

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Faktory působící na reprodukční výkonnost koní

Bakalářská práce

Autor práce: Daniela Nová

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

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

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

V Praze dne 21.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Jiřímu Šichtaři, PhD. za odborné vedení mé práce a za trpělivost, kterou se mnou a mým způsobem práce měl, a také celé své rodině, která mě plně podporovala po celou délku studia.

Faktory působící na reprodukční výkonnost koní

Souhrn

Cílem práce je napsat literární rešerši popisující nejnovější poznatky o faktorech působících na reprodukční výkonnost koní. Nejdříve je zde ve stručnosti popsána anatomie reprodukční soustavy klisny i hřebce, poté základní fyziologické děje probíhající v reprodukčních orgánech a žlázách, bez kterých by reprodukce nemohla fungovat, a hormonální řízení reprodukce. Dále je popsán vliv vnitřních faktorů, které ovlivňují úspěšnost reprodukce klisen i hřebců. U plemene jsou zřetelné rozdíly u klisen u podzimního přechodu do anestru. Všechny klisny primitivního plemene pony přešly do anestru, zatímco u plemene Saddle přešlo do anestru pouze 66% klisen. Teplokrevná plemena hřebců mají podle výsledků výzkumů kvalitnější sperma než chladnokrevníci. U věku se autoři shodují, že klisny starší 12 let mohou mít více problémů zabřeznout a udržet březost než mladší klisny. Je však také důležitá kombinace faktorů věku a reprodukčního statusu klisny. Klisny starší 12 let, které ještě nebyly zapouštěné, zabřezají hůře než mladší klisny, které již prošly reprodukcí. Hřebci ve věku 7–12 let mají podle zdrojů nejlepší kvalitu spermatu. Tělesná kondice chovných klisen by se měla udržovat ve středních hodnotách, jelikož nízká nebo vysoká tělesná kondice může způsobit vstřebání embrya, a také ovlivnit délku zimního anestru klisen. Vnějších faktorů ovlivňujících reprodukci koní je podstatně více, ale v této práci jsou popsány pouze následující. Fotoperioda je hlavním faktorem, podle kterého se řídí ovariální aktivita klisen, a tedy i reprodukční sezóna. Umělou manipulací fotoperiody přisvicováním je možné zkrátit dobu anestru klisen, čímž chovatel získá více říjí, během kterých mohou klisny zabřeznout. Klimatické podmínky mohou mírně ovlivňovat reprodukční výkonnost koní, ale podle porovnání výsledků reprodukce plnokrevných anglických klisen v mírném a subtropickém podnebném pásu nejsou rozdíly příliš velké, a zatím není prokázáno, zda nejsou způsobeny pouze rozdílným managementem koní. Výživa, která často obsahuje málo nebo naopak mnoho makronutrientů, mikronutrientů a stopových prvků, může mít až zásadní dopady na udržení březosti klisny. U hřebců dostatečný obsah antioxidantů v krmné dávce pozitivně ovlivňuje parametry kvality spermatu. Pracovní zátěž a závodění ve vhodné míře podle zdrojů pozitivně ovlivňuje reprodukční výkonnost klisen. Naopak přílišná zátěž koní zvyšuje stres,

ovlivňuje hladiny hormonů a zvyšuje tělesnou teplotu, což může mít negativní vliv. Klisny mohou vstřebat embryo a u hřebců může mít zvýšená tělesná teplota vliv na spermatogenezi. Frekvence a způsob odbírání spermatu hřebců ovlivňuje kvalitu spermatu, a je proto vhodné zavést pravidelný režim odběrů jednou během 24 či 48 hodin, podle potřeby a možností managementu hřebců. Nicméně delší nebo kratší intervaly mezi odběry snižují kvalitu spermatu. Kvalita spermatu je naprosto zásadním faktorem, který ovlivňuje reprodukci. Obecně platí, že mražené sperma má nižší kvalitu a míru zabřeznutých klisen než čerstvé sperma, ale záleží i na jednotlivém hřebci, zpracování spermatu a zvládnutí inseminace. Sociální prostředí koní značně ovlivňuje parametry kvality spermatu hřebců. Hřebci, kteří jsou ustájeni v hřebčíněch ve společnosti jiných hřebců mají nižší hodnoty parametrů kvality ejakulátu a hladinu testosteronu než hřebci ustájení s klisnami. Způsob zapuštění klisny ovlivňuje reprodukci hlavně z důvodu možné kontaminy dělohy a následného nezabřeznutí.

Klíčová slova: klisna, hřelec, reprodukce, reprodukční status, reprodukční výkonnost

Factors affecting reproduction efficiency of horses

Summary

The aim of this is to write a literature review covering the latest findings about factors that affect reproduction efficiency of horses. First there is concisely described anatomy of reproductive system of a mare and a stallion, then basic physiological actions that happen in reproductive organs and glands and are essential for reproduction and there is also hormonal control of reproduction. Following chapters are about influence of an internal factors that affect success of reproduction of mares and stallions. There are considerable differences between mares of different breeds in autumn transition to anestrus. All primitive pony mares went through the transition whereas only 66% of Saddle breed mares got anestrus. Warmblood breeds of stallions have more quality sperm than graught stallions according to the reasearch. The authors are in agreement that mares older than 12 years can be more complicated to get pregnant and keep the pregnancy than younger mares. But combination of age and reproductive status is also important. Never bred mares older 12 years are more complicated to get pregnant then younger mares that have already been bred before. Stallions that are 7 to 12 years old have best quality of sperm according to sources. Body condition of breeding mares should be kept in the middle values because low or high body condition may cause absorption of the embryo and also influence lenght of winter anestrus of mares. There are many more external factors affectin horse reproduction but in this work there are described only following. Photoperiod is the main factor that controls ovarian activity of mares therefore the breeding season. The lenght of mares anestrus can be shorten by artificial manipulation of photoperiod, the mares breeder gains more estrus cycles for getting the mare pregnant. Climate can slightly affect reproduction efficiency of horses but according to comparison of reproduction results of Thoroughbred mares in moderate and subtropical climate there are no great differences and there is also no proof that the slight differences were not caused by differences in horse management. Nutrition that often does not contain proper amount of macronutrients, micronutrients and trace elements can have lethal impact on keeping pregnancy in the mare. Proper amount of antioxidants in stallions nutrition affects

positively quality parameters of sperm. According to sources physical work and racing in appropriate rate has positive influence on reproduction efficiency of mares. On the contrary excessive exertion increases stress, affects hormone levels and increases body temperature that can have negative effects. Mares can absorb embryos and increased body temperature can affect spermatogenesis in stallions. Frequency and a method of procuring sperm of stallions affects the quality of sperm and therefore regular regime of consumptions once in 24 or 48 hours according to requirements and possibilities of stallions management is advised. However shorter or longer time intervals between consumptions lower the quality. The quality of sperm is absolutely basic factor that influences reproduction. Generally they say that frozen sperm has lower quality and pregnancy rates of mares than fresh sperm but it also depends on individual stallion, sperm preparation and insemination handling. Social environment of horses greatly influences parameters of stallions sperm quality. Stallions that live in stud farms with other stallions have lower values of sperm quality and testosterone level than stallions that live with mares. The method of embedding the mare affects reproduction mainly by the reason of microbiological contamination of the uterus and for that not getting pregnant.

Keywords: mare, stallion, reproduction, reproductive status, reproduction efficiency

Obsah

1 Úvod	9
2 Literární přehled.....	10
2.1 Anatomie reprodukční soustavy koní.....	10
Klisna	10
Hřebec	11
2.2 Fyziologie reprodukční soustavy koní.....	12
Hormonální řízení reprodukce klisny	12
Estrální cyklus a hormony.....	14
Hormonální řízení reprodukce hřebce	15
Reprodukční buňky a jejich vývoj	15
Estrální cyklus	16
2.3 Vnitřní faktory ovlivňující reprodukční výkonnost koní	17
Plemeno	17
Věk	19
Tělesná kondice (TK).....	21
Reprodukční status.....	23
2.4 Vnější faktory	24
Fotoperioda	24
Klimatické podmínky a environmentální teplota	24
Výživa	26
Vliv pracovní zátěže a závodění koní na reprodukční výkonnost.....	30
Vliv frekvence odběrů semene a počtu skoků na fantoma na plodnost hřebce	32
Vliv způsobu odběru spermatu na jeho kvalitu.....	35
Vliv sociálních interakcí mezi hřebcem a klisnou na přechod z anestrů k ovariální aktivitě	36
Vliv celkového sociálního prostředí a sociálních interakcí hřebců s klisnami a jinými hřebci na parametry semene hřebce	37
Vliv MHC klisny na parametry spermatu hřebce.....	39
Vliv způsobu zapuštění klisny	39
3 Závěr	44
4 Použitá literatura:.....	45
5 Přílohy.....	61

1 Úvod

V dnešní společnosti koně pro člověka nemají takový význam, jako měli v minulosti, nicméně i přesto do našeho světa a života patří, a proto je studiu aspektů jejich života a vylepšování jejich schopností, které může člověk využít ve svůj prospěch, věnováno velké úsilí. Naprostým základem všeho je reprodukce, pomocí které probíhá šlechtění plemen, vylepšování nebo naopak oslabování vybraných vlastností a schopností jedinců v populaci. Je poměrně známým faktem, že chov koní už velmi dlouho funguje na principu tradice. Mnoho chovatelů nemění zaběhlé postupy, protože to tak dělali doteď a fungovalo to, takže nevidí důvod, proč něco měnit nebo se zajímat o vylepšení metod, kterým se věnují vědecké výzkumy. Zatímco jisté oblasti chovu koní už jsou poměrně dobře známy a pochopeny, například vliv plemene, věku, reprodukčního statusu klisen, fotoperiody, nebo kvality spermatu hřebců a jak ji ovlivňuje způsob odběru ejakulátu, jsou zde i faktory, ve kterých je podle vědecké literatury stále mnoho prostoru ke zlepšení. Mezi tyto faktory patří například výživa koní, vliv sociálního prostředí koní a ustájení, nebo využití umělých metod zapouštění klisen. Je důležité si uvědomit, že všechny jmenované faktory a ještě mnoho dalších ovlivňují výsledek reprodukce společně, a proto je vhodné sledovat a hodnotit reprodukční výkonnost jak klisen tak hřebců, aby byla zajištěna efektivní reprodukce s uspokojivými výsledky a zamezilo se zbytečným ztrátám chovatelů jak finančním, tak časovým.

2 Literární přehled

2.1 Anatomie reprodukční soustavy koní

Klisna

Reprodukčními orgány klisny jsou párové vaječníky, párové vejcovody, děloha, pochva a vulva. Patří sem i mléčná žláza (Reece, 2009).

Vaječník je žláza, ve které probíhá oogeneze a folikulogeneze a tvoří se zde pohlavní hormony. Folikuly ovulují z ovulační jamky, která dává vaječnickům fazolovitý tvar. Vaječník má korovou vrstvu, která obsahuje velké množství folikulů, a dřev, kterou tvoří vazivo, nervy a krevní a lymfatické cévy (Reece, 2009).

Vejcovod je trubice spojující vaječník s děložním rohem. Rozšířenou nálevkou vejcovodu se přikládá k ovulační jamce. Je místem splnutí oocytu se spermií (Kainer, 2011).

Děloha se skládá ze dvou asymetrických rohů, těla a krčku. Je vystlána endometriem s mnoha žlázkami. Pod ním je myometrium, vrstva hladkého svalstva, a perimetrium, serózní blanka pokrývající dělohu, která je pokračováním mesometria – děložního okruží (Kainer, 2011). Krček dělohy je tubulární orgán, který vystupuje do kraniální pochvy (děložní čípek) a je třetí bránou chránící dělohu před vnějšími vlivy. Podle jeho vzhledu můžeme poznat reprodukční status klisny (England, 2005).

Pochva má dvě části – klenbu a předsíň. Spojuje dělohu s vulvou a slouží k příjmu penisu při kopulaci. Sliznice vystylající pochvu je krytá vrstevnatým dlaždicovým epitelem bez žláz. Na rozhraní pochvy a předsíně ústí močová trubice (Reece, 2009). Pochva je přirozeně zhroucená do sebe sama, nemá žádný tvar. Zúžení mezi poševní klenbou a předsíní je druhou ochrannou bránou (England, 2005).

Vulva se nachází ventrálně od řitního otvoru a tvoří ji dva stydké pysky, které leží proti sobě a měly by být pevně uzavřeny, aby nedošlo k fekální kontaminaci (England, 2005).

Hřebeč

Reprodukční soustava hřebce se skládá ze dvou varlat, dvou nadvarlat, dvou chámovodů, přídatných pohlavních žláz a penisu. Všechny orgány, žlázy a vývody se nachází v pánevní dutině a externě v šourku a předkožce (Amann, 2011a).

Šourek je vychlípenina břišní stěny, která je rozdělena přepážkou na dva vaky - pro každé varle jeden. Jednotlivé vrstvy šourku zajišťují mobilitu varlat a napomáhají jejich termoregulaci (Amann, 2011a).

Sestup varlat do šourku by se měl uskutečnit během prvních dvou týdnů po narození. Pokud varle nestihne projít interním tříselným prstencem dříve, než se uzavře, zůstává v břišní dutině a hřebeč se stává kryptorchidem (Amann, 2011a).

Semenný provazec vede z břišní dutiny přes tříselný kanál k varlatům, která jsou na něm zavěšená (Amann, 2011a).

Varle je samčí gonádou a místem produkce spermií a hlavního samčího pohlavního hormonu, testosteronu. Varlata jsou vejcovitého tvaru, lehce ze stran zploštělá a jejich dlouhá osa je téměř horizontální. Při narození hřebce váží každé varle 5 – 20 g a nejvíce roste během 12 – 18 měsíce života hřebce. Věk a sezóna velmi ovlivňují hmotnost varlat. Ve varleti se nachází dva důležité typy buněk – Leydigovy, které produkují testosteron, a Sertolihy, které zajišťují výživu vyvíjejícím se spermatickým buňkám (Amann, 2011a).

Nadvarle je místem, kde se spermie shromažďují a dozrávají – diferencují se. Dělí se na hlavu, tělo a ocas (Reece, 2009).

Chámovod vede od ocasu nadvarlete semenným provazcem do pánevní močové trubice. V místě, kde chámovod přechází v močovou trubici, se rozšiřuje v ampuli chámovodu (Amann, 2011a).

Mezi přídatné pohlavní žlázy patří semenné vázky - podlouhlé párové žlázy, jejichž rozměry jsou přibližně 15 – 20 cm na délku a 5 cm na šířku; prostata - pevná uzlíkovitá žláza se dvěma úzkými laloky - každý má rozměr 7 x 4 x 1 cm - spojenými tenkou příčnou šijí asi 3 cm dlouhou; a párové bulbouretrální žlázy, které se nacházejí na protilehlých stranách pánevní močové trubice poblíž sedací klenby. Přídatné pohlavní žlázy se podílejí na tvorbě většiny ejakulované tekutiny. Spermie jsou nepohyblivé do té doby, než se dostanou do této tekutiny při ejakulaci. Normální funkce všech přídatných pohlavních žláz závisí na dostupnosti testosteronu v periferní krvi. Sekret prostaty je vodový a řídký a pravděpodobně

pomáhá čistit močovou trubici během ejakulace a také tvoří velký podíl semenné plasmy, hlavně pokud druhá ejakulace následuje 1 – 3 hodiny po předchozí. Sekret semenných váčků může, ale nemusí být hlavní složkou semenné plasmy ejakulátu, záleží na individuálním hřebci a sezóně. Naopak od sekretu prostaty ho lze nalézt v první ejakulaci a v další, pokud jsou od sebe 2 hodiny vzdálené, ho nalezneme malé množství nebo vůbec. Tento sekret je želatinový a je možné ho v ejakulátu najít hlavně od dubna do června. Funkce sekretu semenných váčků není známá, ale pro plodnost hřebce není nutný. Sekret bulbouretrálních žláz je součástí semenné plasmy, ale pravděpodobně jen v nepatrném množství (Amann, 2011b).

Močová trubice je dlouhá hlen-sekretující trubice, která vede z močového měchýře do volného konce penisu. Slouží jako společný vývod pro moč i semeno (Amann, 2011a).

Penis je samčí kopulační orgán, který se skládá ze tří částí: kořenu, který připevňuje penis ke kostnímu systému; těla penisu - hlavní část penisu; a žaludu, což je zesílený volný konec penisu. Největším komponentem penisu je topořivé těleso. Houbovitě těleso je malá plocha erektilní tkáně, která těsně obklopuje uretru. Mimo erekci je penis přibližně 50 cm dlouhý a v průměru 2.5 – 5.0 cm široký. Během erekce se délka i šířka zvětšuje asi o 50 %, zatímco žalud se zvětšuje o 300 – 400 % v průměru (Amann, 2011a).

Předkožka je vchlípenina kůže, která obklopuje a chrání volnou část penisu. U hřebce je předkožka dvojité vchlípená (Reece, 2009).

2.2 Fyziologie reprodukční soustavy koní

Hormonální řízení reprodukce klisny

Hlavními hormony ovlivňujícími reprodukční soustavu a její cyklus jsou estrogeny, progesteron, melatonin, prostaglandin F2 alfa, GnRH a gonadotropiny.

