

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A
PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Diplomová práce na téma

Kontrastrategie proti samčí infanticidě v podobě blokády březosti (Bruce efekt) a možnosti behaviorální strategie udržení březosti u myši domácí

Mus musculus

Autor práce:

Studijní program:

Obor:

Bc. Lukáš Baumann

Zootechnika

Zájmové chovy zvířat

Vedoucí práce:

Garantující pracoviště:

Jazyk práce:

prof. Ing. Luděk Bartoš, DrSc.

Katedra obecné zootechniky a etologie

Čeština

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Lukáš Baumann

Zájmové chovy zvířat

Název práce

Kontrastrategie proti samčí infanticidě v podobě blokády březosti (Bruce efekt) a možnosti behaviorální strategie udržení březosti u myši domácí *Mus musculus*

Název anglicky

Pregnancy block (Bruce effect) as a counter-strategy against male's infanticide

Cíle práce

Cílem práce bude ověřit možnost blokádu efektu Bruceové umožněním samici zmást samce, který není otcem jejích fetů.

Hypotéza: Pokud po připuštění odebereme od samice samce a přidáme nového samce, který není otcem jejích zárodků, a necháme ho se samicí po celou dobu březosti, samice mláďata donosí, zatímco když po odebrání otce umístíme samici do prostředí s podestýlkou od cizího dospělého samce, dojde k blokádě březosti.

Metodika

Pro tento experiment bude zapotřebí 3 druhů klecí (A, B, C). Ve všech bude nejdříve po dobu 5 dní dospělý samec se samicí, pak se režim v klecích bude lišit následovně:

Klec A: Kontrola. Chovný pár zde po prvních pěti dnech setrvá dalších 21 dní (do porodu mláďat).

Klec B: Typ klece B slouží k ověření Bruce efektu (originální design podle Margaret H. Bruce). Po odebrání samce bude podestýlka nahrazena podestýlkou od cizího dospělého samce, (na které byl tento samec po dobu jednoho týdne) a na této podestýlce bude samice držena po dobu 3 týdnů. (Očekává se, že dojde k blokádě březosti.)

Klec C: Po odebrání prvního samce přidán k samici druhý samec a bude ponechán se samicí další 3 týdny. (Očekává se, že k blokádě březosti dojde méně často než u B, vlivem možnosti samice přesvědčit samce, že mláďata jsou jeho.)

Pro zdárný průběh experimentu se předpokládá, že minimální počet klecí je 3 najednou, aby bylo možné souběžně sledovat podmínky A, B a C s tím, aby bylo zhruba 10 opakování v libovolném časovém rozmezí, nejdéle však do začátku jara 2017. Optimální by bylo použít takové kmeny myši, aby podle genetických markerů v podobě odlišného zbarvení indikovaly otcovství. Po získání potřebných dat budou zvířata usmrčena.. Data budou sbírána do programu Excel a vyhodnocena pomocí programu SAS, ve kterém bude použita PROC GLIMMIX pro binární proměnné (testovat se bude pravděpodobnost selhání reprodukce).

Doporučený rozsah práce

40

Klíčová slova

Bruce effect; infanticida, kontrastrategie

Doporučené zdroje informací

- Bartoš, L., Bartošová, J., Chaloupková, H., Dušek, A., Hradecká, L. & Svobodová, I., 2016. A sociobiological origin of pregnancy failure in domestic dogs. *Scientific Reports* 6, 22188-22188.
- Bartoš, L., Bartošová, J., Pluháček, J. & Šindelářová, J., 2011. Promiscuous behaviour disrupts pregnancy block in domestic horse mares. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65, 1567-1572.
- Bartoš, L., Bartošová, J. & Pluháček, J., 2015. Pregnancy disruption in artificially inseminated domestic horse mares as a counterstrategy against potential infanticide. *J. Anim. Sci.* 93, 5465–5468.
- Bruce, H. M. & Parrott, D. M. V., 1960. Role of olfactory sense in pregnancy block by strange males. *Science* 131, 1526.
- Bruce, H. M., 1959. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature* 184, 105.
-

Předběžný termín obhajoby

2018/19 LS – FAPPZ

Vedoucí práce

prof. Ing. Luděk Bartoš, DrSc.

Garantující pracoviště

Katedra etologie a zájmových chovů

Konzultant

Doc. Ing. Jitka Bartošová, PhD.

Elektronicky schváleno dne 13. 2. 2019

doc. Ing. Helena Chaloupková, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 13. 2. 2019

prof. Ing. Iva Langrová, CSc.

Děkanka

V Praze dne 31. 03. 2019

Prohlášení:

Tímto prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Kontrastrategie proti samčí infanticidě v podobě blokády březosti (Bruce efekt) a možnosti behaviorální strategie udržení březosti u myši domácí *Mus musculus*“ vypracoval samostatně a čerpal z pramenů v zdrojích uvedených.

V Praze dne:

Podpis:

Poděkování

Tímto bych rád poděkoval Czech Centre for Phenogenomics (pod ÚMG AV ČR) za možnost uskutečnění pokusu, jež byl základem pro tuto práci. Jmenovitě především pánům MVDr. Janu Honetschlägerovi, MBA a MVDr. Peterovi Neradilovi, jež velkoryse poskytli nejen materiál a prostor, ale také velmi cenné konzultace a informace. Mgr. Petru Flachsovi (Oddělení epigenetiky buněčného jádra ÚMG AV ČR) za konzultaci ohledně použitých kmenů. V neposlední řadě svým přímým nadřízeným a kolegyním, jež mi pomohli s obstaráním prvních svěřenců a jež se o ně v době mé nepřítomnosti starali.

Zvláště bych pak chtěl poděkovat panu prof. Ing. Lud'ku Bartošovi, DrSc. za nápad, trpělivost při vyjednávání podmínek pokusu a samozřejmě za vedení této práce k finálové podobě.

Velice všem zmíněným děkuji.

Bc. Lukáš Baumann

Kontrastrategie proti samčí infanticidě v podobě blokády březosti (Bruce efekt) a možnosti behaviorální strategie udržení březosti u myši domácí *Mus musculus*

Souhrn práce

Tato práce se věnuje posouzení Bruce efektu jako kontrastrategie proti infanticidě a možnosti behaviorálního vlivu samic pro udržení vrhu, které bylo tématem pro vlastní pokus. Úvodní částí je literární rešerše, která shrnuje poznatky infanticidy napříč vybranými druhy savců jako základní předpoklad, že u těchto druhů bude k Bruce efektu docházet častěji. Následuje seznámení s Bruce efektem, kde se v úvodu pro lepší pochopení souvislostí seznámíme s původní prací M. H. Bruceové, jež jako v našem případě použila druh myši domácí *Mus musculus* Linnaeus 1758, ač s jinou metodikou.

V našem pokusu byly použity 3 typy chovných nádob: typ A byl kontrolní pro průběh březosti a pár zůstal pohromadě až do porodu, typ B byl určen pro navození klasického Bruce efektu, jako kontrastrategie proti infanticidě. Samice byly po indikaci vaginální zátky přendány od původního samce na podestýlku od samce cizího. Typ C byl v tomto pokusu klíčový, namísto přendání samic na podestýlku od cizího samce, byla provedena fyzická výměna samce za samce. Předpokladem bylo, že samice v chovných nádobách typu C si pářením s nově přichozím cizím samcem uchovávají březost častěji, než v chovných nádobách typu B. Teoretický základ tohoto předpokladu byla možnost behaviorální manipulace cizího samce a tím se vyhnout energeticky ztrátové blokáde březosti. K blokáde březosti došlo v 7 z 52 případů. Úspěšnost donošení vrhu však oproti očekávání byla v kleci typu B 93,33 % (14/15 přípustění) a u klece typu C 73,91 % (17/23 přípustění). Hypotéza tudíž nemohla být potvrzena. U typu klece B byl navíc pouze 1 případ Bruce efektu ze 14, což se statisticky nelišilo od kontrolního typu A. V porovnání s modelovou prací Margaret Bruceové se tudíž výsledky značně lišily. Dále bylo zjištěno, že v 50 % výskytu Bruce efektu byl nepůvodní samec těžší než samice i původní samec a v 83,33% případů byl cizí samec těžší než původní samec. Výsledky jsou diskutovány a je navržena oblast dalšího možného směru výzkumu.

Klíčová slova: *Mus musculus*, Bruce efekt, infanticida, kontrastrategie, behaviorální

Counter-strategy against male infanticide in the form of pregnancy block (Bruce effect) and the potential of a behavioral strategy to maintain pregnancy in domestic mice *Mus musculus*

Summary

This study focused on the evaluation of the Bruce effect as a counter-strategy against infanticide and a female's role in avoiding pregnancy block. The introductory part is a review of literature summarizing the findings of infanticide across mammalian species for which an occurrence of the Bruce effect would be logical. Following is description of the Bruce effect originally discovered in the house mouse *Mus musculus* Linnaeus 1758. Bruce effect has been investigated on other species of rodents, mostly under laboratory conditions, and also in several other mammals.

In our experiment we set up 3 types of experimental conditions; Type A was to control course of pregnancy with a pair of mice remaining in the same cage until delivering their progeny. Type B was to induce the Bruce effect as a counter-strategy against infanticide as designed in the original study by M. H. Bruce. After a vaginal plug was detected, the female was taken out from the original male and released into another cage containing bedding from another mature male. Type C was a key in this experiment. The stud male was replaced by another mature male who was left with the female until she gave birth. The assumption was that the female in cages C will mate with the non-stud male by this preventing blockage of pregnancy. Pregnancy blockade occurred in 7 out of 52 cases. However, the success rate of the litter was compared to expectations in cage type B was 93.33% (14/15 admission) and in the type C cage 73.91% (17/23 admission). Therefore, the hypothesis could not be confirmed. In addition, in the B-type cage, there were only 1 Bruce effect out of 14, which was virtually no different from control type A. Therefore, the results differed significantly from Margaret Bruce's model work. Furthermore, it was found that in 50% of the Bruce effect, the non-native male was heavier than the female and the original male, and in 83.33% of the cases the foreign male was heavier than the original male. The results are discussed and an area of further possible research is proposed.

