

Česká zemědělská univerzita v Praze

Institut tropů a subtropů

Katedra chovu zvířat a potravinářství v tropech a subtropích



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Institut tropů
a subtropů**

Moderní technologie v chovu a reprodukci velbloudů

Bakalářská práce

Praha 2011

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Tamara Haberová

Vypracovala:

Soňa Kajzrová

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Moderní technologie v chovu a reprodukci velbloudů“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém soupisu literatury.

V Praze dne 7.5.2012

.....
Soňa Kajzrová

Poděkování

Ráda bych poděkovala Ing. Tamaře Haberové, za vedení, poskytování informací a pomoc při realizaci této bakalářské práce. Dále patří můj dík chovatelkám z liberecké zoologické zahrady, za jejich pomoc při odběru vzorků.

Autorský referát

Moderní technologie v chovu a reprodukci velbloudů

V této práci jsem se zabývala rešerší, ve které jsem shrnula nejrůznější metody detekce říje a březosti a jejich využití u velbloudů dvouhrbých. Dále jsem popsala metody připouštění, odběr ejakulátu, metody umělé inseminace, embryotransfer, klonování a křížení velbloudů dvouhrbých. V dalších kapitolách jsem zahrnula sepsání základů reprodukce velbloudů, základní hormonální změny u obou pohlaví, sezónnost, odchov mláďat a krystalizaci slin.

V posledních letech se rozvinuly nové metody v rozmnožování. Umělá inseminace byla použita u velbloudů, avšak většina studií byla provedena na velbloudy dvouhrbé (*Camelus bactrianus*). Technika embryotransferu umožňuje produkovat více potomstva od žádoucích rodičů, avšak jedním z hlavních problémů u embryotransferu je spolehlivá vyhledávací metoda superovulace dárkyň.

V praktické části jsem provedla pokus využití neinvazivní metody krystalizace slin na určení říje či březosti zvířete. V pokusu jsem odebrala 67 vzorků slin čtyřem velbloudům dvouhrbým. Pomocí mikroskopu jsem určila typ krystalizace. Zaznamenány byly všechny typy krystalizace. Z mého pokusu však nevyšel žádný vztah mezi krystalizací a reprodukčním stavem zvířat.

Klíčová slova:

velbloudovití, rozmnožování, říje, embryotransfer, umělá inseminace, období rozmnožování, klonování, krystalizace slin

Author's abstract

Modern technologies in breeding and reproduction of camels

I was engaged in research in this work, in which I summarized a variety of methods for detection of oestrus and pregnancy and the usage in Bactrian camels. In addition, methods of breeding, semen collection, artificial insemination, and embryo transfer, cloning and breeding of Bactrian camels were described. In the next chapters, I have included the basics of reproduction camels, basic hormonal changes in both sexes, seasonality, breeding and saliva crystallization.

New methods of reproduction have developed in the last years. Artificial insemination was used in camels but most studies were performed on the Bactrian camels (*Camelus bactrianus*). The technology of embryo transfer allows us to produce more offspring from desirable parents but one of the main problems of embryo transfer is reliable method for super-ovulation of donors.

In the practical part, I conducted an experiment using non-invasive method of the saliva crystallization to determine animals in heat or pregnancy. In an experiment, 67 saliva samples from four Bactrian camels were collected. I have used a microscope to determine the type of crystallization. All types of crystallization were recorded. I have not discovered any relationship between crystallization and reproductive animals' status in my study.

Key words:

camelidae, reproduction, rut, heat, embryo transfer, artificial insemination, breeding season, cloning, saliva crystallization

Seznam použitých zkratk:

eKG	equine chorionic gonadotropin (koňský choriový gonadotropin)
F	female (samice)
FAO	Food and Agriculture Organization
GnRH	gonadotropin-releasing hormon
hCG	human chorionic gonadotropin (lidský choriový gonadotropin)
i. v.	intravenózní aplikace (nitrožilní aplikace)
ITIS	Integrated Taxonomic Information System
IVF	<i>in vitro</i> fertilisation (in vitro fertilizace)
IVP	<i>in vitro</i> production (in vitro produkce)
LH	luteinizing hormone (luteinizační hormon)
M	male (samec)
P (4)	progesterone, (pregn-4-ene-3,20-dione) (sérový progesteron)
PMSG	pregnant mare's serum gonadotropin (sérum březích klisen gonadotropin)
sv	stupně volnosti

Obsah

1. Úvod	- 10 -
1.1. Cíl práce	- 11 -
2. Literární rešerše.....	- 12 -
2.1. Úvod k velbloudovitým	- 12 -
2.1.1. Taxonomické členění	- 12 -
2.1.2. Charakteristika velbloudovitých	- 12 -
2.2. Reprodukce u velbloudovitých	- 14 -
2.2.1. Pohlavní cyklus.....	- 15 -
2.2.2. Březost a porod	- 17 -
2.2.3. Velbloudí mláďata a mateřská péče.....	- 18 -
2.2.4. Velbloudí mléko	- 18 -
2.3. Detekce říje a březosti.....	- 19 -
2.4. Odběr ejakulátu.....	- 21 -
2.5. Umělá inseminace.....	- 22 -
2.6. Křížení	- 23 -
2.7. Embryotransfer	- 25 -
2.8. Klonování.....	- 26 -
2.9. Moderní způsoby péče v chovu velbloudovitých	- 28 -
2.10. Krystalizace slin.....	- 29 -
3.1. Literární rešerše	- 31 -
3.2. Sledovaná zvířata	- 31 -
3.3. Odběr vzorků	- 32 -
3.3. Hodnocení vzorků.....	- 32 -
4. Výsledky.....	- 34 -
5. Diskuze.....	- 36 -
6. Závěr	- 38 -
7. Použitá literatura	- 39 -

1. Úvod

Velbloudi a lamy patří do čeledi Camelidae, která se vyvinula v Severní Americe během eocénu (Cui *et al.*, 2007). Jsou to velcí býložravci aridních oblastí, kteří zásadním způsobem přispívají k přežití obyvatel v pouštích (Odbileg, 2005). Velbloudi a lamy patří mezi přežvýkavce (Larson, 2004). Rodina Camelidae obývá místa vysoko v Andách Jižní Ameriky (the New World Camelids), zmrzlé pouště Gobi v Asii (drabaři) a horké pouště Afriky a Středního východu (dromedáři) (Yagil, 2006).

Lidé využívají velbloudy k mnoha činnostem, zejména k jízdě a na práci. V některých oblastech jsou velbloudi chováni pro produkci mléka, to dokáží produkovat i z velmi chudé potravy, která by mléčnému skotu zdaleka nestačila. Konzumuje se velbloudí maso a využívá se i velbloudí vlny a srsti (FAO, 1994). Některé kultury posuzují osobní bohatství z hlediska počtu vlastněných velbloudů (Yagil, 2006). Alpaky se stříhají každý rok a z jejich jemné vlny se vyrábí oblečení. Vlna z lamy je hrubší a proto se využívá např. k výrobě lan. Lamy jsou používány jako soumaři, mohou nést až 30 kg 15-20 km (FAO, 1994).

Stejně jako u ostatních savců je rozmnožování velbloudů přizpůsobeno jejich specifickému chování, anatomii, fyziologii a endokrinologickým zvláštnostem. Proces rozmnožování je dán dostupností potravin (Yagil, 2006). Reprodukční výkonnost velbloudů v přírodních podmínkách je obecně považována za nízkou (délka březosti 13 měsíců, rodí se z velké většiny jedno mládě). Tím, že se velbloudi většinou využívají v méně rozvinutých zemích, potřebné výzkumy na zlepšení plodnosti chyběly (Skidmore, 2005).

Reprodukční techniky používané u jiných druhů zvířat, jako je umělá inseminace, superovulace, embryotransfer, byly úspěšně použity i u velbloudovitých v Jižní Americe (Del Campo *et al.*, 2000).

Možnosti v zlepšení reprodukční výkonnosti velbloudů nejsou omezeny pouze jednočetnými porody a dlouhou délkou březosti, ale především využíváním tradičních reprodukčních postupů ve většině chovných stád. Použitím umělé inseminace a embryotransferu by se mohlo dosáhnout větší efektivity v produkci vhodných potomků a překonání některých reprodukčních problémů u velbloudovitých (Skidmore, 2005).

O krystalizaci u velbloudů dvouhrbých je zatím jen málo informací a tato metoda není používána. V praxi se nejvíce využívá krystalizace cervikálního hlenu u skotu, u kterého je tato problematika dobře prozkoumána (Haberová, 2010).

1.1. Cíl práce

Cílem mé bakalářské práce bylo sepsání literární rešerše na téma dosavadních poznatků o reprodukci velbloudů a moderní technologii v chovu velbloudů. Dále pak zhodnocení různých metod reprodukce a to především využití inseminace, embyotransferu, klonování atd.

V praktické části se pomocí odběru vzorků slin pokusit aplikovat neinvazivní metodu sledování reprodukčního stavu zvířat, a to vlastním výzkumem krystalizace slin u velbloudů dvouhrbých v liberecké zoologické zahradě.

Cílem pokusu bylo potvrdit krystalizaci slin u různých kategorií u velbloudů dvouhrbých (samce, samic a mláďe).

2. Literární rešerše

2.1. Úvod k velbloudovitým

2.1.1. Taxonomické členění

Řád - Artiodactyla (sudokopytníci)

Podřád - Tylopoda (velbloudi)

Rod - *Lama*:

- lama (*Lama glama*)
- guanako (*Lama guanine*)

Rod - *Vicugna*:

- vikuňa (*Vicugna vicugna*)
- alpaka (*Vicugna pacos*)

Rod - *Camelus*:

- velbloud jednohrbý (*Camelus dromedarius*)
- velbloud dvouhrbý (*Camelus bactrianus*)

(ITIS, 2011)

2.1.2. Charakteristika velbloudovitých

Všichni velbloudovití žijí v drsných životních podmínkách, velbloudi v pouštních oblastech a lamy ve vysoké nadmořské výšce (Bravo *et al.*, 2000).

Velbloudovití se vyznačují velice dobrou schopností hospodaření s vodou. Nemají pravá kopyta, ale dva prsty kryté mozolem. Jejich žaludek se skládá ze 3 částí, na rozdíl od jiných přežvýkavců. Velbloudi mají červené krvinky eliptického tvaru bez jádra (Yagil, 1985). Na kolenech a hrudníku mají ztvrdlá místa, která chrání kůži a svaly před poškozením od horkého písku (Moloney, 2005). Lee a Schmidt-Nielsen (1962) zkoumali 27 oblastí kůže u jednohrbého velblouda a dospěli k závěru, že potní žlázy se v kůži vyskytují všude kromě pysků, nosních otvorů a perianální oblasti.

Velbloud za jeden den bez přístupu k vodě ztratí pouze 1 až 2 % své hmotnosti, na rozdíl od skotu, který ztratí 7 až 8 % své hmotnosti. Velbloud vydrží dva až tři týdny bez vody, za tu dobu ztratí 25 až 30 % své tělesné hmotnosti dehydratací. Jiní velcí savci by ve

stejném případě zahynuli. Naopak v případě, že se velbloud dostane k vodě, je schopen vypít až 100 litrů vody. Velbloudi, zejména velbloud dvouhrbý, potřebují denně pozřít jisté množství soli a to osmkrát tolik, než potřebuje dobytek či ovce. Týdně by to mělo být okolo jednoho kilogramu soli (FAO, 1994). Tento dietetický požadavek se vyvinul s přizpůsobením se velbloudů pouštní stepi s četnými brakickými vodami s vysokým obsahem soli (Speedy, 1999).

Jako velbloudovití Starého světa (the Old World Camelids) označujeme jednohrbé velbloudy (*Camelus dromedarius*) a dvouhrbé velbloudy (*Camelus bactrianus*). Mezi velbloudovité Nového světa (the New World Camelids) řadíme lamy (*Lama glama*), guanako (*Lama guanine*), vikuňi (*Vicugna vicugna*) a alpaky (*Vicugna pacos*). Toto dělení pochází z původních společných předků pocházejících ze Severní Ameriky (Doherty, 2011). Quan *et al.* (2000) provedl podrobný výzkum mitochondriální DNA domestikovaných velbloudů dvouhrbých a zjistil, že se dají rozlišit dva hlavní genotypy. Výsledky Silbermayr *et al.* (2010) ukázaly vysokou úroveň mitochondriální diference mezi divokými a domestikovanými velbloudy dvouhrbými. Podle Lin *et al.* (2001) byli velbloudi první odbočkou z původní populace velbloudovitých, dále pak vikuni a lamy.

