

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

Katedra speciální zootechniky

Obor : Živočišná produkce



ÚROVEŇ ZABŘEZÁVÁNÍ KRAV PO INSEMINACI
SEXOVANOU INSEMINAČNÍ DÁVKOU

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí diplomové práce : doc. Ing. Luděk Stádník Ph.D.

Autor diplomové práce : Bc. Renáta Chocholáčová

2015

Prohlášení :

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Úroveň zabřezávání krav po inseminaci sexovanou inseminační dávkou“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne:

.....

podpis autora práce

Děkuji doc. Ing. Luďkovi Stádníkovi Ph.D., vedoucímu diplomové práce, za odborné vedení a pomoc při vypracování této diplomové práce. Zároveň děkuji celému kolektivu farmy AGRAS Bohdalov a.s. a především paní Živné za ochotu a vstřícnost při poskytnutí dat k této práci. A v neposlední řadě svému příteli Lukášovi a mojí rodině za jejich podporu a pevné nervy.

Souhrn

Hlavním předmětem předložené diplomové práce bylo vyhodnotit zabřezávání krav holštýnského skotu sexovanými inseminačními dávkami a porovnat tyto výsledky s reprodukcí celého stáda. Pozorování bylo uskutečněno v podniku AGRAS Bohdalov a.s. za sledované období.

V teoretické části se tato diplomová práce zabývá souhrnem informací o inseminaci jako jedné z nejvýznamnějších biotechnologických metod, která změnila vývoj v chovu hospodářských zvířat po celém světě. Od počátku jejího vývoje až do dnešní doby, kdy umělé osemeňování dalo impuls k rozvoji dalších principů jako je sexování spermií, které umožnilo posunout reprodukci skotu o další krok.

V praktické části bylo do pozorování zařazeno 252 krav v období 2013 - 2014, které byly připuštěny sexovanými inseminačními dávkami od sedmi holštýnských býků a 3586 krav inseminovaných konvenční dávkou. Byl prokázán statisticky významný vliv ($P < 0,05$) při zabřezávání u krav inseminovaných sexovanou inseminační dávkou (27,32 %) a dávkou konvenční (35,19 %). U sexovaných dávek se dále u sedmi kalendářních měsíců prokázal statisticky významný rozdíl v zabřezávání na hladině významnosti $P < 0,01$, kde nejhoršími měsíci pro reprodukci se stalo období léta (červen, červenec, srpen). U dvou měsíců se prokázal statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$, zbylé tři měsíce a jejich vliv nebyl statisticky průkazný. Vliv nádoje (l), obsahu tuku (%) a obsahu bílkovin (%) v měsíci inseminace nebyl statisticky průkazný ($P > 0,05$). V návaznosti na vyšší pořizovací cenu sexovaných inseminačních dávek je pro podnik vhodné, díky méně pozitivním výsledkům, používat takto upravené dávky výhradně pro jalovice, u kterých lze očekávat větší ekonomický přínos pro jejich vyšší schopnost zabřeznutí.

Klíčová slova : mléčný skot, sexace spermií, inseminace, březost, reprodukce

Summary

The main subject of this thesis is the evaluation the pregnancy rates of Holsteins cows after insemination with sexed insemination doses and the comparison of these results with the reproduction of the entire herd on farm AGRAS Bohdalov a.s. during a certain period.

The theoretical part of this thesis deals with a summary of information about the insemination as one of the most important biotechnological methods, which changed the development of breeding farm animals all over the world. It brings informations from the very beginning until recent times, when insemination gave impulse to the development of other principles like a sex sorting, which moved reproduction of cattle one step further.

In the practical part there were 252 cows observed in period 2013-2014, which were inseminated with sexed insemination doses from seven Holstein bulls and 3586 cows inseminated with conventional doses. Statistically significant influence ($P < 0,05$) was proved within pregnancy rates inseminated with sexed doses (27,32 %) or conventional doses (35,19 %). Further, sexed doses at seven calendar months showed a statistically relevant difference ($P < 0,01$) in pregnancy rates. The worst months were during summer time (i.e. June, July, August). A statistically significant influence at a significance level of $P < 0,05$ was showed for two months. The last three months wasn't any statistically significant. Effect of milk yield, fat content and protein content in the months of insemination weren't statistically significant ($P > 0,05$). For the higher price of sexed insemination doses is appropriate for worse results use this sexed doses for heifers, which can be expected more economic benefits for their higher ability for pregnancy rates.

Keywords : Dairy cows, sorting sperm, insemination, pregnancy rates, reproduction

Obsah

1. ÚVOD.....	9
2. CÍL.....	10
3. LITERÁRNÍ REŠERŽE.....	11
3.1. Holštýnský skot.....	11
3.1.1. Historie černostrakaté populace ve světě.....	11
3.1.2. Současnost černostrakaté populace ve světě.....	12
3.1.3. Historie černostrakatého skotu v ČR.....	12
3.1.4. Historie a současnost holštýnského skotu u nás	13
3.2. Plodnost skotu	13
3.2.1. Zapouštění.....	13
3.2.2. Oplodnění.....	14
3.2.3. Zabřezávání.....	15
3.3. Inseminace (AI).....	17
3.4. Inseminační dávky býků	20
3.4.1. Fyziologie spermií	20
3.4.2. Determinace pohlaví u spermií	21
3.4.3. O inseminačních dávkách	22
3.5. Sexace spermií	24
3.5.1. Průtoková cytometrie.....	26
3.5.2. DNA analýza.....	28
3.5.3. Rozdíl mezi sexovanými a konvenčními dávkami - oplození schopnost	28
4. MATERIÁL A METODY	31
4.1. Charakteristika podniku	31
4.1.1. Mléko.....	31
4.1.2. Krmení.....	32
4.1.3. Hnůj a kejda.....	32
4.1.4. Struktura chovu	32
4.1.5. Reprodukce.....	33
4.1.6. Zajímavosti stáda.....	34
4.1.6.1. Nejproduktivnější kráva.....	34

4.1.6.2.	Nejstarší kráva	35
4.2.	Použití býci pro sexovanou inseminační dávku	35
4.2.1.	Býk NEO-122	36
4.2.2.	Býk NEO-127	36
4.2.3.	Býk NEO-245	36
4.2.4.	Býk NEO-258	37
4.2.5.	Býk NEO-263	37
4.2.6.	Býk NEO-276	37
4.2.7.	Býk NXB-060	38
4.3.	Sledované ukazatele	38
4.4.	Metody zpracování	40
5.	VÝSLEDKY	41
5.1.	Vliv pořadí laktace na zabřeznutí	41
5.2.	Vliv dojivosti a obsahu složek na zabřeznutí	42
5.2.1.	Zabřezávání dle nádoje	42
5.2.2.	Zabřezávání dle obsahu tuku	43
5.2.3.	Zabřezávání dle obsahu bílkovin	44
5.3.	Výsledky reprodukce	45
5.3.1.	Zabřezávání dle roku	45
5.3.2.	Zabřezávání dle měsíců	45
5.3.3.	Zabřezávání dle konvenční/sexované dávky	46
6.	DISKUZE	48
6.1.	Vliv pořadí laktace na zabřeznutí	48
6.2.	Vliv dojivosti a obsahu složek na zabřeznutí	48
6.2.1.	Zabřezávání dle nádoje	48
6.2.2.	Zabřezávání dle obsahu tuku	49
6.2.3.	Zabřezávání dle obsahu bílkovin	49
6.3.	Výsledky reprodukce	50
6.3.1.	Zabřezávání dle roku	50
6.3.2.	Zabřezávání dle měsíců	51
6.3.3.	Zabřezávání dle konvenční/sexované dávky	51
7.	ZÁVĚR	53
8.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	54

9. PŘÍLOHY	60
------------------	----

1. ÚVOD

Nadprůměrné výsledky spojené s prošlechtěním plemen v oblasti produkce mléka či masa nepříznivě korelují s plodností. V posledních pár letech je kladen čím dál větší důraz na reprodukci stáda skotu. Inseminace je nadále klíčovou metodou, avšak stále se posunují hranice využití biologických predispozic zvířat v současných podmínkách a objevují se nové skutečnosti, které pomáhají chovatelům zjednodušovat jejich práci.

Jednou z nich je i sexování spermii, které vneslo do chovu skotu nové možnosti. Brzké začátky a pokusy o určení pohlaví a odlišení chromozomů X a Y pomocí různých technologií nebyly jednoduché, ale postupem času se vyzkoušelo mnoho metod, z nichž skutečně funkční se stala až průtoková cytometrie.

Oddělení pohlaví spermii na bázi průtokové cytometrie funguje díky rozdílu obsahu DNA mezi chromozomy X a Y v hlavičce spermii. U skotu je známo, že chromozomy s genetickou výbavou X mají téměř o 4 % více DNA, než chromozomy Y. Obarvení genetického materiálu fluorescenčním barvivem umožňuje optice v podobě laseru rozeznat i tak minimální rozdíl, který bychom pod mikroskopem nebyli schopni rozpoznat. Následně jsou spermie vyselektovány dle pohlaví (resp. na chromozomy X, Y a nerozlišené spermie), kdy největší zájem je v České republice o X spermie a ty jsou poté uchovávány stejně jako konvenční inseminační dávky.

Pro chovatele je sexované semeno, které poskytne z 90 % jalovičky, velice žádané. Ovšem vyšší finanční nákladnost sexovaných inseminačních dávek má jistou ekonomickou nevýhodu. Taktéž nižší množství spermii než je v konvenčních ID a s tím související nižší možnost zabřezávání nutí chovatele k úvaze, zda je situace na jeho farmě vyhovující právě pro využití této metody. Výborná úroveň výživy, zdravé dojnice, kvalitní podmínky prostředí a reprodukce na špičkové úrovni - dobrý management, to je to, oč tu běží.

2. CÍL

Březost a samotná plodnost krav je nejdůležitějším faktorem pro ekonomickou stránku chovu. Bez reprodukce není možno dosáhnout žádné produkce a zvyšování procentuálního zastoupení jaloviček při otelení je u mléčného skotu bezpodmínečným pozitivem. Proto se stále více využívá v praxi metoda sexace spermií. Její výhody jsou nesporné, avšak každá mince má dvě strany a tudíž v sobě skrývá i své nevýhody.

Hlavním cílem diplomové práce bylo porovnat úroveň zabřezávání u holštýnských krav inseminovaných sexovanými inseminačními dávkami s konvenčními dávkami použitými u zbytku krav ve stádě za určitý časový úsek. Vedlejším cílem bylo vyhodnotit vlivy jako pořadí laktace, nádoj, obsah tuku a bílkovin na celkovou schopnost zabřeznutí u sexovaných dávek. Jednotlivé údaje pro následné statistické vyhodnocení byly získávány ze zootechnických a plemenářských evidencí, výsledky byly zhodnoceny a stanovilo se možné řešení problémů a zlepšení situace používání u těchto dávek v praxi.

3. LITERÁRNÍ REŠERŽE

3.1. Holštýnský skot

V průběhu uplynulých desetiletí se holštýnské plemeno stalo nejvýznamnějším dojeným plemenem skotu s jednostranným zaměřením na mléčnou produkci. Holštýn v současnosti zaujímá mezi dojenými plemeny první místo na světě (Honsová, 2009).

S žádným jiným plemenem se nepracuje tak intenzivně na zvyšování genetického potenciálu celé populace jako právě s holštýnkami (Anonym, 2013).

3.1.1. Historie černostrakaté populace ve světě

Nejrozšířenější světové dojené plemeno odvozuje svůj původ z populace černostrakatého skotu severozápadní Evropy, chovaného původně od Fríska, přes Šlesvicko-Holštýnsko až po Judsko (Bouška et al., 2006).

Značné geografické rozšíření, různé chovné cíle, rozmanitost přírodních a ekonomických podmínek na kontinentech a v různých geografických oblastech vedly ke vzniku odlišných biotypů resp. užitkových typů či plemen tohoto skotu. Fyziologické testy, historické i genetické studie vedou k názoru, že přes určité odlišnosti v morfologických a užitkových parametrech lze hovořit o jednom plemeni s několika biotypy (Urban et al., 2001).

Holštýnský skot odvozuje svůj původ od holandského skotu, který byl do Ameriky dovážen na začátku 17. století a zvláště pak ke konci 19. století po morové nákaze místního skotu (Botto et al., 1984). Urban et al. (2001) označuje jako zvláštní kapitulu ve světové historii chovu černostrakatého skotu právě Severní Ameriku, protože do USA a Kanady byly prokazatelně jeho první dovozy z Evropy směřovány už od roku 1621, převážně z Holandska (Frísko) a Severního Německa (Šlesvicko-Holštýnsko). Následovalo větší rozšíření a díky masivním importům z Holandska do Ameriky došlo k založení plemenné knihy (USA 1885, Kanada 1884) s tím, že plemeno dostalo název holštýnsko-fríské. Teprve v roce 1984 v Kanadě a v roce 1994 v USA došlo k přejmenování na plemeno holštýnské.

Botto et al. v publikaci z roku 1984 zmiňuje, že známé byly také země s chovem tohoto skotu v Izraeli a Velké Británii. Urban et al. (2001) zmiňuje taktéž Izrael, ale mezi další státy označuje Japonsko, Jižní Afriku a Mexiko. V roce 2006 toto zobecňuje Bouška et al., na největší rozšíření v Oceánii, Severní a Střední Americe, Evropě, naopak nejméně v Asii a Africe.

3.1.2. Součastnost černostrakaté populace ve světě

Bouška et al. (2006) uvádí, že toto plemeno bylo v průběhu minulého století intenzivně šlechtěno v podmínkách Severní Ameriky na funkční mléčný užitkový typ většího rámce a ušlechtilosti. Vzniklo tak plemeno, které nemá konkurenci v produkci mléka, a zpětně, zejména cestou plemeníků, ovlivňovalo a ovlivňuje původní populace černostrakatého skotu na celém světě. To, co napsal, platí i nyní a to, že úspěšně konkuruje a nahrazuje méně výkonná dojená plemena skotu jak v Evropě, tak i na jiných kontinentech.

S tím, že holštýnský skot v Severní Americe nemá konkurenci, se shoduje i Honsová (2009) a jako důvod uvádí, že zatímco Severní Amerika intenzivně šlechtila holštýn na mléčnou produkci, evropská populace černostrakatého skotu zůstávala středního tělesného rámce a kombinované užitkovosti.

Největší producenti mléka holštýnské populace, dle Anonym (2013), nemusí být nutně národy s největším šlechtitelským potencionálem. Pokud opomeneme USA, jako největšího producenta, jsou zde dále země, které sice s USA konkurovat nemohou, ale objemem produkce jí následují – Indie, Čína, Brazílie a Rusko. Na 6 a 9 pozici zmiňuje státy jako Německo, Francie, Nový Zéland a Velkou Británii.

3.1.3. Historie černostrakatého skotu v ČR

Urban et al. (2001) uvádí, že černostrakatý skot byl u nás chovaný v historických zemích už v minulém století v oblastech severních Čech, na Šluknovsku a Frýdlansku, na severní Moravě a ve Slezsku, na Hlučínsku a Blatné. Dále uvádí, že s další vlnou rozšíření černostrakatého plemene u nás jsme se setkali po druhé světové válce, kdy toto náročné plemeno bylo převážně využíváno na statcích a výdojných hospodářství, kde však bylo většinou chováno při neracionální a jednostranné výživě. Tato skutečnost a v jistém smyslu i tehdejší ne příliš dokonalá zootechnická a veterinární péče byly hlavními příčinami téměř úplné likvidace právě nejvýkonnějších černostrakatých zvířat a stád. V 60. letech (ale i později) byly opět realizovány rozsáhlejší dovozy černostrakatého skotu do ČR.

Plemeno vznikalo od 60. let jednak na podkladě dovozu čistokrevných plemenic (především z Dánska, Holandska, NSR), jednak převodným křížením českého strakatého plemene s býky černostrakatého skotu kontinentálního typu a s býky plemene holštýnsko-fríského (Špaček et al., 1987).

Louda et. al. (1994) datuje uznání Černostrakatého plemene na území ČR od 1.6.1983.