Keywords: *Mus musculus*, Bruce effect, infanticide, kontrastrategy, behavioral

Obsah práce

1) <u>Úvod</u>	1
2) <u>Cíl práce a hypotéza projektu</u>	2
3) <u>Literární přehled.</u>	3
3.1) Infanticida	3
3.2) Bruce efekt jako kontrastrategie proti infanticidě	5
3.3) Fyziologie Bruce efektu	5
3.4) Chemosignály u myši domácí	6
3.5) Objev Margaret H. Bruceové)	7
3.5.1) Bruce efekt u dalších druhů hlodavců	7
3.5.2) Bruce efekt u dalších druhů zvířat	11
3.5.3) Bruce efekt u lidí?	14
4) <u>Materiál a metodika</u>	16
4.1) popis jednotlivých typů pokusných klecí	18
5) <u>Výsledky</u>	19
6) <u>Diskuze</u>	23
7) <u>Závěr</u>	26
8) <u>Seznam literatury</u>	27

1) Úvod

Tato práce se věnuje prohloubení vědomostí o jevu zvaném „Bruce efekt“. Bruce efekt je blokáda březosti jako strategie samice proti pravděpodobné poporodní infanticidě (a ušetření vynaložené energie do vývoje plodu), ke které by mohlo dojít v situaci, nachází-li se v blízkosti výše sociálně postavený dospělý samec, který není otcem fetů samice. Cílem této práce je právě posouzení tohoto efektu z hlediska behaviorálních možností samice, která se může po páření s jedním samcem vyhnout blokádě i infanticidě mláďat za přítomnosti samce jiného. Součástí této práce byl vlastní výzkum, modifikace experimentu, jež sama paní M.H. Bruceová uskutečnila (Bruce 1959). V literárním přehledu se seznámíme nejprve s infanticidou a to napříč vybranými druhy savců, kdy pomocí statistických hodnocení lépe pochopíme, kdy a za jakých podmínek se tento efekt vyskytuje méně či více (Dieter et Elise 2014). Následně pak objasníme Bruce efekt a pro lepší pochopení i z hlediska fyziologického. Jako příčina se uvádí samčí moč, tedy látky v ní obsažené, které samice citlivě vnímá pomocí receptorů-čichu (Parkes et Bruce 1961). Skrze receptorickou dráhu vomeronasálního orgánu dojde ke kaskádové reakci, jejíž finálním výsledkem je, že nedojde k implantaci fetů, oplodněných vajíček, na stěnu děložního endometria. Ačkoli jako u původního experimentu se náš výzkum zaměřil na rod *Mus musculus*, bude se tato literární přehled zabývat dalšími druhy a výzkumy jež byly skrze behaviorální vlivy na tento efekt učiněny. Ať už světovým výzkumem, který probíhal především u hlodavců, přes průkopnické práce u jiných druhů, včetně jediné studii na paviánech dželada *Theropithecus gelada* ve volné přírodě (Roberts et al. 2012). Ovšem pozornost bude věnována i u výzkumům českým, vedených především Ludkem Bartošem, jenž také prohloubil poznání testováním Bruce efektu u dalších druhů, a to hlavně u koní (Bartoš et al. 2015) a psů (Bartoš et al. 2016). V druhé polovině bude pozornost věnována vlastnímu výzkumu. Nejpodstatnější částí této práce pak bude závěr a diskuze, jež se pokusí včlenit získané výsledky do souvislosti s informacemi, které byly popsány v literárním přehledu.

2) Cíl práce a hypotéza projektu

Tato práce je založena na dvou částech. První z nich je literární rešerše, jež je podkladem pro zdůvodnění samotného pokusu.

Druhou částí této práce je vlastní pokus. Cílem tohoto pokusu bylo otestovat možnost strategie zabřezlé samice myši *Mus musculus*, vedoucí k prevenci Bruce efektu. Očekávaný přínos je prohloubení znalostí o Bruce efektu nikoli jako pouhý fyziologický důsledek receptorové indikace přítomnosti cizího samce, ale jako zcela intencí chování a kontrastrategii proti potencionálnímu nebezpečí infanticidy po výměně samce.

Hypotéza

H1: Když se k zabřezlé samici přidá dospělý samec, který není otcem jejích fetů, samice přesvědčí tohoto samce promiskuitním chováním, že je on otcem a zabrání tak blokáde březosti. Mezi úspěšností donošených vrhů původních samců v klecích s původním samcem a novým samcem ponechaným se samicí nebude rozdíl, zatímco samice ze skupiny, ve které bude samice po páření přenesena na podestýlku cizího samce k blokáde březosti dojde ve větší míře.

$A \approx C$ a zároveň $B > A$; $B > C$

H0: Když se k zabřezlé samici přidá dospělý samec, který není otcem jejích fetů, samice nepřesvědčí tohoto samce promiskuitním chováním, že je on otcem a nezabrání tak blokáde březosti. Mezi úspěšností donošených vrhů původních samců v klecích s původním samcem a novým samcem ponechaným se samicí bude rozdíl, zatímco samice ze skupiny, ve které bude samice po páření přenesena na podestýlku cizího samce k blokáde březosti nedojde ve větší míře.

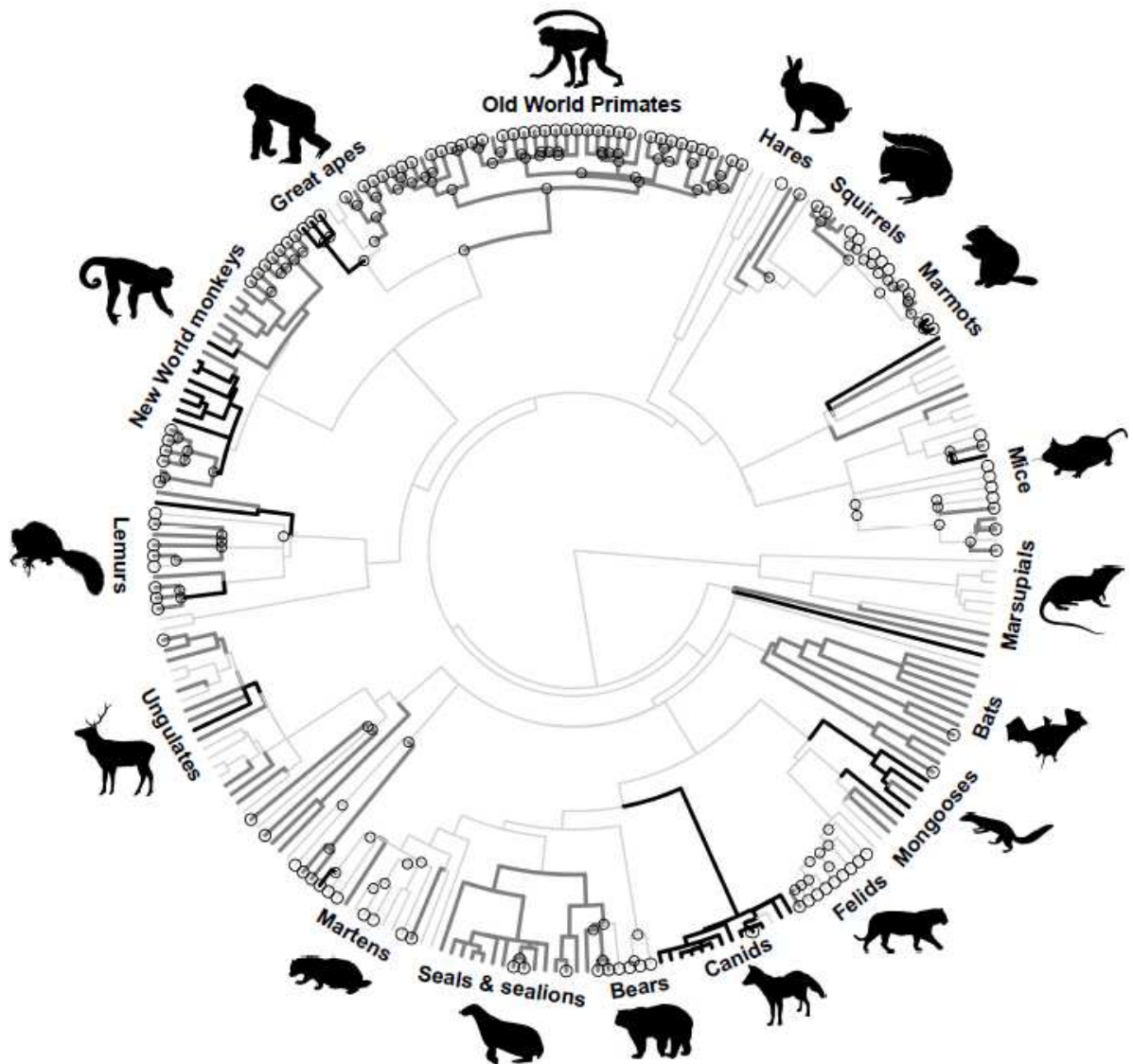
3) Literární přehled

3.1) Infanticida

Hodnotíme-li Bruce efekt jako kontrastategii proti infanticidě, je třeba se s infanticidou blíže seznámit. Infanticida byla dlouho vnímána jako strategie samců, jež má za cíl zvýšení své okamžité reprodukční schopnosti zabitím mlád'at laktující samice, která je posléze opět schopná se rozmnožovat (Hrdy 1979). Ovšem infanticida se objevuje i v některých případech, kde zabití mlád'at neznamena opětovnou reprodukceschopnost jejich matky, tedy u zvířat, kde páření probíhá sezónně, jako například u druhu jelena evropského (Bartoš et Madlafousek 1994). I přesto samčí infanticida převládá u druhů, kde má samec k páření hned několik samic a ostatním samcům tak ubírá příležitosti k páření. Existuje řada studií, které přinášejí seznam prací, dokládajících výskyt infanticidy u mnoha druhů (např. Dieter et Elise 2014, Obr. 1). Z 260 druhů savců z této studie byl případ infanticidy zaznamenán u 119. Dále byly studie porovnány ještě z několika hledisek. Porovnáno byla například reprodukční sezónnost. U druhů, které se rozmnožují po celý rok, byla z 97 druhů infanticida u 76% v porovnání se sezónně se rozmnožujícími druhy, kde z 134 druhů byla zaznamenána z 28%. Tedy u druhů, kde je samice schopná se rozmnožovat po celý rok je infanticida častější. Z hlediska sociálního uspořádání byla u stálých smíšených skupin tato hodnota na 66 % (z 112 druhů), u soliterně žijících druhů 40 % (z 78 druhů), u skupin, kde jsou po většině roku pospolu pouze samice 23 % (z 31 druhů) a u párově žijících druhů zvířat pouze u 18 % (z 39 druhů). Tyto výsledky ukazují, že je u infanticidy důležité i sexuální napětí ve skupině. Tím se dostáváme k poslednímu posuzovanému hledisku, zda se je skupina s nebo bez dominantního samce. U druhů s dominantním samcem byla zjištěná míra infanticidy 67 % (z 15 druhů) a druhů bez dominantního samce 35 % (z 5 druhů). Existuje však několik způsobů, jak se samice případné infanticidě mohou vyhnout, například společné koalice samic, které brání mlád'ata. K tomu se může uchýlit i samice sama nebo, zhodnotí-li situaci ve svůj neprospěch, se může pokusit utéci i s mlád'aty. V poslední době je však čím dál častěji jako kontrastrategii proti infanticidě zmiňován Bruce efekt neboli blokáda březosti.

