

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chovu hospodářských zvířat**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Obnova reprodukčních funkcí dojnic po aspiraci oocytů**

**Diplomová práce**

**Bc. Kristýna Jonášová  
Chov hospodářských zvířat**

**Doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D.**

© 2023 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Obnova reprodukčních funkcí dojnic po aspiraci oocytů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. 4. 2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala panu doc. Ing. Lud'ku Stádníkovi, Ph.D. za odborné vedení, čas, ochotu a cenné rady a připomínky během zpracování mé diplomové práce. Rovněž bych ráda poděkovala panu Ing. Matúšovi Gašparíkovi, Ph.D. a panu Ing. Jaromíru Ducháčkovi, Ph.D. za poskytnutí odborných konzultací a pomoc se zpracováním metodiky a výsledků diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat svým rodičům za umožnění studia na vysoké škole, rodině a příteli za podporu během celého studia.

# Obnova reprodukčních funkcí dojnic po aspiraci oocytů

## Souhrn

Diplomová práce na téma „**Obnova reprodukčních funkcí dojnic po aspiraci oocytů**“ se v teoretické části věnuje literární rešerši shrnující poznatky o reprodukci skotu. V práci je popsána anatomie a fyziologie reprodukční soustavy samic, pohlavní cyklus a detekce říje, hlavní faktory ovlivňující reprodukční úspěšnost a popis jednotlivých reprodukčních ukazatelů. Dále práce pojednává o reprodukčních biotechnologiích využívaných v chovu skotu.

Cílem diplomové práce bylo vyhodnocení vztahů mezi aspirací oocytů a následnou obnovou reprodukčních funkcí dojnic z hlediska jejich opětovného zařazení do reprodukce, nástupu říje a výsledků zabřezávání. Hypotézou byl předpoklad, že aspirace oocytů nezhoršuje fungování vaječníků, ale pouze v návaznosti na načasování aspirace v první fázi laktace u konkrétní dojnice dojde k oddálení jejího zabřeznutí.

Sledování bylo provedeno ve středisku živočišné výroby Ruda (okres Rakovník) během pěti odběrových období od prosince 2020 do října 2022. Celkem bylo do sledování zařazeno 127 prvotelek v první třetině laktace. U dojnic byl posuzován jejich metabolický stav podle poměru tuku a bílkovin v mléce, podle něžž byly dojnice zařazeny do skupin poměru T/B <1; 1 – 1,15; >1,15. Před aspirací oocytů bylo provedeno sonografické vyšetření pohlavního aparátu, na jehož základě bylo rozhodnuto, zda bude plemence z odběru vyřazena, nebo bude aspirována jednou či dvakrát.

Z výsledků práce vyplývá, že aspirace oocytů (skupiny 0; 1; 2) nemá statisticky průkazný vliv na hodnoty inseminačního indexu ani na úspěšnost zabřezávání. Inseminační interval a servis perioda byla statisticky průkazně delší u dojnic, které byly aspirovány oproti těm, u kterých aspirace neproběhla. Zároveň je z výsledků práce patrný vliv metabolického stavu na reprodukční ukazatele, přičemž obecně nejlepších výsledků dosahovaly dojnice s průměrným poměrem T/B 1 – 1,15. Statisticky průkazný rozdíl byl ve srovnání s ostatními skupinami dojnic pozorován pro délku servis periody, hodnoty inseminačního indexu a úspěšnost zabřezávání.

Ze získaných výsledků lze konstatovat, že aspirace oocytů negativně neovlivňuje reprodukční funkce dojnic z hlediska návratu do reprodukčního procesu, nicméně dochází ke statisticky průkaznému prodloužení doby do zabřeznutí po aspiraci oocytů v první fázi laktace. Hypotéza tedy byla potvrzena.

**Klíčová slova:** dojnice, oocyt, říje, vaječníky, zabřezávání



# **Restoration of reproductive functions of dairy cows after oocyte aspiration**

## **Summary**

The diploma thesis called „**Restoration of reproductive functions of dairy cows after oocyte aspiration**“ is devoted in the theoretical part to a literary research summarizing knowledge on bovine reproduction. The thesis describes the anatomy and physiology of the female reproductive system, the oestrus cycle and oestrus detection, the main factors affecting reproductive success and a description of individual reproductive parameters. Furthermore, the thesis discusses reproductive biotechnologies used in cattle breeding.

The aim of the thesis was to evaluate the relationship between oocyte aspiration and subsequent recovery of reproductive function in dairy cows in terms of reintroduction to reproduction, onset of oestrus and the conception rate.

The hypothesis was that oocyte aspiration does not impair ovarian function, but only in relation to the timing of aspiration in the first stage of lactation in a particular dairy cow will delay her conception.

The monitoring was carried out in the livestock centre Ruda (Rakovník district) during five sampling periods from December 2020 to October 2022. 127 primiparous cows were included to the monitoring. Dairy cows were assessed for their metabolic status according to the fat/protein ratio in milk, according to which dairy cows were classified into groups of F/P ratio <1; 1 – 1.15; > 1.15. Before oocyte aspiration, sonographic examination of the genital apparatus was performed, on the basis of which it was decided whether the dairy cow would be excluded from aspiration or would be aspirated once or twice.

The results of the study show that oocyte aspiration (groups 0; 1; 2) has no statistically significant effect on the values of insemination index or conception rate. The insemination interval and service period were statistically significantly longer in cows that were aspirated compared to those that were not aspirated. At the same time, the effect of metabolic status on reproductive parameters is evident from the results of the study, with generally the best results being achieved by cows with an average F/P ratio of 1 – 1.15. A statistically significant difference was observed for the length of the service period, insemination index values and conception rate compared to the other groups of cows.

From the obtained results it can be concluded that oocyte aspiration does not negatively affect the reproductive function of dairy cows in terms of return to reproduction, however, there is a statistically significant increase in the time to conception after the oocyte aspiration in early lactation cows. The hypothesis was therefore confirmed.

**Keywords:** dairy cow, oocyte, oestrus, ovaries, conception

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b>	<b>10</b>
<b>3.1</b>	<b>Anatomie a fyziologie samičí pohlavní soustavy</b>	<b>10</b>
3.1.1	Anatomie samičí pohlavní soustavy	10
3.1.2	Fyziologie samičí pohlavní soustavy	12
<b>3.2</b>	<b>Pohlavní cyklus</b>	<b>13</b>
<b>3.3</b>	<b>Detekce říje</b>	<b>16</b>
3.3.1	Vizuální detekce říje	16
3.3.2	Pomůcky pro detekci říje	17
3.3.2.1	Neautomatizované systémy detekce říje	17
3.3.2.2	Automatizované systémy detekce říje	18
3.3.3	Srovnání různých metod detekce říje	19
<b>3.4</b>	<b>Významné faktory ovlivňující reprodukci</b>	<b>20</b>
3.4.1	Vnitřní faktory	21
3.4.2	Vnější faktory	24
<b>3.5</b>	<b>Reprodukční ukazatele v chovu skotu</b>	<b>26</b>
<b>3.6</b>	<b>Reprodukční biotechnologie v chovu skotu</b>	<b>31</b>
3.6.1	Umělá inseminace	31
3.6.2	Ovlivňování pohlavního cyklu	33
3.6.3	Embryotransfer (ET)	34
3.6.4	Ovum pick-up (OPU)	37
3.6.5	Produkce embryí in vitro (IVP)	38
<b>4</b>	<b>Materiál a metodika</b>	<b>40</b>
<b>4.1</b>	<b>Charakteristika podniku a podmínek prostředí</b>	<b>40</b>
<b>4.2</b>	<b>Design experimentu</b>	<b>42</b>
4.2.1	Soubor hodnocených zvířat	42
4.2.2	Metodika aspirace oocytů	46
<b>4.3</b>	<b>Sběr dat</b>	<b>47</b>
<b>4.4</b>	<b>Statistické vyhodnocení</b>	<b>47</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky</b>	<b>49</b>
<b>5.1</b>	<b>Základní statistiky reprodukčních ukazatelů</b>	<b>49</b>
<b>5.2</b>	<b>Korelace mezi hodnocenými parametry</b>	<b>50</b>
<b>5.3</b>	<b>Hodnocení modelové rovnice</b>	<b>51</b>
<b>5.4</b>	<b>Vliv metabolického stavu na reprodukční ukazatele</b>	<b>52</b>
<b>5.5</b>	<b>Vliv aspirace oocytů na reprodukční ukazatele</b>	<b>56</b>

<b>6</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>60</b>
<b>6.1</b>	<b>Hodnocení reprodukčních ukazatelů všech sledovaných dojnic .....</b>	<b>60</b>
<b>6.2</b>	<b>Vliv metabolického stavu na reprodukční ukazatele po aspiraci oocytů..</b>	<b>60</b>
<b>6.3</b>	<b>Vliv aspirace oocytů na reprodukční ukazatele po provedené aspiraci....</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>64</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>65</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů .....</b>	<b>71</b>

# 1 Úvod

Chov dojného skotu celosvětově představuje jeden z klíčových pilířů živočišné výroby. Jeho hlavním cílem je produkce mléka, dále pak produkce masa a dalších zemědělských komodit. Početní stavy skotu se tendenčně snižují, což souvisí jednak se zvyšováním užitkovosti, ale také s částečnou změnou ve spotřebě živočišných produktů (Bouška et al. 2006).

V současné době je nejrozšířeněji chovaným plemenem Holštýnský skot. V posledních desetiletích byl u tohoto plemene kladen velký selekční tlak na vysokou mléčnou produkci, avšak ukazatele zdraví a plodnosti byly poněkud upozaděny. V důsledku jednostranného šlechtění docházelo tedy ke zvyšování produkce mléka, ale zároveň ke zhoršování reprodukčních ukazatelů (Hofírek et al. 2009).

V ekonomice chovu dojného skotu hraje, vzhledem k narůstající mléčné užitkovosti a velikosti farem, reprodukční výkonnost krav stále větší roli (Hassan et al. 2021).

Reprodukční výkonnost úzce souvisí se zdravotním stavem dojnic, a rovněž s jejich životními podmínkami (Ball & Peters 2004). Neuspokojivá úroveň plodnosti v chovu skotu vede nejen k ekonomickým ztrátám, ale současně může ohrozit reprodukci stávajících početních stavů zvířat (Bouška et al. 2006).

Aktuálně je v praxi využívána řada biotechnologických metod vedoucích k optimalizaci reprodukčních výsledků a dosahování šlechtitelských cílů. Pro zabřeznutí je zásadní správné načasování inseminace. K detekci říje je kromě vyhledávání jejích klinických projevů pozorováním využíváno automatických systémů, jako jsou například pedometry nebo aktivometry. Některé chovy využívají synchronizační protokoly, které umožňují časovanou inseminaci bez nutnosti detekce říje. Při samotné reprodukci je v chovech dojeného skotu nejčastěji využívána umělá inseminace mraženými inseminačními dávkami.

Mezi další metody řízené reprodukce skotu patří v současné době například embryotrasfer a transvaginální aspirace oocytů. Embryotransfer umožňuje intenzivní využití genetického potenciálu špičkových plemenic. Výhodou aspirace oocytů je možnost opakovaného odběru oocytů v krátkém časovém horizontu (Hofírek et al. 2009).

Tyto metody však nejsou využívány plošně, nýbrž pouze u geneticky významných jedinců. V důsledku toho je nutné nadále zkoumat, jakým způsobem tyto zásahy ovlivňují reprodukční funkce daných plemenic (dárkyň).

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Cílem diplomové práce bylo vyhodnocení vztahů mezi aspirací oocytů a následnou obnovou reprodukčních funkcí dojnic z hlediska jejich opětovného zařazení do reprodukce, nástupu říje, cykličnosti funkce vaječnicků a výsledky zabřezávání.

Hypotézou byl předpoklad, že aspirace oocytů nezhoršuje fungování vaječnicků, ale pouze v návaznosti na načasování aspirace v první fázi laktace u konkrétní dojnice dojde k oddálení jejího zabřeznutí.

### 3 Literární rešerše

Literární rešerše odborných publikací a vědeckých článků má za cíl stručně podat ucelené a aktuální informace týkající se uvedené problematiky.

#### 3.1 Anatomie a fyziologie samičí pohlavní soustavy

Základní znalosti anatomie a fyziologie pohlavní soustavy hospodářských zvířat je z chovatelského hlediska důležitým aspektem, neboť jsou nezbytné například pro optimální vyhledávání říje, zapouštění nebo při porodu (Louda et al. 2008). Pohlavní ústrojí není pro jedince nezbytné (Najbrt et al. 1982), proto obvykle poruchy reprodukce významně neovlivňují celkový zdravotní stav zvířat. Ovšem onemocnění reprodukčního aparátu se velkou měrou podílí na ekonomice chovu, potažmo jeho rentabilitě, a proto by chovatelé měli klást velký důraz na dobrou úroveň reprodukce ve stádě (Hofirek et al. 2009).

##### 3.1.1 Anatomie samičí pohlavní soustavy

Samičí pohlavní soustava zajišťuje tvorbu pohlavních buněk a hormonů, a zároveň poskytuje vhodné prostředí pro růst a vývoj zárodku, resp. plodu (Marvan et al. 1992; Louda et al. 2008). Kaudální části pohlavního ústrojí jsou uzpůsobeny ke kopulaci a zároveň slouží jako porodní cesty (Najbrt et al. 1982).

Samičí pohlavní orgány jsou uloženy v dutině pánevní a částečně v dutině břišní (Ball & Peters 2004) a sestávají z vnitřních – vaječníku, vejcovodu, dělohy a pochvy, a vnějších orgánů – poševní předsíně, vulvy a klitorisu (Marvan et al. 1992).

##### Vaječníky

Vaječník je párová samičí pohlavní žláza, ve které se vytvářejí pohlavní buňky a pohlavní hormony (estrogen, progesteron). Je to tuhoelastický orgán šedorůžové barvy (Marvan et al. 1992). Vaječník má u skotu tvar ze stran mírně oploštělé švestky, je přibližně 3-4,5 cm dlouhý, 2-3 cm široký a jeho hmotnost se obvykle pohybuje v rozmezí 15-20 g (Najbrt et al. 1982). Tvar a povrch vaječníků se mění vlivem tvorby folikulů a žlutého tělíska, závisí tedy na stádiu pohlavního cyklu (Ball & Peters 2004; Marvan et al. 1992). Před dosažením pohlavní dospělosti je povrch vaječníků hladký, později jsou pozorovatelné jizvovité vtaženiny a povrch je hrbolatý (Najbrt et al. 1982).

Vaječníky jsou uloženy v dutině břišní kranialně před pánví (Najbrt et al. 1982), mediálně od konců děložních rohů, s nimiž jsou přímo spojeny pomocí vaječnickových vazů (Ball & Peters 2004). Vaječníky jsou zavěšeny na tzv. vaječnickovém okruží. Na vaječníku rozlišujeme ovulační plochu a vaječnickovou branku. Ovulační plocha zaujímá většinu povrchu vaječníku a dochází zde k dozrávání folikulů a následně k ovulaci. Vaječnickovou brankou do vaječníku vstupují cévy a nervy (Marvan et al. 1992).

## **Vejcovody**

Vejcovod je párový orgán složený se svaloviny a slizniční vrstvy (Marvan et al. 1992). Vejcovody spojují vaječníky s děložními rohy (Najbrt et al. 1982), přičemž díky pravidelným stahům a kmitání řasinek aktivně napomáhají transportu ovulovaných oocytů z vaječníku do dělohy (Ball & Peters 2004). V počáteční třetině vejcovodu se dokončuje vývoj samičí pohlavní buňky a dochází zde k oplození (Marvan et al. 1992).

Vejcovod krávy je asi 20-30 cm dlouhá a 2-3 mm široká trubička. Na vejcovodu rozeznáváme tři části (Ball & Peters 2004). První část, infundibulum neboli nálevka vejcovodu se nachází při kranálnímu pólu vaječníku (Najbrt et al. 1982). Ztenčená stěna infundibula vytváří cípaté tránsně, některé z nich se připojují k vaječníku (Marvan et al. 1992). Na nálevku navazuje kaudálním směrem mírně rozšířená část zvaná ampule vejcovodu. Třetí částí je úzký isthmus, který zaujímá přibližně polovinu délky vejcovodu (Ball & Peters 2004). Kaudální část vejcovodu se výrazně klikatí. Oporu tohoto orgánu tvoří vejcovodové okruží, které odstupuje od širokého děložního vazů (Marvan et al. 1992).

## **Děloha**

Děloha je dutý svalový orgán (Ball & Peters 2004), ve kterém se z oplozeného vajíčka vyvíjí nový jedinec (Najbrt et al. 1982). Rozeznáváme zde tři části, a to děložní rohy, děložní tělo a děložní krček. Dělohu krávy označujeme jako dvourohou (Marvan et al. 1992). Její velikost je odvislá od věku a parity a během březosti se výrazně zvětšuje (Ball & Peters 2004).

Děložní rohy jsou u nebřezích samic dlouhé 20-40 cm (Ball & Peters 2004). Mediálně děložní rohy srůstají a následně se typicky stáčejí do tvaru nedokončeného kruhu (Marvan et al. 1992).

Děložní tělo je dlouhé přibližně 5 cm (Ball & Peters 2004) a navazuje na děložní rohy kaudálním směrem (Marvan et al. 1992).

Děložní krček spojuje tělo děložní a pochvu. Děložní krček má tuhou konzistenci, válcovitý tvar a u krav průměrně dosahuje délky 8-12 cm (Marvan et al. 1992). Jeho středem prochází úzký děložní kanál, který je vyjma doby porodu a říje těsně uzavřen vrstvou hladké svaloviny a hustou hlenovou zátkou (Ball & Peters 2004). Sliznice tohoto kanálku vytváří čtyři kruhové záhyby (Najbrt et al. 1982).

Děloha je zavěšena na dvou širokých děložních vazech. U pohlavně nedospělých jalovic je téměř zcela uložena v dutině pánevní s výjimkou kranálních konců děložních rohů, které jsou částečně uloženy v břišní dutině. Naproti tomu u krav jsou děložní rohy zpravidla mnohem delší a do břišní dutiny zasahují výrazně hlouběji (Marvan et al. 1992).

## **Pochva**

Pochva neboli vagina slouží jako kopulační orgán a zároveň plní funkci vývodných pohlavních cest. V průměru u krav dosahuje délky 20 cm (Najbrt et al. 1982). Je to úzká svalová a slizniční trubice (Marvan et al. 1992) s pružnou stěnou, jejíž epitel se mění v závislosti na fázi pohlavního cyklu (Ball & Peters 2004).

Vagina je uložena v pánevní dutině ventrálně od konečníku (Marvan et al. 1992). Mezi pochvou a poševní předsíní se u nedospělých samic nachází kruhová slizniční řasa – hymen, panenská blána. U pohlavně aktivních zvířat je tato hranice málo zřetelná (Najbrt et al. 1982).

### **Poševní předsíň**

Poševní předsíň kaudálně navazuje na pochvu a současně slouží jako vývodná močová cesta. Délka poševní předsíně krav je přibližně 10 cm (Najbrt et al. 1982). V poševní předsíni jsou uloženy žlázy produkující hlenovitý sekret, který zvlhčuje sliznici a usnadňuje tak kopulaci (Marvan et al. 1992).

### **Vulva, poštváček**

Zevnější část samičí pohlavní soustavy je tvořena vulvou a poštváčkem (Marvan et al. 1992).

Vulva slouží jako vstup do samičích pohlavních cest při páření, pro vypuzení telete při narození a také pro vypuzení moči z těla (Ball & Peters 2004). Je tvořena dvěma stydkými pysky a stydkou štěrbinou. Vulva je pokryta tenkou kůží s mnoha potními a mazovými žlázami, která ve stydké štěrbině přechází ve sliznici (Marvan et al. 1992). Nachází se ventrálně od řitního otvoru, od něhož je zvnějšku oddělena hrází (Najbrt et al. 1982).

Poštváček (klitoris) je zakrnělý homologon samčího pyje (Najbrt et al. 1982) a nachází se ve ventrální spoje stydkých pysků (Marvan et al. 1992).

### **Krevní zásobení a inervace**

Krevní zásobení vnitřních pohlavních orgánů samic je zajišťováno třemi tepnami. Do vaječnicků a vejcovodů přivádí krev vaječnicková tepna, která současně zásobuje krví i kraniální část dělohy. Děložní tepna přivádí krev do děložního těla a z části do děložních rohů. Děložní krček, pochva a poševní předsíň je zásobována krví z poševní tepny (Reece 2011). Vulva je krvena pomocí větví hrázkové tepny. Tyto tepny doprovázejí analogicky pojmenované žíly, které z orgánů odvádějí odkysličenou krev (Marvan et al. 1992).

Dle Marvana et al. (1992) inervaci pohlavních orgánů zajišťují jak senzitivní a motorické nervy (stydký nerv, kaudální konečnickový nerv), tak autonomní parasympatická (pánevní nervy) a sympatická vlákna (podbřiškový nerv).

## **3.1.2 Fyziologie samičí pohlavní soustavy**

Po dosažení pohlavní dospělosti se začíná periodicky opakovat pohlavní cyklus. Samice skotu jsou polyestrické, ovulace probíhá spontánně (Říha et al. 2004). Funkčnost tohoto mechanismu je ovlivněna podmínkami vnějšího prostředí, zejména světlem a úrovní výživy (Burdych et al. 2004). Řízení reprodukčního cyklu samic probíhá na úrovni nervové a hormonální. Tato složitá kaskáda reakcí probíhá uzavřeným funkčním oběhem na ose hypotalamus – hypofýza – gonády (Bouška et al. 2006), přičemž tyto struktury tvoří zpětnovazební systém, na jehož základě je regulována sekrece hormonů účastnících se na průběhu pohlavního cyklu (Říha et al. 2004).

### **Neurohumorální řízení pohlavního cyklu**

Podněty z vnějšího prostředí jsou zachycovány smyslovými orgány a vedeny do hypotalamu. Na základě analýzy těchto podnětů jsou v hypotalamu tvořeny gonadotropin releasing hormony (GnRH) (Burdych et al. 2004), které v adenohipofýze řídí sekreci



gonadotropinů – folikuly stimulačního hormonu (FSH) a luteinizačního hormonu (LH) (Bouška et al. 2006). Hladiny gonadotropinů v plazmě jsou regulovány negativní zpětnou vazbou z gonád, jejich zvýšení je stimulováno estrogeny, snížení pak progesteronem v závislosti na fázi pohlavního cyklu. Uvolňováním FSH dochází ke stimulaci růstu folikulů na vaječniku, LH se uplatňuje při ovulaci a tvorbě žlutého tělíska (Reece 2011). Žluté tělísko produkuje hormon progesteron, který rovněž ovlivňuje řízení pohlavní činnosti negativní zpětnou vazbou. V případě březosti přetrvává na místě po celou dobu gravidity, v opačném případě okolo 17. dne pohlavního cyklu dochází v děloze ke tvorbě prostaglandinu, pod jehož vlivem žluté tělísko postupně zaniká. Tím dojde ke snížení koncentrace progesteronu a uvolnění negativní zpětné vazby a estrální cyklus se opakuje (Burdych et al. 2004).

### **3.2 Pohlavní cyklus**

Pohlavní neboli estrální cyklus je období mezi dvěma říjemi a projevuje se změnami na pohlavním systému v pravidelném sledu (Horký & Mikyska 1990). Kráva je polyestrické zvíře, říje se tedy dostavuje u nebrezích samic periodicky v rozmezí 18 až 25 dní, průměrně v intervalu 21 dní. U jalovic bývá říjový cyklus zpravidla o 1 den kratší (Burdych et al. 2004; Hofírek et al. 2009). V našich klimatických podmínkách se může v zimních měsících u krav projevat anestrus, kdy je cyklická aktivita utlumena. Zimní anestrus se objevuje zejména u masných plemen skotu (Bouška et al. 2006).

Život krav můžeme rozdělit na tři období – prereprodukční, reprodukční a postreprodukční. Prereprodukční období trvá od narození zvířete do puberty. V tomto období dochází k vývoji folikulů a pohlavních znaků (Hofírek et al. 2009). Pohlavní dospělost nastává při první říji (Horký & Mikyska 1990), která se u jalovic dostavuje mezi 8 a 14 měsíci věku. Reprodukční období je charakterizováno probíhajícími pohlavními cykly, během kterých může dojít k zabřeznutí. V postreprodukčním období neboli seniu zaniká cyklická aktivita a toto období končí smrtí, avšak hospodářská zvířata bývají z chovu vyřazena již dříve (Hofírek et al. 2009).

Pohlavní cyklus se dělí na 4 fáze – proestrus, estrus, metestrus a diestrus. Proestrus a estrus spadají do folikulární fáze, při které dominantně působí estrogeny. Metestrus a diestrus se řadí do luteální fáze, kdy působí především progesteron (Hofírek et al. 2009). Sexuální ochota je prezentována zpravidla pouze v estru. V proestu, metestru a diestru zvířata neprojevují svolnost k páření (Louda et al. 2008).

#### **Proestrus**

Proestrus je přechodná fáze, kdy končí luteální fáze jednoho cyklu a počíná folikulární fáze druhého cyklu (Hofírek et al. 2009). Toto předříjové období tedy začíná po regresi žlutého tělíska a je ukončeno nástupem vlastní říje (Reece 2011). Louda et al. (2008) uvádějí, že proestrus trvá průměrně 3 dny, a to 18. – 20. den cyklu.

Na vaječnicích dochází k dozrávání sekundárních folikulů na folikuly terciální. Vazivo a žlázy děložní sliznice proliferyjí (Horký & Mikyska 1990). Na děloze je rovněž patrná zvýšená kontraktilita a tonizace (Louda et al. 2008). V pochvě a poševní předsíni dochází k nárůstu a rohovatění epitelu, což slouží jako ochrana před mechanickým poškozením při

kopulaci. Děložní krček se začíná otevírat a produkovat sklovitý, zpočátku vodnatý hlen, který se postupně zahušťuje (Bouška et al. 2006). Vulva je mírně edematická, v pochvě dochází k zarudnutí a mírnému zduření (Louda et al. 2008).

Bližící se říji je možné pozorovat díky změně v chování zvířat, kdy je toto období doprovázeno neklidem, bučením a snížením užitkovosti (Burdych et al. 2004). Výrazným projevem proestru je naskakování na ostatní krávy (Louda et al. 2008).

### **Estrus**

Říje je chovatelsky nejvýznamnější období pohlavního cyklu (Hofírek et al. 2009), jelikož ke konci tohoto stádia nastává nejvhodnější doba pro inseminaci plemenic (Burdych et al. 2004). Fáze estru trvá 12-36 hodin (Louda et al. 2008; Bouška et al. 2006) a označuje se jako 0. den cyklu (Louda et al. 2008).

