

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



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Diplomová práce na téma

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

Mus musculus

Autor práce:

Bc. Lukáš Baumann

Studijní program:

Zootechnika

Obor:

Zájmové chovy zvířat

Vedoucí práce:

prof. Ing. Luděk Bartoš, DrSc.

Garantující pracoviště:

Katedra obecné zootechniky a etologie

Jazyk práce:

Čeština

Prohlášení:

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

V Praze dne:

Podpis:

Poděkování

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

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

Velice všem zmíněným děkuji.

Bc. Lukáš Baumann

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

Souhrn práce

Tato studie se zaměřila na vyhodnocení Bruce efektu jako protistrategii proti infanticidě a role samice při zabránění blokády březosti. Úvodní část je přehled literatury shrnující zjištění infanticidy u druhů savců, u nichž by výskyt Bruce efektu byl logický. Následuje popis Bruce efektu, který byl původně popsán u druhu *Mus musculus*. Bruce efekt byl zkoumán u jiných druhů hlodavců, většinou v laboratorních podmínkách, a také u několika dalších savců.

V našem experimentu jsme použili 3 typy experimentálních podmínek; Typ A měl kontrolovat průběh těhotenství s dvojicí myší, které zůstaly ve stejné kleci, dokud neposkytly své potomky. Typ B měl vyvolat Bruce efekt jako kontrastrategii proti infanticidě, jak bylo navrženo v původní studii M. Bruce. Po zjištění vaginální zátky byla samice vyňata od původního samce a dána do jiné chovné nádoby (klece) obsahující podestýlku od jiného dospělého samce. Typ C byl klíčem k tomuto experimentu. Původní samec byl nahrazen jiným samcem, který zůstal se samicí, dokud se neporodila. Předpokládalo se, že samice v chovných nádobách C přesvědčí cizího samce o otcovství mláďat, a tím zabráni blokáde březosti. Celkový výskyt blokády březosti se však objevil pouze ve třech případech v rámci dvou různých skupin. Nemělo proto smysl použít žádnou statistickou analýzu. Naše hypotéza tak nemohla být ověřena ani vyvrácena. Úspěšnost donošení vrhu u chovných nádob typu B byla 88,9% (9/8 párů) a u typu C 81,8% (9/11 párů). Výsledky jsou diskutovány a byl navržen další směr výzkumu.

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

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

Summary

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

In our experiment we set up 3 types of experimental conditions; Type A was to control course of pregnancy with a pair of mice remaining in the same cage until delivering their progeny. Type B was to induce the Bruce effect as a counter-strategy against infanticide as designed in the original study by M. H. Bruce. After a vaginal plug was detected, the female was taken out from the original male and released into another cage containing bedding from another mature male. Type C was a key in this experiment. The stud male was replaced by another mature male who was left with the female until she gave birth. The assumption was that the female in cages C will mate with the non-stud male by this preventing blockage of pregnancy. However, general incidence of a pregnancy block occurred in three cases within two different groups only. It made no sense to apply any statistical analysis. Thus our hypothesis could not be verified nor falsified. Success full-term litter cage B occurred in 88.9 % (9/8 pairs) and in the C cage type in 81.8 % (9/11 pairs). The results are discussed further investigation was suggested.

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

Obsah práce

1) <u>Úvod</u>	1
2) <u>Cíl práce a hypotéza projektu</u>	2
3) <u>Literární přehled.</u>	3
3.1) Infanticida	3
3.2) Bruce efekt jako kontrastrategie proti infanticidě.	5
3.3) Fyziologie Bruce efektu.	5
3.4) Chemosignály u myši domácí	6
3.5) Objev Margaret H. Bruceové	7
3.5.1) Bruce efekt u dalších druhů hlodavců	7
3.5.2) Bruce efekt u dalších druhů zvířat	11
3.5.3) Bruce efekt u lidí?	15
4) <u>Materiál a metodika</u>	16
4.1) popis jednotlivých typů pokusných klecí	18
5) <u>Výsledky</u>	19
6) <u>Diskuze</u>	26
7) <u>Závěr</u>	29
8) <u>Zdroje</u>	30
9) <u>Přílohy</u>	34
9.1) Seznam obrázků	34
9.2) Seznam tabulek	35
9.3) Použité zdroje publikací	35