Melatonin je klíčový hormon pro přechod klisen na podzim do anovulační doby a na jaře do reprodukční sezóny. Melatonin se vylučuje během temnostní fáze dne – noci, což znamená, že na podzim, kdy se prodlužují noci, se prodlouží i doba produkce melatoninu. Prodloužená produkce melatoninu potlačuje sekreci GnRH a klisny přecházejí do zimního anestru. Naopak na jaře se zkrátí doba působení melatoninu, což stimuluje produkci GnRH a klisny přecházejí do reprodukční sezóny a začínají ovulovat (Aurich, 2011).

GnRH je zásadním hormonem pro řízení reprodukčního cyklu. Je produkován neurony hypotalamu v rytmických pulzech, které stimulují receptory adenohipofýzy k tvorbě gonadotropinů. Během diestru je frekvence pulzů GnRH nízká díky inhibičnímu účinku progesteronu (Irvine et Alexander, 1993), 1 – 3 pulzy denně, zatímco během estru frekvence pulzů vzrůstá na pulz každých 20 – 30 minut (Irvine et al., 1994), pravděpodobně kvůli stimulaci estradiolem. Změna frekvence pulzů GnRH během cyklu je velmi důležitým signálem adenohipofýzy: vysoká frekvence pulzů (estrus) stimuluje preferenčně sekreci LH, zatímco nízká frekvence (diestrus) stimuluje sekreci FSH (Irvine et Alexander, 1998).

Gonadotropiny je souhrnný název pro folikulostimulační (FSH) a luteinizační (LH) hormon. Jsou to hormony adenohipofýzy. FSH podněcuje růst folikulů a LH je důležitý pro ovulaci a tvorbu žlutého tělíska (Reece, 2009). Jejich sekreci řídí GnRH. Zatímco hladina FSH je během roku v podstatě konstantní, hladina LH je nejvyšší v létě během reprodukční sezóny a nejnižší u anovulujících klisen (Aurich, 2011). Obecně platí, že zvýšená koncentrace estrogenů způsobí zvýšenou sekreci gonadotropinů, naopak při zvýšené hladině progesteronu se sekrece gonadotropinů sníží (Reece, 2009).

Estrogeny stimulují buněčnou proliferaci a růst tkání, které mají vztah k reprodukci, navozují sexuální chování, působí epiteliotropně a regulují sekreci LH. Nejdůležitějšími a převládajícími estrogeny jsou 17 β -estradiol u nebřezích a estron u březích klisen (Reece, 2009).

Progesteron je produkován žlutým tělískem, placentou a kůrou nadledvin. Ke svému působení potřebuje estrogeny, které zcitliví tkáň pro přijetí signálu progesteronu. Jeho funkcemi jsou regulace sekrece gonadotropinů, podpora růstu žláz endometria, stimulace

sekrece vejcovodů a děložních žláz pro výživu embrya před implantací a bránění stahům dělohy během gravidity (Reece, 2009).

Prostaglandin F2 alfa je počátečním signálem pro započetí luteolýzy. Je produkován endometriem 15. den po ovulaci, pokud není zaznamenána přítomnost oplozeného oocytu (Aurich, 2011).

Estrální cyklus a hormony

Behaviorální estrus je stimulován zvyšující se hladinou estradiolu, který je produkován dominantním vyvíjejícím se folikulem. Progesteron se v této fázi netvoří. Ovulace se většinou objevuje 24 - 48 hodin před koncem estru. Zvyšování hladiny progesteronu, jenž je produkován vznikajícím žlutým tělískem, je zodpovědné za ukončení estru a nástup diestru (McCue et al., 2011). Koncentrace FSH má během cyklu dva vrcholy v intervalu 10 - 11 dní. První se objevuje v pozdním estru, druhý 11 - 12 dní před následující ovulací. Jak preovulační folikul roste pod vlivem FSH, zvyšuje se koncentrace estradiolu a vrcholí 2 dny před ovulací. Se zvyšováním koncentrace estradiolu a inhibinu se snižuje hladina FSH k jejím nejnižším hodnotám před a během začátku estru jako následek negativní zpětné vazby inhibinu z Graafova folikulu. Těsně před začátkem estru koncentrace LH v krvi roste, jako důsledek pozitivní zpětné vazby na estradiol a vrcholí přibližně 1.6 dne po ovulaci (Urwin et Allen, 1983). Zvýšená hladina LH je pro spuštění ovulace nutná (Reece, 2009). S aktivizací žlutého tělíska začíná růst hladina progesteronu v krvi přibližně 24 hodin po ovulaci. S rostoucí koncentrací progesteronu klesá koncentrace LH až k nejnižšímu bodu, kterého dosáhne 4 - 5 dní po ovulaci. LH zůstává ve stejné hladině až do začátku nového estru, kdy se zánikem žlutého tělíska klesá hladina progesteronu a přerušuje se působení negativní zpětné vazby (Urwin, 1983). Hladina progesteronu zůstává vysoká během diestru přibližně od 4 do 12 dne po ovulaci, poté rapidně klesá k nejnižšímu bodu, kterého dosáhne před estrem (Evans, 1992).

Hormonální řízení reprodukce hřebce

Na hormonálním řízení spermatogeneze se podílí hlavně testosteron, luteinizační hormon (LH), folikulostimulační hormon (FSH) a inhibin. Testosteron je pro spermatogenezi nezbytný – podporuje meiotické dělení. Jeho tvorba je řízena negativní zpětnou vazbou LH, která udržuje stálou hladinu testosteronu. V semenotvorném epitelu je větší koncentrace testosteronu než v periferní krvi, protože semenotvorné kanálky jsou obklopeny Leydigovými buňkami produkujícími testosteron (Amann, 2011b). LH je tedy pro udržení spermatogeneze také nezbytný. FSH stimuluje Sertoliho buňky k tvorbě proteinu vázícího androgeny (ABP), který je vylučován do lumen kanálku a váže testosteron a další androgeny, čímž stabilizuje jejich koncentrace a zajišťuje jejich přiměřené množství. Předpokládanou funkcí FSH je také stimulace sekrece estrogenů Sertoliho buňkami (intercelulární přeměna testosteronu). FSH je nutný pouze při začátku spermatogeneze, pro její udržení nutný není. Inhibin, také secernovaný Sertoliho buňkami, zastavuje sekreci FSH (Reece, 2009).

Reprodukční buňky a jejich vývoj

Folikulogeneze

V kůře vaječníku se nachází folikuly, které jsou klasifikovány jako primordiální, rostoucí a Graafovy. Primordiální folikuly vznikají mitózou ze zárodečných buněk vaječníku. Uvnitř primordiálních folikulů je jeden oocyt, který je obklopen jednou vrstvou granulózních buněk. Rostoucí folikuly mají kolem oocytu více vrstev granulózních buněk. Graafův folikul má vytvořené antrum, zonu pellucidu a vnější a vnitřní obal folikulu. Ve vaječníku se vždy vyvíjí větší množství folikulů zároveň v různých stádiích, ale jen malé množství z nich se dostane až k ovulaci, zatímco většina zanikne (Reece, 2009).

Oogeneze a ovulace

Primární oocyt ($2n$) v primordiálním folikulu v klidovém stádiu meiózy projde prvním meiotickým dělením a vznikne sekundární oocyt a 1. pólóvé tělísko. Oba mají jednu sadu zdvojených chromozomů. Poté se dělení zastaví a druhé meiotické dělení proběhne až při

ovulaci, kdy vznikne haploidní oocyt a 2. pólové tělísko. Oba mají jednu sadu chromozomů o jedné chromatidě (Reece, 2009).

Při ovulaci dojde k uvolnění oocyty z Graafova folikulu. Oocyt je obalen granulózními buňkami a je splaven do vejcovodu. Dutina prasklého folikulu slouží jako kostra pro vznik žlutého tělíska, které je udržováno hladinou LH a produkuje progesteron. 14. den po ovulaci, pokud nedošlo k oplození, začne děloha uvolňovat prostaglandin, který způsobí zánik žlutého tělíska (Reece, 2009).

Spermatogeneze

Je souhrnem buněčných dělení a změn, které vedou k formaci spermie. Doba trvání celého procesu je okolo 57 dnů a můžeme ho rozdělit na tři části: spermatocytogeneze (19.4 dne) charakterizovaná mitotickým dělením a diferenciací spermatogonií; meióza (19.4 dne) charakterizovaná výměnou genetického materiálu mezi homologními chromozomy v primárních spermatocytech následovaná dvěma meiotickými děleními, které produkují haploidní spermatidy; a spermiohistogeneze (termín použit z Reece, 2009) (18.6 dne) charakterizovaná diferenciací a specializací funkce spermatid, které jsou na konci tohoto procesu plně diferenciované a po vypuštění ze semenotvorných kanálků se nazývají spermie. Spermatocytogeneze a meióza probíhají v semenotvorných kanálcích varlat, zatímco spermiohistogeneze probíhá v nadvarlatech (Amann, 2011b).

Epitel odvodných kanálků varlat a počáteční část hlavy nadvarlat resorbují většinu tekutiny a sekretují některé sloučeniny. Ve střední části nadvarlate (větší část hlavy a tělo) spermie dozrávají. Tento proces závisí na specifických sekretech epitelu nadvarlat. Ocas nadvarlate a proximální část chámovodu jsou místem, kde se spermie shromažďují před ejakulací (Amann, 2011b).

Estrální cyklus

Během pářicí sezóny je průměrná délka cyklu 21 dní. Cyklus můžeme rozdělit podle sexuální receptivity - estrus a diestrus, nebo podle fyziologických změn - folikulární a luteální fáze. Většinou se dvě fáze překrývají – estrus, kdy klisna přijímá hřebce, primárně probíhá během folikulární fáze, která podle Reece (2009) trvá 5 dní; a diestrus, kdy klisna hřebce

odmítá, téměř vždy probíhá během luteální fáze, která podle Reece (2009) trvá 17 dní. Anestrus je období, kdy neprobíhají estrální cykly – klisna je sezónně polyestrická (McCue et al., 2011).

2.3 Vnitřní faktory ovlivňující reprodukční výkonnost koní

Plemeno

Klisna

U primitivních plemen koní se estrální cykly na severní polokouli objevují od května do října. Průměrná ovulační sezóna začíná i končí dříve u koní než u poníků (Donadeu et Watson, 2007; Ginther et al., 2004). Palmer (1978) provedl studii, ve které jsou rozdíly plemen velmi zřetelné: všech 57 klisen Welsh pony bylo přes zimu anestrických, zatímco z 24 klisen plemen Saddle přešlo do anestru jen 66%. Katila et al. (2010) tvrdí, že koně mohou mít odlišnou plodnost než pony, ale může to být spojeno spíše s postupy managementu než s vrozenými odlišnostmi v plodnosti mezi plemeny. Ellis et al. (2006) a Vecchi et al. (2010) udávají jako příklad “nutritional flushing”, což je technika používaná u anglického plnokrevníka, kdy je nutriční příjem, většinou jeho proteinový obsah, zvýšen před zapuštěním klisny pro stimulaci ovulace ve specifický čas.

Na rozdíl od mnoha plemen koní, která byla podrobena domestikální selekci, pony plemena zůstala jen trochu změněným produktem přirozené evoluce s pokračujícími sezónními variacemi v apetitu, metabolickými potřebami energie a pastevním chováním (hledáním potravy) v domestikovaném prostředí (Dugdale et al., 2011). Může to být biologické řízení stimulující přežití pony v jejich přirozeném prostředí, co znemožňuje využití typických výživových režimů úspěšně používaných u mnoha domestikovaných plemen koní i u primitivních pony (Miraglia et al., 2006). Zajímavé je, že chovné klisny primitivních plemen inklinují k úspěšnějšímu rozmnožování ve vyšším věku v porovnání s plemeny anglický plnokrevník, Standardbred a teplokrevníky (Tully et al., 2003).

Hřebec

Gottschalk et al. (2016) ve své studii zjišťovali, jak plemenný typ a plemeno samotné ovlivňuje jednotlivé parametry ejakulátu. Ve studii byly porovnávány tři plemenné typy: teplokrevný, chladnokrevný a lehký jezdecký. Data byla sbírána v letech 2001 až 2014 od 381 hřebců 22 různých plemen. Všichni hřebci využití pro sběr dat byli schváleni a pravidelně využíváni k umělé inseminaci (AI) a měli procento zabřeznutí $70 \leq u$ více než 5 klisen (byli považováni za plodné). Věk hřebců se pohyboval mezi 3 – 30 lety. Hřebci byli ustájeni ve dvou hřebčinech bez kontaktu s klisnou. Teplokrevní a lehčí jezdečtí hřebci byli přikrmováni ovsem a chladnokrevní řepnými řízký.

Celkem bylo vyhodnocováno 71,078 odběrů ejakulátu. Parametry se zjišťovaly vždy z čerstvého ejakulátu bez gelové složky. Pro vyhodnocení rozdílů mezi teplokrevnými a lehkými jezdeckými hřebci se data sbírala od 342 hřebců a pro rozdíly mezi teplokrevnými a chladnokrevnými od 144 hřebců 5 různých plemen. Chladnokrevní hřebci byli zastoupeni pouze jedním plemenem.

V porovnání teplokrevného a lehkého jezdeckého plemenného typu měli nejlepší hodnoty koncentrace spermií na ml, celkového počtu spermií a progresivně se pohybujících spermií anglo-arabští hřebci, nicméně kvůli malému počtu hřebců tohoto plemene nelze z této analýzy vyvozovat závěry i přesto, že vyhodnocení této studie potvrzuje výsledky prací Pickett et al. (1988) a Dowsett et Knot (1996), kteří ve svých studiích zjistili vyšší hodnoty výše zmíněných parametrů u Arabských plnokrevníků, což byli zakladatelé anglo-arabských koní. Nejnižší koncentraci spermií na ml měli hřebci dánského teplokrevníka a nejnižší celkový počet spermií měli angličtí plnokrevníci. Největší objem ejakulátu byl pozorován u holštýnů a dánských teplokrevníků, zatímco nejmenší objem měli trakénští hřebci. Nejvyšší počet spermií s progresivním pohybem měli oldenburští hřebci a nejvyšší angličtí plnokrevníci.

V porovnání teplokrevných a chladnokrevných plemenných typů měli rýnští chladnokrevníci největší objem ejakulátu, ale v ostatních zjišťovaných parametrech měli hodnoty nižší než teplokrevníci. Příčinou většího objemu ejakulátu chladnokrevných hřebců oproti teplokrevným by mohly být celkově větší tělesné rozměry, objem ejakulátu je totiž závislý na velikosti a funkci přídatných pohlavních žláz (Setchell et al., 1994). Nižší procento progresivně se pohybujících spermií u chladnokrevníků zjištěné ve studii Gottschalk et al. (2016) je v souladu s pracemi Stout et Colenbrander (2011) a Aurich et al. (2003), ve kterých

byly zjištěny podobné výsledky v tomto parametru. Stejně tak odpovídá i porovnání s teplokrevníky a lehkými jezdeckými plemeny v pracích Dowsett et Pattie (1982) a Labitzke et al. (2013). Procento motilních spermií nemusí být spojeno s většími tělesnými rozměry chladnokrevníků, protože tento parametr se nevztahuje k velikosti varlat, ale k funkci jejich parenchymu. Podle autorů práce Gottschalk et al. (2016) je nutná častější kontrola semene chladnokrevných hřebců a vylepšení kvality jejich spermatu by mělo být hlavním cílem chovu chladnokrevných koní.

Věk

Klisna

Podle studie Morley et Murray (2014) se věk, ve kterém plodnost klisny začíná klesat, pohybuje mezi 10 a 15 lety a riziko ztráty březosti se zvyšuje ve srovnatelném věku (Katila et al., 2010; Morris et Allen, 2002; Tully et al., 2003; Madill, 2002). Rozsah věku populace klisen využívaných v plemenitbě je však rozdílný mezi plemeny. Například jezdecké teplokrevné klisny mohou být při odchodu do plemenitby o 10 let starší než anglické plnokrevné klisny (Katila et al., 2010).

Věk, ve kterém klisna poprvé zabřezne, je důležitý s ohledem na udržení březosti. U mladých klisen může být zpočátku těžší zabřeznout než u starších klisen (Tully et al., 2003). Poprvé zapouštěné klisny starší 12 let mohou mít také komplikace vztahující se k jejich dřívějšímu životu a mohou trpět různými reprodukčními poruchami, jako je například zpožděný estrus, prodloužený diestrus a kompletní reprodukční selhání (Morley et Murray, 2014).

Sharma et al. (2010a) ve své studii provedené v subtropických podmínkách zjistili, že anglické plnokrevné klisny ve věku 4 – 7 let měly významně vyšší procento zabřeznutí na estrus v 16. dni po reprodukci než klisny starší 16 let a ve 41. dni vyšší než klisny starší 12 let.

Příčiny nepřerušování reprodukční aktivity chovných klisen během zimního anestru nejsou ještě úplně pochopeny, nicméně studie Fitzgerald et McManus (2000) ukazují, že nepřerušování cyklů v zimě bylo pozorováno spíše u vyspělých klisen (starších 5 let) než u mladých a mohlo by souviset s jejich tělesnou kondicí. Přestože se zdá, že ovariální aktivita

některých starších klisen ustává, jiné klisny pokračují v pravidelném cyklování i po dosažení 20 let a i v tomto věku mohou být plodné (Madill, 2002; Cavinder et al., 2009).

