

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chovu hospodářských zvířat**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Využití biotechnologických metod reprodukce v chovu  
dojnic**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Aneta Güntherová**

**Obor studia: Živočišná produkce**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Lukáš Zita, Ph.D.**

© 2022 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití biotechnologických metod reprodukce v chovu dojnic" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2022

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Doc. Ing. Lukášovi Zitovi, Ph.D. za odborné vedení, vstřícnost a trpělivost při zpracování této bakalářské práce.

# Využití biotechnologických metod reprodukce v chovu dojnic

## Souhrn

Hlavním cílem bakalářské práce je charakteristika a popis základních principů biotechnologických metod reprodukce využívaných v chovu dojného skotu.

Inseminace dojnic je nejvíce používaná metoda a jeden z nejefektivnějších postupů k oplození samice. Díky inseminaci se využívá sperma od otců s výbornými vlastnostmi, a tak je možné od nich získat více potomků, což ulehčuje také kryokonzervace semene. Jeden z nejdůležitějších faktorů je detekce říje a okamžitá inseminace. Udává se, že až 30 % krav je inseminováno v nevhodnou dobu. K vyhledání detekce říje je uplatňován synchronizační program s využitím hormonálních přípravků a sledování vnějších příznaků.

Vzhledem k welfare krav a telat se doporučuje využívat sexované spermie, kde je až z 93 % pravděpodobnost narození jalovice a odstranění nefunkčních spermií. Sexace má také významný vliv na porodní problémy, šlechtitelské a ekonomické prvky v chovu dojnic.

Synchronizace říje je limitujícím faktorem pro další rozvoj chovu. Umožňuje načasování estra do určitého termínu a zefektivnit tak inseminaci.

Embryotransfer umožňuje produkci potomstva od eminentních rodičovských párů při zkrácení generačního intervalu a je významný díky nechirurgické technice jeho uskutečnění. Umožňuje využití genetického potenciálu již vyřazených dojnic, popřípadě uchovávat embrya ohrožených plemen, čímž lze zabránit jejich vyhynutí. Podobný význam má náročnější metoda reprodukce embryí *in vitro*.

Využíváním dostupných biotechnologických metod v reprodukci dojnic se zlepšuje genetický zisk. Jako příklad, je uvedena 1. zemědělská a.s. Chorušice akciová společnost, kde dochází k využívání genomického testování jalovic, embryotransferu, sexovaných inseminačních dávek, produkce embryí *in vitro* a je zřetelné, že dochází k výraznému zvýšení denní užitkovosti.

**Klíčová slova:** biotechnologie, reprodukce, embryotransfer, skot, inseminace, sexace, říje

# Use of biotechnological methods of reproduction in dairy cows

## Summary

The main aim of the bachelor thesis is to characterize and describe the basic principles of biotechnological methods of reproduction used in dairy cattle breeding.

Insemination of dairy cows is the most widely used method and one of the most effective procedures to inseminate a female. Through insemination, semen from sires with excellent characteristics is used and more offspring can be obtained from them, which is also facilitated by semen cryopreservation. One of the most important factors is estrus detection and immediate insemination. It is reported that up to 30 % of cows are inseminated at the wrong time. A synchronisation programme using hormonal preparations and monitoring of external signs is applied to find estrus detection.

With regard to cow and calf welfare, it is recommended to use sexed semen where there is up to 93% probability of heifer birth and removal of defective and dead sperm. Sexation also has a significant effect on birth problems, breeding and economic elements in dairy farming.

Synchronisation of estrus is a limiting factor for further development of the breed. It allows estrous timing to be timed to a specific date, thus making insemination more efficient.

Embryotransfer allows the production of offspring from eminent parental pairs while shortening the generation interval and is important due to the non-surgical technique of its implementation. It allows the genetic potential of cull cows to be exploited, or embryos of endangered breeds to be preserved, thus preventing their expulsion. The more demanding method of in vitro embryo reproduction is of similar importance.

The use of available biotechnological methods in dairy cow reproduction improves genetic gain. The difference is visible in the 1st Agricultural Inc. Chorušice joint stock company, where the use of genomic testing of heifers, embryo transfer, sexed insemination doses, in vitro embryo production and a significant increase in daily yield is evident

**Keywords:** biotechnology, reproduction, embryo transfer, cattle, insemination, sexation, estrus

## Obsah

1	Úvod.....	7
2	Cíl práce .....	9
3	Literární rešerše .....	10
3.1	Inseminace skotu .....	10
3.2	Sexace spermíí .....	15
3.3	Synchronizace říje.....	19
3.4	Mnohonásobná ovulace a embryotransfer (MOET) .....	23
3.5	<i>In vitro</i> produkce (IVP).....	29
3.6	Transgenoze a klonování .....	31
3.7	Využití biotechnologických metod v chovu dojného skotu u nás .....	32
4	Závěr.....	40
5	Literatura.....	42
6	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	47
7	Seznam příloh .....	48

# 1 Úvod

Chov skotu je jedním ze stěžejních odvětví živočišné výroby. Moderní chov skotu je především výsledkem technického a technologického pokroku, zajištění všech potřeb zvířat a zápalu chovatelů. Šlechtění a reprodukce skotu je kontinuálním procesem, který je nezbytným předpokladem chovatelské ekonomiky. Pro maximální využití reprodukčního potenciálu zvířat je mimo mnoha dalších opatření rozhodující využití dostupných teoretických a praktických vědomostí, a to v celé oblasti fyziologie pohlavního cyklu dojníc.

V oblasti chovu dojného skotu a výroby mléka v České republice lze konstatovat, že se jedná o poměrně stabilní sektor s vysokou soběstačností a potenciálem pro další rozvoj. V České republice se zvyšuje užitkovost dojníc za laktaci, čímž se současně zvyšuje celková produkce mléka (z 2 645,70 mil. l v roce 2003, na 3 072,8 mil. l v roce 2019) i když počet krav se s určitými výjimkami snižuje (MZe 2021). Podle statistických údajů k 31. prosinci 2020 se stavy skotu proti stejnému období předchozího roku dále snížily o 27,0 tis. kusů (tj. o 2,0 %), z toho počet krav ostatních se snížil o 6,0 tis. ks (tj. o 2,9 %) a počet dojených krav se snížil o 4,4 tis. kusů (tj. o 1,2 %). Proti počátku 2. pololetí roku 2020 se stavy skotu snížily o 4,7 %, z toho stavy krav ostatních o 5,0 % a počet dojených krav o 0,4 %. Za rok 2020 dosáhla výroba mléka 3 181,8 mil. litrů, ve srovnání s minulým rokem se zvýšila o 3,5 %. Průměrná denní dojivost 24,30 litru se zvýšila o 4,7 %. Tržnost mléka dosáhla hranice 96,9 % (ČSÚ 2021).

Co se týče ukazatelů reprodukce kladně lze hodnotit zejména délku mezidobí holštýnské populace, které dosáhlo 400 dnů (i když ideální mezidobí je 365 dní), holštýnský skot je nejvíce zastoupené plemeno skotu v České republice. Současně s tím věk jalovic při prvním otelení stejného plemene byl 24 měsíců a 17 dnů (Agropress 2021). Na 100 krav se narodilo 99,2 kusů telat a odchovalo se 93,1 kusů telat (tj. o 0,5 % více). Úhyn telat do 3 měsíců činil 6,1 % z počtu narozených (o 0,1 % bodu méně) (ČSÚ 2021). V letech 2014 až 2019 bylo zaznamenáno snížení celkového počtu prvních inseminací, i když v roce 2019 došlo meziročně k mírnému zvýšení počtu březích krav po všech inseminacích. Na celkovém počtu prvních inseminací se v roce 2019 podílely 57,7 % krávy holštýnské plemene (včetně ostatních dojných plemen), 36,4 % dojnice českého strakatého plemene (včetně ostatních plemen s kombinovanou užitkovostí) a 5,9 % masná plemena skotu. Přičemž zabřezávání plemenic po první inseminaci bylo výrazně vyšší u masných plemen skotu (62,8 % u krav a 70,9 % u jalovic), než tomu bylo u plemen zaměřených na mléčnou produkci.

Biotechnologické metody v reprodukci dojnic, jsou významným pomocníkem pro zlepšování genetického složení chovných stád, tedy k maximalizaci genetického zisku. Tyto metody jsou založeny především na anatomii, biochemii, biotechnologii, reprodukční fyziologii, endokrinologii a molekulární biologii, přičemž počáteční zásadní změnu pro šlechtění zvířat přinesla umělá inseminace skotu, která se začala postupně rozšiřovat již začátkem minulého století. Její největší rozvoj však nastal po druhé světové válce, kdy se začaly intenzivně studovat otázky dlouhodobé konzervace spermií.

V dnešní době se mezi základní biotechnologické metody v reprodukci dojnic především řadí synchronizace říje, synchronizace ovulace, inseminace, vícečetná ovulace a embryotransfer, *In vitro* fertilizace (IVF), sexování spermií apod. K velkým změnám ve využití biotechnologických metod došlo v posledních několika letech při jejich propojení s moderními informačními systémy při současné analýze získaných dat. Pro dosažení dobré reprodukce je totiž také důležitý náležitý výběr kombinace rodičovských párů, kdy na straně býků se jedná i o využití býků s kladnou plemennou hodnotou pro plodnost a u krav uplatnění dojnic s velmi dobrým zabřezáváním a selekcí těch, které mají opakovaně různé reprodukční problémy. Z uvedených důvodů bude bakalářská práce čerpat z vědeckých a odborných publikací, ale také z analýzy dalších odborných textů, ale i materiálů plemenářských služeb, výzkumných ústavů a předních chovatelských sdružení či jednotlivých chovatelů skotu v České republice i v zahraničí.



## **2 Cíl práce**

Cílem práce bude charakteristika a popis základních principů biotechnologických metod reprodukce využívaných v chovu skotu.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Inseminace skotu

Inseminace je velmi používaná metoda asistované reprodukce u domácích i volně chovaných zvířat (Gordon 2004). Nejvíce využívaná je však v chovech skotu (Parish et al. 2016).

Inseminace dojnic představuje jeden z nejefektivnějších postupů přenosu požadovaných genetických vlastností do populace skotu. Pro inseminaci však musí být vybírání prověřeni potomci rodičů s nejvyšší plemennou hodnotou, která vychází ze strategie šlechtitelského programu dané populace. Díky vzniku většího selekčního tlaku na samce se zvyšuje genetický potenciál zvířat. Pomocí inseminace lze zabezpečit efektivní využití spermatu a získat více potomků od otců s nejlepšími výsledky (Perez-Marin 2012).

K rozšíření inseminační metody došlo v druhé polovině minulého století. Dle Loudy (2008) se v té době inseminovalo čerstvým spermatem, ředěným žloutko-citrátovým ředidlem a uchovávaným při teplotě +2 až +4 °C. Takto konzervovaným spermatem je možno úspěšně inseminovat 2 výjimečně 3 dny. Z jednoho ejakulátu se dalo připravit 30-50 inseminačních dávek (ID).

Na tento způsob inseminace navázala technologie hlubokého zmrazování spermatu, při které mohou být ID skladovány dlouhodobě, aby mohly být využívány v celé populaci (Kliment 1989). Podobně Říha et al. (1998) a Hanuláková & Máchal (2011) uvádějí, že k rozhodující kvalitativní změně ve využití inseminace došlo až po úspěšném vývoji metod kryokonzervace a dlouhodobého uchování býčího spermatu v prostředí tekutého dusíku a jejím zavedení do široké praxe. Pod tímto způsobem je stále ještě nutné si představit vpravení semene do pohlavních orgánů plemence za pomoci zkušeného inseminačního technika. Problémem však nadále zůstala často nízká detekce říje, která představuje vážný problém výrazně snižující reprodukční výkonnost, a tak užitkovost a ekonomickou prosperitu v chovech mléčného skotu (Skládanka 2014). Proto by se měla detekce říje realizovat minimálně dvakrát, lépe 3x až 4x denně (Bouška 2006). Je totiž uváděno, že více jak polovina přeběhnutých krav či jalovic je v důsledku selhání lidského faktoru (Staněk et al. 2009). Fricke (2018) doporučuje následující postup při vyhledávání říje:

- Vyhledávání říje minimálně v 3 až 4 dvacetiminutových intervalech rovnoměrně rozdělených během dne.
- Nekombinovat detekci říje s dalšími činnostmi jako je krmení, úklid a dojení.

Pro lepší názornost jsou v tabulce 1 uvedeny základní parametry reprodukce skotu, tak jak je uvádějí Staněk & Kosová (2009).

Tabulka 1: Základní parametry reprodukce skotu (Staněk & Kosová 2009)

Parametr	Hodnota
Délka říje	14-30 hodin
Ovulace vajíčka po skončení říje	Za 8 až 12 hodin
Nejvhodnější doba k zapuštění	Po 12 až 15 hodinách po začátku říje, nebo v její druhé polovině
Oploďňovací schopnost vajíčka	12 až 21 hodin po ovulaci
Oploďňovací schopnost spermií	20 až 28 hodin po inseminaci
ID	Musí obsahovat alespoň 10 miliónů aktivních spermií
Odběr semene od býka	1 odběr= až 150 vyrobených ID
První říje po porodu (po otelení)	30. až 45. den po porodu v závislosti na užitkovosti plemence
První inseminace po porodu	60. až 90. den po porodu v závislosti na zdravotním stavu, kondici a projevech říje
Doba involuce dělohy po porodu	Od 30. dne po porodu
Zabřezávání krav	38-60 %
Zabřezávání jalovic	60-70 %
Říje	Opakuje se v 20 až 21 denních cyklech

Určení doby inseminace vychází z následujících biologických jevů (Skládanka et al. 2014):

- Interval od objevení se reflexu nehybnosti do ovulace je  $27,6 \pm 5,4$  hodin.
- Transport životaschopných spermií do vejcovodu vyžaduje minimálně 6 hodin a počet spermií se progresivně zvyšuje od 8 do 18 hodin.
- Funkční životaschopnost zmražených spermií v reprodukčním traktu byla odhadnuta na 20–24 hodin.
- Protože maximální doba, po kterou si oocyt může udržet schopnost oplození je 20–24 hodin, je optimální perioda povážlivě krátká, odhaduje se na 6–12 hodin.

Při detekci říje je 30 % krav inseminováno v nevhodnou dobu (Roelofs et al. 2000). Udává se, že stačí inseminovat dojnice jedenkrát denně, a to okamžitě po rozeznání říje. Důvodem je to,

že chovatel nemusí vědět, jak dlouho je dojnice v říji, když jsou příznaky rozeznány (Ježková 2010; Fricke 2018).