1) Úvod

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

2) Cíl práce a hypotéza projektu

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

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

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

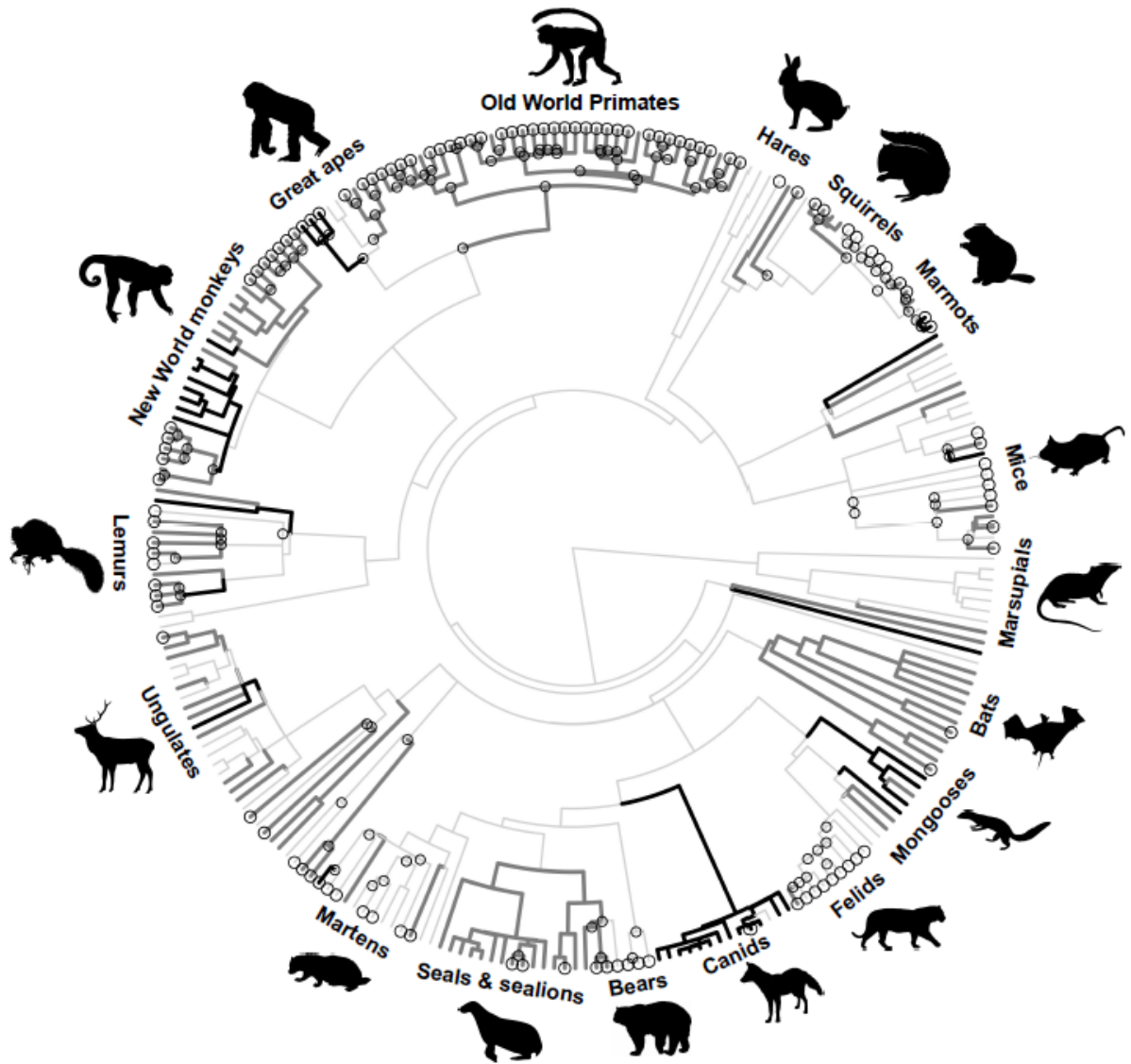
3) Literární přehled

3.1) Infanticida

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

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

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



3.2) Bruce efekt jako kontrastrategie proti infanticidě

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

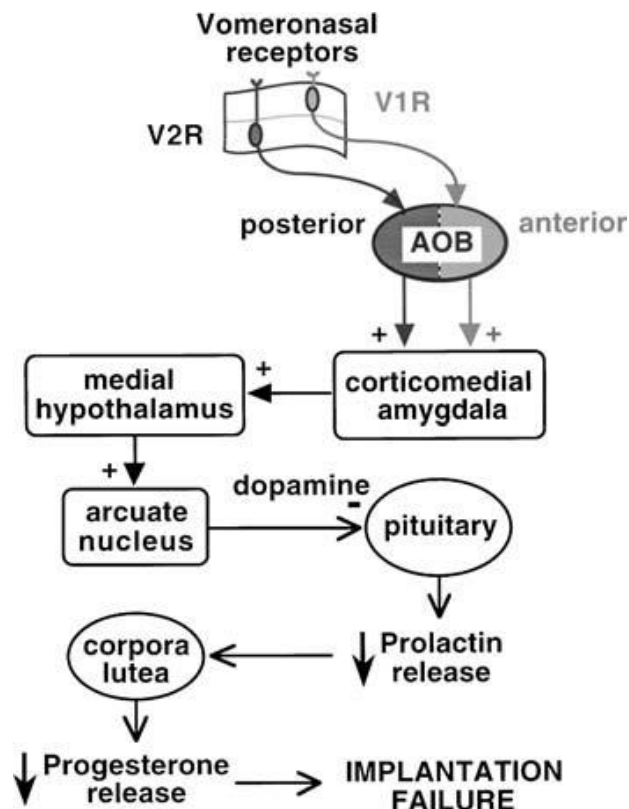
3.3) Fyziologie Bruce efektu

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

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

Obrázek 2: Schéma Bruce efektu

(Brennan et Peele 2003)



3.4) Chemosignály u myši domácí

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

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

3.5) Objev Margaret H. Bruceové

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

3.5.1) Bruce efekt u dalších druhů hlodavců

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

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

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

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

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

Table 7.2 *continued*

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

Table 7.2 *continued*

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

3.5.2) Bruce efekt u dalších druhů zvířat

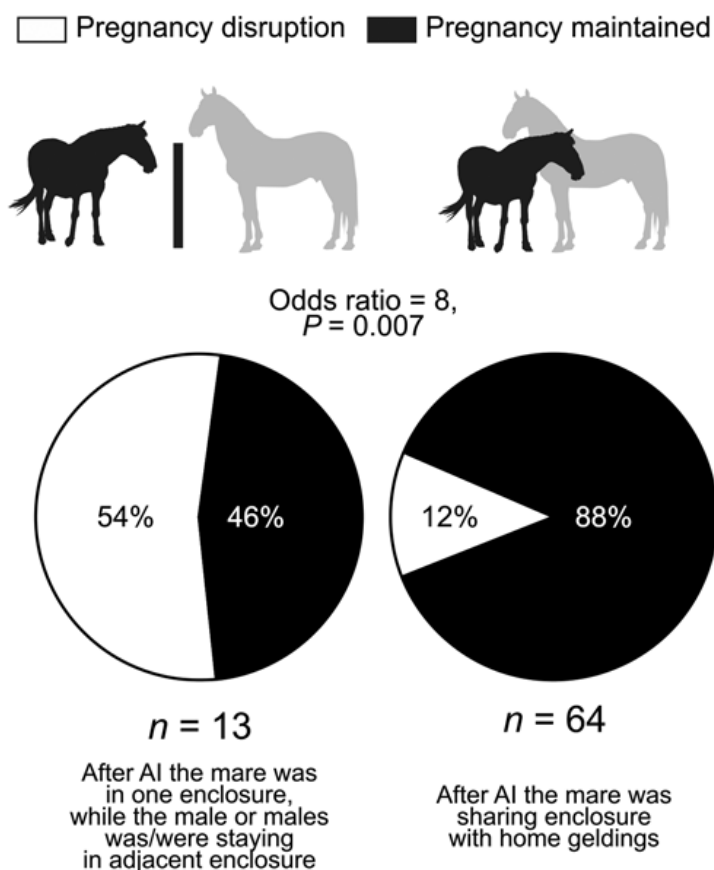
Existují ovšem i další výzkumy tohoto efektu, které byly zkoumány na jiných druzích než jen u hlodavců. Podíváme-li se na již zmíněnou tabulku z knihy *Mammalian reproductive biology* (Bronson 1989) zjistíme, že dle provedených studií do té doby nebyl výskyt Bruce efektu u dalších druhů zaznamenán, ať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

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

Abychom zmínili i české příspěvky k tomuto tématu, stojí za zmínku výzkumy pana Bartoše a kolektivu. Jedná se o nové studie tohoto typu a druhu. První dvě studie se věnovaly koním *Equus caballus* (Bartoš et al. 2011, 2015). Zde byly výsledky posuzované dle toho, byla-li klisna přivezená po oplození cizím samcem ustájená zvlášť od domácího samce či s ním. U klisen, které byly ustájené zvlášť, byl případ blokády březosti v 54 % případů. Naopak, sdílela-li prostor s původním samcem, bylo tento jev pozorován u 12 % (Obr. 4). Autoři tyto

výsledky interpretují jako v podstatě jiný efekt, než je klasický Bruce efekt. Zvýšenou potratovost vysvětlují tím, že březí klisna, která je od místního hřebce či valacha, který není otcem jejího fětu, vnímá tuto situaci jako akutní nebezpečí infanticidy a potratí v důsledku zvýšeného stresu. Naopak, když je ve výběhu s hřebcem či valachem, který není otcem jejího fětu, promiskuitním chováním „přesvědčí“ tohoto hřebce či valacha, že je otcem a tím se vyhne nebezpečí následné infanticidy.