Bylo dokázáno, že u klisen starších 15 let se snižuje nejen plodnost, ale také životaschopnost embrya, protože stoupá frekvence defektů embrya, snižuje se životaschopnost ovulovaných oocytů a zvyšuje se výskyt endometritidy spojené s věkem (Tully et al., 2003; Pycock, 2006). Také infekce reprodukčního traktu, které převládají u starších klisen, mohou být důvodem snížené plodnosti (Pycock, 2006). Naopak studie Shideler and McChesney (1982) vyvrací názor, že věk hraje důležitou roli pro úspěšnou reprodukci klisny, neobjevili totiž žádný vztah mezi stupněm endometritidy a věkem chovných klisen. Přesto Morris et Allen (2002) zastávají názor, že navzdory jistému zlepšení v procentu porodů živého hříběte u klisen anglického plnokrevníka, zůstává stupeň ztrát březosti vysoký, což značí závažnou finanční ztrátu průmyslu chovatelů tohoto plemene. Studie Katila (2010) a Tully et al. (2003) potvrzují všeobecný názor, že není vhodné zapouštět klisnu starší 20 let, ale přiznávají, že záleží na plemeni, tělesné kondici, individuální klisně, a dodávají, že je starší březí klisně nutné věnovat více péče a pozornosti.

Morel et al. (2010) potvrzují, že věk klisen má velký negativní vliv na průměrnou velikost ovulujících folikulů. Výsledky sbírali na populaci anglických plnokrevných klisen ve věku 2 - 26 let a zjistili, že průměrná velikost ovulovaného folikulu byla 40 mm, přičemž celkové rozpětí bylo od 22 (19 let) do 50 (6 let) mm. Největší průměrné velikosti ovulujících folikulů 39 mm patřily klisnám ve věku 2 - 4 roky a nejmenší 33 mm klisnám ve věku 19 let a více.

Hřebec

Podle studie Gottschalk et al. (2016) věk hřebce zásadně ovlivňuje základní parametry spermatu. Mezi hřebci teplokrevných a lehkých jezdeckých plemen měli největší objem spermatu hřebci ve věku 25 – 30 let a nejmenší hřebci ve věku 13 – 24 let. Nejvyšší koncentraci spermií, celkový počet spermií a celkový počet progresivně motilních spermií měli hřebci ve věku 7 – 12 let. Nejvyšší procento spermií s progresivním pohybem měli hřebci ve věku 3 – 6 let. Ve všech jmenovaných parametrech s výjimkou objemu ejakulátu měli nejnižší hodnoty hřebci ve věku 25 – 30 let. Mezi teplokrevnými a chladnokrevnými hřebci měli největší objem ejakulátu, největší celkový počet spermií a celkový počet spermií

s progresivním pohybem hřebci ve skupině 7 – 12 let. Největší koncentraci spermií měli hřebci ve věku 7 – 18 let a největší procento progresivně se pohybujících spermií měli hřebci ve skupině 3 – 18 let. Ve všech jmenovaných hodnotách měl jediný hřebec ve věku 25 – 30 let nejnižší výsledky.

Celkový výsledek studie Gottschalk et al. (2016), tedy že hřebci všech tří plemenných typů mají nejlepší hodnoty ejakulátu ve věku 7 – 12 let, je ve shodě s výsledky studie Amann et al. (1979), ve které bylo uvedeno, že hřebci sexuálně dospívají nejdříve v 5 letech a kromě toho, že se po několik dalších let po dosažení dospělosti zvětšuje velikost varlat, extragonadálních zásob spermatu a denní produkce spermií. Ani v jednom porovnání plemenných typů ve studii Gottschalk et al. (2016) se však neprojevil pokles kvality ejakulátu u hřebců v periodě mezi 3. – 18. rokem, což je v rozporu s výsledky Dowsett et Knott (1996), kteří tvrdí, že už od 10. roku hřebce kvalita ejakulátu klesá.

Tělesná kondice (TK)

Klisna

Tělesná kondice je odrazem nutričního příjmu předcházejících týdnů nebo měsíců a neměla by nahrazovat monitorování a zaznamenávání tělesné váhy, naopak by s ní měla být kombinována při individuálním posuzování váhy klisny a jejího krmného systému (Burkholder, 2000). Zdraví i reprodukční výkonnost klisny mohou být TK ovlivňovány, a proto je nevhodné mít klisny v extrémních tělesných kondicích (Vick et al., 2007). Podle názoru publikace National Research Council (2007) by se nárůst tělesné váhy klisny během březosti měl pohybovat mezi 12 – 15 %, záleží však na její počáteční tělesné kondici, nutričním příjmu a managementu klisny během březosti.

Fitzgerald et McManus (2000) také vyzkoumali, že energie uložená ve formě podkožního tuku by mohla upravovat sezónní reprodukční aktivitu, jelikož se zdá, že vyspělé klisny mají větší množství tuku než mladé klisny. Výsledkem experimentu Gentry et Thompson (2002) bylo zjištění, že všechny klisny, které měly nízkou tělesnou kondici okolo 3.0 až 3.5 (stupnice 1 - 9) v říjnu přestaly cyklovat, zatímco většina klisen s vysokou tělesnou kondicí okolo 8.0 až 8.5 přes zimu cyklovala. National Research Council (2007) a Waller et al. (2006) prokázali, že klisny v TK mezi 6.5 až 8.0 nepřešly do zimního anestrů a zvýšila se jejich míra zabřezávání oproti klisnám v TK 5.0 a nižší. Další studie prokázala, že klisny s TK

nižší než 4.0 mohou mít sníženou míru zabřezávání o více než 20 % při porovnání s klisnami v TK 5.0 a vyšší. To znamená, že klisny, které mají nižší TK než 4.0 mohou mít zpožděný nástup poporodních říjí, více cyklů na zabřeznutí, nižší míru zabřezávání a zvýšenou brzkou embryonální mortalitu (Davidson et al., 1991). Také další studie potvrdily, že nízká tělesná kondice způsobená nedostatečným příjmem energie negativně ovlivňuje reprodukční výkonnost klisen a vede k neúplnému dozrání folikulů, zpožděnému nástupu cyklů po zimním anestru, nepravidelným říjím a snížené míře zabřezávání (Gentry et al., 2002; Guillaume et al., 2006; Henneke et al., 1984; Harris, 2008).

Ginther (1974) zjistil, že se zkrátí perioda anestru, když klisna brzo na jaře přibere na váze. Henneke et al. (1984) vypožoroval, že průměrný interval do první jarní ovulace byl značně delší u klisen, jejichž kondice byla méně než 5.0 (stupnice 1 – 9) než u klisen, jejichž TK byla vyšší než 5.0. Klisny se sníženou TK navíc měly zvýšený počet cyklů na zabřeznutí a zpožděný nástup ovulace po porodu. Henneke et al. (1984) a Kubiak et al. (1987) se ve svých studiích shodují, že jalové klisny v nižší tělesné kondici než 4.0 budou mít zpožděnou první jarní ovulaci o 3 - 4 týdny v porovnání s klisnami v TK 5.0 a vyšší. Jalové klisny by tedy měly být chovány v TK 5.0 nebo vyšší a poté být udržovány v pozitivní energetické bilanci, aby na jaře začaly ovulovat dříve. Podle autorů Kubiak et al. (1987) měl zvýšený energetický příjem na jaře pozitivní vliv na přechod z anestru a zkrátit interval do první ovulace u jalových klisen v nízké TK, zatímco klisny ve střední nebo vyšší TK nijak neovlivnil. V této studii také bylo zjištěno, že nelaktující klisny by měly být přivedeny do reprodukční sezóny s obsahem tělesného tuku více než 15 % a tělesnou kondicí vyšší než 5.0 a poté být udržovány v pozitivní energetické bilanci k dosažení dřívějšího počátku ovulace. Nízká tělesná kondice působí negativně nejen na dobu přechodné fáze a první spontánní ovulace, ale také snižuje účinnost extraktů hypofýzy, které vyvolávají ovulaci (Bour et al., 1985).

Ashworth et Antipatis (2001) varují, že u klisen s vysokou TK je náhlé snížení hladiny přijímané energie riskantní, kvůli možnému snížení plodnosti a vstřebání embrya. Podle Cavinder et al. (2009) je zajímavé, že klisny s TK 7.0 a vyšší měly normální průběh březosti bez významného ovlivnění délky březosti, délky porodu, velikosti hříbete a placenty, nebo míry životaschopnosti hříbete.

Je dokázáno, že pro maximálně efektivní reprodukční výkonnost a plodnost má být klisna v TK 7.0 – 8.0 (Henneke et al., 1984; Cavinder et al., 2009; Lawrence et al., 1992), nicméně mnoho studií (Satterfield et al., 2010; Henneke et al., 1984; Fitzgerald et al., 2003; Nagy et

al., 1998) prokazuje, že obezita způsobuje abnormální reprodukční výkonnost klisen. Obezita u mladých klisen na začátku březosti může způsobit omezený vývoj placenty nebo menší porodní váhu hříběte, zatímco obezita ve vyšších stádiích březosti může zvýšit riziko, že hříbě bude po odstavu postiženo vývojovou ortopedickou nemocí (Harris, 2003). Pagan et Hintz (1986) zjistili, že hříbata klisen s TK vyšší než 5.0 rostou rychleji než hříbata klisen s nižší TK.

Reprodukční status

Podle studie Morris et Allen (2002) reprodukční status značně ovlivňuje míru zabřeznutí anglických plnokrevných klisen na estrus a ztrátu březosti. Zjištěné výsledky zabřezávání v 15. i ve 35. dni po zapuštění byly prokazatelně horší u klisen, které nebyly zapouštěny minulou sezónu, než u ostatních skupin. Procento ztrát březosti mezi 15. – 35. dnem bylo nižší u poprvé zapouštěných klisen než u laktujících. Procento estrů vyvolaných exogenními hormony bylo významně nižší u klisen, které byly zapouštěny poprvé než u jalových, laktujících nebo klisen s abortem. Podle této studie reprodukční status neovlivnil procento klisen, které porodily živé hříbě.

Sharma et al. (2010a) zaznamenali u plnokrevných anglických klisen chovaných v subtropických podnebných podmínkách odlišné výsledky. Procento březích klisen v 39. dni bylo vyšší u poprvé zapouštěných a laktujících klisen. Ztráty březosti mezi 91. – 198. dnem po zapuštění stejně jako celkové ztráty březosti byly výrazně nižší u laktujících klisen než u klisen s abortem. Procento klisen, které porodily živé hříbě bylo značně vyšší u klisen, které byly zapouštěny poprvé než u minulou sezónu nezapouštěných klisen a klisen, které potratily a byly znovu zapouštěny ve stejné sezóně. Výsledky zabřeznutí 16. den po zapuštění na estrus ani na sezónu vliv reprodukčního statusu v této práci prokázaly.

Na rozdíl od dvou předchozích studií (Sharma et al., 2010a; Morris et Allen, 2002) výsledky studie Brinkerhoff et al. (2010) neprokázaly žádný vliv reprodukčního statusu na zabřezávání klisen.

Heidler et al. (2004) naopak uvádí, že reprodukční status klisen má vliv i na délku samotného estrálního cyklu. Podle výsledků studie u laktujících klisen trvá estrální cyklus průměrně 21 dní, zatímco u nelaktujících klisen trvá průměrně 23 dní.

2.4 Vnější faktory

Fotoperioda

Fotoperioda je nejdůležitější faktor, podle kterého se synchronizuje sezónnost reprodukce, protože zůstává konstantní každý rok a poskytuje informace o ročním období, narozdíl od teploty, přísunu potravy nebo množství srážek (Gerlach et Aurich, 2000). Reprodukční aktivita ale není přímo ovlivněná délkou dne, je ovlivněná fotoperiodickou historií zvířete, samotnou fotoperiodickou změnou (prodlužování a zkracování) a cirkanuálním rytmem (Robinson et Karsch, 1987; Gorman et Zucker, 1995). Fotoperiodické stimuly jsou převedeny přes neuroendokrinní cesty do hormonálních signálů, které regulují aktivitu gonád (Gerlach et Aurich, 2000).

Podle práce autorů Nagy et al. (2000) schopnost ovlivnit cirkanuální rytmus záleží na několika faktorech: 1) stav rezistence na fotoperiodické změny zvířete, 2) fotoperiodická historie klisny a 3) existence fotosenzitivní fáze během noci – přítomnost nebo nepřítomnost světla 9.5 hodiny po nástupu tmy je pro reakci důležitější, než celková doba trvání světla a tmy. V přírodních fotoperiodických podmínkách změna mezi světelnou a temnou fází probíhá postupně ze dne na den, avšak intenzita tmy se může značně lišit.

Podle kolektivu autorů Guillame et al. (2010) přináší chovatelům dřívější první jarní ovulace velkou výhodu, protože se zvětší počet využitelných cyklů klisny, a také se zvýší věk hříbat, která mají být určena do sportu nebo na porážku. V našich zeměpisných šířkách může být první ovulace posunuta, pokud klisna bude mít po 35 dní 14.5 hodiny světla denně. Při použití tohoto systému přisvícování by se mělo začít v období zimního slunovratu.

Klimatické podmínky a environmentální teplota

Podle práce Sharma et al. (2010b), ve které pracovali s reprodukčními výsledky anglických plnokrevných klisen chovaných v indických subtropických podmínkách, nemají klimatické podmínky prokazatelný vliv na zabřezávání klisen. Klisny chované

v subtropických podmínkách měly nižší míru plodnosti než klisny chované v mírném podnebném pásu, ale Sharma et al. (2010b) to vysvětlují rozdílným managementem chovných klisen.

Také se zdá, že při podobných fotoperiodických podmínkách, odpovídající výživě a systému managementu chovu a reprodukce klisen, hraje roli v načasování cirkanuálního reprodukčního rytmu environmentální teplota (Nagy et al., 2000).

Guerin et Wang (1994) provedli studii o vlivu teploty na severní polokouli na začátek reprodukční sezóny klisen anglického plnokrevníka. Všechny klisny byly dostihovými zvířaty v reprodukčním věku a předsezónně jim nebyl měněn světelný režim. Doba první sezónní ovulace během 10-ti leté periody v přirozených podmínkách ukázala výrazné odchylky v jednotlivých letech, které nelze vysvětlit fotoperiodou, jelikož je každý rok stejná. Snížená intenzita světla (oblačnost) také pravděpodobně nemusí být brána na zřetel, poněvadž i jen nízká intenzita světla pro reakci a pokročení do pářící sezóny koním stačí. Bylo zjištěno, že maximální odchylka doby první ovulace byla 20 dní. Také byla zjištěna negativní korelace mezi minimální průměrnou týdenní teplotou a dobou první ovulace, ale korelace maximální průměrné týdenní teploty nebyla významná. Rovnice minimální teploty teoreticky naznačuje, že zvýšení průměrné minimální teploty o 1°C by mohlo poskytnout přibližně 9-ti denní posun v průměrném datu první ovulace (Guerin et Wang, 1994).

Sharma et al. (2010a) zjišťovali, jak environmentální teplota subtropického podnebného pásu může ovlivnit reprodukční výkonnost klisen zapouštěných na první ovulaci po porodu a délku časového intervalu od porodu do první říje a prokázané ovulace. Výsledky získávali po dobu sedmi let od 228 anglických plnokrevných laktujících klisen (celkem 694 hodnocených záznamů) ve věku od 4 – 19 let z 9 stájí situovaných v severo-západní části Indie. Po vyhodnocení sledování bylo zjištěno, že téměř 93 % klisen mělo říji do 21. dne po porodu. Významně větší počet klisen projevoval říji do 21. dne po porodu, pokud klisny rodily v květnu nebo již po několikáté v porovnání s klisnami, které porodily v lednu nebo v únoru nebo rodily poprvé. Autoři zjistili, že průměrná doba od porodu do první ovulace byla u sledovaných klisen téměř 14 dní, což je v porovnání s 12 dny v mírném podnebném pásu (Morris et Allen, 2002; Koskinen, 1991) sice delší interval, nicméně odpovídá výsledkům dalších prací o reprodukční výkonnosti klisen v subtropických podmínkách (Malschitzky, 1998; Winter et al., 2007; Panasophonkul et al., 2007; Blanchard et al., 2004; Caldas et al., 1994). Výsledky zabřezávání klisen a ztrát březosti v subtropických podmínkách se statisticky

nelišily mezi klisnami, které byly zapouštěné v první říji po porodu a které byly zapouštěny později. Závěrem práce Sharma et al. (2010a) je, že subtropické teploty a podmínky mohou mít mírný negativní vliv na obnovení ovariální dynamiky po porodu a na spuštění první ovulace v porovnání s výsledky klisen chovaných v mírném podnebí, nicméně výsledná reprodukční výkonnost klisen zapouštěných na první říji po porodu v subtropických a mírných klimatických podmínkách se nelišila.

Výživa

Klisna

Pro dosažení efektivní reprodukce chovné klisny jsou nezbytné správná krmná dávka a dobrá tělesná kondice. Nejdůležitějším aspektem managementu chovné klisny je udržování řádné tělesné kondice regulací příjmu krmiva (Rich et Breuer, 2002).