Jak tvrdí Urban et al. (2001) poslední vlna dovozů byla s dotační politikou realizována v letech 1991 – 1995 a rapidní vzestup užitkovosti černostrakatých krav byl patrný od roku 1990.

3.1.4. Historie a současnost holštýnského skotu u nás

Po roce 1990 se plemenitba zaměřila na holštýnsko-fríské plemeno (Sambraus, 2006). Jak píše Louda et al. (1994) v roce 1992 schválilo členské shromáždění Svazu chovatelů černostrakatého skotu v České republice šlechtitelský program společně s chovným cílem, který jak dodává Urban et al. (2001) byl schválen do roku 2000.

Dle Sambraus (2006) byl vyhlášen název plemene jako holštýnské v roce 2000. Urban et al. (2001) datuje oficiální uznání holštýnského plemene na 1. leden roku 2001.

Honsová (2009) uvedla, že stavy skotu v České republice se neustále snižují, v porovnání s rokem 1990 se u nás v současné době chová pouze asi třicet tři procent dojených krav. Více než polovina dojnic připadá na holštýnský skot – přes dvě stě tisíc kusů.

Více méně se s tímto tvrzením shoduje i Ročenka z roku 2014. Ta tvrdí, že podíl holštýnských krav na celkové populaci současně představuje 58,9% (210 062 ks), z toho je cca 4,1% krav (14 540 ks) RED holštýnských. Pokud se podíváme na plemennou skladbu, tak se stále zvyšuje podíl čistokrevných holštýnských krav – 166 000 ks. Dnes je tak již 80 % holštýnské populace zastoupeno kravami s podílem holštýnské krve 88 – 100 %.

3.2. Plodnost skotu

3.2.1. Zapouštění

S odstupem let je v knihách zabývajících se plemenitbou skotu více či méně viditelný rozdíl. Po druhé světové válce se dbalo převážně na dostatečný tělesný vývin a prioritně - v rámci ekonomické úspory - na dlouhověkost plemenice. V publikaci Kopeckého a Šmerhy (1954) se řeší problematika předčasného zapouštění právě z pohledu dlouhověkosti. Měli za to, že urychlení tělesného vývinu vede k nežádoucímu vytvoření žírné kondice, zvláště u jedinců k tomu náchylnějších, a při provádění po řadu generací to znamená i urychlení celého životního cyklu.

Nyní je otázka dlouhověkosti posunuta daleko do pozadí. V rámci zvyšující se produkce jsou nároky na plemenice podstatě vyšší než v dobách dávno minulých a to se jako

jeden z faktorů může negativně podepisovat na reprodukční výkonnosti stáda. Prioritní otázkou je ekonomika. Říha (1996) píše, že vhodnost jalovic k zapouštění je dána živou hmotností a odpovídajícím věkem, přičemž signifikantní z jeho hlediska je živá hmotnost. Kvapilík et al. (2013) uvádí, že správně krmené jalovice holštýnského plemene mají dosáhnout při prvním zapuštění 55 až 60 % a při prvním otelení 80 až 85 % (což odpovídá 560 – 580 kg) hmotnosti v dospělosti. Uvádí také, že chovný cíl striktně neobsahuje věk při prvním zapuštění, ale udává věk při prvním otelení v podobě 23 – 27 měsíců. Brakace krav v chovech silně stoupla a zakotvila na hranici okolo 30 - 35%, to také souvisí s obnovou stáda, která je podstatně vyšší. Otázkou tedy není, co nejdelší produkční období plemenice, ale vysoká intenzita produkce, proto průměrná délka produkčního života je u holštýnského skotu tři a půl laktace. Následně jsou plemenice vyřazeny převážně kvůli výskytu onemocnění postihující ve velké většině reprodukční soustavu.

Způsob zapouštění krav je závislý na systému chovu a chovaném užitkovém typu. V systému chovu dojených krav je základní metodou plemenitby inseminace. Inseminaci lze považovat za nejúčinnější šlechtitelské opatření ve stádě, které uvážlivým výběrem spermatu býků, chovatel může přímo ovlivnit (Louda et al., 2008).

Úspěšnost inseminace je podmíněna řadou faktorů. Cca z 50 % ovlivňují výsledky reprodukce chovatelské podmínky – řízení stáda, ošetřovatelská péče, schopnost ošetřovatelů vyhledávat říji atd., technologie ustájení a krmení plemenic. Ze 20 % se podílí na výsledcích reprodukce klimatické a zoohygienické podmínky. Ze cca 30 % pak ovlivňuje výsledky inseminační služba a z toho polovina organizace (kvalitou semene garantovanou inseminační stanicí, genetikou) a inseminátor (předběžným zhodnocením říje plemenic, hygienou své práce, správným stanovením vhodné doby k inseminaci a technikou provedení inseminace) (Říha, 1996).

3.2.2. Oplodnění

Předtím než jsou spermie schopny oplodnit vajíčko, musí podstoupit řadu zracích změn v pohlavních cestách samice. Tyto procesy jsou známé jako kapacitace a akrozomální reakce a dochází k nim asi šest hodin po deponaci. Tento požadavek na vyzrívající změny jsou hlavním důvodem, proč je lepší inseminovat krávy několik hodin před ovulací (Ball and Peters, 2004).

Říha et al. (1996) tvrdí, že kapacitace má velice složitou podstatu a jedná se vlastně o destabilizaci cytoplazmatické membrány odštěpením (většinou enzymatickým) membrány stabilizujících molekul.

Velmi složitým biochemickým a fyziologickým procesem, který probíhá v pohlavních orgánech samice je splynutí samčí pohlavní buňky (spermie) se samčí (vajíčko), přičemž vzniká jednotná buňka (Horváth and Solár, 1975).

Po setkání s vajíčkem spermie uvolňují do svého okolí enzymy, které usnadňují spermiím průnik mezi buňkami obklopujícími vlastní vajíčko, tzv. paprscitou korunou. Poté musí spermie proniknout nebuněčným obalem vajíčka – zónou pellucidou a následně spojit svou povrchovou membránu s membránou vajíčka a zanořit se do oocyty. Aby nedošlo ke stavu polyspermie, kdy do vajíčka pronikne více spermií, dochází pro průniku první spermie nejprve k zonární reakci, kdy se zona pellucida stane nepropustnou pro další spermie a následně vitellinnímu bloku, kdy se další spermie nemohou navázat na membránu vajíčka (Bouška et al., 2006).

Všechny výše zmíněné skutečnosti se musí uskutečnit i u sexovaných spermiích, aby se dokončil proces oplodnění. Bohužel tento proces mají spermie těžší, protože konvenční dávky obsahují mnohem větší množství spermií než tříděné dle pohlaví. Taktéž, jak tvrdí Louda et al. (2008), celý proces třídění jednoho ejakulátu průtokovým cytometrem trvá několik hodin a to se negativně odráží na aktivitě a oplozovací schopnosti spermií, která klesá a následně se i snižuje míra zabřezávání dokonce až o 15 – 28 %.

3.2.3. Zabřezávání

Výzkumy ukazují, že celková úroveň zabřezávání je z 60% ovlivněna výskytem metabolických onemocnění (Sauna, 2007). S tímto obecně souhlasí i Říha (1996), který tvrdí, že poruchy reprodukce mají obvykle blízký vztah k nedostatkům ve výživě.

Má-li plemence zabřeznout, musí u ní dojít k ovulaci, oplodnění a rozvoji embrya. Faktory, které tyto změny ovlivňují, jsou: přítomnost progesteronu v minulém cyklu a množství progesteronu, které je produkováno po vlastním oplodnění. To jsou faktory, které ovlivní kvalitu prostředí v děloze. Vliv na množství vyprodukovaného progesteronu má kvalita vlastního folikulu, který se začíná vyvíjet několik týdnů před ovulací a v časovém

sledu se může prolínat s obdobím kolem porodu. Na kvalitu folikulu má klíčový vliv energetická bilance a proteinový stav, v kterém se plemenice během jeho vývoje nachází. Dále jsou to stresové vlivy, kterým je kráva vystavena, prodělaná puerperiální onemocnění a celkové zvládnutí předchozího období. Na kvalitu zrajícího folikulu mohou mít vliv i ostatní faktory, např. zátěž mykotoxiny, sociální interakce mezi zvířaty apod (Sauna, 2007).

Novotný (2008) charakterizuje zabřezávání z teoretické roviny (z pohledu jedné inseminační dávky) jako binomickou funkci. To je taková funkce, kdy lze dosáhnout jen dvou možných výsledků. Plemenice po inseminaci je buď březí (50 %), nebo jalová (50 %). Nic mezi tím. Úspěch inseminace ale závisí na celé řadě faktorů. Pokud bychom brali v úvahu jen čtyři faktory (kvalita semene, reprodukční stav plemenice, časování říje, kvalita zacházení se spermatem) a považovali je zcela za rovnocenné (což nejsou) můžeme situaci přirovnat k „házení čtyř mincí“. V tom případě máme již 16 variant, jak může každý hod skončit. Každou variantu s přesností pouze 6,25 %. Dosáhnout nadprůměrného podílu plusových faktorů (prvních 5 řádků v tabulce 1) lze jen s pravděpodobností celkem 31,25 %. Ač je to příklad velmi zjednodušený, podobné je to i s reprodukcí.

Tabulka 1 Zabřezávání jako binomická funkce

Pravděpodobnost	ID	Stav plemenice	Časování říje	Zacházení s ID	% +
6,25 %	+	+	+	+	100
6,25 %	+	+	+	-	75
6,25 %	+	+	-	+	75
6,25 %	+	-	+	+	75
6,25 %	-	+	+	+	75
6,25 %	+	+	-	-	50
6,25 %	+	-	+		50

6,25 %	+			+	50
6,25 %	-	+	+		50
6,25 %	-	+		+	50
6,25 %	-	-	+	+	50
6,25 %	+	-	-	-	25
6,25 %	-	+	-	-	25
6,25 %	-	-	+	-	25
6,25 %	-	-	-	+	25
6,25 %	-	-	-	-	0
100 %	50 % +	50 % +	50 % +	50 % +	50 +

Je známo, že sexované sperma snižuje míru zabřezávání u skotu o 15 – 20 %. Tyto výsledky se i v literatuře velmi různí (Krátký, 2008).

Larson et al. (2010) uvádí, že zabřezávání u metody sexování spermií je v rozmezí 60 – 90 % z oplození schopnosti konvenční dávky. Kaimo et al. (2013) však počítá s čísly 70 – 80 % z oplození schopnosti konvenční dávky a dává důraz na to, že vše je odvislé na faktorech, jako je: dávka spermií, uchovávání spermií, shodnost dávek, synchronizaci říje a management.

3.3. Inseminace (AI)

Umělá inseminace byla první velká biotechnologická metoda, která měla zlepšit reprodukci a genetiku hospodářských zvířat. Měla obrovský dopad po celém světě u mnoha druhů. Přijetí umělého oplodnění po celém světě poskytlo impulz pro rozvoj dalších biotechnologických metod jako je kryokonzervace spermií, určování pohlaví – sexace, regulace estrálního cyklu, odběr, zmražení, kultivace a přenos embryí a v neposlední řadě pro klonování. Byly vyvinuty nové, vysoce efektivní, metody hodnocení býků. Historie vzniku a

rozvoje umělého oplodnění se posuzuje zejména u mléčného skotu, u kterého byl dopad na genetické zlepšení a kontrolu pohlavních chorob nejvyšší (Foote, 2002).

Již v období sametové revoluce se psalo (Kliment et al., 1989) o tom, že při přirozené plemenitbě postupuje zušlechťovací proces velmi pomalu a je nákladný, a proto byla velice kladně přijata inseminace, protože se podstatně snížily finanční náklady na držení a chov plemeníků a bylo se tak možno věnovat plemeníkům vysokých kvalit.

Tvrzení Loudy et al. (2001) platí i nyní a to, že v současné době je inseminace převládající metodou plemenitby v dojených stádech skotu. V chovu krav bez tržní produkce mléka je převládající metodou plemenitby přirozená plemenitba kombinovaná s inseminací v chovech, kde se provádí intenzivnější šlechtitelská práce s cílem produkovat plemenné býčky a jalovice.

Bowen (1969) ve své publikaci zmiňuje, že Arabové se snažili o umělé oplodnění a to nejen u koně, ale i člověka, před narozením Krista. Jedná se ovšem o nepodložené domněnky. Dále zmiňuje, že první opravdu zaznamenaná událost sahá do roku 1322, kdy vůdce Arabů uměle inseminoval svoji klisnu, semenem hřebce svých nepřátel. Capanna (1999) hovoří o Spallanzani, který ve své práci z roku 1776 uměle inseminoval fenu pudla. Z tohoto pokusu se za 62 dní narodila tři štěňata (dva psi a jedna fena).

V roce 1799 úspěšně inseminoval několik klisen Hunter v USA. Další zájem o umělou inseminaci se objevuje až koncem 19. století (Kliment et al., 1989). Rob a Herčík (1987) uvádí, že po skončení druhé světové války došlo k masovému rozšíření inseminace, a to zejména v socialistických zemích.

Vědecké a experimentální základy umělé inseminace jako základního zootechnického prostředku ke zvelebování chovů hospodářských zvířat položil Ivanov (od r. 1899). Je oprávněně uznáván za průkopníka a zakladatele aplikované metody umělé inseminace domácích zvířat. Dosáhl dobrých výsledků zabřezávání u klisen a krav a později u ovcí, prasnic, drůbeže a různých divokých zvířat (Kliment et al., 1989). Hodně z jeho prací v Rusku o AI převzal později Milovanov, který texty přeložil do angličtiny. Ve své dílně navrhl a vyráběl umělé vagíny pro praktické využití, mnohé podobné těm, které známe dnes. Od Ivanova se také inspirovali vědci mimo Rusko. Byl jím například japonec Ishikawa, který studoval s Ivanovem a poté, co se vrátil do Japonska, začal podobný program využívat u koní. Zapojili se i ostatní japonští vědci a program se rozrostl na skot, ovce, kozy, prasata a drůběž.

Výzkumy byly publikované v japončtině až do té doby, než se přeložily do angličtiny díky Niwa a Nishikawa. Zprávy o rozsáhlém využívání AI v Rusku se dostaly na západ díky knize o AI od Waltona (1933). Walton provedl řadu experimentů, včetně průkopnické zásilky beraního spermatu do Polska, který byl po dvou dnech úspěšně inseminován do bahnice. Nicméně AI se rychle nevyvíjela komerčně v USA. Podnětem rozvoje byla až spolupráce Eduarda Sorensena, který byl obeznámen s Ivanovovou prací a ve spolupráci s AI organizací v Dánsku v roce 1936 použili umělou inseminaci na 1070 krav a zjistili, že AI je ve výsledcích o něco lepší než přirozený způsob koncepce. Následně k tomuto začal fenomenální nárůst AI v USA datující se k roku 1940. Dánští veterináři taktéž přišli na to, že pokud použijí rektovaginální fixaci děložního hrdla, budou moci sperma uložit hlouběji, tj. do děložního hrdla či do těla dělohy a zároveň bude zapotřebí méně spermií. Dalším dánským „vynálezem“, o který se učinil Sorensen, byl vynález pejet pro uchování spermatu, později je Cassou vyráběl v komerční podobě a rozšířila se do celého světa (Foote, 2002).

Umělá inseminace v Československu

V Československu byla poprvé použita umělá inseminace u klisen po II. světové válce při tlumení hřebčí nákazy (Kliment et al., 1989).

První inseminační stanice v bývalém Československu a ve střední Evropě byla zřízena v roce 1947 v Osíku u Litomyšle, kde se také započalo s prvními pokusy o umělé osemenění skotu (Šmerha, 1980; Kadečka, 2008).

Následně v roce 1948 se na Královéhradecku budovaly inseminační stanice v Chlumci nad Cidlinou, Polici nad Metují, Semechnicích u Dobrušky a Jiřicích na Hořicku. Postupně se zřizovaly i další inseminační stanice a vyvíjela se technologie zpracování semene býků (Kadečka, 2008).

