

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra etologie a zájmových chovů**



**Reakce březích klisen na přítomnost hřebce  
u domácích koní**

**Diplomová práce**

**Bc. Michaela Třísková  
Reprodukční biotechnologie**

**Vedoucí práce: doc. Ing. Jitka Bartošová, Ph.D.**

© 2020 ČZU v Praze

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Reakce březích klisen na přítomnost hřebce u domácích koní" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Jitce Bartošové, Ph.D., za vedení mé diplomové práce, mé rodině za podporu mého vysokoškolského studia a mé dceři, která mě posledním rok studiem doprovázela.

Děkuji pracovníkům oddělení etologie Výzkumného ústavu živočišné výroby, v.v.i., za propůjčení dat k jejich vyhodnocení za účelem mé diplomové práce. Další dík patří Národnímu hřebčínu Kladruby nad Labem za poskytnutí svého areálu a koní ke sběru dat a jejich pracovníkům za spolupráci při manipulacích s koňmi. Dále velmi děkuji následujícím lidem, kteří se podíleli na přípravě experimentu a sběru dat (bez titulů): Luděk Bartoš, Martina Komárková, Mirka Pokorná, Jana Dubcová, Barbora Valníčková, Lucie Pešková, Alice Sekyrová, Mirka Fáberová.

# Reakce březích klisen na přítomnost hřebce u domácích koní

## Souhrn

Cílem práce bylo ověřit hypotézu, že klisny při kontaktu s neznámým hřebcem budou mít vyšší srdeční tep a silnější behaviorální reakce než klisny vystavené kontaktu s hřebcem, se kterým jsou momentálně březí. Zkoumanou skupinou byly klisny a hřebci v Národním hřebčíně v Kladrubech nad Labem, kde se pozorování podrobilo 62 klisen a 7 zkušných plemenníků. Zkoumání reakcí probíhalo v letech 2012 a 2016. Z těchto interakcí bylo vyvozeno 155 dyád hřebec – klisna a zaznamenáno 825 projevů, které byly postupně zařazeny do 7 finálních kategorií, které byly následně analyzovány.

Interakcí klisen březích po daném hřebci (5,03 %) a klisen jalových (37,21 %) bylo poměrově méně, než odpovídá zastoupení klisen (8,39, resp. 45,16 %). Podíl interakcí klisen březích po jiném hřebci stoupl (57,70 % interakcí vs. 46,45 % klisen). Tato pozornost vůči hřebcům pravděpodobně znamená, že tyto hřebce může klisna vnímat jako potenciálně infanticidní.

Kromě pozorování a zaznamenávání reakcí klisen na testovaného hřebce bylo 45 klisnám měřen srdeční tep, z těchto klisen jsme analyzovaly 250 reakcí. Klisny březí po jiných otcích vykazaly vyšší tepovou frekvenci než klisny březí s testovaným hřebcem. Nejnižší tepovou frekvenci měly klisny jalové. Graf v praktické části práce ukazuje i zvýšenou tepovou frekvenci již před příchodem hřebce, která byla podle všeho způsobena zvýšeným pohybem osob (pozorovatelů) a neobvyklým děním ve stáji. Při budoucím měření tepové frekvence je nutné s těmito vlivy počítat snažit se je pro přesnější měření eliminovat.

Srdeční tepová frekvence byla vyšší u klisen, které mohly hřebce přímo kontaktovat, jednalo se však o řád jedné desetiny BPM na průměrných. Tento fakt si zaslouží podrobnou analýzu z pohledu jednotlivých fází sledování.

Z výše uvedených zjištěných reakcí tedy vyplývá, že můžeme stanovenou hypotézu potvrdit.

**Klíčová slova:** březost, klisny, přítomnost hřebce, kůň domácí

# Exposure of a stallion to pregnant mares in domestic horses

## Summary

The aim of this thesis was to verify the hypothesis that mares contacted with an unknown stallion, would have a higher heart rate and stronger behavioral reactions than mares exposed to contact with the stallion with which they are currently pregnant. The group examined was mares and stallions in the National Stud Kladruby nad Labem where 62 mares and 7 experienced stallions were observed. The responses were examined in 2012 and 2016. From these interactions, 155 dyads stallion – mare was inferred and 825 manifestations were recorded, gradually divided into 7 final categories, which were subsequently analyzed.

Interaction of mares on the banks (5.03%) and reactive mares (37.21%) was proportionally less than the proportion of mares (8.39 and 45.16% respectively). The proportion of interactions of mares on the banks after another stallion increased (57.70% of interactions vs. 46.45% of mares). This attention to stallions probably means that these stallions can be perceived as potentially infanticide.