Velbloudi jsou důležitou součástí pouštních ekosystémů. Lidé v pouštích využívají velbloudy nejen pro maso a mléko, ale též jako významný způsob dopravy. Velbloudi dobře snášejí teploty 49 °C až 50 °C ve dne a -30 °C v noci. Jednohrbé velbloudy najdeme v Africe, Arábii, Íránu, Afghánistánu a v Indii (Khanvilkar *et al.*, 2009). Dromedáři existují pouze jako domácí zvířata, nemají žádné žijící divoké příbuzné (Larson, 2004). Dvouhrbí velbloudi žijí ve střední Asii až po Mongolsko a v západní části Číny (Khanvilkar *et al.*, 2009). Velbloudí populace v Asii není geneticky homogenní, dá se proto říct, že se spíše jedná o množství plemen přizpůsobených různým kulturním, ekologickým a ekonomickým požadavkům (Guernec *et al.*, 2003). Velbloudi jsou dále chováni v Austrálii, v Jižní Africe a Karibiku (Wilson, 1984).

Divocí velbloudi dvouhrbí (*Camelus bactrianus ferus*) přežívají pouze okolo národního parku Gobi (the Great Gobi National Park) v Mongolsku a v západní Číně, především ve východní části pouště Taklimakan. Výzkum v národním parku Gobi během 80. let 20. století odhalil populaci 500-600 velbloudů. Hlavními predátory velbloudů v národním parku jsou vlci. V Číně se odhaduje počet asi 500 zvířat, ale stavy nejsou přesně známy. V Číně jsou divocí velbloudi ohroženi lovem a křížením s domácími

velbloudy (Tulgat a Schaller, 1992). V období říje samec shromažďuje přibližně 20 samic do svého harému. Nejvíce porodů bývá v březnu až dubnu. Samice se před porodem oddělí od stáda a zůstává sama se svým mládětem po dobu asi dvou týdnů (Tulgat a Schaller, 1992).

Dnes je Austrálie jedinou zemí na světě s volně žijícími velbloudy jednohrbými (*Feral dromedary camels*). Velbloudi se dostali do Austrálie v roce 1840, kdy byli přivezeni z Indie, Afghánistánu a Blízkého Východu. Na začátku byli využíváni k dopravě průzkumníků. V roce 1900 zde bylo 10 000 domestikovaných velbloudů. Většina z nich byla využívána pro přepravu dodávek vlny, pšenice či železničního materiálu. Od roku 1920 začali lidé používat vlaky a automobily. Z tohoto důvodu se vypustilo mnoho velbloudů do volné přírody. Velbloudi byli dobře vybaveni k životu v přírodních podmínkách Austrálie (Moloney, 2005). Divocí velbloudi mají negativní dopad na životní prostředí, způsobují škody požíráním a zdupáváním vegetace a dále znečišťují mokřady. Pro domácí druhy zvířat jsou konkurencí ve spotřebě potravy a vody. V případě, že se populace divokých velbloudů budou stále zvyšovat, bude současně růst i rozsah negativních dopadů na území Austrálie (Edwards *et al.*, 2010).

Podle FAO (2012) byla populace velbloudů v roce 2010 na celém světě 24 085 522 jedinců, z toho 20 140 375 zvířat se nacházelo v Africe. Populace ostatních velbloudovitých v roce 2010 ve světě byla 7 843 030 jedinců.

2.2. Reprodukce u velbloudovitých

Období rozmnožování velbloudů je závislé na dostupnosti pastvin, dešti, zimě a liší se region od regionu. Reprodukční výkonnost je v přirozených podmínkách nízká. Důvodem může být krátká doba rozmnožování, pozdní věk dosažení pohlavní dospělosti a dlouhá doba březosti samic (Skidmore, 2003).

Charakter reprodukčního cyklu se zřejmě vztahuje na drsné prostředí, ve kterém se velbloudí předci vyvinuli. Sexuální aktivita u velbloudovitých a doba trvání sexuální aktivity je proměnná (Novoa, 1968). Sezónnost lam v horských oblastech Jižní Ameriky je omezena na teplejší měsíce dešťů od listopadu do dubna, kdy je dostatek píce (Sumar, 1985). Na farmách v Peru chovají samce i samice lam alpak ve výběhu po celý rok pohromadě. K porodům zde dochází od prosince do března, z toho vyplývá, že k páření došlo v předchozím měsíci lednu až dubnu. Tam kde jsou samice v průběhu roku drženy

odděleně od samců, nechávají zvířata rozmnožovat se v průběhu ledna až března. Termíny porodů tak vyjdou na nejprázdnější období roku, leden až duben. V přorozených podmínkách je období rozmnožování omezeno deštivými měsíci (leden až duben) (Fernández-Baca, 1993). U samců může mít dlouhodobá přítomnost samic inhibiční účinek na jejich sexuální aktivitu. Jsou-li samci a samice odděleně a mohou se pářit jen zřídka (např. jednou za měsíc), jejich sexuální aktivita přetrvává u obou pohlaví po celý rok (Sumar, 1985). Samice během období rozmnožování zůstávají v říji i za nepřítomnosti samců, po dobu až 36 dnů, pouze s občasným přerušením (anestrus), které není delší než 48 hodin (San-Martin, *et al.*, 1968).

Velbloudovití mají 37 párů chromozomů. Velbloudi a lamy se mohou křížit za vzniku plodného potomstva (Bravo *et al.*, 2000).

2.2.1. Pohlavní cyklus

Dosažení puberty je ovlivněno celkovým růstem a hmotností zvířete, která je ovlivněna výživou (Marai *et al.*, 2009).

Samci velbloudů pohlavně dospívají okolo 6 let (Novoa, 1970). Hmotnost a rozměry varlat se zvyšují s věkem, dosažení jejich maximální hodnoty bývá na 10 až 15 letech. Po 15 roku života se tyto hodnoty mírně sníží (Singh a Bharadwaj, 1978). Příznaky říje u samců jsou: zvětšení varlat, vytlačení zadní části patra z tlamy v podobě růžového vaku (pouze u jednohrbých velbloudů), z týlní žlázy na krku za hlavou se začne produkovat hnědý, páchnoucí sekret. Během říje se samci stávají agresivní a nebezpeční (FAO, 1994). Podle Burgemeister (1975) může jeden samec, na vrcholu období rozmnožování, napářit tři samice za den, v závislosti na jeho zdraví. Chirurgická kastrace se nesmí provádět bez lokální či celkové anestezie. Bylo vysledováno, že vhodnější období pro kastraci je až po pohlavní dospělosti, velbloudi jsou pak méně náchylní k obezitě. Kastrace nesmí být provedena u býků v říji. Obzvláště se musí dbát při kastraci na desinfekci kůže a hygienu, z důvodu náchylnosti velbloudů k tetanu po kastraci (SCARM, 1997).

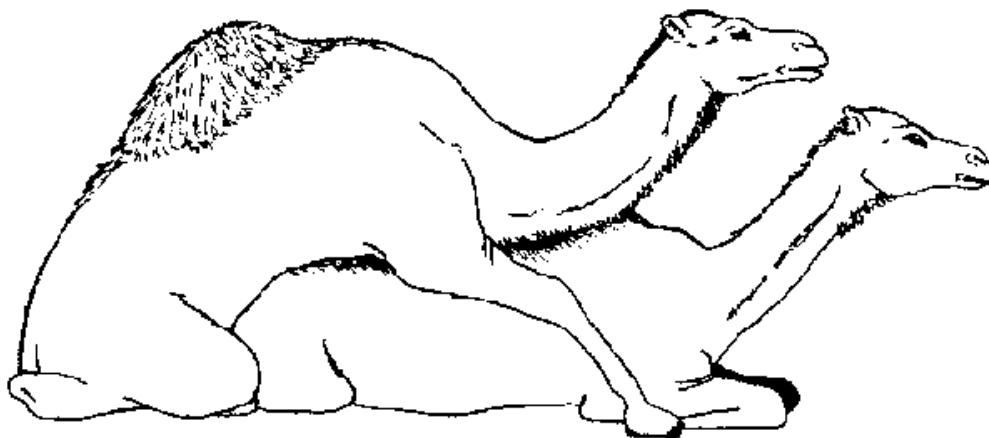
Velbloudí samice pohlavně dospívají ve věku 3 až 4 let. V období říje je samice neklidná a straní se ostatních zvířat, též dochází k otoku pochvy a rozprašování moče pomocí ocasu (FAO, 1994). Estrální cyklus u samic velbloudů je neúplný ve srovnání s ostatními kopytníky. Skládá se z: proestus (růst folikulů), estrus (zralé folikuly) a diestrus (zánik folikulů v případě, že nedošlo k páření) (Marai *et al.*, 2009). Asi 6 dní se vyvíjejí

folikuly. Gráfov folikul může přetrvat 5 až 19 dní a posléze vymizí během dalších 7 dní. Hormon estradiol přetrvává a jeho koncentrace vrcholí každých 7 dní. Pohlavní cyklus je závislý na páření, takže se jedná o vyvolanou ovulaci. Ovulace nastává 36 hodin po páření (Elias *et al.*, 1984; Skidmore *et al.*, 1996a). U velbloudů dvouhrbých, podle informací z Mongolska, bývá samice schopná reprodukce asi 25 let (Speedy, 1999). Podle Yasin a Abdul-Wahid (1957) může samice jednohrbého velblouda, být chovná do 30 let.

Lamí samci mohou projevit sexuální zájem o samice již na prvním roce, ale nejsou schopni páření. Mají stále předkožku, která drží penis od narození a není osvobozen až do puberty (Fernández-Baca, 1993). Po prvním roce se pouze u 8 % samců alpak penis uvolní ze srůstu. Na dvou letech, kdy samec dosáhne hmotnosti okolo 50 kg, je schopno až 70 % samců páření (Sumar, 1985). Ve třech letech by měli být všichni samci bez srůstu penisu. V tomto věku se běžně používají ke krytí, ačkoli úplné zralosti samci alpaky dosáhnou až v pěti letech (Brown, 1999).

Činnost vaječnicků lamích samic začíná na 10 měsících s růstem folikulů (5 mm v průměru a více). Většina samic je sexuálně vnímavá až na 12-14 měsících věku (Sumar, 1985). Na nástup puberty mají značný vliv podmínky prostředí a nutriční stav. K dosažení puberty by samice měla mít kolem 33 kg (60 % dospělé tělesné hmotnosti), při správné výživě by této hmotnosti měla samice dosáhnout na roce (Sumar, 1985; Smith *et al.*, 1994). V chudých pasteveckých oblastech Peru, samice alpak nedospívají tak rychle a k chovu se používají až na dvou letech. Podobně tomu je u lam a vikuň (Koford, 1957).

Velbloudovití jsou jediní kopytníci pářící se vleže (Obr. 1). Samice v říji si většinou lehají, když tak neučiní, samec je k tomu přinutí svou vahou. Doba páření trvá 10-20 minut, k ejakulaci dojde třikrát až čtyřikrát v této době (Gauthier-Pilters, 1981).



Obr. 1: Páření velbloudů (Zdroj: FAO, 1994)

2.2.2. Březost a porod

Bylo vysledováno, že 99 % zabřeznutí je u velbloudů v levém rohu děložním (Artur *et al.*, 2006). Embrya, která se dostanou do pravého děložního rohu, následně migrují do levého rohu. Plod se nachází v levém rohu, ale chorion a velký alantoidní vak se rozloží již do druhého děložního rohu (Sumar, 1999).

Průměrná délka březosti u velbloudů je asi 390 dní (Yagil, 1985), běžně se uvádí 12 až 13 měsíců. Délka březosti u lamy a alpaky se pohybuje mezi 342 až 350 dny (Sumar, 1988; Leon *et al.*, 1990).

V případě, kdy se potvrdí, že je samice březí, je třeba zvýšit péči o zvíře, aby se zabránilo potratu. Březí samice by neměla moc běhat, nedoporučuje se zvýšená námaha a v posledních třech měsících březosti, by samice měla být v klidu. Důležitá je vyvážená strava a dostatek vody. Množství krmiva by mělo vzrůst o 25 %, aby samice měla dostatek živin pro rostoucí plod (Khanvilkar *et al.*, 2009).

Již pár hodin před objevením velblouděte se u samice dostaví jisté předporodní známky (Yagil, 1985). Samice je rozrušená, snaží se ukrýt před ostatními, hledí do dálky. K prvním vnějším známkám porodu patří uvolnění pánevních vazů. Pochva výrazně oteče a je-li dostatečně rozšířena asi 3 až 5 hodin, začne porodní proces. Samice zaujme pozici buď vestoje, nebo vleže na boku, popř. polohy vestoje a vleže střídá. Jako první se při porodu objeví přední končetiny, následuje hlava a ramena. Zadní část se potom rychle vysune. Celý proces většinou trvá okolo 25 minut (Musa, 1978). U nekomplikovaného porodu, by plod měl být vyloučen do 45-60 minut po objevení se plodové vody na pochvě (Fowler, 1989). Kompletní doba porodu se všemi procesy trvá asi 6 hodin (Elias a Cohen, 1986). Placenta může být odstraněna ihned nebo častěji až po hodině. Jakmile je tele na světě, samice se postaví a tím přeruší pupeční šňůru. Samice velbloudů nečistí mláďata ani nežerou placentu. Placenta velbloudů je podobná jako placenta u koní, je difuzní a bez kotyledonů (Musa, 1978). Placenta u všech velbloudovitých je tenká a zcela pokryta klky (Benirschke, 2007). V prvním týdnu života telete je mateřská péče obzvlášť intenzivní, protože mláďe se musí naučit chodit a sát (Speedy, 1999). První říje nastává u samice 14 - 30 dní po otelení. Samice velblouda má vemeno rozdělené na čtvrtiny (Wilson, 1984). Vemeno má čtyři struky, z nichž každý má dva otvory (Yagil, 1982).