Obrázek 1: Výskyt infanticidy napříč vybranými druhy savců (n=260) (Dieter et Elise 2014)

- Kroužky u jednotlivých druhů znamenají výskyt infanticidy, druhy žijící v sociálních skupinách mají výskyt infanticidy nejvyšší (tmavě šedé čáry), méně u solitérních druhů (světle šedé čáry), nejméně u monogamně žijících (černou čarou)



3.2) Bruce efekt jako kontrastrategie proti infanticidě

Obecně se dá říct, že je tento efekt blokády březosti strategií samice, hrozí-li pozdějším mláďatům vyšší riziko úmrtí, například infanticidou cizím samcem. Samec zabítím potomků laktující samice zvyšuje svou vlastní fitness. Jelikož je reprodukce blokována laktací, samec pomocí zahubení potomků samici může opět brzy spářit. Infanticida samce navíc upevní jeho sociální postavení. Ovšem může se objevit i ve skupinách s dominantní samicí (viz předchozí kapitola). Z hlediska samice je tato skutečnost nejen zbytečně vynaloženou energií, ale blokáda březosti znamená pro samici menší negativní vliv na její vlastní reprodukční fitness, než následná infanticida (Schwagmeyer, 1979). Dost záleží na schopnosti samice toto nebezpečí odhadnout. V laboratorním výzkumu bylo osvědčeno, že méně dominantní samci nemají většinou sklony se potomků ostatních samců tímto způsobem zbavovat (Huck 1982). Nejčastěji byl tento efekt zkoumán u druhu *Mus musculus*.

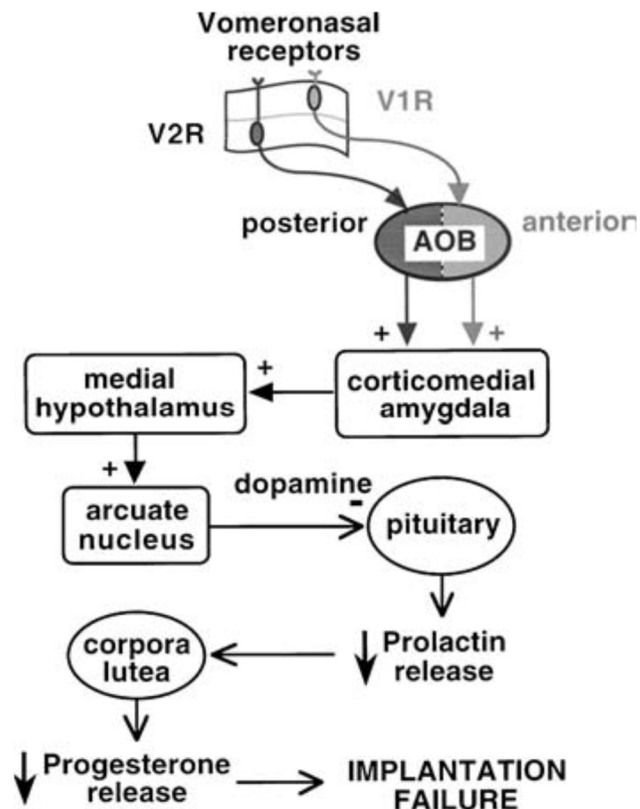
3.3) Fyziologie Bruce efektu

Od objevu M. H. Bruceové (Bruce 1959) uplynulo již několik desetiletí, ovšem stále je tento jev ještě dosti obestřen tajemstvím. Značná část zkoumání tohoto efektu se týkala fyziologie. Zjistilo se, že samice reagují blokádou reprodukce na látky obsažené v samčí moči. Jedná se o takzvané chemosignály. Velkou roli ve vnímání těchto signálů hraje vomeronasální orgán samice spolu s hlavním čichovým epitelem. V roce 1980 proběhl výzkum, kdy byl samicím vomeronasální orgán vyňat. Ve všech případech pak k blokáde březosti nedošlo (Bellringer et al. 1980). Naopak při odebrání hlavního čichového epitelu k ní docházelo (Ma et al. 2002). Na vině se však ukázala vysoká hladina dopaminu po připuštění samic, jež oslabuje vnímavost tohoto epitelu. Při experimentální umělé stabilizaci tohoto hormonu k Bruce efektu opět došlo. Je tedy pravděpodobné, že krom vomeronasálního orgánu má na blokáde březosti určitý vliv i hlavní čichový epitel (Serguera et al. 2008). Signály následně putují do části mozku zvané přídatný čichový lalok. Zde vlivem následně zvýšené hladiny noradrenalinu dojde k přestavbě synapsí mitrálních buněk a samice si vytvoří pomocí neuroendokrinních drah pachovou stopu pro určitého jedince (Brennan et al. 1995). Pach cizího samce navodí v samici zvýšenou sekreci dopaminu z hypotalamu, který má za následek naopak omezenou sekreci prolaktinu z adenohypofýzy. Nedostatek tohoto hormonu v děloze

zapříčiní u žlutého tělíska (corpora lutea) jeho apoptózu. Tím dojde ke snížení hladiny progesteronu, čímž se zastaví růst děložního endometria a fetý se na něj tím pádem nemohou implantovat (Brennan et Peele 2003, Obr. 2).

Obrázek 2: Schéma Bruce efektu

(Brennan et Peele 2003)



3.4) Chemosignály u myši domácí

Hlavním prostředkem chemické komunikace u myši je moč a látky v ní obsažené (Desjardins et al. 1973). Pachové značení svého okolí je cílené a využívají ho obě pohlaví ke vzájemné komunikaci (Drickamer 1989). Mohou obsahovat mnoho informací: o pohlaví, jaký je reprodukční potenciál, genetická výbava, zdravotní stav či dokonce sociální postavení (Arakawa et al. 2008). Především teritoriální samci tak dávají ostatním jedincům informace, jež mají pro ostatní samce varovný kontext, naopak samice mají přilákat za účelem spáření (Thom et Hurst 2004). Naopak samice dle těchto informací dokáže rozlišit kvalitu

potencionálního partnera a tím si pravděpodobně i vybrat (Kavaliars et al. 2003), ovšem je-li samice čerstvě březí, a narazí-li samice na pach samce cizího, dokáže tato signalizace vyvolat Bruce efekt (Parkes et Bruce 1961).

3.5) Objev Margaret H. Bruceové

V roce 1959 byla Margaret Hildou Bruceovou zveřejněna práce, podle níž byl později pojmenován takzvaný Bruce efekt (Bruce 1959). Jedná se o jev, kdy samice po spáření se samcem zabráni implantaci blastocyst, na stěnu děložního endometria. Jako původní pár byly tvořeny jedinci z inbredních kmenů. Po indikaci vaginální zátky byly samice od původních samců odebrány a přidány na 24 hodin k jiným samcům. Výsledky četností blokády březosti byly značně rozdílné. Když byly samice následně dány do klece se samcem z volné přírody, došlo k tomuto jevu až v 71 %. Značně nižší četnost vykazoval následný pobyt se samcem z inbredního kmene, a to v 28 %. Zajímavým faktem je, že o pouhých 2 % nižší četnost přerušení gravidity způsobil pobyt s kastrovaným samcem z inbredního kmene (26 %). Když samice s původním samcem zůstaly, nebo byly dány k jiným samicím, vrh ve všech případech donosily (Bruce 1959). Čerstvě spářená samice v přítomnosti cizího samce, ať už fyzicky či pouze zprostředkovaně pachem, s určitou pravděpodobností vyblokuje březost a již do týdne je opět ve fázi estru. Tato citlivost trvá přibližně 4-5 dní po spáření s původním samcem (Parkes et Bruce 1961).

3.5.1) Bruce efekt u dalších druhů hlodavců

Použití hlodavců je pro účel těchto výzkumů ideální. Jsou používáni obecně jako vhodné modelové druhy, a to díky ekonomice chovu, velikosti a rychlé reprodukci. Především díky rychlé reprodukci si získali pozornost při těchto pokusech. Bruce efekt však nebyl zkoumán jen na myších, ale i na mnoha dalších druzích hlodavců, a ne u všech z nich byl prokázán. V roce 1980 proběhla studie (Handelmann et al. 1980), kde byl experimentálním druhem křeček zlatý *Mesocricetus auratus*, a právě tato studie neprokázala výskyt tohoto efektu. Druhý experiment v čínském Pekingu (Wang et al. 2010) tento výsledek u stejného druhu podpořil. Tyto výsledky mohly mít několik příčin. Zpětně lze jen těžko odhadnout jaké.

Dalším druhem, u kterého se údajně nevyskytovala blokáda březosti, byl hned dle několika studií (Taleisnik et al. 1966; Cooper et Haynes 1967; Vandenberg 1976) druh potkana obecného *Rattus norvegicus*. Ovšem v roce 2011 výzkum ve Vídni (Marashi et Rüllicke 2011) naopak tento efekt potvrdil. Pozornost si tento výzkum zasloužil výrazně nižším procentem blokády březosti než u myši paní Bruceové. Ve výsledcích tato studie uvádí kolem 20% (průměr u 2 kmenů), kdežto u myši se tato hranice pohybuje kolem 80%. Studie to vysvětluje jinou životní strategií obou druhů, a to především v sociálním uskupení a s ní související teritorialitou. Výše zmíněné práce byly provedeny v laboratorních podmínkách, jež mají výhodu v uniformních podmínkách, nicméně jejich platnost mimo laboratoř je diskutabilní. Bylo tedy otázkou času, kdy je někdo poprvé vyzkouší i v přirozenějších podmínkách. První takovou studií byla v roce 1999 s druhem hraboše *Microtus canicaudatus*. Výzkum probíhal přibližně na 0,2 ha ohraničeného pozemku s vegetací. I tento výzkum, podobně jako ten čínský však nezaznamenal, že by došlo k blokáde gravidity. A podobně dopadl i další výzkum v podmínkách podobných přírodním. V roce 2002 (Mahady et Wolff, 2002) proběhl obdobný výzkum s hrabošem preriiovým *Microtus ochrogaster*. Zde k blokáde u některých samic pravděpodobně došlo, ovšem v tak malé míře, že sami autoři s tímto efektem označili spojitost za minimální. To je v rozporu s výsledky, jež jsou uváděny u laboratorních studií u stejného druhu (Hasler et Nalbandov 1974; Stehn et Richmond 1975; Getz et al. 1983; Carter et al. 1981). Na přiložené tabulce z knihy Mammalian reproductive biology (Bronson 1989) lze nalézt výsledky u dalších druhů hlodavců, které do roku 1989 probíhaly. Tato kapitola však ukázala na proměnlivost výsledků, jež u tohoto efektu jsou celkem časté. Jelikož se jedná o reprodukci, tím spíše březost, je to vcelku pochopitelné, jelikož do výsledku vstupuje hodně vlivů: mezidruhové rozdíly, metodika pokusů, sociální uskupení, dominance jedinců a mnoho dalších.