Proliferace děložní sliznice dosahuje maxima a otevírá se kanál děložního krčku. Dochází k odlupování zrohovatělé povrchové vrstvy poševního epitelu. Je zjevné zduření a zčervenání vulvy v důsledku překrvení pohlavního aparátu (Marvan et al. 1992). Z vulvy vytéká čirý sklovitý hlen o vyšší viskozitě (Burdych et al. 2004). Na vaječníku dochází k prasknutí Graafova folikulu a vyplavení oocyty do vejcovodu (Horký & Mikyska 1990), a to zpravidla během 6 až 16 hodin po odeznění vnějších příznaků říje (Marvan et al. 1992).

Tělesná teplota zvířat je mírně zvýšená (Burdych et al. 2004). V období říje je často patrné snížení příjmu krmiva a užitkovosti. Plemenic v říji vyhledává kontakt s dalšími zvířaty v obdobné fázi pohlavního cyklu, očichává je a olizuje. Rovněž vokalizační projevy jsou častější (Hofírek et al. 2009). Na vrcholu říje se dostavuje reflex nehybnosti, kdy zvíře vykazuje ochotu k páření a zůstává stát při naskakování ostatních plemenic (Louda et al. 2008).

Nejvíce patrné projevy říje jsou zpravidla u jalovic, u starších krav mohou být mírnější. U skotu se může vyskytovat tzv. tichá říje, kdy zevní příznaky nejsou pozorovatelné, přestože z fyziologického hlediska pohlavní cyklus probíhá. Tichá říje se častěji vyskytuje při nevhodných podmínkách prostředí a managementu chovu (Bouška et al. 2006).

Intenzita projevů říje neovlivňuje počet folikulů na vaječníku v době umělé inseminace, avšak vyšší intenzita říje je spojena s lepší ovariaální odpovědí na stimulaci superovulace. Větší počet odebraných a životaschopných embryí je možné získat od plemenic s intenzivními projevy říje (Madureira et al. 2020).

### **Metestrus**

Fáze metestru je také označována jako časné postovulační období (Reece 2011). Z chovatelského hlediska je možné plemenic na počátku tohoto období ještě inseminovat, avšak pravděpodobnost úspěšného zabřeznutí je s postupem času nízká (Burdych et al. 2004). Metestrus trvá přibližně 3 až 4 dny (Marvan et al. 1992; Bouška et al. 2006) a tvoří přechod mezi folikulární a luteální fází (Hofírek et al. 2009).

V místě prasklého Graafova folikulu se krátkou dobu nachází dutinka vyplněná krví, následně se začíná tvořit žluté tělísko produkující progesteron (Burdych et al. 2004; Hofírek et al. 2009). Louda et al. (2008) uvádějí, že žluté tělísko je u jalovic zpravidla větší. Tonizace dělohy ustupuje, rovněž děložní epitel se snižuje. Děložní krček se uzavírá a vyplňuje se hlenovou zátkou, která jej utěšňuje (Hofírek et al. 2009). Děložní žlázy produkují děložní

mléko (Bouška et al. 2006), a děložní sliznice je tak připravena k nidaci oplozeného vajíčka (Horký & Mikyska 1990).

Příznaky říje (zarudnutí, otok) na vnějších i vnitřních pohlavních orgánech postupně odeznívají, plemenice se zklidňuje a začíná se chovat normálně (Louda et al. 2008). Burdych et al. (2004) zmiňují, že hlen vytékající z vulvy může být kouřově zakalený a lepkavý. Druhý až třetí den po skončení estru se může u krav i jalovic objevit krvavý výtok z pochvy (Hofírek et al. 2009; Bouška et al. 2006), který může chovateli poskytnout informaci o správnosti načasování inseminace (Burdych et al. 2004).

### **Diestrus**

Stádium diestru je charakterizováno jako období pohlavního klidu a vyznačuje se luteální aktivitou. Začíná přibližně čtvrtý den po ovulaci a je ukončeno regresí žlutého tělíska (Louda et al. 2008).

Žluté tělísko na vaječníku narůstá do velikosti 10 až 30 mm a hladina progesteronu se zvyšuje. Současně na vaječníku vznikají tzv. meziovulační folikuly, které nemohou ovulovat a podléhají atrezii. Nicméně svou sekretorickou činností produkují estradiol, díky čemuž mohou vyvolat vnější příznaky říje v diestru, přibližně v 10. den pohlavního cyklu (Burdych et al. 2004; Hofírek et al. 2009).

U plemenic v diestru zpravidla nedochází ke změnám v chování (Louda et al. 2008). Poševní sliznice je suchá, matná a má světle růžovou barvu (Hofírek et al. 2009).

Jestliže došlo k oplození, žluté tělísko přetrvává a inhibuje tak nástup dalšího pohlavního cyklu po dobu březosti. V případě, že k oplození vajíčka nedošlo, pohlavní cyklus pokračuje (Marvan et al. 1992).

### **Obnova reprodukčních funkcí po otelení**

Aby mohla být plemenice po porodu inseminována, musí nejprve dojít k involuci dělohy a obnovení cyklické ovariální aktivity doprovázené projevy říje (Burdych et al. 2004; Louda et al. 2008). U většiny krav je puerperium ukončeno za pět až šest týdnů po otelení, ale při vysoké mléčné užitkovosti může být toto období i delší (Říha et al. 2004).

První ovulace nejčastěji probíhá mezi 15. a 40. dnem po porodu. Rychlost obnovení pohlavního cyklu u dojnic po otelení je ovlivněna řadou faktorů. Zpoždění ovulace může být zapříčiněno ročním obdobím v době otelení (v zimě se interval prodlužuje), nestandardním průběhem porodu, snížením tělesné kondice nebo dalšími patologickými stavy (metabolické poruchy, onemocnění pohlavního aparátu a mléčné žlázy) (Opsomer et al. 2000). U vysokoužitkových zvířat vlivem výraznější negativní energetické bilance často dochází k oddálení plnohodnotné říje po porodu (Hofírek et al. 2009).

V poporodním období je plodnost negativně ovlivněna výskytem anestrů, tedy absencí říjového chování. Anestrus může být důsledkem patologických stavů pohlavního aparátu nebo nevyhovujících podmínek chovu. Proto je vhodné zaměřit se na prevenci poporodního anestrů optimálním managementem v tomto období (Peter et al. 2009), avšak využitím hormonální terapie u anestrů je možné dosáhnout zkrácení intervalu od otelení do zabřeznutí (McDougall 2010).

Borchardt et al. (2021) se ve své studii zaměřovali na reprodukční výkonnost krav v závislosti na nástupu říje po porodu, přičemž udávají, že u 52,7 % krav nebyla zaznamenána

žádná říje, u 32,5 % jedna říje a u 14,8 % dvě říje v období mezi 7 a 40 DIM. Krávy, které do 40 dnů po porodu nevykazovaly říji, dosahovaly horších reprodukčních výsledků (např. prodloužení inseminčního intervalu) ve srovnání s dojnícemi, u kterých byla říje v tomto období zaznamenána.

### 3.3 Detekce říje

Účinná detekce říje u krav a jalovic je jedním ze základních nástrojů pro optimální fungování celého chovu (Roelofs et al. 2010), a to zejména v chovech, kde je využíváno umělé inseminace (Diskin & Sreenan 2000). Nedostatečná úroveň vyhledávání říje se negativně projevuje na prosperitě a rentabilitě stáda, neboť se k ní pojí snižování produkce a genetického zisku, zvýšení míry brakování plemenic a zvýšení nákladů na přebíhající se plemence (Říha et al. 2004). Proto je nezbytné v rámci managementu reprodukce přesně stanovit program pro zjišťování říje zkušeným personálem a vzájemná spolupráce lidí podílejících se na tomto procesu (Louda et al. 2008).

Úroveň vyhledávání říjících se zvířat je mezi podniky velmi variabilní a pohybuje se mezi 30 a 70 % zjištěných říjí (Diskin & Sreenan 2000). Neuspokojivá úroveň detekce říje krav může být způsobena zvýšením koncentrace zvířat ve stádě se současným snižováním počtu pracovníků farmy, což má za následek ztížení individuálního sledování dojnic (Hofírek et al. 2009). Diskin & Sreenan (2000) shrnují, že pro zlepšení detekce říje v chovech je nezbytná odbornost a kvalifikovanost personálu a důsledné vedení evidence zvířat a chovatelských záznamů. V současné době technologického pokroku je možné sledování aktivity zvířat v počítačových programech, které zaznamenávají a zpracovávají data z automatizovaných pomůcek pro detekci říje. V posledních letech jsou tyto systémy mezi chovateli oblíbené a často využívané pro optimalizaci řízení reprodukce a zlepšování reprodukčních výsledků (Burdych et al. 2004).

#### 3.3.1 Vizuální detekce říje

Tradičním způsobem vyhledávání říje plemenic je pozorování již zmíněných vnějších příznaků estru a zůstává nezbytnou součástí i v chovech využívajících další pomocné metody detekce říje (Hofírek et al. 2009). Chovatel by měl zvířatům poskytnout optimální životní podmínky, neboť při zhoršeném welfare (nedostatek prostoru a světla, kluzké podlahy, zhoršený zdravotní stav apod.) nejsou projevy říje plnohodnotné (Diskin & Sreenan 2000). Detekce říje je prováděna za účelem určení vhodné doby k inseminaci, která je dána biologickými souvislostmi reprodukce, jako je doba ovulace a životnost a oplozovací schopnost gamet (Říha et al. 2004).

Vizuální detekce říje by měla probíhat v době maximálního klidu ve stáji, takže není vhodné tuto aktivitu provádět během doby dojení, krmení či dalších aktivit ve stáji, přestože některé říjící se plemence můžeme odhalit i v tuto dobu (Hofírek et al. 2009). Většina problémů s vyhledáváním říjí je způsobena nevhodnou organizací práce, právě například již zmíněným pozorováním zvířat v nevhodnou dobu, nedostatečnou četností pozorování nebo nezkušeností

pracovníků (Diskin & Sreenan 2000). Říha et al. (2004) uvádí, že pro uspokojivé výsledky by pozorování mělo probíhat třikrát denně po dobu 15 minut jedním pozorovatelem. Hofírek et al. (2009) shrnují, že při jednom až dvěma pozorováními denně je zjištěna pouze asi polovina probíhajících říjí. Projevy říje bývají zpravidla intenzivnější během noci a brzkého rána, a tedy kontrola říje brzy ráno a pozdě večer vede k odhalení přibližně 70 % zvířat v estru. Nejlepších výsledků je však dosahováno při četnosti čtyř až pěti pozorování denně, kdy je možné zjistit více než 90 % případů (Diskin & Sreenan 2000).

### **3.3.2 Pomůcky pro detekci říje**

V současné době je k detekci říje u dojnic využívána řada pomůcek, od jednoduchých kalendářů přes tlakové detektory říje až po automatické monitory aktivity (Holman et al. 2011). V ideálním případě by tyto systémy měly dosahovat vysoké přesnosti a účinnosti detekce, vyžadovat minimální pracovní nároky a dlouhodobě a spolehlivě fungovat, avšak v každém případě by měly být doplněny vizuální kontrolou říje (Diskin & Sreenan 2000). Využívání různých pomůcek je otázkou preferencí a možností chovatelů, velikosti stáda a rovněž jejich praktičností (Hofírek et al. 2009).

#### **3.3.2.1 Neautomatizované systémy detekce říje**

##### **Kalendáře**

Základní a jednoduchou pomůckou s využitím u menších stád může být využití říjového kalendáře, který usnadňuje evidenci a přehled o zjištěných říjích díky speciálnímu rozdělení kalendáře po třítydenních obdobích, tj. v průměrné délce pohlavního cyklu krav (Burdych et al. 2004).

##### **Arborizace cervikálního hlenu**

Tato metoda je založena na principu chemických a fyzikálních změn ve vztahu k probíhající fázi estrálního cyklu (Burdych et al. 2004). Odběr vzorku je prováděn sterilní pipetou z oblasti děložního krčku. Test je prováděn mikroskopii zaschlého roztěru cervikálního hlenu na podložním sklíčku (Louda et al. 2008). V období říje jsou pozorovatelné typické kapradinovité nebo plavuňovité formace s centrální osou a četným větvením. V přechodných fázích pohlavního cyklu jsou tyto struktury méně výrazné a v období diestru schopnost krystalizace cervikálního hlenu zcela zaniká. Tento test je poměrně jednoduchý a spolehlivý, avšak přes svou pracnost a časovou náročnost je v praxi využíván jen málo (Kudláč & Holý 1984).

##### **Progesteronový test**

Stájový progesteronový test je možné využít ke kontrole detekce říje, jako pomocnou metodu klinické diagnostiky v rámci kontroly plodnosti (Kudláč & Holý 1984). V případě prokázání progesteronu v mléce lze odhalit nepravou říji vzhledem k jeho závislosti na přítomnosti žlutého tělíska. Naopak nepřítomnost progesteronu v mléce u dojnic bez projevů říje poukazuje na estrální fázi pohlavního cyklu, a tedy výskyt tichých říjí (Burdych et al. 2004).

### **Tlakové detektory říje**

Pomůcky tohoto typu jsou častěji využívány v pastevních chovech. Princip detekce je založen na přirozené říjové aktivitě skotu, tedy naskakování na ostatní zvířata a reflexu nehybnosti v době ochoty k páření (Hofírek et al. 2009). Detektory typu KaMaR jsou plastové ampulky s barvivem, které se lepí plemenicím na křížovou krajinu. Působením tlaku při naskočení jiného zvířete je spuštěna chemická reakce, která způsobí změnu barvy v ampulce detektoru (Kudláč & Holý 1984). Jejich výhodou je snadná opakovatelnost, nepřetržitá účinnost, bezpečnost a dobrá viditelnost aktivovaných detektorů (Burdych et al. 2004). Diskin & Sreenan (2000) uvádějí, že jejich přesnost je poměrně nízká, a to z důvodu častých ztrát přilepených detektorů. Borsberry (2011) doporučuje neumožňovat zvířatům přístup ke kartáčům za účelem snížení počtu falešně detekovaných říjí.

### **Biologické detektory říje**

Další možností pro usnadnění vyhledávání říjí je využití zvířat vybavených značkovačem (Louda et al. 2008). Jako prubíři jsou využívána různě ošetřená zvířata samčího i samičího pohlaví (androgenizované jalovice nebo krávy, vasektomovaní býci apod.). Značkovač (kuličkový bradový detektor) je umístěn detekujícímu zvířeti na ohlávku v krajině dolní čelisti a funguje na principu propisovací tužky, kdy při vzeskoku u říjících se plemenic zanechává dlouhé čáry. Pokud samice neprojevují ochotu k páření, můžeme na nich pozorovat zpravidla pouze bodová označení na zádi (Hofírek et al. 2009).

Při využívání těchto zvířat pro detekci říje je nutné je nepřetěžovat, aby nedocházelo k jejich vyčerpávání. Ve stádě tedy nezůstávají permanentně, ale jsou mezi plemenic pouštěna nejčastěji dvakrát denně přibližně na jednu hodinu. Detekované plemenic mají být ze stáda urychleně izolovány, aby opakovaně neupoutávaly pozornost detekujícího zvířete (Kudláč & Holý 1984).

### **3.3.2.2 Automatizované systémy detekce říje**

#### **Měření změn elektrického odporu tkání reprodukčního ústrojí**

Tato technologie funguje na principu změn vodivosti vaginálního sekretu během pohlavního cyklu. Při opakovaném měření impedance tvoří křivku ve tvaru „V“ a nejnižších hodnot dosahuje právě ve fázi estru. Využití této metody má význam při vysokém výskytu tichých říjí (Burdych et al. 2004). Říha et al. (2004) uvádějí, že nevýhoda této metody spočívá v její pracnosti, a především ve velké variabilitě výsledných hodnot mezi plemenicemi, ale také v rozdílných hodnotách u konkrétní dojnice mezi pohlavními cykly. Při nedostatečném opakování měření toto může přinášet velké množství falešně pozitivních i negativních výsledků.

#### **Rádiová telemetrická zařízení**

Systém nazývaný HeatWatch je pomůckou, která sleduje reflex nehybnosti, jakožto jeden z nejspolehlivějších znaků říje. Bateriový vysílač citlivý na tlak je plemenicím umístěn na kraniální část kořene ocasu, ten sbírá informace o naskakování ostatních krav a přenáší je

do počítačového programu, kde jsou data zpracovávána a vyhodnocována. Za pozitivní zjištění říje je obvykle považována hranice čtyř naskočení během tří hodin. Ze získaných dat je možno určit co nejlepší dobu pro inseminaci (Diskin & Sreenan 2000).

System HeatWatch má dobrý potenciál pro využívání v pastevním i volném stájovém chovu s podobnou účinností a přesností jako při použití tlakových detektorů typu KaMaR v kombinaci s vizuálním pozorováním. Nevýhodou tohoto systému mohou být technické potíže s dálkovým přenosem dat a bateriemi (Říha et al. 2004).

### **Pedometry**

Pedometry se řadí k automatizovaným systémům detekce říje ve volném ustájení. Upevňují se na nohy plemenic a jejich funkcí je měření počtu kroků za určité časové období. Biologická podstata tohoto systému spočívá ve výrazném zvýšení aktivity krav v době říje, současně mohou napomoci indikovat různá onemocnění při snížené aktivitě (Burdych et al. 2004; Říha et al. 2004).

Účinnost pedometrů přesahuje 90 %, přičemž je možné zachytit i první říje po otelení, které často nejsou doprovázeny typickým říjovým chováním krav, rovněž je možné odhalit plemence, které se přebíhají (Burdych et al. 2004). Nicméně přesnost pedometrů je vysoce variabilní a dosahuje hodnot od 22 do 100 %. Nízká přesnost pedometrů je spojována především s velkým množstvím falešně pozitivních výsledků a technickými obtížemi, jako je rozbití nebo ztráta detektoru (Diskin & Sreenan 2000).

### **Aktivometry**

Tato technologie společně s pedometry patří v současné době k nejvyužívanějším pomůckám pro detekci říje ve velkochovech skotu (Hofírek et al. 2009) i přes to, že vyžadují vyšší počáteční investici (Holman et al. 2011). Vzhledem k rozsahu poskytovaných informací (např. doba aktivity, přežvykování, žraní apod.) o jednotlivých zvířatech se těší stále větší chovatelské oblíbenosti (Pavlovic et al. 2022). Data z aktivometrů jsou periodicky snímána pomocí snímačů umístěných ve stájích a průběžně se aktualizují během celého dne (Burdych et al. 2004). Podobně jako pedometry jsou tyto systémy nápomocny nejen při určení doby říje, ale také při včasné detekci různých onemocnění, díky čemuž je možné omezit dlouhodobé léčení krav a přispět tak ke zlepšení welfare zvířat a optimální produkci mléka (Pavlovic et al. 2022).

### **3.3.3 Srovnání různých metod detekce říje**

K dosahování co nejlepší úrovně detekce říje je v současné době téměř nutné využívání kombinace pomocných metod detekce říje s vizuálním pozorováním a kontrolním vyšetřením inseminačním technikem (Hofírek et al. 2009).

Při výběru pomůcek pro vyhledávání říje je třeba přihlížet k celkovým podmínkám managementu chovu, neboť účinnost, přesnost a využitelnost jednotlivých metod se může různit v závislosti na velikosti stáda i typu ustájení. Neautomatizované metody jsou většinou levnější, avšak ve velkých stádech pro nedostatek času málo využívané, naopak na menších farmách bývají oblíbené (Říha et al. 2004).

Ve studii Holman et al. (2011) byly porovnávány metody detekce říje v chovu mléčného skotu, a to konkrétně využití tlakových detektorů, pedometrů, obojků s aktivometry a prosté pozorování příznaků říje stájovým personálem (5× denně po dobu 10 minut). Rovněž byly hodnoceny faktory, které by mohly přesnost detekce říje ovlivňovat. Skutečný potenciál říje byl vyhodnocován na základě opakovaných progesteronových testů, přičemž celkově bylo identifikováno pouze 74 % říjí. Příčinami nižší detekce mohly být vyskytující se technické problémy a lidské chyby. Z výsledků studie vyplývá, že tlakové detektory typu KaMaR deklarují více nesprávně pozitivních výsledků z důvodu aktivace detektoru při ležení v boxových ložích. Účinnost a přesnost dat z pedometrů a aktivometrů byly významně zhoršeny při kulhání, rovněž při vysoké doživosti a při nízké tělesné kondici krav. Na základě celkových výsledků doporučují pro zlepšení detekce říje v chovu použití aktivometrů či pedometrů v kombinaci s pozorováním říjového chování dojnic. Pro správnou interpretaci získaných dat je však nutné přihlížet k době předchozí říje a dalším faktorům, jako jsou například přesuny ve skupinách a podobně.

Naproti tomu Gaude et al. (2017) při porovnávání účinnosti detekce říje automatickými detektory říje na obojcích a pozorováním 3× denně po dobu 30 minut zjistili, že účinnost detekce říje automatizovaným systémem byla vyšší (85,1 %) oproti vizuální kontrole říje (52,2 %), přičemž všechny případy odhalené pozorováním byly rovněž detekovány systémem. Dále uvádějí, že data získaná automatickými detektory nebyla negativně ovlivněna kulháním, změnami tělesné kondice nebo užítkovostí, a naznačují tedy možnost nahrazení vizuálního pozorování automatickými detektory. Rozdíly mezi studii mohou být způsobeny technologickým pokrokem v období mezi těmito experimenty.

Borsberry (2011) však upozorňuje, že využívání metod detekce říje s častějším výskytem falešně pozitivních výsledků může negativně ovlivňovat reprodukci, a to v důsledku nesprávného načasování inseminace, kdy z fyziologického hlediska není možné dosažení březosti.

Říha et al. (2004) doporučují využití kombinace více metod pro zvýšení účinnosti detekce říje a shrnují, že kombinované metody jsou navzdory výdajům s nimi spojenými v konečném důsledku nákladově výhodnější.

Röttgen et al. (2020) ve své studii naznačují, že v budoucnu by ke zdokonalení systému detekce říje mohla být využita vokalizace, jelikož zvukové projevy jsou v době říje u krav a jalovic četnější. Díky novým technologiím je možné tyto projevy detekovat a identifikovat i v systémech skupinového volného ustájení, avšak dosud využití tohoto systému není dostupné pro plošné komerční využití.

### **3.4 Významné faktory ovlivňující reprodukci**

Reprodukční výkonnost jedince ovlivňuje řada vnitřních a vnějších faktorů a je nutné tyto aspekty posuzovat komplexně vzhledem k četným interakcím mezi nimi. Heritabilita pro znaky plodnosti je nízká, z větší části je tedy ovlivněna ostatními vlivy v porovnání s genetickým založením jedince (Kudláč & Holý 1984; Hofírek et al. 2009). Aspekty ovlivňující plodnost je nezbytné zkoumat a následně se snažit vytvářet ideální podmínky pro dosahování optimální reprodukční výkonnosti (Kudláč & Holý 1984). Na tyto faktory



je nezbytné brát zřetel při závadění reprodukčních biotechnologií v chovu, neboť významnou měrou ovlivňují jejich úspěšnost (Baruselli et al. 2017). V této kapitole jsou popsány nejvýznamnější faktory ovlivňující reprodukční výkonnost skotu.

### **3.4.1 Vnitřní faktory**

Mezi vnitřní faktory ovlivňující reprodukci patří především genotyp, plemenná příslušnost a užitkovost, individualita jedince a zdravotní stav zvířat včetně jejich tělesné kondice.

#### **Genetické založení, plemeno a individualita jedince**

Jak již bylo řečeno, podíl genetického založení ve vztahu k plodnosti je poměrně nízký, ovšem nejčastěji se projevuje při vzniku poruch reprodukce, které způsobují morfologické nebo funkční změny pohlavních funkcí. Tyto poruchy jsou zpravidla vyjadřovány subfertilitou až infertilitou (Kudláč & Holý 1984).

Vliv plemenné příslušnosti na reprodukci je významný zejména prostřednictvím rozdílné adaptability k vnějšímu prostředí a rozdílům v užitkovosti zvířat. Rozšiřování zejména vysoce užitkových plemen do různých geografických oblastí vede k nutnosti postupného přizpůsobení se daným podmínkám. Nedostatečná adaptace zvířat vede ke stresovým reakcím organismu, v jejichž důsledku může docházet k negativnímu ovlivnění plodnosti (Hofírek et al. 2009).

Odolnost vůči vnějším vlivům je rovněž závislá na individualitě zvířete, kdy se nevhodné podmínky managementu chovu (časté přesuny, hrubé zacházení apod.) nepříznivě odráží v pohodě zvířat a potažmo v jejich plodnosti. Odolnost zvířat je vyjádřena pevností konstituce, která je nepostradatelnou složkou pro selekci a šlechtění zvířat (Kudláč & Holý 1984).

Mezi užitkovými typy skotu existují rozdíly v rychlosti somatického vývoje, který koreluje s dobou dosažení pohlavní dospělosti zvířat, přičemž se uvádí, že mléčná plemena dosahují pohlavní dospělosti již při 35-45 % hmotnosti v dospělosti, zatímco u masných plemen puberta nastává při dosažení přibližně 50 % hmotnosti. Říha et al. (2004) zdůrazňují, že plemenice po dosažení pohlavní dospělosti však není vhodné příliš brzy zapouštět vzhledem k nedostatečnému tělesnému vývoji zvířat. U mléčných plemen skotu rovněž dochází k dřívějšímu nástupu pohlavního cyklu po otelení ve srovnání s masnými plemeny (Říha et al. 2004; Hofírek et al. 2009).

Reprodukční výkonnost dojnic dosahuje vrcholu přibližně v osmi letech, avšak předčasné vyřazování plemenic ze stáda z důvodu zhoršeného zdravotního stavu, potažmo nízké užitkovosti, vede k nevyužití tohoto potenciálu ve velkochovech mléčného skotu (Hofírek et al. 2009).

#### **Mléčná užitkovost**

Laktace je z fyziologického hlediska s reprodukcí přímo spojena. Reprodukční výkonnost skotu nemusí být produkcí mléka nutně negativně ovlivněna, avšak pouze za

předpokladu, že mléčná užitkovost nepřesahuje biologické limity dojníc a současně jsou naplněny ostatní potřeby zvířat (Kudláč & Holý 1984).