2.2.3. Velbloudí mlád'ata a mateřská péče

Podle Khanvilkar *et al.*, (2009) velbloudí mládě stojí na vlastních nohách během 6-8 hodin po narození. Skidmore *et al.*, (1996b) a Skidmore a Billah (2005) uvádí, že mlád'ata se obvykle postaví za 30 minut až do jedné hodiny po porodu. Po další hodině začne tele hledat struky. Hmotnost velblouděte bývá mezi 25 kg až do 52 kg, samci jsou o něco těžší (Skidmore *et al.*, 1996b; Skidmore, Billah, 2005). Porodní váha se liší podle lokality místa porodu. Například v Indii je nejčastější porodní váha 37,19 kg, zatímco v Tunisku a Keni váží mezi 25,18 až 30,9 kg (Yagil, 1985). Existuje několik faktorů, které ovlivňují porodní hmotnost velbloudů a to zejména výživa a zdravotní stav samice v některé fázi březosti a heritabilita (Wilson, 1998).

2.2.4. Velbloudí mléko

Produkce mléka se obvykle zvýší během několika prvních dnů po narození mláděte (Adams *et al.*, 1990). Výše produkce mléka závisí na několika faktorech, především na stáří samice, na ročním období, na laktačním období a na kvalitě potravy a množství vody (Hussein, 1989). Samice je schopna udržet laktaci i za velmi suchých podmínek a to i v případě, že je sama dehydratována (Yagil *et al.*, 1994). Velbloudi jednohrbí mohou produkovat dostatečné množství mléka v suchých oblastech, kde jiná hospodářská zvířata mají velmi nízkou produkci. Hlavní význam pro velbloudí mládě i pro člověka má složení mléka (Yagil, 1982). Samice kojí i v období sucha, protože neabsorbují vodu z mléčné žlázy, proto aby se zachovala voda v těle. Mléko se stává více naředěné, tento jev je řízen hormonálně (Yagil, 1988). Nedostatek pitné vody zvyšuje sekreci hormonů aldosteronu a vazopresinu, které řídí metabolismus vody a soli, což vede k jejich zachování. Účinek vazopresinu způsobuje vylučování vody z mléčné žlázy a tím ředění mléka. Ve velkých koncentracích působí vazopresin na ledviny a mléčnou žlázu jako oxytocin a naopak (Yagil, 1985). Proto dehydratace ve skutečnosti vede k větší sekreci vody a tím chrání objem mléka při jeho ředění (Yagil *et al.*, 1980). Pro nomády žijící na poušti je velbloudí mléko základní potravinou. Konzumují ho v čerstvém, mírně kyselém či zkyslém stavu (Mareš, 1954). V oblasti Afrického rohu (Somálský poloostrov) je dojení velbloudů nedílnou součástí místní kultury (Yagil, 1982). Velbloudi jsou obvykle dojeni dvakrát denně, ráno a večer. Jak uvádí Farah *et al.* (2004) dojení velbloudů je snadnější než dojení krav. Čerstvé velbloudí mléko má vyšší pH (Ohri a Joshi, 1961). PH mléka se pohybuje

mezi 6,5-6,7 (Shalash, 1979). Nízké pH mléka je zřejmě v korelaci s vysokým obsahem vitamínu C (28 +/- 3 mg/l). Sladká chuť mléka může být maskováním v případě, že zvíře sní hořkou vegetaci (Yagil *et al.*, 1994). Velbloudí mléko má podobné pH jako mléko ovčí (Ohri a Joshi, 1961). První mléko, mlezivo (colostrum), je bílé a mírně zředěné v porovnání s kravským mlezivem (Yagil a Etzion, 1980). Je velmi důležité, aby se novorozené mládě velblouda napilo mleziva, které mu poskytne obranné látky. Matka produkuje mlezivo ještě 4 až 5 dnů po porodu. Někteří majitelé neumožňují mláďatům se napít, protože se domnívají, že by to vedlo k průjmům a bolestem břicha mláděte. U některých mláďat toto omezení může vést až k smrti (FAO, 1994). Odstavení obvykle probíhá mezi 7-9 měsíci stáří mláděte (Fowler, 1989).

Četnost březosti nebo množství porodů u samic v reprodukci se pohybuje mezi 12 % až 85 %. Nejběžnější příčinou špatné plodnosti je zmetání již v časně fázi březosti nebo potrat, který může dosáhnout až 40 % přerušení březosti. V posledních letech byly učiněny značné pokroky ve stanovení diagnózy (ultrasonografie, biopsie) a v léčbě příčiny neplodnosti a zmetávání (Tibary *et al.*, 2005). Během léta probíhá zvyšování okolních teplot, které úzce souvisí s prodlužováním dne. Tento jev je zřejmě hlavním faktorem působícím na reprodukční činnost velbloudů, z důvodu ovlivnění jejich fyziologické aktivity (Marai *et al.*, 2009).

2.3. Detekce říje a březosti

V extenzivních chovech jsou velbloudí stáda široce rozptýlena a detekce říje je proto velice obtížná. Sexuální aktivita samic se shoduje se sexuální aktivitou samců a koresponduje s přírodními podmínkami (El-Hassanein *et al.*, 2010).

Podle Skidmore (2000) je zapotřebí rychlá diagnostika březosti co nejdříve po páření, aby v případě nezabřeznutí mohlo dojít k opakovanému páření, reinseminaci nebo navrácení zvířete do programu embryotransferu. Existuje několik metod používaných k diagnostice březosti, ale je důležité si uvědomit, že diagnóza není zárukou narození zdravého mláděte. Proto by měly být prováděny další vyšetření po třech až čtyřech měsících, aby se zkontrolovalo, že plod se vyvíjí normálně.

Ovulace může být indukována luteinizačním hormonem (LH), lidským choriovým gonadotropinem (hCG) a gonadotropin-releasing hormonem (GnRH), a se superovulací s

koňským choriiovým gonadotropinem (eKG) (sérum březích klisen gonadotropin, PMSG) (Musa *et al.*, 1993).

K detekci březosti byl zkoušen test kroucení ocasu (the tail curling test) v přítomnosti samců v říji, pomocí koncentrace sérového progesteronu (P (4)) 14.-15. den po páření. Z 89 samic, které nekroutily ocasy (předpokládané jako nebřezí), se potvrdilo, že 86 (96,6 %) bylo nebřezích s P (4) < 1 ng/ml 15. den. Zbývající 3 případy byly falešně negativní, jako by byly březí (P (4) > 1 ng/ml). Z 66 samic, které kroutily ocasy (označeny jako březí), bylo pouze 45 (68,1 %) skutečně březích a 18 (27,2 %) bylo falešně pozitivních (nebřezích). Tři (4,5 %) březí samice správně určené pomocí testu kroucího se ocasu, byly chybně diagnostikovány jako negativní, přes P (4) koncentraci jako P (4) < 1 ng/ml. Ze závěrů vyplývá, že test kroucího se ocasu může být účinný v časně detekci nebřezích samic v chovném stádě. Pozorováním samice, lze již po 15 dnech od páření určit s 70 % přesností, zda-li je samice březí (Deen, 2008).

Březí samice dromedárů se projevují charakteristickým chováním při setkání se samcem. Samice mají ztuhlé držení těla a ocas zatočený vzhůru (Banerjee, 1974; Banerjee *et al.*, 1981). Toto chování se objeví 14 až 15 dnů po páření a je spolehlivé z 95 % v diagnostice březosti u klidných samic dromedára. Napínání ocasu je možné pozorovat i u dvouhrbých velbloudic, ale ne se stejnou úspěšností, jako u dromedárů (Tibary a Anouassi, 1997). Tato metoda je používána nomády k určení březích samic (Skidmore a Billah, 2005).

K detekci březosti se dále využívá sledování změn na sliznici děložního hrdla. Sliznice děložního čípku bývá zakalená ve většině etap ovariálního cyklu. U březích samic je sliznice bělavá a neprůhledná. Během folikulárního cyklu u nebřezích velbloudic se pH pohybuje v rozmezí 6,74 a 7,36. Na začátku březosti pH mírně roste (Nawito *et al.*, 1967).

Diagnostika březosti za pomoci rektální palpace může představovat určité riziko pro samice, ale není považována za škodlivou pro plod za podmínky, že vyšetření provádí zkušený personál (Skidmore, 1996b). Až od 45 dne (6. - 8. týden) po páření, mohou být pomocí rektální palpace zjištěny děložní změny a to zejména nárůst v průměru na levém děložním rohu (Musa a Abusineina, 1978).

K detekci březosti u velbloudů dvouhrbých bylo použito i chemických testů moči. Ve výzkumu byla použita zkouška chloridu barnatého a ověření reakce Cuboni testu (the Cuboni test). Oba testy byly založeny na chemické reakci estrogenu v moči. U Cuboni testu moči se ukázalo 86,7 % pozitivních a 13,3 % pochybných reakcí. Tento test by mohl

být dobře používán v detekci březosti v druhé polovině březosti. U testu chloridu barnatého nebyl nalezen žádný určitý vztah s reprodukčním stavem samice a výsledkem testu (Haberová *et al.*, 2011).

2.4. Odběr ejakulátu

Velbloudí spermie je obecně menší než u jiných zvířat. Sperma velbloudů je šedé až mléčně bílé barvy, má viskózní konzistenci ihned po odběru (Tingari *et al.*, 1986). Velbloudí sperma nevykazuje hromadnou hybnost, jakou má např. skot, ovce nebo buvoli (Deen *et al.*, 2003). U lam je to obdobné, ve srovnání s jinými druhy mají relativně nízkou koncentraci spermií (Neely a Bravo, 1997). Lamí sperma je vysoce viskózní a tím je manipulace a odhad koncentrace spermatu obtížné. K jeho ředění se používá hydrolytických enzymů. Trypsin v koncentraci 1:250 byl účinný v zkapalnění spermatu u lamy alpaky (Bravo *et al.*, 1997). Použití kolagenázy (0,5 mg/ml) se jeví jako účinnější než použití trypsinu, protože reakce je nezvratná, zkapalněné sperma neobnoví svoji viskozitu (Pacheco, 1996). Odběr spermatu u velbloudovitých je komplikovaný polohou pářících se zvířat vleže a dlouhou dobou páření (5-50 minut) (Bravo *et al.*, 2000).

Pro odběr ejakulátu u velbloudů se nejvíce využívá umělé vagíny (artificial vagina) a elektroejakulace. Nejlepších výsledků pro sběr do umělé vagíny bylo dosaženo modifikovanou býčí pochvou (30 cm dlouhá, o vnitřním průměru 5 cm). Je důležité zabránit kontaktu ejakulátu s pryžovou vložkou v umělé vagíně. Bylo prokázáno, že je tímto kontaktem pohyblivost spermií negativně ovlivněna. Proto se používá zkrácené umělé vagíny, takže sperma se dostane přímo do sběrné nádoby, nebo lze požit jednorázovou plastovou vnitřní vložku (Bravo *et al.*, 2000). Jedním z problémů u umělé vagíny bývá neochota samců kopulovat do umělé vagíny (Artur a Tigani, 1990).

Při elektroejakulaci musí být samec v zajištěné poloze na boku (Tingari *et al.*, 1986). Odběr se provádí, v závislosti na temperamentu, pod sedativy a analgetiky (Jochle *et al.*, 1990). Ejakulace může být dosaženo rektální sondou namazanou gelem, aby se zajistil dobrý kontakt se sliznicí. Dávají se dvě sady stimulace, každá 10-15 pulsů po 3-4 sekundách délky, při 12 V a 180 mA s odpočinkem 2-3 min mezi dvěma sériemi impulzů (Bravo *et al.*, 2000). Objem získaného ejakulátu elektroejakulací je mírně nižší než objem ejakulátu u použití umělé vagíny (Tingari, 1986).

Za předpokladu, že se samec nezdráhá použít umělé vagíny, lze od takového samce sperma dobře shromažďovat (Deen *et al.*, 2003). Doba páření do umělé vagíny se značně liší. Musa *et al.* (1993) uvádí délku 5 až 10, výjimečně i 20 min trvání celého procesu ejakulace do umělé vagíny. Tibary a Anouassi (1997) vyzorovali, že kratší doba páření, méně než 5 min, může znamenat neúplnou ejakulaci. Podle Almquist (1969) je třeba rozvíjet metody sexuální stimulace a sexuálních příprav u velbloudů. Libido velblouda dosahuje vrcholu v polovině ledna až února za chladného počasí, v tomto období je dobré provádět odběr ejakulátu. U většiny velbloudů se udržuje libido až do konce května, kdy se oteplí (Tibary a Anouassi, 1997).