Podle studie Benhajali et al. (2013) může mít významný vliv i časové rozvržení krmení klisen. Skupina 100 arabských plnokrevných klisen měla stejné životní podmínky, kromě časového přístupu k vláknině. Jedna skupina měla přístup k senu ve dne i v noci (CF) a druhá skupina měla přístup k senu jen v noci (SFP). Klisny ve skupině CF měly lepší výsledky nejen po prvním zapuštění 59% zabřezlých klisen ku 32% zabřezlých klisen ve skupině SFP, ale i celkovém zabřezávání 81% ku 53% zabřezlých klisen ve skupině SFP. Přístup k vláknině měl vliv i na estrální cyklus, říji a její projevy. Pouze 2 klisny ze skupiny CF měly abnormální říji (tichá říje, prodloužený diestrus) oproti 16 klisnám ze skupiny CFP. Podle teorie autorů, by rozdíly mohly být způsobené stresem, protože koně jsou evolučně přizpůsobeni přijímat menší množství vlákniny častěji během celých 24 hodin, i když většinu krmiva přijmou během dne (Boyd et al., 1988; Berger et al., 1999; Waring, 2003; Guillaume, 2007).

Morley et Murray (2014) ve své studii uvádí, že chovatelé koní ne příliš dobře znají nutriční doporučení pro výživu chovných klisen, a proto jsou v krmných dávkách pravidelně pozorovány přebytky nebo nedostatky. Pokud se jedná o krátkodobě nevyváženou krmnou dávku, není to vážný problém, který by mohl ohrozit zdraví klisny. Pokud je ale výživa klisny nevyvážená dlouhodobě, mohou být klisna i hříbě predisponováni k problémům nutričního nebo patologického charakteru. Výživa klisny s dostatečným množstvím energie, klíčovými živinami, proteiny a minerály ve vyváženém poměru výrazně snižuje riziko, že se u hříběte

vyvine ortopedické onemocnění. Nutriční potřeby se mohou značně lišit mezi plemeny nebo klisnami v různých fyziologických stavech (National Research Council, 2007; Harris, 2003; Huntington et al., 2005). Například primitivnější plemena pony mohou často přežívat pouze na pastvě se suplementací vitamínů a minerálů i v období laktace (Huntington et al., 2005; Douglas et Ginther, 1975; Miraglia et al., 2006), zatímco domestikovanější plemena, jako je například anglický plnokrevník (Bergero et al., 2006; Cassil et al., 2009; Martin – Rosset et Vermorel, 1991), typicky vyžadují doplnění výživy o koncentráty pro zachování adekvátní tělesné kondice a zároveň uspokojení potřeb plodu nebo sajícího hříběte. Je nutné pravidelně kontrolovat energetické požadavky chovné klisny, protože překrmování způsobuje obezitu, která spouští celou řadu endokrinních a metabolických potíží (Huntington et al., 2005; Johnson et al., 2009; Becvarova et Buechner–Maxwell, 2012), naopak podvýživa může zapříčinit různé abnormality při vývoji hříběte (Tauson et al., 2006).

Studie Morley et Murray (2014) také zdůrazňuje, že u divokých plemen koní a pony klisen je zimní nefunkčnost vaječníků důležitým přízpusobením se prostředí (Salazar-Ortiz et al., 2011), které by mohlo vysvětlit, proč výživa a částečně i příjem energie byly zkoumány jako příčiny, které ovlivňují trvání zimního anestru a také folikulární vývoj během reprodukční sezóny (Nagy et al., 2000; Ginther et al., 2004; Henneke et al., 1984; Godoi et al., 2002; Kubiak et al., 1987; Van Niekerk et Van Niekerk, 1997b). Je možné, že dřívější začátek anestru pozorovaný u mladých klisen (Ginther, 1992) a vysoká incidence anestru u laktujících klisen (Palmer et Driancourt, 1983), jsou také spojené s výživovými faktory. Sharp et Ginther (1975) zjistili, že dobře kmené ustájené klisny v Anglii měly větší tendence cyklovat po celý rok, zatímco klisny na pastvinách většinou během zimních měsíců, když pastva nebyla k dispozici, přešly do anestru, což indikuje, že výživa má stimulační efekt na sezónní reprodukční cyklus chovných klisen. Studie Guillaume et al. (2010) potvrzuje, že výživa je hlavní příčinou přechodu klisen do zimního anestru a zároveň dodává, že na jaře prý při obnovení činnosti vaječníků nehraje roli. Naopak Van Niekerk et van Heerden (1972) ve své studii demonstrovali, že klisny, které dostávaly dietu doplněnou o koncentrát, ovulovaly po zimním anestru dříve než kontrolní klisny s dietou bez doplňků. Nejen energetický příjem, ale také kvalita krmných proteinů ovlivňuje začátek pářicí sezóny. Zvířata dostávající proteinovou dietu vysoké kvality vykazovala zvýšenou sekreci FSH a ovulovala přibližně o 3-6 týdnů dříve než klisny na proteinovém krmivu nízké kvality (van Niekerk et van Niekerk, 1997b).

V další studii van Niekerk et van Niekerk (1997a) zkoumali vliv různých krmných dávek a jejich stravitelnost na reprodukční výkonnost koní v jižní Africe. Byly využity čtyři anglo - arabští hřebci ve věku 5 - 8 let a vážící 440 – 510 kg, autoři nicméně přesto podle výsledků hřebců vyhodnotili vhodnost jednotlivých krmných dávek i pro chovné klisny v různých fyziologických stavech. Každý z hřebců dostával jinak složenou krmnou dávku: Dieta 1.: 2 kg granulí (složení v Tabulce 1.) a 5 kg sena z miličky habešské, která je v jižní Africe nejčastěji používaným zdrojem vlákniny pro koně; dieta 2.: 2 kg granulí a 5 kg vojtěškového sena; dieta 3.: 2 kg granulí, 5 kg sena z miličky habešské a 200 g rybí moučky; dieta 4.: 2 kg granulí, 5 kg vojtěškového sena a 200 g rybí moučky. Po porovnání výsledků analýz vzorků a standardů daných National Research Council (1989) autoři zjistili, že i nejjednodušší dieta složená pouze z granulí a sena z miličky habešské splňuje nutriční požadavky dospělých koní množstvím bílkovin i esenciálních aminokyselin, nicméně pouze pro koně, kteří nejsou využíváni v plemenitbě. Pokud se však seno z miličky habešské nahradilo vojtěškovým (dieta 2.), celkové množství aminokyselin, esenciálních aminokyselin a bílkovin převýšilo množství jmenovaných látek v dietě složené z granulí, sena z miličky habešské a rybí moučky. Výzkum prokázal, že pokud se nejjednodušší dieta z granulí a sena z miličky habešské krmí klisnám ve vysoké fázi březosti nebo laktujícími klisnám, mohly by mít klisny nedostatek threoninu, iso-leucinu a lysinu, na které mají v této době vyšší požadavky. Proto autoři doporučují při krmení vysokobřezích klisen pouze senem z miličky habešské doplnit krmnou dávku o vysoce kvalitní bílkoviny.

Také byl popsán stimulační účinek pasení se v době přechodu z anestru na dřívější nástup pravidelných estrálních cyklů. U anglických plnokrevných klisen, které byly na noc zavřené ve stáji a přes den strávily 4-6 hodin na pastvě, se první ovulace objevila po výrazně delší době než u pony klisen, které byly přes zimu drženy na vybetonovaných prostranstvích a poté, co byly vyhnány na bujnou jarní trávu, začaly synchronně ovulovat (Allen, 1987). Carnevale et al. (1997) tento fakt podpořili svou studií, kdy prokázali, že pasení mělo příznivý účinek na začátek cyklické aktivity vaječnicků při přechodu ze zimního anestru, kdy anestrální klisny, které byly od začátku května na zelené pastvě, ovulovaly dříve než ustájené klisny krmené senem.

Bylo zjištěno (Guillaume et al., 2006; Salazar – Ortiz et al., 2011; Guillaume et al., 2002), že podvyživené klisny mají prodloužený anestrus a mohou během léta ovulovat pouze 4, a ani zlepšení jejich výživy na začátku podzimu nemůže znovu spustit jejich estrální cykly

a proto klisny nemohou zabřeznout. Guillaume et al. (2006) doporučují vhodně doplňovat krmnou dávku podvyživených klisen minimálně 3 měsíce před a 2 měsíce po ohřevení, aby mohly pokrýt energetickou potřebu svoji i hříběte. Tauson et al. (2006) ve své studii varují, že podvýživa klisny může mít velmi vážné důsledky, mezi které může patřit narušení obranného systému plic hříběte, poškození svalů, malformace kostí nebo chrupavek, poruchy kognitivních schopností hříběte a kardiovaskulární a endokrinní abnormality.

Vývoj zárodku může být ovlivněn také nedostatkem nebo přebytkem specifických minerálů v krmné dávce klisny. Množství jódu a selenu ovlivňuje reprodukční výkonnost klisny a při extrémním výkyvu oproti požadovanému množství může vést až k potlačení vývoje embrya, zatímco snížený příjem vápníku v dietě může způsobit retardaci růstu zárodku (Harris, 2003; Frappe, 2010). Nedostatek glukózy během začátku březosti klisny může zvýšit riziko embryonální smrti a/nebo resorbce embrya (Fowden et al., 1984).

Také bylo zjištěno, že dobře krmené klisny mají kratší folikulární fázi v estrálním cyklu s vyššími plasmatickými hladinami hormonů vaječnicků, vyšší počet brzkých cyklů a kratší zimní anestrus (Guillaume et al., 2006; Aurich, 2011).

Hřebec

Contri et al. (2011) se ve své studii zabývali efektem antioxidantů v krmné dávce na parametry kvality čerstvého spermatu hřebců. Před začátkem experimentu měli všichni hřebci podobné zkoumané hodnoty ejakulátu, zatímco po začátku experimentu měly u hřebců s dietou doplněnou o antioxidanty (TG) všechny zkoumané parametry lepší výsledky než u hřebců s běžnou dietou (CG) s výjimkou jediného parametru - koncentrace spermií, která byla významně nižší u TG než u CG. Další zkoumané parametry se týkaly pohybu spermií. Procento spermií s progresivním pohybem bylo po 60 dnech od začátku experimentu vyšší u TG než u CG. Hodnoty průměrné rychlosti a pohybu spermií vpřed se u TG značně zvýšily už po 30 dnech. Integrita membrány spermií (životaschopnost spermií) se také zvýšila u TG oproti CG už po 30 dnech. U TG byl po 60 dnech zjištěn pokles množství abnormálních spermií, zatímco u CG byly hodnoty při všech kontrolních odběrech podobné. Pouze u hladiny antioxidantů semenné plasmy proběhlo zlepšení, které se v průběhu experimentu neudrželo a byly zjištěny podobné hodnoty jako na začátku. Po 30 dnech byla hladina u TG vyšší než u CG, ale po 60 dnech měly obě skupiny opět podobné hodnoty, tedy hladiny

antioxidantů u TG opět klesly. Autoři nevěděli, jak tyto výsledky vysvětlit, ale domnívají se, že by opětovný pokles hladiny antioxidantů v semenné plasmě mohl být kompenzován zvýšením působení antioxidantů na jiných místech (například ve varlatech), které udržují vyšší hodnoty parametrů kvality spermatu u TG po 60 dnech od začátku experimentu. Podle výsledků této studie tedy zlepšení parametrů hřebčího semene při suplementaci antioxidantů nebylo lineární, po 30 či 60 dnech již nebyl zjištěn žádný další pokrok. Toto zjištění vedlo autory studie k názoru, že ve standardních podmínkách by příjem antioxidantů v krmivu mohl být nižší, než jsou požadavky hřebců v plemenitbě.

Vliv pracovní zátěže a závodění koní na reprodukční výkonnost

Umístění koní v závodech je důležité pro určení hodnoty koně při využití v plemenitbě, proto většina plemenných koní má buď závodní minulost, a nebo se závodů účastní i během let, kdy jsou využíváni v chovu. Obecně může závodění ovlivňovat plodnost dvěma způsoby – geneticky a environmentálně. Environmentální negativní vliv má například stres vyvolávaný tréninkem a samotnými závody, medikace, zranění, nebo zvýšení tělesné teploty a změny v exkreci hormonů kvůli stresu a zátěži (Jannet et al, 2006; Mortensen et al., 2009) a environmentální pozitivní vliv má například vysoce kvalitní výživa a celkový management. Provázání obou v praxi funguje tím způsobem, že nejlepšími závodními koni budou v chovu poskytnuty nejlepší podmínky k úspěšné reprodukci, protože se očekává, že jejich hříbata budou mít větší hodnotu než hříbata podprůměrných koní (Sairanen et al., 2011).

Pro účely studie, která se zabývala zjištěním vlivu závodění koní na jejich plodnost, kdy oboje probíhalo paralelně během stejného roku, sbírali autoři Sairanen et al. (2011) data ve Finsku od roku 1991 do 2005 od 33,679 koní plemene Standardbred a 32,731 finských chladnokrevníků, hřebců i klisen využívaných ke klusáckým závodům. Výsledky studie byly hodnoceny podle nejlepšího času v závodě dlouhém minimálně 1600 m, výsledku reprodukce v jednotlivých letech a pouze u klisen individuální závody, kterých se účastnily během reprodukčního roku. Počet závodů za kariéru byl z faktorů vyloučen, protože podle výsledků studie neměl na plodnost koní vliv.

Po vyhodnocení výsledků se ukázalo, že u faktoru počtu závodů během reprodukčního roku měly nejhorší plodnost klisny finského chladnokrevníka, které startovaly více než 10 x. Klisny Standardbred s více než 10 starty měly o něco lepší výsledky, ale stále nižší než ostatní

skupiny klisen včetně kontrolní skupiny – klisny, které závodily, ale ne během roku, kdy byly využity v plemenitbě. Nejvyšší míru ohřebení měly klisny Standardbred s pouze 1 – 5 závody a finské chladnokrevné klisny s 1 – 10 závody během reprodukčního roku. Závodění před nebo po reprodukci (přirozená plemenitba, umělá inseminace čerstvým, chlazeným a nebo mraženým spermatem) mělo u obou plemen podobné výsledky. Klisny, které startovaly pouze před první reprodukcí měly lepší reprodukční výkonnost než klisny, které odešly do chovu už minulou sezónu a v roce, kdy byly využity k reprodukci, už nezávodily. Při porovnání klisen, které startovaly před první reprodukcí, měly lepší výsledky ty klisny, které startovaly méně než 60 dnů před reprodukcí než skupina, která startovala pouze více než 60 dní před reprodukcí. Skupiny klisen, které startovaly po reprodukci, měly sníženou míru ohřebení kromě skupiny finských chladnokrevných klisen, které startovaly do 60 dnů po poslední reprodukci. U hřebců nebylo prokázáno, zda počet startů před nebo po reprodukci ovlivňuje kvalitu ejakulátu.

Nejlepší čas v kariéře měl vliv spíše na hřebce než na klisny, i přestože klisny Standardbred ve skupině nejlepších časů měly nejvyšší míru ohřebení. Nicméně zde je třeba zmínit, že v této studii nebylo vyhodnoceno, kolik inseminací na březost bylo za potřebí, což by mohlo objasnit, proč měly klisny Standardbred s nejrychlejším časem nejvyšší míru ohřebení. U finského chladnokrevníka není reprodukce na tak vysoké úrovni jako u Standardbred koní a možná z tohoto důvodu měly finské chladnokrevné klisny s nejrychlejším časem průměrné výsledky. Hřebci se špatnými nebo žádnými závodními záznamy měli nejlepší výsledky ohřebených klisen, zatímco nejlepší závodní hřebci Standardbred a podprůměrní hřebci finského chladnokrevníka měli nejmenší počty ohřebených klisen.

Naopak nebylo prokázáno dlouhodobé ovlivnění plodnosti koní závodní kariérou. U klisen nebyl zjištěn vliv dlouhé závodní kariéry na využití v chovu, pokud se bere ohled na další faktory ovlivňující plodnost klisen, jako například věk a reprodukční status – starší poprvé zapouštěné klisny mají nižší plodnost nehledě na předchozí využití k závodění (Sairanen et al., 2009). Také u hřebců nebyl vliv kariéry prokázán. Hřebci využívaní první rok v plemenitbě neměli horší míru ohřebení klisen než hřebci využívaní již několik let. Nicméně hřebci používaní v plemenitbě první rok měli většinou menší počet klisen než hřebci využívaní několik let, a tudíž bylo možné klisny inseminovat koncentrovanějšími dávkami spermatu, což mohlo pozitivně ovlivnit jejich výsledky. I přesto však výsledky prokázaly, že

žádný semi-permanentní stres ani možný vliv medikace ze závodní kariéry hřebců není trvalý, pokud nejde o dopingovou medikaci, která by mohla mít trvalejší následky (Sairanen et al., 2011). Tvrzení o dočasnosti působení medikamentů dokládá hned několik studií, které tvrdí, že po léčení exogenním testosteronem nebo anabolickými steroidy se varlata vrátí do původní velikosti a obnoví se normální tvorba spermatu hřebců za 3 – 12 měsíců (Koskinen et al., 1997a; Koskinen et al., 1997b; Squires et al., 1981).