Obrázek 3: Seznam druhů studovaných ohledně Bruce efektu
(z knihy F. H. Bronson: Mammalian reproductive biology 1989)

Table 7.2 Species in Which the Presence of Conspecific Males or Females Is Known to Influence the Ovulatory Cycle and Species in Which the Strange Male Pregnancy Block Has Been Demonstrated

Species	Effect on Cycle by		Pregnancy Block	References
	Female	Male		
Rodents				
Deermouse (<i>P. maniculatus</i>)	X	X	X	Bronson and Eleftheriou (1963), Bronson and Dezell (1968), Bediz and Whitsett (1979), Lombardi and Whitsett (1980)
Prairie vole (<i>M. ochrogaster</i>)	X	X	X	Hasler and Nalbandov (1974), Stehn and Richmond (1975), Carter et al. (1980), Carter, Getz, and Cohen-Parsons (1986), Getz, Dluzen, and McDermott (1983)
California vole (<i>M. californicus</i>)		X		Batzli, Getz, and Hurley (1977), Rissman and Johnston (1986)
Field vole (<i>M. agrestis</i>)	X	X	X	Milligan (1974, 1976, 1979), Clulow and Clarke (1968), Clarke (1977)
Montane vole (<i>M. montanus</i>)			X	Stehn and Jannett (1981)
Pine vole (<i>M. pinetorum</i>)		X	X	Schadler (1981, 1983), Stehn and Jannett (1981), Lepri and Vandenberg (1986)
Levant vole (<i>M. pinetorum</i>)		X		Benjamini (1987)
Red back vole (<i>Clethrionomys glareolus</i>)		X	X	Clarke and Clulow (1973), Clarke (1977), Marchlewska-Koj and Kruczek (1986)
Collared lemming (<i>Dicrostonyx groenlandicus</i>)	X	X	X	Hasler and Banks (1975), Mallory and Brooks (1980)
Hopping mouse (<i>Notomys alexis</i>)	X	X		Breed (1976)
Mongolian gerbil (<i>Meriones unguiculatus</i>)		X	X	Norris and Adams (1979), Payman and Swanson (1980), Rohrbach (1982)

Table 7.2 *continued*

Species	Effect on Cycle by		Pregnancy Block	References
	Female	Male		
Golden hamster (<i>Mesocricetus auratus</i>)		X		Handelmann, Ravizza, and Ray (1980)
Djungarian hamster (<i>Phodopus sungorus</i>)			X	Wynne-Edwards and Lisk (1984)
Laboratory rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	X	X		Cooper and Haynes (1967), Vandenberg (1976), Taleisnik, Caligaris, and Astrada (1966)
Cui (<i>Galea musteloides</i>)		X		Weir (1973)
Cotton rat (<i>Sigmodon hispidus</i>)	X			Evans and McClure (1986)
Naked mole rat (<i>Heterocephalus glaber</i>)		X		Jarvis (1981)
Insectivores:				
Musk shrew (<i>Suncus murinus</i>)		X		Rissman (1987b)
Ungulates:				
Sheep (<i>Ovis aries</i>)	X			Parsons and Hunter (1967), Knight and Lynch (1980), Atkinson and Williamson (1985), Martin et al. (1985)
Goat (<i>Capra hircus</i>)	X			Shelton (1960), Coblenz (1976), Chemineau, Poulin, and Cognie (1984)
Pig (<i>Sus scrofa</i>)	X	X		Brooks and Cole (1970), Hughes and Cole (1976), Kirkwood, Forbes, and Hughes (1981), Hemsworth, Winfield, and Chamley (1981)
Cow (<i>Bos taurus</i>)	X	X		Weston and Ulberg (1976), Izard and Vandenberg (1982)
Marsupials:				
Short-tailed opossum (<i>Monodelphis domestica</i>)	X			Fadem (1985)
Marsupial mouse (<i>Antechinus stuartii</i>)	X			Scott (1986)

Table 7.2 *continued*

Species	Effect on Cycle by		Pregnancy Block	References
	Female	Male		
Primates				
Saddle-backed tamarin (<i>Saguinus fuscicollis</i>)	X			Epple (1976)
Marmoset (<i>Callithrix jacchus</i>)		X		Abbott and Hearn (1978)
Lesser mouse lemur (<i>Microcebus murinus</i>)		X		Perret (1986)
Brown lemur (<i>Lemur fulvus</i>)	X			Boskoff (1978)

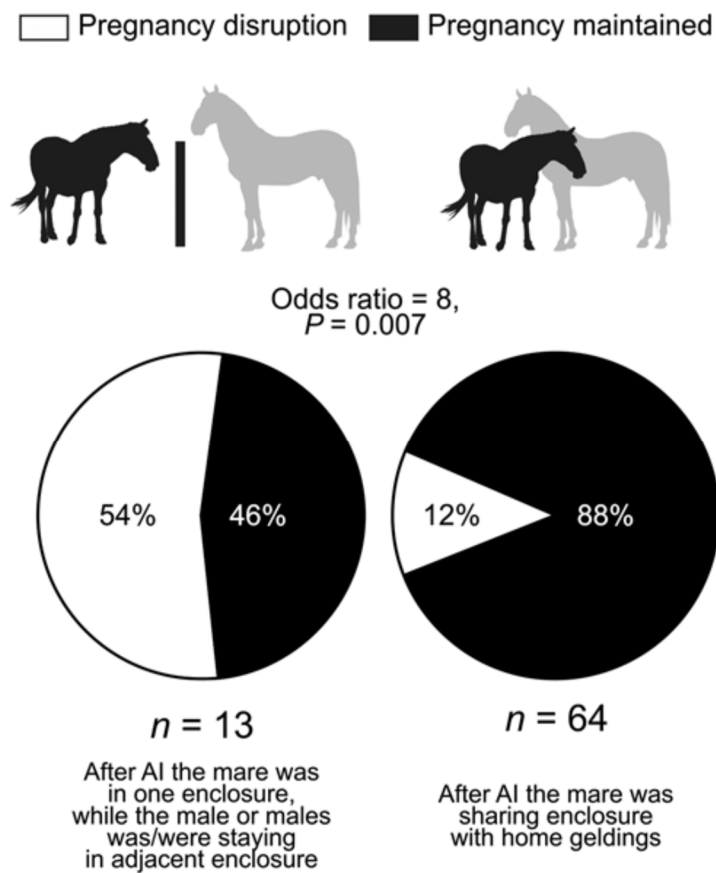
3.5.2) Bruce efekt u dalších druhů zvířat

Existují ovšem i další výzkumy tohoto efektu, které byly zkoumány na jiných druzích než jen u hlodavců. Podíváme-li se na již zmíněnou tabulku z knihy *Mammalian reproductive biology* (Bronson 1989) zjistíme, že dle provedených studií do té doby nebyl výskyt Bruce efektu u dalších druhů zaznamenán, ať už se jedná o přežvýkavce (ovce *Ovis aries*, kozy *Capra hircus*, krávy *Bos taurus*), nepřežvýkavé sudokopytníky (prase *Sus scrofa*), vačnatce (vačice *Monodelphis domestica*, vakomyši *Antechinus stuartii*) nebo nakonec i primáty (tamaríni *Saguinus fuscicollis*, kosmani *Callithrix jacchus*, lemury *Microcebus murinus* a *Lemur fulvus*). Ovšem opět je nutno zmínit vliv mnohých podmínek, jež mají na variabilitu hodnot tohoto efektu vliv, které však zatím nejsou zcela známy a jsou předměty dalších výzkumů a diskuzí.

V roce 2012 byla zveřejněna první studie jež zkoumala divokou populaci druhu paviána dželady, nebo také dželady hnědé *Theropithecus gelada* (Roberts et al. 2012). Tato studie sbírala výsledky 5 let, ale nejen tím je unikátní. Bylo zjištěno, že až 80 % samic samovolně potratí, je-li hlavní dominantní samec sesazen jiným. Je to dáno především vysokou mírou infanticidy u tohoto druhu, kdy většina neodstavených mláďat bývá usmrcena nově přichozím samcem.

Abychom zmínili i české příspěvky k tomuto tématu, stojí za zmínku výzkumy pana Bartoše a kolektivu. Jedná se o nové studie tohoto typu a druhu. První dvě studie se věnovaly koním *Equus caballus* (Bartoš et al. 2011, 2015). Zde byly výsledky posuzované dle toho, byla-li klisna přivezená po umělém oplození cizím samcem ustájená zvlášť od domácího samce či s ním. U klisen, které byly ustájené zvlášť, byl případ blokády březosti v 54 %

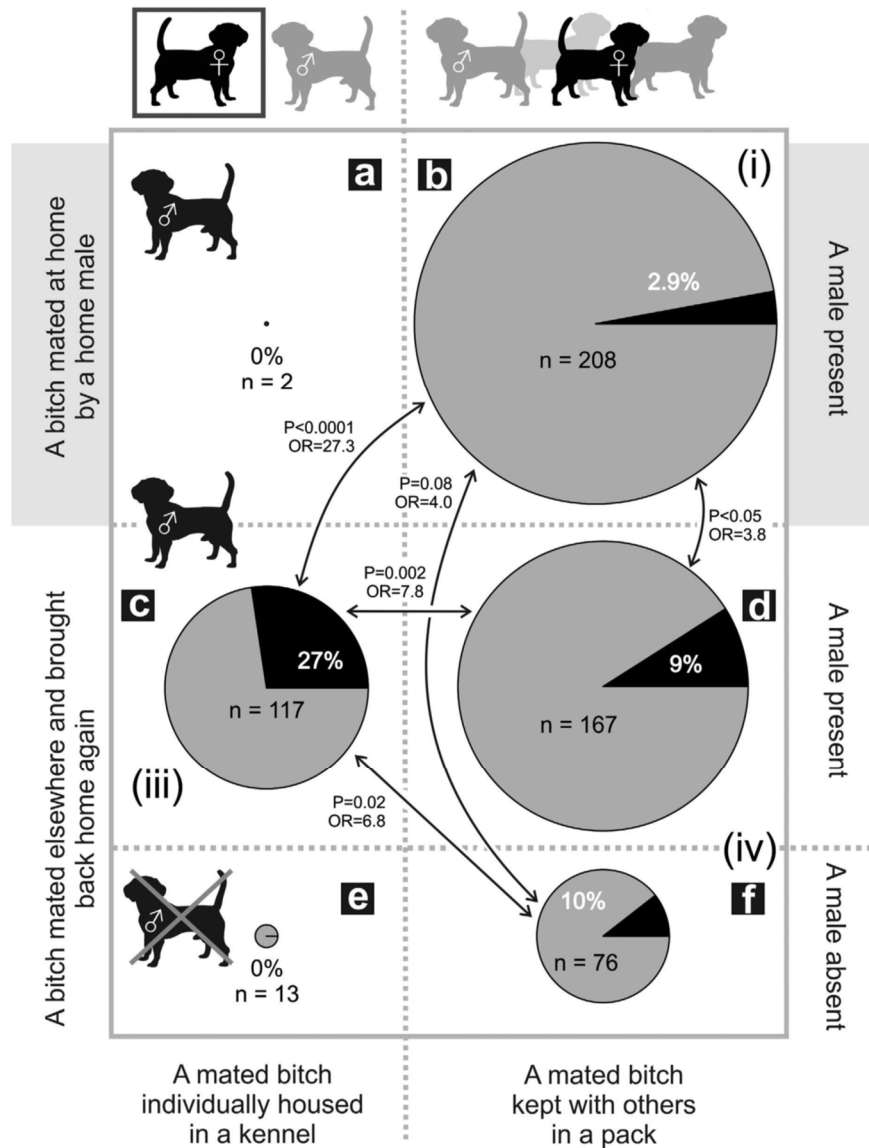
případů. Naopak, sdílela-li prostor s původním samcem, bylo tento jev pozorován u 12 % (Obr. 4). Autoři tyto výsledky interpretují jako v podstatě jiný efekt, než je klasický Bruce efekt. Zvýšenou potratovost vysvětlují tím, že březí klisna, která je oddělena od místního hřebce či valacha, který není otcem jejího fétu, vnímá tuto situaci jako akutní nebezpečí a potratí v důsledku zvýšeného stresu. Naopak, když je ve výběhu s hřebcem či valachem, který není otcem jejího fétu, promiskuitním chováním „přesvědčí“ tohoto hřebce či valacha, že je otcem a tím se vyhne nebezpečí následné infanticidy.