První pokusy se zmrazováním semene tekutým CO₂ začaly u nás začátkem šedesátých let. Později byla vytvořena síť zmrazovacích středisek pro uchování semene v tuhém CO₂ (Kliment et al., 1989). Do té doby, jak tvrdí Kadečka (2008) byly inseminační dávky ředěného spermatu buď v čerstvém stavu s použitelností jen 3 – 4 dny po odběru nebo zmrazené v suchém ledu při teplotě minus 79 °C. Jako jedna z prvních inseminačních stanic v Československu zahájila Police nad Metují v roce 1964 zmrazování inseminačních dávek v tekutém dusíku při teplotě minus 196 °C.

3.4. Inseminační dávky býků

Objem ejakulátu a jeho kvalita u býků je závislý na věku, plemenné příslušnosti a frekvenci odběru (Louda et al., 2007). Věžník et al. (2004) hovoří o kvalitě plemenných býků a poukazuje, že nelze vidět jen jejich plemennou hodnotu, ale také kvalitu reprodukčních funkcí, které limitují využitelnost i u plemenářsky špičkového samce.

3.4.1. Fyziologie spermií

Jedním ze základních životních projevů organismu je schopnost rozmnožování. Pohlavní buňky se vytvářejí v gonádách (varlatech, vaječnicích), specializovaných orgánech reprodukčního systému. Varlata tvoří spermie (proces spermatogeneze) a produkují pohlavní hormony (steroidogeneze). Základním hormonem mužského reprodukčního systému je testosteron (Kittnar et al., 2011).

Sperma se skládá ze spermií a semenné plazmy (Horváth and Solár, 1975).

Spermie jsou tvořeny v semenotvorných kanálcích varlat a potom jsou transportovány přes síť kanálků varlete do nadvarlete. Zde jsou uloženy a dozrávají. Produkce spermií se od počátku jejího vzniku po dosažení pohlavní dospělosti stává nepřetržitým procesem (Reece, 1998).

Semenná plazma se pod vlivem testosteronu tvoří v přídatných pohlavních žlázách, a to v semenných váčcích, prostatě, Cowperových žlázách. Malé množství semenné plazmy se tvoří i ve vývodných cestách, a to v chámovodech, ampulích chámovodu a v uretře. Nepatrný podíl sekretu je i z nadvarletních kanálků. Uvolnění semenné plazmy je reflektorické a záleží ve značné míře na stupni sexuálního podráždění a na intenzitě erekce a frikční stimulaci. Semenná plazma je po ejakulaci dočasně vhodným biologickým prostředím pro spermie, ochrnuje cytoplazmatické membrány spermií a tak udržuje jejich tvar, zabezpečuje jejich rozptýlení, zamezuje aglutinaci spermií, udržuje vnitrobuněčný osmotický tlak, po určitou dobu má pufrovací schopnost, kterou vyrovnává a udržuje chemickou reakci ve fyziologických hranicích, které jsou odlišné u jednotlivých druhů samců (Kliment et al., 1989).

Spermatogeneze probíhá v těsné závislosti na tzv. Sertoliho buňkách. Tyto buňky poskytují zrajícím spermiím nezbytnou výživu a chrání je před případnými nepříznivými vlivy (funkce bariéry) (Mourek, 2005).

Kmenové buňky (spermatogonie) jsou uloženy v bazální části semenotvorných kanálků. Při mitotickém dělení vznikne ze spermatogonie jedna stejná buňka, která zůstává uložena na původním místě a druhá, která se nazývá spermatogonie typu A. Ta pak migruje přes Sertoliho buněčnou bariéru do vrstvy buněk blízko dutiny kanálku. Spermatogonie typu A prodělávají mitotické dělení, které někdy zahrnuje několik generací buněk. Vzniká tak velké množství spermatogonií typu B. Tyto buňky se naposledy mitoticky dělí a výsledkem je tvorba primárních spermatocytů s počtem chromozómů = $2n$. Primární spermatocyty se dále meioticky dělí a vznikají z nich sekundární spermatocyty, ze kterých po druhém meiotickém dělení vznikají spermatidy (n). U býků vzniká 64 spermatid z jedné spermatogonie typu A. Spermatidy dozrávají v oblasti blízko lumen kanálku. Dozrávání zahrnuje sérii jaderných a cytoplazmatických změn nazývaných spermiogeneze. Spermiogeneze je tedy série změn jádra a cytoplazmy a transformace buněk z nepohyblivých do potencionálně pohyblivých, u nichž se už vytvořil bičík (flagellum). Dozrálé spermatidy, vytvořené během poslední fáze spermiogeneze jsou uvolňovány do lumen semenotvorného kanálku jako spermie (Reece, 1998).

3.4.2. Determinace pohlaví u spermií

Pohlaví je geneticky určeno dvěma pohlavními chromozómy, X a Y (Kittnar et al., 2011). Hovězí dobytek má 60 chromozómů (Kliment et al., 1989). Ženská zygota obsahuje dva chromozómy X (jeden pochází ze spermie a jeden z vajíčka), mužská zygota obsahuje jeden X (z vajíčka) a Y (ze spermie) (Kittnar et al., 2011).

Do historie se velmi dlouho zapisovaly neúspěšné pokusy o rozlišování, které savčí spermie produkují samce od těch, které produkují samičky. Průlom přišel v roce 1981, kdy bylo prokázáno, že obsah DNA by mohl být přesně naměřen. Ačkoli tato počáteční měření obsahu DNA zabily spermie při procesu, další vedly ke konečnému rozvoji systému třídění spermií, které jsou schopny nejen rozlišovat mezi živými X- a Y-spermie, ale také je třídí do relativně čistých X a Y populací spermií bez zjevného poškození buněk (Garner and Seidel, 2008).

I když základní principy ovládající pohlaví potomků u savců jsou známy již poměrně dlouhou dobu, nedávné používání některých moderních buněčných metod vedlo k rozvoji průtokové cytometrie systémem schopným rozlišovat a oddělovat spermie nesoucí chromozom X nebo Y v množství vhodných pro umělou inseminaci a tudíž i k obchodování s touto technologií sexování (Garner and Seidel, 2008).

Sex-chromozómy se liší tvarem a velikostí. Samičí typ sex-chromozómu se označuje X a samčí Y. U samičích se nacházejí dva stejné X sex-chromozómy, čímž vzniká homogametické pohlaví. Na rozdíl od toho se u samčích v průběhu meiotické fáze spermatogeneze oddělí chromozómy, čímž vzniká haploidní buňka pouze s polovičním počtem autochromozómů, jakožto heterochromozóm. Takto vznikají heterochromozómy X a jiné s heterochromozómy Y. V oogenezi v důsledku existence pouze X sex-chromozómů vznikají oocyty s X sex-chromozómem (Kliment et al., 1989).

3.4.3. O inseminačních dávkách

Inseminační dávka – je tvořena slámkou – pejetou, která musí být označena následovně (Louda et al., 2007) :

- plemeno – písemný kód
- jméno býka – název linie
- státní registr – značka a číslo býka
- datum odběru – označení dvojčíslí v pořadí den, měsíc, rok
- zkratka země – ISB – CZ
- číslo stanice – státní identifikační číslo

Obecně vzato, býci mléčných plemen produkují v průměru kvalitnější sperma než býci masných plemen, mladší býci než starší atd. Stejně tak platí, že býci s podprůměrnou kvalitou semene dosahují podprůměrného zabřezávání, bez ohledu na počet spermií v ID. Naopak býci s nadprůměrnou kvalitou semene dosahují nadprůměrného zabřezávání, i pokud je počet spermií v jejich ID na spodní hranici (vždy ale 2 – 5x vyšší než je limit pro předpoklad dosažení horní hranice oplozovací schopnosti). Variabilita motility po rozmražení je poměrně malá, protože do oběhu je puštěno jen sperma, jehož laboratorní test motility po rozmražení je v pořádku. Propracovaný systém kontroly spermatu a vyřazování podprůměrných ejakulátů

býků po dobu sedmdesáti let jsou současně pozitivní selekcí na oplozovací schopnost býků (Novotný, 2008).

Organizace produkující sperma zabezpečují nákup, prověřování a chov plemeníků. Od plemeníků, kteří vyhovují předepsaným zdravotním podmínkám, odebírají sperma za dodržení hygienických podmínek, provádějí hodnocení spermatu po odběru, krátkodobě uchovaného spermatu i dlouhodobě uchovaného spermatu. Bouška et al. (2006) uvádí, že při umělé inseminaci skotu se v našich podmínkách prakticky pracuje výhradě s dlouhodobě zmraženými inseminačními dávkami, skladovanými v tekutém dusíku. A dále dodává, že se sperma odebírá od býků pomocí umělé pochvy do sběrače, následně se hodnotí základní parametry jeho kvality, jako je objem, barva, konzistence, zápach, příměsi a dále koncentrace spermií a pohybová aktivita.

Objem inseminační dávky je 0,25 nebo 0,50 cm³ (Louda et al., 2007). Organizace sperma ředí a poté plní do pejet a zmrazují. Zmražené sperma před uložením musí mít nejnižší aktivitu 30 %. Vyhovující sperma ukládají do zásobních kontejnerů. Po uplynutí 30 denní lhůty může být sperma expedováno technikem (Říha et al., 2003). Inseminační dávky do doby inseminace musí být uchovány v kontejneru v tekutém dusíku při teplotě mínus 196 °C (Louda et al., 2007). Bouška et al. (2006) vysvětluje 30 denní lhůtu tím, že ID jsou drženy v karanténě pro případ projevu onemocnění odebraného býka. Zároveň dodává, že tito býci nesmí současně působit v přirozené plemenitbě.

Při veškeré práci a postupech je dodržována přísná hygiena, pravidelně se sterilují a dezinfikují pomůcky a zařízení. Dodržují se pravidla práce s tekutým dusíkem. O jednotlivých úkonech se vedou evidenční záznamy. Sleduje se zabřezávání po prvních a všech inseminacích dle býků a na základě výsledků se rozhoduje o dalším využití spermatu k inseminaci (Říha et al., 2003).

Výhody umělé inseminace jsou zřejmé – úspora nákladů na chov býků, vyšší bezpečnost práce, využívání kvalitnějších býků a rychlejší prověření mladých býků, tedy rychlejší postup šlechtitelské práce, omezení přenosu infekčních chorob, zejména pohlavních nákaz atd (Bouška et al., 2006).

3.5. Sexace spermií

Poté, co se masivně rozšířilo využívání umělého osemeňování (inseminace), vzrostl zájem o pokusy ohledně sexování spermií. Před rokem 1980 bylo provedeno mnoho pokusů, ale žádné neměly v sexaci spermií přesvědčivé výsledky (Seidel et al., 2007).

V roce 1910 publikoval ve svém díle Guyer přítomnost pohlavních chromozómů. Jeden z prvních významných pokusů o selekci pohlaví provedl Lush v roce 1925, ovšem bez ohledu na DNA. Tím jeho studie neprokázala žádné vychýlení v poměru pohlaví u králíků a prasat na základě odstředování. Následně bylo prováděno mnoho výzkumů na selekci pohlaví, v tomto ohledu se velice uplatnila Penn State University v roce 1970. Moruzzi v roce 1977 poukázal na využití DNA jako potencionálního markeru pro selekci dle pohlaví a zveřejnil údaje obsahující celou řadu rozdílů mezi X a Y spermií u různých druhů v obsahu DNA měřené pomocí rozdílů v délce chromozómů (Johnson and Welch, 1999).

Hlavní podmínkou sexace je, aby s co největší přesností oddělila pohlaví a zároveň v co nejvyšší míře uchovala plodnost spermií (Seidel, 2007). Byla použita řada metod (protílátky, centrifugace, průtoková elektroforéza a průtoková cytometrie). Skutečně funkční metodou se ukázala až průtoková cytometrie (Overton, 2008). Hlavní průlom v této metodě nastal na začátku 1980, kdy došlo k rozvoji průtokového cytometru, ale počáteční pokusy jeho funkce nebyly prakticky použitelné, neboť sice účinně oddělily X a Y spermie, ale zároveň je i zabily. Nejdůležitější zdokonalení bylo v tom, aby systém nezabíjel ani nijak nepoškozoval spermie (Seidel, 2007). Poté, co se přišlo na to, jak toho docílit, bylo klíčovým faktorem ve vývoji použití pufu koncentrovaného roztoku, do kterého se tříděné spermie zachytávali, a tím se zvyšovala jejich životaschopnost (Johnson and Welch, 1999). V roce 1990 se narodilo první tele po selektované dávkce, a tak následovalo úsilí o zvýšení účinnosti této technologie (Larson et al., 2010).

V 90. letech 20 století se spekulovalo, zda spermie s genetickou výbavou Y jsou rychlejší než spermie X. Tento argument byl postaven na myšlence, že chromozom Y má menší, resp. lehčí, genetickou výbavu než chromozom X. Tímto problémem se zabývalo několik studií (Penford et al., 1998; Johnson and Welch, 1999) a tuto domněnku nepotvrdili, protože mezi rychlostí Y a X spermií neshledali statisticky významný rozdíl.

Metoda sexace je založena na rozdílu v množství DNA ve spermiích. U skotu, spermie s X kombinací chromozómů mají o 3,8% více DNA a jsou těžší než spermie s Y kombinací

chromozomu. Tento rozdíl způsobí, že jsou o trochu těžší a díky fluorescenčnímu barvivu, které se váže na DNA, jsou po ozáření laserem jasnější. Následně se spermii přidělí kladný náboj pro samičí pohlaví a záporný náboj pro samčí pohlaví (Louda et al., 2008).

Tento způsob selekce spermií dle požadovaného pohlaví je přesný zhruba na 90 % (Johnson and Welch, 1999; Garner and Seidel, 2003; De Jarnette et al., 2008). Navíc možnost určení pohlaví snižuje obtížnost porodů při prvním telení, protože z praktického hlediska jsou jalovičky menšího věku než býčci (Filho et al., 2013).

Rychlost sexace spermií je primárně omezena technologií. Ta je limitována buď snížením přesnosti určení pohlaví, nebo snížením rychlosti (resp. rychlost bude výrazně pomalejší, pokud bude přesnost nastavena na více než 93 % a naopak bude rychlejší, pokud snížíme přesnost pod 87%). Třídící rychlost závisí také na vlastnostech jednotlivých ejakulátů, tj. například pomalejší bude při obsahu více mrtvých spermií (díky jejich odstraňování) (Seidel, 2003).

Předvýběr spermií na základě relativního rozdílu DNA mezi X a Y chromozomy pomocí průtokové cytometrie je metodou založenou pro komerční produkci skotu (Garner and Seidel, 2008; Rath et al., 2013).

Tato metoda je důležitá pro mléčný průmysl, protože vytváří větší zásobu náhradních jalovic a urychluje genetický zisk. I přes pokroky v sexování spermií pomocí průtokové cytometrie je stále dosahováno nižšího oplození než při použití konvenčního spermatu (Sá Filho et al., 2013). Vzhledem k tomuto faktu, že oplozovací schopnost těchto ID je o něco nižší, než je tomu u dávek konvenčních, pro sexování se vybírají pouze býci s dobrou vlastní plodností (Marková, 2010). Larson et al. (2010) uvádí, že zabřezávání u této metody je v rozmezí 60 – 90 % z oplození schopnosti konvenční dávky. Kaimo et al. (2013) však počítá s čísly 70 – 80 % z oplození schopnosti konvenční dávky a dává důraz na to, že vše je odvislé na faktorech, jako je: dávka spermií, uchovávání spermií, shodnost dávek, synchronizaci říje a management.

Dle Rath et al. (2013) se během procesu třídění objevuje několik stresových faktorů, které mají pravděpodobně negativní dopad na oplozovací schopnost:

- I. Smykové síly působící při hydrodynamickém zaměřování a při průchodu vstřikovacími tryskami.