In addition to observing and recording the reactions of mares on the stallion being tested, 45 mares were measured in heart rate, of which we analyzed 250 reactions. Mares pregnant with other stallions showed a higher heart rate than mares pregnant with a tested stallion. The lowest heart rate had unpregnant mares. The graph in the practical part of the work also shows the increased heart rate even before the arrival of the stallion, which seems to have been caused by increased movement of persons (observers) and unusual events in the stable. In future heart rate measurements, it is necessary to count on these influences to try to eliminate them for more accurate measurements.

The heart rate was higher for mares that could contact the stallion directly, but it was the order of one-tenth of the BPM on average. Due to the facts, hypothesis was confirmed.

It follows from the above identified reactions that we can confirm the hypothesis.

**Keywords:** pregnancy, mares, stallion presence, domestic horse

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>7</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>8</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Raná embryonální mortalita.....</b>	<b>9</b>
<b>3.2 Stres jako možná příčina EEM.....</b>	<b>12</b>
3.2.1 HPA osa .....	12
3.2.2 Vliv stresu na hladinu kortizolu a jiných hormonů .....	13
3.2.3 Vliv stresu na srdeční tepovou frekvenci.....	16
<b>3.3 Vliv sociálního prostředí na EEM .....</b>	<b>17</b>
3.3.1 Samčí infanticidní chování .....	19
3.3.2 Sociální prostředí u divoce žijících koní .....	20
<b>4 Metodika .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1 Sběr dat .....</b>	<b>22</b>
4.1.1 Zpracování dat .....	24
<b>5 Výsledky.....</b>	<b>26</b>
<b>Sledované kategorie chování a jejich projevy u klisen .....</b>	<b>26</b>
<b>5.1 26</b>	
<b>5.2 Výsledky tepové frekvence .....</b>	<b>28</b>
<b>6 Diskuze.....</b>	<b>31</b>
<b>7 Závěr .....</b>	<b>32</b>
<b>8 Literatura.....</b>	<b>33</b>

# 1 Úvod

Přestože v posledních letech dochází k neustálým pokrokům v reprodukční medicíně koní, které vedly ke zlepšení zabřezávání a k výraznému poklesu potratů u dvojčat, výskyt předčasného ukončení březosti se sice snížil ale stále působí velké ekonomické ztráty ve šlechtitelském odvětví.

Včasná embryonální úmrtnost je jen jednou z mála složek ovlivňujících chovatelské úspěchy, přesto se tomuto relativně malému problému věnuje v posledních letech zvýšená pozornost. Před rokem 1965 se embryonální úmrtí neuznávalo a ztráty byly řazeny pod nepozorované potraty. První článek zjišťující rané ukončení březosti byl publikován v roce 1969 (Bain) a odhadl, že EEM před 49. dnem se vyskytovalo v 76,5 % všech ztrát. S použitím diagnostické ultrasonografie odhadují ukončení březosti v rozmezí 5 – 17 %, a to během 14. až 50. dne.

Problém známý pod zkratkou EEM (*early embryonic mortality*) je v reprodukci koní velice zásadní a neměl by být přehlížen. Klíčovým obdobím je prvních 40 dní březosti (embryonální období), ve kterém dochází podle řady studií k většině ztrát březosti. V tomto období jsou následky ukončené gravidity relativně malé a klisna je zpravidla znovu zapuštěna nebo inseminována. Ukončení březosti po 40. dni, kdy se již vytvořily endometriální pohárky, bývá větším zásahem do reprodukčního traktu a již bývá odstavena z celé chovné sezóny (Meyers et al. 1991).

## **2 Cíl práce**

Cílem práce bylo zjistit fyziologické a behaviorální reakce klisen na přítomnost hřebce, jež není otcem plodu a následně ověřit hypotézu, že tyto klisny budou mít vyšší srdeční tep a silnější behaviorální reakce než klisny vystavené kontaktu s hřebcem, otcem jejich plodu.

V zadání diplomové práce byly jako fyziologický indikátor uváděny i hladiny kortizolu, nicméně z praktických důvodů nebylo možné odebrat vzorky slin v takovém harmonogramu a kvalitě, aby mohly stanovené hladiny sloužit jako relevantní obraz zátěže organismu klisny. Proto bylo od původního plánu sledovat i tento ukazatel ustoupeno.



## 3 Literární rešerše

### 3.1 Raná embryonální mortalita

Raná embryonální ztráta u klisen představuje ukončení gravidity, ke kterému dochází mezi oplodněním a 40., případně až 60. dnem březosti. Díky transrektální ultrasonografii byla zlepšena včasná diagnóza a detekovány faktory, které zapříčiňují výskyt EEM. V terénních podmínkách se transrektální USG používá již od 12. do 14. dne po ovulaci, v experimentálních podmínkách může být použita již od 10. dne. Před tímto 10. dnem je koncept velice malý a nemůže být pomocí standardní ultrasonografie zobrazen (Vanderwall 2008).