Obrázek 4: Úspěšnost zabřeznutí u klisen cizím samcem (Bartoš et al. 2015): vlevo oddělená po návratu, vpravo po návratu se společným samcem

Jako další zmíníme a vyhodnocování dat u krytí psů *Canis lupus familiaris* (Bartoš et al. 2016). Zde výsledky ukázaly, že samice chované v páru se samcem poté, jež byly kryté cizím samcem jinde a následně se vrátily do domácnosti, měly blokádu březosti až v 27 % případů.

Zajímavým faktem byla četnost blokády samic krytých jiným samcem, ale chované ve smečce. Zde, obsahovala-li smečka jak samce, tak samice, byla četnost pouze 10 %, obsahovala-li smečka pouze samice tak 9 % (Obr. 5).

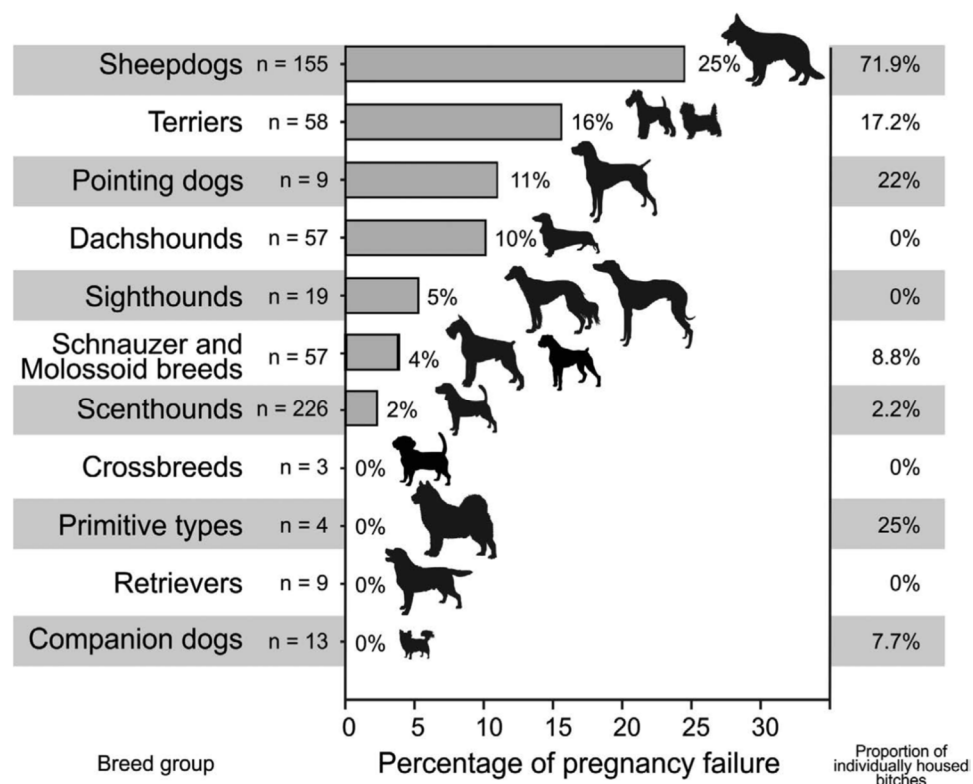


Obrázek 5: Grafické znázornění úspěšnosti donošení vrhu fen

(Bartoš et al. 2016)

a) fena kryta domácím psem b) fena kryta domácím psem, žijící společně s dalšími psy c) fena kryta cizím psem a přivezena k domácímu d) fena krytá cizím psem, která žije s domácím společně s více jedinci e) fena krytá cizím psem bez domácího samce e) fena krytá cizím psem, jež žije pospolu s dalšími fenami

Pozornost si ovšem zaslouží i porovnání dat od domácích smeček bez samce, kde se ukazuje, že u psů může mít vliv na blokádu březosti i další samice, nejen samec. To ukazuje pravděpodobně na sociální strukturu a pevnou hierarchii u psů, kde může být hrozbou pro štěňata i další samice. Dalším zajímavým výsledkem byla i skutečnost, že procento u blokady březosti se velmi liší s ohledem na plemeno (Obrázek 5). Nejhůře si zde vedla ovčácká plemena, kde úspěšné donošení vrhu proběhlo v 75 % a nejlépe pak dopadla plemena společenská se 100 % donošených vrhů. Autoři tyto mezi plemenné rozdíly ale přičítají spíše tomu, jaký způsob ustájení je pro které plemeno typické, nežli rozdílům genetickým.



Obrázek 6: Hodnoty neúspěšnosti zabřeznutí fen u různých plemen (Bartoš et al. 2016)

3.5.3) Bruce efekt u lidí?

Bruce efekt ovšem není spojován jen se zvířaty. Čím dál více se o tomto jevu mluví, tím více se o něm začíná uvažovat ve spojení se člověkem. Základním předpokladem byl výskyt funkčního vomeronasálního orgánu u člověka. To samotné bylo předmětem diskuzí, jelikož se dlouho pochybovalo o chemické komunikaci mezi lidmi. V roce 1998 proběhl výzkum (Monti-Bolch et al. 1998) který podpořil myšlenku, že tomu tak doopravdy je, a lidské feromony mají vliv na jejich vlastní psychofyziologické projevy, i přesto je však toto téma nadále rozebíráno. Stejně tomu tedy pochopitelně je i u Bruce efektu. V roce 1968 Sidney M. Greenfield pravděpodobně poprvé spojil Bruce efekt s lidským druhem na základě Malinowského hypotézy z roku 1930, jež říká, že promiskuita u žen má negativní vliv na jejich plodnost v souvislosti s Bruce efektem (Greenfield 1968). To už bylo ovšem v roce 1969 napadeno a vyvráceno Nagem a Bedfordem (Nag et Badfort, 1969), kteří za tímto viní spíše pohlavní nemoci a u mladistvých hormonální nerovnováhu. Od té doby však ještě nebyl proveden výzkum, jež by Bruce efekt u lidí potvrdil, ačkoli se u lidí očekává (van Schaik 2016). Z této kapitoly je zřejmé, že je toto téma široce rozebíráno nejen u zvířat a též, že krom laboratorních výzkumů je jen velmi málo empirických dat „z terénu“, jež by pomohly k lepšímu pochopení spojitostí s tímto efektem.

4) Materiál a metodika

Pro tento experiment bylo zapotřebí 3 druhů klecí (A, B, C). U všech druhů nejlépe po dobu indikace vaginální zátky u samice, nejpozději do 4-5 dní po ní, dle implementace fetů na stěnu děložního endometria. Kmen samice ICR(CD1) bílé barvy (albino). Samci buď kmene C57Bl/6J černé barvy (black), či K12HT1D bílé barvy (albino) pro určení paternity mláďat. Staří přibližně 2 měsíce. Několik posledních kol měření bylo před připuštěním přidáno vážení jedinců. Vážení byli i samci u typu C, jež byli připuštěni jako druzí a samci u typu klecí B jež poskytl podestýlku pro výměnu. Všechny typy klece byly pro pozorování vedeny přibližně 1 měsíc, a to do porodu (případně až do pigmentace holat), či zjevného přerušování gravidity. Po každém kole pokusů byly zvířata utracena včetně narozených holat, způsobem, jež je pro daný věk přípustný. Holata dekapitací, dospělí jedinci dislokací páteře či plynem CO₂. Před utracením byla z pravidla pořízena fotodokumentace. Pro zdárný průběh experimentu byl předpoklad, že ideální počet klecí je 3 najednou, aby bylo možné souběžně sledovat podmínky A, B a C, avšak přednější bylo maximální využití zvířat. Jako cílový byl zvolen počet 10 opakování v libovolném časovém rozmezí, nejdéle však do začátku jara (března) 2017.

Chovné klece obsahovaly pilinovou podestýlku a dostatek buničiny pro možnost úkrytu. Buničina byla též pro pozorování Bruce efektu vhodná z důvodu, že jí zpravidla jedinci zašpiní svými výkaly a močí. Zvířata měla stálý přístup k vodě i krmivu. Voda byla měněna minimálně jednou týdně. Krmivo bylo nutričně bohaté, určené pro chovné klece (breedingy), kde se očekává potřebný zvýšený přísun energie a jiných vhodných látek. Celý pokus byl sponzorován Českým centrem fenogenomiky (Czech centre of phenogenomics) při IMG AV ČR.

Data byla zpracována programem SAS (verze 9.4) s použitím PROC GLIMMIX pro binární data, testována pravděpodobnost, že Blokáda březosti=Ano, náhodný efekt=ID samice. Pevnými efekty byl věk samice a skupina (A, B, C).