Také stres je při závodění významný faktor, nicméně autoři Sairanen et al. (2011) podle svých výsledků tvrdí, že pokud klisny startují pouze před reprodukcí a méně často (1 – 10 startů), tak v době reprodukce už je stres odplaven, zatímco výhody, které závodění přináší, jako například pravidelná práce (lepší fyzická kondice než mají klisny užívané pouze jako chovné) a dostatečná a vyvážená výživa, zůstávají.

Mortensen et al. (2009) zjistili, že zvýšená tělesná teplota klisen ničí embrya a prodlužuje dobu mezi luteolýzou a ovulací. Tento výzkum se sice uskutečnil v teplejším prostředí než je ve Finsku, ale zátěž koní nebyla tak náročná jako závodění. Teplota naměřená v rektu koní po zátěži byla 39.9 °C a po 30 minutách se snížila na 39.7 °C, což jsou podobné hodnoty jako naměřili Nostell et al. (2006) ve Švédsku, takže Mortensen et al. (2009) doplňují, že část vlivu zátěže na plodnost by mohla být způsobena možnou změnou hormonální exkrece při zátěži.

Několik prací se zabývalo vlivem práce hřebců na parametry hodnocení spermatu. Dinger et al. (1986) nezjistili žádné změny po lehké práci, zatímco Janett et al. (2006) ve své studii zjistili, že hřebcům během tréninku stoupla hladina kortizolu, testosteronu a laktátu v plasmě a navíc tréninky nepříznivě ovlivnily kvalitu spermatu a jeho úspěšné zmrazení. Friedman et al. (1991) zdůrazňují, že kromě změny produkce hormonů, práce zvyšuje tělesnou teplotu hřebců, což může poškodit spermie. Staempfli et al. (2006) upozorňují, že používání chráničů varlat při tréninku nebo při závodech vede k ještě vyšší povrchové teplotě šourku a může vést až ke špatnému vývoji spermií.

Vliv frekvence odběrů semene a počtu skoků na fantoma na plodnost hřebce

Bylo pozorováno, že u hřebců využívaných pro odběr semene v 48 hodinových intervalech mimo reprodukční sezónu se zvýšila kvalita mraženého spermatu spolu se sníženým počtu skoků na fantoma potřebných pro odběr (Sieme et al., 2000). V další studii Sieme et al. (2002) prokázali, že ejakuláty odebrané z prvního skoku na fantoma měly menší

objem v porovnání s ejakuláty odebranými po druhém až šestém skoku. Na druhé straně koncentrace spermií se zmenšovala s každým dalším skokem, který byl potřebný pro úspěšný odběr semene. Celkový počet spermií a počáteční progresivní mobilita nebyly statisticky významně ovlivněny počtem skoků na fantoma. Délka životaschopnosti spermií měřená jako pohyblivé spermie po 24 hodinách skladování při 5 °C byla významně redukována v ejakulátech odebraných ze třetího až šestého skoku v porovnání s ejakuláty odebranými z prvního nebo druhého. V této studii je demonstrováno, že kvantita (objem semene, koncentrace spermií) i kvalita (životaschopnost spermií) semene hřebce je značně ovlivněna počtem skoků na fantoma potřebných k získání ejakulátu. Několikanásobné neúspěšné pokusy odebrání spermatu za použití fantoma zvyšuje sekreci přídatných pohlavních žláz a snižuje koncentraci a životaschopnost spermií (Sieme et al., 2002). Za příčiny snížené kvality ejakulátu jsou považovány interakce mezi sekrety pohlavních žláz a spermii a škodlivý efekt semenné plasmy na přežití spermií hřebce (Magistrini et al., 2000; Pickett et al., 1975). Podle výsledků studie Sieme et al. (2002) by se mělo sperma hřebců odebírat ve 24 hodinových intervalech během celé sezóny, aby se zajistil každodenní výstup spermií na předvídatelné úrovni a mělo by se vyhnout početným neúspěšným skokům.

V jiné studii Sieme et al. (2004) víceméně potvrdili výsledky předchozí studie. Bylo využito 36 hřebců, od kterých bylo sperma odebíráno 3 x týdně mimo reprodukční sezónu. Čím vyšší počet skoků, tím byl větší objem ejakulátu a nižší koncentrace spermií. V ejakulátu odebraném z 1. – 2. skoku byl sice při porovnání s 3 a více skoky nižší celkový počet spermií, ale vyšší procento spermií s progresivním pohybem po 24 h skladování při 5 °C. V ejakulátu odebraném z prvního skoku bylo vyšší procento živých (s neporušenou membránou) i progresivně motilních spermií po zmrazení a opětovném rozmrazení než v ejakulátech odebraných z 3. a vyšších skoků. Procento spermií s progresivním pohybem ihned po odběru nebylo počtem skoků na fantoma ovlivněno. V tomto experimentu byl vyhodnocen i vliv časového intervalu od vstupu hřebce do odběrové místnosti do ejakulace na charakteristiky ejakulátu a výsledky byly podobné jako u počtu skoků na fantoma. Čím delší čas hřebec k ejakulaci potřeboval, tím větší byl objem ejakulátu. Pokud hřebec ejakuloval do 5 minut, pak měl ejakulát větší koncentraci spermií, vyšší procento progresivně motilních spermií po 24 h skladování při 5 °C a procento živých a progresivně motilních spermií po rozmrazení než u hřebců, kteří ejakulovali po 5 minutách a déle. Hřebci, kteří ejakulovali do 10 minut měli

nižší celkový počet spermií v ejakulátu než hřebci, kteří ejakulovali po 10 minutách. Doba do ejakulace neměla vliv na procento živých ani progresivně motilních spermií ihned po odběru.

V práci Sieme et al. (2004) bylo také sperma odebíráno od 4 hřebců buď 1 x denně nebo 2 x po 48 h, přičemž dvojité odběry následovaly hodinu po sobě. První z dvojitých odběrů měl v porovnání s druhým v odstupe jedné hodiny větší objem, vyšší koncentraci spermií, vyšší celkový počet spermií v ejakulátu, vyšší procento progresivně motilních spermií po 24 h uchovávání při 5 °C a při hodnocení kvality mraženého spermatu měl po rozmražení vyšší procento živých spermií. Při porovnání prvního z dvojitých odběrů a jednoho každodenního odběru měl každodenní odběr spermatu nižší koncentraci spermií, nižší procento progresivně motilních spermií po 24 h, vyšší procento morfologických abnormalit krčku spermií a nižší procento živých spermií po rozmražení, nicméně procento progresivně motilních spermií ihned po odběru se nelišilo. Celkový výsledek porovnání obou dvojitých odběrů spojených dohromady a následně rozdělených do dvou průměrných denních dávek a denních odběrů byl, že dvojité odběry měly vyšší procento progresivně motilních spermií ihned po odběru i po 24 h, nižší procento abnormálních spermií a vyšší procento živých spermií po rozmražení, nicméně procento progresivně motilních spermií po rozmražení se stejně jako koncentrace spermií a objem ejakulátu nelišila. Autoři při použití dvojitých odběrů v praxi doporučují první odběr použít pro transport a druhý použít pro inseminaci ihned v místě odběru. I přestože spojení a znovu rozdělení dvojitých ejakulátů mělo za výsledek lepší kvalitativní hodnoty spermatu než denní odběry, autoři využití této techniky pro inseminaci nedoporučují.

V práci Sieme et al. (2004) také autoři retrospektivně vyhodnotili data umělé inseminace 71 hřebců a analyzovali vliv skoků na fantoma potřebných k odběru ejakulátu a frekvenci a časový interval odběrů na míru zabřeznutí a ohřebených klisen. Hřebci, kteří byli odebíráni ≥ 1 denně měli významně vyšší procento zabřezlých a ohřebených klisen než hřebci, kterým bylo odebíráno sperma v nižší frekvenci než 1 x denně. U hřebců, kteří byli odebíráni v intervalu 0.5 – 1 den, bylo značně vyšší procento ohřebených klisen než u hřebců odebíraných v delších časových intervalech. Vyšší frekvence odběrů a kratší čas mezi nimi se podle autorů prokázaly jako účinné metody pro zvýšení plodnosti hřebců.

Vliv způsobu odběru spermatu na jeho kvalitu

Burger et al. (2015b) zkoumali rozdíl mezi odběrem spermatu při skoku na fantoma a odběrem od stojícího hřebce za pomoci umělé vagíny. O odběry spermatu ze země roste zájem nejen ze strany chovatelů sportovních hřebců a hřebců trpících muskuloskeletárními nebo neurologickými problémy, ale také protože ne všechny stáje, které chtějí využívat své hřebce k inseminaci, mají k dispozici fantoma nebo vhodnou klisnu. Autoři studie se zaměřili na parametry kvality a kvantity ejakulátu, váhu, kterou nesou zadní končetiny, libido a chování hřebců. Po vyhodnocení experimentu autoři zjistili, že při skocích na fantoma byl odebrán větší objem semene než při odběrech ze země u všech hřebců vyjma jednoho. Celkový počet spermií při odběrech ze země byl o 25 % nižší než při skocích na fantoma, pouze jeden hřebec měl vyšší hodnoty při odběru ze země v porovnání s odběrem ze skoku na fantoma, ale hustota spermatu se u jednotlivých hřebců nijak významně nelišila. McDonnell et Love (1990) ve své studii na rozdíl od Burger et al. (2015b) nezjistili rozdíl v celkovém počtu spermií při skoku na fantoma a odběru ze země, při odběru spermatu ze země však nepoužívali umělou vagínu, ale manuální stimulaci. U progresivního pohybu spermií vpřed a jejich životaschopnosti nebyl zjištěn rozdíl mezi metodami odběru. Doba potřebná k dosažení erekce se mezi metodami nelišila, ale doba potřebná k ejakulaci byla výrazně delší u metody ze země než při skoku na fantoma. Počet pohybů ocasu hřebců při ejakulaci byl značně vyšší při skoku na fantoma, než u odběru ze země a během všech 5-ti dnů odběrů se tento rozdíl neměnil. Váha spočívající na zadních končetinách byla měřena v procentech z celkové váhy jednotlivých hřebců a po vyhodnocení nebyl zjištěn významný rozdíl zatížení zadních končetin mezi oběma metodami. Také nebyl zjištěn vliv metody odběru spermatu na libido ani na sexuální chování hřebců.

Schumacher et Riddell (1986) ve své studii zjistili, že úspěšný a bezpečný odběr ejakulátu ze země závisí na temperamentu a ovladatelnosti jednotlivých hřebců. Studie autorů Burger et al. (2015b) jejich závěry podporuje, protože ne všech 23 hřebců využitých ve studii tolerovalo odběr spermatu ve stoje nezávisle na jejich věku nebo zkušenostech s plemenitbou. Sieme et al. (2004) se ve své práci zabývali vlivem způsobu odběru celého ejakulátu nebo pouze jeho frakce (bez gelové složky) na jeho kvalitu. Celý ejakulát měl větší objem, než ejakulát bez gelové složky (GF), ale měl mnohem nižší koncentraci spermií. V GF ejakulátu byl menší celkový počet spermií v porovnání s celým ejakulátem. Podle autorů studie první 3

výstřiky obsahují 45 % z celkových 73 % obsahu spermií v celém ejakulátu. Procenta živých ani progresivně motilních spermií čerstvého semene nebyla ovlivněna odběrem celého nebo GF ejakulátu, zatímco hodnoty mraženého ejakulátu se lišily. GF centrifugovaný ejakulát měl po rozmražení vyšší procenta živých i progresivně motilních spermií než necentrifugovaný GF a celý centrifugovaný ejakulát. Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky studie Vidament et al. (2001). V jiné studii byla pozorována vyšší motilita spermií v GF než v celém ejakulátu po 24 h uchování při 4 °C (Varner et al., 1987). Další studie potvrdily, že při odběru s použitím otevřené vagíny je velmi nízká bakteriální kontaminace, což může být výhodou pro skladování spermatu (Lindeberg et al., 1999; Tischner et Kosiniak, 1992).

Vliv sociálních interakcí mezi hřebcem a klisnou na přechod z anestrů k ovariální aktivitě

Tomuto tématu se věnovala studie autorů Wespi et al. (2014), který trval 2 roky a bylo k němu využito 22 klisen různých plemen (Warmblood, Franches-Montagnes, Anglický plnokrevník, Standardbred) ve věku 7-19 let různých reprodukčních statusů (nikdy nezapouštěné, jalové, minulou sezónu nezapouštěné, minulou sezónu ohřebené) v tělesné kondici 4 – 8 (stupnice 1 – 9) a 2 hřebci plemene Franches-Montagnes se zkušenostmi v plemenitbě.

Koně byli po dobu experimentu (od 16. února do 30. dubna) ustájeni ve dvou identických stájích po osmi boxech s uličkou oddělených dřevěnými stěnami a nad nimi železnou mříží, která koním dovozovala vizuální, olfaktorický a omezený tělesný kontakt. Všechny klisny kromě jedné byly od prosince předcházejícího roku do začátku experimentu ustájeny ve volné stáji s dalšími klisnami bez kontaktu s hřebcem. Během této doby byly pravidelně kontrolovány ultrazvukem pro potvrzení, že žádná z nich před začátkem experimentu neovulovala a že na vaječnících nebyl přítomný folikul větší než 30 mm v průměru.

V polovině února byly klisny rozděleny do dvou skupin podle maximální velikosti folikulu. Kategorie 1 byla pro klisny, jejichž folikuly nepřesáhly v průměru 20 mm a kategorie 2 byla pro klisny, jejichž největší folikul měl v průměru velikost 21 - 30 mm. Hřelec byl do stáje ke klisnám z experimentální stáje přiváděn třikrát týdně, klisny z kontrolní stáje v kontaktu s hřebcem nebyly. Hřelec byl po přivedení do stáje s klisnami postupně předveden hlavou ke každé z klisen na dobu 15 vteřin, během kterých byl umožněn

kontakt nozdrami, a poté byl volně puštěn. Hřebcův box zůstal otevřený, mohl se tudíž volně pohybovat po stáji mezi boxy s klisnami.

Bylo zjištěno, že klisny, které byly v kontaktu s hřebcem, na jaře ovulovaly dříve než kontrolní klisny a během experimentu ovulovaly vícekrát. Velikost folikulů v anestru neměla zásadní vliv na dobu, kdy klisna poprvé ovulovala, na počet ovulací během experimentu ani na dobu mezi první a druhou ovulací. Podle výsledků autoři usuzují, že jimi vytvořené sociální prostředí v experimentální stáji je blíže divokému způsobu života koní než běžně používané ustájení klisen a hřebců v různých stájích bez vzájemného kontaktu a domnívají se, že delší obnovení ovariální aktivity domestikovaných klisen, než je pozorováno u divoce žijících klisen, by mohlo být důsledkem nepřirozeného sociálního prostředí. Oba hřebci přijali svou roli v experimentu s nadšením, na začátku klusali po stáji, potili se, pravidelně se u nich objevovala erekce. Brzy však si zvykli a adaptovali se na novou situaci a vykazovali podobné chování jako harémoví hřebci – obcházeli klisny a zjišťovali, v jakém stádiu estrálního cyklu jsou.

Vliv celkového sociálního prostředí a sociálních interakcí hřebců s klisnami a jinými hřebci na parametry semene hřebce

Podle studie Burger et al. (2012) je reprodukční výkonnost domestikovaných ustájených hřebců často nižší než by mohlo být očekáváno podle pozorování divoce žijících stád. Pozorování prokázala, že divocí hřebci se buď stanou harémovým hřebcem ve stádě klisen a nebo žijí ve skupině jiných hřebců (bachelors) (Klingel, 1975; Klingel, 1982; Keiper, 1985). Primární povinnosti harémového hřebce jsou ochrana stáda a udržování stáda pohromadě. Iniciátorem kopulace je většinou klisna, která si vybírá vhodného partnera (McDonnell, 2000). Hřebci bez harému se sdružují do skupiny bachelors, která čítá 2 – 17 hřebců, z nichž je většina ve věku 2 – 5 let a mohou být příliš mladí pro status harémového hřebce. Starší hřebci se do těchto skupin mohou dostat, pokud jim jiný hřebec přebere harém, nebo pokud nejsou schopni harém získat (Berger, 1986). Bachelors se zpravidla nerozmnožují.

Management domestikovaných hřebců se velmi liší od výše naznačené sociální hierarchie divokých koní. Plemenní hřebci jsou zpravidla ustájeni v individuálních boxech a padocích a jsou buď úplně izolováni od ostatních koní, nebo je jejich kontakt s nimi (fyzický, vizuální, olfaktorický nebo zvukový) omezen, zatímco divocí hřebci tráví v izolaci od sociálních

interakcí většinou méně než 8 % času (Berger, 1986). Podle mnoha prací by sociální izolace mohla přispívat k vysoké agresi a nežádoucímu chování směřovanému k jiným koním (Søndergaard et Halekoh, 2003) nebo k lidem (Irrgang et Gerken, 2010; Rivera et al., 2002; Søndergaard et Ladewig, 2004) a může vést až k sebepoškozování (McDonnell, 2008). Opakem izolovaně chovaných hřebců jsou hřebčiny, kde jsou hřebci chováni ve společnosti jiných hřebců bez jakéhokoliv kontaktu s klisnami, což odpovídá formě bachelors skupiny (McDonnell et Murray, 1995), a může tedy vést k supresi chování a fyziologických parametrů souvisejících s reprodukcí, jako jsou například nižší úroveň androgenů, sexuálního a agresivního chování, zmenšení varlat a snížená kvalita ejakulátu (McDonnell et Murray, 1995; McDonnell et Haviland, 1995; McDonnell et Pozor, 1995).