U lam se používá několik způsobů odběru ejakulátu, jako je intravaginální kondom, vaginální houba, elektroejakulace, umělá vagina. Odběr ejakulátu pomocí umělé vagíny namontované dovnitř figuríny patří k přirozenějším a spolehlivějším metodám odběru ejakulátu (Sumar a Leyva, 1981; Moscoso, 1996; Bravo *et al.*, 1997). U metody intravaginálního kondomu se používá lidský kondom, obsahující malé ocelové kuličky, který se vkládá do pochvy samice pomocí skleněné tyčky. Nevýhodou této metody je, že samci nekopulují obvyklou dobu a samice po několika pokusech přestávají spolupracovat (Mogrojevo, 1952; Johnson, 1989; Sucapuca, 1991). Odběr spermatu elektroejakulací se provádí stejně jako u velbloudů po podání sedativ nebo po úplné anestézii (Johnson, 1989; McEvoy *et al.*, 1992). Sperma získané elektroejakulací bývá nekvalitní, vzhledem ke krátkému trvání ejakulace (Bravo *et al.*, 2000).

2.5. Umělá inseminace

Umělé oplodnění je proces, při kterém je spermie umístěna do rozmnožovacího ústrojí samice za účelem oplodnění samice pomocí jiných prostředků než pohlavním stykem. Jako první moderní metoda použitá na zlepšení reprodukce a genetiky hospodářských zvířat byla umělá inseminace. To mělo obrovský dopad na řadu druhů, zejména u dojníc, po celém světě (Foote, 2002). Umělá inseminace je první reprodukční biotechnologií využívanou k zachování ohrožených druhů zvířat (Wildt *et al.*, 1995). Začátkem 80. let 20. století začala snaha o komercializaci umělé inseminace u velbloudovitých, ve snaze zlepšit kvalitu a produkci mléka a masa (Purohit, 1999). Dalším kladem umělé inseminace je její význam v boji proti pohlavním nemocem. To se jeví jako

zvláště výhodné, z hlediska četností folikulárních vln, objevujících se u velbloudích samic (Chaudhary, 1995).

K reprodukci velbloudů bylo použito umělé inseminace a přenosu embryí. V posledních letech byla vyvinuta umělá inseminace u dromedárů i velbloudů dvouhrbých. Avšak, špatná pohyblivost spermií, neefektivní techniky kryokonzervace spermatu, nedostatečné řízení a načasování ovulace a oplodnění jsou některé z klíčových bodů, po jejichž vyřešení by se mohla umělá inseminace u velbloudovitých stát samozřejmou (Purohit, 1999). První potomek narozený pomocí umělé inseminace u velbloudovitých byl zaznamenán u dvouhrbého velblouda inseminovaného mraženým spermatem shromážděným elektroejakulací v roce 1961 (Elliott, 1961). Umělá inseminace u velbloudů může být buď vaginální, nebo děložní (Musa *et al.*, 1993). Umělá inseminace patří mezi nejméně invazivní asistované reprodukční technologie. Je využitelná v případech, kde by jinak reprodukci bránily fyzické či povahové překážky a umožňuje výměnu genetické informace mezi zvířaty bez potřeby jejich transportu (Durrant, 2009). Podle Adamse *et al.*, (2009) je účinnost umělé inseminace u velbloudovitých v Jižní Americe nízká, ale bylo dosaženo pokroku. Povedlo se narození životaschopných potomků pomocí umělé inseminace od domácích zvířat, za použití čerstvého, tak zmraženého sperma.

Pro účely umělé inseminace jsou používány sexuálně vnímavé samice, které byly napářeny s vazektomovaným samcem nebo byly kontrolovány z hlediska velikosti folikulů pomocí ultrasonografie. Další možností k vyvolání ovulace je podávání 750 IU hCG (lidského choriového gonadotropinu) nebo GnRH (gonadotropin- releasing hormonu) 80-800 mikrogramů. Nejlepší doba pro inseminaci je 36 h po indukci ovulace (Calderon *et al.*, 1968).

2.6. Křížení

Velbloudovití Starého a Nového světa se mohou křížit mezi sebou. Toto křížení nebylo obvyklé a začalo se s ním teprve nedávno. V roce 1998 se v Dubaji narodil první hybrid mezi dromedárem (otec) a lamou krotkou (matka) s názvem Cama (Gregg and Adams, 2007). Pro vznik tohoto hybridu se muselo odebrat sperma od samců velbloudů pomocí umělé vagíny a oplodnily se jím samice lamy guanako a lamy krotké, v příslušné fázi jejich cyklu. Podobně bylo toto křížení vyzkoušeno naopak se spermatem samců lamy a lamy guanako, opět pomocí umělé vagíny a oplodnění samic velblouda. Pouze kříženec

(otec velbloud x matka guanako) pokračoval ve vývoji a narodil se živý po 328 dnech. Další studie se provádí pomocí embryotransferu, cílem má být zlepšení úspěšnosti živě narozených mláďat (Skidmore, 2003). Přes četné snahy hybridizace samice dromedára a samce guanako se podařilo narození pouze jednoho živého potomka. Mezi těmito druhy (*Camelus dromedarius* a *Lama guanicoe*) existovala po dobu nejméně 11 milionů let efektivní reprodukční izolace, tím je narozený potomek pozoruhodnější (Skidmore *et al.*, 1999).

Křížení mezi jednohrbými a dvouhrbými velbloudy je používáno. Dle majitelů velbloudů u těchto kříženců existuje heterózní efekt, pokud jde o výnosy masa a mléka, a to až o 30 až 40 %. Nevýhodou F1 generace bývá zvýšená náchylnost k onemocněním, vyšší nároky na krmění a snížení tukových zásob. Od zpětného křížení hybridů s jednohrbým nebo dvouhrbým velbloudem se opustilo, toto křížení nemělo ekonomickou výhodu (Speedy, 1999). Křížení mezi volně žijícími a domácími zvířaty často ohrožuje genofond volně žijícího druhu. Poslední volně žijící velbloudi dvouhrbí (*Camelus bactrianus ferus*) nacházející se v Mongolsku a v Číně jsou příkladem populace čelící hybridizační hrozbě (Silbermayr *et al.*, 2010). Ze vzorků DNA z kůže divokých velbloudů dvouhrbých vyplynulo, že tito velbloudi byli uprchlíci od domestikovaných velbloudů. Každý vzorek kůže ukázal dva nebo tři genetické rozdíly s domestikovanými velbloudy dvouhrbými. Divocí velbloudi dvouhrbí v Gashun Gobi jsou poslední stádo, které je zcela izolované od domestikovaných velbloudů dvouhrbých. Proto se nadace na ochranu divokých velbloudů dvouhrbých (the Wild Camel Protection Foundation) snaží tato stáda zachránit, tím, že ve spolupráci s čínskou vládou stanoví 65 000 km² Arjin Shan Lop Nur přírodní rezervace (IUCN, 2008).

Všechny druhy velbloudovitých Nového světa se mohou křížit za produkce plodného potomstva (Gray, 1954). Nejčastějším křížencem je tzv. Huarizo (otec lama x matka alpaka), tento kříženec má hospodářsky cenné rouno. Opačným křížením (otec alpaka x matka lama) vzniká jedinec nazvaný Misti, který z hlediska kvality rouna nemá žádnou ekonomickou hodnotu. Křížením samce vikuni a samice alpaky vzniká tzv. Pacovikuňa. Pacovikuňa má jemné a lehké rouno, lehčí než rouno alpaky (Fernández-Baca, 1995; Moseley, 1995; Wheeler, 1995).

2.7. Embryotransfer

Technika embryotransferu (často používána v souvislosti s *in vitro* fertilizací (IVF)) je použitelná u zvířat i u lidí. Při embryotransferu jsou embrya přenesena do dělohy samice za účelem zabřeznutí samice (FAO, 1991). V současné době jsou embrya získávána pomocí programu MOET (most ovulation and embryo transfer) nebo v *in vitro* systému (IVP – *in vitro* production) (Machatková *et al.*, 2004; Machatková 2005). Vývoj programu MOET u velbloudovitých byl výsledkem 90. let 20. století. Za toto období se míra využitelnosti embryí zlepšila z 1,55 na dárkyni na 6,5 na dárkyni. Množství zabřeznutí embryotransferem embryí z oplodněných vajíček z téhož ovulačního cyklu (fresh embryo transfer) je stále nízká (8-50 %), kryokonzervaci je třeba plně rozvinout (Purrohit, 1999).

Využití embryotransferu u velbloudovitých se stává stále důležitějším. Avšak je zapotřebí dosáhnout synchronizace v superovulaci dárkyně a příjemkyně nejlépe tak, aby příjemkyně ovulovala 24 hodin po dárkyni (Skidmore, 2003). Příprava velbloudů pro přenos embryí je komplikovaná, protože ovulace nemůže nastat bez krytí (Marie a Anouassi, 1987) nebo říje může být obtížně odhalitelná i v přítomnosti pre-ovulačních folikulů (McKinnon *et al.*, 1994). Ovulace může být vyvolána přímým vstříkáním 1 mg LH , nebo 4-8 µg GnRH (Sumar, 1985). Embrya mohou být do dělohy přenesena chirurgicky i nechirurgicky. Chirurgickou metodou se embrya přenáší do levého křídla dělohy laparotomicky. Tato metoda není vhodná pro mladá zvířata a prvorodičky, protože děložní roh je ještě krátký. Nechirurgická metoda embryotransferu je založena na tom, že embryo je umístěno do děložního lumenu přes děložní čípek pomocí inseminační pistole (Skidmore, 2004). Možnou metodou, jak zvýšit šanci zabřeznutí po embryotransferu, je podávání 150 mg progesteronu (v oleji) intramuskulární injekcí. Byl prováděn pokus, kde ovulující i neovulující samice dostávaly denně tuto injekci, ode dne před embryotransferem až do 25. dne po embryotransferu, kdy bylo možno přesně určit jejich březost pomocí ultrasonografie. Z 16 embryotransferů zabřezlo 7 samic (3 ovulující a 4 neovulující samice). Nevýhodou této metody je možná komplikace, kdy nebylo přítomné žluté tělísko ve vaječnicích. V tomto případě je nutné podávat každodenní injekci progesteronu po celou dobu březosti, protože placenta nepřispívá k sekreci progesteronu, který je u velbloudovitých produkován žlutým tělískem a udržuje jejich březost (Skidmore, 2005).

První zpráva o mezidruhovém embryotransferu u velbloudů Starého světa se objevila v roce 2009. Samice velblouda dvouhrbého superovulovaly pomocí klesající dávky FSH

(60, 40, 30, 20, 20 mg dvakrát denně). Denně byla provedena ultrasonografie vaječníků, dokud většina z rostoucích folikulů dosáhla velikosti 13-17 mm. Následně byly samice nakryty samcem velblouda dvouhrbého dvakrát, po 24 hodinách. V době prvního páření bylo samicím podáno 20 μg , i.v., buserelinu. Den poté, co byla dárkyně velblouda dvouhrbého napálena, dostala příjemkyně velblouda jednohrbého injekci 25 mg, i.v., LH k vyvolání ovulace. Embrya byla obnovena osm a půl dne po prvním páření a nechirurgicky přenesena do příjemkyně, sedm a půl dne po injekci LH. Březost byla určena 25 dní po embryotransferu. Zdravá mláďata velblouda dvouhrbého se narodila bez zvláštních komplikací samicí dromedára (Niasari-Naslaji *et al.*, 2009).

Embryotransfer by mohl být užitečný v produkci potomků mladých velbloudů s dobrými geny (McKinnon *et al.*, 1994). Jedním z hlavních problémů u embryotransferu je spolehlivá vyhledávací metoda superovulace dárkyň (Sreenanem a Beeham, 1974).

Na obrázku 2 je znázorněna sonografická kontrola embryotransferem přeneseného embrya do náhradní matky.



Obr. 2: Sonografická kontrola (Zdroj: Collins, 2011)

2.8. Klonování

Při klonování dochází ke spojení vajíčka a buňky odebrané z těla dospělého živočicha nebo buňky odebrané z raných zárodků či z vyvíjejícího se plodu. Při enukleaci

je vajíčko zbaveno dědičné informace nacházející se v buněčném jádře. Tato dědičná informace je nahrazena dědičnou informací klonované buňky (Fulka, 2005).

Od roku 1996, kdy se narodila ovce Dolly, první zvíře naklonované ze somatické buňky (Kuehn, 2003), se již podařilo naklonovat řadu dalších savců (Wilmut *et al.*, 1997). V porovnání s jinými asistovanými reprodukčními technologiemi, jako např. embryotransfer či umělá inseminace, je klonování neefektivní. Pouze 1-5 % všech klonovaných embryí přenesených do náhradních matek se vyvine v životaschopného jedince (Wilmut *et al.*, 2002).