Obrázek 7: Projekt pokusů k projektu

NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ 2.93/2016	
Název projektu pokusů	
Ověření strategie proti blokáde implantaci blastocysty, jako obrana proti pravděpodobné samčí infanticidě (Bruce efekt) a možnosti behaviorální přesvědčení cizího samce o otcovství a udržení březosti u myši domácí <i>Mus musculus</i>	
Doba trvání projektu pokusů	Ríjen/listopad 2016- březen 2017 (5-6 měsíců, či do dosažení požadovaného počtu dat)
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	Bruce efekt, gravidita, populační strategie, kontrastrategie, infanticida
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
	základní výzkum
x	translační nebo aplikovaný výzkum
	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	zachování druhů
	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Cílem tohoto pokusu bude snaha otestovat možnost behaviorální prevence proti Bruce efektu prostřednictvím aktivního proceptivního a receptivního chování samice pářené jedním samcem, ale vystavené přítomnosti samce, který není otcem jejích zárodků. Testovaným měřítkem bude pravděpodobnost selhání reprodukce. Data budou sbírána do programu Excel a vyhodnocena pomocí programu SAS, ve kterém bude použita PROC GLIMMIX pro binární proměnné.	
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Očekávaný přínos je nový poznatek o možnosti prevence proti Bruce efektu, publikovatelný v impaktovaném časopisu. Předpokládaný poznatek může přinést kromě základního poznání aplikovatelnost v chovatelské praxi laboratorních hlodavců. Především v širším slova smyslu přinese poznatky aplikovatelné na další druhy savců, případně člověka. Vedle psů a koní pak přispěje k zobecnění tohoto jevu z pohledu etologie savců.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Mus musculus- alespoň 70 zvířat. 30 samic + 40 samců. 3 kmeny- 30 samic bílých, 20 bílých a 20 samců černých. Kmeny čisté, nekřížené s jinými a jednotné barvy srsti.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Se zvířaty bude zacházeno dle postupů obvyklých pro manipulaci a chov laboratorních zvířat daného modelového druhu a umístění (SPF bariérový chov myši). Zvířatům bude snaha zajistit optimální podmínky k reprodukci včetně snahy zvíře co nejméně rušit a stresovat. Vše dle zásad welfare. Po skončení 1 kola (1 měsíce) pokusu budou usmrcena- dospělá zvířata dislokací krční páteře či pomocí CO2, holata dekapitací. Míra závažnosti v průběhu pokusu bude tedy velmi nízká.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Není možné z hlediska fyziologicky-behaviorální podstaty pokusu.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
V zájmu omezení počtu zvířat budou použita zvířata vyřazená z chovu a předem určená k utracení.	
Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
Se zvířaty bude zacházeno dle zásad welfare, postupů obvyklých pro manipulaci a chov laboratorních zvířat daného modelového druhu a umístění (SPF bariérový chov myši). Zvířatům bude snaha zajistit optimální podmínky k reprodukci včetně snahy zvíře co nejméně rušit či jinak stresovat. O nejšetrnější použití se jedná díky rychlé reprodukci a skladným rozměrům. Ačkoli je pro správné stanovení obecných behaviorálních vzorců nutné sledování stejného jevu u více druhů (proběhlo již u koně a psa), rod <i>Mus musculus</i> je nejlépe vyhovující (i skrze návaznost na pokusy M.H. Bruceové). Zvířata, krom ukončení pokusu- jejich utracení, nenabudou žádné újmy, ba naopak, bude snaha o to, aby se zvířata měla dobře, a tím jsme zajistili vhodné podmínky pro reprodukci.	

4.1) Popis jednotlivých typů pokusných klecí:

Klec typu A

Kontrolní typ klece sloužící pro pozorování normálního průběhu gravidity, jako základní zdroj informací sloužící k porovnání. Chovný pár ponechán i po indikaci vaginální zátky do porodu pospolu. Podestýlka čistá (či od připuštěného samce).

Klec typu B

Typ klece B slouží k zopakování Bruce efektu pomocí nepřímého kontaktu samice s cizím samcem močí. Podestýlka čistá (či od původního připuštěného samce). Po indikaci vaginální zátky původní samec z klece vyjmut a podestýlka nahrazena podestýlkou od cizího dospělého samce. Takto samice držena po dobu dalších 21 dní či do porodu. Pach cizího samce by měl způsobit blokádu gravidity, neboť látky obsažené v moči cizího samce (peptidové ligandy, 17β -estradiol) ve svém důsledku způsobí supresi hormonů samice (prolaktin, oxytocin) a tím vyblokuje implantaci blastocysty v děložním endometriu.

Klec typu C

Klec C slouží též k modifikaci situace Bruce efektu s tím, že byl nový dospělý samec ponechán se samicí po dobu obvyklé březosti. Po indikaci vaginální zátky byla provedena výměna samce za dospělého samce cizího a tento nový pár držendo porodu. Testovaným efektem je, že pokud bude mít albinotická samice, oplodněná předchozím samcem dostatek prostoru se samcem novým, přesvědčí ho aktivním proceptivním a receptivním chováním, že je on otcem později narozených mláďat. Předpokládá se proto, ve srovnání se samicemi v kleci B, že budou samice v kleci C statisticky významně častěji schopny donosit a porodit mláďata. Jako cizí samec byl použit samec rozdílného zbarvení, aby bylo jasné i bez testů paternity, který ze samců byl otcem mláďat.

5) Výsledky

Pro lepší interpretaci výsledků budou nejprve představena data dle typu klecí. Poté budou statisticky vyhodnocena.

Klece typu A

Samice s jedním samcem po celou dobu březosti. V tomto typu klece A bylo, dle očekávání, celkem 14/14 možných porodů (Tabulka 1).

Tabulka 1: Výsledky dat u klecí typu A (Váha- gramy, Věk- dny)

Samice	Váha	Věk	Samec 1	Váha	Věk	Zátka	Porod
ICR(CD1)		51	K12HT1D		54	10.11.2016	29.11.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		61	17.11.2016	6.12.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		60	17.11.2016	6.12.2016
ICR(CD1)		56	C57Bl/6J		66	5.12.2016	23.12.2016
ICR(CD1)		54	C57Bl/6J		61	23.11.2016	12.12.2016
ICR(CD1)		54	C57Bl/6J		61	27.11.2016	15.12.2016
ICR(CD1)		61	C57Bl/6J		70	1.12.2017	20.12.2016
ICR(CD1)	28	59	C57Bl/6J	24,5	54	26.1.2017	14.2.2017
ICR(CD1)	25,8	54	C57Bl/6J	22	54	10.1.2016	28.1.2017
ICR(CD1)	35,6	62	K12HT1D	24,8	52	10.2.2017	28.2.2017
ICR(CD1)	32,4	62	K12HT1D	27,4	52	8.2.2017	27.2.2017
ICR(CD1)	33,5	70	K12HT1D	29	81	23.3.2017	10.4.2017
ICR(CD1)	30,7	70	K12HT1D	24,9	65	17.3.2017	4.4.2017
ICR(CD1)	32	70	C57Bl/6J	27,5	64	16.3.2017	3.4.2017

Klece typu B

Samice po indikaci zátky dána na podestýlku od cizího samce. V klecích typu B jsme se snažili napodobit podmínky pokusu paní Bruceové. Z 15 možností se však blokáda březosti potvrdila jen v 1 případě (se samcem kmene C57Bl/6J). Samice vrh donosila s pravděpodobností 93,33% a tím se k překvapení značně odklonila od očekávání.

Tabulka 2: Výsledky dat u klecí typu B (Váha- gramy, Věk- dny)

Samice	Váha	Věk	Samec 1	Váha	Věk	Podestýlka	Váha	Věk	Zátka	Porod
ICR(CD1)		51	K12HT1D		54	C57Bl/6J		52	10.11.2016	29.11.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		61	C57Bl/6J		54	28.11.2016	17.12.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		60	C57Bl/6J		59	21.11.2016	10.12.2016
ICR(CD1)		56	C57Bl/6J		61	K12HT1D		67	22.11.2016	BRUCE EFEKT
ICR(CD1)		54	C57Bl/6J		68	K12HT1D		75	30.11.2016	20.12.2016
ICR(CD1)	30,6	61	C57Bl/6J	25	54	K12HT1D	25,5	46	12.1.2017	30.1.2017
ICR(CD1)	32,9	54	C57Bl/6J	27	50	K12HT1D	25,5	72	27.1.2017	14.2.2017
ICR(CD1)	38	70	C57Bl/6J	27	66	K12HT1D	27,6	52	26.1.2017	13.2.2017
ICR(CD1)	27	57	K12HT1D	22,4	52	C57Bl/6J	22,7	52	11.2.2017	1.3.2017
ICR(CD1)	35,6	62	K12HT1D	24,8	53	C57Bl/6J		57	10.2.2017	28.2.2017
ICR(CD1)	35,6	90	C57Bl/6J	26	83	K12HT1D	31,2	86	27.4.2017	15.5.2017
ICR(CD1)	34,8	154	C57Bl/6J	27	126	K12HT1D	35,5	149	7.6.2017	25.6.2017
ICR(CD1)	34,8	154	C57Bl/6J	27,4	126	K12HT1D	35,6	129	11.6.2017	29.6.2017
ICR(CD1)	40,3	161	C57Bl/6J	30,1	133	K12HT1D	34,5	136	21.6.2017	10.7.2017
ICR(CD1)	50,8	138	C57Bl/6J	31,2	169	K12HT1D	33	137	25.6.2017	14.7.2017

Klece typu C

Samice po indikaci zátky byla přendána k cizímu samci. Z 23 dat se blokáda březosti prokázala v 6 případech (Tabulka 3). Samice donosila vrh překvapivě v 73,91 %. To bylo oproti očekávání, kdy se předpokládalo, že typ klece A a C budou mít přibližně stejné výsledky a blokáda březosti bude mít minimální či žádný výskyt. S původním samcem kmene K12HT1D samice udržela březost v 6 z 10 případů (60 %). Se samcem kmene C57Bl/6J samice udržela březost v 11 z 13 případů (84,61 %). Dále bylo zjištěno, že v 50 % výskytu Bruce efektu byl nepůvodní samec těžší než samice i původní samec a v 83,33% případů byl cizí samec těžší než původní samec.