Další velký rozdíl mezi životem v divočině a v zajetí je počet sexuálních partnerek, které hřebci připustí. Divocí harémoví hřebci připustí většinou méně než 20 klisen ročně, zatímco hojně využívaný domestikovaný plemník může připustit více než 200 klisen během sezóny (Squires, 2009). To vyžaduje připuštění 3 – 4 klisen denně bez přidružených sociálních interakcí, které jsou požadovány od harémového hřebce. Hřebci využívaní k inseminaci jsou vytíženi méně, ale i tak je u některých běžné denní odebrání spermatu. Tato frekvence využívání plemníků mnohonásobně převyšuje přirozené podmínky v divočině a s omezenými možnostmi pro sociální interakce není snížení libida a plodnosti hřebců překvapujícím výsledkem (Burger et al., 2012).

V jiné studii Burger et al. (2015c) zjišťovali, jaký vliv má ustájení hřebce s jinými hřebci bez kontaktu s klisnami v porovnání ustájení jednoho hřebce s jednou klisnou na parametry kvality spermatu. Výsledky některých parametrů ejakulátu byly významně ovlivněny pořadím, v jakém byli hřebci ustájeni s klisnou a s jinými hřebci. Celkový počet spermií v ejakulátu byl nejvyšší u hřebců, kteří byli nejdříve 8 týdnů ustájeni s jinými hřebci a poté byli 8 týdnů ustájeni s klisnou, zatímco po ustájení s klisnou bez předchozího ustájení s jinými hřebci byl počet spermií nejnižší. Po ustájení s jinými hřebci nezávisle na pořadí byl počet spermií ve středu hodnot. Rychlost spermií byla ovlivněna pouze v jediném parametru – průměrné rychlosti pohybu hlavičky po její skutečné dráze (VCL), která také byla vyšší u hřebců, kteří byli nejdříve ustájeni s jinými hřebci a poté s klisnou než při opačném pořadí, stejně jako hladina testosteronu v krvi. Průměrná hladina testosteronu měřená během doby ustájení s klisnou byla dobrým prediktorem průměrného počtu spermií, zatímco během ustájení s jinými hřebci žádná korelace nalezena nebyla.

Vliv MHC klisny na parametry spermatu hřebce

V přidruženém výzkumu skupiny autorů Burger et al. (2015a) bylo zjišťováno, jak může typ hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) klisny ovlivnit reprodukční strategii hřebců. MHC je skupina mnoha genů malého účinku, která hraje zásadní roli v odolnosti imunitního systému obratlovců (Davies, 2013). Signály spojené s MHC jsou často využívány pro rozpoznávání jedinců nebo jako signál genetické příbuznosti, například při vybírání vhodného partnera k páření – vyvarování se inbreedingu (Roberts et Gosling, 2003). Výsledky analýzy krve hřebců ukázaly, že 10 hřebců z 12 mělo nižší hladinu testosteronu během ustájení s klisnou s podobným MHC v porovnání s klisnou s rozdílným MHC. Pořadí klisen v tomto ohledu nehrálo roli, zatímco celkový počet spermií ovlivnilo velmi výrazně. Hřebci, kteří byli ustájeni nejdříve s klisnou s podobným a poté s odlišným MHC, měli výrazně vyšší celkový počet spermií v ejakulátu než hřebci ustájení nejdříve s klisnou s odlišným MHC a poté s podobným. Rychlost pohybu spermií typem MHC klisny ovlivněna nebyla.

Vliv způsobu zapuštění klisny

Umělá inseminace (AI)

AI je hojně používaná reprodukční praktika v chovu koní v mnoha zemích, nejvíce však u sportovních plemen. Rozdíl mezi přirozenou plemenitbou a AI je, že u přirozené plemenitby většina ejakulátu proniká do dělohy bez lidského zásahu, zatímco při AI může být ejakulát modifikován. Například může být použita jen frakce ejakulátu (pouze několik prvních výstřiků, které obsahují nejvíce spermií), gelová složka se z celého ejakulátu rutinně odstraňuje, semenná plazma může být také odstraněna úplně nebo jen zredukována, nebo se ejakulát může naopak naředit a upravit pro uchování. Objem inseminační dávky se pohybuje mezi 0.2 – 100 ml, počet progresivně motilních spermií má také široké rozpětí mezi 5 – 500 x 10⁶. Typ spermatu může být čerstvé, chlazené (umožňuje transport, vydrží až 48 h) nebo mražené. Místo, kam se klisny inseminují, je standardně tělo dělohy, ale pro AI spermatu malého množství (malý počet spermií i malý objem ejakulátu) jako je například sexované sperma byla vyvinuta tzv. hluboká AI do děložního rohu ipsilaterálního s ovulačním

folikulem, která může být kontrolována buď transrektálně nebo hysteroskopicky (Sieme et al., 2004).

Sieme et al. (2003) provedli studii, ve které se zabývali vlivem různých režimů AI na míru ohřebení klisen. Jednotlivé režimy se lišily ve třech faktorech – počet inseminací na estrus, časový interval mezi inseminacemi během říje a časový interval mezi inseminací a ovulací. Bylo prokázáno, že časový interval mezi ovulací a inseminací je stěžejním faktorem pro zabřeznutí (Woods et al., 1990).

Míra zabřezávání na estrus se významně lišila u skupin klisen, které byly inseminovány chlazeným spermatem 1 x v říji (50 %) a 3 x během říje (71 %). Ze skupin 1 inseminace na říji chlazeným spermatem měly nejvyšší míru zabřeznutí klisny inseminované ≤ 24 h před ovulací, v porovnání s klisnami inseminovanými 36 – 48 h před ovulací. Klisny inseminované chlazeným spermatem měly vyšší míru zabřezávání než klisny inseminované mraženým spermatem. Nejnižší míru zabřeznutí po AI mraženým spermatem měly klisny inseminované 1 za 24 – 12 h před ovulací, zatímco nejvyšší míru měly klisny inseminované 2 x – poprvé 24 – 12 h před ovulací a 0 – 12 h po ovulaci. Při inseminaci mraženým spermatem se počet inseminací před ovulací neukázal jako významný faktor ovlivňující nižší míru zabřeznutí klisen, nicméně reinseminací 24 h po první inseminaci bylo dosaženo vyšších výsledků. Autoři tedy v případě, že klisna neovuluje do 12 h po inseminaci, doporučují po 24 h reinseminovat - což znamená do 12 h po ovulaci. Bylo zjištěno, že při jedné inseminaci mraženým spermatem je dosaženo nejvyšších výsledků, pokud je provedena během 12 h před nebo po ovulaci (Sieme et al., 2003).

Sieme et al. (2003) ve studii také retrospektivně vyhodnotili reprodukční záznamy 2,637 klisen inseminovaných chlazeným spermatem během 12 hodin po odběru. Výsledky byly hodnoceny procentem ohřebených klisen s živým registrovaným hříbětem. Klisny inseminované 1 x měly nižší procento ohřebení než klisny inseminované 2 a vícekrát během říje. Nejvyšších výsledků bylo dosaženo při 3 inseminacích ve 24 h intervalu mezi každou dávkou nebo při 4 a více inseminacích, kdy první dvě inseminace byly provedeny ≥ 48 h před ovulací a poslední dvě v rozmezí 24 h. Při 2 a více inseminacích bylo dosaženo lepších výsledků, pokud byly jednotlivé inseminace od sebe vzdáleny 24 h než když byly klisny inseminovány v intervalu 48 h.

V další studii Woods et al. (1990) byly klisny inseminovány čerstvým spermatem pouze po ovulaci. Při inseminaci do 12 h po ovulaci byli výsledky ekvivalentem výsledků

studie Sieme et al. (2003) u klisen, které byly inseminovány před ovulací chlazeným spermatem, nicméně pokud byly klisny inseminovány ≥ 30 h po ovulaci, tak bylo procento zabřeznutí nulové. Při porovnání ztrát březosti, byla procenta vyšší u inseminace provedené po ovulaci než u klisen inseminovaných před ovulací (Woods et al., 1990; Koskinen et al., 1990). Přestože zatím nebyl zjištěn přesný časový interval inseminace mraženým spermatem po ovulaci zajišťující přijatelnou míru březosti právě kvůli snižujícím se procentům zabřezlých klisen a zvýšeným ztrátám březosti, je obvykle doporučováno inseminovat mraženým spermatem do 6 – 8 h po ovulaci (Katila et al., 1996; Kloppe et al., 1988; Darenius et Darenius, 1991).

Několik studií se liší v doporučení autorů, zda je lepší inseminovat chlazeným spermatem denně (Squires et al., 1998; Curnow, 1993) nebo každý druhý den (Pickett et al., 1989). Ve Spojených státech je chlazené sperma většinou dodáváno najednou ve dvou dávkách a Shore et al. (1998) nezjistili zlepšení výsledků při držení druhé inseminační dávky do dalšího dne a tvrdí, že bylo lepší inseminovat s oběma dávkami najednou.

V další studii se autoři Sieme et al. (2004) zabývali vlivem různých inseminačních technik a dávek spermatu na míru březosti hanoverských klisen s normální reprodukční historií ($n = 187$) a s problémovou reprodukční historií – ztráty březosti nebo nezabřezávání ($n = 85$). Techniky AI byly běžná inseminace do těla dělohy, transrektálně kontrolovaná AI k vejcovodu do děložního rohu ipsilaterálního s preovulačním folikulem a hysteroskopická AI k vejcovodu ipsilaterálního s preovulačním folikulem. Výsledky byly hodnoceny mírou březosti - míra zabřeznutí 15. – 18. den po inseminaci a do 43. dne byly monitorovány ztráty březosti. Podle výsledků studie byla míra březosti klisen značně ovlivněna reprodukční historií klisny a jejím současným reprodukčním statutem. Klisny inseminované v první říji po ohřebení měly nižší procento březosti než laktující klisny s hříbětem inseminované v již několikáté říji po ohřebení. Problémové klisny inseminované mraženým spermatem měly nižší míru březosti než při použití čerstvého spermatu, zatímco u klisen s normální reprodukční historií byly výsledky rovnocenné. Naopak při porovnání výsledků inseminačních technik, měly klisny s normální historií vyšší míru březosti při hysteroskopické inseminaci čerstvým spermatem než při běžné AI, zatímco klisny s problémovou historií měly výsledky opačné. Dokonce při běžné AI do těla dělohy čerstvým spermatem měly problémové klisny větší míru březosti než normální klisny, zatímco u hysteroskopické AI tomu bylo naopak. Podle výsledků této studie tedy u klisen s problémovou reprodukční historií není řešením hluboká inseminace

k vejcovodu hysteroskopicky ani transrektálně kontrolovaná, patrně z důvodů kontaminace dělohy. Touto problematikou se ve výzkumu zabývali Schiemann et al. (2001), kteří při vyšetření 8 zdravých klisen v diestru 5 dní po diagnostické hysteroskopii zjistili, že 4 z nich měly v děloze patogenní mikroby a 6 z 8 projevvalo známky zánětu a eozinofilie v histologických vzorcích endometriální biopsie. U klisen s normální reprodukční historií lze hysteroskopickou AI úspěšně použít při AI malým počtem spermií, (Manning et al., 1998; Vazquez et al., 1998; Morris et al., 2000; Lindsey et al., 2002a; Lindsey et al., 2002b; Lindsey et al., 2002c) například při použití sexovaného ejakulátu (Johnson et Welch, 1999).

Na základě výsledků studie Sieme et al. (2004) je plodnost klisen při AI mraženým spermatem důležitějším faktorem než technika AI, objem ejakulátu i počet spermií v inseminační dávce. Míra březosti všech klisen inseminovaných čerstvým i mraženým spermatem třemi technikami inseminace se statisticky příliš nelišila. V souladu s výsledky dalších studií (Vidament et al., 1997; Householder et al., 1981; Nie et al., 2002) autoři navrhuji přehodnotit doporučený počet spermií v inseminačních dávkách, jelikož podle výsledků i běžně používaná AI do děložního těla vede k uspokojivé míře zabřeznutých klisen i při použití nižšího počtu spermií, i když zároveň dodávají, že záleží na individuálním hřebci. Nicméně, u plodných hřebců se spermatem dobré kvality, jejichž spermie mají dobrou odolnost vůči procesům mražení i následného rozmrazení, by mohly být počty spermií v dávkách nižší. Ve studii Sieme et al. (2004) například autoři použili pouze 10 % z doporučeného počtu spermií. Ve shrnutí výsledků práce autoři zdůrazňují, že podle jejich výsledků jsou důležité faktory pro úspěšnost AI typ semene (čerstvé nebo mražené), zda je klisna inseminována v první říjí či až při některé z následujících říjí po porodu a vztah mezi inseminační technikou, semenem a reprodukční historií klisny. Při hodnocení jednotlivých inseminačních technik, historie klisny, hřebce a parametrů spermatu (počet spermií, objem dávky, koncentrace spermií) nebyl zjištěn významný vliv na míru zabřeznutí klisen.

Přirozená plemenitba

Katila et al. (2010) ve své práci shrnují hlavní poznatky týkající se přirozené plemenitby. Za předpokladu adekvátní výživy (Keiper et Houpt, 1984) má volná plemenitba na pastvině vysokou míru ohřebení klisen (Hugason et al., 1985; Bristol, 1987) v porovnání s připouštěním z ruky nebo AI. Nicméně u anglických plnokrevníků, u kterých je jedinou používanou metodou připouštění z ruky, jsou výsledky lepší než u ostatních plemen, u

kterých se používá AI. Při porovnání AI čerstvým semenem ihned po odběru a připouštění z ruky má však AI vyšší míru ohřebení klisen než připouštění z ruky (Langlois et Blouin, 2004).

3 Závěr

V této bakalářské práci byly popsány faktory, které mohou ovlivňovat reprodukci koní. Výsledky studií výše zmíněných autorů se shodují na tom, že nejdůležitějšími faktory, které ovlivňují reprodukci koní jsou plemeno, věk, tělesná kondice klisny, reprodukční status, reprodukční metoda a její zvládnutí v praxi včetně případného odběru spermatu a jeho kvality a celkový management koní. Dále se autoři shodují na tom, že výživa a sociální prostředí ustájených koní, které úzce souvisí s celkovým managementem chovných klisen i hřebců a jejich pracovní zátěží popřípadě závoděním, nejsou ideální, a proto doporučují chovatelům, aby se na běžné zažité praktiky podívali z nové perspektivy, protože podle vědecké literatury a jejích poznatků vyplývá, že se zde dá mnohé zlepšit. Naopak již zmíněné plemeno, věk, tělesná kondice, reprodukční status a dále fotoperioda, klimatické podmínky, environmentální teplota a odběr spermatu jsou veličinami, se kterými se chovatelé naučili docela dobře pracovat a nepůsobí jim velké problémy a tedy ani ztráty.

4 **Použitá literatura:**

1. Reece, W. O. 2009. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Grada. str. 480. ISBN: 9788024732824.
2. England, G. C. W. 2005. Fertility and Obstetrics in the Horse. Oxford, UK; Ames, Iowa: Blackwell Publishing. p. 307. ISBN: 1405120959.
3. Aurich, C. 2011. Reproductive Cycles of Horses. *Animal Reproduction Science*. 124 (3). 220-228.
4. Irvine, C. H. G., Alexander, S. L. 1998. Managing the Mare for Optimal Fertility. *Journal of Equine Science*. 9 (3). 83-87.
5. Irvine, C. H. G., Alexander, S. L., Turner, J. E., 1994. Differential Effects of Graded Doses of Naloxone on the Reproductive and Adrenal Axes in Seasonally Anestrous Mares. *Endocrine*. 2 (10). 913–919.
6. Irvine, C. H. G., Alexander, S. L. 1993. Secretory Patterns and Rates of Gonadotropin-Releasing-Hormone, Follicle-Stimulating-Hormone, and Luteinizing-Hormone Revealed by Intensive Sampling of Pituitary Venous-Blood in the Luteal Phase Mare. *Endocrinology*. 132 (1). 212-218.
7. Urwin, V. E., Allen, W. R. 1983. Follicle Stimulating Hormone, Luteinising Hormone and Progesteron concentrations in the Blood of Thoroughbred Mares Exhibiting Single and Twin Ovulations. *Equine Veterinary Journal*. 15 (4). 325-329.
8. Evans, J. 1992. *Horse Breeding and Management*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. B.V. p. 417. ISBN: 0444882820.
9. Donadeu, F. X., Watson, E. D. 2007. Seasonal Changes in Ovarian Activity: Lessons Learnt from the Horse. *Animal Reproduction Science*. 100 (3-4). 225-42.
10. Ginther, O. J, Gastal, E. L., Gastal, M. O., Beg, M. A. 2004. Seasonal Influence on Equine Follicle Dynamics. *Animal Reproduction*. 1 (1). 31-44.
11. Palmer, E. 1978. Control of the Oestrous Cycle of the Mare. *Journal of Reproduction and Fertility*. 54 (2). 495-505.
12. Katila, T., Nivola, K., Reilas, T., Sairanen, J., Peltonen, T., Virtala, A.-M. 2010. Factors Affecting Reproductive Performance of Horses. *Pferdeheilkunde*. 26 (1). 6–9.