Długolecka et al. definuje brzkou embryonální mortalitu pouze do 42. dne březosti. Tento jev může nastat ve dvou časech, buď v prvních 10 až 12 dnech březosti nebo až po tomto období, ve kterém je už možná ultrasonografická diagnostika.

Adams et al. (1987) tvrdí, že velikost embryonálních váčků, zjišťovaná při ultrasonografickém vyšetření, byla u klisen s později zjištěnou embryonální ztrátou menší než u klisen březích. Mestre et al. (2019) ve své studii uvádí, že každé zvětšení váčku o centimetr v 15. nebo 16. den březosti snižuje pravděpodobnost její ztráty o 0,28. Uznává, že interní vady oocytu nebo časný koncept má za následek malý vezikul, podle kterého lze vizuálně poznat základní patologii. Pokud by se jednalo o malý, ale přesto životaschopný váček, pravděpodobně by stejně nebyl schopen úspěšně postupovat dělohou. Protože jak je známo, pro udržení gravidity je důležitý kontakt konceptu a endometria matky. U domácích koní je ztráta plodu běžná, dokonce podstatně vyšší než u ostatních domácích kopytníků, jako je například skot, kozy a ovce (přehled viz např. Bartoš et al. 2011).

Papa (1998) uvádí ve své studii 13,28 % embryonálních ztrát v rozmezí 10. až 30. dne po ovulaci. Jako příčinu vylučuje primární dysfunkci žlutého tělíska, protože hladina progesteronu v plazmě nebyla výrazně odlišná u gravidních klisen a klisen s EEM.

Tyto výsledky se však liší od studie Ginther et al. (1985), ve které byl zaznamenán výrazný pokles progesteronu u samic s EEM, a to mezi 7. a 11. dnem po ovulaci. K tomu bylo ještě zjištěno, že se koncentrace progesteronu snížila až po samotné embryonální ztrátě, což znamená, že pokles progesteronu je následek, ne příčina.

Embryonální ztráta je komplikovaná situace, neboť je většinou diagnostikována zpětně a nelze proto léčit. Z toho důvodu jsou včasná preventivní opatření velmi podstatná, a zejména v případech, kdy existuje důvodné podezření, že by mohlo ke ztrátě embrya dojít. Ztráta březosti od jejího 35. dne je však sporadická a spíše neobvyklá. Zde se uvádí jako nejpravděpodobnější příčina přehlédnutí dvojčat nebo specifická infekce (EHV-1 a EVA), popřípadě závažné onemocnění matky a silné působení stresu (Rambags et al. 2003).

Příznaky předpovídající hrozící přerušování březosti mohou ale nemusí být přítomny. Do 21. či 22. dne gravidity je EEM charakterizována nečekaným zmizením embryonálního váčku. Po této době je možné ztrátu březosti předpovídat díky příznakům zjištěným transrektální sonografií. Jedná se například o edemitizaci endometria, nepravidelný tvar

embryonálního vajíčku, ztrátu srdečního rytmu, abnormální vývoj embryonálních membrán a opožděný vývoj vlastního embrya (Vanderwall 2008).

Na embryonální úmrtnost má vliv věk klisen, který může být vysoký u klisen starších 10 let nebo naopak nízký, u klisniček v rozmezí 12 a 14 měsíců. Mezi další faktory patří cysty na endometriu, endometritida, těhotenství dvojčat a v neposlední řadě reprodukční historie a management chovu hříbat (Meyers et al. 1991).

Długolecka et al. (2019) kromě výše zmíněných dále uvádí těhotenství dvojčat a manuální redukce jednoho z konceptů. Dříve byl za nejčastější příčinu EEM považovaná nedostatečná produkce progesteronu žlutým tělískem. Novější studie však toto tvrzení vyvrátily, protože equinní embryo je schopné přečkat delší období nevyhovující progesteronové koncentrace (Newcombe 2000).

Problémy u starších klisen mohou mít na svědomí, kromě nedořešené endometritidy, která se objevuje díky věkem snížené kontraktilitě dělohy, a tím pádem špatnému vyčištění prostředí po páření nebo inseminaci, také nevyhovující prostředí ve vejcovodu nebo chromozomální abnormality. Vzhledem k delšímu období, které koňské embryo tráví ve vejcovodu, se naskytuje jako možná příčina salpingitida, tedy zánět vejcovodu. Ta se více vyskytuje u klisen starších 15 let. Dále je ještě možné narušení sekreční aktivity vejcovodu, které by mělo za následek nedostatečnou embryonální výživu. Kromě endometritidy však tyto potíže nelze vyřešit medikamenty. Avšak Rambags et al. (2003) uvádí, že i u mladých zdravých klisen dochází v prvních pěti týdnech k přerušení gravidity až z 10 %.