Tabulka 3: Výsledky dat typu klecí C (Váha- gramy, Věk- dny)

Samice	Váha	Věk	Samec 1	Váha	Věk	Samec 2	Váha	Věk	Otec	Zátka	Porod
ICR(CD1)		51	K12HT1D		54	C57Bl/6J		52	K12HT1D	10.11.2016	29.11.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		61	C57Bl/6J		59	K12HT1D	16.11.2016	6.12.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		60	C57Bl/6J		59	K12HT1D	17.11.2016	6.12.2016
ICR(CD1)		56	C57Bl/6J		66	K12HT1D		68	C57Bl/6J	28.11.2016	17.12.2016
ICR(CD1)		54	C57Bl/6J		61	K12HT1D		67	C57Bl/6J	25.11.2016	12.12.2016
ICR(CD1)		61	C57Bl/6J		68	K12HT1D		75	C57Bl/6J	1.12.2016	27.12.2016
ICR(CD1)	29,3	59	C57Bl/6J	24,2	54	K12HT1D	25,5	47	C57Bl/6J	1.2.2017	20.2.2017
ICR(CD1)	30,3	54	C57Bl/6J	26,3	50	K12HT1D	26,5	47	C57Bl/6J	12.1.2017	30.1.2017
ICR(CD1)	31	70	C57Bl/6J	27	70	K12HT1D	27,6	62	K12HT1D	3.2.2017	26.2.2017
ICR(CD1)	33,8	62	K12HT1D	26	52	C57Bl/6J	23	57	K12HT1D	11.2.2017	1.3.2017
ICR(CD1)	25,8	57	K12HT1D	21,8	52	C57Bl/6J	22,7	57	C57Bl/6J	10.2.2017	6.3.2017
ICR(CD1)	32,6	66	K12HT1D	26,8	79	C57Bl/6J	20	60		11.3.2017	
ICR(CD1)	33,5	66	K12HT1D	27,8	79	C57Bl/6J	20,9	60	K12HT1D	10.3.2017	29.3.2017
ICR(CD1)	31	68	C57Bl/6J	27,2	64	K12HT1D		79	C57Bl/6J	15.3.2017	2.4.2017
ICR(CD1)	32,7	90	C57Bl/6J	25,5	83	K12HT1D	33,4	86	K12HT1D	25.4.2017	18.5.2017
ICR(CD1)	29,8	93	C57Bl/6J	26,6	83	K12HT1D	31,2	86	C57Bl/6J	27.4.2017	15.5.2017
ICR(CD1)	29,3	93	C57Bl/6J	27	83	K12HT1D	32	86	C57Bl/6J	28.4.2017	16.5.2017
ICR(CD1)	36,3	137	C57Bl/6J	31,1	154	K12HT1D	35,6	133	C57Bl/6J	10.6.2017	28.6.2017
ICR(CD1)	51,4	141	K12HT1D	33	136	C57Bl/6J	29,4	158	K12HT1D	18.6.2017	16.7.2017
ICR(CD1)	54,4	138	C57Bl/6J	36	148	K12HT1D	33	136	C57Bl/6J	26.6.2017	15.7.2017
ICR(CD1)	43	162	C57Bl/6J	26,6	136	K12HT1D	35	138	C57Bl/6J	3.7.2017	21.7.2017
ICR(CD1)	35,4	144	K12HT1D	31,8	137	C57Bl/6J	37,8	134		17.6.2017	
ICR(CD1)	39,1	162	K12HT1D	30,7	136	C57Bl/6J	39,7	179		22.6.2017	

Statistické vyhodnocení

Z 52 případů napříč všemi skupinami došlo k blokádě březosti pouze v 7 případech z 52 (Tabulka 4), případně z 38, pokud se vezmou v úvahu podmínky pro vznik efektu Bruceové. Pravděpodobnost, že dojde k blokádě březosti podle skupiny se nepotvrdila, $F_{(2, 49)}=0,98$, $P=0,38$). Výsledky nebyly ovlivněny ani věkem samice. Naše hypotéza H1 byla tedy zamítnuta a potvrzena nulová H0.

Tabulka 4: Frekvence výskytu blokády březosti.

Blokáda reprodukce	Skupina			Celkem
	A	B	C	
Ano	0 0.00%	1 6.67%	6 26.09%	7
Ne	14 100.00%	14 93.33%	17 73.91%	45
Total	14	15	23	52

H1: Když se k zabřezlé samici přidá dospělý samec, který není otcem jejích fetů, samice přesvědčí tohoto samce promiskuitním chováním, že je on otcem a zabrání tak blokáde březosti. Mezi úspěšností donošených vrhů původních samců v klecích s původním samcem (typ klece A) a novým samcem ponechaným se samicí (typ klece C) nebude rozdíl, zatímco samice ze skupiny, ve které bude samice po páření přenesena na podestýlku cizího samce k blokáde březosti dojde ve větší míře (klec typu B).

ZAMÍTNUTA

H0: Když se k zabřezlé samici přidá dospělý samec, který není otcem jejích fetů, samice nepřesvědčí tohoto samce promiskuitním chováním, že je on otcem a nezabrání tak blokáde březosti. Mezi úspěšností donošených vrhů původních samců v klecích s původním samcem a novým samcem ponechaným se samicí bude rozdíl, zatímco samice ze skupiny, ve které bude samice po páření přenesena na podestýlku cizího samce k blokáde březosti nedojde ve větší míře.

POTVRZENA

6) Diskuze

V našem pokusu jsme nepotvrdili cílenou hypotézu, jež vycházela z myšlenky, že samice, pokud bude mít možnost interakce s cizím samcem, udrží si březost s původním samcem častěji než pouze u vyměněné podestýlky. Dokonce jsme nedokázali zopakovat ani výsledky původního experimentu Bruceové (1959), jelikož ve skupině klecí typu B, s vyměněnou podestýlkou od cizího samce, došlo k pouhému 1 případu blokády březosti z 15 (6,67 %). Typ klece B existenci efektu Bruceové nepotvrdil. Překvapivě tedy mezi kontrolní skupinou typu A, se stálým párem, a skupinou typu B nebyl významný statistický rozdíl. Data překvapila také u typu klece C, kde se samci fyzicky vyměnili. Zde došlo k výskytu blokády březosti v 6 z 23 případů (26,09 %). Není zcela jasné, z jakých důvodů k těmto výsledkům došlo. Bylo ovšem zjištěno, že v 50 % výskytu blokády březosti byl nepůvodní samec těžší než samice i původní samec a v 83,33% případů byl cizí samec těžší než původní samec. To by mohlo podpořit teorii, že má samice schopnost si vybrat partnera ke spáření dle jeho kvalit (Kavaliers et al. 2003). Ovšem teoreticky by i tak měl být procentuální výskyt Bruce efektu spíše vyšší než u získaných dat. Nabízí se také teorie, že blokáda implantace blastocyst (Bruce efekt) dosti závisí na míře stresu u dané samice. Tento fakt potvrzují studie, které srovnaly laboratorní výzkumy (Hasler et Nalbandov 1974; Stehn et Richmond 1975; Getz et al. 1983; Carter et al. 1981) s výzkumy provedenými v prostředí podobnému přírodnímu (Mahady et Wolff, 2002) u stejného druhu hraboše preriového *Microtus ochrogaster*. Zde byl také velký rozdíl mezi daty, teoreticky kvůli možnosti využití větší plochy. Zvířata si mohla najít své vlastní místo a vyhnout se tak přímému stresu. Dalšími studiemi podporující teorii efektu stresu je studie dželád *Theropithecus gelada* (Roberts et al. 2012). Ty vykazují vysokou míru blokády březosti, jakmile se vystřídají nejvýše postavení samci. Teoreticky by nemusely přijít ani do styku s močí, avšak sesazení samce je pro ně tak stresovým zážitkem, že spustí vlnu blokády březosti. Je to pravděpodobně příčinou faktu, že je tento druh typický vysokou infanticidou mláďat ze strany nových samců v čele hierarchie tlupy. Dle uspořádání se jedná o smíšenou skupinu s dominantním samcem. Dle studie z roku 2014 u druhů žijících ve smíšených skupinách se vyskytuje infanticida z 66 % ze 112 druhů savců a 15 sledovaných druhů s dominantním se pak vyskytuje infanticida z 67 % (Dieter et Elise, 2014). Z dalších studií, které podporují tvrzení o hlavním vlivu stresu v tomto efektu, můžeme zmínit práci Bartoše, a to výzkumy tohoto jevu u psů a koní. Z výsledků výskytu blokády březosti u psů (Bartoš et al. 2016) vyšly tyto výsledky: u krytých fen cizím psem, které jinak byly chované individuálně v kotci, byla míra selhání reprodukce 27 %, u fen, které byly součástí smíšených

smeček pak 10 % a u fen, které byly součástí smeček pouze fen 9 %. U fen, které jsou součástí smečky je procento menší, pravděpodobně z důvodu, že nemožnost styku s dalším jedincem svého druhu je pro tento druh největším stresovým faktorem. Psi jsou smečkové zvíře, u kterých smečka hraje důležitou životní roli. Pro narozená mláďata je větší nebezpečí osamocená matka, než infanticida cizích samců či samic. Tím se selhání reprodukce statisticky příliš neliší ve smíšené skupině psů a ve skupině fen. Tím se situace odlišuje od klasického Bruce efektu (Bartoš et al. 2011, 2015). Z dat výzkumu blokady březosti u koní (Bartoš et al. 2011,2015) vyšlo, že klisny připuštěné cizím hřebcem, které po navrácení byly oddělené od svého původního hřebce vykazovaly četnost blokady v 54 % případů, na rozdíl od klisen, které po navrácení byly se svým hřebcem pospolu. Interpretace je stejná jako v případě studie na psech (Bartoš et al. 2016). Výsledky metodicky podobných výzkumů vycházejí data podobně, jako například u laboratorních pokusů výše zmíněného hraboše prériového. Změní-li se alespoň trochu metodika pokusu, mají tendenci se tato data lišit, ačkoli se jedná o stejný druh. Je tedy možné, že druhy, u kterých nebyl Bruce efekt zaznamenán, jak je zmíněno v literární rešerši například u křečka zlatého (Handelmann et al. 1980, Wang et al. 2010) bude objeven jinou prací s jinou metodikou, či naopak druhy u kterých byl popsán, nebudou znovu zaznamenány. Dobrým příkladem pro tuto myšlenku je i výzkum potkana obecného. Všechny výzkumy (Taleisnik et al. 1966; Cooper et Haynes 1967; Vandenberg 1976) naznačovaly, že u tohoto druhu Bruce efekt není. Až v roce 2011 byla ve Vídni učiněna studie, jež Bruce efekt u tohoto druhu potvrdila (Marashi et Rüllicke 2011). Otázkou pro příští výzkumy tedy nebude pravděpodobně, má či nemá-li daný druh blokádu březosti, ale mechanismy, které efekt blokady březosti spouštějí a v jaké míře. Spíše než zaměření na jeden druh, pro porovnání zaměření na více. Spíše než jedna metodika, pro porovnání metodik několik. Je totiž stále mnoho neznámých, jež mají za následek variabilitu tohoto efektu a bez nutné variability pokusů zůstanou neznámé v rovnici stále neznámé. Bude také nutno sjednotit poznatky fyziologické a behaviorální. Už nyní se z hlediska fyziologie Bruce efektu hovoří o vlivu noradrenalinu, stresového hormonu. Jeho vliv pro vznik pachové paměti popsal již v roce 1995 pan Brennan et al. (1995), avšak jeho přesná funkce zatím není známa. Dá se však konstatovat, že výzkum jde pravděpodobně pomalu dobrým směrem a jednotlivé dílky do sebe, po několika desítkách let od objevu tohoto efektu, začínají zapadat. Bude ovšem nutné vymezit Bruce efekt z hlediska fyziologie. Primárně se totiž hovoří o vlivu moči a látek v ní obsažených, které vyvolají v mozku kaskádovou reakci, která končí znemožněním implantace fetů na stěnu děložního endometria (Brennan et Peele 2003).