Dle Loudy (2007) je z hlediska zabřeznutí nejvýhodnější, když se u říjících plemenic sledují následující příznaky:

- příznaky typické erotizace – skákání na jiná zvířata, snášení skoku jiných plemenic, olizování, bučení, nepokoj, kvantitativní a kvalitativní změny v mléčné produkci;
- změny na vnějších pohlavních orgánech – zduření vulvy, vylučování hlenu, posouzení a jeho kvalita, na vrcholu říje dosahuje tažnost hlenu až 300 mm – hlen je sklovitý, čirý, ke konci říje mírně zakalený;
- změny v tonusu dělohy – zvýšená dráždivost;
- otevření děložního krčku – lze zjistit pipetou;
- palpce Graafových folikulů;
- prohýbání se křížové oblasti, anální kontrakční reflex.

O načasování inseminace rozhodují vnější příznaky a také synchronizace říje, kterou je možné zefektivnit využitím synchronizačních programů. Pro synchronizaci říje se používají hormonální přípravky s obsahem prostaglandinů, progestiny a syntetickými progesterony (Stötzel et al. 2012; Sayid & Degefa 2021).

Při inseminaci se však musí brát zřetel i na to, že důležitým faktorem v reprodukci skotu je kvalita čerstvého ejakulátu, která významným způsobem ovlivňuje výslednou kvalitu ID. To potvrzují například Stádník et al. (2015), kteří uvádějí, že proces výroby ID snižuje motilitu spermií, proto počáteční kvalita ejakulátu je rozhodující pro výslednou kvalitu ejakulátu po rozmrazení. Louda et al. (2008) konstatují, že ejakulát býků se vyšetřuje a posuzuje v několika stupních: základní vyšetření, po zmrazení, před uložením do biologických kontejnerů, po vyjmutí z kontejneru, před vlastním prodejem, transportem nebo pouze preventivně. Základní vyšetření ejakulátu se provádí v laboratořích, přímo na inseminačních stanicích býků, a to nejpozději do 10 minut po odběru býka.

Základní charakteristiky ejakulátu u býků:

- objem ejakulátu je variabilní a kolísá, uvádí se však 2–8 cm<sup>3</sup>,
- koncentrace spermií 0,6-1,5 x 10<sup>6</sup> v mm<sup>3</sup>,
- celková produkce spermií v ejakulátu – 5–15 x 10<sup>9</sup> (Barszcz et al. 2012),
- aktivita – progresivní pohyb vpřed za hlavičkou – 45-75 % i více,

- pH pod 6,4 nebo nad 7,5 (vodnatý ejakulát) má sníženou oplozovací schopnost a nesmí se používat k inseminaci (Dhurvey et al. 2012),
- patologické spermie do 5 výjimečně až 20 % (Louda 2007).

U inseminace jsou uváděny dva způsoby jejího provádění, a to podle místa deponování spermatu a podle metody inseminace.

### **Inseminace dle místa deponování spermatu**

1. Intracervikální (vnitrokrčková) – ID se deponuje do děložního krčku do hloubky 1,5 cm inseminační pipetou. K inseminaci je nutné použít poševní zrcadlo-spekulum, které se zavádí 10-13 cm hluboko do pochvy. Louda et al. (2002) uvádějí, že kanálek děložního krčku se svým cervikálním hlenem, který zde působí jako přirozený filtr patologicky změněných spermií, je nejvhodnějším místem pro inseminaci.
2. Intrauterinní – je nejméně invazivní a nejjednodušší metodou asistované reprodukce. Celý postup spočívá v zavedení koncentrovaných spermií do dutiny děložní pomocí speciálního katetru, což usnadňuje cestu k vajíčku. Louda et al. (2002) upřesňují deponaci do děložního těla nebo k tomu rohu děložnímu, na němž je vyvinut Graafův folikul. Do běžné praxe se však tato metoda nedoporučuje.
3. Intravaginální – tato metoda s deponací semene do pochvy neboli vaginy se používá tehdy, pokud není možné využít intracervikální inseminaci. Musí se při ní použít 2x až 3x objemnější ID (Kliment 1983).
4. Inseminace do děložního rohu – tato metoda se využívá jen pro experimentální účely. Nevýhodou je to, že deponace do děložního rohu může způsobit poranění děložní sliznice (Burdych et al. 2004).

### **Metody inseminace**

V chovech skotu je dle Staňka & Kosové (2009) používáno několika odlišných způsobů inseminace. Jde především o tyto:

1. Rektální metoda – je u nás nejrozšířenější metodou používanou u skotu. Rektální metoda, viz obrázek 1, spočívá v rozevření stydkých pysků dojnice, kdy se do pochvy pomalu zasouvá katetr (pipeta se spermatem). Je nutno pipetu zavádět pod úhlem 45° tak, aby nedošlo k zavedení do močové trubice či močového měchýře plemence. Po zavedení pipety do pochvy v hloubce cca 10–15 cm se druhá ruka zavede do konečníku, ze kterého je potřeba odstranit nadbytečnou tráveninu tak, aby ruka měla prostor k vyšetření pohlavních orgánů, které jsou pod konečníkem a tlustým střevem uloženy. Po vyšetření pohlavních orgánů následuje masáž dělohy, čímž se podpoří její následná nasávací schopnost. Inseminační technik následně jemně uchopí děložní krček a ten nasune na pipetu, která je již zavedená v pochvě a se kterou se nijak nepohybuje. Katetr se zasunuje 3–5 cm hluboko do děložního krčku. Poté se semeno deponuje a katetr se z krčku společně s rukou v rektu pomalými pohyby vytahuje. Po uskutečněné inseminaci se krávu uchopí za kožní řasu na hřbetě a současně se tlačí na krajinu bederní. Tímto krokem se eliminuje vytlačování semene krávou. Segura & Rodriguez (1994) doporučují i masáž klitorisu po dobu 15-30 sekund, což prodlouží lumen děložního krčku a zvýší tím jeho průchodnost pro spermie při současné stimulaci produkce oxytocinu.



Obrázek 1: Rektální metoda inseminace (Staněk & Kosová 2009)

2. Vaginorektální metoda – v podstatě jde o stejný princip, pouze s tím rozdílem, že je do pochvy zaváděna ruka opatřená sterilní rukavicí. Po zavedení dlaně do pochvy se dosáhne jejího sevřením v otvor, do kterého se zasune katetr. Ruka se zavede do poloviny délky pochvy a dále již nepokračuje. Katetr se dále zavádí až k děložnímu krčku a poté následuje proces vložení ruky do rekta dle předchozího postupu. Dle Klimenta (1983) je výraznou nevýhodou této metody skutečnost, že při nedodržování hygienických pravidel se znečistí nebo dokonce infikuje pochva.

3. Metoda pro praktikanty – je modifikací předchozího postupu s tím rozdílem, že ruka je v pochvě zaváděna až ke krčku děložnímu, kde technik uchopí čípek děložního krčku a vpraví katetr 2–3 cm hluboko. Poté následuje postup uvedený u rektální metody. Nevýhodou této metody jsou dle Klimenta (1983) vysoké nároky na hygienu při používání této metody.
4. Inseminace s použitím poševního zrcadla – její uplatnění je především u malých přežvýkavců. Principem je zavedení sterilního poševního zrcadla do pochvy. Po zavedení následuje otočení zrcadla rukojetí dolů a jeho následné rozevření. Při rozevření pochvy se zkontroluje její stav a posoudí se také stav čípku děložního krčku. Poté následuje inseminace do krčku děložního. Pipeta v tomto případě ani v předchozí metodě nemá přijít do kontaktu s pochvou.
5. Albrechtsenovy kleště – italská metoda – jejím principem je uchopení krčku děložního pomocí Albrechtsenových kleští a jeho přitáhnutí směrem k inseminačnímu technikovi. Jakmile je krček vtažen do poševní předsíně následuje inseminace do krčku. Vzhledem k práci s kleštěmi je nutno dbát zvýšené opatrnosti. Tato metoda není u nás prakticky používána.

V chovu skotu se často používá stejně jako tomu i u ostatních zvířat tzv. reinseminace. Ta následuje za 8–12 hodin po první inseminaci. Všeobecně platí známé pravidlo, že plemenice inseminované ráno jsou reinseminovány večer a plemenice inseminované večer jsou reinseminovány ráno. Semeno je při inseminaci možné vpravovat i na jiné místo, než je děložní krček, jako je například vpravování semene do dělohy nebo děložního rohu (Staněk & Kosová 2009).

### **3.2 Sexace spermií**

Výzkum možné změny poměru pohlaví u narozeného potomstva sahá do 70. let 20. století (Louda 2008). Použito bylo mnoho metod. Určování pohlaví pomocí protilátek, centrifugace, průtokové elektroforézy a průtokové cytometrie, však skutečně funkční metodou se ukázala až průtoková cytometrie (Overton 2008). Přesné provedení sexování spermií vychází z rozdílů v deoxyribonukleové kyselině (DNA) mezi pohlavími. DNA je součástí chromozomů. Chromozomy se nacházející v buňkách jednoho druhu, v našem případě skotu, přičemž jsou vždy podobného počtu a velikosti. Rozdíly zde existují pouze mezi samci a samicemi. U savců samčí buňky obsahují chromozomy typu X a Y, samičí buňky obsahují dva chromozomy X. V

buňkách vajíček a spermií je sádka chromozomů rozštěpena. Vajíčko vždy obsahuje jeden X chromozom, spermie obsahuje některý ze dvou typů chromozomů (X nebo Y). Oplození vajíčka X-spermií vede ke vzniku samice, zatímco oplozením Y-spermií vzniká samec. Obvykle se vyskytuje 50 % buněk spermií s chromozomem X a 50 % buněk spermií s chromozomem Y. Na základě třídění spermatu a používání oddělených typů tedy můžeme řídit pohlaví potomstva (Kureš 2001).

Důležitým mezník v této metodě nastal na začátku 1980, kdy došlo k zdokonalení průtokového cytometru. Počáteční pokusy jeho funkce nebyly prakticky použitelné, účinně oddělily X a Y spermie, ale zároveň je i zabily (Seidel 2007).

Nejdůležitější zdokonalení bylo v tom, aby systém nezabíjel ani nijak nepoškozoval spermie (Seidel 2007). Později došlo k vývoji použití pufru koncentrovaného roztoku, do kterého se roztříděné spermie zachytávaly a zvyšovala se tak jejich životaschopnost (Johnson & Welch 1999). V roce 1990 se narodilo první tele po selektované dávkce, a tak následovalo úsilí o zvýšení účinnosti této technologie (Larson et al. 2010).

Sexované sperma uvedly na trh šlechtitelské firmy teprve v roce 2006, kdy se ukázalo, že to bude další významný krok ke genetickému i ekonomickému pokroku v chovu skotu. Nespornou výhodou sexovaných ID je získávání daného, nejčastěji samičího pohlaví s úspěšností 85-90 %. Dosažení vyššího procenta narozených jaloviček umožňuje kvalitnější obnovu stáda skotu, protože chovatel si může dovolit vyšší brakování a tím zlepšení šlechtitelské základny v daném stádě. Určitou nevýhodou je ale nižší úspěšnost zabřezávání plemenic, kdy Louda (2008) uvádí toto snížení o 10-28 % vůči používání normálních ID. Zajíček & Brodská (2020) uvádějí následující výhody sexovaných ID, viz tabulka 2 a obrázek 2.

Tabulka 2: Výhody sexovaných inseminačních dávek (Zajíček & Brodská 2020)

<b>Výhody sexovaných ID</b>
Minimálně 90% pravděpodobnost narození jalovičky
Odstranění poškozených a mrtvých spermií
4 miliony živých spermií v ID
Šetrný a rychlý způsob separace
Dvakrát kvalitnější a atraktivnější spermie (3 h po rozmražení)



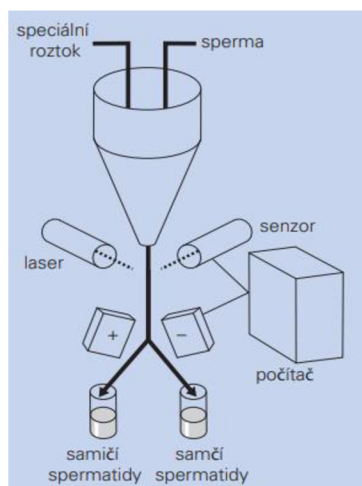


Obrázek 2: Výhody sexovaných inseminačních dávek (Zajíček & Brodská 2020)

Výhody masivního využívání sexovaných ID uvádějí Zajíček & Brodská (2020) následující:

1. Welfare krav
  - Snazší porody
  - Méně zdravotních problémů po porodu
  - Rychlejší návrat do reprodukce
2. Welfare telat
  - Eliminace produkce nežádoucích býčků – dočkají se horšího zacházení
3. Šlechtitelské důvody
  - Uzavřený obrat stáda
  - Expanze stáda
  - Produkce výběrových budoucích plemenic
  - Vyšší genetický zisk
4. Ekonomické důvody
  - Prodej plemenných zvířat
  - Prodej hodnotnějších zástavových telat
  - Vyšší efektivita využívání plemenic
  - Snadný porod – méně nákladů na léčbu a vyšší produkce

Princip technologie sexování za využití laseru a elektrického výboje je uveden na obrázku 3.



Obrázek 3: Schéma principu sexovací technologie za využití laseru a výboje (Marková 2009)

K uvedeným výhodám sexování se například uvádí, že pokud se inseminace sexovanými ID rozšíří budou jalovice produkovány v nadměrném počtu a jejich cena se sníží. K vyvážení dojde, pokud se bude sexované semeno používat jen pro jalovice. Pro starší krávy mléčného plemene by se potom využívaly sexované nebo také nesexované dávky k přikřížení masného plemene k produkci telat na výkrm. Tito kříženci mají lepší růstové schopnosti (Seidel 2007; Šichtař et al. 2012).