U velbloudovitých má klonování pomocí přenosu jádra (nuclear transfer) zvláštní význam z hlediska zdokonalení v genetice. Tato technologie může být použita v produkci zvířat s vysokou mléčnou užitkovostí a nejlepší dostihová zvířata. V Arabských státech Perského zálivu se staly velbloudí dostihy velice lukrativními a jsou důležitou tradiční i ekonomickou aktivitou. V této oblasti již byla několikrát zkoušena technika přenosu jádra somatické buňky (the technique of somatic cell nuclear transfer) (Sansinema *et al.*, 2003; Khatir and Anouassi, 2008; Wani *et al.*, 2009b). Výsledné pokusy byly neúspěšné a to především z omezených základních informací o produkci embryí *in vitro* u velbloudů (Wani *et al.*, 2009a). V posledních letech bylo dosaženo optimalizace technik pro zrání oocytů (Wani and Nowshari, 2005) a byl udělán základ pro studium *in vitro* a *in vivo* vývoje přenosu jádra somatické buňky embryí (Wani *et al.*, 2009a).

Pro vznik prvního klonovaného velblouda (*Camelus dromedarius*) bylo využito přenosu jádra somatické buňky. Dárcovské karyoplasty byly získány z dospělých kožních buněk fibroblastů, kumulovaných buněk nebo fetálních fibroblastů a *in vivo* zralých oocytů získaných z preovulačních folikulů superstimulované samice. Transformovaná embrya byla kultivována po dobu 7 dnů až do vylíhnutí. Vylíhlé blastocysty se nacházely ve fázi předtím, než byly převedeny do synchronizovaných příjemkyň šestý den po ovulaci. Zabřeznutí se podařilo ze všech buněčných typů. Mládě se narodilo z březosti zrekonstruovaného embrya kumulovanými buňkami (viz Obr. 3) a bylo pojmenováno Injaz (Wani *et al.*, 2009a).



Obr. 3: Injaz (první naklonovaný velbloud) se narodila
8.4.2009 v Dubaji (Zdroj: BBC World News, 2009)

2.9. Moderní způsoby péče v chovu velbloudovitých

I když je o velbloudech známo, že jsou vytrvalí a dobře přizpůsobení drsným podmínkám, mezi hlavní úskalí, kterým čelí kočovní pastevci, patří četná onemocnění, která mohou významným způsobem ovlivnit produktivitu velbloudů (Payen, 1990; Brown *et al.*, 1997). Vysoká úmrtnost u velbloudů je během postnatálního období a v době před odstavením (Simpkin, 1985). V Africe (zejména ve východní Africe) byl úhyn mláďat 58-90 %. Kritické období je mezi 2-6 měsícem věku (Schwartz, 1982). Starší velbloudi jednoho roku mají obvykle nižší úmrtnost okolo 5 % za rok, ve srovnání se skotem, ovceři či kozami (Yesihak a Bekele, 2003).

V bývalém státu Sokoto (dnes státy Sokoto, Kebbi a Zamfara) se nachází jedna z největších hospodářsky produkčních oblastí v Nigérii. Velbloudi v této části země (státy Sokoto a Kebbi) jsou z velké části ve vlastnictví fyzických osob s průměrně dvěma až pěti velbloudy ve stádě. V období sucha se početnost stád zvyšuje až na 200 kusů, kdy majitelé velbloudů z okolních zemí migrují za lepšími pastvinami. Studie Chafe *et al.* (2008) se ukázala, že pastevci, kteří si platí moderní veterinární kliniky, mají podstatně nižší úmrtnost ve svých stádech než ti pastevci, kteří používají tradičních léků. Zkoumaní velbloudi byli zejména ve vlastnictví místních lidí a podíleli se na zemědělské práci, dopravě nebo byli zdrojem masa a produkovali mléko (Chafe *et al.*, 2008).

V roce 1986 byla v Dubaji založena Ústřední veterinární výzkumná laboratoř (the Central Veterinary Research Laboratory) za účelem experimentálního výzkumu v reprodukci závodních plemen velbloudů, kontrole nemocí a zajištění kvalitních životních podmínek pro velbloudy. Podle Dr. Wenera, německého mikrobiologa, který se stal ředitelem centra v roce 1987, pomohla práce laboratoře při odstraňování a kontrole nemocí u mnoha velbloudů. Tím se dopomohlo ke zlepšení zdravotního stavu velbloudů, který se trvale zlepšoval, a to nejen ve Spojených arabských emirátech, ale i v Somálsku, Súdánu a Pákistánu. Za cíl si pracovníci laboratoře dali zmapování běžeckých schopností velbloudů a pomoc při produkci závodních zvířat (Sulayman, 1999).

Velbloudovití patří mezi zvířata často chovaná v zoologických zahradách. V České republice se nachází 15 zoologických zahrad a v 10 z nich chovají velbloudy dvouhrbé. Chov velbloudů se stal oblíbeným i mezi laiky.

Ústřední komise pro ochranu zvířat schválila dne 14. 6. 2000 Doporučení - Podmínky chovu savců volně žijících druhů v zajetí. Zvířata by měla být chována v souladu s tímto doporučením. V chovu velbloudů by se mělo dodržovat těchto pravidel. Minimální velikost výběhu pro tři velbloudy musí být 300 m² s navýšením o 50 m² pro každé další zvíře. Lamy krotké (*Lama glama*) a alpaky (*Vicugna pacos*) by měly mít velikost výběhu minimálně 150 m² pro tři zvířata a každé zvíře navíc musí mít o 30 m² více. Chladné počasí snáší velbloudovití dobře a proto není problém je chovat celoročně venku s nutností přístřešku a stáje. Pro ohraničení výběhu stačí plot o výšce 1,5 m pro lamy a u velbloudů stačí jen příkop. Velbloudovití se chovají v malých skupinách a je možné je chovat ve smíšených skupinách s kozami, poníky nebo koňmi Převalského. Velbloudovití jsou skromní v otázce potravy, krmí se senem, v létě trávou, větvemi a granulami jen jako doplněk (Holečková a Dousek, 2006).

2.10. Krystalizace slin

Pravidelné změny v krystalizaci slin během ovulačního cyklu a těhotenství jsou známy u žen (Guida *et al.*, 1993; Guida *et al.*, 1999). Byla provedena studie slin u žen menstrujících, těhotných a žen po klimakteriu. Sliny byly získávány z podčelistní slinné žlázy a zkoumány na rychlost sekrece, obsah vody a vzor krystalizace. Z výsledků vyplynulo, že u těhotných žen byla krystalizace hrubší, než u menstrujících žen. U žen po klimakteriu byl vzor krystalizace ještě hrubší a v jednom případě ke krystalizaci vůbec

nedošlo. Nebyly zjištěny žádné rozdíly mezi vzory krystalizace při proliferační ani vylučovací fázi (Kullander a Sonesson, 1965). Rotta *et al.* (1992) testovali možnost hodnocení plodných a neplodných dnů během menstruačního cyklu pomocí krystalizace slin s využitím minimikroskopu PC 2000 IMPCON. V plodném období ovulačního cyklu autoři zaznamenali krystalické struktury ve slinách v 78,57 %. Autoři analyzovali různé aspekty v ohledu hodnocení vztahu mezi slinami a hladinou gonadotropinů a ovariálních steroidů. Autoři se domnívají, že PC 2000 je vhodným moderním zařízením, které by mohlo rozšířit škálu antikoncepce a zároveň by mohlo pomoci v určení optimálního času pro početí plánovaného těhotenství.

U Holštýnsko-fríského skotu byly provedeny studie o změnách krystalizace cervikálního hlenu a cytologie děložního hrdla u krav v pozdní březosti. Výsledky studie ukázaly, že s blížícím se porodem se zvýšilo množství typické krystalizace v hlenu děložního hrdla. To souvisí se vzestupem plazmatické koncentrace estrogenů a postupným poklesem progesteronu v posledních dvou týdnech před porodem. K výraznému nárůstu míry krystalizace v hlenu děložního hrdla došlo v osmý den do porodu. Z porovnání výsledků krystalizace hlenu děložního hrdla s průměrnou koncentrací estrogenu a progesteronu v plazmě, byl vidět nárůst v míře krystalizace, shodující se vzestupem estrogenu a poklesem plazmatické koncentrace progesteronu 12. den před porodem (Ahmadi *et al.*, 2005).

U psích fen se též zkoušelo zmapování struktur slinné krystalizace během říje a možnost jejího použití pro optimalizaci načasování chovu. Byly zaznamenány různé typy krystalizace během folikulární fáze estrálního cyklu, zkouška však neprokázala dostatečnou citlivost. Proto bylo doporučeno tento test používat jako doplňující metodu v určování plodného období (Pardo-Carmona *et al.*, 2010).

Studie na krystalizaci slin u velbloudů dvouhřbých byla provedena v pražské zoologické zahradě. Sliny byly odebírány pěti samicím, z toho dvě byly březí. Bylo dokázáno, že změny v krystalizaci slin u velbloudů existují a že by mohly souviset s reprodukčním cyklem, ale bylo by zapotřebí dalších studií (Haberová, 2010).

3. Metodika práce

3.1. Literární rešerše

Pro sepsání literární rešerše jsem využívala těchto vědeckých databází: Web of Science, Scopus, PubMed Central. Dále jsem použila stránek odborných organizací: FAO, ITIS.

Jako klíčová slova jsem použila: camels (velbloudi), reproduction (rozmnožování), parturition (porod), breeding (chov), breeding season (období rozmnožování), pregnancy diagnosis (diagnóza březosti), artificial insemination (umělá inseminace), embryotransfer (přenos embryí), saliva (sliny), crystallization (krystalizace).

Citace a reference jsou podle vzoru vědeckého časopisu Applied Animal Behaviour Science (Elsevier).

3.2. Sledovaná zvířata

Odběr vzorků slin byl prováděn v liberecké zoologické zahradě v období od ledna až do května roku 2011. Vzorky jsem odebírala u třech dospělých velbloudů dvouhrbých – jednoho samce a dvou samic a jednoho mláděte - jednoleté samice (podrobnější informace o zvířatech viz Tab. č.1). Zvířata mají venkovní výběh společný s poníky a kozami. Výběh je částečně zatravněný s kamennou zítkou a přístřeškem, který zvířatům poskytuje stín. Za zítkou mají zvířata koryto, do kterého dostávají potravu. Velbloudi mají u výběhu dvě stáje k přenocování.

Tab. č. 1

Jméno	Pohlaví	Věk (2011)	Datum narození	Poslední mláďata v roce	Datum posledního porodu	Matka	Otec
Claudius	M	22	1989	..., 2007, 2008, 2009, 2009			
Genesis	F	19	13.5.1992	..., 2007, 2009, 2011	5.3.2011		
Shakira	F	8	11.4.2003	2008, 2010, 2012	13.3.2012		
Sophia	F	1	24.3.2010			Shakira	Claudius

3.3. Odběr vzorků

Odběry byly prováděny ve spolupráci se zoologem a chovatelem. Postup při odběru vzorků byl následující:

Velbloudovi se nabídla potrava (mrkev, rohlík) a následně se mu odebraly sliny.

Na čistá odmaštěná podložní sklička jsem rozetřela sliny odebrané pomocí plastových míchátek. Každé podložní sklíčko bylo v levém rohu označeno datem a jménem zvířete.

Vzorky se nechaly přirozeně zaschnout asi 5 minut.

3.3. Hodnocení vzorků

Všechny vzorky byly hodnoceny mikroskopicky (zvětšení 300x). U vzorků se hodnotila následující kritéria: typ krystalizace, zbobtnalost, rozpadlost, kvalita (roztěru) a pokrytí.

Typ krystalizace byl hodnocen dle upravené metodiky Haberové (2010):

0- žádná krystalizace

A- atypická

V- větvičkovitá

VJ- větvičkovito-jedlovitá

VK- větvičkovito-kaprad'ovitá

J- jedlovitá

JK- jedlovito-kaprad'ovitá

K- kaprad'ovitá

M- mřížkovaná

T- tečkovaná

Zbobtnalost krystalizace byla hodnocena: 0 - nezbobtnalá, 1 - mírně zbobtnalá, 2 - velmi zbobtnalá.

Rozpadlost krystalizace byla hodnocena: 0 - celistvá, 1 - mírně rozpadlá, 2 - rozpadlá, perličkovitá.

Kvalita roztěru byla hodnocena jako: dobrá, horší, kontaminovaný vzorek (potravinově špinavé sliny).