Na výši mléčné produkce se značnou měrou podílí plemenná příslušnost zvířat, přičemž je zřejmé, že plemena s nižší mléčnou užitkovostí dosahují obecně lepších reprodukčních výsledků. Avšak i individuální užitkovost dojníc v rámci jednoho plemene se odráží na úrovni reprodukce jednotlivých zvířat. Lze konstatovat, že vysoká mléčná užitkovost má negativní vztah k plodnosti skotu (Hofírek et al. 2009), což je možné dokázat zhoršujícími se hodnotami reprodukčních ukazatelů, poruchami ovariálního cyklu nebo zvýšeným výskytem ovariálních cyst (Kudláč & Holý 1984).

Albarrán-Portillo & Pollot (2013) na základě rozsáhlé studie pro zlepšení vztahu vysoké mléčné produkce a zhoršené plodnosti dojníc navrhuji využívat zvířata s nižší celkovou produkcí mléka, ale dobrou perzistencí laktační křivky. Zároveň doporučují v chovu ponechat zvířata se špičkovou mléčnou užitkovostí a zároveň co nejkratším mezidobím.

### **Zdravotní stav a poruchy reprodukce**

Reprodukční výkonnost je zpravidla odrazem celkového zdravotního stavu zvířete a celá řada onemocnění (např. problémy s končetinami, metabolické poruchy, mastitidy) se na plodnosti projevuje negativně. (Hofírek et al. 2009).

Poruchami reprodukce bývá obvykle postiženo 10 až 15 % plemenic ze stáda, a to i přes dobré životní podmínky a optimální úroveň výživy dojníc. Tyto plemence bývají označovány jako problémové (Říha et al. 2004). Do této skupiny jsou řazeny krávy anestrické a opakovaně se přebíhající, tedy krávy nezabřezlé po třech a více inseminacích. (Louda et al. 2008).

Lomander et al. (2013) shrnují, že onemocnění paznehtů přispívá ke zhoršování reprodukční výkonnosti. Ve své studii dospěli k závěru, že špatný stav paznehtů zhoršuje zabřezávání po první inseminaci a inseminační index. Stejně tak Melendez et al. (2003) uvádí výrazně nižší procento březosti po první inseminaci u kulhajících krav (17,5 %) oproti zdravým plemenicím (42,6 %) a dále uvádějí zvýšený výskyt ovariálních cyst (25,0 % u kulhajících krav ve srovnání s 11,1 % u zdravých krav).

Mezi nejčastější poruchy energetického metabolismu u vysokoprodukčních dojníc patří ketóza. Ketóza vzniká při neadekvátní výživě dojníc především v době nástupu laktace, kdy je potřeba energie dojníc největší (Hofírek et al. 2009). Pro posouzení metabolického stavu dojníc je vhodné sledovat poměr tuku a bílkovin v mléce. Optimálně by se měl poměr T/B pohybovat v rozmezí 1,2 až 1,4. Snížený poměr poukazuje na pravděpodobný výskyt subklinických acidóz. Naopak zvýšený poměr T/B signalizuje výskyt subklinických ketóz, a to nejčastěji v první třetině laktace (Čejna & Chládek 2005). Rutherford et al. (2016) ve své studii zjistili, že subklinická ketóza má negativní vliv na reprodukční výkonnost dojníc. Z výsledků vyplývá, že u krav se subklinickou ketózou ve srovnání se zdravými kravami se prodloužila doba nástupu pohlavního cyklu po otelení a rovněž se prodloužil inseminační interval. Pravděpodobnost zabřeznutí po první inseminaci byla 4,3× nižší u krav se subklinickou ketózou.

Ve studii Toni et al. (2011) bylo zjištěno, že krávy, které v počátku laktace měly poměr tuku a bílkovin v mléce vyšší než 2, vykazovaly zvýšený výskyt poporodních onemocnění (např. zadržetí lůžka, metritida). Naopak nejnižší incidence poporodních onemocnění byla zjištěna u krav s poměrem T/B mezi 1 a 1,5.

Klinický průběh mastitidy může mít kromě výrazného negativního vlivu na ekonomiku chovu v důsledku ztrát z produkce mléka také nežádoucí vliv na reprodukci (Ahmadzadeh et al. 2009). Chebel et al. (2004) uvádějí častější výskyt embryonální mortality u krav, jež prodělaly klinickou mastitidu mezi umělou inseminací a diagnostikou březosti. Huszenica et al. (2005) zmiňují, že mastitida může zpříčiňovat pozdější nástup ovulace po porodu, nicméně nezjistili negativní vliv tohoto onemocnění na míru zabřezávání a servisperiodu. Naproti tomu Ahmadzadeh et al. (2009) zjistili negativní vliv klinické mastitidy na zabřezávání, a rovněž počet inseminací potřebných k zabřeznutí byl vyšší, jestliže se u krávy v laktaci projevilo onemocnění mléčné žlázy.

### **Tělesná kondice**

Hodnocení tělesné kondice (BCS – body condition scoring) je subjektivní záležitostí. V současné době je velmi často využíváno pětibodového systému hodnocení tělesné kondice, který napomáhá snižovat subjektivitu posuzování díky ukazatelům přiřazeným jednotlivým bodům tělesné kondice. BCS je hodnoceno vzestupně od velmi špatné kondice k silné přetučnělosti (Edmonson et al. 1989). Bezdíček et al. (2020) shrnují, že mezi tělesnou kondicí a reprodukcí existuje úzký vztah, a to nejen v souvislosti s reprodukčními ukazateli, ale také s ovariální aktivitou. Ukazuje se, že snížená nebo naopak nadměrná tělesná kondice přináší horší výsledky biotechnologických metod, jako je embryotransfer nebo aspirace oocytů. Nicméně embryotrasfer je využíván obvykle ve špičkových chovech u plemenic s výbornou mléčnou užitkovostí, přičemž se v těchto chovech obvykle nenachází zvířata s extrémní tělesnou kondicí a obecně jsou do embryotransferu zařazovány plemenice v optimální tělesné kondici.

Ve studii Kasimanickam et al. (2020) bylo shodně zjištěno, že počet získaných embryí od krav s BCS 1 a 5 byl nižší ve srovnání s kravami s BCS 2, 3 a 4. To opovídá zjištění Kubovičové et al. (2013), kdy nejnižší počet embryí byl získán od krav s BCS 4,5-5. Podíl přenosuschopných embryí byl vyšší u skupin s BCS 2 a 3 (80,2 %; 83,2 %) ve srovnání s ostatními skupinami (BCS 1 – 73,6 %; BCS 4 – 73 %; BCS 5 – 68,8 %) (Kasimanickam et al. 2020), což je v rozporu s výsledky Kubovičové et al. (2013), kdy nejvyšší podíl přenosuschopných embryí byl získán od krav s BCS 3,5-4 (79,54 %) a naopak nejnižší podíl byl zaznamenán u krav s BCS 2,5-2,75 (59,42 %). Chrenek et al. (2014) zjistili vyšší podíl kvalitních oocytů získaných od krav s BCS 2 (57,60 %) a BCS 3 (60,90 %) než od krav s BCS 1 (43,60 %).

Je patrné, že tělesná kondice při první inseminaci po porodu ovlivňuje úspěšnost zabřezávání. Pro optimalizaci reprodukčních výsledků by BCS v době inseminace nemělo být nižší než 2,5 bodu z pětibodové hodnotící škály (Carvalho et al. 2014), nicméně Heuer et al. (1999) uvádějí, že přetučnělé krávy mají rovněž nižší pravděpodobnost zabřeznutí po první inseminaci ve srovnání s dojnícemi v optimální tělesné kondici. Ukázalo se, že krávy taktéž lépe zabřezávaly, jestliže se jejich tělesná kondice během prvních třech týdnů po porodu nesnižovala. Udržení tělesné kondice v tranzitním období je otázkou úrovně výživy a managementu v jednotlivých chovech, a je tedy důležité z hlediska zdravotního stavu i plodnosti dojnic (Carvalho et al. 2014). Říha et al. (2004) shrnují, že pravděpodobnost zabřeznutí je vyšší při inseminaci plemenic s BCS 3.

### 3.4.2 Vnější faktory

Reprodukční výkonnost skotu je z větší části ovlivňována podmínkami prostředí, takže je nutné jim věnovat v chovu značnou pozornost. Zároveň je nevyhnutelné jednotlivé faktory posuzovat v souvislostech, a v konečném důsledku jako ucelený komplex (Kudláč & Holý 1984). Mezi tyto nejvýznamnější aspekty ovlivňující plodnost skotu patří úroveň výživy, klimatické podmínky a technologie a řízení chovu.

#### **Výživa a krmení plemenic**

Množství a kvalita předkládaného krmiva je jedním z nejvýznamnějších faktorů ovlivňující reprodukční funkce skotu. Krmná dávka neodpovídající potřebám zvířat působí negativně zejména v období nástupu pohlavní dospělosti a v době okolo porodu. Rovněž může nepříznivě ovlivňovat průběh pohlavního cyklu po porodu (Kudláč & Holý 1984). Při nápadném zhoršení reprodukční výkonnosti je tedy nezbytné tento faktor pečlivě analyzovat. Negativní působení krmiva na organismus se projevuje přímým vlivem některých látek v krmivu (např. mykotoxinů), metabolitů (např. amoniaku) a metabolickým stavem zvířete (Hofírek et al. 2009). Při analýze vlivu výživy na reprodukci je nutné brát v úvahu časovou prodlevu mezi změnami ve výživě a jejich projevu v reprodukci (Říha et al. 2004). Krmná dávka by měla obsahovat co nejkvalitnější komponenty, vhodně kombinovat koncentrovaná a objemná krmiva a plně pokrývat živinové potřeby dojnic (Burdych et al. 2004).

Zejména v tranzitním (okoloporodním) období jsou plemenic vystaveny řadě metabolických a fyziologických změn, které mohou vést k vyšší náchylnosti zvířat k onemocněním, zhoršení reprodukční výkonnosti i snížení produkce mléka (Lopreiato et al. 2020). Negativní vliv na reprodukční výkonnost má výraznější restrikce krmení v období před porodem i nadměrné krmení v celém období stání na sucho (Meier et al. 2020). Dle výsledků studie Civiero et al. (2021) však nebyl zjištěn vliv energetické bilance na úspěšnost zabřezávání po první inseminaci.

Dostatečná suplementace esenciálních mastných kyselin v tranzitním období působí pozitivně na imunitní systém a reprodukční výkonnost dojnic (Lopreiato et al. 2020).

#### **Roční období, tepelný stres**

Vliv ročního období je podmiňován fotoperiodou a teplotou. Ačkoliv je skot polyestrické zvíře, prodlužující se den působí stimulačně na pohlavní aktivitu plemenic. Přesná délka světelného dne pro stimulaci pohlavního cyklu není známa, avšak předpokládá se minimálně 14 až 15 hodin v intenzitě alespoň 400 luxů (Hofírek et al. 2009).

Pro zachování života savců je nepostradatelný termoregulační proces (Hofírek et al. 2009). Obvykle je tělesná teplota udržována v úzkém rozmezí, avšak extrémní teploty mohou tuto rovnováhu narušovat (Takahashi 2012). Při poklesu teploty pod termoneutrální zónu musí zvířata zvýšit výrobu metabolického tepla a současně snížit odvod tepla do okolí (Hofírek et al. 2009). Častějším problémem je však tepelný stres způsobený vysokou okolní teplotou, kdy je tělesná teplota regulována naopak zvýšením odvodu metabolického tepla do okolí. Množství tepla, které je odvedeno vedením a konvekcí je odvislé od tělesné hmotnosti, plochy povrchu těla, barvy kůže a srsti a okolní teploty a vlhkosti (Cizmeci et al. 2022). Chauhan

et al. (2021) zmiňují, že rozdíly v reakci na tepelný stres se objevují jak mezidruhově, tak mezi jednotlivými plemeny.

Tepelný stres má dlouhodobé i krátkodobé účinky, které mohou či nemusí být v danou chvíli pozorovatelné (Cizmeci et al. 2022). Jeho negativní účinky jsou popisovány snížením chuti k žrádлу, snížením přírůstků hmotnosti, snížením mléčné užitkovosti, zhoršením zdravotního stavu a reprodukční výkonnosti (Takahashi 2012). Nežádoucí vliv tepelného stresu na reprodukci se projevuje mnoha způsoby od narušení vývoje gamet, přes poruchy pohlavního cyklu až k embryonálním ztrátám či abortům (Cizmeci et al. 2022). Takahashi (2012) shrnuje, že změny v důsledku tepelného stresu vedou ke zhoršení reprodukčních ukazatelů, jako je např. účinnost detekce říje nebo míra zabřezávání. Campos & Santos (2015) uvádějí, že v teplejším období roku se objevuje zvýšená míra přebíhání.

Chebel et al. (2004) se zabývali účinky vystavení zvířat tepelnému stresu před a po umělé inseminaci. Z výsledků této studie je patrné, že krávy vystavené tepelnému stresu v období 50 až 20 dní před umělou inseminací hůře zabřezávaly ve srovnání s kravami, které nebyly vystaveny tepelnému stresu. Tepelný stres v době od 20 dní před umělou inseminací a po umělé inseminaci do diagnostiky březosti však na procento zabřezávání již neměl průkazný vliv.

Cizmeci et al. (2022) vyhodnocovali vliv teploty na počet oocytů získaných metodou ovum pick-up, přičemž bylo zjištěno, že při teplotě prostředí do 10 °C byl počet získaných oocytů vyšší než při vyšších teplotách. Výsledky rovněž poukazují na sníženou rychlost vývoje blastocyst získaných při vyšších teplotách. Autoři pro zlepšení výsledků OPU a IVP doporučují tyto metody využívat zejména v teplotních podmínkách, které se blíží termoneutrální zóně plemenic.

Chen et al. (2022) zjistili, že k tepelnému stresu byly náchylnější krávy po otelení ve srovnání s březími kravami. Rovněž pořadí laktace ovlivňovalo reakci na tepelný stres, přičemž prvotelky byly vůči působení tepelného stresu odolnější oproti kravám na dalších laktacích.

Nejen dojnice, ale i telata a jalovice jsou vystavovány tepelnému stresu. Přestože jsou odolnější díky menší zátěži a produkci metabolického tepla, je nutné v rámci zachování dobrého zdravotního stavu, příjmu krmiva a dobré růstové schopnosti zvířat dbát na prevenci i u těchto kategorií skotu (Wang et al. 2020).

Pro prevenci tepelného stresu je nezbytné poskytnout zvířatům co nejlepší životní podmínky, ať už se jedná o fyzickou úpravu prostředí (stín, ventilace) nebo optimální výživu (zabránění nedostatku živin) (Wang et al. 2020). V některých případech je v extrémně vysokých teplotách reprodukce cíleně pozastavena pro neuspokojivé reprodukční výsledky (Hofirek et al. 2009). Přestože v posledních desetiletích došlo k významnému pokroku v prevenci, tepelný stres je stále významným problémem ve světovém měřítku. Globální oteplování a související změna klimatu bude pravděpodobně problém tepelného stresu v budoucnu prohlubovat, což může mít vážné ekonomické dopady na živočišnou výrobu (Chauhan et al. 2021).

### **Technologie ustájení a management chovu**

Díky moderním technologiím je v současné době ve velkochovech významně zasahováno do reprodukčních funkcí, a dochází tak v podstatě ke kompletnímu řízení

reprodukce skotu. Aby bylo dosahováno co možná nejlepších reprodukčních výsledků, je nutné optimalizovat organizaci reprodukce i životní podmínky zvířat (Kudláč & Holý 1984).

Stájový způsob chovu dojnic do jisté míry zmírňuje účinky ročního období díky omezení vlivů změn počasí během roku. Volné skupinové ustájení dojnic má pozitivní vliv na úroveň projevu říjového chování a nástupu první říje po porodu. Avšak při nadměrné koncentraci zvířat ve stáji, častém přemístování zvířat mezi skupinami nebo nevhodné stájové technologii (např. kluzké podlahy) jsou projevy říje naopak ovlivňovány negativně. Nedostatečná úroveň světla ve stáji má rovněž negativní vliv na pohlavní cyklus krav a jalovic (Říha et al. 2004; Hofírek et al. 2009). Říha et al. (2004) dodávají, že ve volném ustájení je ztížena identifikace zvířat oproti vaznému ustájení a doporučují využívat v těchto systémech některých pomůcek pro snadnější evidenci detekovaných říjí.

Důležitým aspektem v chovu dojnic jsou hygienické podmínky ve stáji. Důsledné udržování dobrých hygienických podmínek ve vztahu k reprodukci je důležité zejména v době porodu a puerperia, protože v tomto období jsou krávy obzvláště náchylné k infekcím pohlavního aparátu vedoucím ke zhoršování jejich reprodukční výkonnosti. Dodržování vysokého hygienického standardu při vyšetřování dojnic a při umělé inseminaci je základním předpokladem pro optimální výsledky reprodukce (Kudláč & Holý 1984; Hofírek et al. 2009).

Pro zajištění všech výše uvedených faktorů je klíčová lidská práce a její kvalita se odráží nejen v reprodukční výkonnosti, ale v celkové úrovni chovu, a proto by měl být kladen důraz na dobrou organizaci práce a šetrné, co nejméně stresující zacházení se zvířaty (Hofírek et al. 2009). Z hlediska reprodukce je důležité omezit chyby při detekci říje, vyšetřování a inseminaci plemenic (Kudláč & Holý 1984).

### **3.5 Reprodukční ukazatele v chovu skotu**

Sledování a hodnocení reprodukční výkonnosti je v chovech skotu nezbytnou a rutinní záležitostí, a to na jak na úrovni chovatelů, tak chovatelských svazů a dalších organizací. K dosažení stabilně dobrých výsledků je nutná kooperace mezi jednotlivými účastníky tohoto procesu (Louda et al. 2008). Z hlediska managementu farmy je důležitá spolupráce mezi chovatelem a veterinářem, ale také dalšími pracovníky zainteresovanými do reprodukce v daném chovu (Hofírek et al. 2009).

Reprodukční výkonnost zvířat významně ovlivňuje jejich užítkovost a do jisté míry odráží celkový zdravotní stav zvířat, je tedy nezbytné tomuto věnovat dostatečnou pozornost, a to na denní bázi (Hofírek et al. 2009).

Důsledná evidence těchto ukazatelů poskytuje chovateli dlouhodobé i aktuální informace o jejich hodnotách, a umožňuje tak včasné přijetí strategií pro optimalizaci, eventuálně zlepšení nejen reprodukčních výsledků, ale i ekonomické situace v chovu (Louda et al. 2008). Rozborem těchto podkladů je možno odhalit různé problémy v reprodukčním procesu a dedukovat jejich možné příčiny bez vynaložení vysokých vstupních nákladů (Bouška et al. 2006). Jednotlivá opatření by měla vést k ekonomické efektivnosti jak z hlediska celého stáda, tak jednotlivých plemenic (Louda et al. 2008).

Reprodukční ukazatele jsou ovlivňovány mnoha vnitřními a vnějšími faktory a při jejich hodnocení je třeba brát v úvahu specifické podmínky, úroveň managementu a mléčné produkce

v konkrétním chovu. Porovnávání hodnot reprodukčních ukazatelů stáda a populace je vhodné pro objektivní posouzení skutečně dosahovaných výsledků (Kudláč & Holý 1984). Chovatelé by měli mít stanovené cíle pro dané ukazatele s ohledem na fyziologii zvířat a ekonomiku chovu (Bouška et al. 2006) a jejich hodnocení bývá prováděno zpravidla periodicky za určitá období, například šest měsíců nebo rok (Hofírek et al. 2009).

Roelofs et al. (2010) připomínají, že pro zlepšení reprodukčních výsledků je nutné ve spolupráci s veterinárním lékařem analyzovat stávající záznamy, zhodnotit parametry, které je možné zlepšit a najít řešení, jež je možné v konkrétním chovu uplatnit. Současně je důležité si uvědomit, že reprodukční výkonnost stáda má dlouhodobý charakter a některé změny se neprojeví bezprostředně po zavedení nových opatření.

K nejčastěji využívaným ukazatelům patří zejména interval, servis perioda a zabřezávání po první inseminaci (Hofírek et al. 2009), dále inseminační index a míra brakování. Existuje řada dalších reprodukčních ukazatelů, které jsou však využívány méně často (Bouška et al. 2006).

### **Inseminační interval**

Tento ukazatel je vyjádřen počtem dní mezi otelením a první inseminací po porodu. Délka inseminačního intervalu je odvislá především od fyziologických možností dojnic a chovatelské strategie (Bouška et al. 2006). Hofírek et al. (2009) uvádějí, že u vysokoužitkových dojnic bývá inseminační interval zpravidla delší ve srovnání s krávami s nízkou až průměrnou užitkovostí.

Z hlediska managementu reprodukce by cílová hodnota intervalu měla být v komparaci s délkou mezidobí a mírou zabřezávání v daném chovu (Bouška et al. 2006) s přihlédnutím k dalším aspektům, například užitkovosti zvířat, ročnímu období atd. (Louda et al. 2008).

Hofírek et al. (2009) udávají jako doporučenou hodnotu inseminačního intervalu rozmezí 65 až 80 dní, přičemž ani ve vysokoprodukčních chovech by neměla být tato hodnota výrazně vyšší (Burdych et al. 2004). V případě nevyhovující délky intervalu by jeho hodnoty měly být analyzovány ve vztahu k užitkovosti krav. Nežádoucí prodloužení inseminačního intervalu může být zapříčiněno nedostatečnou detekcí říje nebo poruchami plodnosti (Bouška et al. 2006). Proto je vhodné, aby u krav, které během prvních dvou měsíců po otelení necyklovaly, bylo provedeno vyšetření a případná terapie (Burdych et al. 2004; Říha et al. 2004).

### **Servis perioda**

Servis perioda je vyjadřována dobou od porodu do zabřeznutí, přesněji do inseminace, po které kráva zabřezla (Kudláč & Holý 1984; Bouška et al. 2006), zahrnuje tedy pouze krávy, které po porodu znovu zabřezly (Bouška et al. 2006).

Je považována za ekonomicky velmi podstatný ukazatel, přestože nezohledňuje náklady na krávy, které nově nezabřezly nebo byly vyřazeny. Servis periodu lze ovlivňovat brakováním plemenic (Říha et al. 2004; Louda et al. 2008). Prodloužení servis periody má negativní dopad na reprodukční výsledky, produkci mléka a v konečném důsledku i ekonomiku produkce (Kudláč & Holý 1984).

Kudláč & Holý (1984) uvádějí, že délka servis periody přibližně 85 dní je optimální z hlediska ekonomiky chovu. Říha et al. (2004) i Louda et al. (2008) souhlasně informují, že u průměrně užitkových stád je tato hodnota servis periody uspokojivá. U stád s vysokou

produkcí mléka by se měla hodnota ukazatele pohybovat maximálně do 120 dnů (Louda et al. 2008; Hofírek et al. 2009).

Servis perioda je ovlivňována organizací reprodukce stáda a pro její objektivní hodnocení je nutné sledovat a porovnávat hodnoty i dalších zmíněných ukazatelů (Bouška et al. 2006). Vhodným managementem reprodukce by mělo být dosaženo souladu mezi délkou intervalu a servis periody (Louda et al. 2008).

Se zřetelem na úroveň zabřezávání plemenic by se rozdíl daných ukazatelů měl pohybovat v rozmezí dvou pohlavních cyklů, přibližně tedy do 40 dnů. Při pozdějším zapouštění krav po porodu v závislosti na zpravidla se zvyšující pravděpodobnosti zabřeznutí by měla být tato diference nižší (Hofírek et al. 2009). Velké rozdíly v uvedených parametrech reprodukce mohou značit poruchy plodnosti (Louda et al. 2008) anebo nedostatečnou úroveň personální činnosti v chovu, zejména pak při detekci říje u přebíhajících se krav (Burdych et al. 2004; Bouška et al. 2006).

### **Mezidobí**

Mezidobím je označován časový úsek mezi dvěma porody jedné krávy (Bouška et al. 2006; Louda et al. 2008). V rámci stáda je stanovován aritmetickým průměrem délky mezidobí všech krav včetně brakovaných (Říha et al. 2004), avšak s výjimkou plemenic, které potratily (Bouška et al. 2006). Mezidobí je tvořeno součtem délky servis periody a březosti (Kudláč & Holý 1984), přičemž délka gravidity je víceméně stabilní, takže je ovlivněno především délkou servis periody (Bouška et al. 2006; Hofírek et al. 2009).

Dříve byla žádoucí hodnota tohoto ukazatele blízká se jednomu roku (Kudláč & Holý 1984), avšak se zvyšující se užitkovostí a současně snižujícími se výsledky reprodukce se v průměru délka mezidobí prodlužuje (Hofírek et al. 2009). Louda et al. (2008) zmiňují, že zkracování mezidobí není nezbytné u stád s vysokou produkcí mléka, neboť právě díky dobré perzistenci laktace a vysoké užitkovosti se delší doba potřebná k zabřeznutí (zejména z fyziologických důvodů) nemusí negativně projevit na ekonomickém výsledku. Burdych et al. (2004) uvádějí, že při vyšší mléčné užitkovosti nedochází prodloužením mezidobí k výrazným ztrátám v produkci mléka.

Délka mezidobí do 400 dnů je v současné době považována za uspokojivou při vysoké mléčné užitkovosti (Bouška et al. 2006; Hofírek et al. 2009), avšak ve stádech s nižší produkcí mléka je žádoucí kratší mezidobí vzhledem k ekonomické výhodnosti chovu skotu (Louda et al. 2008). Cílová hodnota mezidobí je tedy otázkou managementu chovu, optimálně by se však měla pohybovat v intervalu od 365 do 400 dní (Burdych et al. 2004).

### **Inseminační index**

Inseminační index je vyjádřen počtem inseminací provedených k zabřeznutí jedné plemence (Bouška et al. 2006; Louda et al. 2008). Reinseminace se do indexu nezapočítává jako nová inseminace (Říha et al. 2004), jestliže se jedná o maximálně tři inseminace v po sobě jdoucích dnech (Hofírek et al. 2009). Avšak Burdych et al. (2004) upozorňují, že v chovech s vysokou frekvencí reinseminací může být inseminační index poněkud zkreslen. Tento reprodukční ukazatel není zatížen účinností detekce říje, na rozdíl od inseminačního intervalu nebo servis periody (Bouška et al. 2006).



Analýza tohoto ukazatele udává celkovou úspěšnost inseminace vzhledem k ekonomice zabřezávání v chovu (Hofírek et al. 2009), proto je žádoucí, aby jeho hodnota byla udržována na co nejnižší úrovni. Inseminační index je z chovatelského hlediska důležitým ukazatelem, neboť umožňuje na základě jeho hodnot přesnější plánování nákupu inseminačních dávek (Louda et al. 2008) a v případě vyšší hodnoty rovněž poukazuje na výskyt poruch plodnosti ve stádě (Kudláč & Holý 1984; Louda et al. 2008).