Louda (2008) doporučuje využití sexovaných ID:

- v chovech s nadprůměrnou reprodukcí – dobrá úroveň zabřezávání,
- používat ID přednostně pro inseminaci jalovic při 1. nebo 2. inseminaci,
- u jalovic se musí projevit plnohodnotná říje, jsou dobře tělesně vyvinuté a hmotnost je kolem 380 kg, inseminace musí nastat nejpozději 12 hodin po zjištění říje – 1 pejeta na 1 inseminaci,
- nepoužívat tyto ID při časované synchronizaci, ani při superovulaci,
- v případě využití u embryotransferu (ET) se doporučují použít 3 ID, ale zvyšují se náklady,
- ale pokud se používají v kombinaci se synchronizačním programem, je třeba inseminovat při zjištění optimální doby, asi 6 hodin před koncem říje,
- k inseminačnímu úkonu určit zkušeného inseminačního technika,
- ID uchovávat a manipulovat s nimi žádoucím způsobem,
- při rozmrazení ID musí být dodrženy přesně všechny postupy.

Na závěr je třeba doplnit, že o používání sexovaných ID by měli uvažovat pouze ti chovatelé, kteří mají chovy skotu s nadprůměrnou reprodukcí, aby bylo možné zajistit dobré zabřezávání. Sexované ID totiž většinou po rozmrazení garantují pouze 1,8 - 2,1 milionu aktivních spermií. Špatnou reprodukcí se náklady na jedno zabřeznutí mohou několikanásobně zvýšit a ovlivnit chov i negativně (Louda 2008).

### **3.3 Synchronizace říje**

Jak již bylo v práci zdůrazněno, dobrá úroveň reprodukce je klíčem jak k odpovídající ekonomice chovu skotu, tak limitujícím faktorem jeho dalšího rozvoje. Jedním ze způsobů, jak zefektivnit reprodukci ve stádě krav je zařazení synchronizace do managementu reprodukce. To umožňuje načasování estra případně ovulace do určitého termínu, při snížení množství času nutného pro vyhledání říjí a zefektivnění i samotné inseminace. Vyhledávání říjících se krav je dle Roelofse et al. (2000) časově a pracovníě náročné, zvláště u zvířat s nevýraznými projevy říje nebo u zvířat s hormonálními poruchami. Z uvedeného důvodu je detekce říje častým zdrojem chyb v managementu reprodukce skotu. Bylo zjištěno, že téměř 30 % krav, u kterých byly vizuálně detekovány projevy říje, je inseminováno v nesprávné fázi estrálního cyklu. Možností, jak zefektivnit detekci říje u krav je využití synchronizačních programů (Roelofs 2000; Králová & Šichtař 2014).

Jak uvádějí Skarzynski et al. (2008) ve své podstatě lze docílit synchronizace říje dvěma základními postupy. Jednak zkracováním luteální fáze cyklu podáním přípravků s luteolytickým účinkem, kdy dojde k regresi žlutého tělíska, snížení hladiny progesteronu a následné akceleraci růstu a zrání Graafova folikulu nebo lze luteální fázi cyklu prodloužit využitím látek s progestačním účinkem (Skarzynski et al. 2008; Králová & Šichtař 2014). Dosažení synchronizace lze buď chovatelsko-organizačními opatřeními (flushing, změna prostředí, přítomnost plemenika ve stádě) nebo uměle, aplikací látek ovlivňujících pohlavní cyklus plemenic (prostaglandiny, látky progesteronové povahy). Rowson et al. (1971) dokázali, že synchronizaci říje u krav během jejich luteální fáze lze navodit aplikací prostaglandinu F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ). V dalších letech byly vyrobeny analogy, které jsou v porovnání s přírodním prostaglandinem účinnější (Rowson et al. 1971; Stádník et al. 2013). Výsledky synchronizace říje preparáty PGF2 $\alpha$  pro účely přenosu embryí je pak možné shrnout následujícím způsobem (Stádník et al. 2013):

- ošetření zvířat je jednoduché,
- nástup říje je cca 36 až 72 hodin po aplikaci účinné látky,

- ošetření prostaglandinem umožňuje inseminaci v předem stanovené době, tj. 72 hodin,
- zabřezávání po inseminaci v synchronizované říji je srovnatelné s fertilitou po inseminaci ve spontánní říji.

Nicméně obvyklá metoda synchronizace říje dostatečně neupřesňuje doba ovulace, poněvadž tato doba je závislá na aktuálním stádiu daného folikulárního vývoje. Druhým způsobem, jak synchronizovat říji, je prodloužení luteální fáze nebo uměle navození luteální fáze. K tomuto postupu se nejvíce využívá progestinů, jako například melengestrol acetát (MLGA) nebo syntetického progesteronu (P4), či jeho některého z jeho derivátů. Principem je potlačení estera a ovulace inhibicí uvolňování lutealizačního hormonu (LH) a zabraňováním finální maturace folikulů (Murugavel et al. 2003; Králová & Šichtař 2014). MLGA je orálně podávaný progesteron, existuje několik způsobů jeho podávání, nejjednodušší je jeho čtrnáctidenní podávání, kdy se v průměru za 10 dní po odstranění MLGA dostavuje říje. Kromě postupů modifikujících nástup říje byly vyvinuty i protokoly pro zpřesnění doby ovulace, neboť problém s malou úspěšností odhalování říje nutně vyvolává potřebu usměrnění ovulace a to přesného termínu. Pro zefektivnění reprodukce je popsána celá řada programů presynchronizace, synchronizace i resynchronizace a jejich různé modifikace, jako je například Presynch, Ovsynch, Resynch, Cosynch (Králová & Šichtař 2014).

Tyto postupy samozřejmě vycházejí z fyziologie dojnic. Dle Coufalíka (2013) je však podmínkou, přesná aplikace a dodržení časového rozvrhu, a pozitivní progesteronový test, který se provádí ještě před tím. Hodnota skóre tělesné kondice (body condition score, BCS) nesmí být pod 2,5 bodu, protože při takové hodnotě se nepoužívá. Samozřejmě důležitý je také zdravotní stav, kdy kráva nesmí mít ovariální cysty, mastitidy anebo vysoký počet somatických buněk (SB). Pak dochází k výraznému snížení efektu. Dle Vacka & Kubešové (2009) mají hubená zvířata prodlouženou periodu do nástupu ovariálních funkcí až po otelení, nepravidelné pulzy LH, nedostatečnou odezvu folikulů na stimulaci gonadotropiny a sníženou funkčnost folikulu. To má za následek sníženou produkci estradiolu. Vacek & Kubešová (2009) považují za optimální hodnotu BCS při otelení u čistokrevných holštýnských krav 3 až 3,25 bodu a 3,5 až 3,75 bodu u jalovic. U kříženek lze optimální rozmezí rozšířit od 3,0 až do 3,75 bodu podle podílu krve plemene kombinovaného užitkového typu. Pětibodový systém hodnocení tělesné kondice, u holštýnských dojnic je uveden na obrázku v příloze I.

V tabulce 3 jsou uvedeny dopady ztráty BCS na začátku laktace.

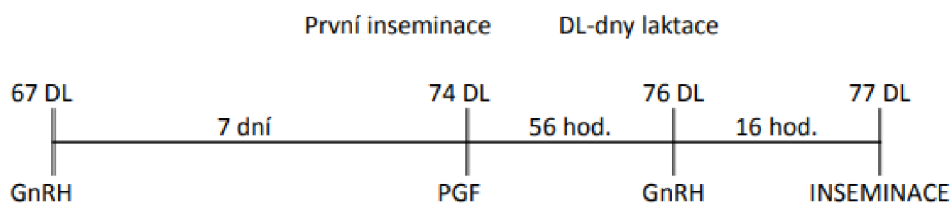
Tabulka 3: Dopady ztráty BCS na začátku laktace, upraveno dle Nedvěď (2012)

	BCS ztráta v 1,5 ti týdnech laktace		
	<0,5	0,0-1,0	>1,0
<b>Dny do 1. ovulace</b>	27	31	42
<b>Dny do 1. říje</b>	48	41	52
<b>Dny do 1. inseminace</b>	68	67	79
<b>Březost po 1. inseminaci</b>	65 %	53 %	17 %

Z tabulky je zřejmé, že celková ztráta by nikdy neměla být vyšší jak 1 bod BCS. Snížení BCS o více než 1 bod má totiž za následek výrazné snížení procenta březosti po 1. inseminaci.

Jako příklad v textu uvedených programů je vhodné se zmínit o metodě Ovsynch, která vychází z předpokladu, že podání gonadotropního stimulačního hormonu (Gonadotropin-releasing hormone, GnRH) v náhodné fázi říjového cyklu může u plemenic, které mají na vaječnicích přítomen funkční dominantní folikul, vyvolat ovulaci. Současně předpokládá, že by následně mohla být spuštěna nová folikulární vlna s dominantním folikulem, který by během následujících 7 dní prodělal fázi selekce. Dále jak uvádějí Wiltbank & Pursley (2014), metoda vychází z toho, že by podání PGF2 $\alpha$  mohlo vyvolat luteolýzu u vysokého procenta dojnic, jimž byl před 7 dny podán GnRH. Tak by dominantní folikul pokračoval v růstu, zvyšoval produkci estradiolu a dojnice by začala projevovat říji za 48 hodin po podání PGF2 $\alpha$ . Druhé ošetření GnRH 48 hodin po podání PGF2 $\alpha$  by mělo vyvolat preovulační vlnu LH a synchronizovat ovulaci, čímž by bylo umožněno správné načasování inseminace.

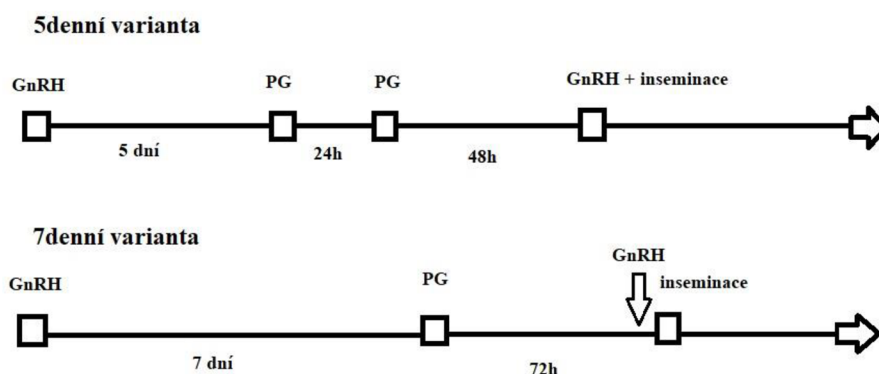
Na obrázku 4 je uveden příklad Ovsynch Protokolu, tak jak ho uvádí Nedvěď (2012). Na obrázku 5 pak je pak porovnání pěti denní a sedmidenní varianty Ovsynchu dle Svaz chovatelů holštýnského skotu (2015).



#### OVSYNCH - rozpis injekčních aplikací

Týden	Po-8:00	Út	St	Čt	Pá	So	Ne
1	GnRH						
Týden	Po-8:00	Út	St-16:00	Čt-8:00	Pá	So	Ne
2	PGF		GnRH	Insem.			

Obrázek 4: Ovsynch Protokol (Nedvěd 2012)

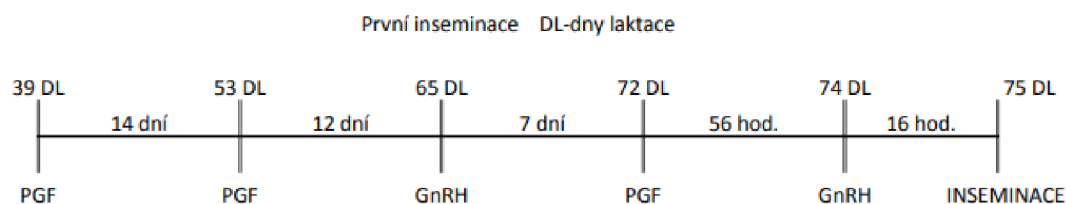


Obrázek 5: Porovnání 5denní a 7denní varianty Ovsynchu (Svaz chovatelů holštýnského skotu 2015)

Skládanka et al. (2014) uvádějí, že bez ohledu na lepší výsledky zabřezávání je výhodou pětidenního Ovsynchu to, že veškeré aplikace probíhají v dopoledních hodinách, které lépe odpovídají rozložení směn veterináře a zootechniků.

Z původní metody Ovsynch (GnRH v libovolné fázi cyklu, za 7 dnů prostaglandin, za 2 dny GnRH, za 24 hodin inseminace) se postupně vyvinula řada modifikací (Cosynch & Presynch), které se v praxi uplatňují v různé míře. Skládanka (2014) uvádějí, že program Presynch byl vytvořen na Floridské univerzitě za účelem uvedení většiny krav do ideálního stádia říjového cyklu při první aplikaci GnRH vyvolávající vlnu LH. To mělo za následek vyšší zabřezávání krav, které byly zařazeny do programu Ovsynch a modifikovaného cíleného připouštění. Dle

stejného autora dojde po první injekci PGF2 $\alpha$  u přibližně 60 % cyklujících krav k regresi žlutého tělíska a vytváří se skupina zvířat, ve které jsou všichni jedinci v časně luteální fázi cyklu. Po druhé injekci PGF2 $\alpha$  by mělo být téměř 100 % krav v této fázi cyklu (Skládanka 2014). Na obrázku 6 je uvedený příklad Presynch Protokolu, tak jak ho uvádí ve své práci Nedvěď (2012).



**PRESYNCH - rozpis injekčních aplikací**

Týden	Po	Út	St	Čt	Pá	So	Ne
1			PGF				
2							
3			PGF				
4							
5	GnRH						
6	Po-8:00 PGF	Út	St-16:00 GnRH	Čt-8:00 Insem.			

Obrázek 6: Presynch Protokol (Nedvěď 2012)

### 3.4 Mnohonásobná ovulace a embryotransfer (MOET)

Hlavním cílem embryotransferů (ET) je produkce potomstva od vynikajících rodičovských párů při zkrácení generačního intervalu. Z tohoto důvodu tato metoda představuje v chovatelských vyspělých státech, z hlediska genetického zisku, stále významnou biotechnologickou metodu chovu. Embryotransferem se zabývá celá řada autorů, jako jsou například Phyllips & Jahnke (2016), kteří uvádějí, že první úspěšný přenos embrya a živého narození telete byl zaznamenán již v roce 1951.

Přehled prvních přenosů embryí jednotlivých zvířat je uveden v tabulce 4.

