterone supplementation after artificial insemination in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 95 (8). 4372-4381.
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L., Fails, A. D. 2009. *Anatomy and physiology of farm animals*. Blackwell publishing Iowa. p. 528. ISBN: 9780813813943.
- Galvão, K. N., Sá Filho, M. F., Santos, J. E. 2007. Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 90. 4212–4218.
- Ginther, O. J. 2016. The theory of follicle selection in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*. 57. 85-99.
- Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. R., Kot, K. 1996. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*. 55 (6). 1187–1194.
- Ginther, O. J., Kastelic, J. P., Knopf, L. 1989. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine oestrous cycle. *Animal Reproduction Science*. 20 (3). 187–200.
- Giordano, J. O., Thomas, M. J., Catucuamba, G., Curler, M. D., Masello, M., Stangaferro, M. L., Wijma, R. 2016. Reproductive management strategies to improve the fertility of cows with a suboptimal response to resynchronization of ovulation. *Journal of Dairy Science*. 99 (4). 2967-2978.
- Gordon, M. B., Dinn, N., Rajamanhendran, R. 2010. Effects of presynchronization and postinsemination treatments on pregnancy rates to a timed breeding Ovsynch protocol in dairy cows and heifers. *Canadian Journal of Animal Science*. 90 (1). 35-44.
- Hafez, E. S. E., Hafez. B. 2000. *Reproduction in Farm Animals*, 7th edition. Williams and Wilkins, Lippincott. p. 509. ISBN: 978-1-118-71028-9.
- Herlihy, M. M., Giordano, J. O., Souza, A. H., Ayres, H., Ferreira, R. M., Keskin, A., Nascimento, A. B., Guenther, J. N., Gaska, J. M., Kacuba, S. J., Crowe, M. A., Butler, S. T.,

- Wiltbank, M. C. 2012. Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95 (12). 7003-7014.
- Hoard's Dairyman. 1996. Dairy Cattle Fertility & Sterility. Hoard's Dairyman Books. p. 80. ISBN: 9780932147271.
- Hoard, W. D. 1993. Herd Health. Hoard's Dairyman Books. p. 103. ISBN: 0-932147-18-6.
- Hopper, R. M. 2014. Bovine Reproduction. John Wiley & Sons, Incorporated. p. 819. ISBN: 9781118470855
- Islam, R. 2011. Synchronization of Estrus in Cattle: A Review. *Veterinary World*. 4 (3). 136-141.
- Kastelic, J. P., Knopf, L., Ginther, O. J. 1990. Effect of day of prostaglandin treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Animal Reproduction Science*. 23 (3). 169–180.
- Keskin, A., Yilmazbas-Mecitoglu, G., Gumen, A., Karakaya, E., Darici, R., Okut, H. 2010. Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. *Theriogenology*. 74 (4). 602-607.
- Komárek, V. a kol. 1964. Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 387 s. ISBN: 07-012-64-04-50.
- Kovář, V., Charvát, J., Šarudy, L. 1973. Porodnictví a inseminace. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 273 s. ISBN: 0704273
- Kudláč, E., Elečko, J. 1987. Samičí pohlavní orgány a jejich fyziologie. In: Veterinární porodnictví a gynekologie. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 572 s. ISBN: 0705387

Lane, E. A., Austin, E. J., Crowe, M. A. 2008. Oestrous synchronisation in cattle – Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: A review. *Animal Reproduction Science*. 109 (1-4). 1-16.

Larson, R. L. 2016. *Bovine Theriogenology, An Issue of Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Elsevier Health Sciences. p. 305. ISBN: 9780323448789.

Larson, L. L., Ball, P. J. H. 1992. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology*. 38 (2). 255-267.

Lawhead, J., Baker, M. 2016. *Introduction to Veterinary Science*. Cengage Learning. Boston. p. 448. ISBN: 9781305855489

LeRoy, C. N. S., Walton, J. S., LeBlanc, S. J. 2018. Estrous detection intensity and accuracy and optimal timing of insemination with automated activity monitors for dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 101 (2). 1638-1647.

Lima, F. S., De Vries, A., Risco, C. A., Santos, J. E. P., Thatcher, W. W. 2010. Economic comparison of natural service and timed artificial insemination breeding programs in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 93 (9). 4404-13.

Lopez, H., Satter, L. D., Wiltbank, M. C. 2004. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*. 81 (3-4). 209–223.

López-Gatius, F. 2000. Site of semen deposition in cattle: A review. *Theriogenology*. 53 (7). 1407-1414.

López-Gatius, F., Hunter, R. H. F. 2017. From pre-ovulatory follicle palpation to the challenge of twin pregnancies: Clinical reflections following one million gynaecological examinations in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*. 52 (4). 4-11.

Louda, F. a kol. 2007. *Zásady využívání plemenných býků v podmínkách přirozené plemenitby*. KartoTISK, s.r.o. Šumperk. 43 s. ISBN: 978-80-87144-01-5.