Pokrytí krystalizace ve vzorku bylo hodnoceno následovně:

10 – velmi řídká (obtěžně naleznutelná ve vzorku)

20 - řídká

30 - poměrně častá

40 - velmi častá

50 - téměř po celém roztěru

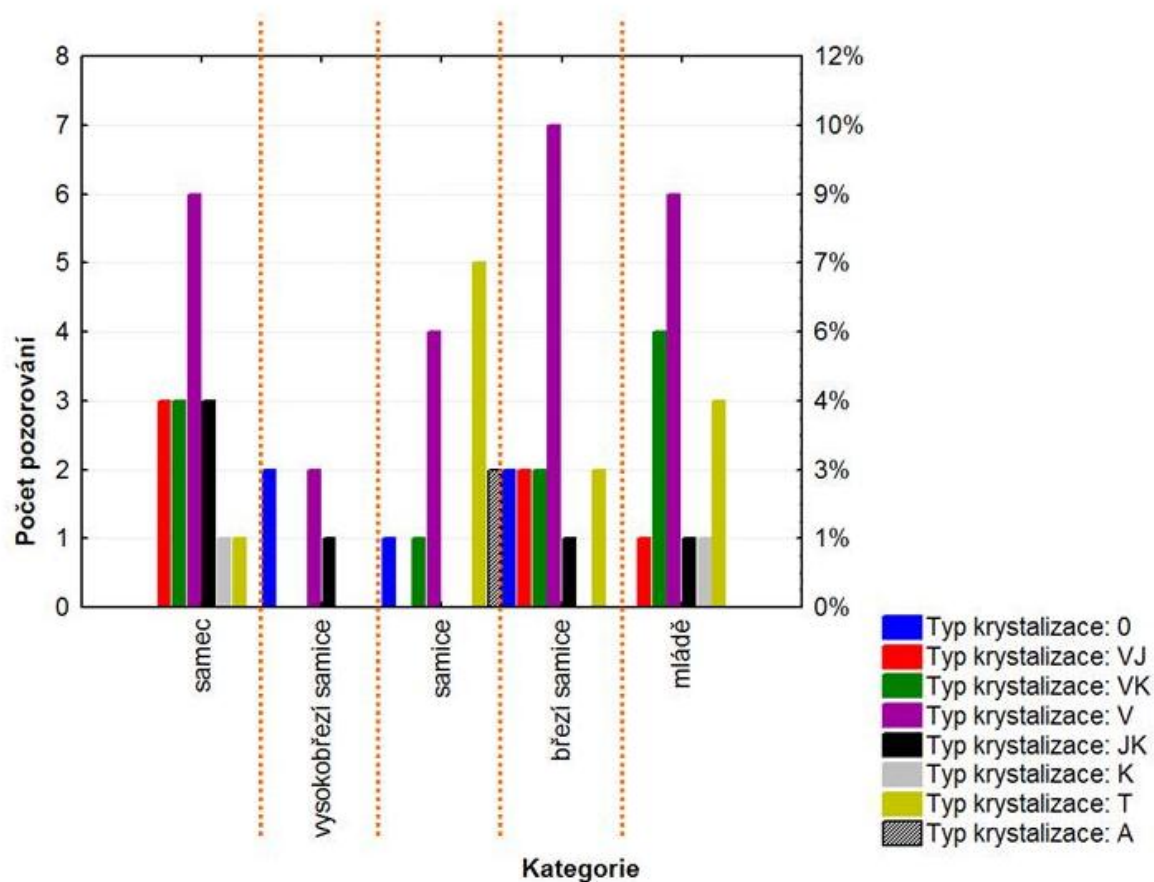
Ke statistickému zhodnocení byla zvířata v jednotlivých fázích reprodukce rozdělena do kategorií: samec (Claudius), mládě (Sofie), vysokobřezí samice (3 měsíce před porodem), březí samice (1. polovina březosti) a samice (samice v cyklu a samice, u kterých není možné určit aktuální stav).

Statistická analýza byla provedena v programu STATISTICA CZ 9.1 (StatSoft, Inc.). Rozdíly mezi kategoriemi zvířat byly ověřeny pomocí Pearsonova chí-kvadrátu. Pro otestování vztahu typu krystalizace, kategorie zvířat nebo kvalitou vzorku s hustotou pokrytí, zbobtnalostí nebo rozpadlostí krystalizace byla použita Kruskal-Wallisova ANOVA.

4. Výsledky

Celkem jsem odebrala 67 vzorků. Zaznamenány byly všechny typy krystalizace. Nejčastěji byla zaznamenána větvičkovitá krystalizace (37,31 %), dále také tečkovaná a větvičko-kaprad'ovitá (16,42 % a 14,93 %). Mezi kategoriemi nebyl žádný statisticky významný rozdíl (Pearsonův chí-kvadrát: 36,2282, sv = 28, p = 0,136924).

Větvičkovitá krystalizace byla nejčastějším typem krystalizace u samce (35,29 %), březí samice (43,75 %) a mláděte (37,50 %) (viz Obr. 4). U vysokobřezí samice se vyskytovala pouze větvičkovitá a jedlovito-kaprad'ovitá (40,00 % a 20,00 %), ostatní vzorky žádný typ krystalizace neobsahovaly. U kategorie samic převažovala tečkovaná a větvičkovitá krystalizace (38,46 % a 30,77 %). Atypická krystalizace se vyskytla pouze u samic.



Obr. 4: Graf výskytu jednotlivých typů krystalizace u různých kategorií zvířat.

Většina vzorů (95,52 %) byla dobré kvality. Pouze dva vzorky byly kontaminované a jeden roztěr byl horší kvality. Nejčastěji se vyskytovaly krystaly mírně zbobtnalé (56,60 %) a mírně rozpadlé (50,94 %). Hustota pokrytí se vykytovala převážně kolem středních hodnot (21,05 % pro řídké pokrytí, 38,60 % pro poměrně častou a 26,32 % pro velmi častou krystalizaci ve vzorku). Vztah mezi typem krystalizace, kategorií zvířat nebo kvalitou vzorku s hustotou pokrytí, zbobtnalostí nebo rozpadlostí krystalizace nebyl v žádném z testů potvrzen (Kruskal-Wallisova ANOVA, $p < 0.05$).

5. Diskuze

Velbloudi a lamy jsou zvířata velmi dobře adaptovaná na obtížné podmínky svého výskytu. Z tohoto důvodu jsou nejčastěji chováni pastevci, díky své nenáročnosti a značnému užítku, který z nich pastevci mají. Oproti jiným hospodářsky využívaným zvířatům mají velbloudi využívaní pro produkci mléka ten nedostatek, že délka březosti je dlouhá a samice relativně pozdě pohlavně dospívají. Proto se v posledních letech začaly rozvíjet nové moderní metody v reprodukci i u velbloudovitých.

Pro diagnostiku březosti se u velbloudovitých využívá několik metod. Vzhledem k četným výskytům předčasné ztráty embryí u velbloudovitých je zapotřebí provádět další kontrolní vyšetření na 3 měsíce březosti (Skidmore, 2000).

U velbloudích samic se délka estrálního cyklu pohybuje mezi 16 až 22 dny, samotná říje trvá 3 až 4 dny (Khanvilkar *et al.*, 2009). Je pozoruhodné, že u samic lam se uvádí délka samotné říje 36 dní, z pozorování San-Martin *et al.* (1968). To je přibližně 9krát delší doba než u velbloudů.

Podle studie FAO (1994) patří k charakteristickému chování samic v říji rozprašování moči pomocí ocasu. Toto chování bylo v našich podmínkách v zoologických zahradách sledováno převážně u samic.

Často bývá nesrovnalost ve vědeckých člancích ohledně přítomnosti potních žláz u velbloudovitých. I když již v roce 1962 Lee a Schmidt-Nielsen dospěli po pitvě velblouda jednohrbého k závěru, že velbloudi potní žlázy mají, stále je možné se narazit na tvrzení zcela opačná, jako tomu je v případě studie *Reproduction in Camel* (Khanvilkar *et al.*, 2009).

Problematika rozmnožování velbloudů je v současné době řešena pokusy moderního využití moderní technologie pro rozmnožování. U velbloudovitých však bude zapotřebí vyřešit ještě několik nedostatků, které brání intenzivnímu rozvoji těchto moderních technologií.

Z mých výsledků není jednoznačně určitelné, zdali zvíře bylo či nebylo v říji. Možným nedostatkem může být relativně malý počet odebraných vzorků (67) a rozdílný věk zvířat. V tomto stádě je neustále přítomen samec mezi samicemi, což může mít také vliv. Jedno zvíře nebylo plně pohlavně dospělé, přesto se u něj vyskytovala stejná krystalizace jako u březí samice a dospělého samce. Vysokobřezí samice byla zřejmě plašší z důvodu blížícího se porodu. U této samice se mi několikrát nepovedlo vzorek

odebrat a vzorky slin obsahovaly pouze dva typy krystalizace: větvičkovitou a jedlovito-kaprad'ovitou.

Jelikož se objevovaly stejné typy krystalizace u samců i u samic je možné se proto domnívat, že krystalizaci neovlivňují pouze samičí hormony (progesteron, estrogeny: estradiol, estriol, estron), ale i samčí (testosteron).

Vzhledem k nízkému počtu zkoumaných zvířat by bylo chybou domnívat se, že z pokusu vyplývá nějaký směrodatný závěr a není možné z krystalizace slin u velbloudů říji či březost detekovat. Metoda krystalizace slin ještě není u velbloudů na takové úrovni, aby se dala úspěšně použít v praxi na určení jejich říje.

6. Závěr

Velbloudovití nepatří mezi zvířata s vysokou reprodukční schopností. Přírodní podmínky, ve kterých žijí, nejsou pro rozmnožování těchto sudokopytníků nijak přívětivé. Velbloudi i lamy patří mezi polyestrycká zvířata. Pohlavní dospělosti dosahují až v pozdním věku a období rozmnožování je relativně krátké.

Velbloudovití mají pro obyvatele Jižní Ameriky, Blízkého východu, severní Afriky, střední Asie a Austrálie značný význam z hlediska produkce mléka, masa, srsti a dostihových závodů. Proto se začaly v posledních letech provádět výzkumy na zlepšení rozmnožovacího potenciálu velbloudovitých. Stále důležitější se stává metoda embryotransferu, u které je však ještě zapotřebí zlepšit synchronizaci superovulace dárkyně a příjemkyně. Umělá inseminace má též svůj význam, komplikací ale zůstává obtížnost sběru semene, které je rosolovité povahy. Z hlediska přenosu pohlavních chorob je lepší k detekci říje a vyvolání ovulace před procesem umělé inseminace raději využít exogenního podání hormonů než kastrovaného samce. Zájem o uplatnění nových reprodukčních technologií značně vzrůstá.

Možnost použití krystalizace slin pro potřeby diagnostiky reprodukčního stavu je potvrzena především u lidí. Vzhledem k neinvazivnímu charakteru této metody, můžeme v budoucnu předpokládat, její větší rozšíření a využití v zájmových chovech. Vzhledem k obtížné detekci říje u velbloudů by možnost použití této jednoduché metody mohla přispět k jejich efektivnějšímu rozmnožování.

Z výsledků mého pokusu vyplynulo, že u velbloudů dvouhrbých se vyskytují všechny typy krystalizace popsané Ing. Haberovou (Haberová, 2010). Jelikož mezi jednotlivými kategoriemi zkoumaných zvířat nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v typu krystalizace, nebyla přímá souvislost mezi krystalizací slin a reprodukčním stavem velbloudů v liberecké zoologické zahradě potvrzena.

7. Použitá literatura

Adams, G.P., Sumar, J., Ginther, O.J., 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). J. Repris. Fertil. pp. 535–545.

Adams, G.P., Bergfelt, D.R., Collins, C.W., Ratto, M.H., 2009. Artificial insemination in South American camelids and wild equids. Theriogenol. 71, 8-107.

Ahmadi, M.R., Kafi, C.M., Ghodrat, C.M., 2005. Crystallization and the number of neutrophils increase in the cervical mucus as parturition approaches in dairy cows. Comp. Clin. Path. 14, 72-75.

Almquist, J.O., 1969. The Artificial Insemination in Farm Animals. 4. revised ed. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, India. pp. 98–101.

Arthur, G.H., Tigani, A.R., 1990. Camel reproduction in Saudi Arabia. New facts from field, abattoir and clinic, In: Proceedings of the Workshop on “Is It Possible to Improve the Reproductive Performance of the Camel”? Paris. s. 23.

Artur, G.H., A/Rahim, A.T., Al Hindi, A.S., 2006. 7. Reproduction and genital diseases of the camel. British Veterinary Journal. 141, 650-659.

Banerjee, S.P., 1974. Comparative efficiency of different diagnostic techniques for pregnancy in camels (*Camelus dromedaries*). Thesis University of Udaipur. s. 23.

Banerjee, S.R., Vyas, K.K., Pareek, P.K., *et al.*, 1981. Note on the clinical diagnosis of early pregnancy in camel. Indian J. Anim. Sci. 51, 909-910.

BBC News, 2009. First camel clone born in Dubai. UK. 14. 4. 2009. [cit. 2012-04-30]. URL <<http://news.bbc.co.uk/2/hi/science/nature/7998505.stm>>.