Tabulka 4: Přehled prvních přenosů embryí u jednotlivých zvířat (Skládanka et al. 2014)

<b>Druh</b>	<b>Rok</b>
Králík	1890
Koza	1932
Krysa	1933
Ovce	1933
Myš	1942
Kráva	1951
Prase	1952
Kůň	1974

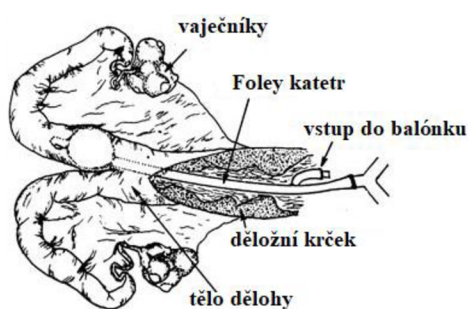
K uvedenému je nutné dodat, že přenos embryí u holštýnského skotu však získal na důležitosti v Severní Americe teprve až na konci 70. let minulého století, po zavedení nechirurgické techniky přenosu. Do uvedené doby byla embrya přenášena do příjemkyň pouze chirurgicky (Phyllips & Jahnke 2016). To potvrzují Seidel & Seidel (1991), když uvádějí, že pro odběr embryí existuje celá řada metod, které lze rozdělit na chirurgické a nechirurgické. Chirurgické metody však limitovaly možnost opakování přenosů embryí, proto se pozornost odborníků více soustředila na vypracování vhodných nechirurgických postupů (Seidel & Seidel 1991). V této souvislosti se začaly vyvíjet metody kontinuálního výplachu nebo výplachu ve frakcích. Přenos embryí má mnohostranný a široký význam (Vaněk & Štolc 2002). Jednou z výhod embryotransferu je také téměř neomezená zásoba embryí a tím dokonalé využití genetického potenciálu dojnice i po jejím vyřazení z chovu (Louda et al. 2002). To doplňuje Jakubec et al. (2012), kteří uvádějí, že embryotransfer poskytuje možnost uchovávat embrya ohrožených plemen, čímž zabrání jejich vyhynutí. Současně pak za výhodu embryotransferu považuje i to, že lze získávat potomky od neplodných matek. Machatková (2006) popisuje MOET jako způsob založený na vyvolání superovulce u donorky a přenos embryí do synchronizovaných akceptorek. Louda et al. (2002) uvádějí, že ET je založený na následujícím postupu:

- získávání embryí,
- jejich kultivace (přechovávání),
- imunologická tolerance vejcovodů a dělohy,
- oplození oocytů *in vitro*,
- konzervace embryí,
- rekonstrukce embryí



Skládanka et al. (2014) uvádějí, že optimální doba pro získávání embryí děložním výplachem je 6–8 dní po říji. Výplach je tedy prováděný 7. den po inseminaci (embrya v rozích děložních). Před vlastním výplachem se vyšetřuje odezva vaječníků na stimulaci – palpací, kdy technik provádí epidurální znecitlivění a poté zavádí vyplachovací katetr děložním krčkem přes děložní tělo do rohu. Katetr se běžně fixuje v rohu děložním latexovým balonkem naplněným přiměřeným množstvím vzduchu. V zásadě se vyplachuje horní část rohu děložního, která je vymezená fixačním balonkem. K výplachu se využívá komerční médium, kdy médium je vpouštěno do rohu děložního. Po propláchnutí je výplachek filtrován (Skládanka et al. 2014). Podobně Říha et al. (1999) uvádějí, že k výplachu se využívá médium, zpravidla je to pufrovací roztok používaný k aspiraci oocytů metodou od živých dárců, pokaždé s přísádkem 1 % ultrafiltrovaného telecího séra nebo bovinního sérového albuminu. Teplotu vyplachovacího média je třeba udržovat na úrovni kolem 30° C.

Na obrázku 7 je uvedena poloha katetru Foley při proplachování děložního rohu. Děložní roh je vyplachován 5x až 6x, přičemž spotřeba média se liší podle velikosti rohů. Pokaždé by ale mělo docházet pouze mírnému roztažení děložního rohu. Při vypouštění tekutiny se využívá gravitační tok, který je doprovázen masáží děložního rohu. Embrya jsou zachycována společně s médiem ve filtru, který je potom nutné omýt 20 ml média, aby se zabránilo možným ztrátám. Pro vyhledávání embryí se používají dvě misky, kdy jedna je ze samotného výplachu a druhá z následného oplachu filtru (Seidel & Seidel 1991).



Obrázek 7: Poloha katetru Foley při proplachování děložního rohu upraveno dle Seidel & Seidel (1991)

Ve vlastním postupu přenosu embryí je důležité, že před přenosem či zamražením embryí je nutné zhodnotit jejich morfologii. Pro úspěšnost jejich hodnocení je nutné zajistit zvládnutí teorie, zkušeností a kvalitní vybavení. Zejména se hodnotí velikost a tvar embrya, počet

blastomer, stupeň fragmentace, tloušťka zona pellucida a další. Současně se hodnotí vývojové stádium embrya, jak je to zobrazeno na obrázku v příloze II (Callesena et al. 2019). Dle Callesena et al. (2019) se vlastní hodnocení embryí provádí v misce, jež by ale neměla obsahovat krev ani žádné další nečistoty. Pro hodnocení embryí jsou důležité jednotlivé fáze vývoje embrya, které lze jak uvádějí Jahnke et al. (2010) popsat následujícím způsobem:

1. Neoplozený oocyt

Pokud je při odběru nalezena substance obsahující jen jednu buňku, jedná se o neoplozené embryo. Takovéto neoplozené oocysty nám způsobují problémy, protože někdy nejde rozeznat, zda se nejedná o kompaktní morulu. Všechna neoplozená vajíčka také nemají stejný morfologický vzhled.

2. 2 až 12 buněčné embryo

Embryo, které obsahuje mezi 6. až 8. dnem okolo 2–12 blastomer, je skoro jistě mrtvé nebo zdegenerované. Takový vývoj embrya lze považovat za normální, pokud se embryo nachází ve vejcovodu, nikoliv v děloze, a to pátý den estrálního cyklu dárkyně.

3. Časná morula

Termín morula má původ v latinském slovu moruše. Časná morula má již minimálně 16 blastomer, ale v této fázi vývoje není embryo stále ještě schopné kryokonzervace nebo přenosu.

4. Kompaktní morula

Zde jednotlivé blastomery uvnitř embrya se spojují a vytvářejí stlačené klubko buněk, přičemž již v embryu zaplňují 60–70 % prostoru uvnitř *zona pellicuda*. Takovéto embryo je již schopno přenosu.

5. Časná blastocysta

Jednotlivé blastomery přítomné v embryu se spojily, aby vytvořily pevně stlačenou kouli buněk. V této fázi embryonálního vývoje není možné rozeznat jednotlivé blastomery. Buňky v embryu již zabírají 70–80 % perivitelního prostoru. Nejvýznamnějším znakem však je malá dutinka vyplněná tekutinou nazývaná blastoceleol.

6. Blastocysta

Embryo v tomto stádiu má jasně definovanou vrstvu trofoblastu, dutinu blastoceleolu a embryoblastu. *Zona pellucida* má stále normální tloušťku.

7. Expandovaná blastocysta

Nejvýraznějším rysem rozšířeného embrya ve stádiu blastocysty je zvýšení jeho celkového průměru, 1,2–1,5krát větší, než je jeho původní průměr 150–190 µm. *Zona pellucida* se ztenčí přibližně na jednu třetinu z původních 12–15 µm.

8. Blastocysta po hatchingu (metoda umožňující narušení *zony pellucidy* embrya)

Je označovaná také jako vylíhlá blastocysta. Někdy je možné nalézt embryo v procesu líhnutí nebo již samotné bez *zona pellucida*. Některá embrya mohou být po vylíhnutí zcela celistvá, jiná se naopak mohou zhroutit. Identifikace této fáze embryonálního vývoje může být docela obtížná. Často mohou být zaměnitelná s kouskem endometria. Tato fáze embryonálního vývoje není způsobilá pro mezinárodní obchod, protože bez *zona pellucida* nelze vykonat kryokonzervaci.

9. Expandovaná blastocysta po hatchingu

Tato fáze embryonálního vývoje je vzhledově identická s úplně vylíhnutým dílem fáze 8, až na to, že má podstatně větší průměr. S takovou fází bychom se obvykle okolo 7. dne estrálního cyklu již neměli setkat.

Uvedený přehled vychází z kódů společnosti International Embryo Transfer Society (IETS) pro fázi vývoje embrya a stupeň kvality embrya, viz tabulka 5.

Tabulka 5: Kódy IETS pro fázi vývoje embrya a stupně kvality embrya (Stringfellow & Givens 2010)

Fáze vývoje	Kvalita embryí
1. neoplozené oocyty	1. vynikající nebo dobrá
2. 2 až 12 buněčné embryo	2. ucházející
3. časná morula	3. nekvalitní
4. morula	4. mrtvé nebo silně degradované
5. časná blastocysta	
6. blastocysta	
7. expandovaná blastocysta	
8. blastocysta po hatchingu	
9. expandovaná blastocysta po hatchingu	

K přenosu embryí se používá inseminační katétr, který je ale oproti inseminačnímu delší, protože embryo je nutné přenést do děložního rohu, a to na stranu, kde bylo předtím vyšetřeno žluté tělísko. Celý proces přenosu přitom musí být velice šetrný, aby nedošlo k poranění sliznic dělohy a embryo by se tak nemohlo uchytit k děložní sliznici. Celý proces je prováděn pod epidurální anestézií (Troxel 2013). Postupy v procesu přenosu embryí a schopnost s nimi úspěšně zacházet uvádí následující tabulka 6.

Tabulka 6: Postupy v přenosu embryí a schopnost s nimi úspěšně zacházet upraveno dle Seidel & Seidel (1991)

Postupy v procesu	Možnost kontroly
Výběr vhodných dárkyň	Nízká
Nákup spermatu s vysokou plodností	Nízká
Správná injekce superovulačních přípravků, počínaje 9-14 dnem estrálního cyklu	Vysoká
Variabilita v superovulační oblasti	Nízká
Detekce říje u dárkyň a příjemkyň	Vysoká
Správné načasování inseminace, zacházení se spermatem, správné inseminační techniky	Vysoká
Obnova většiny embryí od každé dárkyně	Nízká
Izolace a klasifikace embryí	Vysoká
Skladování embryí mezi odběrem a přenosem	Vysoká
Správné postupy kryokonzervace	Vysoká
Převod embryí příjemkyni	Vysoká
Vnitřní životaschopnost embryí konkrétní dárkyně	Nízká
Výběr plodných příjemkyň	Vysoká
Diagnóza březosti, nejlépe 50 dní, pokud je hmatem	Vysoká
Předcházení potratům	Vysoká
Správné vedení při telení	Vysoká
Dobrá péče o telata	Vysoká
Výživa dárkyně, příjemkyně, telete	Vysoká
Kontrola nemocí, očkování	Vysoká
Dávkové rozdíly v superovulačních přípravcích	Nízká
Počasi	Nízká
Dobré vedení záznamů	Vysoká

Jak vyplývá z uvedené tabulky, nikdy nemůže být jistota vnitřní plodností dárkyň či příjemkyň, kvality spermatu nebo také životaschopností embryí. Uvedené procesy jsou ovlivnitelné a je možné je zlepšit výběr dárkyň a příjemkyň v populaci. Například počasí nelze ovládat přímo, ale lze se vyhnout přenosu embryí v ročních obdobích, kdy je plodnost nízká (Seidel & Seidel 1991). Pro dobrou plodnost příjemkyň je velice důležitý stav organismu, který by měl být bez stresu a kdy by se neměl při manipulaci u nich projevit strach či leknutí (Rüsse 2010). Využití metody MOET v Evropě ukazuje tabulka 7 zpracovaná dle údajů Machatková (2006).

Tabulka 7: Využití metody MOET v Evropě (Machatková 2006)

Ukazatel	Hodnota
Počet výplachů donorek	22 316
Počet přenosuschopných embryí	143 458
Průměrný počet embryí na donorku	6,4
Počet přenesených embryí	99 703
Podíl zmrazených z přenesených (%)	54,5

### 3.5 *In vitro* produkce (IVP)

*In vitro* produkce (IVP) je metoda novější, flexibilnější avšak technicky náročnější než metoda MOET. Je zde nutný lepší laboratorní vybavení a dohled (Galli et al. 2003). Pojem IVP obecně označuje postup získávání embryí mimo tělo matky. Tento postup v sobě zahrnuje *in vitro* maturaci (IVM), *in vitro* fertilizaci (IVF) oocytů a *in vitro* kultivaci (IVC) embryí. Metoda IVP byla původně uskutečňována u skotu za účelem odborného výzkumu a využívala oocyty získané po superstimulaci. Oocyty získávané z preovulačních folikulů nebo vejcovodu 20–24 hodin po začátku říje, které již prodělaly IVM, jsou přímo připraveny k IVF a IVC. Oocyty se získávají i z jatečných vaječnicků, ale tyto vyžadují navíc IVM. První tele vyprodukované ze systému IVM-IVF-IVC se narodilo v roce 1987 (Andrlíková et al. 2018). Metoda IVP má značný význam především v oblasti výzkumu, ale stává se i nedílnou součástí šlechtitelských programů v chovu skotu a dalších hospodářských zvířat. Metoda IVP nabízí šlechtitelům a chovatelům možnost skotu získávat nezralé oocyty od chovatelsky význačných dojnic, ale také od vzácných nebo ohrožených plemen skotu a ostatních hospodářských zvířat. Dle Machatkové (2006) je metoda hlavním zdrojem oocytů pro přípravu embryí jsou oocyty získané od vysoce užitkových dojnic buď v průběhu života technikou transvaginální aspirace získáváním oocytů z folikulů od živých dárkyň nebo post mortem, tj. po jejich vyřazení z chovu v důsledku neplodnosti nebo jiných poruch zdraví.

Produkce IVP embryí postupuje v několika etapách. V první z nich proběhne odběr nezralých oocytů, někdy i celých vaječnicků plemenice, poté následuje zrání oocytů v laboratorním prostředí (tedy *in vitro*). V další fázi dojde k oplození zralých oocytů a jejich kultivace v prostředí *in vitro*. Pro IVP produkci embryí se používají média komerční, ale také připravená ve vlastní laboratoři podle ověřených receptů. Po ukončení kultivace embryí probíhá jejich konzervace nebo přenos (Andrlíková et al. 2018).

Schéma produkce embryí *in vitro* dle Andrlíkové et al. (2018) je znázorněno na obrázku v příloze III. K uvedenému postupu je možné konstatovat, že z ekonomického hlediska je produkce embryí IVP srovnatelná s metodou MOET.

Na obrázku 8 je zobrazena kolekce IVP embryí pořízená při hodnocení embryí dle International Embryo Transfer Society (IETS).