- II. Kombinace fluorescenčního barviva Hoechst 33342 (bis-benzimide) a vystavování buněk určité vlnové délce UV světelného spektra
- III. Opakované elektrické dopování odpovídající obsahu DNA spermatu
- IV. Následný průchod vychylovacím elektrostatickým polem

3.5.1. Průtoková cytometrie

Základy průtokové cytometrie spadají do roku 1953, kdy byl popsán a později patentován přístroj nazývaný Coulter counter (počítadlo Coulter), který se stal základem pro první funkční průtokový analyzátor. Poskytoval způsob pro určování počtu a velikosti mikroskopické částice suspendované v elektrolytech (rozptýlené buňky v kapalině). Ke stanovení využíval princip průchodu vzorku přes jeden nebo více mikrokanálků, které oddělovali dvě komory obsahující roztoky elektrolytů. Vzorek byl vháněn do každého mikrokanálku, kde došlo ke krátké změně elektrického odporu kapaliny. Počítadlo tyto změny elektrického odporu zaznamenalo a vyhodnotilo. Za tento objev se zasloužil američan Wallace H. Coulterem.

Další člověk, který svým dílem přispěl, byl Lou Kamenstky. Tento muž se zabýval problémem automatizace, vyvinul automatizovaný multiparametrový průtokový cytometr měřící obsah na základě absorbance světla a buněčnou velikost na základě rozptylu světla na nezbarvených buňkách.

V té době byly stále absorbanční metody zvýhodňovány a upřednostňovány nad fluorescenčními. Pokud se zaměříme později na specifické buněčné třídiče, byl důležitý Mack Fulwyler, který vyvinul předchůdce dnešních průtokových cytometrů. Přístroj ovšem pracoval na principu elektrostatického vychýlení elektricky nabitých částic resp. absorbančních metodách.

První průtokový cytometr na bázi fluorescence, vyvinul a nechal si jej patentovat W. Godhe. Další osud průtokové cytometrie byl odkázán na rozvoj počítačových a jiných technologií, které ji zdokonalovaly až do dnešní podoby.

První kdo přesně označil populaci spermíí na X a Y chromozomy pomocí průtokové cytometrie byl Garner (1983). Průtoková cytometrická separace (Beltsvillská metoda sexování sperma) byla vyvinuta na konci 80-tých let Ministerstvem zemědělství USA

(USDA). První vědecká práce o této metodě byla publikována v roce 1987. USDA prodalo patent nově vytvořené společnosti, která se nazývá XY Inc (Krátký, 2008).

3.5.1.1. Využití v praxi

Především z medicínského hlediska je průtoková cytometrie zásadním objevem. Dotýká se, ale i jiných oborů jako je biologie aj. V rámci sexování spermií se používá DNA analýza.

K uskutečnění třídění musí být spermie obarveny a to umožňuje zjistit průtokovému cytometru přibližný rozdíl 4% DNA mezi X a Y spermii, ten je oddělí do dvou různých populací s čistotou 90% (Underwood et al., 2010).

Specifičtěji tuto třídění spermií vysvětluje Seidel (2007), který uvádí, že obsah DNA spermií se určí pomocí fluoreskujícího barviva Hoechst 33342, které snadno proniká membránou spermie a váže se na DNA. Díky tomu mají X spermie o 4 % více vázaného fluoreskujícího barviva na svých DNA než Y spermie. Barvivo ovšem fosforeskuje pouze, když je vystaveno určité vlnové délce světla a to umožňují drahé lasery. Skutečnost, že X spermie má o 4 % více DNA a váže tedy více barviva než Y spermie, rozeznává počítač. Pozorovat fluorescenci můžeme i pod mikroskopem, ale nejsme schopni rozeznat minimální procentuální rozdíl mezi spermii, takže se nám X i Y spermie jeví jako stejné. Část třídění probíhá tak, že proud tekutiny opouští průtokový cytometr a je vibrátorem rozdělen na malé kapičky tvořící asi 70 000 až 80 000 kapiček za sekundu. Asi jedna třetina obsahuje spermie a asi dvě třetiny jsou prosté od spermií nebo obsahují její minimální množství. Počítač analyzuje, pokud kapičky obsahují X spermie a přiřadí jim kladný elektrický náboj nebo Y spermie, které dostanou záporný elektrický náboj, pokud kapka neobsahuje spermie, jsou poškozené nebo nejsou k rozpoznání, nepřizuje se jim žádný elektrický náboj.

Pro následující výrobu inseminačních dávek nás zajímají pouze X buňky (Krátký, 2008). Sexované spermie jsou dále běžně zamrazeny a použity pro inseminaci (Underwood et al., 2010).

Marková (2010), ve své publikaci tvrdí k sexování spermií, že to může znamenat až 90% jaloviček ze všech narozených telat.

3.5.2. DNA analýza

DNA analýza je, po imunofluorescenci, druhým nejvýznamnějším využitím průtokové cytometrie (Ormerod, 2008).

Říha et al. (1995) píše, že z praktického hlediska se jeví jako nevýhodnější oddělit od sebe populace spermií nesoucí X a Y chromozom a takto definované spermie použít k inseminaci. Taktéž uvádí, že spermie s X chromozomem mají o 4% více DNA a je tak teoretický předpoklad separace jednotlivých populací spermií.

Sexace spermií dle genetického materiálu přehledně sepsali Garner et al. (1983) kdy principem měření průtokového cytometru je rozdíl v tvorbě zárodečných buněk s ohledem na pohlavní chromozomy. Muž produkuje dva typy těchto zárodečných buněk a to buď heterogametickou sérii s obsahem chromozómu X a Y a nebo homogametickou sérii s obsahem dvou chromozómů X. Už v té době se předpokládalo, že pro odlišení chromozómů X a Y slouží rozdíl v hlavičce spermií, kdy spermie s výbavou skýtající X má více genetické informace (DNA) a je tudíž těžší než výbava, kde je Y. Ve studii zjistili, že se rozdíly nelišily takovou měrou uvnitř plemene, ale byly významně odlišné, když byla porovnávána plemena mezi sebou. U býků se pohyboval rozdíl v obsahu DNA mezi X a Y chromozómy v rozmezí 3,9 až 4,2 % jak už bylo zmíněno v závislosti na plemeni.

Existence rozdílu objemu byla experimentálně posuzována i později společně se zdokonalováním techniky k pozorování.

3.5.3. Rozdíl mezi sexovanými a konvenčními dávkami - oplození schopnost

Carvalho et al. (2013) ve svých výzkumech zjistili rozdíly mezi smíchanými sexovanými spermie a spermii nesexovanými a přisuzují tuto skutečnost změnám v plazmatické membráně buněk. Lenzi et al. (1996) upozorňují na fakt, že plazmatická membrána spermie hraje velice důležitou roli pro kapacitaci a komunikaci mezi spermii a vajíčkem. Při kapacitaci, která je předpokladem pro oplodnění, dochází ke změnám resp. přestavbě v lipidové a glykoproteinové výbavě na plazmatické membráně spermií, které vedou ke zvýšení pohyblivosti spermie i k jejímu výkonnějšímu metabolismu (Nečas et al., 2000). Mocé et al. (2006) došli k závěru, že proces určování pohlaví (sexace spermií

v přístroji) z důvodů destabilizace membrány může vyvolat předčasnou kapacitaci spermií. A Carvalho et al. (2013) publikovali, že se jedná o změnu v drsnosti (nerovnost) membrány. Barvení s Hoechst 33342 a ozařování spermií UV-laserem při třídění spermií má tendenci zvyšovat chromozomální aberace (Garner, 2006). To je také jeden z možných důvodů, proč sexované spermie mají tendenci degenerovat rychleji než spermie nesexované. Rath et al. (2013) tvrdí, že Hoechst 33342 zřejmě není genotoxický, ale je mutagenní k buňkám a může tak vyvolat poruchy vývoje embryí.

Studie DeJarnette et al. (2011) se zaměřila na porovnání množství koncepcí u holštýnských jalovic po inseminaci sexovanými a konvenčními dávkami za předpokladu zohlednění množství aktivních spermií v jednotlivých dávkách. Při inseminaci v množství 2,1 mil. x 10⁶ spermií bylo dosaženo 38 % oplodnění u sexované a 55 % u konvenční dávky. Při množství 10 mil. x 10⁶ spermií bylo dosaženo 44 % u sexovaných a 60 % u konvenčních dávek. To dokazuje, že větší množství spermií v dávce (10 mil. x 10⁶) vykazovalo lepších výsledků než dávky s menším počtem spermií (2,1 mil. x 10⁶) a zároveň, že konvenční dávky mají vyšší oplozovací schopnost než dávky sexované.

Studie Mellado et al. (2013) se soustředila na podmínky prostředí mezi sexovanými inseminačními dávkami a dávkami konvenčními v průběhu celého roku. Plemenice, které byly inseminovány konvenčními dávkami, měly o 10 % vyšší zabřezávání než inseminované sexovanými dávkami (31 vs. 21 %) v průběhu roku (od ledna do prosince). Statisticky nevýznamný rozdíl byl v měsíci červenci, kdy se dosáhlo průměrně stejného oplození schopnosti (16 % sexované vs. 18 % konvenční). V rámci tepelného stresu u obou skupin dávek klesly výsledky inseminace v létě a na podzim. Statisticky neprůkazný rozdíl byl mezi dávkami během nejteplejších měsíců (červenec až říjen). Nicméně během nejchladnějších měsíců roku (leden, únor) byl statisticky průkazný rozdíl a to v o 10 % vyšším zabřezávání u jalovic, které byly inseminované konvenční dávkou. Tudíž studie došla k závěru, že v horkých měsících plodnost klesala u jalovic i krav, ať už byly inseminovány konvenčními či sexovanými inseminačními dávkami.

U sexovaných dávek je garantováno po rozmražení pouze 1,6 a 2,1 miliónů živých spermií, kdežto konvenční inseminační dávky v České republice mají cca 10 až 18 milionů živých spermií po rozmražení. I z těchto důvodů výrobci sexovaných inseminačních dávek

uvádějí, že je horší zabřezávání o 10 až 28 % oproti normálním inseminačním dávkám (Burdych and Rothová, 2008).

Nedávné pokroky ve strategii určování pohlaví a inovace v oblasti fluidních kapalin, manipulace s nimi, biologické zdokonalování a aplikace nejnovějších nanotechnologií, dohromady nabízejí značné vyhlídky do budoucnosti pro použití v určování pohlaví spermií (Rath et al., 2013).

4. MATERIÁL A METODY

V diplomové práci bylo sledováno zabřezávání u krav holštýnského skotu na farmě AGRAS Bohdalov. Jednalo se o sledování a vyhodnocení v období 2013 - 2014 celkem u 252 krav, které byly připuštěny sedmi býky sexovanými inseminačními dávkami. Vybranými býky holštýnského plemene byli plemeníci NEO 122, NEO 127, NEO 245, NEO 258, NEO 263, NEO 276 a NXB 060.

4.1. Charakteristika podniku

Kořeny společnosti AGRAS Bohdalov a.s. spadají do roku 1991, kdy bylo toto zemědělství součástí zemědělského družstva. V roce 1997 se rozdělilo bývalé družstvo a vznikla akciová společnost AGRAS Bohdalov, která v této podobě funguje dodnes. Tato společnost hospodář v katastru čtyř obcí na Vysočině – Bohdalov, Rudolec, Pokojov a Chroustov na zhruba 1350 ha (z toho 980 ha zastupuje orná půda). Převážná většina této výměry je věnována pro zajištění krmiv pro potřeby chovaného dojného holštýnského skotu. Dle Svazu chovatelů holštýnského skotu se stala firma AGRAS Bohdalov nejlepší stájí roku 2014 v kontrole užítkovosti.

4.1.1. Mléko

Situace na domácím trhu má ve výkupu mléka zhoršující se tendenci, která započala v květnu roku 2014. Mlékárny nakupovaly v listopadu průměrně za 8,86 Kč., ceny placené zemědělcům se lišily, převážně dle krajů. AGRAS Bohdalov prodává své mléko do společnosti Mlékárna Hlinsko a.s. za výkupní cenu, která je k prosinci 2014 8,73 Kč a cena odkupu stále klesá.

Laktaci na velkokapacitním kravíně v Bohdalově uzavřelo 726 krav. Průměrná užítkovost je 12 942 kg mléka za laktaci s průměrným tukem 3,69 % a bílkovinou 3,28 %, tímto si drží AGRAS Bohdalov na příčce nejlepších stájí své prvenství v České republice.

V TOP třiceti nejlepších kravách 2014 se umístilo hned 5 krav z tohoto chovu. První příčku obsadila kráva CZ371830961 s nejvyšší absolutní užítkovostí 1 436 kg T+B, která je

na 3. laktaci, s dosaženou užitkovostí 20 625 kg mléka s tučností 3,65 % a s obsahem bílkovin 3,32 %.

V TOP třiceti nejlepších prvotetek 2014 se umístilo 7 zvířat. I zde se dosáhlo výborného výsledku a na druhém místě se umístila prvotelka CZ452991961 s absolutní užitkovostí 1049 kg T+B, s dosaženou užitkovostí 13 825 kg mléka s tučností 4,24 % a obsahem bílkovin 3,35 %.

Dojí se třikrát denně v intervalu 8 hodin a to ráno ve 4:00, ve 12:00 a večer ve 20:00. Nachází se zde paralelní dojírna 2 x 16 od firmy BOUMATIC Xpressway. Mléko je odváděno do chladících tanků vyrobených od firmy Pacovské strojírný, a.s.. Krávy léčené, po otelení, nebo jinak nevhodné k dojení do těchto tanků jsou označeny páskami na zadních končetinách, pro lepší identifikaci. Mléko od léčených krav je podáváno býčkům ve vzdušných venkovních boudách. Pro jalovičky se používá MKS ředěná s vodou. Pro účely krmení telat slouží mléčný krmný automat MilchTaxi německé firmy Holm & Laue.

4.1.2. Krmení

Krmení krav probíhá dvakrát denně v hodinách mezi 7:00 – 8:00 hodinou ranní a 12:00 - 13:00 hodinou odpolední tak, aby krávy při příchodu z dojírny měly na krmném stole navezeno krmení. Krmení zajišťuje traktor John Deere s krmným vozem italské firmy LUCLAR Rollerfeed studio MUTTI s vertikálním šnekem a oboustranným dopravníkem. Večer se přihruje krmivo Zetorem 5211 s čelní radlicí.

4.1.3. Hnůj a kejda

Hnůj je odklizen kolovým nakladačem JCB a je vyvážen na skladiště hnoje vedle kravína. Odtud je hnůj nabírán a přemísťován na polní hnojiště v intervalu jednoho týdne. Pro kejdu je postavena kruhová nadzemní jímka, která je vybavena homogenizačním míchacím zařízením. Kapacita jímky je vypočtena, aby dodržela dobu 6 měsíců nevyvážení stanovenou zákony.

4.1.4. Struktura chovu

Na farmě v Bohdalově je za období leden – prosinec 2014 v oddílech plemenné knihy evidováno 802 holštýnských krav. Vyskytují se zde všechny čtyři oddíly plemenné knihy. V

prvním oddíle (PHA) je 790 krav, v druhém oddíle (PHB) jsou 4 krávy, třetí oddíl (PHC) skýtá 6 krav a do posledního oddílu (PHD) spadají 2 krávy. Tendence je snižovat stavy k 800 ks kvůli nedostatečnému stájovému místu. Z celkového počtu krav se zde objevuje 11 RED holštýnských plemenic. Průměrný produkční věk krav je 3,11 laktace. Nejstarší kráva v chovu je na 9 laktaci. Dříve byla brakace okolo 30 – 33 %, k roku 2014 je to 29,8 %. Jalovičky zahrnují 52 % z živě narozených telat. Ihned po porodu jsou telata odstavena a odchovávána ve venkovních boudách a následně v 6 – 7 týdnech přemístěna do venkovních kotců (teletníků) po určitém počtu zvířat. Býčci jsou krmení nestandardním mlékem a v měsíci stáří se prodávají. Jalovičky jsou krmeny mlezivem, MKS a od 7 týdnů věku jsou krmeny směsně - startérem, od 3,5 měsíců věku se používá startér s 12 % štípané slámy. Cenově je dražší (obyčejný startér – 9 Kč, startér se štípanou slámou – 10,90 Kč), ale pro vývoj předžaludku je mnohem lepší variantou. Zde jsou jalovičky cca do 6. měsíců a poté jsou přemístěny na farmu do Rudolce. V Rudolci jsou odchovávány do doby, než se stanou vysokobřezími. V tomto období se část vrací na farmu v Bohdalově pro obnovu stáda a část je prodána. Za rok se prodá z farmy Rudolec cca 100 kusů vysokobřezích jalovic.