Benirschke, K., 2007. Camelidae (Bactrian camel, dromedary, guanaco, llama, vicuña, alpaca) *Camelus bactrianus*, *C. dromedarius*, *Lama guanicoe*, *L. glama*, *L. pacos*, *Vicugna vicugna*. In: Comparative Placentation, Benirschke K. (Ed.). International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org), Last updated: 1-4-2007.

- Bravo, P.W., Enriquez, E., Ordoñez, C., 1997. The effect of trypsin and three extenders on alpaca semen. *Alpaka's*, 6 (1997). pp. 19-21.
- Bravo, P.W., Flores, U., Garnica, J., Ordoñez, C., 1997. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Theriogenology*. 47, 619–626.
- Bravo, P.W., Skidmore, J.A., Zhao, X.X., 2000. Reproductive aspects and storage of semen in Camelidae. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 173-193.
- Brown, B.W., 1999. A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 169-195.
- Brown, N., Debebe, D., Haphura, R., 1997. A preliminary assessment of camel production in pastoral region of Ethiopia. A report of collaboration between the MOA, Ethiopia and wild life information Network. The Royal Veterinary College, London, UK. pp. 6-7.
- Burgemeister, R.E., 1975. Elevage de chameaux en Afrique du Nord. Eschborn, Allemagne, GTZ. s. 86.
- Calderón, W., Sumar, J., Franco, E., 1968. Avances en la inseminación artificial de las alpacas (*Lama pacos*). *Rev. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor San Narcis.* 22, 19–35.
- Collins, L., 2011. Top racers to preventing extinction, Dubai camel lab has lofty goals. *The National*, 7/2011. [cit. 2012-05-01]. URL <<http://www.thenational.ae/news/uae-news/science/top-racers-to-preventing-extinction-dubai-camel-lab-has-lofty-goals>>.
- Cui, P., Ji, R., Ding, F., Qi, D., Gao, H., Meng., H., Yu, J., Hu, S., Zhang, H., 2007. A complete mitochondrial genome sequence of the wild two-humped camel (*Camelus bactrianus ferus*): an evolutionary history of camelidae. *BMC Genomics*. 8, 241-264.
- Deen, A., 2008. Evaluation of tail curling test for diagnosis of pregnancy in female camels through scientific means. *J Camel Pract Res.* 15, 219-222.
- Deen, A., Sumant, V., Sahani, M.S., 2003. Semen collection, cryopreservation and artificial insemination in the dromedary camel. *Anim. Reprod. Sci.* 77, 223- 233.
- Del Campo, M.R., Del Campo, C.H., Adams, G.P., Mapletoft, R.J., 2000. The application of new reproductive technologies to South American camelids. *Theriogenology*. 43, 21-30.

- Doherty, T., 2011. New World Camelids. Large Animal Clinical Sciences Publications and Other Works. University of Tennessee, Knoxville. s. 2.
- Durrant, B. S., 2009. The importance and potential of artificial insemination in CANDES (companion animals, non-domestic, endangered species). *Theriogenology*. 71, 113–122.
- Edwards, G.P., Zeng B., Saalfeld, W.K., Vaarzon-Morel, P., 2010. Evaluation of the impacts of feral camels. *Rangeland J.* 32, 43-54.
- El-Hassanein, E.E., El-Bahrawy, K.A., Zagloul, A.A., 2010. Artificial insemination and ovulation in dromedary she-camel. *Nature and Science*. 8, 9.
- Elias, E., Bedrak, E., Yagil, R., 1984. Estradiol concentrations in serum of the one-humped camel during the various reproductive stages. *Gen. Comp. Endocr.* 56, 258-264.
- Elias, E., Cohen, D., 1986. Parturition in the camel (*Camelus dromedarius*) and
- Elliot, F.I., 1961. Artificial insemination of a bactrian camel (*Camelus bactrianus*). *Int. Zoo. Year Book*. 3, 94-95.
- FAO, 1994. A manual for primary animal health care worker. Chapter 7: Camels, llamas and alpacas. [online]. Rome. [cit. 2011-12-20]. URL <<http://www.fao.org/docrep/T0690E/T0690E00.htm>>.
- FAO, 2012. FAOSTAT: Trade - Live animals. [cit. 2012-03-27]. URL <<http://faostat.fao.org/site/604/default.aspx#ancor>>.
- Farah, K.O., Nyariki, D.M., Ngugi, R.K., Noor, I.M., Guliye, A.Y., 2004. The Somali and the Camel: Ecology, Management and Economics. *Kamla-Raj 2004 Anthropologist*. 6, 45-55.
- Fernández-Baca, S., 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 33, 307-323.
- Fernández-Baca, S., 1995. Genetic erosion of camelidae. *Animal genetic resources information FAO Publ.* 14, 252-261.

- Foote, R.H., 2002. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY. 14, 853-880.
- Fowler, M.E., 1989. Medicine and Surgery of South American Camelids. Llama, Alpaca, Vicuña, Guanaco. Iowa State University Press, Ames. s. 560.
- Fulka, J., 2005. Klonování savčího embrya (1) Omezení a perspektivy. Živa. 4, 146.
- Gauthier-Pilters, H., Dagg, A., 1981. The camel, its evolution, ecology, behavior, and relationship to man. University of Chicago Press. 12, 208.
- Gray, A.P., 1954. Mammalian Hybrids. Technical Communication, No. 10, Commonwealth Bureau of Animal Breeding and Genetics, Edinburgh, Bucks, England.
- Gregg, P., Adams, D.V.M., 2007. Theriogenology in Llamas and Alpacas. Veterinary Rounds. 7, 10.
- Guernec, A., Berri, C., Chevalier, B., Wacrenier-Cere, N., Le Bihan-Duval, E., Duclos, M.J., 2003. Muscle development, insulin like growth factor-I and myostatin mRNA levels in chickens selected for increased breast muscle yield. Growth Hormone and IGF Research. 13, 8-18.
- Guida, M., Barbato, M., Bruno, P., Lauro, G., Lampariello, C., 1993. Salivary ferning and the menstrual cycle in woman. Clin. Exp. Obstet. Gynecol. 20, 48-54.
- Guida, M., Tommaselli, G., Palomba, S., Pellicano, M., Moccia, G, Di Carlo, C., Nappi, C., 1999. Efficacy of methods for determining ovulation in a natural family planning program. Fertil. Steril. 72, 900-904.
- Haberová, T., 2010. A Preliminary Study of Saliva Crystallization in Bactrian Camels (*Camelus bactrianus*). In Fernández Cusimani, E. & Havrland, B. (Ed.): 4 th Scientific Conference of Institute of Tropics and Subtropics, 2010. Sustainable Use of Natural Resources in Tropics and Subtropics. Praha: ČZU v Praze. p. 28.
- Haberová, T., Kolářková, K., Lukešová, D., 2011. Pregnancy Diagnosis by Chemical Tests of Urine in Camels (*Camelus bactrianus*). ČZU, ITS, KCHZP. Podtyp: Příspěvek ve

sborníku (mimo kategorie RIV). [cit. 2012-04-04]. URL <<http://home.czu.cz/haberova/publikace/>>.

Holečková, D., Dousek, J., 2006. Podmínky chovu savců volně žijících druhů zvířat: Doporučení Ústřední komise pro ochranu zvířat [online]. 3. Vydání. 2006-09-21 [cit. 2012-04-20]. URL <http://www.mze.cz/UserFiles/File/UKOZ/Dop_savci.htm>.

Hussein, M.A., 1989. Husbandry and management of camels in Somalia, Ethiopia, Kenya and Djibouti. Options Méditerranéennes - Série Séminaires. 37-44.

Chafe, U.M., Musa, A., Dogara, B., 2008. Studies of some health aspects of traditional camel management in Northwestern Nigeria. Livestock Research for Rural Development. 20, 31. [online]. [cit. 2012-04-20]. URL <<http://www.lrrd.org/lrrd20/2/chaf20031.htm>>.

Chaudhary, Z.I. 1995. Artificial insemination in the camel: problems and prospects: a review. J. Camel Pract. Res. 2, 17-26.

ITIS, 2011. Integrated Taxonomic Information System: Camelus [online]. [cit. 2011-12-26]. URL <<http://www.itis.gov/>>.

IUCN, 2008. 2008 IUCN Red List of Threatened Species. [cit. 2012-04-04]. URL <<http://www.iucnredlist.org>>.

Johnson, L.W., 1989. Llama reproduction. L.W. Johnson (Ed.), Llama Medicine, The Veterinary Clinics of North America, Saunders, Philadelphia, PA. pp. 159–182.

Jochle, W., Merkt, H., Sieme, H., Musa, B., Baldreldin, H., 1990. Sedation and analgesia with detomidine hydrochloride (Domosedan) in camelids for rectal examinations and electroejaculation. Proc. Unite de Coordination pour l'Elevage Camelin. Workshop: Is It Possible to Improve the Reproductive Performance of the Camel. Paris. pp. 263–271.

Khanvilkar, A.V., Samant, S.R., Ambore, B.N., 2009. Reproduction in Camel. Veterinary World. 2, 72-73.

Khatir, H., Anouassi, A., 2008. Preliminary assessment of somatic cell nuclear transfer in the dromedary (*Camelus dromedarius*). Theriogenology. 70, 71-77.

Koford, C.B., 1957. The vicuña and the puna. Ecol. Monogr. 27, 153–219.

Kuehn, B.M., 2003. Goodbye, Dolly; first cloned sheep dies at six years old. JAVMA News. [cit. 2012-04-15]. URL <<http://www.avma.org/onlnews/javma/apr03/030415f.asp>>.

Kullander, S., Sonesson, B., 1965. Studies on saliva in menstruating, pregnant and post-menopausal women. Acta. Endocrinol-Cop. 48, 329-336.

Larson, J.; Ho, J. 2004 : Information Resources on Old World Camels: Arabian and Bactrian 1941-2004 [online]. Animal Welfare Information Center. Prosinec 2004 [cit. 2012-08-04]. URL: <<http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/Camels/camels.htm>>.

Lee, D.G., Schmidt-Nielsen, K., 1962. The skin, sweat glands and hair follicles of the camel (*Camelus dromedarius*). Anat. Rec. 143, 71.

Leon, J.B., Smith, B.B., Timm, K.I., LeCren, G., 1990. Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama glama*). J. Reprod. Fertil. 88, 503–511. In Brown, B.W., 1999. A review on reproduction in South American camelids. Anim. Reprod. Sci. 58, 169-195.

Lin, Z., Nomura, O., Hayashi, T., Wada, Y., Yasue, H., 2001. Characterization of a SINE species from vicuña and its distribution in animal species including the family Camelidae. Mamm. Geonome. 12, 305-308.

Machatková, M., Horáková, J., Hanzalová, K., 2005. Produkce embryí hospodářských zvířat in vitro a jejich využití pro embryotransfer. Náš chov. 5, 16-18.

Machatková, M., Horáková, J., Hanzalová, K., Peslarová Z., 2004. Vývoj biotechnických metod a využití produkce embryí skotu in vitro. In: Seminář Dvacet let přenosu embryí skotu v České republice. Litomyšl, 13. 5. 2004, Sborník VÚCHS Rapotín. pp. 30-41.

Marai, I.F.M., Zeidan, A.E.B., Abdel-Samee, A.M., Abizaid, A., Fadiel, A., 2009. Camels reproductive and physiological performance traits as affected by environmental conditions. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 10, 129 – 149.

Mareš, R.G., 1954. Animal husbandry, animal industry and animal disease in the Somaliland Protectorate. Brit. Vet. J. 110, 411–423.

- Marie, M., Anouassi, A., 1987. Induction of luteal activity and progesterone secretion in the non-pregnant one-humped camel (*Camelus dromedarius*). J. Reprod. Fert. 80, 182-192.
- McEvoy, T.G., Kyle, C.E., Young, P., Adam, C.L., Bourke, D.A., 1992. Aspects of artificial breeding and establishment of pregnancy in South American camelids. Proc. 12th Int. Congr Anim Reprod. The Hague. 4, 63–65.
- McKinnon, A.O., Tinson, A.H., Nation, G., 1994. Embryotransfer in dromedary camels. Theriogenology. 41, 145-150.
- Mogrojevo, D., 1952. Estudios del semen de la alpaca. BS Thesis, Fac. Med. Vet., Lima. pp. 21.
- Moloney, J., 2005. The Camel Book. Australia: Tangentyere's Land & Learning
- Moscoso, R., 1996. Características seminales y número de contracciones pene-uretrales en el eyaculado de alpacas (*Lama pacos*) y lamas (*Lama glama*). BS Thesis, Fac. Agron. Zootec., Univ. Nac. San Antonio Abad, Cusco, Peru. s. 89.
- Moseley, G., 1995. Commercial management of small Camelidae in northern Europe. Vet. Annu. 35, 320-330.
- Musa, B.E., Abusineina, M.E., 1978. Clinical pregnancy diagnosis in the camel and a comparison with bovine pregnancy. Vet. Rec. 102, 7-10.
- Musa, B.E., Sieme H., Merkt, H., Hagoa, B., Cooper, M.J., Allend, W.R., Jöchle, W., 1993. Manipulation of reproduction functions in male and female camels. Anim. Reprod. Sci. 33, 289-306.
- Nawito, M.F., Shalash, M.R., Hoppe, R., Rakha, A.M., 1967. Reproduction in female camel. Bull. Anim. Sci. Res. Inst. Cairo. 2, 82.
- Neely, D.P., Bravo, P.W., 1997. Reproductive evaluation and infertility in the male llama and alpaca. In: Deen, A., Vyas S., Sahani, M.S., 2001. Semen collection, cryopreservation and artificial insemination in the dromedary camel. Anim. Reprod. Sci. 77, 223-233.
- Niasari-Naslaji, A., Nikjou, D., Skidmore, J.A., Moghiseh, A., Mostafaey, M., Razavi, K., Moosavi-Movahedi, A.A., 2009. Interspecies embryo transfer in camelids: the birth of the

first Bactrian camel calves (*Camelus bactrianus*) from dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Reprod. Fert. Develop.* 21, 333-337.