Obrázek 8: Kolekce IVP embryí (Andrlíková 2018)

Využití metody IVP/ET a OPU/IVP v Evropě ukazují tabulky 8 a 9 (Machatková 2006).

Tabulka 8: Využití metody IVP/ET v Evropě (Machatková 2006)

Ukazatel	Hodnota
Počet získaných oocytů	211 097
Počet získaných embryí	51 971
Podíl vyvíjejících se embryí (%)	24,6
Počet přenesených IVP embryí	49 177
Podíl přenesených IVP embryí z celkového počtu ET	54,5

Tabulka 9: Využití metody OPU/IVP v Evropě (Machatková 2006)

Ukazatel	Hodnota
Počet OPU session	18 684
Podíl stimulovaných OPU (%)	49,0
Průměrný počet oocytů/OPU	11,3
Počet oplozených sexovanými spermii (%)	35,8
Průměrný počet embryí/OPU	2,7

Pro produkci geneticky cenných embryí jsou používány oocyty s velice odlišnou meiotickou a vývojovou kompetencí, které jsou získávány bez ohledu na stádium folikulogeneze od donorek.

I z tohoto důvodu je pak počet oocytů izolovaných od vysoce užitkových krav nízký, kvalita oocytů vysoce variabilní a příprava embryí i jejich konzervace méně efektivní (Machatková 2006).

### 3.6 Transgenoze a klonování

Biotechnickými metodami souvisejícími s reprodukcí jsou také transgenoze a klonování. Seidel & Seidel (1991) považují výrobu transgenních zvířat za jednu z nejzajímavějších technologií. Přesto, že se provádějí za účelem zlepšení vlastností těchto zvířat, jsou stále předmětem mnoha odborných diskuzí. Klonování umožňuje pomnožení cizích genů (nebo vybraných částí DNA) *in vitro* v hostitelských buňkách. Vznikají tak klony DNA (soubory identických molekul DNA). Klonování jedinců bylo prováděno zpočátku dělením časných embryí zvířat *in vitro* a jejich následným přenosem náhradním matkám. Tento přístup měl svoje omezení v počtu identických jedinců získatelných z jednoho embrya. Metoda, která je považována za klonování, spočívá v přenosu jader diploidních buněk do enukleovaného neoplozeného vajíčka (cytoplastu) (Vychodilová et al. 2019). Dle Wilmuta & Patersona (2003) může být klonování využito pro kopírování hospodářských zvířat s vysokou plemennou hodnotou, jako například dojnici s vysokou produkcí mléka nebo býky speciálně chované pro maso.

Teoreticky může klonování umožnit produkci velkého počtu geneticky totožných jedinců. I když je v současné době klonována celá řada druhů zvířat (například ovce, skot, myš, koza, prase, makak, kočka, králík, pes, kůň, velbloud), účinnost klonování neustále zůstává velmi nízká (pod 1 %) (Vychodilová et al. 2019). Skot je úspěšně klonován pomocí transferu somatických jader.

Mezi metody klonování živočichů patří:

- partenogeneze – je přirozeně u bezobratlých (hmyz) i obratlovců (ještěrky, hadi, ryby, obojživelníci), savci – aktivace partenogeneze *in vitro* (ovce, kráva, prase, králík) (Kono et al. 2004),
- rozdělení embrya během časných stádií vývoje mikromanipulačními technikami-splitting techniky (Veselská 2015),
- tvorba chimér – fúze embryonálních kmenových buněk (Embryonic Stem Cells, ESCs) s tetraploidním embryem, Z tetraploidní buňky vzniká trofoblast z diploidní ESCs vzniká embryoblast (Nagy et al. 1993),

- přenos jádra somatické buňky (somatic cell nucleus transfer, SCNT) – jádro somatické buňky je vneseno do enukleovaného oocytu: elektrofúze a intracytoplazmatická injekce diploidního jádra. Vajta & Gjerris (2006) uvádějí, že standardně má SCNT tři kroky, enukleaci (vyjmutí jádra oocytu), vložení buněk dárce (nebo jader buněk dárce) a aktivace rekonstruovaného embrya. Následně se klonované embryo nechá růst *in vitro*, než dosáhne optimálního stádia pro vložení do matky,
- vnitrodruhové klonování,
- mezidruhové klonování = tvorba cytoplazmatických hybridů (Veselská 2015).

Závěrem k této části lze konstatovat, že v zemědělství se dá využít geneticky modifikovaných zvířat k několika účelům, jako je zvýšení růstových schopností zvířat, zvýšená odolnost vůči chorobám, zkvalitnění živočišných produktů apod. Značnou využitelnost genetických manipulací lze nalézt ve výzkumu, protože díky geneticky modifikovaným organismům se podstatně zrychluje studium, ale i mapování genomu různých živočišných organismů. Transgenní organismy také výrazně pomáhají řešit problémy medicíny, kde například mohou produkovat inzulin v množství větším, než když by byl získáván klasickými postupy (Veselská 2015).

### 3.7 Využití biotechnologických metod v chovu dojného skotu u nás

Jak vyplývá z předcházející části práce, reprodukce je limitujícím faktorem efektivnosti chovu skotu. Při zlepšování plodnosti v České republice (ČR) jsou u skotu používány různé biotechnologické metody, které významným způsobem ovlivňují intenzitu selekce a celkový pokrok populace. Za nejstarší a nejvíce využívanou metodu lze považovat umělou inseminaci. V současnosti se inseminace využívá prakticky ve 100 % stád dojného skotu v ČR, přitom za moderní trend posledních let lze považovat výrobu a používání sexovaných ID. Moderní inseminační metody se zaměřují na zkrácení a zpříjemnění vlastního úkonu inseminace, a to jak pro plemenci, tak i inseminační technika (Skládanka et al. 2014).

Všechny inseminační stanice a banky spermatu na území ČR podléhají doзору Státní veterinární správy, přičemž musí splňovat ustanovení Vyhlášky č. 380/2003 Sb., o veterinárních požadavcích na obchodování se spermatem, vaječnými buňkami a embryi a veterinárním podmínkám jejich dovozu ze třetích zemí. Uvedená vyhláška se dle §1 odst. 2 se nevztahuje na:

- a) organizování umělé inseminace jako celku, zejména na rozdělování spermatu,
- b) embrya získaná přenosem jader,



c) sperma skotu odebrané a ošetřené v členském státě před 1. lednem 1990.

K 14. 9. 2021 evidovala Státní veterinární správa ČR následující plemenářská zařízení (střediska) pro odběr a skladování spermatu skotu, viz tabulka 10.

Tabulka 10: Plemenářská zařízení zabývající se odběrem a skladováním spermatu, upraveno dle: SVS (2021)

Číslo schválení	Označení	Poznámka
CZ 81790038	Banka spermatu Mankovice	skladování spermatu
CZ 81790027	Středisko pro odběr spermatu Mankovice	skladování spermatu
CZ 72790061	GGI CZECH s.r.o., Kroměříž	skladování spermatu
CZ 71790015	CBS – Inseminační stanice, Grygov	odběr a skladování spermatu
CZ 61790081	EMBROD spol s r.o., Havlíčkův Brod	skladování spermatu
CZ 61790069	ProBovin s.r.o., Havlíčkův Brod	skladování spermatu
CZ 61790058	ISB Bohdalec	odběr a skladování spermatu
CZ 61790014	ISB Litoňov	odběr a skladování spermatu
CZ 61790003	ISB Genetic, Havlíčkův Brod	odběr a skladování spermatu
CZ 53790105	Banka spermatu GENOSERVICE Corp.	skladování spermatu
CZ 53790082	PLEMKO s.r.o., Nemošice	skladování spermatu
CZ 53790060	Alta Czech, s.r.o., Dolní Sloupnice	skladování spermatu
CZ 52790036	Banka spermatu CHOVSERVIS	skladování spermatu
CZ 52790025	MTS spol. s r.o., Jinolice	skladování spermatu
CZ 31790088	FARMTEC a.s., Jistebnice	skladování spermatu
CZ 31790066	Jihočeský chovatel a.s., Nové Homole	skladování spermatu
CZ 31790011	REPROGEN, a.s., Třeboň	odběr a skladování spermatu
CZ 31790000	Inseminační stanice býků Homole	středisko pro odběr spermatu
CZ 21790166	ProgresGen s.r.o., Libeň	skladování spermatu
CZ 21790133	Tehov u Říčan	skladování spermatu
CZ 21790122	CRV Czech Republic, Zásmyky	skladování spermatu
CZ 21790111	ABS cz s.r.o., Modletice	skladování spermatu
CZ 21790100	CRV Czech Republic, Zásmyky	středisko pro odběr spermatu
CZ 21790087	NATURAL, spol. s r.o., Hradištko p. M.	odběr a skladování spermatu
CZ 21790076	Českomoravská společnost chovatelů	skladování spermatu
CZ 11790019	BURSIA PRAHA s.r.o.	skladování spermatu

Co se týká jednotlivých býků, v roce 2019 byl nejvyužívanějším býkem v inseminaci českého strakatého plemene býk MESIAS (HG-393), narozený v roce 2013 v chovu AGRO Březnice a.s., jehož majitelem je společnost Reprogen, a.s. Tímto býkem bylo podle údaje z roku 2020 provedeno celkem 23 273 inseminací. Býk pochází z kombinace WILLE x VANSTEIN s vynikajícími plemennými hodnotami i exteriérem.

Přehled prvních deseti nejvíce využívaných býků v inseminaci českého strakatého plemene v roce 2019 je uveden v tabulce 11.

Tabulka 11: Nejvyužívanější býci českého strakatého plemene v roce 2019 (Bucek et al. 2020)

<b>Státní registr</b>	<b>Jméno</b>	<b>Rok nar.</b>	<b>Počet inseminací prvních</b>	<b>Počet inseminací všech</b>	<b>GZW 3)</b>	<b>IMU FW 4)</b>	<b>Majitel</b>
HG-393	MESIAS	2013	11912	23273	124	104	Reprogen a.s.
HG-403	MAGNUM	2013	6181	11322	126	95	Plemo a.s.
BCH-139	REMMEL	2012	5729	11408	121	113	CRV 1)
HCH-039	PASCAL	2016	5705	10892	131	119	CRV 1)
HG-449	ROLLS	2017	5341	9653	139	107	CRV 1)
HCH-057	HERMELIN	2016	4608	9240	133	106	CRV 1)
HCH-056	HYBRID	2017	4186	8128	131	106	CRV 1)
HG-369	LANSLIDE	2012	3504	6614	117	95	CHD Impuls 2)
HCH-014	HARIBO	2013	3425	6932	124	98	CRV 1)
MOR-283	MOCCA	2016	3382	6473	129	102	CRV 1)

1)CRV Czech Republic, s.r.o. 2) Chovatelské družstvo Impuls, družstvo 3) Celkový ekonomický index pro fleckvieh 4) Index masné užitkovosti

Největší počet holštýnských plemenic byl v roce 2019 inseminován býkem HOTLINE (NXB-351), jehož majitelem je společnost CRV Czech Republic, spol. s r. o. Přehled prvních deseti nejvíce využívaných býků v inseminaci holštýnského plemene v roce 2019 je uveden v tabulce 12.

Tabulka 12: Nejvyužívanější býci holštýnského plemene v roce 2019 (Bucek et al. 2020)

<b>Státní registr</b>	<b>Kódové jméno</b>	<b>Rok nar.</b>	<b>Počet inseminací prvních</b>	<b>Počet inseminací všech</b>	<b>Majitel</b>
NXB-351	HOTLINE	2015	6805	12721	CRV 1)
NEO-819	AMPULS	2017	4959	9647	CRV 1)
NXB-527	MILLINGTON	2013	4881	9104	MTS Jinolnice
NEO-493	STARTREK	2013	3768	8157	CRV 1)
NXB-431	VANCOUVER	2016	3765	8168	Zooservis
NEO-648	ELDORADO	2015	3015	6884	CBS 2)
NXB-343	COLLUDE	2014	2994	5754	ABS
NEO-442	NILSON	2012	2981	6065	CRV 1)
NEO-724	LANDON	2014	2857	6041	CRV 1)
NXB-434	VAIL	2016	2735	5840	CBS 2)

1)CRV Czech Republic, s.r.o. 2)CBS-Czech Breeding Services s.r.o.

V roce 2020 byl nejpoužívanějším býkem u holštýnských plemenic opět americký býk NXB-351 HOTLINE, dále americký genomický býk CRV NEO-848 LUKAKU a americký

prověřený býk NXB-527 MILLINGTON, dovážený společností MTS. Nejpoužívanějším českým býkem byl NEO-839 AGRAS AMADEUS v majetku firmy Plemo, a.s. z farmy Agras Bohdalov. Z červené varianty byli nejpoužívanější holandsští býci RED-725 JACUZZI RED a RED-751 MAURO RED (Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR, 2020).

Inseminace v České republice je prováděna dle jednotných „Zásad vedení ústřední evidence – automatizování zpracování dat – inseminace skotu“. Zásady jsou dostupné na internetových stránkách Českomoravské společnosti chovatelů a. s. (ČMSCH a.s.). Tiskopis inseminačního výkazu je uveden v příloze IV této bakalářské práce.

Inseminace celosvětově, a i v České republice přispěla k rozvoji dalších biotechnologických metod, z nichž za nejpoužívanější lze označit superovulaci a přenos embryí. Ukázalo se však, že uvedené metody nemohou dosáhnout tak plošného použití jako tomu je právě u inseminace. Přesto v ČR existuje několik plemenářských zařízení a týmů, jež se těmito metodami zabývají. K 14. 9. 2021 evidovala Státní veterinární správa ČR následující plemenářská zařízení (týmy) pro produkci a odběr embryí skotu, viz tabulka 13.