4.1.5. Reprodukce

První otelení průměrně vychází na 24 měsíců a 14 dní, což znamená, že první zapouštění odpovídá 15 měsícům a 14 dním. Březost po I. inseminaci je u jalovic 48,9 % a u krav je to 28,2 %. V chovu nedávají důraz na % zabřezávání, nýbrž na počet březích krav za měsíc, resp. počet porodů za měsíc z průměrného porodu krav. Zároveň berou pouze informativně inseminační index (u jalovic – 1,8 a u krav – 2,6), který může poukazovat v chovu na možný výskyt poruch plodnosti, ale není úplně optimálním údajem, protože do něj nejsou zařazeny plemenice, které byly reinseminovány a ani plemenice, které byly následně vyřazeny. Servis perioda zakotvila na hodnotě 118,7 dní a inseminační interval na 53,1 dnech. Mezidobí je pod úrovní 400 dní a to přesně na 394,5 dní.

Sexovanými ID pro jalovice se začali zabývat přibližně před 7 – 8 lety. Od roku 2012 používají sexované ID i na krávy. Cena inseminační dávky je různorodá, záleží převážně na prověřenosti býka. Cena nakupovaných ID se pohybuje mezi 600 – 900 Kč za inseminační dávku. Potvrzení březostí u krav na farmě v Bohdalově je jednou za týden, v Rudolci u jalovic je to jednou za 14 dní. V chovu se do prosince 2014 používala řízená reprodukce – Ovsynch, jedna dávka vycházela zhruba na 200 Kč. Nutné u této metody je aplikace 3 hormonálních

injekcí (2x gonadotropiny, 1x prostaglandiny). Od této metody se postupně ustupuje, upřednostňují normální zabřezávání bez hormonálního ovlivňování. K tomuto účelu je dle slov pana Musila (vedoucí oboru živočišné produkce) nakoupen nový systém, který je prvně použit v ČR právě u nich v chovu a to SCR od izraelské firmy. O tom, zda-li se investice vyplatila, se přesvědčí v dalších letech.

4.1.6. Zajímavosti stáda

4.1.6.1. Nejproduktivnější kráva

Kráva z chovu AGRAS Bohdalov se stala nejlepší krávou v České republice s nejlepší produkcí tuku + bílkovin v laktacích uzavřených v kontrolním roce 2013/2014. Tímto prvenstvím se může pyšnit právě kráva narozená 8.3.2009 s číslem 371 830 961 faremně pojmenovaná jako „Amálka“. Amálka je na třetí laktaci a jejím otcem je NEA-113 a matkou CZ 274805 961.

Tabulka 2 Nejproduktivnější kráva v laktaci

POŘADÍ LAKTACE	VĚK ROK/MĚSÍC	DATUM OTELENÍ	POHLAVÍ TELETE	ZA LAKTACÍ				VĚK MEZIDOBÍ
				LAKT. DNY	MLÉKO [KG]	TUK [%]	BÍLK. [%]	
1	02/01	30.04.2011	J	278	13548	3,96	3,34	25/22
2	03/00	03.04.2012	J	305	19198	3,71	3,35	339
3	04/03	28.11.2013	J	305	20625	3,65	3,32	604

4.1.6.2. Nejstarší kráva

Nejstarší krávou je plemenice „Boženka“ 8396 961 narozená roku 2.12.2003, která je na 9. laktaci (tabulka 3 demonstruje údaje za uzavřené laktace). Na svůj pokročilý věk vypadá velice vitálně a její mléčná produkce by mohla předhonit leckterou mladší krávu.

Tabulka 3 Nejstarší kráva v laktaci

POŘADÍ LAKTACE	VĚK ROK/MĚSÍC	DATUM OTELENÍ	POHLAVÍ TELETE	ZA LAKTACI				VĚK MEZIDOBÍ
				LAKT. DNY	MLÉKO [KG]	TUK [%]	BÍLK. [%]	
1	02/01	11.01.2006	+	300	10412	4,23	3,14	25/10
2	03/00	10.12.2007	J	305	13883	3,99	3,10	333
3	04/03	03.03.2008	+	304	13440	4,30	3,31	449
4	05/02	15.02.2009	B	295	13142	4,47	3,13	349
5	06/02	01.02.2010	J	305	15010	4,04	3,14	351
6	07/02	18.02.2011	B	305	13902	4,32	3,24	382
7	08/06	21.06.2012	J	305	15274	3,91	3,04	489
8	09/06	12.08.2013	B	305	15158	3,80	3,22	417

4.2. Použití býci pro sexovanou inseminační dávku

Plemenice se zapouští dle individuálního přípravného plánu tak, aby vyprodukovaný potomek měl potencionálně co nejmenší nedostatky od rodičů. Na krávy v období roku 2013 – 2014 byli použiti následující býci.

4.2.1. Býk NEO-122

Tento býk se jmenuje CLEAR-ECHO M-O-M HEMAN „HEMAN“ s číslem ušní známky US 000068816209 je čistokrevného holštýnského původu (C100). Narodil se 26. 1. 2010 plemenci s původním číslem USA000062385266 (CZ 103806214) – CLEAR-ECHO GILDWYN a býkovi US 00135746776, statní registr - NEO-061, LONG-LANGS OMAN OMAN „MAN-O-MAN“. Patří do majetku CRV USA HOLDINGS INC., MADISON, WI. Pro dosud zveřejněný RPH přímý efekt (11/2014) pro obtížnost porodů – 104 (se spolehlivostí 95) – je teoreticky vhodný pro krávy. Dosahuje velmi dobré vlastní plodnosti býka (RPH 103) při připouštění krav.

4.2.2. Býk NEO-127

Tento býk se jmenuje COOKIECUTTER MOM HUNTER „HUNTER“ s číslem ušní známky US 003000540481 je čistokrevného holštýnského původu (C100). Narodil se 19. 2. 2010 plemenci s původním číslem USA000065597532 (CZ 103871214) - COOKIECUTTER SHTHOLLERWOOD a býkovi US 00135746776, statní registr - NEO-061, LONG-LANGS OMAN OMAN „MAN-O-MAN“. Patří do majetku CRV USA HOLDINGS INC., MADISON, WI. Pro dosud zveřejněný RPH přímý efekt (11/2014) pro obtížnost porodů – 85 (se spolehlivostí 95) – je teoreticky vhodný pouze pro krávy. Dosahuje velmi dobré vlastní plodnosti býka (RPH 106) při připouštění krav.

4.2.3. Býk NEO-245

Tento býk se jmenuje HORSTYLE TRIGGER TABOR „TABOR“ s číslem ušní známky US 000140965979 je čistokrevného holštýnského původu (C100). Narodil se 18. 11. 2010 plemenci s původním číslem USA000065963895 (CZ 107369214) – JETSTREAM O-JOY a býkovi US 000062253367, statní registr - NEO-126, LARS-ACRES SHOT TRIGGER „TRIGER“. Patří do majetku CRV USA HOLDINGS INC., MADISON, WI. Pro dosud zveřejněný RPH přímý efekt (11/2014) pro obtížnost porodů – 109 (se nízkou spolehlivostí 65) – je teoreticky vhodný pro krávy. Dosahuje dobré vlastní plodnosti býka (RPH 101) při připouštění krav.

4.2.4. Býk NEO-258

Tento býk se jmenuje ROCCA-DG SNOWFALL s číslem ušní známky BE 000128079806 je čistokrevného holštýnského původu (C100). Narodil se 6. 9. 2011 plemenci s původním číslem NLD000494931062 (CZ 108477214) – VEN DAIRY MAC BREESH VG-86 a býkovi NL 000388965513, statní registr - NEO-515, FLEVO GENETICS SNOWMAN „SNOWMAN“. Patří do majetku ZOOSERVIS, Malá Bystřice 158, 756 27. Pro dosud zveřejněný RPH přímý efekt (11/2014) pro obtížnost porodů – 105 (se spolehlivostí 90) – je teoreticky vhodný pro krávy. Dosahuje nižší vlastní plodnosti býka (RPH 97) při připouštění krav.

4.2.5. Býk NEO-263

Tento býk se jmenuje HOOD M-O-M EMMETT „EMMETT“ s číslem ušní známky DK 003001001754 je čistokrevného holštýnského původu (C100). Narodil se 12. 3. 2011 plemenci s původním číslem USA000139232811 (CZ 106006214) – TRAMILDA-N BAXTER EMILY a býkovi US 00135746776, statní registr - NEO-061, LONG-LANGS OMAN OMAN „MAN-O-MAN“. Patří do majetku Jan Nielsen, Logstor, Dánsko. Pro dosud zveřejněný RPH přímý efekt (11/2014) pro obtížnost porodů – 120 (se nižší spolehlivostí 80) – je teoreticky vhodný pro krávy a převážně jalovice. Dosahuje velmi dobré vlastní plodnosti býka (RPH 105) při připouštění krav.

4.2.6. Býk NEO-276

Tento býk se jmenuje COGENT TWIST „TWIST“ s číslem ušní známky UK 160193703425 je čistokrevného holštýnského původu (C100). Narodil se 19. 9. 2005 plemenci s původním číslem GBR160134700416 (CZ 108787214) a býkovi UK 000000598172, statní registr - NEA-588, PICSTON SHOTTLE „SHOTTLE“. Patří do majetku COGENT LEA LANE ALDFORD CHESTER, CHESHIRE. Pro dosud zveřejněný RPH přímý efekt (11/2014) pro obtížnost porodů – 88 (s nízkou spolehlivostí 63) – je teoreticky vhodný pouze pro krávy. Dosahuje méně dobré vlastní plodnosti býka (RPH 96) při připouštění krav.

4.2.7. Býk NXB-060

Tento býk se jmenuje WILRA BOLIVER SEQUOIA „SEQUOIA“ s číslem ušní známky US 000064188829 je čistokrevného holštýnského původu (C100). Narodil se 19. 12. 2007 plemenci s původním číslem USA000061935346 (CZ 110522214) – WILTRA RAMOS 599 a býkovi US 000123586443, statní registr - NXA-343, END-ROAD PVF BOLIVER „BOLIVER“. Patří do majetku GENEX COOPERATIVE, INC. MBC, DRIVE, SHAWANO, WI. Pro dosud zveřejněný RPH přímý efekt (11/2014) pro obtížnost porodů – 112 (s nízkou spolehlivostí 70) – je teoreticky vhodný pro krávy a případně jalovice. Dosahuje průměrné vlastní plodnosti býka (RPH 100) při připouštění krav.

4.3. Sledované ukazatele

Do pozorování bylo zahrnuto 3 838 plemenic, které byly inseminovány konvenčními i sexovanými dávkami spermatu. U všech těchto plemenic se hodnotil kladný či záporný výsledek zabřeznutí. U sexovaných ID se zároveň hodnotil nádoj, tuk a bílkovina v období, kdy byly zapouštěny. Jak demonstruje tabulka níže, ohledně sexovaných ID bylo v měsíci inseminace hodnoceno 252 krav, ovšem hodnocení měsíce před inseminací bylo poníženo na 169 krav, neboť u 83 z nich nebylo možno zahrnout z kontroly užitečnosti data za měsíc před inseminací pro krátký časový úsek od porodu do první inseminace.

Tabulka 4 Základní statistika

	Proměnná	n	\bar{x}	s	min	max	s.e.	V (%)
Sexované + konvenční ID	Výsledek zapouštění	3838	35,30	47,80	0	100	0,77	135,39
Sexované ID	Dojivost / měsíc před inseminací [kg]	169	44,35	8,44	29,5	70,6	0,65	19,03
	Tuk / měsíc před inseminací [%]	169	3,54	0,49	2,11	6,07	0,04	13,76
	Bílkovina / měsíc před inseminací [%]	169	3,15	0,22	2,55	3,88	0,02	6,95

	Dojivost / období inseminace [kg]	252	44,43	7,29	27,5	68,3	0,46	16,41
	Tuk / období inseminace [%]	252	3,50	0,46	2,05	5,08	0,03	13,05
	Bílkovina / období inseminace [%]	252	3,18	0,21	2,63	4,08	0,01	6,49

Vysvětlivky : n.... četnost,
 \bar{x}aritmetický průměr;
s.... směrodatná odchylka;
min. ... minimální hodnota;
max. maximální hodnota;
s.e. střední chyba aritmetického průměru;
V variační koeficient

Předmětem zkoumání bylo i statistické vyhodnocení skupin dle ukazatelů užitkovosti u krav, které byly zapouštěny sexovanou inseminační dávkou. 252 plemenic bylo rozděleno do 3 skupin dle nádoje, dle tuku a dle bílkovin zjištěného z kontroly užitkovosti v měsíci inseminace.

Dle nádoje: První skupina zahrnovala krávy, které nadojily méně než 40,78 l. Druhá skupina měla mezní hodnoty 40,78 – 48,08 l. A do třetí skupiny se členily krávy, které měly nádoj větší než 48,08 l.

Dle tuku: První skupina zahrnovala krávy, které svým obsahem tuku dosáhly méně než 3,27 %. Druhá skupina měla hranici u hodnot 3,27 – 3,73 %. Třetí skupina obsahovala krávy s tukem vyšším než 3,73 %.

Dle bílkovin: Do první skupiny byly členěny krávy, které měly obsah bílkovin nižší než 3,07 %. Druhá skupina měla mezní hodnoty 3,07 – 3,28 %. Třetí skupina zahrnovala krávy, které dosáhly v obsahu bílkovin více než 3,28 %.

Tabulka 5 Rozdělení skupin ukazatelů užitkovosti

NÁDOJ		TUK		BÍLKOVINY	
hranice skupin	n	hranice skupin	n	hranice skupin	n
< 40,78 l	80	< 3,27 %	64	< 3,07 %	77
40,78 - 48,08 l	102	3,27 - 3,73 %	123	3,07 - 3,28 %	110
> 48,08 l	70	3,73 %	65	3,28 %	65

4.4. Metody zpracování

Pro stanovení základních parametrů souborů byly využity procedury MEANS a UNIVARIATE. Vztahy mezi vybranými indikátory byly posuzovány pomocí korelačních koeficientů, které byly vypočteny pomocí procedury CORR. Při výběru vhodného modelu hodnocení daných ukazatelů byla využita procedura REG, metoda STEPWISE. Pro hodnocení rozdílu mezi skupinami proměnných byla použita procedura GLM, s následným detailním vyhodnocením pomocí Tukey-Kramerova testu.

Modelová rovnice:

$$y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + e_{ijkl}$$

kde:

y_{ijkl} - hodnoty závislé proměnné (výsledek inseminace);

μ - obecná hodnota závislé proměnné;

a_i - fixní efekt ID (i = sexovaná, $n = 252$; i = nesexovaná, $n = 3586$);

b_j - fixní efekt měsíc inseminace ($j=1$ -leden, $n= 372$; $j=2$ -únor, $n= 298$; $j=3$ -březen, $n= 340$; $j=4$ -duben, $n= 289$; $j=5$ -květen, $n= 334$; $j=6$ -červen, $n= 253$; $j=7$ -červenec, $n= 289$; $j=8$ -srpen, $n= 375$; $j=9$ -září, $n= 371$; $j=10$ -říjen, $n= 388$; $j=11$ -listopad, $n= 367$; $j=12$ -prosinec, $n= 162$);

c_k - fixní efekt roku inseminace ($k= 2013$, $n = 2023$; $k= 2014$, $n = 1815$);

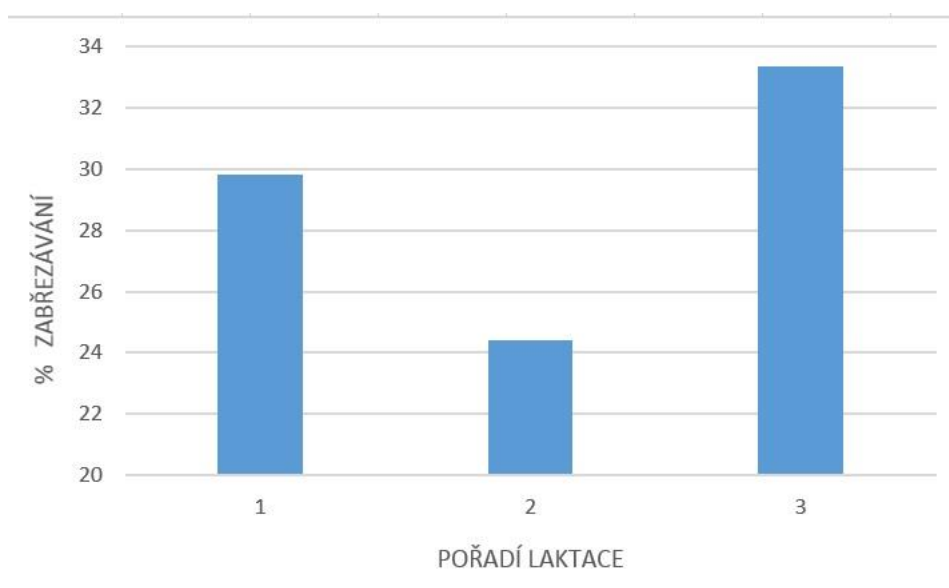
e_{ijkl} - náhodná reziduální chyba.