13. Ellis, A., Boekhoff, M., Bailoni, L., Mantovani, R. 2006. Nutrition and equine fertility. In: Miraglia, N., Martin-Rosset, W. (Eds). Nutrition and feeding of the broodmare. EAAP Scientific Series. 120. 341-366.
14. Vecchi, I., Sabbioni, A., Bigliardi, E., Morini, G., Ferrari, L., Di Ciommo, F., Superchi, P., Parmigiani, E. 2010. Relationship between Body Fat and Body Condition Score and Their Effects on Estrous Cycles of the Standardbred Maiden Mare. *Veterinary Research Communications. Supplement.* 34 (S1). 41-46.
15. Dugdale, A. H., Curtis, G. C., Cripps, P. J., Harris, P. A., Argo, C. M. 2011. Effects of Season and Body Condition on Appetite, Body Mass and Body Composition in Ad Libitum Fed Pony Mares. *Veterinary Journal.* 190 (3). 329–337.
16. Miraglia, N., Saastamoinen, M., Martin-Rosset, W. 2006. Role of Pastures in Mares and Foal Management in Europe. In: Miraglia, N., Martin-Rosset, W. (Eds.) Nutrition and Feeding of the Broodmare. EAAP Scientific Series. 120. 279–297.
17. Tully, R., Chaba, G. N., Davies, J. 2003. The Reproductive Anatomy of the Mare. In: Morel M. C. G. D. (Ed). *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management.* 2nd ed. CAB International. London. 1–15. ISBN: 0851996434.
18. Gottschalk, M., Sieme, H., Martinsson, G., Distl, O. 2016. Analysis of Breed Effects on Semen Traits in Light Horse, Warmblood, and Draught Horse Breeds. *Theriogenology.* 85 (8). 1275-1381.
19. Pickett, B., Voss, J., Bowen, R., Squires, E., McKinnon, A. 1988. Seminal characteristics and total scrotal width (TSW) of normal and abnormal stallions. *Proceedings of the annual convention of the American Association of Equine Practitioners (USA).* (33). 487-518.
20. Dowsett, K. F., Knott, L. M. 1996. The influence of age and breed on stallion semen. *Theriogenology.* 46 (3). 397-412.
21. Setchell, B., Maddocks, S., Brooks, D. 2006. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. In: Knobil, E., Neill, J. D. (Eds). *Knobil and Neill's physiology of reproduction.* 3rd edition. St.Louis, MO.: Elsevier Academic Press. USA. 771-825. ISBN: 9780125154017.
22. Stout, T., Colenbrander, B. 2011. Reproductive parameters of draft horse, friesian and warmblood stallions. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., Varner, V.

- V., (Eds). Equine reproduction. Second edition. Wiley-Blackwell. Singapore. 1362-1366. ISBN: 9780813819716.
23. Aurich, C., Achmann, R., Aurich, J. E. 2003. Semen Parameters and Level of Microsatellite Heterozygosity in Noriker Draught Horse Stallions. *Theriogenology*. 60 (2). 371-278.
 24. Dowsett, K., Pattie, W. 1982. Characteristics and fertility of stallion semen. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement. 32. 1-8.
 25. Labitzke, D., Sieme, H., Martinsson, G., Distl, O. 2013. Analyse fruchtbarkeitssassoziierter Spermaqualitätsparameter bei Hannoveraner Warmbluthengsten. *Züchtungskunde*. 85. 354-366.
 26. Morley, S. A., Murray, J.-A. 2014. Effects of Body Condition Score on the Reproductive Physiology of the Broodmare: A Review. *Journal of Equine Veterinary Science*. 34 (7). 842-852.
 27. Morris, L. H., Allen, W. R. 2002. Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket. *Equine Veterinary Journal*. 34 (1). 51-60.
 28. Madill, S. 2002. Reproductive considerations: mare and stallion. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practise*. 18 (3). 591–619.
 29. Sharma, S., Morel, M. C. G. D., Dhalival, G. S. 2010a. Factors affecting the incidence of postpartum oestrus, ovarian activity and reproductive performance in Thoroughbred mares at foal heat under Indian subtropical condotions. *Theriogenology*. 74 (1). 90-99.
 30. Fitzgerald, B. P., McManus, C. J. 2000. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. *Biology of Reproduction*. 63 (1). 335–340.
 31. Cavinder, C. A., Vogelsang, M. M., Gibbs, P. G., Forrest, D. W., Schmitz, D. 2009. Variances in reproductive efficiency of mares in fat and moderate body conditions following parturition. *The Professional Animal Scientist*. 25 (3). 250–255.
 32. Pycock J. 2006. How to maximize the chances of breeding successfully from the older maiden mare. *American Association of Equine Practitioners*. 52.
 33. Shideler, R., McChesney, A. 1982. Relationship of endometrial biopsy and other management factors on fertility of broodmares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2 (1). 5–10.

34. Morel, M. C., Newcombe, J. R., Hayward, K. 2010. Factors affecting pre-ovulatory follicle diameter in the mare: the effect of mare age, season and presence of other ovulatory follicles (multiple ovulation). *Theriogenology*. 74 (7). 1241-1247.
35. Amann, R., Thompson, Jr. D., Squires, E., Pickett, B. 1979. Effects of age and frequency of ejaculation on sperm production and extragonadal sperm reserves in stallions. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*. 27. 1-6.
36. Burkholder W. 2000. Use of body condition scores in clinical assessment of the provision of optimal nutrition. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 217 (5). 650–654.
37. National Research Council. 2007. Nutrient requirements of horses. 6th edition. Washington DC: National Academic Press.
38. Vick, M. M., Adams, A. A., Murphy, B. A., Sessions, D. R., Horohov, D. W., Cook, R. F., Shelton, B. J., Fitzgerald, B. P. 2007. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science*. 85 (5). 1144-1155.
39. Gentry, L. R., Thompson, D. L. Jr. 2002. The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *Theriogenology*. 58 (2). 563-566.
40. Waller, C. A., Thompson, D. L., Cartmill, J. A., Storer, W. A., Huff, N. K. 2006. Reproduction in high body condition mares with high versus low leptin concentrations. *Theriogenology*. 66 (4). 923–928.
41. Davidson, K., Potter, G., Greene, L. 1991. Lactation and reproductive performance of mares fed added dietary fat during late gestation and early lactation. *Journal of Equine Veterinary Science*. 11 (2). 111-115.
42. Guillaume, D., Salazar-Ortiz, J., Martin-Rosset, W. 2006. Effects of nutrition level in mare's ovarian activity and in equines' puberty. *Publication – European Association for Animal Production*. 120. 315-339.
43. Henneke, D. R., Potter, G. D., Kreider, J. L. 1984. Body Condition During Pregnancy and Lactation and Reproductive Efficiency of Mares. *Theriogenology*. 21 (6). 897–909.
44. Harris, P. 2008. Hints on nutrition for optimal growth. *Proceedings of the 4th European Equine Nutrition and Health Congress*. 57-80.

45. Ginther, O. J. 1974. Occurrence of Anestrous, Estrus, Diestrus, and Ovulation over a Twelve-Month Period in Mares. *American Journal of Veterinary Research*. 35. 1173–1179.
46. Kubiak, J., Crawford, B., Squires, E. 1987. The influence of energy intake and percentage of body fat on the reproductive performance of nonpregnant mares. *Theriogenology*. 28 (5). 587-598.
47. Bour, B., Palmer, E., Driancourt, M. A. 1985. Stimulation of Ovarian Activity in the Pony Mare during Winter Anoestrus. In: Ellendorff, F., Elsaesser, F. (Eds). *Endocrine causes of seasonal and lactational anestrus in farm animals*. Martinus Nijhoff Publisher. Neatherlands. 85-97.
48. Ashworth, C. J., Antipatis, C. 2001. Micronutrient programming of development throughout gestation. *Reproduction*. 122 (4). 527–535.
49. Cavinder, C. A., Vogelsang, M. M., Gibbs, P G, Forrest, D. W., Schmitz, D. 2009. Variances in reproductive efficiency of mares in fat and moderate body conditions following parturition. *The Professional Animal Scientist*. 25. 250-255.
50. Lawrence, L., DiPietro, J., Ewert, K. 1992. Changes in body weight and condition of gestation mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 12 (6). 355-358.
51. Satterfield, M., Coverdale, J., Wu, G. 2010. Review of fetal programming: implications to horse health. In: *American Association of Equine Practitioners (Eds). Proceedings of the 56th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. USA. 56. 207-214.
52. Fitzgerald, B. P., Ready, S. E., Sessions, D., Vick, M. M., Murphy, B. 2003. Obesity disrupts the duration of the estous cycle in the mare. *Journal of Animal Science*. Supplement. 81 (S1) 102.
53. Nagy, P., Huszenicza, G., Juhasz, J., Kulcsar, M., Solti, L., Reiczigel, J., Abavary, K. 1998. Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of postpartum mares under farm conditions. *Theriogenology*. 50 (7). 1109-1019.
54. Harris, P. 2003. Feeding the pregnant and lactating mare. *Equine Veterinary Educadion*. Supplement. 15 (S6). 38-44.
55. Pagan, J., Hintz, H. F. 1986. Equine energetics. I. Relationship between body weight and energy requirements in horses. *Journal of Animal Science*. 63. 815-821.

56. Kainer, R. A. 2011. Internal Reproductive Anatomy. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., Varner, V. V., (Eds). Equine reproduction. Second edition. Wiley-Blackwell. Singapore. 1582-1600. ISBN: 9780813819716
57. Amann, R. P. 2011a. Functional anatomy of the adult male. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., Varner, V. V., (Eds). Equine reproduction. Second edition. Wiley-Blackwell. Singapore. 867-880. ISBN: 9780813819716
58. Amann, R. P. 2011b. Physiology and Endocrinology. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., Varner, V. V., (Eds). Equine reproduction. Second edition. Wiley-Blackwell. Singapore. 1362-1366. ISBN: 9780813819716.
59. McCue, P. M., Scoggin, C. F., Lindholm, A. R. G. 2011. Estrus. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., Varner, V. V., (Eds). Equine reproduction. Second edition. Wiley-Blackwell. Singapore. 1716-1727. ISBN: 9780813819716.
60. Brinkerhoff, J. M., Love, C. C., Thompson, J. A., Blodgett, G., Teague, S. R., Varner, D. D. 2010. Influence of mare age, pre-breeding mare status, breeding method, and stallion on first cycle pregnancy rates on a large commercial breeding farm. *Animal Reproduction Science*. 121 (1-2). 159.
61. Heidler, B., Aurich, J. E., Pohl, W., Aurich, C. 2004. Body Weight of Mares and Foals, Estrous Cycles and Plasma Glucose Concentration in Lactating and Non-lactating Lipizzaner Mares. *Theriogenology*. 61. 883–893.
62. Gerlach, T., Aurich, J. E. 2000. Regulation of Seasonal Reproductive Activity in the Stallion, Ram and Hamster. *Animal Reproduction Science*. 58 (3-4). 197-213.
63. Robinson, J. E., Karsch, F. J. 1987. Photoperiodic History and a Changing Melatonin Pattern Can Determine the Neuroendocrine Response of the Ewe to Daylength. *Journal of Reproduction and Fertility*. 80. 159-165.
64. Gorman, M. R., Zucker, I. 1995. Seasonal Adaptation of Siberian Hamsters: II. Pattern of change in the day length Controls Annual Testicular and Body Weight rhythms. *Biology of Reproduction*. 53. 116-125.
65. Nagy, P., Guillaume, D., Daels, P. 2000. Seasonality in Mares. *Animal Reproduction Science*. Supplement. 60 (S1). 245-262.
66. Guillaume, D., Salazar – Ortiz, J., Menassol, J. B., Malpoux, B., Chemineau, P. 2010. Photoperiod, metabolism and reproduction: Advantage of the equine model. *Bulletin de l'academie veterinaire de France*. 163 (1). 5-18.

67. Sharma, S., Dhaliwal, G. S., Dadarwal, D. 2010b. Reproductive Efficiency of Thoroughbred Mares under Indian Subtropical Conditions: A Retrospective Survey over 7 years. *Animal Reproduction Science*. 117 (3). 241-248.
68. Guerin, M. V., Wang, X. J. 1994. Environmental Temperature has an Influence on Timing of the First Ovulation of Seasonal Estrus in the Mare. *Theriogenology*. 42 (6). 1053-1060.
69. Koskinen, E. 1991. Postpartum ovarian activity in Finnhorse mares with special reference to seasonal effects. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 32. 313-318.
70. Malschitzky, E. 1998. Efeito de diferentes tratamentos pós-cobertura na fertilidade de éguas Puro Sangue de Corrida. Porto Alegre: Faculdade de Veterinária – UFRGS. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). 81.
71. Winter, G. H. Z., Rubin, M. I. B., De La Corte, F. D., Silva, C. A. M. 2007. Gestation length and first postpartum ovulation of Criollo mares on a stud farm in Southern Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science*. 27. 531-534.
72. Panasophonkul, S., Lohachit, C., Sirivaidyapong, S. 2007. Postpartum ovarian activity and serum estradiol-17beta level in Thai crossbred native mares. *Reproduction in Domestic Animals*. 42. 6-10.
73. Blanchard, T. L., Thompson, J. A., Brinsko, S. P., Stich, K. L., Wendt, K. M., Varner, D. D., Rigby, S. L. 2004. Mating mares on foal heat: a 5 year retrospective study. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners*. 50. 1496-1504.
74. Caldas, M. C. S., Oliveria, F. R. A. P., Rosa-e-silva, A. A. M. 1994. Chorobiological characterization of the first estrous cycle in Brasileiro de Hipismo mares during the postpartum period. *Theriogenology*. 42. 803-813.
75. Benhajali, H., Ezzaouia, M., Lunel, C., Charfi, F., Hausberger, M. 2013. Temporal Feeding Pattern May Influence Reproduction Efficiency, the Example of Breeding Mares. *PLoS ONE*. 8 (9).
76. Boyd, L. E., Carbonaro, D. A., Houpt, K. A. 1988. The 24-hour time budget of Przewalski horses. *Applied Animal Behavioural Science*. 21. 5-17.
77. Rich, G. A., Breuer, L. H. 2002. Recent developments in equine nutrition with farm and clinic applications. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners*. 48. 24-40.

78. Berger, A., Scheibe, K. M., Eichhorn, K., Scheibe, A., Streich, W. J. 1999. Diurnal and ultradian rhythms of behaviour in a mare group of Przewalski horse (*Equus ferus przewalskii*), measured through one year under semireserve conditions. *Applied Animal Behaviour Science*. 64. 1-17.
79. Guillaume, D. 2007. Mais que fait donc votre cheval quand vous n'êtes pas avec lui. Ou les rythmes journaliers de votre cher souci. *Equ'idée*. 59. 52-55.
80. Waring, G. H. 2003. *Horse behaviour*, Second edition. Norwich New York: Noyes Publications / William Andrew Publishing. p. 442.
81. Huntington, P., Owens, E., Crandell, K., Pagan, J. 2005. Nutritional management of mares – the foundation of a strong skeleton. In: Pagan, J. D. (Ed.). *Advances in equine nutrition III*. Nottingham University Press. 193-218.
82. Douglas, R. H., Ginther, O. J. 1875. Development of the equine foetus and placenta. *Journal of Reproduction and Fertility*. 23. 503-505.
83. Bergero, D., Ventorp, M., Vervuert, I., Miraglia, N., Trillaud-Geyl, C., Valle, E. 2006. Overview practices in the field in Europe: rationing and prevention of nutritional related problems in the mares. In: Miraglia, N., Martin-Rosset, W. (Eds.). *Nutrition and feeding of the broodmare*. Elsevier. Amsterdam. 263-277.
84. Cassil, B., Jackson, S., Lawrence, L. 2009. Body weight changes in pregnant mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 29 (5). 400-401.
85. Martin-Rosset, W., Vermorel, M. 1991. Maintenance energy requirement variations determined by indirect calorimetry and feeding trials in light horses. *Journal of Veterinary Science*. 11 (1). 42-45.
86. Johnson, P. J., Wiedmeyer, C. E., Messer, N. T., Ganjam, V. K. 2009. Medical implications of obesity in horses-lessons for human obesity. *Journal of Diabetes Science and Technology*. 3 (1). 163-174.
87. Becvarova, I., Buechner-Maxwell, V. 2012. Feeding the foal for immediate and long-term health. *Equine Veterinary Journal*. 44. 149-156.
88. Tauson, A., Harris, P., Coenen, M. 2006. Intrauterine nutrition: effect on subsequent health. In: Miraglia, N., Martin-Rosset, W. (Eds.). *Nutrition and feeding of the broodmare*. Elsevier. Amsterdam. 367-386.
89. Salazar-Ortiz, J., Camous, S., Briant, C., Lardic, L., Chesneau, D., Guillaume, D. 2011. Effects of nutritional cues on duration of the winter anovulatory phase and on

- associated hormone levels in adult female Welsh pony horses (*Equus caballus*). *Reproductive Biology and Endocrinology*. 9 (1). 130.
90. Ginther, O. J. 1992. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects. Equiservices. Cross Plains. Wisconsin.
 91. Godoi, D. B., Gastal, E. L., Gastal, M. O. 2002. A comparative study of follicular dynamics between lactating and non-lactating mares: effect of the body condition. *Theriogenology*. 58. 553-556.
 92. Van Niekerk, F. E., van Niekerk, C. H. 1997b. The effect of dietary protein on reproduction in the mare. III. Ovarian and uterine changes during the anovulatory, transitional and ovulatory period in the nonpregnant mare. *Journal of the South African Veterinary Association*. 68 (3). 86-92.
 93. Palmer, E., Driancourt, M. A. 1983. Some interactions of season of foaling, photoperiod and ovarian activity in the equine. *Livest. Prod. Sci.* 10. 197–210.
 94. Sharp, D., Ginther, O. 1975. Stimulation of follicular activity and estrous behaviour in anestrus mares with light and temperature. *Journal of Animal Science*. 41. 1368-1372.
 95. Van Niekerk, C. H., van Heerden, J. S. 1972. Nutrition and ovarian activity of mares early in the breeding season. *Journal of the South African Veterinary Medical Association*. 43. 351–360.
 96. Van Niekerk, F. E., van Niekerk, C. H. 1997a. The effect of dietary protein on reproduction in the mare. I. The composition and evaluation of the digestibility of dietary protein from different sources. *Journal of the South African Veterinary Association*. 68 (3). 78-80.
 97. National Research Council. 1989. Nutrient requirements of horses. 5th revised edition. Washington DC: National Academy Press.
 98. Allen, W. R. 1987. Endogenous hormonal control of the mare's oestrus cycle. *Proceedings of the Bain-Fallon Memorial*. 2–13.
 99. Carnevale, E. M., Herment, M. J., Ginther, O. J. 1997. Age and pasture effects on vernal transition in mares. *Theriogenology*. 47 (5). 1009-1018.
 100. Guillaume, D., Duchamp, G., Salazar-Ortiz, J., Nagy, P. 2002. Nutrition influences the winter ovarian inactivity in mares. *Theriogenology*. 58. 593-597.