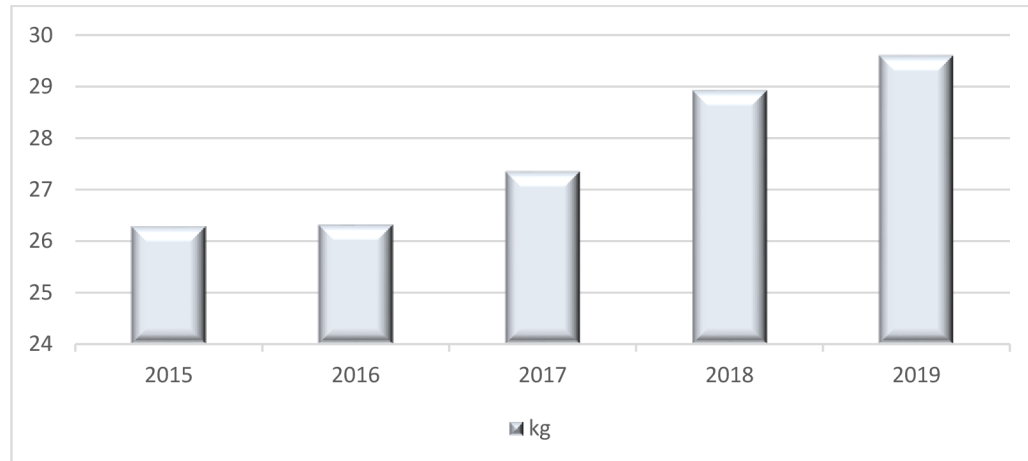
Tabulka 13: Plemenářská zařízení zabývající se produkcí a odběrem embryí, upraveno dle: SVS (2021)

Číslo schválení	Označení	Poznámka
CZ 71790060	Tým pro produkci embryí, Rapotín	produkce embryí
CZ 71790059	Tým pro odběr embryí, Rapotín	odběr embryí
CZ 62790060	Oddělení reprodukce FVL VU Brno	odběr embryí
CZ 62790059	Oddělení reprodukce FVL VU Brno	produkce embryí
CZ 62790048	VÚVeL, v.v.i., Brno	produkce embryí
CZ 53790093	Středí škola zemědělská a veterinární Lanškroun	odběr embryí
CZ 21790144	1. zemědělská a.s., Chorušice	odběr embryí

Protože o úspěšnosti embryotransferu rozhodují nejen teoretické a praktické znalosti týmu při odběru, kultivaci a přenosu embryí, ale také synchronizace říjí mezi dárkyněmi a příjemkyněmi, je nutné, aby všichni členové týmu byli na vysoké profesionální úrovni. Možné použití a

výsledky ET v České republice lze demonstrovat na příkladu na akciové společnosti 1. zemědělská a.s., Chorušice. Tato společnost hospodaří na 1530 ha orné půdy v řepařské výrobní oblasti několika katastrálních území (Chorušice, Choroušky, Velký Újezd, Zahájí, Mělnické Vtelno, Vysoká Libeň, Radouň, Nebužely, Kanina, Stránka, Zamachy, Libovice, Mšeno, Sedlec). Živočišná výroba je zaměřena na výrobu mléka a jatečných býků. Stádo 819 ks holštýnského skotu, z toho 355 krav (stav k 31.12.2019) vzniklo převodným křížením původního plemene. V chovu probíhá genomického testování jalovic, embryotransfery a používání sexovaných ID, v roce 2019 se započalo s metodou IVF/OPU. Metodu akciová společnost rozvíjí ve spolupráci s Výzkumným ústavem živočišné výroby, v. v. i. v Uhřetěvsi (1.zas-chorusice.cz 2021). Využití biotechnologických metod, jako je superovulace, přenos vajíček nebo embryotransfer jsou používány jako zajištěný způsob získání většího počtu potomstva od krav s tou nejvyšší genetickou hodnotou. To vše má za efekt zkrácení generačního intervalu, vyšší produkci potomků, a tím pádem i vyšší genetický zisk. Ten lze prezentovat na vývoji denní dojivosti stáda krav společnosti 1. zemědělská a.s., Chorušice v letech 2015 až 2019, jak je to uvedeno v grafu 1.

Graf 1: Vývoj denní dojivosti krav společnosti 1. zemědělská a.s., Chorušice, upraveno dle: 1.zas-chorusice (2021)



Z grafu je zřejmé, že vlivem využití dostupných biotechnologických metod došlo ve stádě k výraznému zvýšení denní užitkovosti. Za zmínku stojí například dojnice Chorusic Shamrock Jonas 3, která na druhé laktaci nadojila 20 179 kg mléka nebo Chorusic Solomon Koba 1 (dosáhla výborné hodnoty 4,18 plemenné odnoty pro typ (PTAT) a nechala za sebou konkurenty z takových rodin, jako jsou např: francouzská Galys-Vray, americká KHW Regiment Apple-Red, či kanadská Brabantdale Triumphant Spooky), která byla v genomickém

testování na exteriér v květnu 2019 hodnocená hodnocena jako druhá nejlepší v celé Evropě. Přitom pokud použijeme ve šlechtění skotu reprodukčních technologií v kombinaci s genomickou selekcí, je možné vybírat dárkyně embryí s větší přesností, ale i v mnohem ranějším věku. O kvalitě stáda krav společnosti 1. zemědělská a.s., Chorušice, které je vytvářeno za využití moderních biotechnologických metod svědčí i zařazení krav do TOP 100 dle exteriéru, jak je to zřejmé z tabulky v příloze V.

Jiným příkladem využití ET v chovu skotu je rodina krávy Agras Amalka z Agrasu Bohdalov, protože snad každá současná plemenářská firma v ČR vlastní nějakého nadějného plemeníka pocházejícího z této rodiny (např. Agras ALVARO NXB-613, Agras APACHE NXB-642, Agras AUDI NXB-617, Agras ARWEN NXB-618, Agras AVAR NXB-626, Agras BRUNO NEO-969, Agras SKETCH NXB-172 a další). Majitel této dojnice Agras Bohdalov, a.s. hospodaří v typických podmínkách Vysočiny v obcích Bohdalov, Rudolec, Pokojov a Chroustov, kdy na farmě Bohdalov je ustájeno 800 ks dojníc holštýnského skotu. V případě rodu Amalka se jedná původem o kanadskou rodinu, která byla v Bohdalově založena dovozem embryí z matky Glengarry BW Alixir GP-83 od chovatele Alberta Cormiera. Tato kráva v Kanadě nadojila na první laktaci přes 14 tisíc litrů mléka a na druhé a třetí laktaci již přes 17 tisíc litrů mléka. Samotná Agras Amalka po odchovu v České republice nadojila na druhé a třetí laktaci kolem 20 tisíc litrů mléka, proto se také delší čas držela na pozici TOP 1 dle SIH.

Na obrázku 9 je býk Agras ARWEN NXB-618 (Gymnast x Supershot x Mogul), narozený 25.12.2018 (na obrázku vlevo) a jeho matka Agras Amalka 41 VG-86 (na obrázku vpravo). Jedná se o vysoce postaveného syna Boldi GYMNASTA. Dominantami býka Agras ARWEN NXB-618 jsou excelentní produkce a dobré znaky zdraví, zejména vlastní plodností. Jeho matkou je skvělá dojnice Agras Amalka 41 VG-86, která na druhé normované laktaci nadojila 18 065 kg mléka, při 3,65 % tučnosti a 3,29 % obsahu bílkovin.



Obrázek 9: Agras Avar NXB-626 (vlevo), Agras Amalka 41 VG-86 (vpravo) (NATURAL 2020)

U dovozu embryí skotu do Evropské unie, tedy potažmo i České republiky platí veterinární podmínky pro obchod s embryi skotu uvnitř EU a jejich dovoz ze zemí mimo EU. Podle těchto podmínek (původní směrnice 89/556/EHS, nahrazena směrnicí 2016/429 s účinností od 21. dubna 2021) je dovoz embryí ze zemí EU omezen na embrya ze zemí uvedených v souladu s postupem podle článku 18 směrnice s ohledem na kritéria, například:

- zdravotní stav dobytka,
- informace o nakažlivých chorobách,
- prevence nálezů zvířat a boj proti nim,
- struktura veterinárních útvarů,
- poskytnuté záruky.

Odebraná nebo vyprodukovaná týmy, které byly pro odběr a produkci embryí schváleny příslušnými orgány (Europa.eu 2020).

Jednotlivé týmy oznamují provedení embryotransferu na tiskopisu „Soupis ET“ do ústřední evidence skotu ČMSCH a. s. Tiskopis Soupis ET je uveden v příloze VI této bakalářské práce. V současné době je u dojného skotu v České republice i ve světě na vzestupu používání také *in vitro* technologií pro produkci embryí skotu. Úspěšnost *in vitro* je ale nižší než u embryí získaných klasickým způsobem *in vivo*. Vzestup je způsoben snížením nákladů a pokroků v oblasti *in vitro* zrání oocytů, oplození a kultivace embryí.

Rentabilita chovu dojného skotu závisí ve velké míře na úrovni reprodukce (Meadows et al. 2005). Za posledních 25 let došlo k výraznému poklesu plodnosti vysokoprodukčních dojnic (Leroy & Kruif 2006). Zhoršení ukazatelů plodnosti souvisí s dlouhodobou selekcí na vysokou mléčnou užitkovost (Kadokawa & Martin 2006). Důvodem je záporná genetická korelace mezi reprodukčními a užitkovými vlastnostmi, na jejichž zlepšování byl skot v posledních letech šlechtěn (Royal et al. 2000). Na ekonomice výroby mléka v roce 2020 u souboru krav (58 chovů dojného skotu) vytvořeného v rámci poradenské činnosti společnosti Mikrop Čebín, a.s. Průměrná roční produkce mléka na krávu byla u hodnoceného souboru za výše uvedené období na úrovni 9003 kg. V rámci souboru bylo řešeno mimo jiné i brakování krav, které se pohybovalo na úrovni 34,88 %, přičemž nejčastěji byly krávy vyřazovány z důvodů poruch plodnosti (19,60 %) a onemocnění mléčné žlázy (16,74 %) (Staněk 2021). Dalším zajímavým ukazatelem v uvedeném souboru bylo zjišťování průměrné míry zabřeznutí (pregnancy rate, PR), který se stanovuje jako násobek procenta intenzity detekce říje (Heat Detection Rate, HDR, tj. počet inseminovaných krav z počtu všech krav, které jsou způsobilé k inseminaci, a to v průběhu 21denního cyklu) a procenta zabřezlých krav (Conception Rate, CR). Obecným

cílem je dle Staňka (2021) dosahovat hodnoty PR >20 % s tím, že mnoho stád dojeného skotu dnes rutinně dosahuje hodnot 23 až 26 % (tj. výborné úrovně). De Vries (2004) uvádí, že zlepšení zabřezávání po první inseminaci z 35 % na 45 % přinese benefit ve výši 27 USD, podobně dle Pecsoka et al. (1994) zvýšení úspěšnosti zabřezávání z 20 % na 30 % znamená zvýšení zisku na krávu o 83 USD.

Pro hodnocení výsledků plodnosti ve stádě krav se využívá také ukazatel délky mezidobí. Louda (2007) uvádí, že na ekonomické úrovni je plodnost hodnocena mezidobím. Nutným předpokladem k dosažení vyšší rentability prodloužením mezidobí je zvýšení perzistence laktace (Knight a Mainland 1995). V České republice například Kvapilík et al. (2015) uvádí ztráty v důsledku prodloužení mezidobí na 50-70 Kč na krávu, což představuje asi 1000-1400 Kč za jeden pohlavní cyklus plemence. V opačném případě dojde k nežádoucímu prodloužení délky stání na sucho, jak uvádí Ratnayake et al. (1998), kteří zjistili, že s mezidobím 18 měsíců u dojnic, právě kvůli nízké produkci mléka ke konci laktace musí proběhnout předčasné zasušení. Podle Ježkové (2010) je délka mezidobí v jednotlivých českých chovech různá v závislosti na užitkovosti a perzistenci laktace. Celkem 79 % změn mezidobí je ovlivněno detekcí říje a procentem zabřezávání po první inseminaci. Výsledky reprodukce jsou pravidelně publikovány jednotlivými plemenářskými organizacemi. Českomoravská společnost chovatelů a.s., je jako pověřená organizace zmocněna vedením ústřední evidence o chovu skotu v České republice, takže vyhotovuje i výsledné sestavy, jež poskytují informace o úrovni reprodukce stád zaměřených na produkci mléka, kontroly užitkovosti a dědičnosti.

## 4 Závěr

- Využití biotechnologických metod reprodukce v chovu dojnic představuje v současné době nejefektivnější způsob, jak přenést vrcholné genetické vlastnosti na plemenné krávy a dosáhnout tak požadovaného genetického zisku. Ten je totiž pro každého chovatele spojený s lepší reprodukcí a produkcí, tedy očekávaným ekonomickým ziskem. Ekonomický zisk je pak pro chov všech hospodářských zvířat zcela existenční záležitostí. Díky tomu, že v České republice jsou několik desetiletí uplatňovány všechny důležité moderní biotechnologické metody reprodukce jako jsou synchronizace říje a ovulace, umělá inseminace, vícečetná ovulace a embryotransfer, IVF, sexování spermií apod., jsou všechna u nás chovaná plemena zaměřená na mléčnou užitkovost absolutní evropskou špičku. Přitom se nejedná pouze o holštýnský a český strakatý skot, ale také o plemeno montebeliarde, jersey, ayshire, brown swiss a další. Holštýnský skot, však představuje nejvíce zastoupenou populaci s mléčnou produkcí u nás.
- Vzhledem k tomu, že vyhledávání říjících se dojnic je časově a pracovní náročné, zvláště u krav s nevýraznými projevy říje nebo hormonálními poruchami, je ve stádě vhodné využívat synchronizace říje. Dosažení synchronizace lze buď chovatelsko-organizačními opatřeními nebo uměle aplikací látek ovlivňujících pohlavní cyklus plemenic. Jak bylo v práci uvedeno, v současné době je pro zefektivnění reprodukce popsána celá řada programů jak presynchronizace, synchronizace i resynchronizace a jejich různé modifikace. Další důležitá část práce byla zaměřena na embryotransfer, který má v našich podmínkách rovněž vysokou technologickou úroveň. Vždyť metoda ET se v provozních podmínkách používá více jak dvacet pět let, a tak současné technologické postupy a vybavení jednotlivých týmů jsou zcela srovnatelné s dalšími chovatelsky vyspělými zeměmi světa.
- Práce poukázala na to, že v České republice je využití biotechnologických metod, jako je superovulace, přenos vajíček nebo embryotransfer používány jako zajištěný způsob získání většího počtu potomstva od krav s tou nejvyšší genetickou hodnotou. Za příklad byla zvoleno stádo skotu v 1. zemědělské a.s., Chorušice, kde například dojnice Chorusic Shamrock Jonas 3, která na druhé laktaci nadojila 20 179 kg mléka. Za příklad využití ET ve stádě skotu byla uvedena rodina krávy Agras Amalka z Agrasu Bohdalov. V případě tohoto rodu se jedná o původem kanadskou rodinu, která byla v Bohdalově



založena dovozem embryí z matky Glengarry BW Alixir GP-83 od chovatele Alberta Cormiera.