Novoa, C., 1968. Reproduction in Camelidae. *J. Reprod. Fertil.* 22, 3-20.

Novoa, C., 1970. Reproduction in the Camelidae. A Review. *J. Reprod. Fertil.* 32, 3-20.

Novoa, C.M., 1989. Improvement of South American Camelids. *Rev. Bras. Genet.* 12, 123-135.

Odbileg, R., Konnai, S., Ohashi, K., Onuma, M., 2005. Molecular cloning and phylogenetic analysis of inflammatory cytokines of *Camelidae* (llama and camel). *J. Vet. Med. Sci.* 67, 921-925.

Ohri, S.P., Joshi, B.K., 1961. Composition of camel milk. *Indian Vet. J.* 38, 514–516.

Pacheco, C., 1996. Efecto de la tripsina y colagenasa sobre el acrosoma espermatozoide y su relacion con la fertilidad del semen de alpaca. MVZ Thesis, Prog. Med Vet. Zootec. Univ. Catol. Santa Maria, Arequipa, Peru. s. 52.

Pardo-Carmona, B., Moyano, M.R., Fernández-Palacios, R., Pérez-Marín, C.C., 2010. Saliva crystallisation as a means of determining optimal mating time in bitches. *J. Small Anim. Pract.* 51, 437-442.

Part A: Physiology. 84, 413-419.

Payen, W.J.A., 1990. *An Introduction to Animal Husbandry in the Tropics*, Tropical Agriculture Series, New York, USA.

Program. URL <<http://www.schools.nt.edu.au/tlcland/publications/Camel%20Book.pdf>>.

Purohit, G.N., 1999. Biotechnologies in camelid reproduction: Current status and future prospectives. *J. Camel Pract. Res.* 6, 1-13.

Quan, J.X., Zhang, Y.P., Han, J.L., Men, Z.M., 2000. Genetic diversity of mtDNA of domestic camels (*C. bactrianus*) in China. (In Chinese). *Yi Chuan Xue Bao.* 27, 383-390.

Rotta, L., Matěchová, E., Černý, M., Pelák, Z., 1992. Determination of the fertile period during the menstrual cycle in women by monitoring changes in crystallization of saliva with the PC2000 IMPCON minimicroscope. *Cesk. Gynecol.* 57, 340-352.

San-Martin, M., Copaira, M., Zuniga, J., Rodreguez, R., Bustinza, G., Acosta, L., 1968. Aspects of reproduction in the alpaca. *J. Reprod. Fertil.* 16, 395–399. In Brown, B.W., 1999. A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 169-195.

Sansinena, M.J., Taylor, S.A., Taylor, P.J., Denniston, R.S., Godke, R.A., 2003. Production of nuclear transfer llama (*Lama glama*) embryos from in vitro matured llama oocytes. *Cloning Stem. Cells.* 5, 191-198.

SCARM (Standing Committee on Agriculture and Resource Management), 1997. The Camel (*Camelus dromedarius*) 2nd edition. Model Code of Practice for the Welfare of Animals. Collingwood (Victoria). CSIRO Publishing. s. 18.

Screenan, J.M., Beeham, D., 1974. Egg transfer in the cow: pregnancy rate and egg survival. *J. Reprod. Fertil.* 41, 497–508.

Seidel, G.E., Seidel, S.M., 1991. Training manual for embryo transfer in cattle. by [online]. Rome: FAO. [cit. 2012-03-25]. URL <<http://www.fao.org/DOCREP/004/T0117E/T0117E00.HTM>>.

Shalash, M.R., 1979. Utilisation of camel meat and milk in human nourishment. In: IFS Symposium. Camels. Sudan. pp. 285–306.

Schwartz, H.J., Wilson, A.J., Dolan, A.J., Evans, J.O., Fairhall, J., 1982. Productivities of camels (*Camelus dromedaries*) in selected areas of Kenya. *Der Praktische Tierarzt. Sonderdruck.* pp. 63-964.

Silbermayr, K., Orozco-terWengel, P., Charruau, P., Enkhbileg, D., Walzer, C., Vogl, C., Schwarzenberger, F., Kaczensky, P., Burger, P.A., 2010. High mitochondrial differentiation levels between wild and domestic Bactrian camels: a basis for rapid detection of maternal hybridization. Department of Biomedical Sciences, Institute of

Animal Breeding and Genetics, University of Veterinary Medicine, Vienna A-1210, Austria. *Anim. Genet.* 41, 315-318.

Simpkin, S.P., 1985. The importance of camels to subsistence pastoralist In Kenya. Camel disease and productivity in the arid lands of Northern Kenya. Integrated projects in Arid lands (IPAL) Technical report Number E-7, Germany. pp. 163-192.

Singh, M.B., Bharadwaj, M.B., 1978. Morphological, changes in the testis and epididymis of camels (*Camelus dromedarius*). *Acta. Anat.* 101, 275-279.

Skidmore, J.A., 2000. Pregnancy Diagnosis in Camels. *IVIS.* s. 25.

Skidmore, J.A., 2003. The main challenges facing camel reproduction in the 21st century. 61, 37-47.

Skidmore, J.A., 2005. Reproduction in dromedary camels: an update. Camel Reproduction Centre, Dubai. *Anim. Reprod. Sci.* 2, 161-171.

Skidmore, J.A., Billah, M., 2005. Assisted reproduction in camels. IOS Press Amsterdam. pp. 115-120.

Skidmore, J.A., Billah, M., Allen, W.R., 1996a. The ovarian follicular wave pattern and induction of ovulation in the mated and non-mated one-humped camel (*Camelus dromedaries*). *J. Reprod. Ferttil.* 106, 185-192.

Skidmore, J.A., Billah, M., Binns, M., Short, R.V., Allen, W.R., 1999. Hybridizing Old and New World camelids: *Camelus dromedarius* x *Lama guanicoe*. *Proc. Roy. Soc. London. Proc. Biol. Sci.* 266, 649-656.

Skidmore, J.A., Wooding, F.B.P., Allen, W.R., 1996b. Implantation and early placentation in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Placenta.* 17, 253-262.

Smith, C.L., Peter, A.T., Pugh, D.G., 1994. Reproduction in llamas and alpacas: a review. *Theriogenology.* 41, 573-592.

some behavioral aspects of their newborn. *Comparative Biochemistry and Physiology*

- Speedy, A.W. , 1999 (Editor). World Animal Review, verze 92-1999/1. [online] FAO [cit. 2012-03-01]. URL <<http://www.fao.org/docrep/X1700T/X1700T00.htm>>.
- Sucapuca, V., 1991. Características físicas del semen de la alpaca obtenido por el método del preservativo. MVZ Thesis, Univ. Nac. Altiplano, Puno, Peru. s. 49.
- Sulayman, K., 1999. Camel Racing in the Gulf. *Anthropos*. pp. 85-106.
- Sumar, J., 1985. Reproductive physiology in South American Camelids. Butterworths, London. pp. 81–95.
- Sumar, J., 1988. Removal of the ovaries or ablation of the corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. *Acta Vet. Scand., Suppl.* 83, 133-141. In Brown, B.W., 1999. A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 58, 169-195.
- Sumar, J., Leyva, V., 1981. Colección de semen mediante vagina artificial en la alpaca (*Lama pacos*). Resúmenes IV Conv. Int. Sobre Camelidos Sudamericanos, Punta Arenas. s. 3.
- Sumar, J.B., 1999. Reproduction in female South American domestic camelids. *J. Reprod. Fertil.* 54, 169-178.
- Tibary, A., Anouassi, A., 1997. *Theriogenology in Camelidae*. Abu Dhabi Printing Press Mina UAE. 1. ed. Ministry of Agriculture and Information. pp. 49–74.
- Tibary, A., Anouassi, A., Sghiri, A., 2005. Factors affecting reproductive performance of camels at the herd and individual level. *Desertification Combat and Food Safety: the Added Value of Camel Producers*. 362, 97-114.
- Tingari, M.D., 1986. Studies on camel semen. I. Electroejaculation and some aspects of semen characteristics. *Anim. Reprod. Sci.* 12, 213-222.
- Tulgat, R., Schaller, G. B., 1992. Status and distribution of wild Bactrian camels, *Camelus bactrianus ferus*. *Biol. Conserv.* 62, 11-19. In SCHALLER, G.B., 1998. *Wildlife of the Tibetan steppe*. 1st edition. Chicago (Illinois), University of Chicago Press. s. 373.

- Wani, N.A., Nowshari, M.A., 2005. Kinetics of nuclear maturation and effect of holding ovaries at room temperature on in vitro maturation of camel (*Camelus dromedarius*) oocytes. *Theriogenology*. 64, 75-85.
- Wani, N.A., Skidmore, J.A., Wernery, U., 2009a. Preliminary studies on the development of reconstructed embryos after nuclear transfer in dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Reprod. Fert. Dev.* 21, 128.
- Wani, N.A., Wernery, U., Hassan, F.A.H., Wernery, R., Skidmore, J.A., 2009b. Production of the First Cloned Camel by Somatic Cell Nuclear Transfer. *Biol. Reprod.* 82, 373-379.
- Wheeler, J.C., 1995. Evolution and present situation of the South American Camelidae. *Biol. J. Linn. Soc.* 54, 271-295.
- Wildt, D.E., Pukazhenthil, B.S., Brown, J.L., Monfort, S., Howard, J.G., Roth, T.L., 1995. Spermatology for understanding, managing and conserving rare species. *Reprod. Fert. Develop.* 7, 811-824.
- Wilmut, I., Beaujean, N., De Sousa, P.A., Dinnyes, A., King, T.J., Paterson, L.A., Wells, D.N., Young, L.E., 2002. Somatic cell nuclear transfer. *Nature*. 419, 583-587.
- Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J., Campbell, K.H., 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 385, 810-813.
- Wilson, R.T., 1984. *The Camel*. Harlow (UK): Longman Group. p. 223.
- Wilson, R.T., 1998. *Camels*. Basingstoke, London. pp. 108-115.
- Wilson, R.T., 1998. The one-humped camel in the world. *Options Méditerranéennes - Série SCminaires*. 2, 15-17.
- Yagil, R., 1982. *Camels and camel milk* [online]. Rome: FAO. [cit. 2012-02-29]. URL <<http://www.fao.org/DOCREP/003/X6528E/X6528E00.htm#TOC>>.
- Yagil, R., 1985. *The Desert Camel: Comparative Physiological Adaptation*. Karger Edition, London. s.163.

- Yagil, R., 1988. Endocrine involvement in adaptation to heat and desiccation. *Exp. Clin. Endocrinol.* 7, 131-137.
- Yagil, R., 2006. Reproductive processes in camels (*Camelus dromedarius*). *Isr. J. Vet. Med.* 61, 52-55.
- Yagil, R., Etzion, Z., 1980. The effect of drought conditions on the quality of camels' milk. *J. Dairy. Res.* 47, 159–166.
- Yagil, R., Zagorski, O., Van Creveld, C., 1994. Science and camel's milk production. Ben-Gourion University of the Negev, Faculty of Health Sciences, Unit of Physiology, Israel.
- Yasin, S.A., Abdul-Wahid, A., 1957. Pakistan camels., a preliminary survey. *Agriculture of Pákistán.* 8, 289-295.
- Yesihak, Y., Bekele, T., 2003. Growth Pattern of the One Humped Camel (*Camelus dromedarius*). Department of Animal Science, Alemaya University, Dire Dawa, Ethiopia. In ESAP (Ethiopian Society of Animal Production) 2004. Farm Animal Biodiversity in Ethiopia: Status and Prospects. Asfaw Yimegnuhal and Tamrat Degefa (Eds). Proceedings of the 11th Annual conference of the Ethiopian Society of Animal Production (ESAP) held in Addis Ababa, Ethiopia, August 28-30, 2003. ESAP, Addis Ababa. pp. 441.