5. VÝSLEDKY

5.1. Vliv pořadí laktace na zabřezávání

Data zahrnují 252 krav inseminovaných sexovanými inseminačními dávkami na první až třetí laktaci. Dle níže uvedeného grafu 1 (viz. příloha tabulka 9) bylo na první laktaci 208 krav s výsledkem zabřezávání 29,81 %. 41 krav bylo zapuštěno na druhé laktaci s výsledkem zabřezávání 24,39 %. Ve skupině na třetí laktaci byly pouze 3 krávy s 33,33 % úspěšností zabřezávání.

Graf 1 Vliv pořadí laktace na zabřeznutí



Tato data byla statisticky vyhodnocena a nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl ohledně závislosti pořadí laktace na zabřeznutí ($P > 0,05$). Korelační koeficient ukazuje mírnou lineární nepřímou (negativní) závislost.

Tabulka 6 Korelace mezi výsledkem zapouštění a pořadím laktace

	STATISTIČTÍ UKAZATELE	POŘADÍ LAKTACE
VÝSLEDEK ZAPOUŠTĚNÍ	r	-0,034
	P	0,594
	n	252

Vysvětlivky : r – korelační koeficient
P – statistická průkaznost
n – počet hodnot ve zkoumání

5.2. Vliv dojivosti a obsahu složek na zabřezávání

U sexovaných inseminačních dávek byl hodnocen vliv dojivosti, obsahu tuku a bílkovin na schopnost zabřeznutí měsíc před inseminací a v měsíci inseminace. Nebyl prokázán statisticky významný vliv ani u jednoho z níže zvedených ukazatelů (viz. tabulka 7).

Tabulka 7 Vliv dojivosti a obsahu složek na zabřeznutí

STATISTIČTÍ UKAZATELÉ	VÝSLEDEK ZAPOUŠTĚNÍ		
	r	P	n
Dojivost / měsíc před inseminací [kg]	-0,134	0,083	169
Tuk / měsíc před inseminací [%]	0,102	0,188	169
Bílkovina / měsíc před inseminací [%]	0,108	0,162	169
Dojivost / období inseminace [kg]	-0,101	0,110	252
Tuk / období inseminace [%]	-0,056	0,380	252
Bílkovina / období inseminace [%]	0,101	0,109	252

Dále byly sexované ID rozděleny do tří skupin dle nadoje, obsahu tuku a bílkovin.

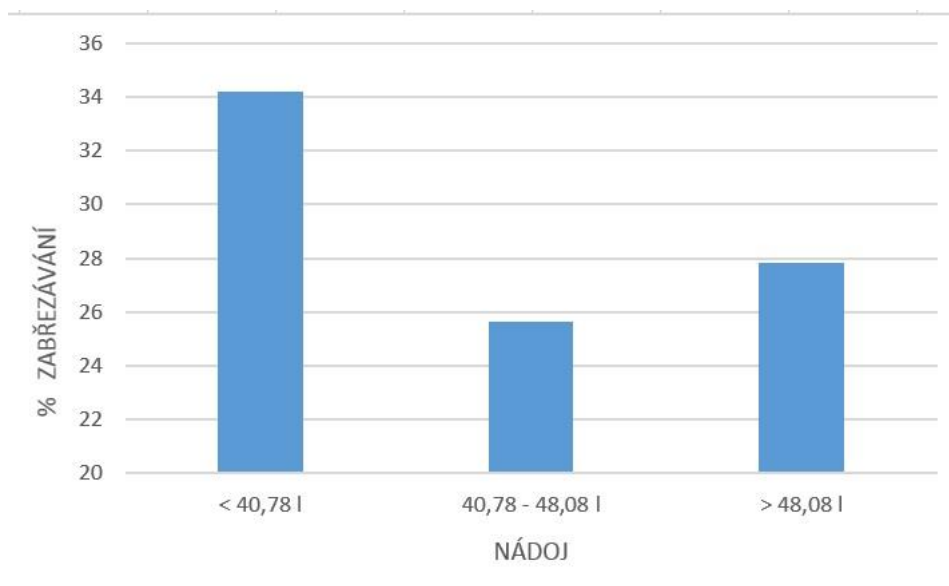
5.2.1. Zabřezávání dle nadoje

Ve skupině 1 byly krávy, které nadojily méně než 40,78 l (n = 80), skupina 2 byla v mezních hodnotách 40,78 – 48,08 l (n = 102) a skupina 3 byla s vyšším nadojem než 48,08 l (n = 70). Členění bylo uskutečněno takto po úvaze, že průměr krav inseminovaných sexovanými ID byl v kontrolním měsíci 44,43 l (n = 252). Nenašel se statisticky významný rozdíl ($P > 0,05$) mezi těmito skupinami v zabřezávání dle nadoje.

Níže demonstrováný graf 2 (viz. příloha tabulka 11) poukazuje, že březost 1 skupiny s nadojem menším než 40,48 l byla nejlepší ze všech tří skupin (34,22 %). Naopak nejhorší se

ukázala být skupina 2 s mezními hodnotami, které byly odvozeny nejbližší průměru (25,62 %).

Graf 2 Vliv zabřezávání dle nádoje

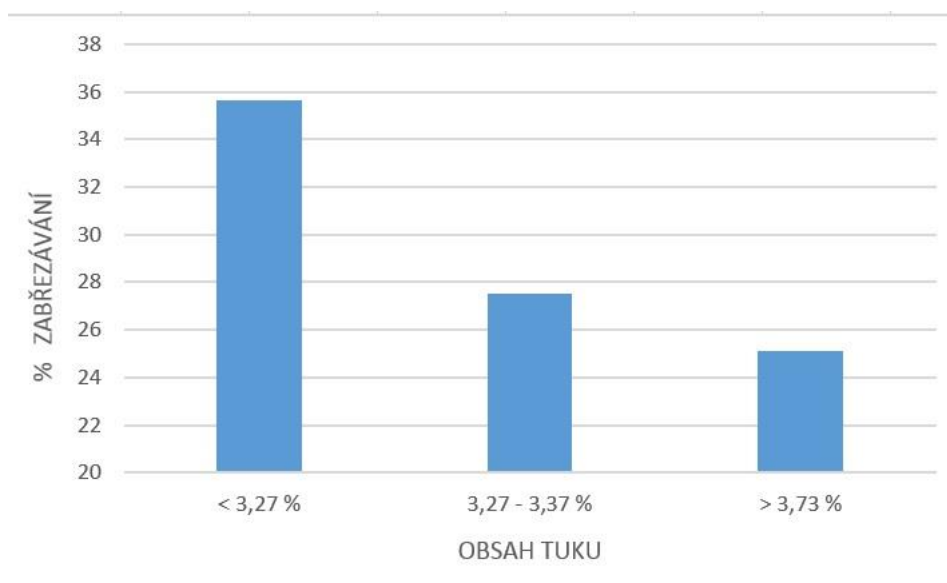


5.2.2. Zabřezávání dle obsahu tuku

Ve skupině 1 byly krávy, které měly obsah tuku menší než 3,27 % (n = 64), skupina 2 byla v mezních hodnotách 3,27 % - 3,73 % (n = 123) a skupina 3 byla s vyšším obsahem tuku než 3,73 % (n = 65). Členění bylo uskutečněno takto po úvaze, že průměr krav inseminovaných sexovanými ID byl v kontrolním měsíci 3,5 % (n = 252). Nenašel se statisticky významný rozdíl ($P > 0,05$) mezi těmito skupinami v zabřezávání dle obsahu tuku.

Níže demonstrováný graf 3 (viz. příloha tabulka 12) poukazuje, že březost 1 skupiny s obsahem tuku menším než 3,27 % byla nejlepší ze všech tří skupin (35,63 %). Naopak nejhorší se ukázala být skupina 3 s obsahem tuku vyšším než 3,73 % (25,13 %).

Graf 3 Vliv zabřezávání dle obsahu tuku

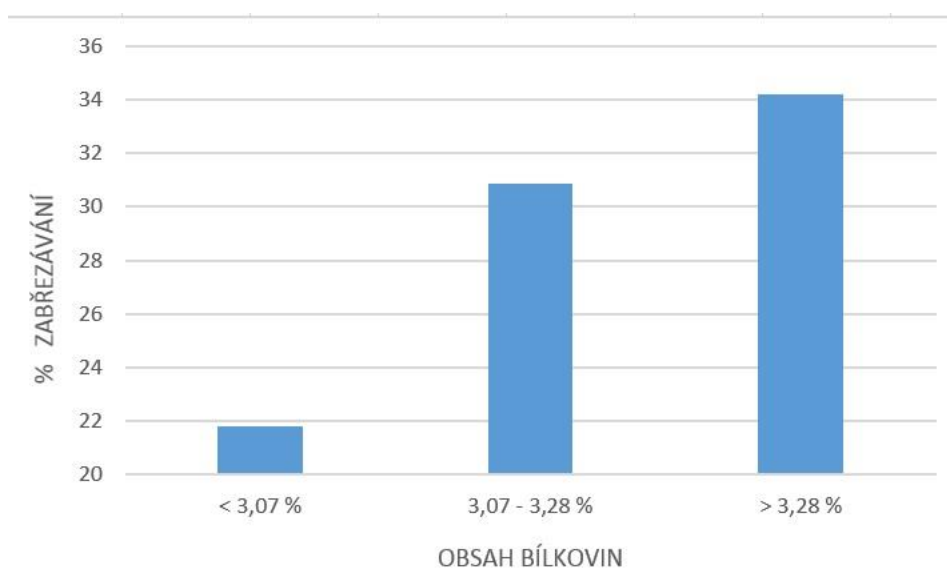


5.2.3. Zabřezávání dle obsahu bílkovin

Ve skupině 1 byly krávy, které měly obsah bílkovin nižší než 3,07 % (n = 77), skupina 2 byla v mezních hodnotách 3,07 – 3,28 (n = 110) a skupina 3 byla s obsahem bílkovin vyšším než 3,28 % (n = 65). Členění bylo uskutečněno takto po úvaze, že průměr krav inseminovaných sexovanými ID u složky bílkovin byl v kontrolním měsíci 3,18 % (n = 252). Zabřezávání dle obsahu bílkovin nebylo statisticky průkazné ($P > 0,05$).

Níže demonstrováný graf 4 (viz. příloha tabulka 13) poukazuje, že březost 3 skupiny s obsahem bílkovin vyšším než 3,28 % byla nejlepší ze všech tří skupin (34,19 %). Naopak nejhorší se ukázala být skupina 1 s obsahem bílkovin nižším než 3,07 % (21,81%).

Graf 4 Vliv zabřezávání dle obsahu bílkovin



5.3. Výsledky reprodukce

Tabulka níže určuje, že síla modelu má 10 % variabilitu z výsledků inseminace a model je statisticky průkazný na hladině významnosti $P < 0,01$.

Tabulka 8 Síla modelu

UKAZATEL	MODEL	
	r^2	P
výsledek reprodukce	0,1	<0,001

5.3.1. Zabřezávání dle roku

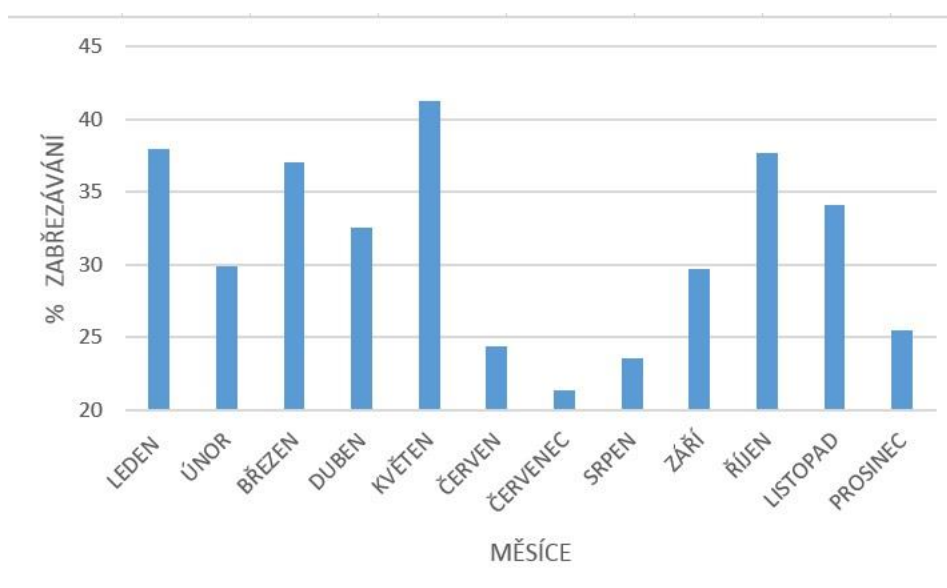
Při vyhodnocení výsledků v závislosti na roku zkoumání dle procedury GLM (ANOVA) nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. V roce 2013 bylo procento zabřeznutí na úrovni 31,61 % a v roce 2014 výsledek činil 30,91 %.

5.3.2. Zabřezávání dle měsíců

Při vyhodnocení výsledků v závislosti na roku zkoumání (viz. příloha části tabulky 10) dle procedury GLM (ANOVA) byl zjištěn statisticky významný rozdíl u některých ze zkoumaných měsíců. Zabřezávání bylo v lednu 37,91 %, v březnu 37,07 %, v květnu 41,23

%, v červnu 24,40 %, v červenci 21,41 %, v srpnu 23,61 % a v říjnu 37,66 %. U všech zmíněných měsíců byl statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,01$. Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$ byl u měsíců listopad 34,14 % a prosinec 25,51 %. Za měsíce, kde jsou statisticky neprůkazné rozdíly, se řadí únor 29,89 %, duben 32,53 % a září 29,75 %.

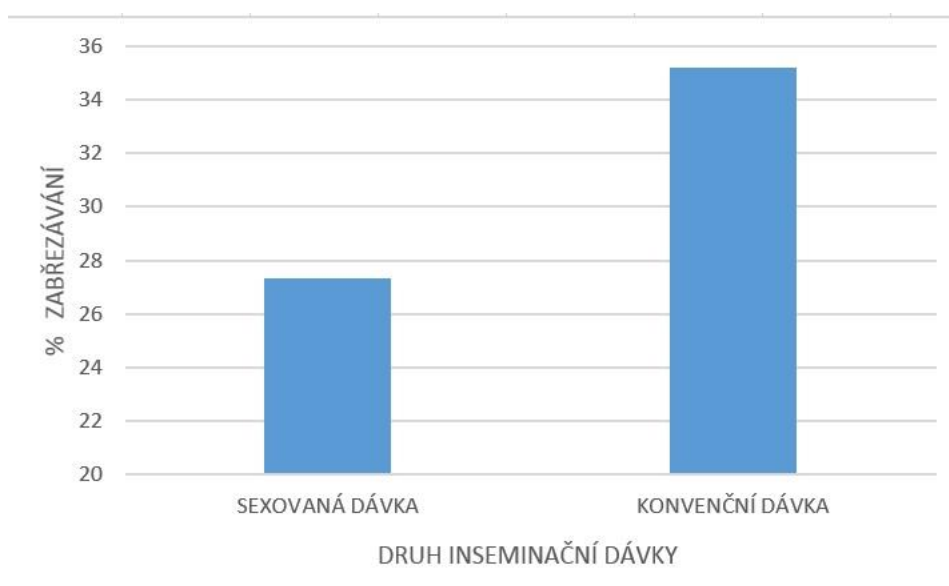
Graf 5 Zabřezávání dle měsíců



5.3.3. Zabřezávání dle konvenční/sexované dávky

V porovnání mezi konvenční a sexovanou inseminační dávkou byl zjištěn statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $P < 0,05$. Zabřezávání u sexovaných dávek bylo nižší a to na úrovni 27,32 % než u dávek konvenčních, kde hodnota zabřezávání dosahovala 35,19 % (viz. příloha části tabulky 10).