Zůstává otázkou, zda definovat Bruce efekt jako receptorickou dráhu přes vomeronasální orgán (Bellringer et al. 1980, Monti-Bolch et al. 1998), nebo jako systémovou odpověď organismu na hormony produkované mozky. Bruce efekt je tedy tématem široce rozebíraným a populárním, což má i vedlejší efekt. Při studiu literatury byly zjištěny i situace, že je někdy Bruce efektem nazýváno něco, co Bruce efektem není (Greenfield 1968).

7) Závěr

Hypotéza, že v kleci typu C bude menší míra Bruce efektu, díky možnosti samice přesvědčit promiskuitním chováním cizího samce, jež není otcem jejích fetů, o jeho otcovství, oproti kleci typu B, kde je samice přendána po indikaci vaginální zátky na podestýlku od cizího samce, se nepotvrdila. V klecích C byla četnost blokády březosti překvapivě až v 26,09 % a v klecích typu B překvapivě naopak pouhých 6,67 %. V porovnání je toto číslo značně nižší, než u původního výzkumu M. H. Bruceové (1959) kde tato míra, byť s jinou metodikou, vyšla 28 % a naše studie tedy nepotvrzuje jeho výsledky. Statisticky se ani nepotvrdil vliv věku samice. Zajímavé však byla data při pohledu na tělesné hmotnosti. Z dat bylo zjištěno, že v 50 % výskytu blokády březosti byl nepůvodní samec těžší než samice i původní samec a v 83,33% případů byl cizí samec těžší než původní samec. Přestože to nebylo předmětem naší hypotézy, pro další výzkum se dá doporučit zaměření na tento znak. Nabízí se ještě teorie, že fyzický kontakt se samcem, je pro druh myši domácí *Mus musculus* důvodem k vyšší četnosti blokády březosti, než pouze u pachového vjemu, kontaktu zprostředkovaném. Pro zkoumání blokády březosti na základě naší zkušenosti můžeme doporučit větší variabilitu zkoumaných znaků, například stáří (ačkoli se u nás vliv nepotvrdil), váhy, přítomnosti a kvality samce původního a cizího, možností vlivu sociální struktury, vlivů behaviorálních, zkrátka všech okolností, které mohou být potenciálním stresem pro matku. Experimenty by bylo také vhodné opakovat, jelikož i v literatuře jsou zmiňovány případy, kdy u stejného druhu došlo k rozdílným výsledkům.

8) Seznam literatury

Arakawa H., Blanchard D. C., Arakawa K., Dunlap Ch., Blanchard R.J.: 2008: Scent marking behavior as an odorant communication in mice. *Neurosci. Biobehav.* 32. s. 1236–1248.

Bartoš L., Bartošová J., Chaloupková H., Svobodová I. 2016: A sociobiological origin of pregnancy failure in domestic dogs. *Scientific Reports* 6.s. 22188.

Bartoš L., Bartošová J., Pluháček J. 2015: Pregnancy disruption in artificially inseminated domestic horse mares as a counterstrategy against potential infanticide. *Journal of Animal science* 93. s. 5465-5468.

Bartoš L., Bartošová J., Pluháček J., Šindelářová J. 2011: Promiscuous behaviour disrupts pregnancy block in domestic horse mares. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 65. s. 1567-1572.

Bartoš L., Madlafousek J. 1994: Infanticide in a seasonal breeder: The case of red deer. *Anim. Behav.* 47 (1). s. 217-219.

Bellringer J.F., Pratt H. P. M., Keverne E. B. 1980: Involvement of the vomeronasal organ and prolactin in pheromonal induction of delayed implantation in mice. *J. Reprod. Fert.* 59. s. 223–228.

Brennan P. A., Peele P. 2003: Towards an understanding of the pregnancy-blocking urinary chemosignals of mice. *Biochem. Soc.* 31. s. 152–155.

Brennan P.A., Kendrick K. M., Keverne E.B. 1995: Neurotransmitter release in the accessory olfactory bulb during and after the formation of an olfactory memory in mice. *Neuroscience* 69. s. 1075–1086.

Bronson F. H. 1989: Mamalian reproductive. The university of Chicago press, Chicago and London, 336 stran. ISBN 0-226-07559-1

- Bruce H.M. 1959: An exteroceptive block to pregnancy in the mouse.** *Nature* 184. s. 105.
- Carter C. S., Getz L. L., Gavish L., Arnold P. 1981: Male-related pheromones and the activation of female reproduction in the Prairie Vole (Microtus ochrogaster).** *Biol. Reprod.* 23. s. 1038-45. (PubMed)
- Cooper K. J. et Haynes N. B. (1967) Modification of the oestrous cycle of the underfed rat associated with the presence of the male.** *J. Reprod. Fert.* 14. s. 317.
- Desjardins C., Maruniak J.A., Bronson F.H. 1973: Social rank in house mice: Differentiation revealed by ultraviolet visualization of urinary marking patterns.** *Science* 182. s. 939–941.
- Dieter L., Elise H., 2011: The evolution of infanticide by males in mammalian societies.** *Science* 14. s. 841-844.
- Drickamer L.C. 1989: Patterns of deposition of urine containing chemosignals that affect puberty and reproduction by wild stock male and female house mice (Mus domesticus).** *J. Chem. Ecol.* 15. s. 1407–1421.
- Greenfield M. 1968: The Bruce Effect and Malinowski's Hypothesis on Mating and Fertility.** *American Anthropologist* 4. s. 759-761.
- Handelmann G., Ravizza R., Ray W. J. 1980: Social dominance determines oestrus entrainment among female hamsters.** *Horm. Behav.* 14. s. 107-115.
- Handelmann, G., Ravizza R., Ray W. J. 1980: Social dominance determines estrous entrainment among female hamsters.** *Horm. Behav.* 14.s. 107–115.
- Hrdy S. B. 1979: Infanticide among animals: a review, classification, and examination of the implications for the reproductive strategies of females.** *Ethol. Sociobiol.* 1. s. 13-40.

- Huck U.W. 1982: Pregnancy block in laboratory mice as a function of male social status.** *Journals of Reproduction and Fertility* 66. s. 181-184.
- Kavaliers M., Colwell D.D., Braun W.J., Choleris E. 2003: Brief exposure to the odour of a parasitized male alters the subsequent mate odour responses of female mice.** *Anim. Behav.* 65. s. 59–68.
- Ma W., Allen N.D., Van Bergen S.C.H., Jones C.M.E., Baum M.J., Keverne E. B., Brennan P. 2002: Selective ablation of olfactory receptor neurons without functional impairment of vomeronasal receptor neurons in OMP-ntr transgenic mice.** *Eu. J. Neurosci.* 16. s. 2317–2323.
- Marashi V., Rüllicke T. 2012: The Bruce effect in Norway Rats.** *Biol. Reprod.* 86. s. 1-5.
- Monti-Bloch L., Diaz-Sanchez V., Jennings-White C., Berliner D. L. 1998: Modulation of serum testosterone and autonomic function through stimulation of the male human vomeronasal organ (VNO) with pregna-4,2-diene-3,6-dione.** *The journal of Steroid biochemistry and Molecular biology* 65. s. 237-242. (BioMed)
- Nag M., Badfort M. 1969: Promiscuity and fertility: comments on Greenfield's The Bruce effect and Malinowski's hypothesis on mating and fertility.** *American Anthropology* 71. s. 1119-1122.
- Parkes A.J., Bruce H.M. 1961: Olfactory stimuli in mammalian reproduction.** *Science* 134. s. 1049–1054.
- Roberts E. K., Lu A., Bergman T. J., Beehner J. C. 2012: A Bruce Effect in Wild Geladas.** *Science* 9. s. 1222-1225.
- Serguera C., Triaca V., Kelly-Barrett J., Al Bauchaabouchi M., Mimichiello L. 2008: Increased dopamine after mating impairs olfaction and prevents odor interference with pregnancy.** *Nat. Neurosci.* 11. s. 949–956.

Swagmayer P.L. 1979: The Bruce effect: An evaluation of male/female advantages. *The American Naturalist* 114. s. 932-938

Taleisnik, S., Caligaris, L. & Astrada, J.J. 1966: Effect of copulation on the release of pituitary gonadotropins in male and female rats. *Endocrinology* 79. s 49-54.

Thom M. D., Hurst J. L. 2004: Individual recognition by scent. *Ann. Zool. Fennici* 41.s. 765–787.

Van Schaik C. P. 2016: The Primate Origin of Human Nature. Wilay-Blackwell. New Yersey. USA, 560 s., ISBN: 978-0-470-14763-4.

Vandenberg J. G. 1976: Acceleration of sexual maturation in female rats by male stimulation. *J. Reprod. Fertil.* 46. s. 451-453.

Wang Y., Zhao X., Zhu S., Liu D. 2010: No Bruce effect in the golden hamster. *Acta Theriologica Sinica* 30. s. 418-423.

9) Seznam příloh

9.1) Seznam obrázků

Obrázek 1: Výskyt infanticidy napříč vybranými druhy savců (n=260) (Dieter et Elise 2014)	str. 4
Obrázek 2: Schéma Bruce efektu (Brennan et Peele 2003)	str. 6
Obrázek 3: Seznam druhů studovaných ohledně Bruce efektu (z knihy F. H. Bronson: Mammalian reproductive 1989)	str. 9
Obrázek 4: Úspěšnost zabřeznutí u klisen cizím samcem (Bartoš et al. 2015)	str. 12
Obrázek 5: Grafické znázornění úspěšnosti donošení vrhu fen (Bartoš et al. 2016)	str. 13
Obrázek 6: Hodnoty neúspěšnosti zabřeznutí fen u různých plemen (Bartoš et al. 2016)	str. 14
Obrázek 7: Projekt pokusů k projektu	str. 17

9.2) Seznam tabulek

Tabulka 1: Výsledky dat u klecí typu A (Váha- gramy, Věk- dny)	20
Tabulka 2: Výsledky dat u klecí typu B (Váha- gramy, Věk- dny)	21
Tabulka 3: Výsledky dat typu klecí C (Váha- gramy, Věk- dny)	22
Tabulka 4: Frekvence výskytu blokády březosti.	23

9.3) Použité zdroje publikací

PubMed dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

ResearchGate dostupné z <https://www.researchgate.net/home>