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



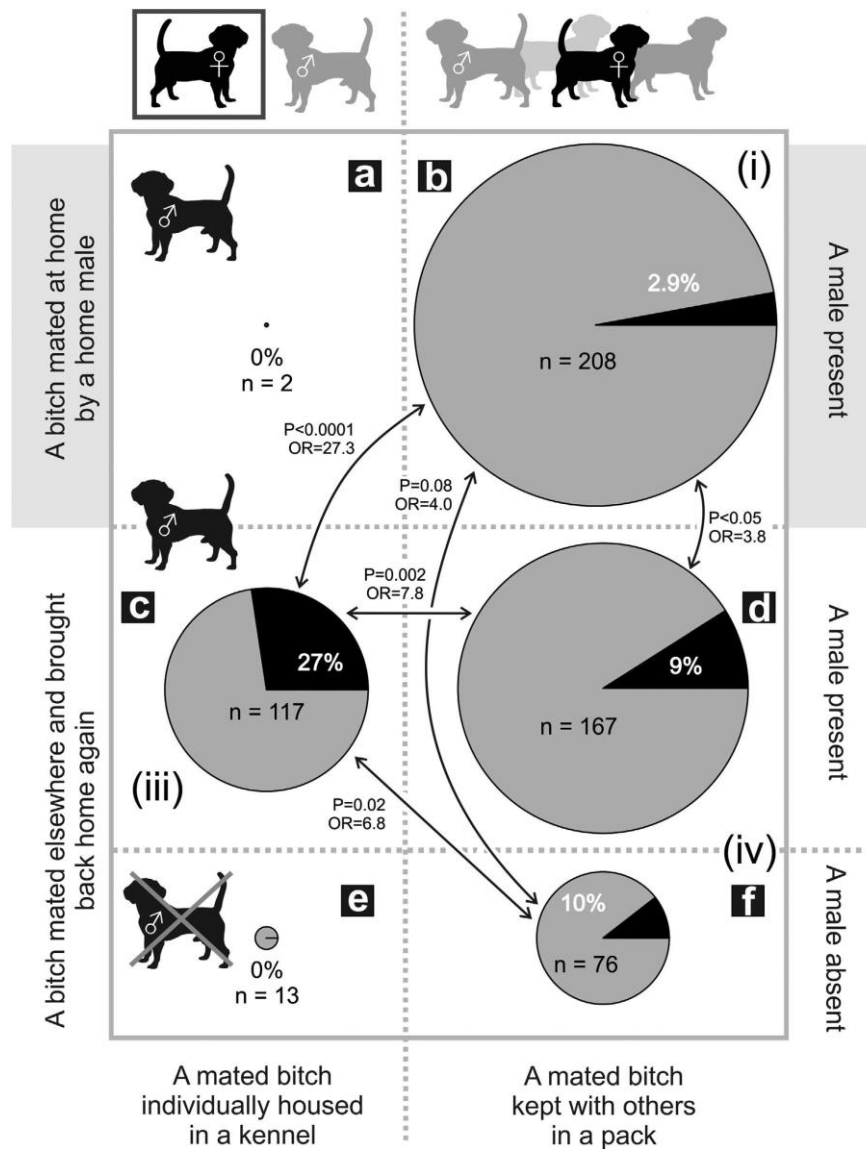
Jako další zmíníme a vyhodnocování dat u krytí psů *Canis lupus familiaris* (Bartoš et al. 2016). Zde výsledky ukázaly, že samice chované v páru se samcem poté jež byly kryté cizím samcem jinde a následně se vrátily do domácnosti, měly blokádu březosti až v 27 % případů. Zajímavým faktem byla četnost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

smečce. Zde, obsahovala-li smečka jak samce, tak samice, byla četnost pouze 10 %, obsahovala-li smečka pouze samice tak 9 % (Obr. 5).

Obrázek 5: Grafické znázornění úspěšnosti donošení vrhu fen

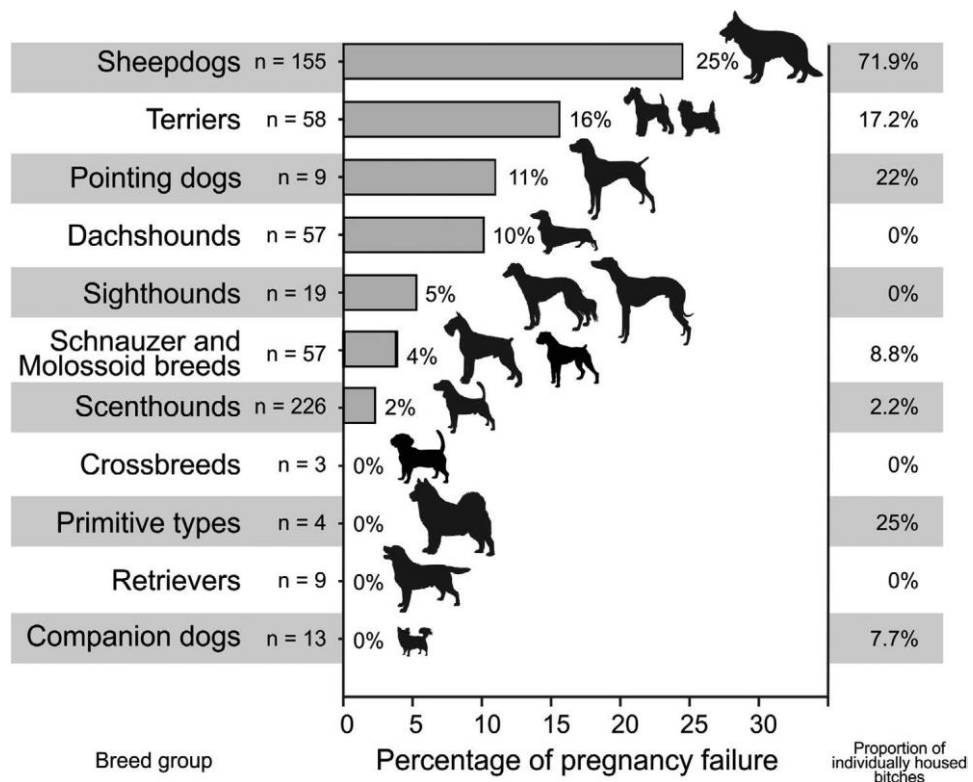
(Bartoš et al. 2016)

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



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

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



3.5.3) Bruce efekt u lidí?