Graf 6 Zabřezávání dle inseminační dávky



6. DISKUZE

6.1. Vliv pořadí laktace na zabřezávání

Ozcelik, Arpacik (2000) ve své studii tvrdí, že počet inseminací, servis perioda a mezidobí má tendence klesat po druhé laktaci. Ale zároveň tvrdí, že nejlepší mléčné produkce a reprodukční výkonnosti bylo dosaženo na čtvrté laktaci. Toto se vztahuje ke konvenčním dávkám, bohužel krávy na čtvrté laktaci nebyly v našem pozorování, neboť sexované inseminační dávky se používají v největším podílu na jalovicích. Ovšem krávy na třetí laktaci dosáhly nejlepších výsledků, ale pro malý počet krav v souboru ($n = 3$) není možné vyvozovat žádných závěrů.

6.2. Vliv dojivosti a obsahu složek na zabřezávání

Říha et al. (2004) tvrdí, že po porodu se náhle zvětšují metabolické požadavky jak na zvýšení příjmu živin ze střeva, tak na rychlou mobilizaci lipidových a proteinových zásob (náhlý nástup vysoké produkce). Rychlé zvýšení požadavků na energii v souvislosti s nástupem laktace má u mléčných krav za následek negativní energetickou bilanci (NEB), která začíná několik dnů před porodem a obvykle je největší okolo 2 týdnů po porodu. Délka trvání hluboké NEB ovlivňuje délku intervalu do první ovulace, která se objevuje okolo 30. dne postpartu (po porodu) v rozmezí 17 – 42 dnů. Výsledkem je, že u krav s nadměrnou kondicí je zvýšená mobilizace tělesného tuku a větší akumulace triacylglycerolů v játrech, což je spojeno s prodloužením intervalu do první ovulace a redukcí fertility.

Všechna výše zmíněná fakta mohou být jedním z důvodů pro nezabřeznutí, ovlivnění dojivosti a obsahu složek v mléce u některých ze sledovaných krav.

6.2.1. Zabřezávání dle nádoje

Při zvyšování užitkovosti dochází často ke snižování schopnosti zvířat k reprodukci. Je to stav objektivní, i když některé literární prameny to neuvádějí a považují ho za neschopnost chovatelů přizpůsobit podmínky prostředí (především kvality výživy) potřebám zvířat (Říha, 1996). O několik let později Říha et al. (2004) napsali ve své publikaci, že mezi reprodukční schopností a vysokou užitkovostí existuje prokazatelně antagonistický vztah.

Vacek et al. (2013) uvádějí obecnou pravdu, že výsledky reprodukce jalovic, které nemají organismus zatížený mléčnou produkcí, jsou zpravidla lepší, než u dojnic, ať už z hlediska vyhledávání říje, tak z hlediska zabřezávání. Výše zmíněné tvrzení by se dalo přeformulovat i v úvahu toho, že krávy s nižším nádojem v době kontroly budou reprodukčně schopnější zabřeznout než krávy s vysokým nádojem v období kontroly. Tato úvaha se nepotvrdila, neboť se nenašel statisticky významný rozdíl ($P > 0,05$) v zabřezávání dle nádoje.

6.2.2. Zabřezávání dle obsahu tuku

Většina mléčného tuku (asi 75 %) je syntetizována v mléčné žláze. U skotu jsou prekurzory mléčného tuku hlavně těkavé masné kyseliny, které vznikají při fermentačních procesech v bachoru. Mléčný tuk se syntetizuje zejména z kyseliny octové a kyseliny máselné. Kyselina octová obvykle tvoří 60 – 70 % těkavých masných kyselin vznikajících při bachorové fermentaci. Pokles množství vytvořené kyseliny octové snižuje i množství vytvořeného mléčného tuku a tím i tučnost mléka. Čím více se vytvoří v bachoru kyseliny octové, tím více stoupá obsah tuku v mléce (Bouška et al., 2006). K výraznému zvýšení tučnosti mléka však dochází při rozvoji energetického deficitu a vzniku subklinické ketózy (Ticháček a kol., 2007).

Výsledky této diplomové práce ukazují, že s nízkým obsahem tuku zabřezávají krávy lépe než s jejím obsahem vysokým (postupná tendence). Z tohoto hlediska by mohl čistě teoreticky vysvětlovat získané výsledky argument, že při výživové pohodě, kdy záchovná dávka je plně pokryta a pokrývá se i část mléčné produkce tzn. i syntéza na tuk, nemá organismus krávy velkou zátěž ohledně přeměny těkavých masných kyselin na tuk (resp. tučnost). Tudiž se snížením obsahu mléčného tuku (resp. tučnosti) dochází k úspoře energie pro samotný organismus dojnice a její tělo se může soustředit na reprodukční pochody.

6.2.3. Zabřezávání dle obsahu bílkovin

Říha et al. (2004) uvádějí, že příliš nízký obsah bílkovin v mléce (< 2,80 %) v počátku laktace pravděpodobně související s energetickou podvýživou a nedostatkem dusíkatých látek je spojen se zhoršením reprodukčních ukazatelů a také dodává, že mírné zhoršení reprodukce lze pozorovat také při příliš vysokém obsahu bílkovin v mléce (> 3,60 %). Vyšší obsah bílkovin než uvádí předchozí knižní zdroj byl zaznamenán u 9 krav s výsledkem reprodukce

pozitivním tj. 4 krávy zabřezly. Naopak nižší obsah bílkovin v mléce než výše zmíněný zdroj uvádí byl pozorován u 5 krav, z nichž 2 zabřezly. Z těchto výsledků nelze udělat žádných závěrů pro malý počet krav s vyšším/nižším obsahem bílkovin.

Vysoká mléčná užitkovost krav závisí na výši příjmu N-látek a energie. podle kvantity a kvality N-látek v krmivu může být snížena hladina koncentrace progesteronu v séru, změněno prostředí v děloze a může klesat fertilita. Protože metabolismus a využití N-látek v krmné dávce závisí na dostupnosti energie, efektu krmení vysokými dávkami N-látek prohlubuje problémy předcházejícího stavu NEB a reprezentuje další významnou interakci mezi výživou a reprodukcí u mléčných krav (Říha et al., 2004). Pokud budeme krmit kvalitními N-látkami, v teoretické rovině se bude lépe dařit kravám s mírně vyšším obsahem bílkovin v mléce, protože budou schopny lépe využívat energii a budou jí mít dostatek na následnou přeměnu než krávy s mírným deficitem, neboť energie je i základem pro plnohodnotný projev říje tzn. dobré zabřezávání. Z výsledků je zřejmé, že zabřezávání má se zvyšováním obsahu bílkovin pozitivní korelaci, tyto výsledky však nejsou statisticky průkazné.

6.3. Výsledky reprodukce

Kromě určitého možného vlivu pořadí laktace, doživosti a obsahu složek v mléce, které se v této práci statisticky nepotvrdily, jsou tu i jiní ukazatelé, kteří ovlivňují výsledky reprodukce.

Pokud začneme od píky s ohledem na kvalitu reprodukce, jedná se zejména o základ zdraví odchované jalovičky, správné dodání kolostrální imunity, dobré podmínky výživy a s tím spojený správný rozvoj předžaludků. Dále je nutné sledovat jejich životní projevy a zapouštět jalovice v optimálně stanovený čas a při dobré výživné kondici. Brát v úvahu i období od zapuštění do otelení a snažit se omezit co nejvíce dopad negativní energetické bilance krátce po období porodu.

6.3.1. Zabřezávání dle roku

U skotu není periodicitu pohlavních funkcí spojena se sezónností (délkou a intenzitou světelného dne). Přesto je známo, že při zvyšování světelné intenzity se plemenice skotu

intenzivněji říjí, zvyšuje se jejich zabřezávání (Říha et al., 1996). V roce 2013 bylo dle statistik 1 614,25 hodin slunečního svitu a v roce 2014 to bylo o něco málo více a to 1 646,00 hodin. Průměrná teplota za rok 2013 dosahovala 8,9 °C a za rok 2014 10,3 °C. Z těchto dat můžeme usoudit, že se zabřezávání v závislosti na letech nestalo statisticky významným, protože z praktického hlediska, byly v obou letech obdobné klimatické podmínky (data z 80 km vzdáleného města).

6.3.2. Zabřezávání dle měsíců

Illek (2009) napsal, že dospělý skot snáší nízké teploty dobře, hůře se však vyrovnává s vysokými teplotami vnějšího prostředí. Pokud tuto úvahu převedeme v rámci měsíců, vychází nám, že nejhorší výsledky zabřezávání se uskutečnily v červnu (24,40 %), červenci (21,41 %) a srpnu (23,61 %). V našich klimatických podmínkách jsou nejteplejšími měsíci právě červen, červenec, srpen. Září (29,75 %) se řadí do podzimních měsíců a květen (41,23 %) do měsíců jarních. Tyto dva měsíce, zdálo by se, mohou narušovat to, co napsal Illek. Ovšem v rámci posledních roků se zima prodlužuje a sníh se objevuje i v jarním měsíci dubnu. Tato tendence posunu vysvětluje, proč v květnu, kdy bude relativně více zima, než v září jsou výsledky reprodukce takové, jaké jsou.

Kolumbijská studie (Mellado et al., 2013) zaznamenala, že zabřezávání u krav bylo o 10% vyšší v lednu a prosinci u konvenčních dávek než u sexovaných dávek (31 % vs. 21 %). Zároveň se velice snížila schopnost zabřezávání v červenci (16 % vs. 18 %), ale bez statisticky průkazných rozdílů mezi dávkami. Zabřezávání kleslo u obou inseminačních dávek v průběhu jara a podzimu. To poukazuje na jistý vliv tepelného stresu na zabřezávání.

6.3.3. Zabřezávání dle konvenční/sexované dávky

U konvenčních dávek bylo dosaženo 35,19 % zabřezávání, u sexovaných dávek byla tato hodnota nižší a to na úrovni 27,32 %. Louda et al. (2008) se vyjádřil ve své publikaci, že díky třídění ejakulátu průtokovým cytometrem se schopnost oplození a celkové aktivity spermií negativně odráží na míře zabřezávání. Zmiňuje, že je to až o 15 – 28 % horší hodnota než u konvenčních dávek. Toto tvrzení odpovídá i výsledkům porovnávaným u obou variant ID, kdy se zabřezáváním dosahujeme o 22,36 % horšího výsledku než u konvenčních dávek

spermatu. Mexická studie (Mellado et al., 2013) zkoumala zabřezávání v období roku s výsledkem 23,9% u konvenčních vs. 17,1 % u sexovaných dávek, ovšem nižší hodnoty zabřezávání mohou být dány vysokými teplotami v období roku, jelikož Mexiko spadá pod subtropický až tropický pás na rozdíl od mírného pásu v České republice.

Tvrzení Louda et al. (2008) a Underwood et al. (2010) se shoduje s výsledky po otelení krav sexovanou inseminační dávkou a to, že díky průtokové cytometrii se spermie oddělí do dvou různých populací s čistotou 90% ve prospěch jaloviček. Se zaměřením na pohlaví telat u sledované skupiny krav, bylo zjištěno, že se otelilo do prosince 2014 (zkoumané období 2013 – 2014) padesát krav. Z 92 % se rodily jalovičky, jednou se dokonce narodila i dvojčata – jalovičky a býčků se narodilo 8 % (n = 4).

Důvodem, proč je zabřezávání nižší může být fakt, že manipulace s odebraným spermatem pomocí průtokového cytometru negativně ovlivňuje oplozovací schopnost plemenic. Dalším důvodem horší schopnosti zabřeznout může být podstatně nižší obsah spermií obsažených v sexované inseminační dávce (cca 2 miliony) oproti dávce konvenční (cca 10 milionů). Svoji roli může hrát i to, že takto upravené dávky se používají výhradně pro jalovice, protože u nich je dokázáno vyšší procento zabřeznutí a tato práce se zabývá výsledky u krav. Vlivy, které nelze opominout jsou např. i kvalitní nakládání s dávkami (zmražení, rozmražení), práce inseminačního technika a celkový zdravotní stav říjících se krav.

7. ZÁVĚR

Úkolem této diplomové práce bylo prioritně vyhodnotit rozdílnost v zabřezávání u holštýnských krav inseminovaných konvenčními nebo sexovanými inseminačními dávkami. Dále se tato diplomová práce u sexovaných inseminačních dávek zabírala vlivy na zabřezávání jako je pořadí laktace, nádoj, obsah tuku a bílkovin v měsíci, kdy byly krávy inseminovány a závislost roků a měsíců na výsledky reprodukce.

Ze zjištěných skutečností lze udělat tyto závěry:

Bylo uskutečněno 3838 inseminací v letech 2013 – 2014. Konvenčních dávek bylo takto použito v míře 3586 kusů, zbylých 252 dávek bylo sexovaných od 7 vybraných plemenů. V závislosti zabřezávání sexovaných dávek na pořadí laktace nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl, nejlépe dle sledování zabřezávaly krávy na třetí laktaci, ovšem v pozorovaném souboru byly pouze tři plemenice.

V souboru zabřezávání dle nádoje byly nejlépe vyhodnoceny krávy s nádojem menším než 40,78 l. Pokud se zaměříme na obsah tuku v měsíci inseminace, zabřezávaly nejlépe krávy s obsahem tuku nižším než 3,27 %. V bílkovinách si nejlépe vedly se zabřezáváním krávy s 3,28 % a vyššími obsahem. Ovšem ani jedna z těchto vyhodnocených výše zmíněných věcí nebyla statisticky průkazná.

Zároveň u závislosti roků na zabřezávání nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. Statisticky průkazný rozdíl zaznamenaly kalendářní měsíce leden, březen, květen, červen, červenec, srpen, říjen, listopad a prosinec. Jako zcela statisticky neprůkazné kalendářní měsíce se ukázaly únor, duben a září.

U dávek konvenčních a sexovaných byl zjištěn horší výsledek reprodukce při porovnání těchto dávek a to o 22,36 % v neprospěch dávek sexovaných.

Výsledky zjištěné v této diplomové práci poukazují na možnost změny ve využívání upravených inseminačních dávek v rámci řízení stáda. Pro vyšší pořizovací náklady na sexované inseminační dávky je vhodné používat je výhradně na jalovice, u kterých je teoretická schopnost zabřeznutí vyšší než u krav.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ANONYM. 2013. *Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR*. Černostrakaté novinky 3. 5 p.
- BALL, P. J. H., PETERS, A. R. 2004. *Reproduction in cattle*. Blackwell Publishing. Oxford (UK). 252 p. ISBN: 1405115459.
- BOTTO, V. 1984. *Chov hovädzieho dobytku*. 1. vydání. Bratislava. Príroda. 480 p.
- BOUŠKA, J., DOLEŽAL, O., JÍLEK, F., KUDRNA, V., KVAPILÍK, J., PŘIBYL, J., RAJMON, R., SEDMÍKOVÁ, M., SKŘIVANOVÁ, V., ŠLOSÁRKOVÁ, S., TYRLOVÁ, Y., VACEK, M., ŽIŽLAVSKÝ, J. 2006. *Chov dojeného skotu*. Profi Press. Praha. 186 p. ISBN: 80-86726-16-9.
- BOWEN, J. M. 1969. *Artificial Insemination in the Horse*. Equine Veterinary Journal, 1: 98–110 p.
- BURDYCH, V., ROTHOVÁ, M. 2008. *Sexované sperma býků*. Chovatelské listy. VIII. (1). 4 – 5 p.
- CAPANNA ERNESTO. 1999. *Lazzaro Spallanzani: At The Roots Of Modern Biology*. Journal of Experimental Zoology. Vol. 285 (3). 178-196 p.
- CARVALHO, J. O., SILVA, L. P., SARTORI, R., DODE, M. 2013. *Nanoscale Differences in the Shape and Size of X and Y Chromosome-Bearing Bovine Sperm Heads Assessed by Atomic Force Microscopy*. PLoS ONE 8(3): e59387. doi:10.1371/journal.pone.0059387.
- DEJARNETTE, J. M, LEACH, M. A., NEBEL, R. L., MARSHALL, C. E., MCCLEARY, C. R., MORENO, J. F. 2011. *Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible?* J. Dairy Sci. 94. 3477 – 3483 p.
- FILHO, M. F. S., MENDANHA, M. F., SALA, R. V., CARVALHO, F. J., GUIMARAES, L. H. C., BARUSELLI, P.S. 2013 *Use of sex-sorted sperm in lactating dairy cows upon estrus detection or following timed artificial insemination*. Animal Reproduction Science. 143 (2013). 19 – 23 p.