- Mardešić, T. a kol. 2013. Diagnostika a léčba poruch plodnosti. Grada Publishing a.s. Praha. 96 s. ISBN: 9788024788654
- Marvan, F. a kol. 1992. Morfologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita. Praha. 303 s. ISBN: 978-80-213-2188-5
- McGeady, T. A., Quinn, P. J., FitzPatrick, E. S., Ryan, M. T., Cahalan, S. 2012. Veterinary Embryology. John Wiley & Sons, Incorporated. p. 391. ISBN: 9781405111478.
- Meyer, J. P., Radcliff, R. P., Rhoads, M. L., Bader, J. F., Murphy, C. N., Lucy, M. C. 2007. Timed artificial insemination of the consecutive services in dairy cows using prostaglandin $F_{2\alpha}$ and gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Dairy Science*. 90 (2). 691-698.
- Mujić, E., Jotanović, S., Nedić, D., Tešić, M., Šahinović, R., Vekić, M., Vilić, H. 2012. Induction and synchronization of estrus in dairy cows using a single injection of $PGF_{2\alpha}$ and GnRH. *Acta Veterinaria (Beograd)*. 62. 591-598.
- Murugavel, K., Yániz, J. L., Santolaria, P., López-Béjar, M., López-Gatius, F. 2003. Luteal activity at the onset of a timed insemination protocol affects reproductive outcome in early postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 60 (3). 583-593.
- Murugavel, K., Yániz, J. L., Santolaria, P., López-Béjar, M., López-Gatius, F. 2003. Prostaglandin based estrus synchronization in postpartum dairy cows: An update. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 1. 51-65.
- Nowicki, A., Barański, W., Baryczka, A., Janowski, T. 2017. OvSynch protocol and its modifications in the reproduction management of dairy cattle herds – an update. *Journal of Veterinary Research*. 61 (3). 329-336.
- Odde, K. G. 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*. 68. 817-830.

Opsomer, G., Grohn, Y. T., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H., de Kruiff, A. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*. 53 (4). 841–857.

Pfeifer, L. M., Siqueira, L. G. B., Mapletoft, R. J., Kastelic, J. P., Adams, G. P., Colazo, M. G., Singh, J. 2009. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology*. 72 (8). 1054–1064

Polák, L. 1956. Inseminace skotu. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 442 s.

Portaluppi, M. A., Stevenson, J. S. 2005. Pregnancy rates in lactating dairy cows after presynchronization of estrous cycles and variations of the ovsynch protocol. *Journal of Dairy Science*. 88 (3). 914-921.

Pulley, S. L., Keisler, D. H., Stevenson, J. S. 2015. Concentrations of luteinizing hormone and ovulatory responses in dairy cows before timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*. 98 (9). 6188-6201.

Pursley, J. R., Kosorok, M. R., Wiltbank, M. C. 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronisation of ovulation. *Journal of Dairy Science*. 80 (2). 301-306.

Pursley, J. R., Mee, M. O., Wiltbank, M. C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*. 44 (7). 915-923.

Reece, W. O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada Publishing a.s. Praha. 480 s. ISBN: 9788024732724.

Ribeiro, E. S., Bisinotto, R. S., Favoreto, M. G., Martins, L. T., Cerri, R. L. A., Silvestre, F. T., Greco, L. F., Thatcher, W. W., Santos, J. E. P. 2012. Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin F_{2a} as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*. 78 (2). 273–84.

- Ricci, A., Carvalho, P. D., Amundson, M. C., Fricke, P.M. 2017. Characterization of luteal dynamics in lactating Holstein cows for 32 days after synchronization of ovulation and timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*. 100 (12). 9851-9860.
- Roelofs, J., Lopez-Gatius, F., Hunter, R. H. F., van Eerdenburg, F. J. C. M., Hanzen, Ch. 2010. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*. 74 (3). 327-344.
- Romano, J. E., Fahning, M. L. 2013. Comparison between 7 vs 9 days of controlled internal drug release inserts permanency on oestrus performance and fertility in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science*. 12 (3). 390-394.
- Sartori, R., Haughian, J. M., Shaver, R. D., Rosa, G. J. M., Wiltbank, M. C. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 87 (4). 905–920.
- Shabankareh, H. K., Zandi, M., Ganjali, M. 2010. First Service Pregnancy Rates Following Post-AI Use of hCG in Ovsynch and Heatsynch Programmes in Lactating Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*. 45 (4). 711-716.
- Schmidt, H., Kamp, G. 2004. Induced hyperactivity in boar spermatozoa and its evaluation by computer-assisted sperm analysis. *Reproduction*. 128. 171-179.
- Skarzynski, D. J., Ferreira-Dias, G., Okuda, K. 2008. Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: hormonal control, immune mechanisms and intercellular communication. *Reproduction in Domestic Animal*. 43. 57-65.
- Silva, E., Sterry, R. A., Kolb, D., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M. 2007. Effect of pretreatment with prostaglandin F_{2α} before resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 90 (12). 5509-5517.
- Souza, A. H., Ayres, H., Ferreira, R. M., Wiltbank, M. C. 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 70 (2). 208–15.