Při dobré plodnosti je dosahováno hodnoty indexu u krav do 1,6 (Kudláč & Holý 1984; Louda et al. 2008), jako vyhovující jsou označovány hodnoty do 2,0 (Kudláč & Holý 1984; Bouška et al. 2006), maximálně do 2,2 (Hofírek et al. 2009). Hodnota inseminačního indexu je u jalovic zpravidla nižší (Kudláč & Holý 1984), průměrně o 0,1-0,2 ve srovnání s krávy (Hofírek et al. 2009).

Jestliže je tento parametr určován pro celé stádo, je označován jako čistý index fertility. Jistá nepřesnost indexu však tkví v nezapočítávání plemenic, které byly inseminovány bez koncepce, eventuálně těch, které nebyly inseminovány vůbec (Kudláč & Holý 1984).

### **Březost po první inseminaci**

Březost po první inseminaci vyjadřuje procentuální podíl počtu zabřezlých plemenic po první inseminaci z počtu poprvé inseminovaných zvířat (Burdych et al. 2004; Říha et al. 2004).

Reprodukční výkonnost krav má klesající tendenci, což je velkou měrou dáno snižující se úrovní zabřezávání (Hofírek et al. 2009). Vývoj tohoto trendu je zřejmý – Kudláč & Holý (1984) i Bouška et al. (2006) považují hodnotu ukazatele nad 60 % za velmi dobrou, přičemž dosahování úrovně březosti po první inseminaci pod 50 % hodnotí jako nedostatečnou pro vážné reprodukční problémy, zatímco Hofírek et al. (2009) uvádí u krav 40-45 % jako uspokojivou úroveň reprodukce.

Při hodnocení tohoto ukazatele je vhodné analyzovat jednotlivé kategorie zvláště. U jalovic je zpravidla úroveň zabřezávání po první inseminaci vyšší. Bouška et al. (2006) a Kudláč & Holý (1984) udávají zvýšení přibližně o 10 %, Louda et al. (2008) dokonce o 15-20 %.

Lepší úroveň zabřezávání je očekávána při pozdější inseminaci po porodu, neboť na úspěšnost inseminace může mít nepříznivý vliv výrazná negativní energetická bilance v počátku laktace. Rovněž kvalita říje a ovulace se v průběhu poporodního období mezi prvním a druhým (třetím) pohlavním cyklem zvyšuje (Hofírek et al. 2009).

### **Březost po druhé inseminaci**

Tento ukazatel je významný pro porovnání s březostí po první inseminaci. Jestliže je hodnota březosti po druhé inseminaci vyšší, je pravděpodobné, že první inseminace po porodu je příliš brzká (Bouška et al. 2006).

### **Březost po všech inseminacích**

Hodnocením tohoto parametru je vyjadřován podíl březích krav z celkového počtu ve stádě (Kudláč & Holý 1984). Vypočítává se jako procentuální podíl počtu březích plemenic po všech inseminacích a počtu všech inseminovaných plemenic (Bouška et al. 2006).

Úroveň zabřezávání po všech inseminacích by se neměla pohybovat pod úrovní dolní klasifikační hranice zabřezávání po první inseminaci u krav a jalovic ve stádě (Říha et al. 2004;

Louda et al. 2008). Burdych et al. (2004) dodávají, že pro optimální interpretaci tohoto ukazatele je důležité přihlížet při hodnocení k pořadí inseminace.

### **Interinseminační interval**

Interinseminačním intervalem se rozumí počet dní mezi dvěma následujícími inseminacemi a může být hodnocen na úrovni jednotlivých plemenic nebo celého stáda (Bouška et al. 2006). V optimálním případě by se jeho hodnota měla shodovat s délkou pohlavního cyklu samic (Burdych et al. 2004; Říha et al. 2004), a i pro hodnocení stáda by měly být interinseminační intervaly jednotlivých plemenic zaříděny do skupin pro zkrácené, normální a prodloužené cykly (Bouška et al. 2006).

Hodnoty interinseminačních intervalů jsou z chovatelského hlediska významné, jelikož mohou poukazovat na pravděpodobné příčiny zhoršené reprodukční výkonnosti (Burdych et al. 2004). Jestliže se častěji vyskytují zkrácené cykly, zřejmě se jedná o poruchy hormonálních funkcí či výskyt folikulárních cyst. Naopak prodloužené cykly mohou značit výskyt embryonální mortality. V případě výskytu dvojnásobných cyklů je nutné zlepšit management vyhledávání říjí (Říha et al. 2004). Ve stádech, kde je využíváno u přebíhajících se krav hormonální ošetření k indukci říje, se mohou častěji vyskytovat nepravidelné prodloužené cykly (Burdych et al. 2004).

### **Natalita krav**

Čistá natalita se vyjadřuje počtem živě narozených telat za jeden rok od 100 kusů krav ve stádě, přičemž se nezapočítávají telata porozená jalovicemi (Říha et al. 2004; Louda et al. 2008). Při dobré úrovni reprodukce by hodnota čisté natality měla být vyšší než 75 telat (Kudláč & Holý 1984; Hofírek et al. 2009).

Hrubá natalita vyjadřuje počet živě narozených telat za jeden rok na 100 kusů plemenic, tj. krav i jalovic (Kudláč & Holý 1984). Hrubá natalita je přibližně o hodnotu 10-15 vyšší ve srovnání s čistou natalitou (Hofírek et al. 2009).

Při hodnocení natality je nutné brát v potaz aspekty, které tento ukazatel ovlivňují, jako například výskyt dvojčat nebo naopak mrtvě narozená telata. Přírozenou variabilitu tohoto ukazatele rovněž ovlivňuje délka mezidobí, která v současnosti obvykle překračuje hranici jednoho roku a počet porodů za dané období tedy nemusí být dokonale rovnoměrný (Hofírek et al. 2009).

### **Počet živě odchovaných telat od 100 kusů krav**

Tato hodnota je velmi objektivním a komplexním ukazatelem úrovně reprodukce ve stádě (Říha et al. 2004) a je užitečná zejména pro plánování selekce dojnic a obnovy stáda (Burdych et al. 2004). Počet živě odchovaných telat od 100 krav by se neměl pohybovat pod dolní hranicí ukazatele natality krav (Říha et al. 2004; Louda et al. 2008).

### **Věk jalovic při prvním zapuštění**

Věk jalovic při prvním zapuštění se vyjadřuje počtem dní od narození do první inseminace. Je závislý na především na plemeni, ale také na úrovni odchovu, respektive zdravotním a výživovém stavu zvířat (Bouška et al. 2006).

### **Test nepřeběhlých (non return test)**

Tento ukazatel je vyjadřován procentem nepřeběhlých plemenic z inseminovaných v určitém časovém období od inseminace (Říha et al. 2004) a poskytuje chovatelům poměrně rychlou informaci o zabřezávání krav ve stádě, respektive o plodnosti plemeníků. Přesnost hodnot se lineárně zvyšuje s prodlužující se délkou určovaného období (tj. od poslední inseminace), přičemž je nutné důsledné sledování inseminovaných plemenic pro detekci opakující se říje (Kudláč & Holý 1984).

### **Míra brakování**

Pro objektivizaci ostatních ukazatelů plodnosti by mělo být přihlíženo právě k vyřazování plemenic ze stáda, především z reprodukčních důvodů. Míra brakování pro reprodukční poruchy by neměla přesahovat 10 %, jelikož její vysoká intenzita může zkreslovat ostatní ukazatele v důsledku zlepšení reprodukční výkonnosti stáda (Hofírek et al. 2009). Burdych et al. (2004) udávají, že uspokojivá hranice vyřazování dojnic z reprodukčních důvodů by neměla přesahovat 15 % z celkového počtu vyřazených zvířat.

### **Plodnost plemenných býků**

Plodnost plemenných býků je hodnocena dvojím způsobem. Prvním způsobem je hodnocení vlastní oplozovací schopnosti na základě zabřezávání krav ve stádě dle využití jednotlivých plemeníků (Říha et al. 2004), označovaný také jako samčí komponenta plodnosti (Louda et al. 2008). Druhým způsobem je hodnocení vlastní plodnosti býka dle plodnosti jejich dcer (Říha et al. 2004), jakožto samičí komponenta plodnosti plemeníka (Louda et al. 2008).

## **3.6 Reprodukční biotechnologie v chovu skotu**

Reprodukčních biotechnologií je využíváno pro kontrolu reprodukčních funkcí, manipulaci s genetickým materiálem zvířat a obecně řízení reprodukce (Hofírek et al. 2009). Kombinování reprodukčních biotechnologií jako je synchronizace říje, ovum pick-up, in vitro produkce embryí a dalších metod má výborný potenciál ke zlepšování reprodukčních výsledků a rychlejšího dosažení genetického zisku ve stádech skotu (Baruselli et al. 2017). V posledních letech se významně rozšířilo využívání embryotransferu a metody ovum pick up s následnou in vitro produkcí embryí (Figueiredo et al. 2020). V této kapitole jsou popsány základní a nejrozšířenější biotechnologické metody využívané v reprodukci skotu. Existují i další metody (například genetické manipulace, klonování atd.), avšak tyto nejsou předmětem této diplomové práce.

### **3.6.1 Umělá inseminace**

Umělá inseminace je jednou z nejstarších a zároveň stále nejrozšířenějších biotechnologických metod reprodukce skotu. Benefity umělé inseminace spočívají především v oblasti šlechtění, zdravotního stavu zvířat a ekonomice chovu (Hofírek et al. 2009). Další výhodou je poměrně velká flexibilita při tvorbě individuálních přípařovacích plánů, jelikož

je možné využít inseminační dávky od býka, které se pro danou plemeniici nejlépe hodí, přičemž tento výběr není omezen pouze na několik býků chovaných ve stádě při využívání přirozené plemenitby. Rovněž odpadá nutnost chovu vlastních plemeníků na farmě, což přináší nesporné výhody z hlediska bezpečnosti, ale i ekonomické efektivity (Balls & Peters 2004).

K umělé inseminaci se nejběžněji používají hluboce zmrazené inseminační dávky, které jsou uchovávány v tekutém dusíku. Aby byla zachována schopnost oplození u spermií, je nutné při výrobě inseminačních dávek přidat složky, které zajistí zdroj energie, ředění a ochranu před chladovým šokem (Balls & Peters 2004).

Před samotnou inseminací je inseminační dávka rozmrazena ve vodní lázni při teplotě 35 °C po dobu 40 sekund (Louda et al. 2008). Plemenice, která je inseminována, by měla být řádně fixována pro bezpečnost a optimální hygienu prováděného úkonu (Burdych et al. 2004). Při rektální metodě umělé inseminace se inseminační pipeta jednou rukou zavádí pod úhlem 45° dorzokraniálně do pochvy, následně je druhou rukou uchopen děložní krček per rektum. Inseminační pipeta je zaváděna před vnější branku děložního krčku až na rozhraní kraniiálního konce děložního krčku a těla dělohy a zde je inseminační dávka deponována (Hofírek et al. 2009).

Fisher & Lamming (2004) zdůrazňují důležitost načasování umělé inseminace, neboť její provedení v nesprávné fázi pohlavního cyklu může zvyšovat riziko infekce pohlavního aparátu. Liles et al. (2022) ve své studii analyzovali vztah rektální teploty při časované umělé inseminaci k následnému zabřezávání plemenic. Zvýšení teploty podporuje znovuoobnovení meiotického procesu a potencuje ovulaci, což je z funkčního hlediska důležité pro maximalizaci reprodukční výkonnosti. Výsledky studie ukazují, že krávy nejlépe zabřezávaly, pokud rektální teplota v době umělé inseminace byla vyšší než 40 °C. Měření rektální teploty by tedy mohlo být pomocným nástrojem pro určení optimální doby pro inseminaci.

### **Sexace spermií**

Jednou z metod, kterými lze ovlivnit pohlaví potomstva, je sexace spermií. Různá hmotnost a množství DNA v hlavičce spermie umožňuje rozlišit spermie nesoucí pohlavní chromozom X nebo Y (Bouška et al. 2006) se spolehlivostí přibližně 90 %. Plošné komerční využívání sexovaných inseminačních dávek v současné době není ekonomicky výhodné s ohledem na jejich nákladnost a snižující se reprodukční výkonnost vysokoužitkových krav. Použití sexovaného spermatu je výhodné zejména pro první inseminaci jalovic, kdy je v kombinaci s dalšími biotechnickými postupy dosahováno efektivnější obnovy stáda (Louda et al. 2008).

Furkawa et al. (2022) hodnotili vztah mezi dobou inseminace a úrovní zabřezávání při použití sexovaných inseminačních dávek, přičemž zjistili, že pro maximalizaci reprodukčních výsledků je optimální plemenice inseminovat v intervalu 4 hodin před koncem říje do 12 hodin po konci říje. Nutnost co nejlepšího načasování inseminace je spojená s nižší aktivitou a oplozovací schopností sexovaného spermatu oproti nesexovanému z důvodu delšího a náročnějšího výrobního procesu (Louda et al. 2008).

Colazo et al. (2018) uvádějí, že zabřezávání jalovic po časované umělé inseminaci sexovaným spermatem (59,1 %) je nižší ve srovnání s konvenčními inseminačními dávkami (47,6 %). Z výsledků studie dále vyplývá, že na úspěšnost zabřezávání má vliv, zda plemenice vykazují známky říje při umělé inseminaci. U jalovic, které nevykazovaly příznaky říje, bylo

zabřezávání signifikantně nižší při použití sexovaných inseminačních dávek (47,9 % vs. 27,8 %), zatímco pokud byly pozorovány známky estru, zabřezávání při použití sexovaných inseminačních dávek bylo pouze tendenčně nižší (65,5 % vs. 56,7 %).

### 3.6.2 Ovlivňování pohlavního cyklu

#### Synchronizace říje

Pro synchronizaci říje skotu bylo vyvinuto několik různých protokolů založených na hormonálním ošetření zvířat s uplatněním různých kombinací progesteronu,  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a GnRH (Berg et al. 2020). Jejich využívání je v současné době velmi rozšířené v chovech dojného skotu, výborné uplatnění nachází rovněž v pastevních chovech se sezónní reprodukcí. Důvodem pro využívání těchto protokolů je zejména umožnění načasování inseminace bez nutnosti detekce říje, v některých případech lze pomocí hormonální terapie indukovat říji u acyklických samic. Méně častým, avšak důležitým důvodem je synchronizace pohlavního cyklu mezi dárkyní a příjemkyní při embryotransferu (Hofírek et al. 2009).

Na některých mléčných farmách jsou synchronizační protokoly využívány plošně, častější je však jejich individuální použití u problémových krav (Baraňski et al. 2021).

Doležel et al. (2002) ve své studii zjistili, že nejvyšší účinnost synchronizace říje a zároveň nejlepší výsledky zabřezávání jsou dosahovány při aplikaci GnRH 48 hodin po podání  $\text{PGF}_{2\alpha}$  u krav, jež mají na vaječnicích přítomno žluté tělísko a malé a středně velké folikuly v době podání GnRH. Podobné výsledky byly zjištěny i ve studii Berg et al. (2020).

Baraňski et al. (2021) doporučují v chovech s dobrou úrovní detekce říje jednorázové ošetření  $\text{PGF}_{2\alpha}$  s ohledem na welfare zvířat (menší počet ošetření než u Ovsynch protokolu).

Ačkoliv při využití protokolů k časované inseminaci je možné plemence inseminovat bez ohledu na projevy říje, samice vykazující známky estru v době inseminace lépe zabřezávaly. Bylo zjištěno, že u prvotek je po aplikaci synchronizačního protokolu nižší výskyt příznaků říje ve srovnání s jalovicemi a krávami na dalších laktacích (Bonato et al. 2021).

#### Superovulace

Opakovaným ošetřením plemenic gonadotropiny je dosahováno současného dorzávání více folikulů na vaječnicích, což zefektivňuje proces získávání oocytů a embryí od těchto zvířat (Bouška et al. 2006). Existuje několik variant superovulačních protokolů lišících se v načasování a počtu použitých hormonálních přípravků, použitých ředidel a dalších látek nezbytných pro kontrolu vývoje folikulů. Pomocí ultrasonografického vyšetření vaječníků je možné odhadnout počet oocytů, které lze uměle stimulovat k růstu (Mikkola et al. 2020).

Účinnost superovulace je ovlivněna řadou faktorů (např. plemeno, věk, užitkovost, roční období atd.), což v konečném důsledku zapříčiňuje značnou variabilitu výsledků těchto protokolů (Hofírek et al. 2009). Abdelnaby et al. (2021) zkoumali ovariální odpověď na různé hormonální ošetření, přičemž byly použity přípravky obsahující kombinaci FSH a LH, pouze FSH a eCG v kombinaci s PMSG. Největší počet malých a středně velkých folikulů byl zaznamenán při použití FSH a eCG/PMSG, naopak nejvíce velkých folikulů bylo zaznamenáno

po ošetření FSH/LH. Závěrem zmiňují, že ovariální odpověď je velmi individuální a je ovlivňována jak počtem a dávkami injekcí gonadotropinů, tak i stranou vaječníku.

### **3.6.3 Embryotransfer (ET)**

Metoda přenosu embryí umožňuje intenzivnější využití genetického potenciálu excelentních plemenic a vede tak k rychlejšímu genetickému zisku (Ball & Peters 2004). Vzhledem k dlouhému generačnímu intervalu je embryotrasfer u skotu obzvláště užitečný (Mebratu et al. 2020). Z hlediska mezinárodního obchodu se zvířaty je možné kryokonzervovaná embrya přepravovat mezi státy ekonomicky výhodněji ve srovnání s přepravou dospělých zvířat, zároveň z hlediska welfare nedochází ke stresu spojenému s přepravou a nutností aklimatizace jedinců na místní podmínky (Ball & Peters 2004).

Obecný postup při embryotrasferu začíná u hormonální stimulace vybrané dárkyně k superovulaci, plemenice je následně inseminována a 7. den po inseminaci jsou z dělohy vyplachována embrya. Poté je provedena selekce embryí a vybraná z nich jsou přenášena do příjemkyň nebo kryokonzervována (Bouška et al. 2006).

#### **Příprava dárkyň**

Vhodnými dárkyněmi jsou plemenice s vysokou genetickou hodnotou a vynikající užitkovostí. Kromě toho by tato zvířata měla být v optimální kondici a dobrém zdravotním stavu včetně vyhovující plodnosti (Hofírek et al. 2009).

Před zařazením plemenice do programu embryotransferu je nutné provést vyšetření pohlavních orgánů rektální palpací, případně transrektální ultrasonografií. Hodnotí se stav dělohy a vaječnicků, případně děložního krčku (Hofírek et al. 2009).

Je možné odebírat embrya od dárkyň po spontánní ovulaci, avšak zpravidla je u nich využíváno superovulačních protokolů pro maximální zhodnocení času a nákladů spojených s embryotransferem. V případě přenosu čerstvých embryí je rovněž nezbytná synchronizace pohlavního cyklu mezi dárkyněmi a příjemkyněmi (Ball & Peters 2004).

#### **Inseminace dárkyň**

První inseminace dárkyň se provádí za 12 hodin po objevení příznaků říje a reinseminace probíhají ve 12 hodinových intervalech po celou dobu, kdy jsou u plemenice pozorovatelné vnější příznaky říje. Nutnost reinseminací vychází z odlišností průběhu říje po superovulačním ošetření, kdy ovuluje více oocytů po delší časový úsek (Hofírek et al. 2009).

#### **Odběr embryí**

Před odběrem embryí je posuzována úroveň superovulace vzhledem k počtu žlutých tělísek na vaječnicích. Výplach embryí je prováděn zpravidla 7. den po první inseminaci dárkyně. V tu dobu se většina embryí nachází v kraniální části děložního rohu ve stádiu moruly až blastocysty (Hofírek et al. 2009).

V minulosti byla embrya získávána chirurgickou cestou v celkové anestezii plemenice. V současné době je většina embryí získávána výplachem dělohy nechirurgickou cestou. Tato

metoda je přibližně o 10 % méně efektivní, avšak je levnější, jednodušší, odpadá nutnost celkové anestezie a může být běžně prováděna na farmách (Ball & Peters 2004).

Před samotným odběrem embryí je dárkyně fixována a je provedena lokální epidurální anestezie pro částečné znecitlivění konečníku a zevních genitálií. Výplach je prováděn pomocí dvojcestného Foleyova katetru, který se zavede přes děložní krček do děložního rohu. Následuje opakovaná laváž postupně obou děložních rohů vyplachovacím médiem. Na závěr po skončení výplachu se zpravidla aplikují do dělohy antibiotika a luteolytika pro urychlení nástupu říje (Hofírek et al. 2009).

### **Zpracování a hodnocení embryí**

Výplašek (vyplachovací médium s embryi) je jímán do sterilní láhve a následně se nechává 30 minut sedimentovat při pokojové teplotě. Embrya postupně klesají ke dnu, poté je možné většinu média extrahovat. Zbylý sediment (20-30 ml) se přelije do Petriho misek a pomocí stereomikroskopu jsou lokalizována embrya. Bezprostředně po jejich vyhledání jsou vyhodnocena a přenesena speciální mikropipetou do kultivačního média. Tento proces je zpravidla opakován pro detekci co největšího počtu vypláchnutých embryí (Hofírek et al. 2009).

Získaná embrya jsou protokolárně registrována, stručně ohodnocena dle morfologických znaků a rovněž je hodnocena oplozenost, kvalita a stádium jejich vývoje. Na základě tohoto vyhodnocení je rozhodnuto, zda bude embryo dále využito či nikoliv (Hofírek et al. 2009).

Phillips & Jahnke (2016) popisují devítibodovou škálu pro hodnocení stádia vývoje od neoplozeného oocyty (1) přes stádium moruly (4) až po expandovanou vyklubanou blastocystu (9). Ze studie Madureira et al. (2022) vyplývá, že při transferu embryí ve stádiu časných blastocysty a blastocysty je dosahováno lepších výsledků březosti oproti embryím ve stádiu moruly.

Kvalita embryí je popisována na čtyřbodové škále od výborné až dobré (1) až po mrtvá nebo degenerovaná embrya (4) (Phillips & Jahnke 2016). Degenerovaná, retardovaná nebo embrya s dezintegrováním embryonálním základem jsou k přenosu nevhodná (Hofírek et al. 2009). Pro kryokonzervaci jsou vhodná embrya kvality 1-2. Embrya kvality 3. stupně by měla být použita k přenosu pouze čerstvá (Phillips & Jahnke 2016).

### **Sexace embryí**

Sexace embryí v rámci embryotransferu představuje především ekonomické zhodnocení genetického potenciálu. Ve většině případů je preferováno samičí pohlaví, neboť představuje produkční potenciál stáda a samičí reprodukční kapacita je mnohonásobně nižší ve srovnání se samci (Hofírek et al. 2009).

Embrya je možné sexovat pomocí PCR testu po odebrání malého počtu buněk (2 až 8) z embryí 1. stupně. Tato technika nesnižuje úspěšnost přenosu embryí ve srovnání s nesexovanými embryi (Galli et al. 2001). Využití PCR testu poskytuje vysokou přesnost výsledků během krátké analyzační doby, což umožňuje plošné využití této metody. Z důvodu vysoké citlivosti PCR testu je nutné striktně dodržovat podmínky, ve kterých nedojde ke kontaminaci vzorku cizorodou DNA (Hofírek et al. 2009).

### **Příprava příjemkyň**

Jako příjemkyně jsou nejčastěji vybírány plemence s podprůměrnou užitkovostí, případně jalovice z matek s podprůměrnou užitkovostí (Hofírek et al. 2009). Avšak Mebratu et al. (2020) zmiňují, že příjemkyně by měly dosahovat dobrých dosavadních reprodukčních výsledků a snadného průběhu porodu, a jejich výběr by tedy neměl být podceňován.

Pro přenos čerstvých embryí je nezbytné, aby dárkyně a příjemkyně byly ve stejné fázi pohlavního cyklu, respektive by měly vykazovat říji ve stejný den, maximálně s rozdílem do 24 hodin. Obvykle je pohlavní cyklus synchronizován pomocí synchronizačních protokolů, v případě dostatečného množství potenciálních příjemkyň je možné využít ty plemence, které vykazují přirozenou říji v optimální dobu. Běžně není při embryotransferu současně využíváno vlastních embryí příjemkyně, tudíž není nutná další příprava plemenic (např. superovulace) ani jejich inseminace (Ball & Peters 2004).

Madureira et al. (2022) uvádí, že lepších výsledků březosti po embryotransferu je dosahováno, jestliže příjemkyně vykazovala intenzivní příznaky říje.

### **Konzervace embryí**

V případě přenosu embryí tentýž den jako proběhl výplach embryí, je možné embrya krátkodobě uchovávat ve sterilním roztoku kultivačního média po dobu několika hodin v podmínkách, které se přibližují prostředí v děloze (Ball & Peters 2004).

Další možností krátkodobého uchování embryí je jejich zchlazení na teplotu 2-5 °C. Jako konzervační prostředek může být využito vejcovodu králice. V těchto podmínkách lze uchovávat zárodky až 5 dní. Tento způsob je obvláště vhodný při přepravě čerstvých embryí na delší vzdálenosti (Hofírek et al. 2009).

V současné době je možné embrya zamrazovat pro dlouhodobé skladování podobně jako inseminační dávky v tekutém dusíku, avšak citlivost embryí k zamrazování a rozmrazování je poměrně vysoká a dochází tak k destrukci buněk a zániku části zárodků. Embrya jsou obvykle uchovávána jednotlivě v plastových pejetách. Jako kryoprotektivum je často používán glycerol, který je však po rozmrazení nutno postupně odstranit (Ball & Peters 2004). V případě použití etylenglykolu stačí pro vymytí kryoprotektantu pouhé přenesení embrya do kultivačního média, jelikož je ve srovnání s glycerolem pro embryonální buňky permeabilnější. Využívání etylenglykolu je oblíbené zejména pro komerční využití, jelikož je možné po rozmrazení rovnou embrya přenášet vybraným příjemkyním bez nutnosti dalších laboratorních činností (Hofírek et al. 2009).

### **Přenos embryí**

V minulosti bylo využíváno pro přenos embryí chirurgických metod, avšak v současnosti je přenos obvykle prováděn transcervikální cestou – tedy konzervativní (nechirurgickou) metodou (Hofírek et al. 2009).

Před přenosem embryí je příjemkyni provedena lokální epidurální anestezie pro částečné znecitlivění konečníku a vnějších pohlavních orgánů. Vlastní přenos embryí je prováděn transcervikálně pod rektální kontrolou pomocí přenosového katetru (Hofírek et al. 2009) nebo delší inseminační soupravy. Embrya jsou zpravidla deponována do ipsilaterálního děložního rohu k vaječníku, který ovuloval (Ball & Peters 2004).