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

4) Materiál a metodika

Jako první nutno podotknout, že se následující metodika od zadání mírně liší. Metodika uvedená v zadání byla podkladem pro projekt pokusů, jež sloužil k oficiálnímu schválení tohoto pokusu. Změny byly až po odevzdání tohoto návrhu. Z hlediska pokusu ale šlo o změny spíše pozitivní. Jedná se především o fakt, že místo zmíněných 5 dnů, byla sledována vaginální zátka, spolehlivý ukazatel páření, jež zvýšil efektivitu měřených dat a tím i použití experimentálních zvířat.

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

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

Data bylo prvně v úmyslu vyhodnotit v programu SAS metodou PROC GLIMMIX, ovšem díky nízké četnosti blokády březosti vyšla data předem zřetelně pro tuto metodu nepoužitelná. Bylo tedy provedeno pouze průměrné statistické vyhodnocení.

Obrázek 7: Projekt pokusů k projektu

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 2.93/2016	
Název projektu pokusů	
Ověření strategie proti blokádě implantaci blastocysty, jako obrana proti pravděpodobné samčí infanticidě (Bruce efekt) a možnosti behaviorální přesvědčení cizího samce o otcovství a udržení březosti u myši domácí <i>Mus musculus</i>	
Doba trvání projektu pokusů	Ríjen/listopad 2016- březen 2017 (5-6 měsíců, či do dosažení požadovaného počtu dat)
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	Bruce efekt, gravidita, populační strategie, kontrastrategie, infanticida
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
	<input type="checkbox"/> základní výzkum
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> translační nebo aplikovaný výzkum
	<input type="checkbox"/> vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
	<input type="checkbox"/> ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	<input type="checkbox"/> zachování druhů
	<input type="checkbox"/> vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	<input type="checkbox"/> trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Cílem tohoto pokusu bude snaha otestovat možnost behaviorální prevence proti Bruce efektu prostřednictvím aktivního proceptivního a receptivního chování samice pářené jedním samcem, ale vystavené přítomnosti samce, který není otcem jejích zárodků. Testovaným měřítkem bude pravděpodobnost selhání reprodukce. Data budou sbírána do programu Excel a vyhodnocena pomocí programu SAS, ve kterém bude použita PROC GLIMMIX pro binární proměnné.	
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Očekávaný přínos je nový poznatek o možnosti prevence proti Bruce efektu, publikovatelný v impaktovaném časopisu. Předpokládaný poznatek může přinést kromě základního poznání aplikovatelnost v chovatelské praxi laboratorních hlodavců. Především v širším slova smyslu přinese poznatky aplikovatelné na další druhy savců, případně člověka. Vedle psů a koní pak přispěje k zobecnění tohoto jevu z pohledu etologie savců.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Mus musculus- alespoň 70 zvířat. 30 samic + 40 samců. 3 kmeny- 30 samic bílých, 20 bílých a 20 samců černých. Kmeny čisté, nekřížené s jinými a jednotné barvy srsti.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Se zvířaty bude zacházeno dle postupů obvyklých pro manipulaci a chov laboratorních zvířat daného modelového druhu a umístění (SPF bariérový chov myší). Zvířatům bude snaha zajistit optimální podmínky k reprodukci včetně snahy zvíře co nejméně rušit a stresovat. Vše dle zásad welfare. Po skončení 1 kola (1 měsíce) pokusu budou usmrcena- dospělá zvířata dislokací krční páteře či pomocí CO ₂ , holata dekapitací. Míra závažnosti v průběhu pokusu bude tedy velmi nízká.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uved'te, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Není možné z hlediska fyziologicky-behaviorální podstaty pokusu.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
V zájmu omezení počtu zvířat budou použita zvířata vyřazená z chovu a předem určená k utracení.	
Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
Se zvířaty bude zacházeno dle zásad welfare, postupů obvyklých pro manipulaci a chov laboratorních zvířat daného modelového druhu a umístění (SPF bariérový chov myší). Zvířatům bude snaha zajistit optimální podmínky k reprodukci včetně snahy zvíře co nejméně rušit či jinak stresovat. O nejšetrnější použití se jedná díky rychlé reprodukci a skladným rozměrům. Ačkoli je pro správné stanovení obecných behaviorálních vzorců nutné sledování stejného jevu u více druhů (proběhlo již u koně a psa), rod <i>Mus musculus</i> je nejlépe vyhovující (i skrze návaznost na pokusy M.H. Bruceové). Zvířata, krom ukončení pokusu- jejich utracení, nenabudou žádné újmy, ba naopak, bude snaha o to, aby se zvířata měla dobře, a tím jsme zajistili vhodné podmínky pro reprodukci.	

4.1) Popis jednotlivých typů pokusných klecí:

Klec typu A

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

Klec typu B

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

Klec typu C

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

5) Výsledky

Výsledky měly být vyhodnoceny v programu SAS (PROC GLIMMIX), ovšem data se ukázala k jakékoliv statistice nedostatečná pro malou četnost blokády březosti, a proto zde žádná statistika uvedena není. Nejprve zmíníme fakt, že z 20 možných případů (klece typu B a C) se Bruce efekt objevil pouze ve 3 případech. Jednou u klece typu B a dvakrát u typu C. Takto nízký výskyt tohoto efektu však nepřináší dostatečnou odpověď na naši hypotézu, že samice v přímém styku s cizím samcem (typ C) donosí vrh původního samce častěji než samice na podestýlce od cizího samce (typ B). Porovnáme-li úspěšnosti donošení, pak u typu C 81,8 % a u typu B 88,9 %. Úspěšnost přípuštění s původním samcem pak v průměru činila 85 %. Z hlediska statistiky je to nevýznamný rozdíl, proto bychom se mohli přiklonit k nulové hypotéze, jež zní, že mezi soubory dat nebude statisticky významný rozdíl. Pro lepší interpretaci výsledků budou nyní představena data dle typu klecí.