## 5 Literatura

- Andrlíková M, Čiernikova Z, Kos V, Lopatářová M, Marková B, Stařecká V, Vránová L, Čech S. 2018. Praktický manuál *in vitro* produkce embryí u skotu. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno.
- Barszcz K, Wiesetek D, Wasowicz M, Kupczynska M. 2012. Bull Semen Collection and Analysis for Artificial Insemination. *Journal of Agricultural Science*. **4 (3)**:21-25
- Bouška J. et al. 2006. Chov dojeného skotu. Profi Press. Praha.
- Bucek P, Kučera J, Syrůček J. 2020. Chov skotu v České republice – Hlavní výsledky a ukazatele za rok 2019. Českomoravská společnost chovatelů. Praha.
- Burdych V, Všečetka J, Divoký L, Brychta J, Stejskalová E, Kvapilík J. 2004. Reprodukce ve stádech skotu. CHovservis a.s. Hradec Králové.
- Callesen H., Bogh BI, Greve T. 2019. Embryo Transfer and Other Assisted Reproductive Technologies. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. England
- Coufalík V. 2013. Současné problémy v reprodukci skotu. Agriprint. Olomouc.
- De Vries A. 2004. Economics of delayed replacement when cow performance is seasonal. *Journal of Dairy Science*. **87**: 2947–2958.
- Dhurvey M, Gupta VK, Nema SP, Patidar A, Shivhare M, Singh N, Shakya V. 2012. Modern semen evaluation techniques in domestic animals. *DHR International Journal of Biomedical and Life Sciences*. **3 (1)**: 62 – 83.
- Galli C, Duchi R, Crotti G, Turini P, Ponderato N, Coelloni S, Lagutina I, Lazzari G. 2003. Bovine embryo technologies. Istituto Sperimentale Italiano Lazzaro Spallanzani. Cremona Italy.
- Gordon I. 2004. Reproductive Technologies in Farm Animal. CABI publishing. Cambridge.
- Hanuláková Š, Máchal L. 2011. The influence of the czech fleckvieh bull individuality and preparation method to the sperm activity. Mendel University in Brno. Brno.
- Jahnke M, West JK, Youngs CR. 2010. Evaluation of In Vivo-Derived Bovine Embryos. Veterinar key. Iowa State University, Iowa.
- Jakubec V, Louda F, Bezdíček J. 2012. Šlechtění a management genetických zdrojů zvířat. Agrovýzkum, Rapotín.
- Johnson LA, Welch GR. 1999. Sex preselection: High-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology*. **52(8)**:1323-1341.
- Kadokawa H, Martin GB. 2006. A New Perspective on Management of Reproduction in Dairy Cows: the Need for Detailed Metabolic Information, an Improved Selection Index and Extended Lactation. *Journal of Reproduction and Development*. **52**: 161–168.
- Kliment J. 1983. Reprodukcia hospodárskych zvierat. Príroda. Bratislava.

Knight CH, Mainland D. 1995. Physiology of milk production; how can it be manipulated. *Cattle Practice*. **3**: 169–173.

Kono T, Obata Y, WU O. 2004. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. *Nature*. **428**: 860-864

Králová K, Šichtař J. 2014. Současné trendy v synchronizaci ovariální dynamiky u krav. *Veterinářství*. 2014:620-624

Kvapilík J, Růžička Z, Bucek P. 2015. Ročenka 2014. Chov skotu v České republice. Praha. 95 s.

Larson JE, Lamb GC, Funnell BJ, Bird S, Martins A, Rodgers JC. 2010. Embryo production in superovulated Angus cows inseminated four times with sexedsorted or conventional, frozen thawed semen. *Theriogenology*. **73**: 698-703

Leroy JL, De Kruif A. 2006. Reduced reproductive performance in high producing dairy cows: is there actually a problem? *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. **75**: 55-60.

Louda F. 2007. Zásady využívání plemenných býků v podmínkách přirozené plemenitby. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín.

Louda F. 2008. Uplatnění biologických zásad při řízení reprodukce plemenic. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín.

Machatková M. 2006. Vývojové trendy v produkci geneticky cenných embryí skotu superovulací a metodou in vitro. *Veterinářství* **56**: 299-301

Meadows, C, Rajala-Schultz PJ, Frazer GS. 2005. A Spreadsheet-Based Model Demonstrating the Nonuniform Economic Effects of Varying Reproductive Performance in Ohio Dairy Herds. *Journal of Dairy Science*. **88**: 1244-1254.

metod. ČZU Praha. Praha.

Murugavel K, Yániz JL, Santolaria P, López-Béjar M, López-Gatius F. 2003. Prostaglandin based estrus synchronization in postpartum dairy cows: An update. *Int J Appl Res Vet Med*. **1**:51-65

MZe. 2020. Situační a výhledová zpráva mléko. Ministerstvo zemědělství. Praha.

Nagy A, Rossant J, Nagy R, Abramow-Newerly W, Roder JC. 1993. Derivation of completely cell culture-derived mice from early-passage embryonic stem cells. *National Academy of Sciences*. **90**: 8424-8428

Overton R. 2008. Sexované sperma ekonomická fakta. *Šlechtitel*. **2008**: 11-12.

Parish JA, Larson JE. 2016. Artificial Insemination Programs for Cattle. Mississippi State University. Starkville.

Pecsok SR, Mcgilliard ML, Nebel RL. 1994. Conception rates. Part 1. Derivation and estimates for effects of estrus detection on cow profitability. *Journal of Dairy Science*. **77**: 3008–3015.

Perez-Marin CC. 2012. A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine. In Tech. Rijeka

- Philips P, Jahnke M. 2016. Embryo Transfer (Techniques, Donors, and Recipients). Elsevier. **32**:365-385
- Ratnayake DRTG, Berglund B, Bertilsson J, Forsberg M, Gustafsson H. 1998. Fertility in cows managed for calving intervals of 12, 15 or 18 months. *Acta Veterinaria Scandinavica*. **39**: 215–228.
- Roelofs J, Lopéz-Gatiús F, Hunter RHF, van Eerdenburg FJCM, Hanzen Ch. 2000. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*. **74**: 327-44
- Rowson LEA, Lawson RAS, Moor RM. 1971. Production of twins in cattle by egg transfer. *Reproduction*. **25(2)**: 261-268.
- Royal MD, Mann GE, Flint APF. 2000. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Veterinary Journal*. **160**: 53–60.
- Rüsse MW. 2010. Bessere Fruchtbarkeit beim Rind. Blv Buchverlag. Germany
- Říha J, Machatková M, Petelíková J, Jakubec V, Pytloun J, Šereda L, Pavlok A. 1999. Biotechnologie v chovu a šlechtění hospodářských zvířat. Asociace chovatelů masných plemen. Rapotín.
- Sayid A, Degefa T. 2021. On station evaluation of estrus response to single shoot prostaglandin synchronization and conception rate of sexed semen in dairy cattle. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. **11**:124-132.
- Segura CVM, Rodriguez ROL. 1994. Effect of clitoral stimulation after artificial insemination on conception in Zebu-crossbred heifers in the tropics. *Theriogenology*. **42**:781-787.
- Seidel GE, Seidel SM. 1991. Training manual for embryo transfer in cattle. Colorado State University. USA
- Seidel GE. 2007. Overview of sexing sperm. *Theriogenology*. **68(3)**: 443– 446.
- SCHHSCR. 2020. Ročenka 2020-2. část. Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR, Praha.
- Skarzynski DJ, 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 Animals*, **43**: 57-65.
- Skládanka J. et al. 2014. Chov strakatého skotu. Mendelova univerzita v Brně. Brno.
- Stádník L, Doležalová M, Ducháček J. 2015. Vliv mrazicí křivky na kvalitu ukazatele inseminační dávky. ČZU Praha. Praha.
- Stádník L, Hegedúšová Z, Makarevich A, Kubovičová E, Louda F, Beran J, Nejdlová M. 2013. Zvýšení efektivity embryotransferu u holštýnských dojnic využitím hodnocení jejich tělesné kondice. ČZU Praha. Praha.
- Staněk S, Kosová M. 2009. Správná chovatelská praxe-rutinní postupy při zacházení s dojnicemi. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha
- Stötzel C, Plöntzke J, Heuwieser W, Röblitz S. 2012. Advances in modeling of the bovine estrous cycle: Synchronization with PGF2 $\alpha$ . *Theriogenology*. **78**:1415-1428.

- Stringfellow DA, Givens MD. 2010. International Embryo Transfer Society. Savory III.
- Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR. 2015. Ročenka 1/2015. Svaz chovatelů holštýnského skotu. Praha.
- Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR. 2020. Ročenka 2020. Svaz chovatelů holštýnského skotu. Praha.
- Šichtař J, Krejcarová A, Gošková K. 2012. Utilization of sex-sorting in breeding. FAPPZ ČZU. Praha.
- Troxel TR. 2013. Embryo transfer in cattle. University of Arkansas Division of Agriculture. Arkansas
- Vacek M, Kubešová M. 2009. Využití BCS při řízení reprodukce u holštýnských krav. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha.
- Vajta G, Gjerris M. 2006. Science and technology of farm animal cloning: State of the art. Animal Reproduction Science. **92**: 211-230.
- Vaněk D, Štolc L. 2002. Chov skotu a ovcí. ČZU Praha. Praha.
- Vychodilová L, Stejskalová K, Bubeníková J, Futas J, Plášil M, Jánová E, Hořin P. 2019. Klinická genetika. Ústav genetiky FVL Brno. Brno.
- Wilmot I, Paterson L. 2003. Somatic cell nuclear transfer. Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics. **13(6-7)**: 303-307.
- Wiltbank MC, Pursley JR 2014. The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation. Theriogenology. **81**:170-185

### **Elektronické zdroje**

- 1.zas-chorusice.cz. 2021. Chov skotu. 1zas-chorusice. Available from: <https://www.1zas-chorusice.cz/index.php/o-podniku/zivocisna-vyroba/>. (accessed prosinec 2021).
- Agropress.cz. 2021. Užítkovost holštýnského skotu stále stoupá. Available from: <https://www.agropress.cz/uzitkovost-holstynskeho-skotu-stale-stoupa/>. (accessed září 2021).
- Čsú. 2021. Chov skotu – 2. pololetí 2020. Available from: <https://www.czso.cz/csu/czso/chov-skotu-2-pololeti-2020>. (accessed prosinec 2021).
- Evropa.eu. 2020. Obchod s embryi skotu uvnitř EU a jejich dovoz. Available from: <http://publications.europa.eu/resource/uriserv/I12009.CES>. (accessed září 2021).
- Fricke PM. 2018. Reproductive Management of Dairy Heifers. Madison: University of Wisconsin. Available from: <https://sheboygan.extension.wisc.edu/files/2010/08/FrickeReproductiveManagementofDairyHeifers-Fricke.pdf>. (accessed červenec 2021).
- INPLEM. 2020. Uzávěrky kontroly užítkovosti za kontrolní rok 2019/2020. Available from: <https://www.inplem.cz/index.php/aktuality/229-vlozeny-uzaverky-ku-2019-2020> (accessed září 2021).

- Ježková A. 2010. Zásady řízení reprodukce skotu. Náš chov. Profi Press s.r.o. Available from: <https://www.naschov.cz/zasady-rizeni-reprodukce-skotu/> (accessed prosinec 2021).
- Kureš D. 2001. Sexování spermií u hospodářských zvířat. Náš chov, Profi Press s.r.o. Available from: <https://www.naschov.cz/sexovani-spermii-u-hospodarskych-zvirat/>. (accessed srpen 2021).
- Louda F, Ježková A, Stádník L. 2002. Biotechnologické metody v chovu skotu. Náš chov Profi Press s.r.o. Available from: <https://www.naschov.cz/biotechnicke-metody-v-chovu-skotu/>. (accessed říjen 2021).
- Marková M. 2009. Pohled do plemenářské laboratoře. Chov skotu. Available from: <https://www.crv.cz/wp-content/uploads/2015/03/Vyroba-sexovanych-ID.pdf>. (accessed listopad 2021).
- MZe. 2021. Komoditní karta mléko, červen 2021. Available from: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemdelstvi/zivocisna-vyroba/zivocisne-komodity/mleko-a-mlece-vyroby>. (accessed listopad 2021).
- NATURAL. 2020. Natural. Available from: [http://www.naturalgen.cz/DOC\\_DLA1/232\\_Katalog\\_holstynskych\\_byku\\_2020.pdf](http://www.naturalgen.cz/DOC_DLA1/232_Katalog_holstynskych_byku_2020.pdf). (accessed listopad 2021).
- Nedvěd J. 2012. Není reprodukce, není tele. Available from: <http://fremis.cz/application/files/1315/6509/2631/reprodukce.pdf>. (accessed srpen 2021).
- Staněk S. 2021. Ekonomika výroby mléka v ČR v roce 2020. mikrop. Available from: <https://www.mikrop.cz/magazin/ekonomika-cz2020~m1069>. (accessed únor 2022).
- SVS. 2021. Plemenářská zařízení. Svscr. Available from: <https://www.svscr.cz/registrovane-subjekty-svs/plemenarske-zarizeni/>. (accessed prosinec 2021).
- Veselská R. 2015. Asistovaná reprodukce živočichů a klonování. MUNI. Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU. Available from: [https://is.muni.cz/el/sci/jaro2012/Bi8120/um/2012\\_10\\_Asistovana\\_reprodukce\\_zivocichu\\_a\\_klonovani.pdf](https://is.muni.cz/el/sci/jaro2012/Bi8120/um/2012_10_Asistovana_reprodukce_zivocichu_a_klonovani.pdf). (accessed září 2021).
- Zajíček P, Brodská J. 2020. Genomika a vysoce fertilní sexované ID v praxi. Inplem. Available from: <https://www.inplem.cz/images/2020/NAE-PREZENTACE-finalni-uprava.pdf>. (accessed listopad 2021).