### 3.6.4 Ovum pick-up (OPU)

U skotu je v jednom pohlavním cyklu ovulován nejčastěji pouze jeden oocyt, který může být oplozen a následně se vyvíjet dále, zatímco při použití techniky OPU (zpravidla v kombinaci s IVP) je možné během jednoho pohlavního cyklu takovýchto oocytů získat mnoho (Merton et al. 2003).

V současné době je transvaginální ultrazvuková punkce nejběžnějším způsobem získávání oocytů u skotu. Aspiraci lze provádět i několik měsíců v řadě s jedním až dvěma odběry oocytů týdně, aniž by došlo k poškození vaječnicků (Hofírek et al. 2009).

#### **Získávání oocytů metodou OPU**

Při OPU jsou folikuly aspirovány pomocí dlouhé jehly, která je k vaječnickům zaváděna přes pochvu při kontrole ultrasonografem (Bouška et al. 2006).

Bols et al. (1996) porovnávali morfolologii získaných kumulus-oocytárních komplexů (COC) s ohledem na tloušťku jehly a hladinu podtlaku při aspiraci. Bylo zjištěno, že při zvyšování podtlaku se snižuje podíl oocytů obklopených kumulárními buňkami bez ohledu na tloušťku jehly. Výťažnost oocytů byla nejvyšší při použití jehel o větším průměru, avšak byl zde zároveň nejvyšší podíl oocytů bez kumulárních buněk. Pro získání co nejvyššího počtu oocytů obklopených kumulárními buňkami je doporučeno využívat při aspiraci oocytů tenké jehly a mírný aspirační podtlak.

Merton et al. (2003) uvádějí, že při OPU bylo získáno průměrně 6,7 oocytů, avšak pokud byly plemenice bezprostředně po OPU odporaženy, bylo možné z jejich vaječnicků získat průměrně dalších 12 oocytů z menších folikulů, které nebyly aspirovány ze živých zvířat. Dále shrnují, že počet získaných oocytů je ovlivněn rovněž personálem provádějícím OPU.

Tato technika je dobře využitelná pro širokou skupinu zvířat, jelikož téměř nezáleží na věku dárkyně (specifickým způsobem lze využít zvířata již od dvou měsíců věku), ani na jejím reprodukčním stavu (lze využít jalovice, krávy v laktaci i plemenice v prvním trimestru gravidity) (Galli et al. 2001). U pohlavně nedospělých zvířat jsou výsledky OPU obecně horší ve srovnání s dospělými plemenicemi, avšak z hlediska podstatného zkrácení generačního intervalu má OPU u prepubertálních jaloviček význam z hlediska rychlejšího genetického zisku (Ball & Peters 2004). Dle výsledků studie Demissie et al. (2022) přítomnost žlutého tělíska na vaječnicích v době aspirace oocytů statisticky průkazně neovlivňuje průměrný počet ani kvalitu získaných oocytů.

Získané oocyty lze použít čerstvé pro in vitro produkci embryí, nebo je možné tyto oocyty zamrazit a uchovávat v tekutém dusíku. Kryokonzervace oocytů získaných při OPU je užitečná zejména v chovech se sezónním telením, a to z důvodu možného ekonomicky výhodnějšího provádění OPU po delší časový úsek během roku. V přípouštěcí sezóně pak mohou být tyto oocyty oplozeny in vitro spermii od nejlepších býků dostupných v období přípouštění (Merton et al. 2003).

### **Příprava dárkyň a faktory ovlivňující výsledky OPU**

Pro OPU není nutná hormonální příprava zvířat, avšak v některých případech může mít pozitivní vliv na účinnost této metody (Gali et al. 2001). Stimulace dárkyň pomocí FSH je nejčastější u intenzivně chovaných dojnic s výborným genetickým potenciálem a je významná pro zlepšení vývojové způsobilosti získaných kumulus-oocytárních komplexů (Fry 2020). Guanga et al. (2020) zjistili, že podáním gonadotropinů (FSH/LH) 48 hodin před aspirací oocytů je možné zvýšit výtěžnost kvalitních oocytů obklopených kumulárními buňkami více než dvojnásobně.

Aller et al. (2010) zkoumali vliv hormonální stimulace gonadotropiny na počet oocytů získaných metodou ovum pick up u krav plemene Angus v poporodním období a zjistili, že mezi skupinami byl statisticky průkazný rozdíl. Od krav, které byly stimulovány podáním FSH, bylo průměrně získáno 8 folikulů během jedné aspirace, zatímco od krav, které nebyly hormonálně stimulovány, bylo získáno průměrně pouze 4,6 folikulů na aspiraci.

Stubbings & Walton (1995) ve své studii porovnávali vliv stimulace gonadotropiny na počet folikulů, které lze získat během aspirace oocytů. Krávy, které nebyly hormonálně stimulovány byly aspirovány dvakrát týdně po dobu 8 týdnů, zatímco krávy stimulované podáním FSH byly aspirovány jednou týdně. Z výsledků studie vyplývá, že průměrný počet získaných oocytů za týden se mezi těmito skupinami signifikantně nelišil. Rovněž však bylo zjištěno, že u nestimulovaných krav se počet získaných folikulů v období studie postupně zvyšoval, zatímco u stimulovaných krav se tento počet prokazatelně neměnil.

Lacaze et al. (1997) uvádí, že využití hormonální terapie k vyvolání superovulace u dárkyň umožňuje snížení počtu aspirací oocytů, aniž by došlo ke snížení výtěžnosti pro produkci embryí in vitro.

Takuma et al. (2010) sledovali efekt ročního období na počet aspirovaných folikulů u březích a nebřezích krav. Zatímco u nebřezích krav bylo získáno statisticky průkazně více folikulů v zimním období oproti letnímu období, u březích krav nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v počtu aspirovaných oocytů během roku. Kvalita aspirovaných oocytů nebyla statisticky průkazně rozdílná u březích a nebřezích krav, avšak oocytů získané od březích krav měly lepší vývojové schopnosti než oocytů od nebřezích krav.

### **3.6.5 Produkce embryí in vitro (IVP)**

Výhodou produkce embryí in vitro je možnost získat geneticky cenná embrya od plemenic s vysokou plemennou hodnotou i v případě, že tyto plemenice nejsou schopny úspěšné reprodukce za použití běžných konvenčních technik (Hofírek et al. 2009).

Úspěšnost této metody ovlivňuje mnoho aspektů, jako je zdravotní stav dárkyň, kvalita oocytů a rovněž použitých médií a samotné techniky kultivace embryí (Hofírek et al. 2009).

Ball & Peters (2004) shrnují, že při in vitro produkci embryí je častým problémem výskyt polyspermie při oplození. Rovněž častěji dochází ke ztrátám březostí po 35. dni gravidity.

Problémem může být také narození neobvykle velkých telat. Dále mohou mít telata z IVP dýchací potíže, snížený sací reflex nebo může dokonce docházet k náhlým úmrtím těchto telat (Ball & Peters 2004).

### **Získávání oocytů**

Oocyty pro in vitro produkci embryí je možné získat od živých dárkyň pomocí již popsané techniky OPU nebo laparoskopicky. Dále je možné oocyty získávat in vitro z vaječníků od plemenic po porážce (Hofírek et al. 2009).

Pro IVP byly dříve častěji získávány oocyty z vaječníků krav po porážce, avšak hlavní nevýhodou tohoto postupu je, že oocyty lze od každého zvířete odebrat samozřejmě pouze jednou (Ball & Peters 2004). Při tomto způsobu je nutné vaječníky bezprostředně po porážce uložit do média s antibiotiky, a zajistit transport do laboratoře při teplotě 37 °C. V laboratoři jsou oocyty aspirovány injekční stříkačkou s tenkou jehlou nebo pomocí aspirační pumpy. Existují i další metody získávání oocytů z těchto vaječníků, jako je mikroskopická disekce jednotlivých folikulů nebo tzv. slicing, kdy je povrch vaječniku nařezáván a folikulární tekutina je pomocí oplachu médiem sbírána do Petriho misek (Hofírek et al. 2009).

### **In vitro maturace (IVM)**

Zránění neboli maturace oocytů je charakterizováno přeměnou primárních oocytů na oocyty sekundární, které jsou způsobilé k oplození a dalšímu vývoji (Hofírek et al. 2009). Avšak méně než 40 % oocytů získaných pomocí techniky OPU se následně vyvine v blastocystu. Toto pravděpodobně není způsobeno nedostatečnou efektivitou této metody, nýbrž kvalitou samotných oocytů (Ball & Peters 2004).

Oocyty jsou zpravidla získávány v různém stádiu vývoje, obvykle se jedná o folikuly o velikosti 2-8 mm v průměru (Ball & Peters 2004). Oocyty jsou kultivovány 24 hodin ve zrácím médiu v inkubátoru s řízenou atmosférou (Hofírek et al. 2009).

### **In vitro fertilizace (IVF)**

Oplození oocytů je prováděno kapacitovanými spermii v oplozovacím médiu, do kterého je obvykle přidáván heparin, který podporuje kapacitaci spermií. Mohou být použity jak čerstvé, tak kryokonzervované spermie (Ball & Peters 2004). Tento proces trvá 20 hodin v podmínkách s řízenou atmosférou (Hofírek et al. 2009).

### **In vitro kultivace (IVC)**

Po oplození je nutné embrya kultivovat až do stádia blastocyst, aby bylo možné takto vyprodukovaná embrya přenést do příjemkyně. Je možné využít tzv. společnou kultivaci, kdy se embrya vyvíjí v médiu společně s granulózními nebo kumulárními buňkami (Ball & Peters 2004). Hofírek et al. (2009) naproti tomu uvádějí, že oplozené oocyty jsou zbavovány kumulárních buněk pomocí centrifugace.

Kultivace embryí probíhá v takových podmínkách, které se přibližují prostředí vejcovodu a dělohy. Celý proces probíhá 7 až 8 dní, přičemž se po 1 až 2 dnech provádí kontrola rýhování embryí. Po ukončení kultivace jsou embrya přenášena příjemkyním nebo kryokonzervována (Hofírek et al. 2009).

## 4 Materiál a metodika

Výzkumná část diplomové práce byla zaměřena na vyhodnocování vztahů mezi realizací a výsledky aspirace oocytů a následně reprodukční výsledky. V této kapitole je popsán podnik, vybraná zvířata, metodika sběru a hodnocení dat a průběh experimentu.

### 4.1 Charakteristika podniku a podmínek prostředí

Sledování bylo provedeno ve středisku živočišné výroby Ruda (okres Rakovník), což je jedno ze středisek Statků České zemědělské univerzity v Praze.

Podnik Statky ČZU byl založen v roce 1960 a v roce 2021 hospodařil na 2 701,63 ha zemědělské půdy. Rostlinná výroba se zaměřuje především na produkci obilovin, řepky ozimé, silážní kukuřice, vojtěšky a hrachu, část pozemků je tvořena trvalými travními porosty. Nižší výnosy v roce 2021 oproti předchozímu roku byly zapříčiněny nedostatkem srážek během vegetačního období (viz tabulka č. 1).

Živočišná výroba se zaměřuje zejména na chov dojeného skotu jerseykého a holštýnského plemene na oddělených farmách. Hlavní výnos živočišné výroby tvoří tržby za prodej mléka. Dalším výnosem jsou tržby za prodej býčků, který je realizován ve 14 dnech věku telat (viz tabulky č. 2 a 3). Celkový počet dojnic obou chovaných plemen se v roce 2021 (722 ks) oproti roku 2020 (684 ks) zvýšil. Průměrná denní i roční užitkovost dojnic meziročně mírně poklesla (viz tabulka č. 4), nicméně celková výroba mléka se zvýšila (6 460 tis. l v roce 2021). Zvýšení výroby mléka je realizováno díky většímu počtu chovaných dojnic.

*Tabulka č. 1 – Produkce rostlinné výroby, Statky ČZU celkem*

Plodina	Plocha 2021 [ha]	Výnosy 2020 [t/ha]	Výnosy 2021 [t/ha]
Pšenice ozimá	729,13	8,29	6,47
Ječmen jarní	409,39	5,13	4,47
Ječmen ozimý	231,05	7,19	6,14
Řepka ozimá	537,16	4,25	3,48
Hrách setý	22,11	3,43	4,46
Kukuřice silážní	225,30	77,70	85,54
Vojtěška	341,98	34,41	56,09
Louky	164,37	7,26	9,90
Pastviny	17,67	2,68	2,63

Zdroj: Výroční zpráva o hospodaření za rok 2021 (Zajíček 2022).

*Tabulka č. 2 – Živočišná výroba – průměrné stavy zvířat, Statky ČZU celkem*

Zvířata	Počet 2020 [ks]	Počet 2021 [ks]
Dojnice	684	722
Březí jalovice	92	75
Telata do 6 měsíců	182	227
Jalovice od 6 měsíců	375	371

Zdroj: Výroční zpráva o hospodaření za rok 2021 (Zajíček 2022).

**Tabulka č. 3 – Živočišná výroba – produkce, Statky ČZU celkem**

Výrobek	Rok 2020	Rok 2021
Mléko [tis. l]	6 264	6 460
Hnůj [t]	10 949	14 412
Kejda [m <sup>3</sup> ]	17 916	18 334
Narozená telata [ks]	739	747

Zdroj: Výroční zpráva o výsledku hospodaření za rok 2021 (Zajíček 2022).

**Tabulka č. 4 – Živočišná výroba – užitkovost, Statky ČZU celkem**

Užitkovost	Rok 2020	Rok 2021
Prům. denní užitkovost [l]	25,02	24,51
Prům. roční užitkovost [l]	9 157,19	8 947,56
Brakace krav [%]	33,00	29,80
Prům. přírůstek telat [g]	739,99	696,97

Zdroj: Výroční zpráva o výsledku hospodaření za rok 2021 (Zajíček 2022).

#### **Středisko živočišné výroby Ruda**

Farma Ruda se specializuje na chov dojného skotu, konkrétně dojnic holštýnského plemene. Podnik se nachází v suché, mírně teplé bramborařské oblasti v nadmořské výšce 412 m n. m. V roce 2015 proběhla rozsáhlá modernizace a rozšíření farmy.

Ustájení dojnic je realizováno v podobě volného ustájení s lehacími boxy podestýlanými separátem z kejdy. Produkční stáj je rozdělena na čtyři oddělení, přičemž každá skupina krav má přístup k elektrickému drbadlu. Krmivo je v podobě směsné krmné dávky zakládáno v krytém venkovním krmišti dvakrát denně, a to po ranním a večerním dojení. Během dne je krmivo pravidelně přihrnováno. Dojení probíhá dvakrát denně v intervalu 12 hodin. Podnik disponuje rybinovou dojrnou s kapacitou 2×12 míst. Kritický průtok pro automatické ukončení dojení je regulován na 0,5 kg mléka za minutu. Seřízení pulzačního poměru činí 60:40 s 55 cykly za minutu, podtlak je nastavený na 42 kPa.

V současné době (KU 2020/2021) je v podniku chováno 450 dojnic základního stáda. Dojnice dosahují průměrné užitkovosti 10 075 kg mléka za normovanou laktaci s průměrným obsahem tuku 4,91 % a bílkovin 3,52 % (viz tabulka č. 5). Průměrný počet somatických buněk je 235 tisíc buněk v 1 ml mléka. Při výběru plemenných býků je na farmách kladen důraz na zlepšování užitkovosti a zároveň udržení vysokého podílu mléčných složek.

**Tabulka č. 5 – Výsledky kontroly užitkovosti za kontrolní rok 2020/2021 za normovanou laktaci, farma Ruda**

Kategorie	Počet krav [ks]	Mléko [kg]	Tuk [%]	Tuk [kg]	Bílkoviny [%]	Bílkoviny [kg]	PSB [tis. ks v 1 ml]
1. laktace	167	8 676	3,98	346	3,52	305	121
2. a vyšší lakt.	283	10 900	4,03	439	3,52	385	284
<b>Celkem</b>	450	10 075	4,01	405	3,52	355	235

Zdroj: Výroční zpráva o výsledku hospodaření za rok 2021 (Zajíček 2022).

## 4.2 Design experimentu

V této podkapitole je detailně popsán soubor sledovaných zvířat a jednotlivé parametry, které byly u dojníc zaznamenávány a hodnoceny, následně je popsán metodický popis aspirace oocytů.

### 4.2.1 Soubor hodnocených zvířat

Do sledování byly vybírány prvotelky v první třetině laktace. Celkem bylo zařazeno 127 krav na první laktaci v různém metabolickém stavu. U těchto dojníc byla sledována data z kontroly užítkovosti před a po aspiraci oocytů (viz tabulky č. 6 a 7). Některá data (např. obsah laktózy) nebyla při pozdějších odběrech oocytů sledována, a proto ve vyhodnocení chybí. Z kontroly užítkovosti před aspirací oocytů vyplývá, že dojnice byly průměrně ve 47,48 DIM, průměrný nádoj byl 29,91 l mléka denně. Průměrný obsah mléčných složek byl následující: tuk 3,86 %, bílkoviny 3,27 %, laktóza 5,15 %. Počet somatických buněk se pohyboval v poměrně širokém rozpětí od 40 do 452 tisíc buněk v 1 ml mléka, nicméně v průměru bylo dosaženo 88,85 tisíc SB v 1 ml mléka.

Metabolický stav dojníc byl posuzován podle poměru tuku a bílkovin v mléce. Dále bylo před plánovanou aspirací u vybraných dojníc provedeno sonografické vyšetření, na jehož základě bylo rozhodnuto, zda se u dané plemence budou aspirovat oocyty, nebo bude z odběru vyřazena. Vybraným dojnícím byly oocyty aspirovány jednou nebo dvakrát s týdenním odstupem mezi odběry. Celkem bylo uskutečněno 5 odběrových období v různých částech roku (prosinec 2020, květen 2021, listopad 2021, květen 2022 a říjen 2022).

*Tabulka č. 6 – Popisná data sledovaných dojníc z KU před aspirací oocytů*

Proměnná	n	$\bar{x}$	s	min.	max.	s. e.	V [%]
<b>DIM</b>	127	47,49	15,36	14	104	1,36	32,34
<b>Nádoj</b>	127	29,91	5,93	15,08	54,80	0,53	19,84
<b>T %</b>	127	3,86	0,36	2,86	5,09	0,03	9,20
<b>T kg</b>	127	1,15	0,23	0,68	2,13	0,02	19,71
<b>B %</b>	127	3,27	0,22	2,70	3,71	0,02	6,81
<b>B kg</b>	127	0,97	0,18	0,48	1,73	0,02	18,38
<b>PoměrTB</b>	127	1,18	0,11	0,91	1,57	0,01	9,65
<b>L %</b>	87	5,15	0,13	4,51	5,37	0,01	2,46
<b>PSB</b>	127	88,85	66,34	40	452	5,89	74,66
<b>Močovina</b>	127	21,22	5,46	11,00	42,00	0,48	25,73

**Vysvětlivky:** KU = kontrola užítkovosti; DIM = počet dní v laktaci v době kontroly užítkovosti; Nádoj = průměrný denní nádoj; T % = obsah tuku v mléce v %; T kg = obsah tuku v mléce v kg; B % = obsah bílkovin v mléce v %; B kg = obsah bílkovin v mléce v kg; PoměrTB = poměr tuku a bílkovin v mléce; L % = obsah laktózy v mléce v %; PSB = počet somatických buněk; močovina = obsah močoviny v mléce; n = počet případů;  $\bar{x}$  = aritmetický průměr; min = minimum; max = maximum; s = standardní odchylka; s. e. = standardní chyba aritmetického průměru; V [%] = variační koeficient.



**Tabulka č. 7 – Popisná data sledovaných dojníc z KU po aspiraci oocytů**

Proměnná	n	$\bar{x}$	s	min.	max.	s. e.	V [%]
<b>DIM</b>	127	76,11	16,03	41	109	1,42	21,06
<b>Nádoj</b>	127	29,97	5,76	6,00	46,73	0,51	19,22
<b>T %</b>	127	3,98	0,37	2,61	5,09	0,03	9,34
<b>T kg</b>	127	1,18	0,21	0,26	1,89	0,02	18,14
<b>B %</b>	127	3,37	0,24	2,79	3,87	0,02	7,18
<b>B kg</b>	127	1,00	0,18	0,21	1,5	0,02	17,56
<b>PoměrTB</b>	127	1,18	0,10	0,84	1,51	0,01	8,83
<b>L %</b>	87	5,14	0,12	4,79	5,34	0,01	2,25
<b>PSB</b>	127	146,01	690,05	42	7796	61,23	472,61
<b>Močovina</b>	127	21,58	7,30	2	44	0,65	33,84

**Vysvětlivky:** KU = kontrola užítkovosti; DIM = počet dní v laktaci v době kontroly užítkovosti; Nádoj = průměrný denní nádoj; T % = obsah tuku v mléce v %; T kg = obsah tuku v mléce v kg; B % = obsah bílkovin v mléce v %; B kg = obsah bílkovin v mléce v kg; PoměrTB = poměr tuku a bílkovin v mléce; L % = obsah laktózy v mléce v %; PSB = počet somatických buněk; močovina = obsah močoviny v mléce; n = počet případů;  $\bar{x}$  = aritmetický průměr; min = minimum; max = maximum; s = standardní odchylka; s. e. = standardní chyba aritmetického průměru; V [%] = variační koeficient.

### **Hodnocení metabolického stavu dojníc**

Kromě výsledků kontroly užítkovosti byl u vybraných dojníc sledován metabolický stav dle dat dostupných z každého dojení v laktaci díky "in-line real-time" analyzátoru (Afifarm verze Afilab with software Afifarm 4.1; Afimilk; Afikim; Izrael). Data z analyzátoru byla zpracována a byly určeny následující parametry: poměr T/B mezi 25 a 35 DIM, minimum T/B do 1. aspirace oocytů, maximum T/B do 1. aspirace oocytů, průměrný poměr T/B do 1. aspirace oocytů a průměrný denní nádoj do 1. aspirace oocytů (viz tabulka č. 8).

Mezi 25. a 35. dnem laktace byl u dojníc poměr tuku a bílkovin v mléce 1,08, zatímco průměrný poměr T/B do 1. aspirace oocytů byl 1,10. Frekvence zastoupení (rozděleno po 0,05 bodu) těchto parametrů je patrná z grafu č. 1. Průměrný denní nádoj do 1. odběru oocytů se pohyboval v poměrně širokém rozpětí, a to od 14,42 litrů do 46,12 litrů, průměrná hodnota denního nádoje u všech sledovaných dojníc byla 27,44 litrů.

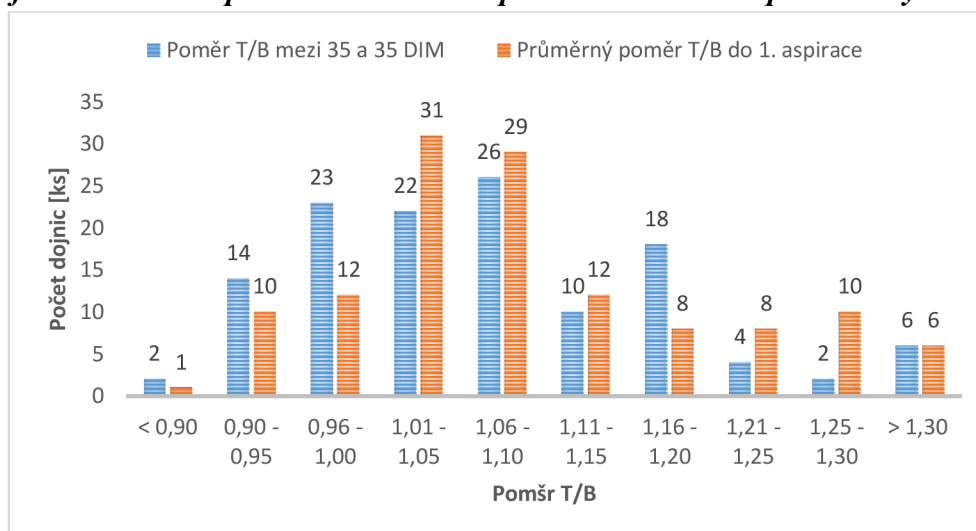
Metabolický stav byl posuzován na základě vyhodnocení průměru poměru tuku a bílkovin v mléce od otelení do 1. aspirace oocytů. Dojnice byly následně rozřazeny do 3 skupin podle poměru T/B a to: < 1; 1 až 1,15 a > 1,15 pro další statistické vyhodnocení reprodukčních ukazatelů s ohledem na metabolický stav dojníc (viz graf č. 2). Do první skupiny (T/B < 1) bylo zařazeno 21 krav, do druhé skupiny (T/B 1 – 1,15) 72 krav a ve třetí skupině (T/B > 1,15) bylo 34 krav.

**Tabulka č. 8 – Základní statistiky metabolického stavu a užtkovosti sledovaných dojnic (data z Afilab)**

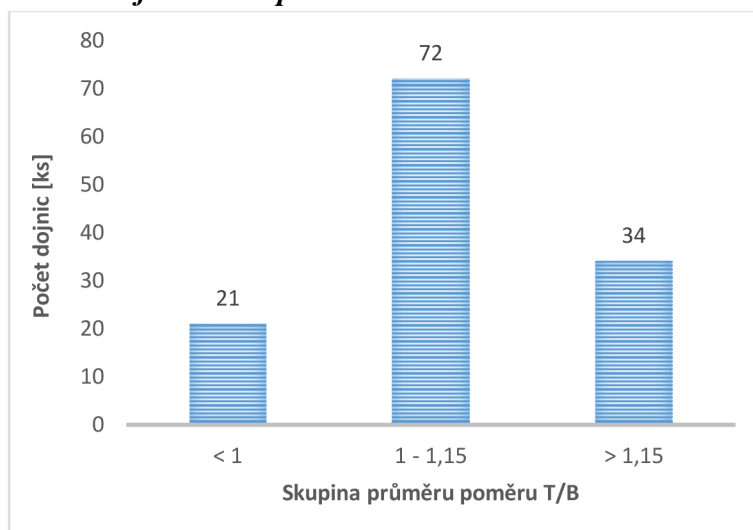
Proměnná	n	$\bar{x}$	s	min.	max.	s. e.	V [%]
<b>TB25-35</b>	127	1,08	0,13	0,88	1,63	0,01	12,47
<b>MinTB1</b>	127	0,88	0,16	0,21	1,26	0,01	18,34
<b>MaxTB1</b>	127	1,47	0,25	1,12	2,21	0,02	16,71
<b>PrůmTB1</b>	127	1,10	0,13	0,91	1,545	0,01	11,44
<b>PrůmDN1</b>	127	27,44	4,99	14,42	46,12	0,44	18,18

**Vysvětlivky:** TP25-35 = poměr tuku a bílkovin v mléce mezi 25 a 35 DIM; MinTB1 = minimální poměr tuku a bílkovin v mléce do 1. aspirace oocytů; MaxTB1 = maximální poměr tuku a bílkovin v mléce do 1. aspirace oocytů; PrůmTB1 = průměrný poměr tuku a bílkovin v mléce do 1. aspirace oocytů; PrůmDN1 = průměrný denní nádoj do 1. aspirace oocytů; n = počet případů;  $\bar{x}$  = aritmetický průměr; min = minimum; max = maximum; s = standardní odchylka; s. e. = standardní chyba aritmetického průměru; V [%] = variační koeficient.