Klece typu A

- stálý pár

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

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

Počet donošených vrhů:

- 11/11 (100 %)
- 5x otec z albino kmene K12HT1D
- 6x otec z black kmene C57Bl/6J

Průměrná hmotnost:

- samice kmene ICR(CD1): 30,45 g (ze 4 měřených)
- samec kmene K12HT1D: 26,1 g (z 2 měřených)
- samec kmene C57Bl/6J: 23,25 g (z 2 měřených)

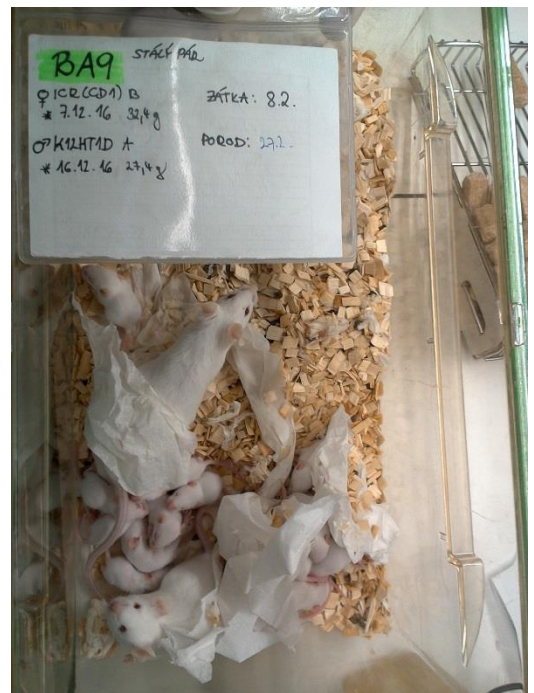
Průměrné stáří:

- samice kmene ICR(CD1): 56 dní
- samec kmene K12HT1D: 56 dní
- samec kmene C57Bl/6J: 61 dní

Průměrný počet potomků:

- se samci K12HT1D: 15 ks
- se samci C57Bl/6J: 13 ks

Obrázek 1: Klec typu A (BA9)

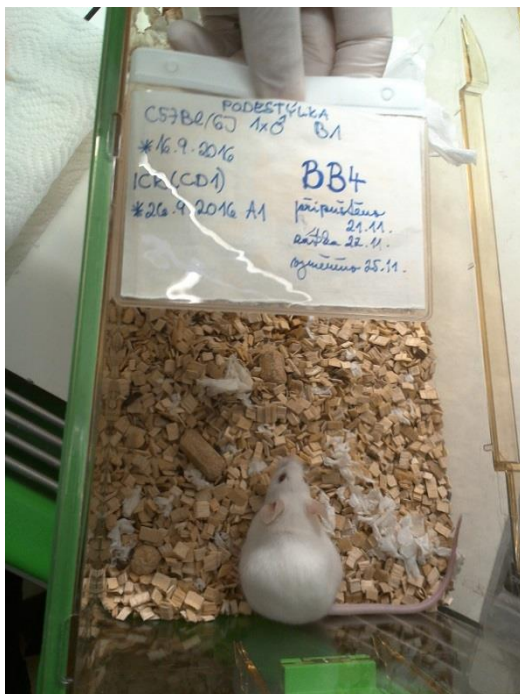


Klece typu B

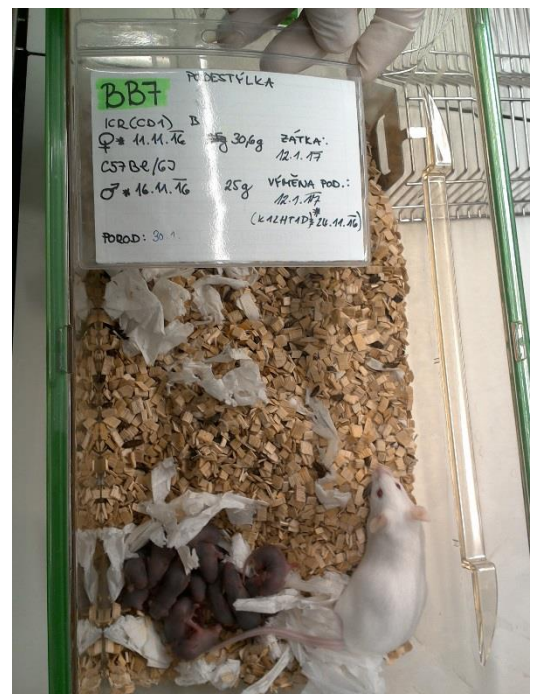
- samice po indikaci zátky dána na podestýlku od cizího samce

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

Samice	Váha	Věk	Samec 1	Váha	Věk	Podestýlka	Váha	Věk	Zátka	Výměna	Porod
ICR(CD1)		51	K12HT1D		54	C57Bl/6J		52	10.11.2016	11.11.2016	29.11.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		61	C57Bl/6J		54	28.11.2016	28.11.2016	17.12.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		60	C57Bl/6J		59	21.11.2016	21.11.2016	10.12.2016
ICR(CD1)		56	C57Bl/6J		61	K12HT1D		67	22.11.2016	25.11.2016	BRUCE EFEKT
ICR(CD1)		54	C57Bl/6J		68	K12HT1D		75	30.11.2016	1.12.2016	20.12.2016
ICR(CD1)	30,6	61	C57Bl/6J	25	54	K12HT1D	25,5	46	12.1.2017	12.1.2017	30.1.2017
ICR(CD1)	32,9	54	C57Bl/6J	27	50	K12HT1D	25,5	72	27.1.2017	27.1.2017	14.2.2017
ICR(CD1)	38	70	C57Bl/6J	27	66	K12HT1D	27,6	52	26.1.2017	26.1.2017	13.2.2017
ICR(CD1)	27	57	K12HT1D	22,4	52	C57Bl/6J	22,7	52	11.2.2017	11.2.2017	1.3.2017



Obrázek 9: Klec typu B (BB4)



Obrázek 10: Klec typu B (BB7)

Počet donošených vrhů:

- 8/9 (88,9 %) – 1x Bruce efekt u přípuštění s kmenem C57Bl/6J
- 4 x otec albino kmene K12HT1D
- 4 x otec kmene black C57Bl/6J

Průměrná hmotnost:

- samice kmene ICR(CD1): 32,1 g (ze 4 měřeních)

Původní samci:

- samci kmene K12HT1D: 22,4 g (pouze 1 měření)
- samci kmene C57Bl/6J: 26,33 g (ze 3 měřeních)

Samci z podestýlky:

- samci kmene K12HT1D: 26,2 g (ze 3 měřeních)
- samci kmene C57Bl/6J: 22,7g (pouze 1 měření)

Průměrné stáří:

- samice kmene ICR(CD1): 56 dní

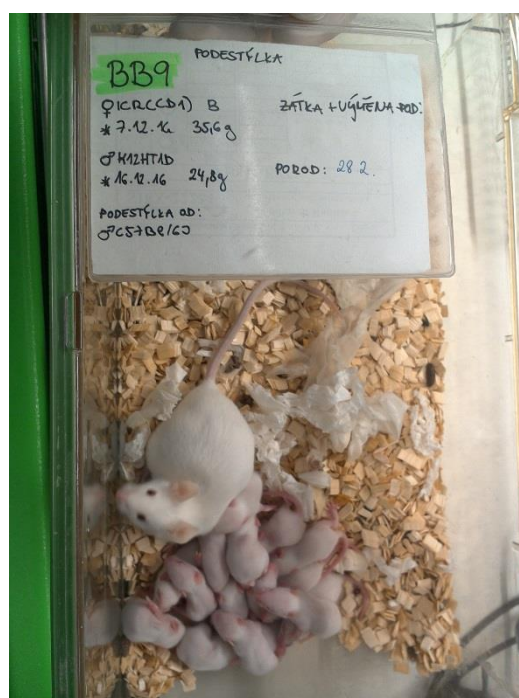
Původní samci:

- samec kmene K12HT1D: 57 dní
- samec kmene C57Bl/6J: 60 dní

Samci z podestýlky:

- samci kmene K12HT1D: 63 dní
- samci kmene C57Bl/6J: 55 dní

Obrázek 11: Klec typu B (BB9)



Obrázek 12: Klec typu B (BB9b)



Zpoždění po indikaci zátky:

- 2x 1 den
- 1x 3 dny

Průměrný počet potomků:

- se samci K12HT1D: 15 ks
- se samci C57Bl/6J: 17 ks

Klece typu C

- samice po indikaci zátky předána k cizímu samci

Samice	Váha	Věk	Samec 1	Váha	Věk	Samec 2	Váha	Věk	Otec	Zátka	Výměna	Porod
ICR(CD1)		51	K12HT1D		54	C57Bl/6J		52	K12HT1D	10.11.2016	11.11.2016	29.11.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		61	C57Bl/6J		59	K12HT1D	16.11.2016	18.11.2016	6.12.2016
ICR(CD1)		50	K12HT1D		60	C57Bl/6J		59	K12HT1D	17.11.2016	18.11.2016	6.12.2016
ICR(CD1)		56	C57Bl/6J		66	K12HT1D		68	C57Bl/6J	28.11.2016	28.11.2016	17.12.2016
ICR(CD1)		54	C57Bl/6J		61	K12HT1D		67	C57Bl/6J	25.11.2016	25.11.2016	12.12.2016
ICR(CD1)		61	C57Bl/6J		68	K12HT1D		75	C57Bl/6J	1.12.2016	2.12.2016	27.12.2016
ICR(CD1)	29,3	59	C57Bl/6J	24,2	54	K12HT1D	25,5	47	C57Bl/6J	1.2.2017	1.2.2017	20.2.2017
ICR(CD1)	30,3	54	C57Bl/6J	26,3	50	K12HT1D	26,5	47	C57Bl/6J	12.1.2017	12.1.2017	30.1.2017
ICR(CD1)	31	70	C57Bl/6J	27	70	K12HT1D	27,6	62	K12HT1D	3.2.2017	3.2.2017	26.2.2017
ICR(CD1)	33,8	62	K12HT1D	26	52	C57Bl/6J	23	57	K12HT1D	11.2.2017	11.2.2017	1.3.2017
ICR(CD1)	25,8	57	K12HT1D	21,8	52	C57Bl/6J	22,7	57	C57Bl/6J	10.2.2017	10.2.2017	6.3.2017

Tabulka 3: Výsledky dat typu klecí C

Počet donošených vrhů:

- 9/11 (81,8 %) od původního samce z toho 1x případ infanticidy holat (s původním samcem albino kmene K12HT1D)
- 2/11 (18,2 %) od samce druhého přpuštěného

Bruce efekt:

- 1x klec s původním samcem black kmene C57Bl/6J (váha 27 g, stáří 70 dní), druhý připuštěný samec albino kmene K12HT1D (váha 27,6 g, stáří 62 dní)
- 1x klec s původním samcem albino kmene K12HT1D (váha 21,8 g, stáří 52 dní), druhý připuštěný samec black kmene C57Bl/6J (váha 22,7 g, stáří 57 dní)

Průměrná hmotnost:

- samice kmene ICR(CD1): 56,73 g

Původní samci:

- samci kmene K12HT1D: 23,9 g (ze 2 měření)
- samci kmene C57Bl/6J: 25,83 g (ze 3 měření)

Samci připuštění po zátce:

- samci kmene K12HT1D: 26,5 g (ze 3 měření)
- samci kmene C57Bl/6J: 22,85 g (ze 2 měření)

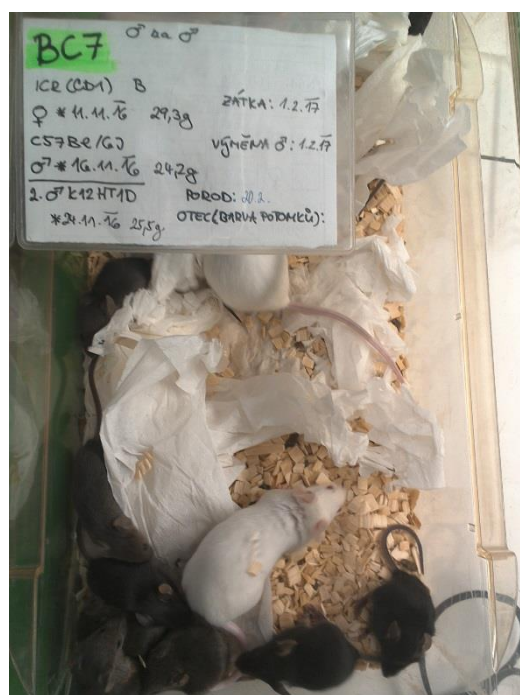
Průměrné stáří:

- samice kmene ICR(CD1): 57 dní

Obrázek 13: Klec typu C (BC4)



Obrázek 14: Klec typu C (BC7)



Původní samci:

- samci kmene K12HT1D: 56 dní
- samci kmene C57Bl/6J: 62 dní

Samci připuštění po zátce:

- samci kmene K12HT1D: 61 dní
- samci kmene C57Bl/6J: 57 dní

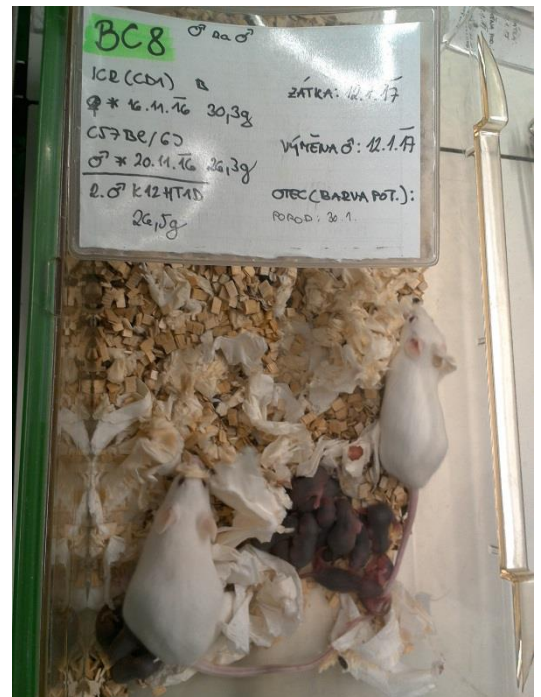
Zpoždění po indikaci zátky:

- 3x 1 den
- 1x 2 dny

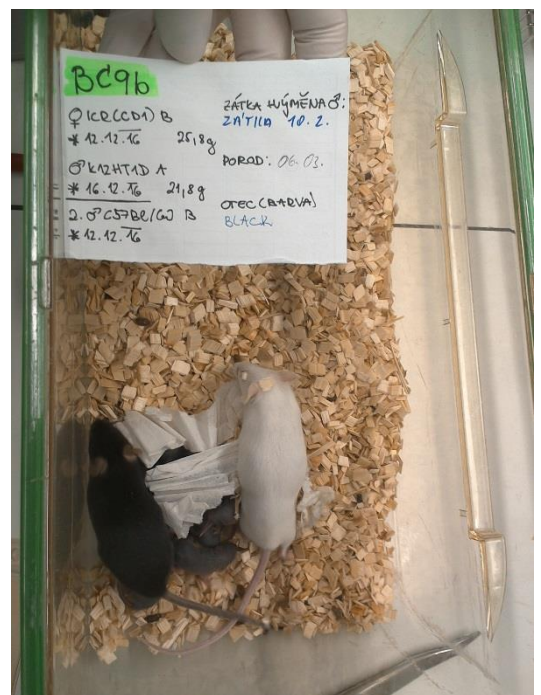
Průměrný počet potomků:

- se samci K12HT1D: 14 ks
- se samci C57Bl/6J: 15 ks

Obrázek 15: Klec typu C (BC8)



Obrázek 16: Klec typu C (BC9b)



6) Diskuze:

V našem pokusu jsme sice nepotvrdili cílenou hypotézu, jež vycházela z myšlenky, že samice, pokud bude mít možnost interakce s cizím samcem, udrží si březost s původním samcem častěji než pouze u vyměněné podestýlky. Jen ojedinělý výskyt blokády reprodukce nedáal možnost jakéhokoliv odpovědného vyhodnocení experimentu. Porovnáme-li tyto výsledky s původní prací Bruceové (Bruce 1959), byla míra zmíněného efektu u inbredního kmene 28 %. Bruceová sice použila jinou metodiku, kdy po indikaci zátky byl pobyt s cizím samcem pouze 24 hodin, avšak i přesto je rozdíl s našimi výsledky 9,8-16,1 %, v průměru na všechny klece bez rozdělení typu o 13 %. Tím jsme nejen nepodpořili naši vlastní hypotézu, ale nedokázali jsme zopakovat ani základní experiment Bruceové (1959). Pravděpodobně nejnižší naměřená čísla u tohoto živočišného druhu a druhu výzkumu (laboratorní). Pravděpodobnou příčinou je fakt, že samice byly vždy těžší než samec. V některých případech nebyl rozdíl velký, ovšem v porovnání samic kmene ICR(CD1) a samců C57Bl/6J byl patrný rozdíl i vizuálně. Tento fakt nebyl zpočátku vnímán jako podstatný, ovšem během měření dat se ukázalo, že data nevychází tak, jak by měla. Z toho důvodu se začalo s měřením váhy u připouštěných jedinců. Bohužel, z časových důvodů nebylo zatím možné sesbírat dostatek dat pro posouzení vztahu mezi váhou a mírou úspěšnosti donošení vrhu, avšak měření dat pokračuje a bude-li dostatek dat, budou použity (i s touto prací) jako základ vědeckého článku. Podíváme-li se na tabulku, vyskytl se Bruce efekt u cizích samců, kteří byli větší nebo nebyli menší než původní. To by mohlo podpořit hypotézu, že má samice schopnost si vybrat partnera ke spáření dle jeho kvalit (Kavaliers et al. 2003). Ovšem teoreticky by i tak měl být procentuální výskyt Bruce efektu vyšší než u námi získaných dat. Spíše se pak nabízí teorie, že blokáda implantace blastocyst (Bruce efekt) dosti závisí na míře stresu u dané samice, a až případně následně na kvalitě jedince. Tento fakt potvrzují studie, které srovnaly laboratorní výzkumy (Hasler et Nalbandov 1974; Stehn et Richmond 1975; Getz et al. 1983; Carter et al. 1981) s výzkumy provedenými v prostředí podobnému přírodnímu (Mahady et Wolff, 2002) u stejného druhu hraboše prérioového *Microtus ochrogaster*. Zde byl také velký rozdíl mezi daty, teoreticky kvůli možnosti využití větší plochy. Zvířata si mohla najít své vlastní místo a vyhnout se tak přímému stresu. Dalšími studii podporující teorii efektu stresu je studie dželád *Theropithecus gelada* (Roberts et al. 2012). Ty spontánně vykazují vysokou míru Bruce efektu, jakmile se vystřídají nejvýše postavení samci. Teoreticky by nemusely přijít ani do styku s močí, avšak sesazení samce je pro ně tak stresovým zážitkem, že spustí vlnu blokády březosti. Je to pravděpodobně příčinou