Sova, Z. 1981. Fyziologie hospodářských zvířat. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 512 s. ISBN: 07-089-81-04/50.

Sterry, R. A., Welle, M. L., Fricke, P. M. 2006. Effect of interval from timed artificial insemination to initiation of resynchronization of ovulation on fertility of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89 (6). 2099-2109.

Sterry, R. A., Jardon, P. W., Fricke, P. M. 2007. Effect of timing of CoSynch on fertility of lactating Holstein cows after first postpartum and Resynch timed-AI services. *Theriogenology*. 67 (7). 1211-1216.

Stevenson, J. S. 2008. Progesterone, follicular, and estrual responses to progesteronebased estrus and ovulation synchronization protocols at five stages of the estrous cycle. *Journal of Dairy Science*. 91 (12). 4640–4650.

Stevenson, J. S. 2016. Ovarian characteristics and timed artificial insemination pregnancy risk after presynchronization with gonadotropin-releasing hormone 7 days before PGF (2 alpha) in dairy cows. *Theriogenology*. 85 (6). 1139-1146.

Stevenson, J. S., Phatak, A. P. 2010. Rates of luteolysis and pregnancy in dairy cows after treatment with cloprostenol or dinoprost. *Theriogenology*. 73 (8). 1127-1138.

Stevenson, J. S., Pulley, S. L. 2012. Pregnancy per artificial insemination after presynchronizing estrous cycles with the Presynch-10 protocol or prostaglandin F-2 alpha injection followed by gonadotropin-releasing hormone before Ovsynch-56 in 4 dairy herds of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95 (11). 6513-6522.

Stevenson, J. S., Pulley, S. L., Mellieon Jr. H. I. 2012. Prostaglandin F2 α and gonadotropin-releasing hormone administration improve progesterone status, luteal number, and proportion of ovular and anovular dairy cows with corpora lutea before a timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*. 95 (4). 1831-1844.

- Stötzel, C., Plöntzke, J., Heuwieser, W., Röblitz, S. 2012. Advances in modeling of the bovine estrous cycle: Synchronization with PGF2 α . *Theriogenology*. 78 (7). 1415-1428.
- Thatcher, W. W., Moreira, F., Santos, J. E. P., Mattos, R. C., Lopes, F. L., Pancarci, S. M., Risco, C.A. 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*. 55 (1). 75-89.
- Thatcher, W. W., Moreira, F., Pancarci, S. M., Bartolome, J. A., Santos, J. E. P. 2002. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domestic Animal Endocrinology*. 23 (1-2). 243–254.
- Thomas, J. M., Poock, S. E., Ellersieck, M. R., Smith, M. F., Patterson, D. J. 2014. Delayed insemination of non-estrous heifers and cows when using conventional semen in timed artificial insemination. *Journal of Animal Science*. 92 (9). p. 4189–4197.
- Urban, F. a kol. 1997. Chov dojeného skotu. APROS. Praha. 289 s. ISBN: 80-901100-7-X.
- Van der Hurk, R., Bevers, M. M., Beckers, J. F. 1997. In-vivo and in-vitro development of preantral follicles. *Theriogenology*. 47 (1). 136-137.
- Van Werven, T., Waldeck, F., Souza, A. H., Floch, S., Englebienne, M. 2013. Comparison of two intravaginal progesterone releasing devices (PRID-Delta vs CIDR) in dairy cows: Blood progesterone profile and field fertility. *Animal Reproduction Science*. 138 (3-4). 143-149.
- Von Krüger, X., Heuwieser, W. 2011. Effect of CIDR® on 4-day-service-rate, pregnancy rate and vaginal irritation in dairy heifers. *Tierärztliche Praxis Großtiere*. 39 (5). 277-280.
- Wijma, R., Pérez, M. M., Masello, M., Stangaferro, M. L., Giordano, J. O. 2018. A resynchronization of ovulation program based on ovarian structures present at nonpregnancy diagnosis reduced time to pregnancy in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 101 (2). 1697-1707.

Wiltbank, M. C., Pursley, J. R. 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*. 81 (1). 170-85.

Yilmazbas-Mecitoglu, G., Karakaya, E., Keskin, A., Gumen, A., Koc, V., Okut, H. 2014. Comparison of synchronization and fertility after different modifications of the Ovsynch protocol in cyclic dairy cows. *Acta Veterinaria Hungarica*. 62 (1). 64-73.

Yusuf, M., Nakao, T., Long, S. T., Fujita, S. 2016. Risk factors influencing conception rate in Holstein heifers before artificial insemination or embryo transfer. *Media Peternakan*. 39 (3). 148-154.

Zahrádková, R. a kol. 2009. Masný skot od A do Z. Český svaz chovatelů masného skotu. Praha. 397 s. ISBN: 978-80-254-4229-6.

Zhang, Z., Zhu, B., Ge, W. 2015. Genetic Analysis of Zebrafish Gonadotropin (FSH and LH) Functions by TALEN-Mediated Gene Disruption. *Molecular Endocrinology*. 29 (1). 76-98.