**Graf č. 1 – Četnosti poměru T/B 25-35 a poměru T/B do 1. aspirace oocytů**



**Graf č. 2 – Počet dojnic ve skupinách dle hodnocení metabolického stavu**





### Sonografické vyšetření dojnic před aspirací oocytů

Před samotným odběrem oocytů bylo u dojnic provedeno sonografické vyšetření. Při tomto vyšetření byl opatřen popis nálezu na obou vaječnicích (přítomnost žlutého tělíska, množství a velikost folikulů, ovariální cisty). Na základě záznamu ze sonografického vyšetření bylo z aspirace oocytů 12 dojnic vyřazeno, 23 dojnic bylo aspirováno jednou a 92 dojnic bylo aspirováno dvakrát, a to s týdenním odstupem mezi jednotlivými odběry (viz graf č. 4).

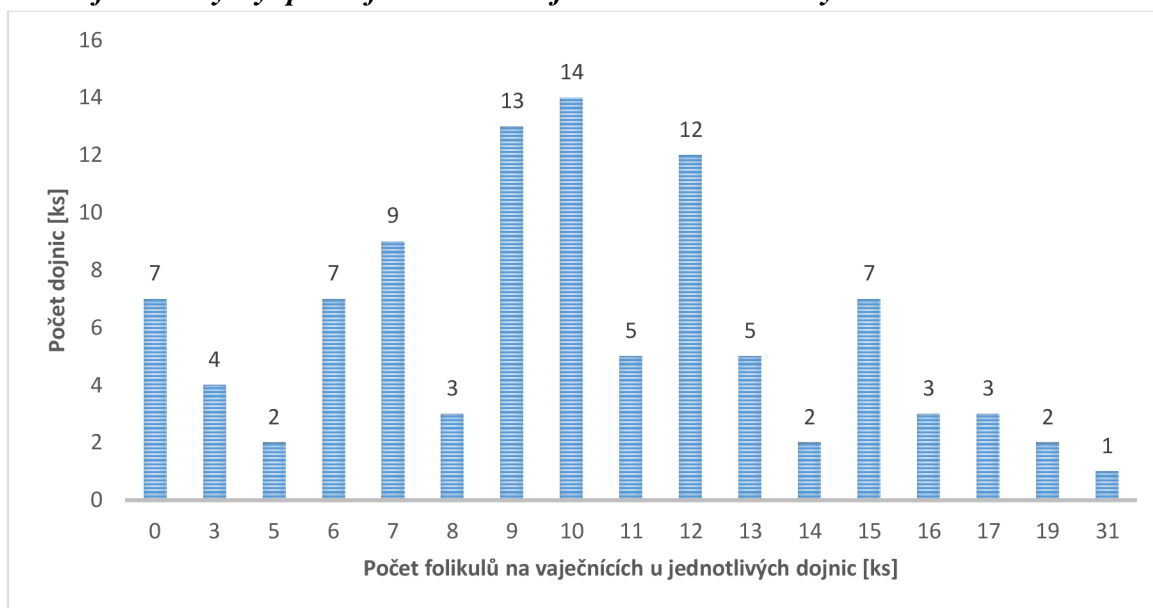
V tabulce č. 9 jsou uvedeny základní statistické charakteristiky proměnných souvisejících s odběrem oocytů u sledovaných dojnic. Z tabulky je patrné, že odběr oocytů byl proveden v rozmezí 36 až 82 dní po otelení, průměrně 60,09 DIM. Počet žlutých tělísek na vaječnicích se u dojnic pohyboval v rozmezí 0 až 3. Průměrně bylo u dojnic zjištěno 10,58 všech folikulů. Celkový počet folikulů na vaječnicích u jednotlivých dojnic je znázorněn v grafu č. 3. Nejčastěji na vaječnicích bylo lokalizováno 10 folikulů (u 14 dojnic), dále 9 folikulů (u 13 dojnic) a 12 folikulů (u 12 dojnic). Na vaječnicích se vyskytovalo v průměru více menších folikulů (8,46) než větších folikulů (2,14). V prvních odběrových obdobích nebyl zaznamenáván přesný počet folikulů a žlutých tělísek při sonografickém vyšetření, tím pádem tato data ve vyhodnocení chybí.

**Tabulka č. 9 – Základní statistiky sonografického vyšetření před aspirací oocytů**

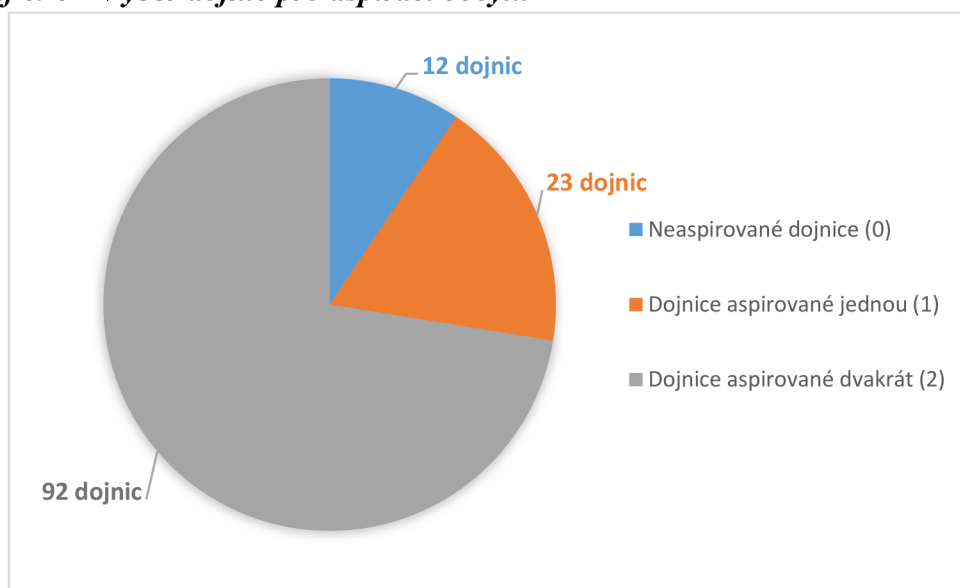
Proměnná	n	$\bar{x}$	s	min.	max.	s. e.	V [%]
<b>DIM-O</b>	127	60,09	10,08	36	82	0,89	16,77
<b>PCL</b>	119	0,90	0,62	0	3	0,06	68,52
<b>PFC</b>	92	10,58	4,19	3	31	0,44	39,60
<b>PF&lt;0,5</b>	92	8,46	4,60	0	30	0,48	54,39
<b>PF&gt;0,5</b>	92	2,14	1,99	0	12	0,21	92,78

**Vysvětlivky:** DIM-O – počet dní v laktaci v době odběru oocytů; PCL = počet žlutých tělísek; PFC = počet folikulů celkem; PF<0,5 = počet folikulů menších než 0,5 cm; PF>0,5 = počet folikulů větších než 0,5 cm; n = počet případů;  $\bar{x}$  = aritmetický průměr; min = minimum; max = maximum; s = standardní odchylka; s. e. = standardní chyba aritmetického průměru; V [%] = variační koeficient.

**Graf č. 3 – Výskyt počtu folikulů na vaječnicích u sledovaných krav**



**Graf č. 4 – Výběr dojnic pro aspiraci oocytů**



#### 4.2.2 Metodika aspirace oocytů

Dojnicím vhodným pro aspiraci oocytů byla aplikována lokální anestezie (Lidokain). Následně byly lokalizovány vaječníky per rectum. Ultrasonografická sonda zakončená odběrovou jehlou byla zavedena vaginálně. Ultrasonografická sonda byla napojena na vakuovou pumpu. Stěna pochvy byla jehlou propíchnuta, vaječník s folikuly byl vyhledán pomocí sonografie. Po zavedení jehly do vaječníku a vyhledání folikulů byly vakuově odebírány oocyty. Aspirované oocyty byly transportovány hadičkou do 50 ml plastové odběrové zkumavky, v níž bylo 10 ml média BoviPlus (OPU recovery medium, Minitube,

USA). Po dokončení aspirace byla sonda s jehlou z dojnice vyjmuta a bezprostředně potom byly hadičky vypláchnuty recovery médiem BoviPlus (OPU recovery medium, Minitube, USA) pro zabezpečení transportu aspirovaných oocytů do odběrové zkumavky. Po každém odběru byla vyměněna odběrová souprava, tj. jehla, hadička a zkumavka.

Médium s odebranými oocyty bylo odstředěno přes sítko pro izolaci oocytů a zbavení se krevních elementů. Oocyty na sítku byly propláchnuty BoviPlus médiem (OPU recovery medium, Minitube, USA). Ze sítka byly oocyty přeneseny pipetou do holding media (oocyte holding medium, TL HEPES, Minitube, Německo) pro mikroskopické pozorování při teplotě 25-30 °C. Následně byly odebrané oocyty od každé krávy spočítány pomocí stereomikroskopu. Tyto oocyty byly následně přeneseny do mikrozkuvek typu Eppendorf s holding médiem (oocyte holding medium, TL HEPES, Minitube, Německo).

Po ukončení odběru zvířat na farmě byly odebrané oocyty přemístěny do laboratoře UŽFG AV ČR (Ústav živočišné fyziologie a genetiky akademie věd České republiky, Liběchov) při teplotě přibližně 30 °C pro další vyhodnocení oocytů, které nebylo součástí této diplomové práce.

### 4.3 Sběr dat

Data o dojnicích v testu (číslo krávy, pořadí laktace, DIM, datum otelení) a o sledovaných reprodukčních parametrech (dny do první říje po otelení, dny do nástupu říje po aspiraci oocytů, počet cyklů potřebných k zabřeznutí po aspiraci oocytů, zabřeznutí, úspěšnost zabřeznutí, inseminační interval, servis perioda, inseminační index) byla zjišťována ze zootechnické dokumentace.

Data o mléku byla dostupná z každého dojení v laktaci díky "in-line real-time" analyzátoru (Afifarm verze Afilab with software Afifarm 4.1; Afimilk; Afikim; Izrael), a taktéž z kontroly užitkovosti provedené před a po aspiraci oocytů (DIM, průměrný denní nádoj, obsah tuku v mléce v kg a v %, obsah bílkovin v mléce v kg a v %, poměr tuku a bílkovin v mléce, obsah laktózy v mléce v %, počet somatických buněk v mléce a obsah močoviny v mléce).

Data ze sonografického vyšetření (počet žlutých tělísek, počet folikulů celkem, počet folikulů menších než 0,5 cm, počet folikulů větších než 0,5 cm) byla zaznamenávána přímo při vyšetření sledovaných dojnic pro oba vaječníky.

Některé dojnice byly vyřazeny z produkčního stáda v průběhu sledované laktace z různých důvodů (reprodukční, zdravotní, zootechnické apod.).

### 4.4 Statistické vyhodnocení

Pro statistické vyhodnocení výsledků byl použit program SAS 9.4 (SAS ® 9.4, 2013). Pro stanovení základních parametrů souborů byla využita procedura UNIVARIATE. Frekvence sledovaných parametrů byly vytvořeny za pomoci procedury FREQ. Pro stanovení vzájemných korelací byla využita procedura CORR. Pro vlastní vyhodnocení bylo uvažováno, že všechny proměnné mají normální rozdělení. Pro vlastní vyhodnocení efektů byla použita procedura GLM, s následným detailním vyhodnocením pomocí Tukey-Kramerova testu. Pro statistické

vyhodnocení byly v rámci hodnocení metabolického stavu využity průměrné poměry T/B od otelení do první aspirace. Tento efekt byl rozdělen do skupin < 1; 1 až 1,15 a > 1,15. Modelová rovnice pro vyhodnocení reprodukčních parametrů obsahovala efekty pořadí odběru, skupinu průměru poměrů T/B, efekt odběru a lineární regresi na DIM při odběru.

Modelová rovnice měla následující tvar:

$$y_{ijkl} = \mu + \text{PORAD}_i + skT/B_j + \text{ODBER}_k^* + b1*(DIM) + e_{ijkl}$$

kde:

- $y_{ijkl}$  = závislé proměnné (inseminační interval, servis perioda, inseminační index, první říje po otelení, úspěšnost zabřezávání z vyhledaných říjí);
- $\mu$  = průměrná hodnota závislé proměnné;
- $\text{PORAD}_i$  = fixní efekt  $i^{\text{tého}}$  pořadí odběru ( $i = 1$  – prosinec 2020,  $n = 14$ ;  $i = 2$  – prosinec 2020,  $n = 14$ ;  $i = 3$  – květen 2021,  $n = 17$ ;  $i = 4$  – květen 2021,  $n = 18$ ;  $i = 5$  – listopad 2021,  $n = 6$ ;  $i = 6$  – listopad 2021,  $n = 6$ ;  $i = 7$  – duben 2022,  $n = 6$ ;  $i = 8$  – květen 2022,  $n = 6$ ;  $i = 9$  – říjen 2022,  $n = 20$ ;  $i = 10$  – říjen 2022,  $n = 20$ );
- $skT/B_j$  = fixní efekt  $j^{\text{tá}}$  skupiny průměrného poměru T/B v mléce od otelení
- $\text{ODBER}_k^*$  = fixní efekt  $k^{\text{tého}}$  počtu aspirací jednotlivých dojnic ( $k = 0$ ,  $n = 12$ ;  $k = 1$ ,  $n = 23$ ;  $k = 2$ ,  $n = 92$ );
- $b1*(DIM)$  = lineární regrese na dny v laktaci při aspiraci oocytů;
- $e_{ijkl}$  = náhodná chyba.

Pro stanovení průkaznosti byly využity následující úrovně:  $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ;  $P < 0,001$ .

## 5 Výsledky

### 5.1 Základní statistiky reprodukčních ukazatelů

V tabulce č. 10 jsou uvedeny parametry reprodukce vycházející z dat od dojníc zařazených do experimentu.

První říje po otelení byla u dojníc pozorována v rozpětí od 26 do 123 dnů po otelení, průměrně 67,80 dní po otelení. Po aspiraci oocytů byla říje pozorována průměrně za 25,66 dní.

Délka inseminačního intervalu se pohybovala v rozmezí 57 až 131 dní, průměrná hodnota byla 86,73 dní. Délka servis periody nabývala rozpětí 57 až 287 dní, průměrně 128,13 dní.

Hodnota inseminačního indexu byla v průměru 1,88, přičemž počet inseminací potřebných k zabřeznutí plemenic se pohyboval od 1 do 4. Některé dojnice po aspiraci oocytů nezabřezly (PCkZpO = 0), ostatní dojnice zabřezly po 1 až 5 cyklech. Úspěšnost zabřeznutí byla vypočítána jako procentní podíl potřebných inseminací k zabřeznutým plemenicím a v průměru bylo dosaženo hodnoty 60,26 %.

*Tabulka č. 10 – Základní statistiky reprodukčních ukazatelů*

Proměnná	n	$\bar{x}$	s	min.	max.	s. e.	V [%]
PŘpOt	125	67,80	24,61	26	123	2,20	36,29
DdŘpO	109	25,66	15,71	0	57	1,51	61,24
InsInt	105	86,73	18,91	57	131	1,85	21,81
SP	97	128,13	55,46	57	287	5,63	43,28
PCkZpO	109	1,72	1,19	0	5	0,11	69,19
InsInd	97	1,88	1,02	1	4	0,10	54,54
ÚspZabř	97	60,26	29,40	20	100	2,99	48,79

**Vysvětlivky:** PŘpOt = dny do první říje po otelení; DdŘpO = dny do nástupu říje po odběru oocytů; InsInt = inseminační interval; SP = servis perioda; PCkZpO = počet cyklů k zabřeznutí po odběru oocytů; InsInd = inseminační index; ÚspZabř = úspěšnost zabřeznutí; n = počet případů;  $\bar{x}$  = aritmetický průměr; min = minimum; max = maximum; s = standardní odchylka; s. e. = standardní chyba aritmetického průměru; V [%] = variační koeficient.

## 5.2 Korelace mezi hodnocenými parametry

V tabulce č. 11 jsou znázorněny korelace pro hodnoty pořadí odběrového období, průměru poměru T/B v mléce, DIM při aspiraci oocytů a počtu odběrů oocytů k hodnoceným reprodukčním ukazatelům.

Byla zjištěna středně silná korelace mezi délkou inseminačního intervalu a počtem dní v laktaci při aspiraci oocytů ( $r = 0,34$ ;  $P < 0,001$ ). Nebyly zjištěny statisticky průkazné korelace mezi délkou inseminačního intervalu a pořadím odběrového období, průměrným poměrem tuku a bílkovin v mléce a počtem aspirací oocytů.

Byla zjištěna středně silná záporná korelace mezi délkou servis periody a pořadím odběrového období ( $r = -0,28$ ;  $P < 0,01$ ). Středně silná korelace byla zjištěna rovněž pro délku servis periody a počtem aspirací oocytů ( $r = 0,22$ ;  $P < 0,05$ ). Mezi délkou servis periody a průměrným poměrem tuku a bílkovin v mléce, počtu dní v laktaci v době aspirace oocytů a počtem aspirací oocytů nebyla zjištěna statisticky průkazná korelace.

Hodnota inseminačního indexu statisticky průkazně nekorelovala se žádným ze sledovaných parametrů (pořadí odběrového období, průměrný poměr tuku a bílkovin v mléce, dny v laktaci v době aspirace oocytů, počet aspirací oocytů).

Počet dní do první říje po otelení středně silně záporně koreloval s pořadím odběrového období ( $r = -0,25$ ;  $P < 0,01$ ). Statisticky průkazná korelace byla zjištěna rovněž s počtem dní v laktaci v době aspirace oocytů ( $r = 0,20$ ;  $P < 0,05$ ). Statisticky průkazné korelace pro počet dní do první říje po otelení a hodnoty průměru poměru tuku a bílkovin v mléce a počtu aspirací oocytů nebyly zjištěny.

Úspěšnost zabřezávání středně silně negativně korelovala s pořadím odběrového období ( $r = -0,27$ ;  $P < 0,01$ ). Nebyly zjištěny statisticky průkazné korelace mezi úspěšností zabřezávání a hodnotami průměru poměru tuku a bílkovin v mléce, počtu dní v laktaci v době aspirace oocytů a počtem aspirací oocytů.

*Tabulka č. 11 – Hodnoty korelací a průkazností mezi vybranými sledovanými parametry*

		PořOdb	PrůmT/B	DIM-O	Odběr
<b>PŘpOt</b>	r	<b>- 0,25</b>	0,11	<b>0,20</b>	- 0,17
	P	<b>&lt; 0,01</b>	0,261	<b>&lt; 0,05</b>	0,090
	n	<b>107</b>	107	<b>107</b>	107
<b>InsInt</b>	r	- 0,14	- 0,06	<b>0,34</b>	0,18
	P	0,163	0,547	<b>&lt; 0,001</b>	0,066
	n	105	105	<b>105</b>	105
<b>SP</b>	r	<b>- 0,28</b>	0,07	0,12	<b>0,22</b>
	P	<b>&lt;0,01</b>	0,507	0,249	<b>&lt; 0,05</b>
	n	<b>97</b>	97	97	<b>97</b>
<b>InsInd</b>	r	- 0,19	0,09	- 0,04	0,04
	P	0,070	0,358	0,722	0,690
	n	97	97	97	97
<b>ÚspZabř</b>	r	<b>- 0,27</b>	- 0,10	0,17	- 0,10
	P	<b>&lt; 0,01</b>	0,354	0,089	0,338
	n	<b>97</b>	97	97	97

**Vysvětlivky:** PŘpOt = první říje po otelení; InsInt = inseminační interval; SP = servis perioda; InsInd = inseminační index; ÚspZabř = úspěšnost zabřezávání z vyhledaných říjí; PořOdb = pořadí odběrového období; PrůmT/B = průměrný poměr tuku a bílkovin v mléce; DIM-O = počet dní v laktaci v době aspirace oocytů; Odběr = počet odběrů (0; 1; 2); r = korelační koeficient; P = průkaznost korelace; n = počet případů.

### 5.3 Hodnocení modelové rovnice

Při vyhodnocení byla použita modelová rovnice, která byla průkazná pro všechny efekty a koeficient determinace nabýval hodnot od 0,243 do 0,448 (viz tabulka č. 12). Byl posuzován vliv pořadí odběrového období, skupiny průměru poměru tuku a bílkovin, DIM při aspiraci oocytů a počet uskutečněných odběrů oocytů na dobu do první říje po otelení, inseminační interval, servis periodu, inseminační index a úspěšnost zabřezávání.

Pořadí odběrového období mělo průkazný vliv na délku servis periody ( $P < 0,01$ ) a na dobu do první říje po otelení ( $P < 0,05$ ). Nebyla zjištěna statisticky průkazná závislost pořadí odběrového období na hodnoty inseminačního intervalu, inseminačního indexu nebo úspěšnosti zabřezávání.

Skupina průměru poměru T/B ( $<1$ ; 1 až 1,15;  $>1$ ) měla průkazný vliv na délku servis periody ( $P < 0,001$ ), hodnoty inseminačního indexu ( $P < 0,001$ ) a úspěšnost zabřezávání ( $P < 0,001$ ). Nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv metabolického stavu hodnoceného dle poměru tuku a bílkovin na délku inseminačního intervalu a doby do první říje po otelení.

Statisticky průkazný vliv DIM při odběru byl zjištěn u hodnot inseminačního intervalu ( $P < 0,05$ ) a doby do první říje po otelení ( $P < 0,001$ ). Naopak pro délku servis periody, hodnotu

inseminačního indexu a úspěšnosti zabřezávání nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv pro efekt DIM při aspiraci oocytů.

Délka inseminačního intervalu a délka servis periody byla prokazatelně ovlivněna ( $P < 0,01$ ) efektem aspirace oocytů (skupiny 0; 1 a 2). Pro parametry inseminačního indexu, prvního cyklu po otelení a úspěšnosti zabřezávání nebyl zjištěn statisticky významný vliv aspirace oocytů.

**Tabulka č. 12 – Hodnocení modelové rovnice**

	Model		Pořadí odběru		Skupina průměru poměru T/B		DIM při odběru		Odběr	
	R <sup>2</sup>	P	F	P	F	P	F	P	F	P
<b>PŘpOt</b>	0,243	<b>&lt;0,001</b>	2,56	<b>&lt;0,05</b>	1,35	0,264	14,4	<b>&lt;0,001</b>	0,65	0,522
<b>InsInt</b>	0,306	<b>&lt;0,01</b>	0,91	0,517	0,84	0,433	9,88	<b>&lt;0,01</b>	7,21	<b>&lt;0,01</b>
<b>SP</b>	0,448	<b>&lt;0,001</b>	2,91	<b>&lt;0,01</b>	10,08	<b>&lt;0,001</b>	0,92	0,341	6,65	<b>&lt;0,01</b>
<b>InsInd</b>	0,356	<b>&lt;0,001</b>	1,48	0,169	11,85	<b>&lt;0,001</b>	1,08	0,302	0,36	0,697
<b>ÚspZabř</b>	0,329	<b>&lt;0,01</b>	1,36	0,219	9,7	<b>&lt;0,001</b>	2,77	0,1	1,3	0,277

**Vysvětlivky:** PŘpOt = první říje po otelení; InsInt = inseminační interval; SP = servis perioda; InsInd = inseminační index; ÚspZabř = úspěšnost zabřezávání; R<sup>2</sup> = koeficient determinace; P = hladina významnosti.

#### 5.4 Vliv metabolického stavu na reprodukční ukazatele

Pomocí GLM procedury byl hodnocen vliv metabolického stavu na reprodukční ukazatele – dny do první říje po otelení, inseminační interval, servis periodu, inseminační index a úspěšnost zabřezávání (viz tabulka č. 13). Průměrný počet dní v laktaci v době aspirace oocytů u jednotlivých skupin dle poměru T/B je znázorněn v grafu č. 5. Skupina T/B < 1 byla průměrně aspirována v 61,90 DIM, skupina T/B 1 – 1,15 v 56,55 DIM a skupina T/B > 1,15 v 57,44 DIM.

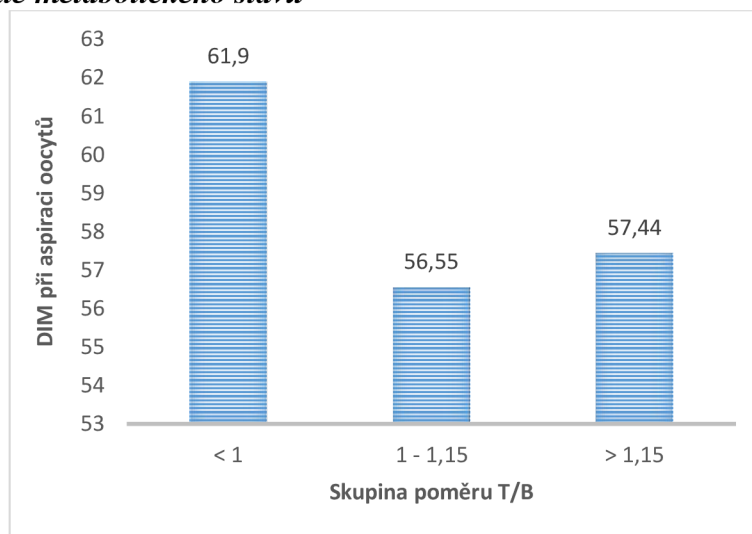
**Tabulka č. 13 – Hodnocení vlivu metabolického stavu na reprodukční ukazatele**

Efekt	Skupina	PŘpOt	InsInt	SP	InsInd	ÚspZabř
		LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM
<b>Průměrný poměr T/B v mléce</b>	<b>&lt; 1</b>	70,33 ± 6,53	86,19 ± 6,00	142,68 ± 16,29 <sup>a</sup>	2,35 ± 0,36 <sup>a</sup>	46,47 ± 9,53 <sup>a</sup>
	<b>1 – 1,15</b>	68,07 ± 4,03	78,97 ± 3,34	104,33 ± 8,81 <sup>A,b</sup>	1,59 ± 0,18 <sup>A,b</sup>	69,94 ± 5,1 <sup>A,b</sup>
	<b>&gt; 1,15</b>	76,46 ± 5,37	81,21 ± 4,38	155,36 ± 12,34 <sup>B</sup>	2,71 ± 0,25 <sup>B</sup>	41,18 ± 7,22 <sup>B</sup>

**Vysvětlivky:** PCpOt = první říje po otelení; InsInt = inseminační interval; SP = servis perioda; InsInd = inseminační index; ÚspZabř = úspěšnost zabřeznutí z vyhledaných říjí; LSM = průměr opravený o metodu nejmenších čtverců; SELSM = standardní chyba průměru opraveného o metodu nejmenších čtverců; různá písmena ve sloupcích značí statistickou průkaznost A-B =  $P < 0,01$ ; a-b =  $P < 0,05$ ).