faktu, že je tento druh typický vysokou infanticidou mláďat ze strany nových samců v čele hierarchie tlupy. Dle uspořádání se jedná o smíšenou skupinu s dominantním samcem. Dle studie z roku 2014 u druhů žijících ve smíšených skupinách se vyskytuje infanticida z 66 % ze 112 druhů savců a 15 sledovaných druhů s dominantním se pak vyskytuje infanticida z 67 % (Dieter et Elise, 2014). Z dalších studií, které podporují tvrzení o hlavním vlivu stresu v tomto efektu, můžeme zmínit práci Bartoše, a to u obou zmíněných druhů. Z výsledků výskytu blokády březosti u psů (Bartoš et al. 2016) vyšly tyto výsledky: u krytých fen cizím psem, které jinak byly chované individuálně v kotci, byla míra selhání reprodukce 27 %, u fen, které byly součástí smíšených smeček pak 10 % a u fen, které byly součástí smeček pouze fen 9 %. Nejvyšší procento blokády tedy nacházíme u fen žijících individuálně v odděleném kotci, tedy ve stresu, že nemohou řešit situaci se samcem, který není otcem jejich štěňat. Tím se selhání reprodukce neliší od situace, kdy kryté feně nehrozí žádné nebezpečí infanticidy, protože není přítomný žádný pes – samec. Tím se popsaná situace liší od klasického Bruce efektu a můžeme hovořit o novém fenoménu (Bartoš et al. 2011, 2015). Z dat výzkumu blokády březosti u koní (Bartoš et al. 2011, 2015) vyšlo, že klisny připuštěné cizím hřebcem, které po navrácení byly oddělené od svého původního hřebce vykazovaly tuto četnost v 54 % případů, na rozdíl od klisen, které po navrácení byly se svým hřebcem pospolu. Interpretace je stejná jako v případě studie na psech (Bartoš et al. 2016). Výsledky podobných výzkumů vycházejí podobně, jako například u laboratorních pokusů výše zmíněného hraboše prériového, ovšem změní-li se metodika pokusu, mají tendenci se tato data lišit, ačkoli se jedná o stejný druh. Je tedy možné, že druhy, u kterých nebyl Bruce efekt zaznamenán, jak je zmíněno v literární rešerši například u křečka zlatého (Handelmann et al. 1980, Wang et al. 2010) bude objeven jinou prací s jinou metodikou. Dobrým příkladem pro tuto myšlenku je i výzkum potkana obecného. Všechny výzkumy (Taleisnik et al. 1966; Cooper et Haynes 1967; Vandenberg 1976) naznačovaly, že u tohoto druhu Bruce efekt není. Až v roce 2011 byla ve Vídni učiněna studie, jež Bruce efekt u tohoto druhu potvrdila (Marashi et Rüllicke 2011). Otázkou pro příští výzkumy tedy nebude pravděpodobně, má či nemá-li daný druh blokádu březosti, ale mechanismy, které tento efekt spouštějí. Spíše než zaměření na jeden druh, zaměření na více. Spíše než jedna metodika, metodik několik. Je totiž stále mnoho neznámých, jež mají za následek variabilitu tohoto efektu, bez nutné variability pokusů zůstanou neznámé v rovnici stále neznámé. Bude také nutno sjednotit poznatky

fyziologické a behaviorální. Už nyní se z hlediska fyziologie Bruce efektu hovoří o vlivu noradrenalinu, stresového hormonu. Jeho vliv pro vznik pachové paměti popsal již v roce 1995 pan Brennan et al. (1995), a avšak jeho přesná funkce zatím není známa, je vidět, že výzkum jde pravděpodobně pomalu dobrým směrem a jednotlivé dílky do sebe, po několika desítkách let od objevu tohoto efektu, začínají zapadat. Bude ovšem nutné vymezit Bruce efekt z hlediska fyziologie. Primárně se totiž hovoří o vlivu moči a látek v ní obsažených, které vyvolají v mozku kaskádovitou reakci, která končí znemožněním implantace fetů na stěnu děložního endometria (Brennan et Peele 2003). Bude tedy otázkou fyziologů, zda definovat Bruce efekt jako receptorickou dráhu přes vomeronasální orgán (Bellringer et al. 1980, Monti-Bolch et al. 1998), nebo jako systémovou odpověď organismu na hormony produkované mozkiem. Bruce efekt je tedy tématem široce rozebíraným a populárním, což má i vedlejší efekt. Při studiu literatury byly zjištěny následující informace. V textu značné části studií či prací je Bruce efekt zaměňován s potratem, přičemž z technického hlediska se jedná o blokádu březosti, pouze u koně domácího (Bartoš et al. 2011, 2015) a psa domácího (Bartoš et al. 2016) se jednalo skutečně o přerušení březposti. Další věcí je pak fakt, že je někdy Bruce efektem nazýváno něco, co Bruce efektem není (Greenfield 1968) ani opomeneme-li dilema VNO nebo mozek. To jsou ovšem jen drobné věci za jinak zajímavým, unikátním a komplexním přírodním jevem, jaký Bruce efekt bezesporu je.

7) Závěr

Hypotéza, že v kleci typu C bude menší míra Bruce efektu, díky možnosti samice přesvědčit promiskuitním chováním cizího samce, jež není otcem jejích fetů, o jeho otcovství, oproti kleci typu B, kde je samice přendána po indikaci vaginální zátky na podestýlku od cizího samce, se nepotvrdila. V kleci C byla míra Bruce efektu 18,2 % a v kleci B 11,1 %, v průměru 15 %. V porovnání je toto číslo značně nižší, než u původního výzkumu M. H. Bruce (1959) kde tato míra, byť s jinou metodikou, vyšla 28 % a naše studie zatím nepotvrzuje ani původní Bruce efekt, natož další závislosti na Bruce efekt navazující. Předmětem dalšího zkoumání proto bude v první řadě odhalit, proč v našich podmínkách Bruce efekt nefunguje. Nabízí se například námi nedocenená možnost rozdílů v tělesné hmotnosti, kdy lze předpokládat, že cizí samec, který je menší než samice, nemusí pro samici představovat vážnou hrozbu pro její nenarozená mláďata, při které samice nevyblokuje březost a po porodu mláďata před infanticidními pokusy cizího samce ubrání.

8) Zdroje

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

9) Seznam příloh

9.1) Seznam obrázků

Obrázek 1: Výskyt infanticidy napříč vybranými druhy savců (n=260) (Dieter et Elise 2014)	str. 4
Obrázek 2: Schéma Bruce efektu (Brennan et Peele 2003)	str. 6
Obrázek 3: Seznam druhů studovaných ohledně Bruce efektu (z knihy F. H. Bronson: Mammalian reproductive 1989)	str. 9
Obrázek 4: Úspěšnost zabřeznutí u klisen cizím samcem (Bartoš et al. 2015)	str. 12
Obrázek 5: Grafické znázornění úspěšnosti donošení vrhu fen (Bartoš et al. 2016)	str. 13
Obrázek 6: Hodnoty neúspěšnosti zabřeznutí fen u různých plemen (Bartoš et al. 2016)	str. 14
Obrázek 7: Projekt pokusů k projektu	str. 17
Obrázek 8: Klec typu A (BA9)	str. 20
Obrázek 9: Klec typu B (BB4)	str. 21
Obrázek 10: Klec typu B (BB7)	str. 21
Obrázek 11: Klec typu B (BB9)	str. 22
Obrázek 12: Klec typu B (BB9b)	str. 22
Obrázek 13: Klec typu C (BC4)	str. 24
Obrázek 14: Klec typu C (BC7)	str. 24
Obrázek 15: Klec typu C (BC8)	str. 25
Obrázek 16: Klec typu C (BC9b)	str. 25

9.2) Seznam tabulek

Tabulka 1: Výsledky dat u klecí typu A (Váha- gramy, Věk- dny) . . .	19
Tabulka 2: Výsledky dat u klecí typu B (Váha- gramy, Věk- dny) . . .	21
Tabulka 3: Výsledky dat typu klecí C (Váha- gramy, Věk- dny) . . .	23

9.3) Použité zdroje publikací

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

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