101. Frape, D. 2010. Feeding the breeding mare, foal and stallion. In: Frape, D. (Ed.). *Equine nutrition and feeding*. 4th edition. Wiley-Blackwell. 180-203.
102. Fowden, A. L., Comline, R. S., Silver, M. 1984. Insulin secretion and carbohydrate metabolism during pregnancy in the mare. *Equine Veterinary Journal*. 16 (4). 239-246.
103. Contri, A., De Amicis, I., Molinari, A., Faustini, M., Gramenzi, A., Robbe, D., Carluccio, A. 2011. Effect of dietary antioxidant supplementation on fresh semen quality in stallion. *Theriogenology*. 75 (7). 1319-1326.
104. Janett, F., Burkhardt, C., Burger, D., Imboden, I., Hässig, M., Thun, R. 2006. Influence of repeated treadmill exercise on quality and freezability of stallion semen. *Therionegology*. 65. 1737-1749.
105. Mortenson, C. J., Choi, Y. H., Hinrichs, K., Ing, N. H., Kraemer, D. C., Vogelsang, S. G., Vogelsang, M. M. 2009. Embryo recovery from exercised mares. *Animal Reproduction Science*. 110. 237-244.
106. Sairanen, J., Katila, T., Virtala, A. - M., Ojala, M. 2011. Effects of Racing on Equine Fertility. *Animal Reproduction Science*. 124 (1). 73-84.
107. Sairanen, J., Nivola, K., Katila, T., Virtala, A. - M., Ojala, M. 2009. Effect of inbreeding and other genetic components on equine fertility. *Animal*. 3. 1662-1672.
108. Koskinen, E., Andersson, M., Katila, T. 1997a. Effect of 19-norandrosteronololylaurate on testicular growth in colts. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 28. 51-57.
109. Koskinen, E., Martila, P., Katila, T. 1997b. Effect of 19-norandrosteronololylaurate on semen characteristics of colts. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 38. 41-50.
110. Squires, E. L., Berndtson, W. E., Hoyer, J. H., Pickett, B. W., Wallach, R. 1981. Restoration of reproductive capacity of stallions after suppression with exogenous testosterone. *Journal of Animal Science*. 53. 1351-1359.
111. Nostell, K., Funkqvist, P., Nyman, G., Essen-Gustavsson, B., Connyson, M., Muhonem, S., Jansson, A. 2006. The physiological responses to simulated race tests on a track and on a treadmill in Standardbred trotters. *Equine Veterinary Journal*. Supplement. 36. 123-127.

112. Dinger, J. E., Noiles, E. E., Hoagland, T. A. 1986. Effect of controlled exercise on semen characteristics in two-year-old stallions. *Theriogenology*. 25. 525-535.
113. Freidman, R., Scott, M., Heath, S. E., Hughes, J. P., Deals, P. F., Tran, T. Q. 1991. The effect of increase testicular temperature on spermatogenesis in the stallion. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*. 44. 127-134.
114. Staempfli, S., Janett, F., Burger, D., Kündig, H., Imboden, I., Hässig, M., Thun, R. 2006. Effect of exercise and suspensory on scrotal surface temperature in the stallion. *Theriogenology*. 66. 2120-2126.
115. Sieme, H., Klug, E., Arras, N., Weinrich, S. 2000. Factors associated with semen collection method and its influence on seminal parameters and fertility of stallions in AI programs. In: Russel, D. *Proceedings of the Advanced Current Topics in Stallion Veterinary Practise. Havemeyer Foundation Workshop. Krakow. Poland*. 46-47.
116. Magistrini, M., Lindeberg, H., Koskinen, E., Beau, P., Seguin, F. 2000. Biophysical and ¹H magnetic resonance spectroscopy characteristics of fractionated stallion ejaculates. *Journal of Reproduction and Fertility*. 56. 101-110.
117. Pickett, B. W., Sullivan, J., Byers, W. W., Remmenga, E. E. 1975. Effect of centrifugation and seminal plasma on motility and fertility of stallion and bull spermatozoa. *Fertility and Sterility*. 26. 167-174.
118. Sieme, H., Echte, A., Klug, E. 2002. Effect of frequency and interval of semen collection on seminal parameters and fertility of stallions. *Theriogenology*. SI. 58 (2-4). 313-316.
119. Sieme, H., Bonk, A., Hamann, H., Klug, E., Katila, T. 2004. Effects of different artificial insemination techniques and sperm doses on fertility of normal mares and mares with abnormal reproductive history. *Theriogenology*. 62. 915-928.
120. Burger, D., Meroni, G., Thomas, S., Sieme, H. 2015b. Effects of ground semen collection on weight bearing on hindquarters, libido, and semen parameters in stallions. *Theriogenology*. 84. 687-692.
121. McDonnell, S. M., Love, C. C., 1990. Manual stimulation collection of semen from stallions.: training time, sexual behaviour and semen. *Theriogenology*. 33. 1201-1210.

122. Schumacher, J., Riddell, M. G., 1986. Collection of stallion semen without a mount. *Theriogenology*. 26. 245-250.
123. Vidament, M., Yvon, M., Couty, I., Arnaud, G., Nguuekam-Feugang, J., Noue, P., Cottron, S., Le Tellier, A., Noel, F., Palmer, E., Magistrini, M. 2001. Advances in cryopreservation of stallion semen in modified INRA 82. *Animal Reproduction Science*. 68. 201-218.
124. Varner, D. D., Blanchard, T. L., Love, C. C., Garcia, M. C., Kenney, R. M. 1987. Effects of semen fractionation and dilution ratio on equine sperm motility parameters. *Theriogenology*. 28. 709-723.
125. Lindeberg, H., Karjalainen, H., Koskinen, E., Katila, T. 1999. Quality of stallion semen obtained by a new semen collection phantom (Equidame®) versus a Missouri® artificial vagina. *Theriogenology*. 51. 1157-1173.
126. Tischner, M., Kosiniak, K. 1992. Techniques for collection and storage of stallion semen with minimal secondary contamination. *Acta Veterinaria Scandinavica*. Supplement. 88. 83-90.
127. Wespi, B., Sieme, H., Wedekind, C., Burger, D. 2014. Exposure to stallion accelerates the onset of mares' cyclicity. *Theriogenology*. 82. 189-194.
128. Burger, D., Wedekind, C., Wespi, B., Imboden, I., Meinecke-Tillmann, S., Sieme, H. 2012. The Potential Effects of Social Interactions on Reproductive Efficiency of Stallions. *Journal of Equine Veterinary Science*. 32. 455-457.
129. Klingel, H. 1975. Social organization and reproduction in equids. *Journal of Reproduction and Fertility*. 23. 7-11.
130. Klingel, H. 1982. Social organization of feral horses. *Journal of Reproduction and Fertility*. 32. 89-95.
131. Keiper, R. R. 1985. *Assateague ponies*. MD: Tidewater Publishers. Centreville.
132. McDonnell, S. M. 2000. Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding. *Animal Reproduction Science*. 60-61. 211-219.
133. Søndergaard, E., Halekoh, U. 2003. Young horses' reactions to humans in relation to handling and social environment. *Applied Animal Behaviour Science*. 84. 265-280.

134. Irrgang, N., Gerken, M. 2010. An investigation of housing conditions, applied management, handling practises and behaviour in purebred Arabian stallions. *Züchtungskunde*. 82. 292–302.
135. Rivera, E., Benjamin, S., Nielsen, B., Shelle, J., Zanella A. J. 2002. Behavioral and physiological responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses. *Applied Animal Behaviour Science*. 78. 235–252.
136. Søndergaard, E., Ladewig, J. 2004. Group housing exerts a positive effect on the behaviour of young horses during training. *Applied Animal Behaviour Science*. 87. 105–118.
137. McDonnell, S. M. 2008. Practical review of self-mutilation in horses. *Animal Reproduction Science*. 107. 219–228.
138. McDonnell, S. M., Murray, S. C. 1995. Bachelor and harem stallion behavior and endokrinology. *Biology of Reproduction Monography*. 1. 577–590.
139. McDonnell, S. M., Haviland, J. C. S. 1995. Agonistic ethogram of the equid bachelor band. *Applied Animal Behaviour Science*. 43. 147–14.
140. McDonnell, S. M., Pozor, M. A. 1995. Accessory sex gland size and character differ between harem and bachelor stallions. In: *Proceedings Second International Workshop on Erection and Ejaculation in Horse and Men*. Mount Joy. PA. 43-44.
141. Squires, E. L. 2009. Changes in Equine reproduction: have they been good or bad for the horse industry? *Journal of Equine Veterinary Science*, 29.
142. Burger, D., Dolivo, G., Marti, E., Sieme, H., Wedekind, C. 2015a. Female histocompatibility complex type affects male testosterone levels and sperm number in the horse. *Proceedings of the Royal Society of London B – Biological Sciences*. 282 (1807). 268–273.
143. Burger, D., Dolivo, G., Wedekind, C. 2015c. Ejaculate Characteristics Depend on Social Environment in the Horse (*Equus caballus*). *PLOS ONE*. 10 (11).
144. Davies, D. M. 2013. *The compatibility gene*. Allen Lane. London. p. 256. ISBN-10: 1846145147.
145. Roberts, C. S., Gosling, S. C. 2003. Genetic similarity and quality interact in mate choice decisions by female mice. *Nature Genetics*. 35. 103-106.

146. Sieme, H., Schäfer, T., Stout, T. A. E., Klug, E., Waberski, D. 2003. The effects of different insemination regimes on fertility in mares. *Theriogenology*. 60. 1153-1164.
147. Woods, J., Gergfelt, D.R., Ginther, O.J. 1990. Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic-loss rate in mares. *Equine Veterinary Journal*. 22. 410-415.
148. Koskinen, E., Lindeberg, H., Kuntsi, H., Ruotsalainen, L., Katila, T. 1990. Fertility of mares after postovulatory insemination. *Journal of Veterinary Medical Association*. 37. 77-80.
149. Katila, T., Celebi, M., Koskinen, E. 1996. Effect of timing of frozen semen insemination on pregnancy rate in mares. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 37. 361-365.
150. Kloppe, L.H., Varner, D. D., Elmore, R. G., Bretzlaff, K. N., Shull, J. W. 1988. Effect of insemination timing on the fertilizing capacity of frozen-thawed equine spermatozoa. *Theriogenology*. 29. 429-439.
151. Darenius, K., Darenius, A. 1991. Fertility data in the horse and the occurrence of pregnancy and neonatal loss in relation to breeding method. *Proceedings of the 12th International Congress of Animal Reproduction and AI, The Hague, The Netherlands*. 1858-1859.
152. Curnow, E. M. 1993. Artificial insemination and mare management. *Equine Veterinary Education*. 5. 10-13.
153. Squires, E. L., Brubaker, J. K., McCue, P. M., Pickett, B. W. 1998. Effect of sperm number and frequency of insemination on fertility of mares inseminated with cooled semen. *Theriogenology*. 49. 743-749.
154. Pickett, B. W., Amann, R. P., McKinnon, A. O., Squires, E. L., Voss, J. L. 1989. Management of the stallion for maximum reproductive efficiency, II. *Colorado State University. Bulletin No. 05. Fort Collins. Colorado*. 73-81.
155. Shore, M. D., MacPherson, M. L., Combes, G. B., Varner, D. D., Blanchard, T. 1998. Fertility comparison between breeding at 24 hours or 24 and 48 hours after collection with cooled equine semen. *Theriogenology*. 50. 693-698.
156. Schiemann, V., Bartmann, C. P., Kirpal, G., Von Rechwitz, A., Schoon, H. A., Klug, E. 2001. Diagnostic hysteroscopy in the mare-uterine contamination and endometrial reaction. *Pferdeheilkunde*. 6. 557-564.

157. Lindsey, A. C., Morris, L. H. A., Allen, W. R., Schenk, J. L., Squires, E. L., Bruemmer, J. E. 2002a. Hysteroscopic insemination of mares with low numbers of nonsorted or flow sorted spermatozoa. *Equine Veterinary Journal*. 34 (2). 128-132.
158. Lindsey, A. C., Varner, D. D., Seidel, G. E., Bruemmer, J. E., Squires, E. L. 2002b. Hysteroscopic or restally guided, deep-uterine insemination of mares with spermatozoa stored 18 h at either 5 or 15 °C prior to flow-cytometric sorting. *Theriogenology*. 58. 659-662.
159. Lindsey, A. C., Schenk, J. L., Graham, J. K., Bruemmer, J. E., Squires, E. L. 2002c. Hysteroscopic insemination of low numbers of flow sorted and frozen-thawed stallion spermatozoa. *Equine Veterinary Journal*. 34 (2). 121-127.
160. Manning, S. T., Bownam, P.A., Fraser, L M., Card, C. L. 1998. Development of hysteroscopic insemination of the uterine E tube in the mare. *Proceedings of Annual Meeting, Society for Theriogenology*. 84-85.
161. Vazquez, J. J., Medina, V., Liu, I. K., Ball, B. A., Scott, M. A. 1998. Nonsurgical uterotubal insemination in the mare. *Proceedings of Annual Meeting, Society for Theriogenology*. 82-83.
162. Morris, L. H. A., Hunter, R. H. F., Allen, W. R. 2000. Hysteroscopic insemination of small numbers of spermatozoa at the uterotubal junction of preovulatory mares. *Journal of Reproduction and Fertility*. 118. 95-100.
163. Johnson, L. A., Welch, G. R. 1999. Sex preselection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology*. 52. 1323-1341.
164. Vidament, M., Dupère, A. M., Julienne, P., Evain, A., Noue, P., Palmer, E. 1997. Equine frozen semen freezability and fertility field results. *Theriogenology*. 48. 905-917.
165. Nie, G. J., Wenzel, J. G. W., Johnson, K. E. 2002. Comparison of pregnancy outcome in mares among methods used to evaluate and select spermatozoa for insemination. *Animal Reproduction Science*. 69. 211-222.
166. Householder, D. D., Pickett, B. W., Woss, J. L., Olar, T. T. 1981. Effect of extender, number of spermatozoa, and hCG on equine fertility. *Journal of Equine Veterinary Science*. 1. 1-9.

167. Keiper, R., Houpt, K. 1984. Reproduction in feral horses: An eight-year study. *American Journal of Veterinary Research*. 45. 991-995.
168. Hugason, K., Arnason, T., Jónmundsson, J. V. 1985. A note on the fertility and some demographical parameters of Iceland toelter horses. *Animal Reproduction Science*. 12. 161-167.
169. Bristol, F. 1987. Fertility of pasture bred mares in synchronized oestrus. *Journal of Reproduction and Fertility*. Supplement. 35. 39-43.
170. Langlois, B., Blouin, C. 2004. Statistical analysis of some factors affecting the number of horse birth in France. *Reproduction, Nutrition, Development*. 44. 583-595.

5 Přílohy

Tabulka 1.: Složení granulí.

Surovina	%
Kukuřice	10.0
Oves	12.0
Pšenice	42.0
Slunečnicové pokruty	8.1
Pokruty z bavlníkových semen	2.5
Krmné vápno	2.5
Sůl	1.6
Vojtěška	11.0
Melasa	10.0
Premix minerálů a vitamínů	0.3

(van Niekerk et van Niekerk, 1997)