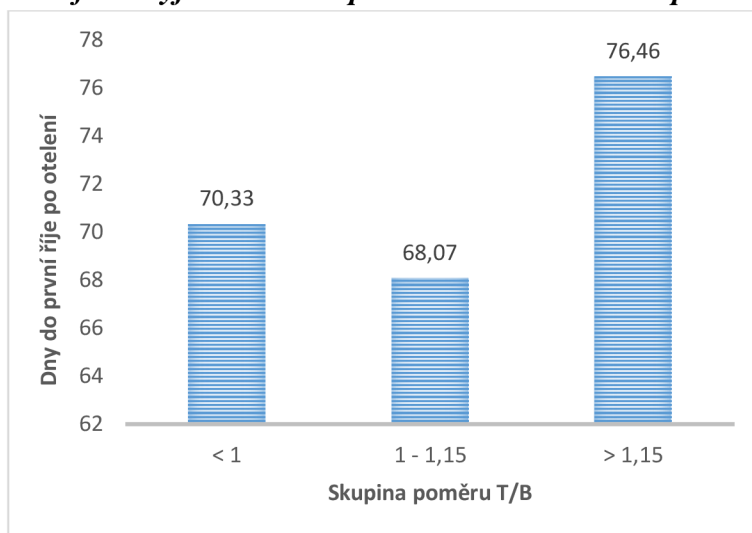
**Graf č. 5 – Grafické vyjádření průměrného DIM v době odběru oocytů u skupin dojnic rozdělených dle metabolického stavu**



#### **První říje po otelení dle skupiny poměru T/B**

Dny do první říje po otelení nebyly statisticky průkazně rozdílné mezi jednotlivými hodnocenými skupinami dojnic (viz tabulka č. 13), avšak u skupin s nižším (<1) nebo vyšším (>1,15) poměrem tuku a bílkovin v mléce je tendence k prodloužení doby do nástupu první říje po otelení (viz graf č. 6).

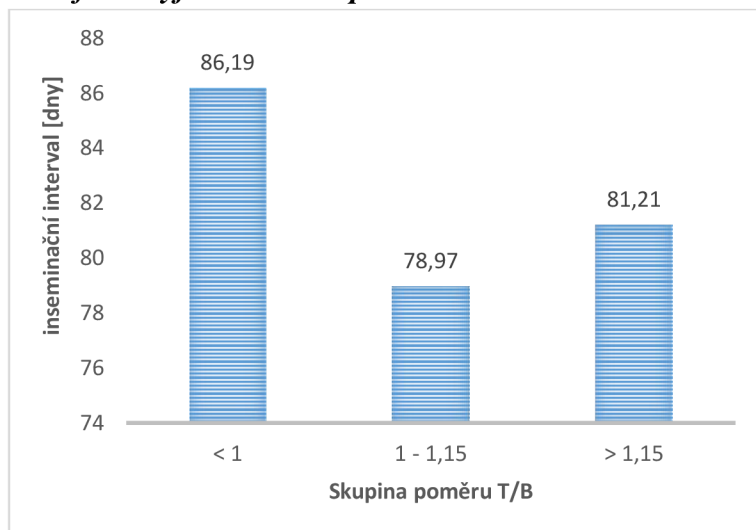
**Graf č. 6 – Grafické vyjádření vlivu poměru T/B na dobu do první říje po otelení**



### Inseminační interval dle skupiny poměru T/B

Z grafu č. 7 je patrné, že u skupiny se střední hodnotou průměru T/B je inseminační interval nejkratší, avšak hodnoty inseminačního intervalu se statisticky významně nelišily mezi jednotlivými skupinami (viz tabulka č. 13).

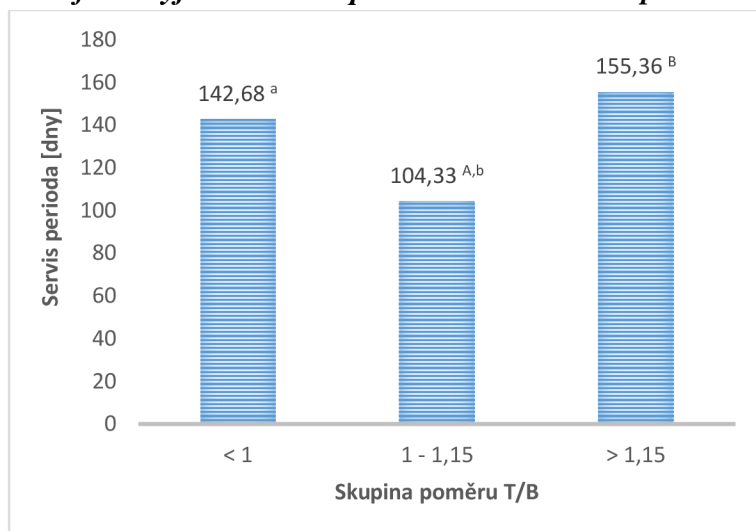
**Graf č. 7 – Grafické vyjádření vlivu poměru T/B na inseminační interval**



### Servis perioda dle skupiny poměru T/B

Délka servis periody byla statisticky průkazně kratší u skupiny krav v optimálním metabolickém stavu oproti skupině s nízkým poměrem T/B ( $P < 0,05$ ) i oproti skupině s vyšším poměrem T/B ( $P < 0,01$ ). Hodnoty délky servis periody se statisticky průkazně nelišily u skupin s nízkým a vysokým poměrem T/B (viz tabulka č. 13, graf č. 8).

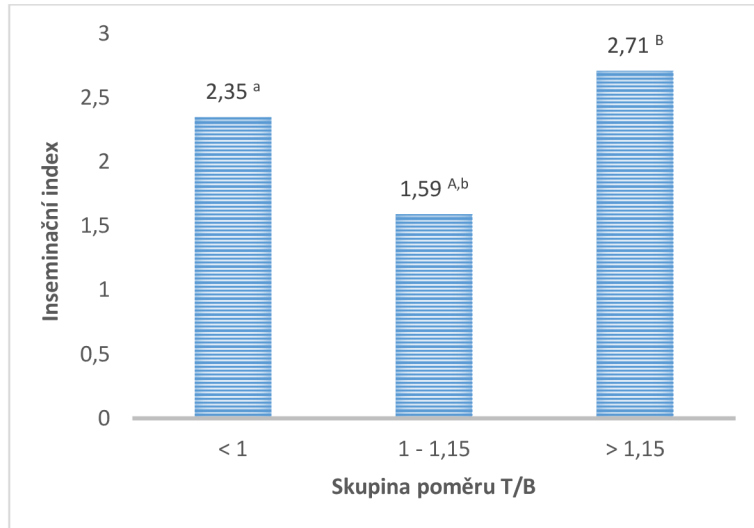
**Graf č. 8 – Grafické vyjádření vlivu poměru T/B na servis periodu**



### Inseminační index dle skupiny poměru T/B

Hodnota inseminačního indexu byla statisticky průkazně kratší u skupiny krav v optimálním metabolickém stavu oproti skupině s nízkým poměrem T/B ( $P < 0,05$ ) i oproti skupině s vyšším poměrem T/B ( $P < 0,01$ ). Hodnoty inseminačního indexu se statisticky průkazně nelišily u skupin s nízkým a vysokým poměrem T/B (viz tabulka č. 13, graf č. 9).

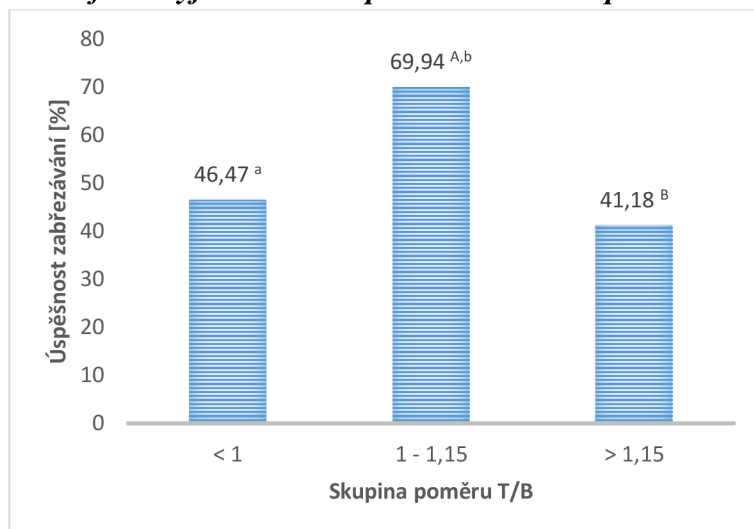
**Graf č. 9 – Grafické vyjádření vlivu poměru T/B na inseminační index**



### Úspěšnost zabřezávání dle skupiny poměru T/B

Úspěšnost zabřezávání byla statisticky průkazně kratší u skupiny krav v průměrném metabolickém stavu oproti skupině s nízkým poměrem T/B ( $P < 0,05$ ) i oproti skupině s vyšším poměrem T/B ( $P < 0,01$ ). Úspěšnost zabřezávání se statisticky průkazně nelišila u skupin s nízkým a vysokým poměrem T/B (viz tabulka č. 13, graf č. 10).

**Graf č. 10 – Grafické vyjádření vlivu poměru T/B na úspěšnost zabřezávání**



## 5.5 Vliv aspirace oocytů na reprodukční ukazatele

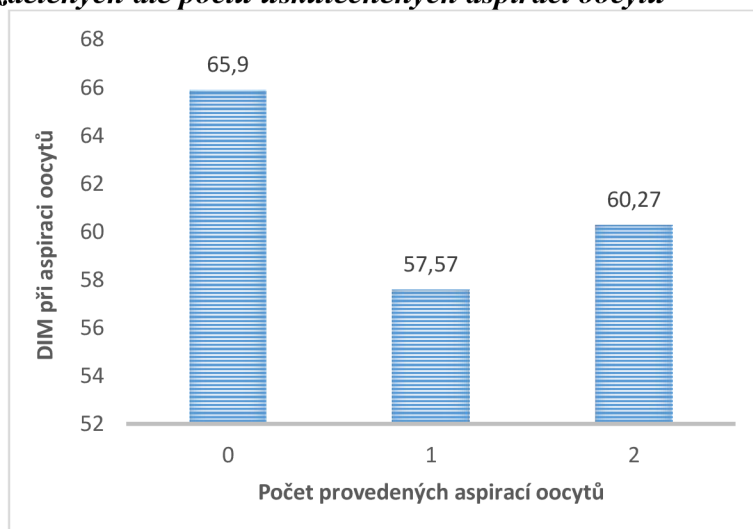
Pomocí GLM procedury byl hodnocen vliv počtu aspirací oocytů dle skupin (0; 1; 2) na hodnoty inseminačního intervalu, servis periody, inseminačního indexu, prvního cyklu po otelení a úspěšnosti zabřezávání (viz tabulka č. 14). Průměrný počet dní v laktaci v době aspirace oocytů u jednotlivých skupin dle počtu uskutečněných odběrů je znázorněn v grafu č. 11. Dojnice, které byly z aspirace vyřazeny (skupina 0) by byly aspirovány v průměru v 65,9 DIM. Skupina dojnic aspirovaná jednou byla aspirována průměrně v 57,57 DIM a skupina dojnic aspirovaných dvakrát byla aspirována průměrně v 60,27 DIM.

**Tabulka č. 14 – Hodnocení vlivu aspirace oocytů na reprodukční ukazatele**

Efekt	Skupina	PŘpOt	InsInt	SP	InsInd	ÚspZabř
		LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM	LSM ± SELSM
Aspirace oocytů	0	66,23 ± 7,67	67,98 ± 6,12 <sup>A,a</sup>	99,02 ± 16,50 <sup>A,a</sup>	2,37 ± 0,33	43,33 ± 9,65
	1	75,55 ± 6,99	87,50 ± 6,15 <sup>b</sup>	160,58 ± 16,96 <sup>B</sup>	2,22 ± 0,34	59,04 ± 9,92
	2	73,07 ± 2,89	90,89 ± 2,54 <sup>B</sup>	142,77 ± 6,83 <sup>b</sup>	2,06 ± 0,14	55,23 ± 3,99

**Vysvětlivky:** PŘpOt = první říje po otelení; InsInt = inseminační interval; SP = servis perioda; InsInd = inseminační index; ÚspZabř = úspěšnost zabřeznutí z vyhledaných říjí; LSM = průměr opravený o metodu nejmenších čtverců; SELSM = standardní chyba průměru opraveného o metodu nejmenších čtverců; různá písmena ve sloupcích značí statistickou průkaznost A-B = P < 0,01; a-b = P < 0,05).

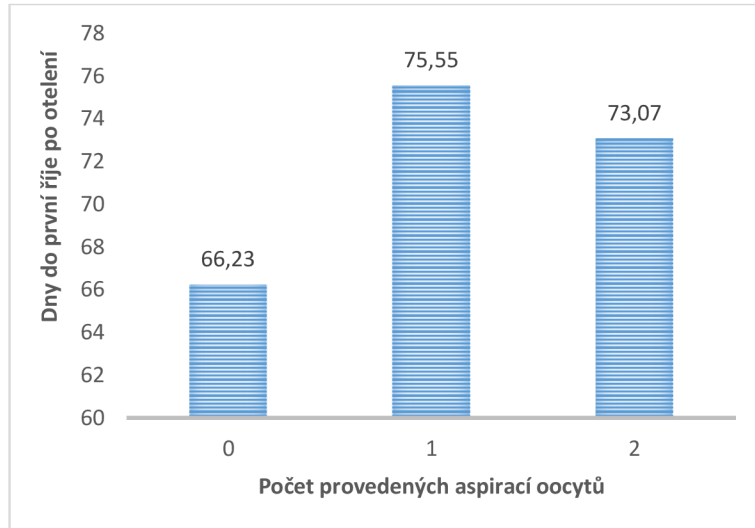
**Graf č. 11 – Grafické vyjádření průměrného DIM v době odběru oocytů u skupin dojnic rozdělených dle počtu uskutečněných aspirací oocytů**



### První říje po otelení dle počtu uskutečněných aspirací oocytů

Nebyly zjištěny žádné statisticky průkazné rozdíly mezi hodnocenými skupinami pro dobu do nástupu první říje po otelení (viz tabulka č. 14, graf č. 12).

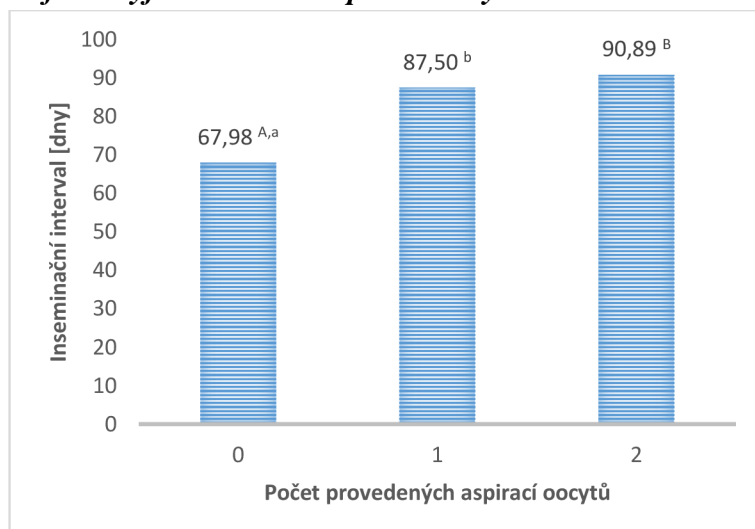
**Graf. č. 12 – Grafické vyjádření vlivu aspirace oocytů na dobu první říje po otelení**



### Inseminační interval dle počtu uskutečněných aspirací oocytů

Inseminační interval byl nejkratší u skupiny krav, které nebyly aspirovány vůbec, a s rostoucím počtem aspirací se prodlužoval. Rozdíl délky inseminačního intervalu mezi skupinou krav, která nebyla aspirována a skupinou krav, které byly aspirovány jednou, byl statisticky průkazný s hladinou významnosti ( $P < 0,05$ ) a skupinou, která byla aspirována dvakrát ( $P < 0,01$ ). Mezi skupinami aspirovaných jednou a dvakrát nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v délce inseminačního intervalu (viz tabulka č. 14, graf č. 13).

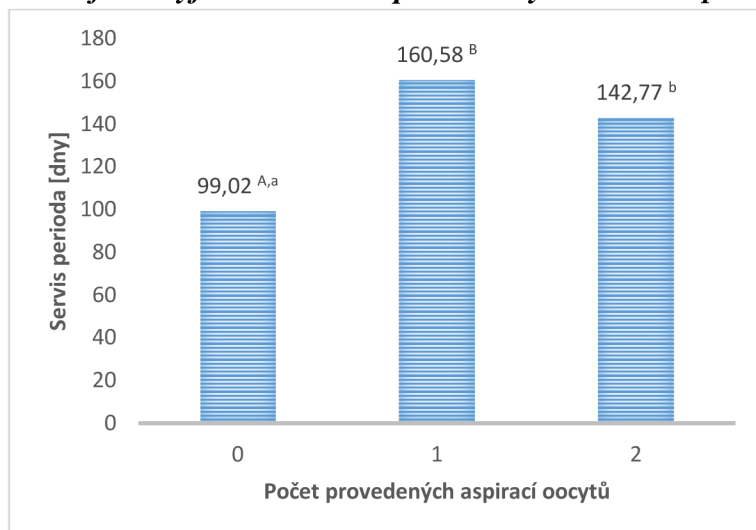
**Graf. č. 13 – Grafické vyjádření vlivu aspirace oocytů na inseminační interval**



### Servis perioda dle počtu uskutečněných aspirací oocytů

Délka servis periody byla rovněž nejkratší u skupiny krav, které nebyly aspirovány vůbec. Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi skupinou neaspirovaných dojnic a aspirovaných jednou s hladinou významnosti ( $P < 0,01$ ) a skupinou aspirovaných dvakrát ( $P < 0,05$ ). Délka servis periody byla tendenčně vyšší u dojnic aspirovaných jednou oproti dojnicím aspirovaným dvakrát, avšak nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv mezi těmito skupinami (viz tabulka č. 14, graf č. 14).

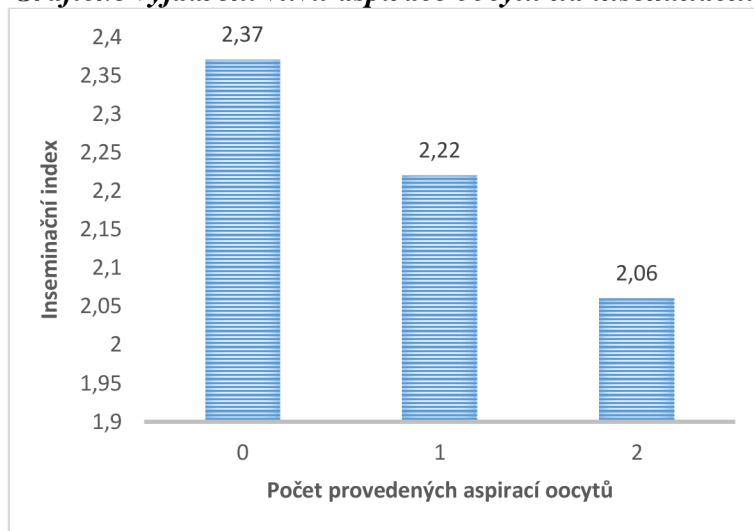
**Graf č. 14 – Grafické vyjádření vlivu aspirace oocytů na servis periodu**



### Inseminační index dle počtu uskutečněných aspirací oocytů

Nebyly zjištěny žádné statisticky průkazné rozdíly mezi hodnocenými skupinami pro dobu do nástupu první říje po otelení (viz tabulka č. 14), avšak z grafu č. 15 lze vysledovat, že tendenčně nejvyšší hodnoty inseminačního indexu byly u skupiny krav, u kterých aspirace oocytů neproběhla, a naopak nejnižší hodnoty měly krávy aspirované dvakrát.

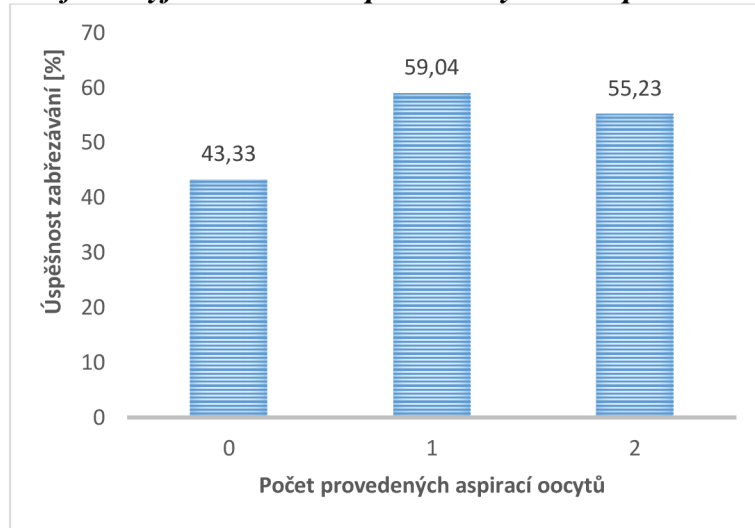
**Graf č. 15 – Grafické vyjádření vlivu aspirace oocytů na inseminační index**



### Úspěšnost zabřezávání dle počtu uskutečněných aspirací oocytů

Z grafu č. 16 je patrné, že nejnižší úspěšnost zabřezávání byla u skupiny krav, které nebyly aspirovány vůbec a nejvyšší u skupiny krav aspirovaných jednou. Nebyly však zjištěny žádné statisticky průkazné rozdíly mezi hodnocenými skupinami pro dobu do nástupu první říje po otelení (viz tabulka č. 14).

**Graf č. 16 – Grafické vyjádření vlivu aspirace oocytů na úspěšnost zabřezávání**



## 6 Diskuze

### 6.1 Hodnocení reprodukčních ukazatelů všech sledovaných dojnic

Následující parametry se vztahují k průměru hodnot všech sledovaných dojnic.

První říje byla u dojnic sledována průměrně 67,80 dní po otelení. Opsomer et al. (2000) uvádějí, že k první ovulaci po otelení dochází nejčastěji do 40. dne DIM, avšak výsledky studie Borchardt et al. (2021) ukazují, že v tomto období nebyla říje zaznamenána u více než 50 % krav. Hofírek et al. (2009) zmiňují, že u vysokoužitkových krav často dochází k oddálení plnohodnotné říje po porodu vlivem výraznější NEB po porodu. Právě v tomto důsledku byla pravděpodobně u sledovaných dojnic zaznamenána říje v delším časovém úseku po otelení.

Galli et al. (2001) uvádějí, že technika OPU nemá žádné vedlejší účinky ani v případě, že odběry oocytů jsou prováděny dvakrát týdně po dobu více než jednoho roku, pouze v některých případech může dojít vlivem opakovaných odběrů k mírnému zatvrdnutí povrchu vaječnicků. Dále ve své studii sdělují, že téměř u všech dárkyň nastupuje pohlavní cyklus do dvou týdnů po poslední aspiraci, a tedy je možné je úspěšně inseminovat. Výsledky této diplomové práce však ukazují, že nástup říje u krav po aspiraci oocytů byl v průměru za 25,66 dní, což tomuto tvrzení neodpovídá.

Průměrně sledované dojnice zabřezly po 1,72 cyklech, přičemž úspěšnost zabřezávání z vyhledaných říjí byla 60,26 %. Hodnota inseminačního intervalu byla v průměru 1,88, což lze dle Boušky et al. (2006) označit za vyhovující.

Průměrná délka inseminačního intervalu byla u všech sledovaných dojnic 86,73 dní, servis periody pak v průměru 128,13 dní. Dle Hofírka et al. (2009) by délka inseminačního intervalu měla být do 80 dní, délka servis periody maximálně 120 dní. Vyšší hodnoty těchto reprodukčních ukazatelů u sledovaných dojnic byly pravděpodobně zapříčiněny provedenou aspirací oocytů v první fázi laktace.

### 6.2 Vliv metabolického stavu na reprodukční ukazatele po aspiraci oocytů

#### Pohlavní cyklus

V rámci této diplomové práce byla u sledovaných dojnic první říje po otelení zaznamenána nejdříve u krav s průměrným poměrem T/B 1 – 1,15 (68,07 dní), nejpozději u krav s průměrným poměrem T/B > 1,15 (76,46 dní). Přestože rozdíly mezi jednotlivými skupinami nebyly statisticky průkazné, je možné z těchto dat vysledovat určitý trend rychlejší obnovy reprodukčních funkcí po otelení u krav s průměrným metabolickým stavem.

#### Inseminační interval a servis perioda

Výsledky této diplomové práce neprokázaly statisticky významný rozdíl v délce inseminačního intervalu mezi skupinami dojnic v různém metabolickém stavu. Přesto je zde



možné pozorovat, že v průměru nejkratšího inseminačního intervalu dosahovaly krávy, které měly průměrné hodnoty poměru T/B oproti skupinám s nižším nebo vyšším poměrem T/B.

Avšak rozdíly v délce servis periody u skupiny s T/B 1 – 1,15 byly statisticky významné v porovnání s ostatními skupinami, a z výsledků tedy vyplývá, že právě tato skupina dojnic dosahovala nejlepších výsledků – tedy nejkratší servis periody. Jak již bylo řečeno, dle Hofírka et al. (2009) by se délka servis periody měla pohybovat do 120 dní, čehož bylo dosaženo pouze u skupiny T/B 1 – 1,15 (104,33 dní). Skupina s nižším poměrem T/B zabřezla průměrně 142,68 dní po otelení, skupina dojnic s vyšším poměrem T/B dokonce v průměru až po 155,36 dnech.

Z výsledků Boumara et al. (2022) vyplývá, že délka inseminačního intervalu i délka servis periody silně korelovala s poměrem tuku a bílkovin v mléce mezi 15 a 30 DIM, rovněž ve 45 až 60 DIM, avšak mezi 75 a 90 DIM již žádné průkazné korelace zjištěny nebyly.