- FOOTE, R. H. 2002. *The history of artificial insemination: Selected notes and notables*. Journal of Animal science. 80 (2). 1 – 10 p.
- GARNER, D. L. 2006. *Flow cytometric sexing of mammalian sperm*. Theriogenology 65. 943 – 957 p.
- GARNER, D. L., GLEDHILL, B. L., PINKEL, D., LAKE, S., STEPHENSON, D., VAN DILLA, M. A., JOHNSON, L. A. 1983. *Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry*. Biol. Reprod. 28. 312–321 p.
- GARNER, D. L., SEIDEL, G. E.. 2003. *Past, present and future perspectives on sexing sperm*. Canadian Journal of Animal Science 83. 375-384 p.
- GARNER, D. L., SEIDEL, G.E. 2008. *History of commercializing sexed semen for cattle*. Theriogenology. Volume 69 (7, 15) 886–895 p.
- HOFÍREK, B., DVORÁK, R., NĚMEČEK, L., DOLEŽAL, R., POSPÍŠIL, Z. 2009. *Nemoci skotu*. Česká buiatrická společnost. Brno : Noviko. 1149 p. ISBN 978-80-86542-19-5.
- HONSOVÁ, H. 2009. *Holštýnský skot*. Zemědělský týdeník. Roč. 12 (2). 14 p.
- HORVÁTH, A., SOLÁR, P. 1975. *Plodnost vysokoužitkových dojnic*. Příroda. Bratislava. 122 p.
- ILLEK, J. 2009. *Vliv výživy a poruch metabolismu na reprodukci skotu*. Náš chov. 1. 74-76 p.
- JOHNSON, L. A., WELCH, G. R. 1999. *Sex preselection: High-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency*. Theriogenology. Volume 52. Issue 8. 1323-1341 p.
- KADEČKA, J. 2008. *Reprodukce skotu dnes a dříve*. Chovatelské listy. VIII. (1). 6 – 7 p.
- KITTNAR, O., JANDOVÁ, K., KURIŠČÁK, E., LANGMEIER, M., MAREŠOVÁ, D., MLČEK, M., MYSLIVEČEK, J., POKORNÝ, J., RILJAK, V., TROJAN, S. 2011 *Lékařská fyziologie*. Praha. Grada Publishing. 800 p. ISBN 978-80-247-3068-4.

- KLIMENT, J., HINTNAUS, J., NOVÁK, M., ROB, O., ŠŤASTNÝ, P. 1989. *Reprodukcia hospodárskych zvierat. Príroda*. Bratislava. 378 p. ISBN : 80-07-00027-5.
- KOPECKÝ, J., ŠMERHA, J. 1954. *Plemenitba skotu*. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. 160 p.
- KRÁTKÝ, J. 2008. *CRI GENCHOICE sexované sperma z nabídky společnosti CRI Roy Wilson – manažer vývoje technologií CRI*. Šlechtitel. III. 5 – 6 p.
- LARSON, J. E., LAMB, G. C., FUNNELL, B. J., BIRD, S., MARTINS, A., RODGERS, J. C. 2010. *Embryo production in superovulated Angus cows inseminated four times with sexed-sorted or conventional, frozen thawen semen*. Theriogenology 73. 698 – 703 p.
- LENZI, A., PICARDO, M., GANDINI, L., DONDERO, F. 1996 *Lipids of the sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to possible scavenger therapy*. Human Reproduction Update 1996, Vol. 2, No. 3. 246–256 p.
- LOUDA, F., ČEŘOVSKÝ, J., JEŽKOVÁ A., STÁDNÍK, L. 2001. *Inseminace hospodárskych zvierat se základy bitechnických metod*. Skripta ČZU. 225 p. ISBN 80-213-0702-1.
- LOUDA, F., KRATOCHVÍL, L., MOTYČKA, J., PYTLOUN, J.. 1994. *Základy chovu mléčných plemen skotu*. Institut výchovy a vzdělávání Mze ČR. Praha. 35 p. ISBN : 80-7105-070-9.
- LOUDA, F., VANĚK, D., JEŽKOVÁ, A., STÁDNÍK, L., BJELKA, M., BEZDÍČEK, J., POZDÍŠEK, J. 2008. *Uplatnění biologických zásad při řízení reprodukce plemenic*. Rapotín. Výzkumný ústav chovu skotu 2008, 55 p. ISBN: 978-80-87144-05-3.
- MARKOVÁ, M. 2010. *Jak na plodnost II*. Chov skotu. 7 (4). 12 – 13 p.
- MELLADO, M., SEPULVEDA, E., MACIAZ-CRUZ, U., AVENDANO, L., GARCIA, J. E., VELIZ, F. G., RODRÍGUEZ, A. 2013. *Effect of month of breeding on reproductive efficiency of Holstein cows and heifers inseminated with sex-sorted or conventional semen in a hot environment*. Trop Anim Health Prod 46. 265 – 269 p.

- MOCÉ, E., GRAHAM, J.K., SCHENK, J.L. 2006. *Effect of sex-sorting on the ability of fresh and cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction*. Theriogenology. Sep 1; 66(4). 929-36 p.
- MOUREK, J. 2005. *Fyziologie – učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. Grada Publishing a.s.. 205 p. ISBN: 80-247-1190-7.
- NEČAS, O., ČERVINKA, M., HEJTMÁNEK, M., KOLÁŘ, Z., LENHART, K., SVOBODA, A. 2000. *Obecná biologie pro lékařské fakulty*. H&H. 3. Vydání. 555 p. ISBN 80-86022-46-385.
- NOVOTNÝ, V. 2008. *Fenomén inseminační dávka*. Farmář. Roč. 11. 33 s.
- ORMEROD, M. G. 2008. *Flow Cytometry - A Basic Introduction* [online]. Los Angeles : De Novo Software. [cit. 4.srpna 2013]. Dostupné z: <<http://flowbook.denovosoftware.com>>.
- OVERTON, R. 2008. *Sexované sperma ekonomická fakta*. Šlechtitel. III. 11-12 s.
- OZCELIK, M., ARPACIK, R. 2000. *The effect of lactation number on milk production and reproduction in Holstein cows*. Veterinary Sciences. 24 (1). 39 – 44 s.
- PENFOLD, L. M., HOLT, C., HOLT, W. V., WELCH, G. R., GRAN, D. G., JOHNSON, L. A. 1998. *Comparative Motility of X and Y Chromosome–Bearing Bovine Sperm Separated on the Basis of DNA Content by Flow Sorting*. Molecular reproduction and development 50. 323–327 p.
- RATH, D., BARCIKOWSKI, S., DE GRAAF, S., GARRELS, W., GROSSFELD, R., KLEIN, S., KNABE, W., KNORR, C., KUES, W., MEYER, H., MICHL, J., MOENCH-TEGEDER, G., REHBOCK, C., TAYLOR, U., WASHAUSEN, S. 2013. *Sex selection of sperm in farm animals: status report and developmental prospects*. Reproduction 145R15-R30
- REECE, W. O. 1998. *Fyziologie domácích zvířat*. Grada. 417 p. ISBN: 80-7169-547-5.
- ŘÍHA, J. 1996. *Reprodukce ve stádě skotu*. Svaz chovatelů českého strakatého skotu. Praha. 125 p.

ŘÍHA, J., JAKUBEC, V., JÍLEK, F., ILLEK, J., KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., ČERMÁK, V. 2004. *Reprodukce v procesu šlechtění skotu*. Asociace chovatelů masných plemen. Rapotín. 145 p. ISBN: 80-903143-5-X.

ŘÍHA, J., PETELÍKOVÁ, J., ČEROVSKÝ, J., BAŤANT, J., BOCHENEK, M., PYTLOUN, J. 2003. *Plemenitba hospodářských zvířat*. Rapotín. 151 p. ISBN: 80-903143-4-1.

SAMBRAUS, H. 2006. *Atlas plemen hospodářských zvířat*. Praha. 295 p. ISBN 80-209-0344-5.

SAUNA, V. 2007. *Otázky reprodukce dojníc*. *Náš chov*. Roč. 10. 20 – 23 p.

SEIDEL, G. E. 2007. *Overview of sexing sperm*. *Theriogenology*, Volume 68. Issue 3. 443–446 p.

SOUKROMÁ METEOROLOGICKÁ STANICE HRUŠOVÁ. *Statistiky za rok 2013 a 2014* [online]. [cit. 2015-1-5] Dostupné z <<http://pocasi-hrusova.cz/hrusova/summary.php?year=2013>> a <<http://pocasi-hrusova.cz/hrusova/summary.php?year=2014>>

SVAZ CHOVATELŮ HOLŠTÝNSKÉHO SKOTU ČR. 2014. *Ročenka 2014 1.část. III*. In: Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR. 2014. Černostrakaté novinky. 35 p.

ŠMERHA, J. 1980. *Reprodukce hospodářských zvířat*. 1.vyd. Praha: SPN. 270 p.

ŠPAČEK, F. 1987. *Atlas plemen hospodářských zvířat*. Praha. Státní zemědělské nakladatelství. 264 p.

TICHÁČEK, A., BJELKA, M., HANUŠ, O., KOPUNECZ, P., OLEJNIK, P., PAVLATA, L., PECHOVA, A., PONITIL, A. 2007. *Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka*. Agritec. Šumperk. 88 p. ISBN 978-80-903868-08.

UNDERWOOD, S. L., BATHGATE, R., EBSWORTH, M., MAXWELL, W. M., EVANS, G. 2010. *Pregnancy loss in heifers after artificial insemination with frozen-thawed, sexsorted, re-frozen-thawed dairy bull sperm*. *Animal Reproduction Science* 118. 7–12 p.

URBAN, F., DOLEŽAL, O., KUDRNA, V., VACEK, M., VONDRÁSEK, L. 2001. *Chov černostrakatého skotu v České republice*. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 52 p. ISBN: 80-7271-070-2.

VĚŽNÍK, Z. 2004. *Repetitorium: spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy*. Výzkumný ústav veterinárního lékařství. Brno. 1 sv. 197 p. ISBN 80-86895-01-7.

9. PŘÍLOHY

Tabulka 9 Vliv pořadí laktace na zabřezávání

POŘADÍ LAKTACE	ZABŘEZÁVÁNÍ
1.	29,81 %
2.	24,39 %
3.	33,33 %

Tabulka 10 Úroveň zabřezávání vliv ID, kalendářního měsíce a roku

EFEKT	ÚROVEŇ	ZABŘEZÁVÁNÍ
		LSM ± SE
ID	sexovaná	27,32 ± 3,011 ^a
	nesexovaná	35,19 ± 0,819 ^b
KALENDÁŘNÍ MĚSÍC	leden	37,91 ± 2,771 ^{A,a}
	únor	29,89 ± 3,064
	březen	37,07 ± 2,893 ^C
	duben	32,53 ± 3,053
	květen	41,23 ± 3,017 ^{E,c}
	červen	24,40 ± 3,309 ^{F,b,e}
	červenec	21,41 ± 3,182 ^{B,D,F,G,g}
	srpen	23,61 ± 2,816 ^{B,D,F,I}
	září	29,75 ± 2,803
	říjen	37,66 ± 2,787 ^{H,J,f}
	listopad	34,13 ± 2,837 ^h
prosinec	25,51 ± 3,989 ^d	
ROK	2013	31,61 ± 1,769
	2014	30,91 ± 1,729

Vysvětlivky: A-B, C-D, E-F, G-H, I-J P < 0,01;
a-b, c-d, e-f, g-h.... P < 0,05.

Tabulka 11 Vyhodnocení nádoje pomocí procedury GLM (ANOVA)

SKUPINA 1	ZABŘEZÁVÁNÍ
	NÁDOJ
	LSM ± SE
< 40,78 l - 1/2 s	34,22 ± 5,053
40,78 l - 1/2 s až 48,08 l + 1/2 s	25,62 ± 4,471
> 48,08 l + 1/2 s	27,84 ± 5,407

Tabulka 12 Vyhodnocení obsahu tuku pomocí procedury GLM (ANOVA)

SKUPINA 2	ZABŘEZÁVÁNÍ
	TUK
	LSM ± SE
< 3,27 % - 1/2 s	35,63 ± 5,642
3,27 % - 1/2 s až 3,73 % + 1/2 s	27,53 ± 4,069
> 3,73 % + 1/2 s	25,13 ± 5,602

Tabulka 13 Vyhodnocení obsahu bílkovin pomocí procedury GLM (ANOVA)

SKUPINA 3	ZABŘEZÁVÁNÍ
	BÍLKOVINY
	LSM ± SE
< 3,07 % - 1/2 s	21,81 ± 5,133
3,07 % - 1/2 s až 3,28 % + 1/2 s	30,89 ± 4,313
> 3,28 % + 1/2 s	34,19 ± 5,648

Obrázek 1: Nejproduktivnější kráva v České republice za rok 2014 "Amálka"



Obrázek 2: Jedna z jedenácti RED holštýnských krav na farmě



Obrázek 3: Krmný stůl



Obrázek 4: JCB na odklíz hnoje s amatérsky vyráběnou lopatou



Obrázek 5: John Deere s krmným vozem italské firmy LUCLAR Rollerfeed studio MUTTI



Obrázek 6: Krmný automat MilchTaxi/Milktaxi německé firmy Holm & Laue



Obrázek 7: Paralelní dojírna 2 x 16 od firmy BOUMATIC Xpressway



Obrázek 8: Dojírna v plném provozu



Obrázek 9: Chladicí tanky vyrobené firmou Pacovské strojírný, a.s..



Obrázek 10: Přechod na nový systém reprodukce

 The screenshot displays the SCR DataFlow II software interface. At the top, there is a navigation bar with icons for 'Portál', 'Skutečný čas', 'Správa krav', 'Zprávy', and 'Jiný'. Below this is a secondary bar with 'Obecné', 'Bohdalov-report', and 'Údržba'. The main area shows a dashboard with several summary cards:

- Jalovice připravené na inse...: 0 Krávy
- Krávy v klidovém období m...: 11 Krávy
- Očekávané kontroly březosti: 59 Krávy
- Neoplozené krávy - pouze...: 20 Krávy
- Krávy v říj - pouze ID: 15 Krávy
- Krávy s nepravdělnou říj: 7 Krávy
- Sledování krav těsně před ...: 79 Krávy
- Sledování krav krátce po t...: 67 Krávy

 Below the dashboard are two data tables:

Číslo krávy	1	Dny v laktaci	Dny od posledního...	Dny od posledního...	Hodn. do insemin...	Špička aktivity	Index říje
9	665		71	13	0	25	100
	3						
Skupina: 53							
10	585		183	26	26	25	96
Skupina: 01							
11	2		102	53		21	100
12	554		172			25	100
	12						

Číslo krávy	Špička aktivity	Špička přezvýkování	Přezvýkování za den	Index zdraví u...
1	63	-100	200	182
2	316	-54	95	190
3	729	-52	100	426
4	198	-38	25	311
5	412	-9	21	11
6	225	-40	26	384
7	176	-5	26	6
8	344	-31	26	632
9	232	-23	26	515
	13			