## 6 Seznam použitých zkratek a symbolů

BCS	body condition score, skóre tělesné kondice
CL	corpus luteum
CR	conception rate, poměr zabřezávání
ČMSCH	Českomoravská společnost chovatelů
ČR	Česká republika
ČSÚ	Český statistický úřad
DNA	deoxyribonucleic acid, deoxyribonukleová kyselina
ET	embryotransfer
EU	Evropská unie
FSH	folikulostimulující hormon
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone, gonadotropní stimulační hormon
HDR	heat detection rate, poměr vyhledaných říjí
ID	inseminační dávka
IETS	international embryo transfer society
IVC	in vitro kultivace
IVF	in vitro fertilizace
IVM	in vitro maturace
IUI	intrauterinní inseminace (nitroděložní inseminace)
IVP	in vitro production
KU	kontrola užítkovosti
LH	luteizační hormon
MLGA	melengestrol acetát
MOET	mnohonásobná ovulace a embryotransfer
MZe	Ministerstvo zemědělství
OPU	Ovum pick-up, způsob získávání oocytů z folikulů od živých dárců
PBS	pufrovací roztok používaný k aspiraci oocytů metodou OPU
PGF <sub>2α</sub>	prostglandin
PR	pregnancy rate, ukazatel míry březosti
SB	somatické buňky
SCNT	somatic cell nuclear transfer, přenos jádra somatické buňky
SCHHSCR	Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR
SIH	komplexní selekční index (gSIH-genomický index pro mladé býky)
SVS	Státní veterinární správa
VÚVeL	Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

## **7 Seznam příloh**

Příloha I: Pětibodový systém hodnocení tělesné kondice u holštýnských dojnic

Příloha II: Vývojová stádia embrya

Příloha III: Schéma produkce embryí *in vitro*

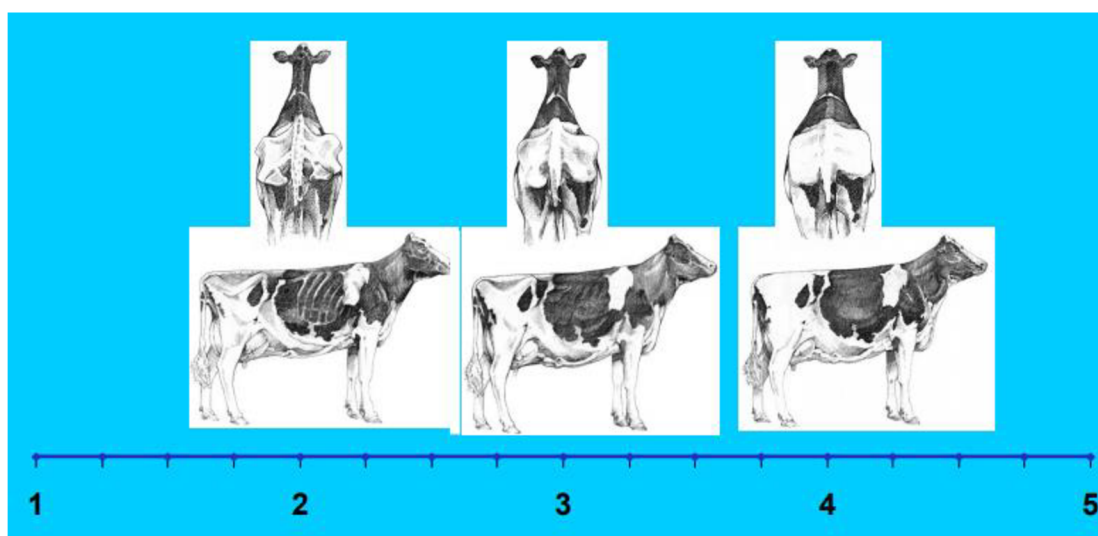
Příloha IV: Inseminační výkaz

Příloha V: Uzávěrky kontroly užitečnosti za rok 2019/2020

Příloha VI: Soupis ET

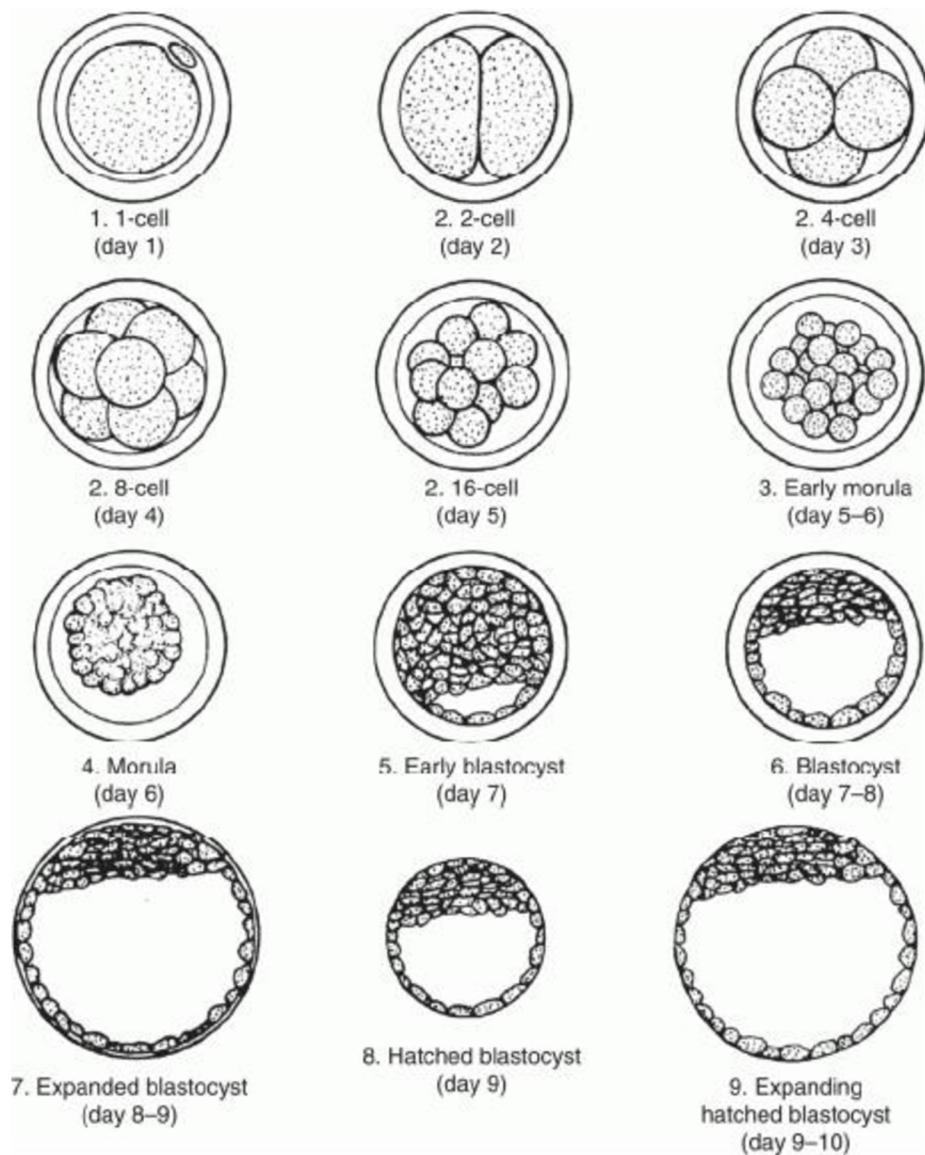


Příloha I: Pětibodový systém hodnocení tělesné kondice u holštýnských dojnic (Agropress 2021)

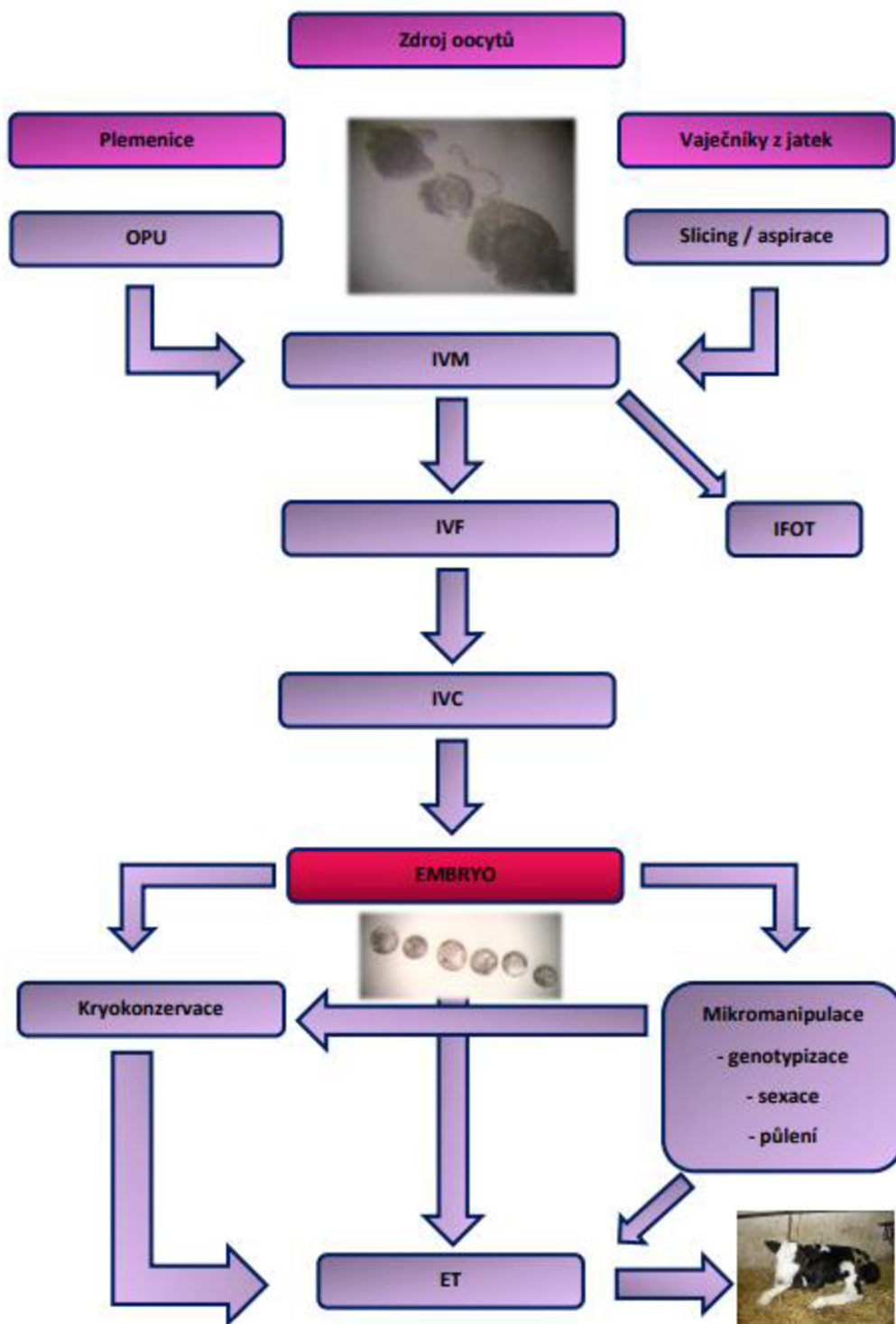


BCS	Bederní obratle	Zadní pohled na krajinu mezi kyčelními hrboly	Boční pohled na krajinu mezi kyčelními a sedacími hrboly	Prohlubeň mezi kořenem ocasu a sedacími hrboly	
				Pohled zezadu	Šikmý pohled
<b>1</b> Krajní vyhublost					
<b>2</b> Jasně ohraničení					
<b>3</b> ohraničení a pokrytí v rovnováze					
<b>4</b> ohraničení kostí není patrné					
<b>5</b> krajní ztučnění					

Příloha II: Vývojová stádia embrya (Jahnke et al. 2010)



Příloha III: Schéma produkce embryí *in vitro* (Andrlíková et al. 2018)





Příloha V: Uzávěrky kontroly užítkovosti za rok 2019/2020 (INPLEM 2020)

chovatel	káva	otec	otec reg.	otec matky	otec matky reg.	datum hodn.	plmeno	ml. síla	stav. těla	končetny	veneno	celkem	vysl. třída
Poláčkovi - farma Hole	CZ 341696 921 ARTES	NXA-940 HEBIEMOR	NEA-273	2.3.2020 H	91 91 91	90 91 E							
I. ZAS Chorušice	CZ 347970 921 WINDBROOK	NEO-070 SANCHEZ	NEA-838	9.9.2020 H	91 90 90	91 91 E							
I. ZAS Chorušice	CZ 433930 921 DREAMS	NXB-109 EXPLODE	NEA-871	6.5.2020 H	93 91 91	89 91 E							
I. ZAS Chorušice	CZ 401504 921 MINCIO	NEO-325 MR SAM	NGA-611	6.5.2020 H	92 90 91	87 90 E							
I. ZAS Chorušice	CZ 401511 921 DREAMS	NXB-109 ROUMARE	NEA-526	15.3.2019 H	92 90 91	87 90 E							
ČZU Lány - Ruda	CZ 412815 921 MONROVIA	NEO-454 UMANCE	NXA-849	4.8.2020 H	90 90 90	90 90 E							
I. ZAS Chorušice	CZ 384837 921 GOLDSUN	NXA-921 DOLMAN	NXA-544	13.12.2019 H	91 91 89	87 89 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 401534 921 SHAMROCK	NXB-036 GOLDSUN	NXA-921	9.10.2019 H	90 89 87	89 89 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 401555 921 GOLDSUN	NXA-921 DUNARO	NEA-705	5.6.2019 H	89 88 88	89 89 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 433974 921 SALT	NEO-479 ALTAVALON	NXB-026	9.10.2019 H	90 88 88	88 89 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 321489 921 GOLDSUN	NXA-921 FIBRAX	NXA-644	7.2.2017 H	86 87 89	90 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 463195 921 CAPTAIN RED	RED-673 DREAMS	NXB-109	9.9.2020 H	90 88 89	87 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 384853 921 POULIK	PPH-684 CM	NXA-929	9.10.2019 H	90 88 87	88 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 384873 921 DREAMS	NXB-109 WINDBROOK	NEO-070	13.4.2018 H	89 88 88	87 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 401501 921 DREAMS	NXB-109 MR SAM	NGA-611	10.1.2018 H	86 89 88	88 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 401526 921 IMPRESSION	NXB-082 DOBERMAN	NEO-103	11.7.2018 H	88 89 88	87 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 401584 921 IMPRESSION	NXB-082 DOBERMAN	NEO-103	15.3.2019 H	89 88 89	86 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 433927 921 SKALAK	PPH-908 GOLDMINE	TMB-086	15.3.2019 H	87 89 89	88 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 433949 921 PLATON	PPH-608 GOLDSUN	NXA-921	5.6.2019 H	88 87 89	88 88 VG							
I. ZAS Chorušice	CZ 341696 921 ARTES	NXA-940 HEBIEMOR	NEA-273	2.3.2020 H	88 90 87	86 87 VG							
ZEM a.s. - Nepollisy	CZ												
I. ZAS Chorušice	CZ												