### **Inseminační index a úspěšnost zabřezávání**

Hodnoty inseminačního indexu se mezi skupinami sledovaných dojnic statisticky průkazně lišily. Obdobně jako u dalších reprodukčních ukazatelů, nejlepších výsledků dosahovala skupina dojnic s průměrným poměrem T/B 1 – 1,15 (1,59). Dle Loudy et al. (2008) hodnoty inseminačního indexu do 1,6 značí dobrou plodnost. Hofírek et al. (2009) uvádějí, že inseminační index by neměl přesahovat hodnotu 2,2, avšak skupiny dojnic s poměrem T/B < 1 i > 1,15 tuto hodnotu převyšovaly.

Naproti tomu výsledky studie Boumara et al. (2022) ukazují, že hodnoty inseminačního indexu nekorelovaly s poměrem tuku a bílkovin v mléce.

Boumara et al. (2022) dále uvádějí, že úspěšnost zabřezávání po první inseminaci korelovala s poměrem T/B v mléce v prvních 60 dnech laktace. Naopak Saranjam et al. (2020) nezjistili ve své studii žádnou korelaci mezi poměrem tuku a bílkovin v mléce a výsledky zabřezávání po první inseminaci.

Dle výsledků této diplomové práce byla úspěšnost zabřezávání rovněž statisticky průkazně nejvyšší u skupiny poměru T/B 1 – 1,15 (69,94 %) ve srovnání s ostatními skupinami dojnic (< 1 = 46,47 %; > 1,15 = 41,18 %). Na základě výsledků těchto ukazatelů u sledovaných dojnic je možné konstatovat, že reprodukční úspěšnost krav s nízkým (< 1) nebo vysokým (> 1,15) je statisticky průkazně nižší ve srovnání s kravami s průměrným poměrem T/B (1 – 1,15).

## **6.3 Vliv aspirace oocytů na reprodukční ukazatele po provedené aspiraci**

### **Pohlavní cyklus**

Stubbings & Walton (1995) se ve své studii zabývali vlivem aspirace oocytů na estrální cyklus u holštýnských plemenic a zjistili, že délka pohlavního cyklu byla signifikantně delší, pokud byla provedena aspirace oocytů (25 dní) ve srovnání s délkou pohlavního cyklu bez aspirace (21,1 dní).

Klossok et al. (1997) ve své studii zjistili, že většina krav, které byly zapojeny do osmítýdenního programu OPU s aspirací jednou týdně, vykazovaly říji v průběhu

sledovaného období. Avšak z výsledků vyplývá, že OPU je možnou příčinou nepravidelných cyklů, vzhledem k tomu, že 62,5 % krav vykazovalo říji v nepravidelných intervalech a pouze 29,2 % krav mělo pravidelnou říji. U 8,2 % plemenic nebyla říje v průběhu experimentu pozorována vůbec. Naproti tomu Pieterse et al. (1991) uvádějí, že aspiraci oocytů je možné provádět opakovaně, aniž by byla negativně ovlivněna následná plodnost dárkyň. Na základě průměrné délky estrálního cyklu po OPU, dle výsledků této studie, nebyla cykličnost dárkyň po OPU ovlivněna.

Výsledky této diplomové práce ukazují, že průměrně byla první říje po otelení pozorována u obou skupin aspirovaných dojnic až po provedené aspiraci (sk. 1, průměrný DIM při aspiraci 57,57, první říje byla pozorována 75,55 dní po otelení; sk. 2, průměrný DIM při aspiraci 60,27, první říje 73,07 dní po otelení). Rovněž u skupiny dojnic, které byly z aspirace oocytů vyřazeny, byla říje v průměru pozorována později, než byla plánována aspirace (sk. 0, DIM v době plánované aspirace 65,9; první říje byla pozorována 66,23 dní po otelení).

### **Inseminační interval a servis perioda**

Inseminační interval byl statisticky průkazně nejkratší u skupiny dojnic, u kterých nebyla provedena aspirace oocytů (průměrně 67,98 dní) a téměř se shoduje s dobou první říje po otelení (66,23 dní). Naproti tomu u krav, které byly aspirovány jednou nebo dvakrát, byl rozdíl mezi průměrnými hodnotami doby první říje po otelení a inseminačního intervalu vyšší.

Dle Hofírka et al. (2009) by se rozdíl mezi inseminačním intervalem a servis periodou měl pohybovat maximálně v délce dvou pohlavních cyklů, tedy přibližně do 40 dnů. U krav, které nebyly aspirovány vůbec byl rozdíl tento rozdíl v průměru 31,04 dní (inseminační interval 67,98 dní; SP 99,02 dní). U krav, které byly aspirovány jednou byl rozdíl průměrně 73,08 dní (inseminační interval 87,50 dní; SP 160,58 dní). U krav aspirovaných dvakrát rozdíl činil 51,88 dní (inseminační interval 90,89 dní; SP 142,77 dní). Z výsledků této diplomové práce je patrné, že oba tyto ukazatele byly statisticky průkazně vyšší u obou skupin aspirovaných krav oproti skupině krav, které nebyly aspirovány. Lze tedy konstatovat, že aspirace oocytů v první fázi laktace prokazatelně prodlužuje inseminační interval a servis periodu.

### **Inseminační index a úspěšnost zabřezávání**

V rámci studie Lacaze et al. (1997) byla prováděna aspirace oocytů u 2 jalovic a 2 krav přibližně po dobu 10 týdnů. Následně byly plemence uměle inseminovány, tři z nich zabřezly do dvou měsíců po ukončení aspiračního programu.

Klossok et al. (1997) uvádí, že plemence, u kterých probíhá opakovaná aspirace oocytů, je možné současně úspěšně inseminovat, přestože úroveň zabřezávání může být snížena oproti plemenicím, které nejsou aspirovány.

Naproti tomu ve studii Aller et al. (2010) byly porovnávány výsledky zabřezávání u tří skupin masných krav po otelení, a to krávy, u kterých byla provedena aspirace oocytů a zároveň byly před aspirací hormonálně stimulovány FSH, krávy, u kterých byla provedena aspirace oocytů, ale nebyly před aspirací hormonálně stimulovány a kontrolní skupina krav, u kterých aspirace oocytů neproběhla. Výsledky jejich studie ukazují, že aspirace oocytů nemá statisticky průkazný vliv na úspěšnost zabřezávání při využití časované umělé inseminace. Stejně tak

Figueiredo et al. (2020) uvádějí, že nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly zabřezávání po první inseminaci u krav na první laktaci, které byly aspirovány (31,3 %), a které nebyly aspirovány (31,9 %).

Rovněž výsledky této diplomové práce potvrzují, že aspirace oocytů neovlivňuje úspěšnost zabřezávání ani hodnoty inseminačního indexu, neboť u těchto parametrů nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnocenými skupinami dojnic.

## 7 Závěr

Cílem práce bylo vyhodnocení vztahů mezi aspirací oocytů a následnou obnovou reprodukčních funkcí dojnic z hlediska opětovného zařazení do reprodukce, nástupu říje a výsledky zabřezávání. Hypotézou byl předpoklad, že aspirace oocytů nezhoršuje fungování vaječnicků, ale pouze v návaznosti na načasování aspirace v první fázi laktace u konkrétní dojnice dojde k oddálení jejího zabřeznutí.

Z výsledků práce vyplývá, že aspirace oocytů (skupiny 0; 1; 2) statisticky průkazně neovlivňuje dobu do nástupu říje po otelení, hodnoty inseminačního indexu ani úspěšnosti zabřezávání. Inseminační interval byl statisticky průkazně delší u krav aspirovaných jednou ( $P < 0,01$ ) nebo dvakrát ( $P < 0,05$ ) oproti kravám, u kterých aspirace oocytů neproběhla. Stejně tak servis perioda byla statisticky průkazně delší u krav aspirovaných jednou ( $P < 0,05$ ) nebo dvakrát ( $P < 0,01$ ) ve srovnání s neaspirovanými krávami. Přestože nebyly statisticky průkazně rozdíly mezi skupinami, hodnoty inseminačního indexu byly nejvyšší u krav, které nebyly aspirovány a nejnižší naopak u dojnic, které byly aspirovány dvakrát. Tato tendence může být zapříčiněna právě pozdějším zapouštěním krav po aspiraci oocytů, kdy vliv negativní energetické bilance po otelení není již tak výrazný.

Dále je možné z výsledků práce vysledovat vliv metabolického stavu na reprodukční ukazatele. Právě skupina dojnic, které měly průměrný poměr tuku a bílkovin v mléce  $1 - 1,15$  dosahovala obecně lepších reprodukčních výsledků ve srovnání s ostatními skupinami ( $T/B < 1$ ;  $T/B > 1,15$ ). Servis perioda byla statisticky průkazně kratší u dojnic ve skupině  $T/B 1 - 1,15$  ve srovnání se skupinou krav s poměrem  $T/B < 1$  ( $P < 0,05$ ) i skupinou krav s poměrem  $T/B < 1,15$  ( $P < 0,01$ ). Hodnota inseminačního indexu byla rovněž nižší u skupiny dojnic s poměrem  $T/B 1 - 1,15$  oproti skupinám  $T/B < 1$  ( $P < 0,05$ ) a  $T/B > 1,15$  ( $P < 0,01$ ). Stejných výsledků bylo dosaženo rovněž pro úspěšnost zabřezávání. Lze tedy konstatovat, že pro dosahování dobrých reprodukčních výsledků je nezbytné dbát na optimální výživu dojnic především v první fázi laktace, kdy jsou nutriční požadavky dojnic nejvyšší.

Ze získaných výsledků lze konstatovat, že aspirace oocytů negativně neovlivňuje reprodukční funkce dojnic z hlediska návratu do reprodukčního procesu, nicméně dochází ke statisticky průkaznému prodloužení doby do zabřeznutí. Hypotéza, že aspirace oocytů v první fázi laktace pouze prodlouží dobu potřebnou k zabřeznutí, tedy byla potvrzena.

## 8 Literatura

- Abdelnaby EA, El-Maaty AMA, El-Badry DA. 2021. Evaluation of ovarian hemodynamics by color and spectral Doppler in cows stimulated with three sources of follicle-stimulating hormone. *Reproductive Biology* **21**:100478.
- Ahmadzadeh A, Frago F, Shafii B, Dalton JC, Price WJ, McGuire MA. 2009. Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. *Animal Reproduction Science* **112**:273-283.
- Albarrán-Portillo B, Pollot GE. 2013. The relationship between fertility and lactation characteristics in Holstein cows on United Kingdom commercial dairy farms. *Journal of Dairy Science* **96**:635-646.
- Aller JF, Mucci NC, Kaiser GG, Ríos G, Callejas SS, Alberio RH. 2010. Transvaginal follicular aspiration and embryo development in superstimulated early postpartum beef cows and subsequent fertility after artificial insemination. *Animal Reproduction Science* **119**:1-8.
- Ball PJH, Peters AR. 2004. *Reproduction in Cattle*. Blackwell Publishing, Oxford.
- Barański W, Nowicki A, Zduńczyk S. 2021. Comparison of efficacy of Ovsynch protocol to single PGF $2\alpha$  administration in treatment of individual dairy cows with post-service subestrus. *Polish Journal of Veterinary Science* **24**:351-354.
- Baruselli PS, Batista EOS, Vieira LM, Sales JNS, Gimenes LU, Ferreira RM. 2017. Intrinsic and extrinsic factors that influence ovarian environment and efficiency of reproduction in cattle. *Animal Reproduction* **14**:48-60.
- Berg HF, Heringstad B, Alm-Kristiansen AH, Kvale VG, Dragset KI, Waldmann A, Ropstad E, Kommisrud E. 2020. Ovarian follicular response to oestrous synchronisation and induction of ovulation in Norwegian Red cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica* **62**:16.
- Bezdiček J, Nesvadbová A, Makarevich A, Kubovičová E. 2020. Relationship between the animal body condition and reproduction: the biotechnological aspects. *Archives Animal Breeding* **63**:203-209.
- Bols PEJ, Van Soom A, Ysebaert MT, Vandenheede JMM, de Kruif A. 1996. Effect of aspiration vacuum and needle diameter on cumulus oocyte complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes. *Theriogenology* **45**:1001-1014.
- Bonato DV, Filho LC, Santos ES, Figueira MR, Cerezetti MB, Morotti F, Seneda MM. 2021. Estrus expression and pregnancy rates in heifers primiparous and multiparous Nelore cows subjected to timed artificial insemination with strategic use of gonadotropin-releasing hormone. *Semina: Ciências Agrárias* **42**:3825-3836.
- Boumara M, Akkou M, Soltani F. 2022. Effect of milk yield and quality at post-calving period on Algerians cows' reproductive performances. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* **73**:3757-3764.
- Bouška J, et al. 2006. *Chov dojeného skotu*. Profi Press, Praha.

- Borchardt S, Tippenhauer CM, Plenio J-L, Bartel A, Madureira AML, Cerri RLA, Heuwieser W. 2021. Association of estrous expression detected by an automated activity monitoring system within 40 days in milk and reproductive performance of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* **104**:9195-9204.
- Borsberry S. 2011. Detecting oestrus in dairy cows. *Veterinary Record* **169**:45-46.
- Burdych V, Všetečka J, Divoký L, Brychta J, Stejskalová E, Kvapilík J. 2004. Reprodukce ve stádech skotu. *CHOVSERVIS*, a.s., Hradec Králové.
- Campos CC, Santos RM. 2015. Conception rate and estrous return detection after TAI in Holstein cows. *Semina: Ciências Agrárias* **36**:1945-1954.
- Carvalho PD, et al. 2014. Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **97**:3666-3683.
- Civiero M, Cabezas-Garcia EH, Ribeiro-Filho HMN, Gordo AW. 2021. Relationships between energy balance during early lactation and cow performance, blood metabolites, and fertility: A meta-analysis of individual cow data. *Journal of Dairy Science* **104**:7233-7251.
- Cizmecci SU, Dinc DA, Yesilkaya OF, Ciftci MF, Takci A, Bucak MN. 2022. Effect of Heat-Stress of Oocyte Number and Quality and In Vitro Embryo Production in Holstein Heifers. *Acta Scientiae Veterinariae* **50**:1870.
- Colazo MG, Whittaker P, Macmillan K, Bignell D, Boender G, de Carvalho Guimares R, Mapletoft RJ. 2018. Evaluation of a modified GnRH-based timed-AI protocol associated with estrus detection in beef heifers inseminated with sex-selected or conventional semen. *Theiogenology* **118**:90-95.
- Čejna V, Chládek G. 2005. The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in Holstein cows during lactation. *Journal of Central European Agriculture* **6**:539-546.
- Demissie T, Yilma T, Degefa T, Wirtu G, Lemma A. 2022. Effect of follicular ablation and gonadotropin priming on the recovery and quality of oocytes in Boran cows. *Tropical Animal Health and Production* **54**:280.
- Diskin M, Sreenan JM. 2000. Expression and detection of oestrus in cattle. *Reproduction Nutrition Development* **40**:481-491.
- Doležel R, Čech S, Zajíc J, Havlíček V. 2002. Oestrus Synchronization by PGF<sub>2α</sub> and GnRH in Intervals according to Stage of Follicular Development at Time of Initial Treatment in Cows. *Acta Veterinaria Brno* **71**:101-108.
- Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. 1989. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* **72**:68-78.
- Figueiredo CC, Bisinotto DZ, Brandão GVR, Umana Sedó S, Bisinotto RS. 2020. Impact of assisted reproduction techniques on subsequent reproductive performance of dairy heifers and lactating cows. *Theriogenology* **158**:97-104.

- Fisher MW, Lamming GE. 2004. Expression of behavioural signs of oestrus during mid-cycle in a dairy cow. *New Zealand Veterinary Journal* **52**:297-297.
- Furkawa E, Kanno C, Yanagawa Y, Katagiri S, Nagano M. 2022. Relationship between the timing of insemination based on estrus detected by the automatic activity monitoring system and conception rates using sex-sorted semen in Holstein dairy cattle. *Journal of Reproduction and Development* **68**:295-298.
- Fry RC. 2020. Gonadotropin priming before OPU: What are the benefits in cows and calves?. *Theriogenology* **150**:236-240.
- Galli G, Crotti G, Notari C, Turini P, Duchi R, Lazzari G. 2001. Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology* **55**:1341-1357.
- Gaude I, Kempf A, Strüve KD, Hoedemaker M. 2017. Comparison of visual and computerized estrous detection and evaluation of influencing factors. *Animal Reproduction Science* **184**:211-217.
- Guanga LA, Campoverde JS, Gaarzón DA, Brugal MP, Ganchou FP, Carpio ER, Escandón PN. 2020. The time interval between ovarian stimulation with FSH/LH and ovum-pick up affects the quantity, quality and developmental competence of oocytes retrieved from Ecuadorian creole heifers. *Revista Investigaciones Veterinarias del Perú* **31** (e17571) DOI: 10.15381/rivep.v31i1.17571.
- Hassan M, Arfat MY, Arshad U, Ahmad N. 2021. Ovarian dynamics, hormone profiles, and characterization of ovarian and uterine blood flow in cycling Sahiwal cows. *South African Journal of Animal Science* **51**:194-204.
- Heuer C, Schukken YH, Dobbelaar P. 1999. Postpartum Body Condition Score and Results from the First Test Day Milk as Predictors of Disease, Fertility, Yield, and Culling in Commercial Dairy Herds. *Journal of Dairy Science* **82**:295-304.
- Hofírek B, et al. 2009. *Nemoci skotu. Česká buiatrická společnost, Brno.*
- Holman A, Thompson J, Routly JE, Cameron J, Jones DN, Grove-White D, Smith RF, Dobson H. 2011. Comparison of oestrus detection methods in dairy cattle. *Veterinary Record* **169**:47.
- Horký D, Mikyska E. 1990. *Veterinární embryologie. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.*
- Huszenica G, Jánosi S, Kulesár M, Kóródi P, Reiczigel J, Kátai L, Peters AR, De Renis F. 2005. Effect of Clinical Mastitis on Ovarian Function in Post-partum Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals* **40**:199-204.
- Chauhan SS, Rashamol VP, Bagath M, Sejian V, Dunshea FR. 2021. Impact of heat stress of immune responses and oxidative stress in farm animals and nutritional strategies for amelioration. *International Journal of Biometeorology* **65**:1231-1244.
- Chebel RC, Santos JEP, Reynolds JP, Cerri RLA, Juchem SO, Overton M. 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science* **84**:239-255.

- Chen X, et al. 2022. Impact of heat stress on milk yield, antioxidative levels, and serum metabolites in primiparous and multiparous Holstein cows. *Tropical Animal Health and Production* **54**:159.
- Chrenek P, Kubovičová E, Olexíková L, Makarevich AV, Toporcerová S, Ostró A. 2014. Effect of body condition and season on yield and quality of in vitro produced bovine embryos. *Zygote* **23**:893-899.
- Kasimanickam R, Kasimanickam V, Kastelic JP, Ramsey K. 2020. Metabolic biomarkers, body condition, uterine inflammation and response to superovulation in lactating Holstein cows. *Theriogenology* **146**:71-79.
- Klossok G, Haderer KG, Lemme E, Rath D, Schindler L, Niemann H. 1997. Estrus cyclicity and pregnancy establishment during ultrasound-guided follicular aspiration in dairy cows. *Theriogenology* **47**:160.
- Kubovičová E, Makarevič A, Stádník L, Holásek R, Hegedušová Z. 2013. Effect of body condition and season on the yield and quality of cattle embryos. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* **2**:1426-1435.
- Kudláč E, Holý L. 1984. Řízení a kontrola reprodukce ve velkochovech skotu. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Lacaze S, Marquant – Le Guienne B, Delalleau N, Richet L, Maunas S, Nibart M, Humblot P. 1997. Centralized in vitro embryo production after ultrasound guided bovine oocyte collection: effects of parity and superovulation treatment. *Theriogenology* **47**:161.
- Liles HL, Schneider LG, Pohler KG, Filho RVO, Schrick FN, Payton RR, Rhinehart JD, Thompson KW, McLean K, Edwards JL. 2022. Positive relationship of rectal temperature at fixed timed artificial insemination on pregnancy outcomes in beef cattle. *Journal of Animal Science* **100**:1-11.
- Lomander H, Svensson C, Halln-Sandgren C, Gustafsson H, Frössling J. 2013. Associations between decreased fertility and management factors, claw health, and somatic cell count in Swedish dairy cows. *Journal of Dairy Science* **96**:6315-6323.
- Lopreiato V, Mezzetti M, Cattaneo L, Ferronato G, Minuti A, Trevisi E. 2020. Role of nutraceuticals during the transition period of dairy cows: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **11**:96.
- Louda F, Vaněk D, Ježková A, Stádník L, Bjelka M, Bezdíček J, Pozdíšek J. 2008. Uplatnění biologických zásad při řízení reprodukce plemenic: metodika. Výzkumný ústav pro chov skotu, Rapotín.
- Madureira AML, Burnett TA, Marques JCS, Moore AL, Borchardt S, Heuwieser W, Guida TG, Vasconcelos JLM, Baes CF, Cerri RLA. 2022. Occurrence and greater intensity of estrus in recipient lactating dairy cows improve pregnancy per embryo transfer. *Journal of Dairy Science* **105**:877-888.
- Madureira AML, Burnett TA, Pohler KG, Sanches CP, Vasconcelos JLM, Cerri RLA. 2020. Short communication: Greater intensity of estrous expression is associated with improved



- embryo viability from superovulated Holstein heifers. *Journal of Dairy Science* **103**:5641-5646.
- Marvan F, Hampl A, Hložánková E, Kresan J, Massanyi L, Vernerová E. 1992. *Morfologie hospodářských zvířat*. Brázda, Praha.
- McDougall S. 2010. Effect of treatment of anestrous dairy cows with gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin, and progesterone. *Journal of Dairy Science* **93**:1944-1959.
- Meier S, Kay JK, Kuhn-Sherlock B, Heiser A, Mitchell MD, Crookenden MA, Vailati Riboni M, Loor JJ, Roche JR. 2020. Effects of far-off and close-up transition cow feeding on uterine health, postpartum anestrous, interval, and reproductive outcomes in pasture-based dairy cows. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **11**:17.
- Mebratu B, Fesseha H, Goa E. 2020. Embryo Transfer in Cattle Production and Its Principle and Applications. *International Journal Pharmacy & Biomedical Research* **7**:40-54.
- Melendez P, Bartolome J, Archbald LF, Donovan A. 2003. The association between lameness, ovarian cysts and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology* **59**:927-937.
- Merton JS, de Roos APW, Mullaart E, de Ruigh L, Kaal L, Vos PLAM, Dieleman SJ. 2003. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology* **59**:651-674.
- Mikkola M, Hasler JF, Taponen J. 2020. Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle. *Reproduction, Fertility and Development* **32**:104-124.
- Najbrt R, Bednář K, Červený Č, Kaman J, Mikyska E, Štarha O. 1982. *Veterinární anatomie 2*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Opsomer G, Gröhn YT, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. *Theriogenology* **53**:841-857.
- Pavlovic D, et al. 2022. Behavioural Classification of Cattle Using Neck-Mounted Accelerometer-Equipped Collars. *Sensors* **22**:2323.
- Peter AT, Vos PLAM, Ambrose DJ. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* **71**:1333-1342.
- Phillips PE, Jahnke MM. 2016. Embryo Transfer (Techniques, Donors, and Recipients). *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* **32**:365-385.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip TAM, Wurth YA, van Beneden TH, Willemsse AH, Taverne MAM. 1991. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology* **35**:19-24.
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada Publishing, Praha.
- Roelofs J, López-Gatiús F, Hunter RHF, van Eerdenburg FJCM, Hanzen Ch. 2010. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology* **74**:327-344.

- Röttgen V, Schön PC, Becker F, Tuchscherer A, Wrentycki C, Düpjan S, Puppe B. 2020. Automatic recording of individual oestrus vocalisation in group-housed dairy cattle: development of cattle call monitor. *Animal*. **14**:198-205.
- Rutherford AJ, Oikonomou G, Smith RF. 2016. The effect of subclinical ketosis on activity at estrus and reproductive performance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **99**:4808-4815.
- Říha J, Jakubec V, Jílek F, Illek J, Kvapilík J, Hanuš O, Čermák V. 2004. Reprodukce v procesu šlechtění skotu: Reproduction in cattle improvement system. Asociace chovatelů masných plemen, Rapotín.
- Saranjam N, Moghaddam MF, Akbari G, Mohammadsadegh M, Farzaneh N. 2020. Associations between milk fat, protein and fat-to-protein ration with some reproductive indices in dairy cows. *Indian Journal of Animal Sciences* **90**:764-767.
- Stubbings RB, Walton JS. 1995. Effect of ultrasonically-guided follicle aspiration on estrus cycle and follicular dynamics in Holstein cows. *Theriogenology* **43**:705-712.
- Takahashi M. 2012. Heat stress on reproductive function and fertility in mammals. *Reproductive Medicine and Biology* **11**:37-47.
- Takuma T, Sakai S, Ezoe D, Ichimaru H, Jinnouchi T, Kaedei Y, Nagai T, Otoi T. 2010. Effect of Season and Reproductive Phase on the Quality, Quantity and Developmental Competence of Oocytes Aspired from Japanese Black Cows. *Journal of Reproduction and Development* **56**:55-59.
- Toni F, Vincenti L, Grigoletto L, Ricci A, Schukken YH. 2011. Early lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival. *Journal of Dairy Science* **94**:1772-1783.
- Wang J, Li J, Wang F, Xiao J, Wang Y, Yang H, Li S, Cao Z. 2020. Heat stress on calves and heifers: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **11**:79.
- Zajíček J. 2022. Výroční zpráva o hospodaření za rok 2021. Školní zemědělský podnik Lány, Česká zemědělská univerzita v Praze. 62 s.

## 9 Seznam použitých zkratk a symbolů

- BCS** – body condition scoring  
**COC** – kumulus-oocytární komplex  
**DIM** – days in milk, počet dní v laktaci  
**eCG** – equine chorionic gonadotropin  
**ET** – embryotransfer  
**FSH** – folikulostimulační hormon  
**GnRH** – gonadotropin releasing hormon  
**KU** – kontrola užítkovosti  
**LH** – luteinizační hormon  
**IVC** – in vitro kultivace  
**IVF** – in vitro fertilizace  
**IVM** – in vitro maturace  
**IVP** – in vitro produkce embryí  
**NEB** – negativní energetická bilance  
**OPU** – ovum pick up  
**PGF<sub>2α</sub>** – prostaglandin F2 alfa  
**PMSG** – pregnant mare serum gonadotropin  
**SB** – somatické buňky  
**T/B** – poměr tuku a bílkovin v mléce