Meyers et al. (1991) považuje za rizikovou skupinu klisny nad 10 let věku, a naopak velmi mladé klisny v rozmezí 12 až 14 měsíců. Výsledky studie však i přes jeho tvrzení ukazují, že nejvyšší míra embryonální úmrtnosti se vyskytla u klisen středního věku v rozmezí 7 až 11 let, nejméně u mladých klisen ve věku od 2 do 6 let.

Vanderwall (2008) rozděluje faktory na vnější, vnitřní a embryonální. Do vnitřních faktorů zařazuje, krom již zmíněného věku a zánětlivých i nezánečlivých endometriálních problémů, laktaci, fixaci embryonálního vajíčku ve stěně utera, progesteronovou insuficienci a chromozomální anomálie klisny. Stres, výživa, sezónní a klimatické podmínky, manipulace s ejakulátem a jeho zpracování, případně manipulace s gametami patří do skupiny vnějších vlivů. Mezi embryonální faktory se řadí chromozomální abnormality a jiné vlastnosti embrya. Tyto faktory jsou s vnitřními a vnějšími činiteli úzce spojeny.

V poslední době je v literatuře velká pozornost věnována vlivu sociálního prostředí, ve kterém je klisna držena. Podrobnosti jsou uvedeny v samostatné kapitole dále v textu.

Jak je již řečeno výše, medikamentózní léčbou lze řešit endometritidu. Pokud EEM vychází z anatomické vady vnějších pohlavních orgánů klisny, prvním krokem by měla být snaha o odstranění této vady, aby se do vnitřního prostředí nedostávalo velké množství mikrobiálního materiálu, který může mít za následek neplodnost. Zde můžeme uvést Caslickovu operaci vulvy, aby se zabránilo nasávání vzduchu a tzv. pneumovagině. V nepříznivé situaci je invazivnější postup podle Poureta k zabránění pneumovaginy a urovaginy, operativně se přeruší spoj mezi vaginou a rektum (Rambags et al. 2003).

S perineální malformací je možné se častěji setkat u plnokrevných koní, zejména u klisen ve špatné kondici, po více hříbotech a klisen starých. Naopak horší uspořádání perinea se vyskytuje i u atletických jedinců (Morel 2015). V případě nedostatečného uzavření cervixu se jedná o vážnější problém, který sice lze vyřešit zašitím vnějšího děložního otvoru nebo plastickou operací vnitřního otvoru, ovšem je zde velké riziko potrhání zrekonstruovaného děložního krčku při porodu hříběte.

Kromě opravení zjevných defektů je však důležitá správná technika zapouštění klisny a snaha o snížení kontaminace během připouštění a inseminace na minimum, včetně následné rychlé reakce na objevující se příznaky endometritidy. Pokud je však patologie uteru nebo vejcovodu závažná, lze ji v dnešní době obejít embryotransferem, gametotransferem GIFT nebo *in vitro* oplozením IVF (Rambags et al. 2003).

## 3.2 Stres jako možná příčina EEM

Stres v roce 1936 poprvé definoval Hans Selye jako nescifickou reakci těla na jakoukoliv změnu. Později byla tato definice zdokonalena zavedením termínů *stresor* a *stresová reakce*. Za stresor se považuje stimul, který ohrožuje a narušuje homeostázu. Stresová reakce je odpovědí na stresor a její funkcí je znovuzískání homeostázy (Pohlin et al. 2017).

Je velice pravděpodobné, že na časnou embryonální mortalitu má vliv stres dané klisny. Bylo totiž prokázáno, že během těžké bolesti, např. koliky, infekčního onemocnění a odstavu došlo k poklesu hladiny cirkulujícího progesteronu o 30 až 50 % (Vanderwall 2008). Malschitzky et al. (2015) za stresující považuje především omezený pohyb klisen, vysokou početnost skupiny a její nestabilitu. Celkovou psychickou i fyzickou pohodu a zdraví koní zlepšuje cvičení. U velkých chovatelů však nejsou klisny trénovány a jejich veškerý pohyb je soustředěn pouze na pohyb ve výběhu. Přitom trénování klisen a volný pohyb v padoku zapříčiňuje vypuzování nahromaděné tekutiny v děloze a následnou lepší plodnost oproti klisnám, které jsou v pohybu omezeny (Chopin 2011).

Více jak 90 % klisen koně domácího rodí svá mláďata v noci, kdy je ve stáji minimum rušivých vlivů. Obecně se předpokládá, že vnější stresové faktory zabraňují nástupu porodu a březí samice rodí pouze tehdy, zhodnotí-li své prostředí jako bezpečné. Ovšem míra kontroly matky nad počátkem porodu se mezi jednotlivými domácími zvířaty liší, neboť u domestikovaných přežvýkavců neexistuje výrazná převaha nočních porodů (Nagel et al. 2019).

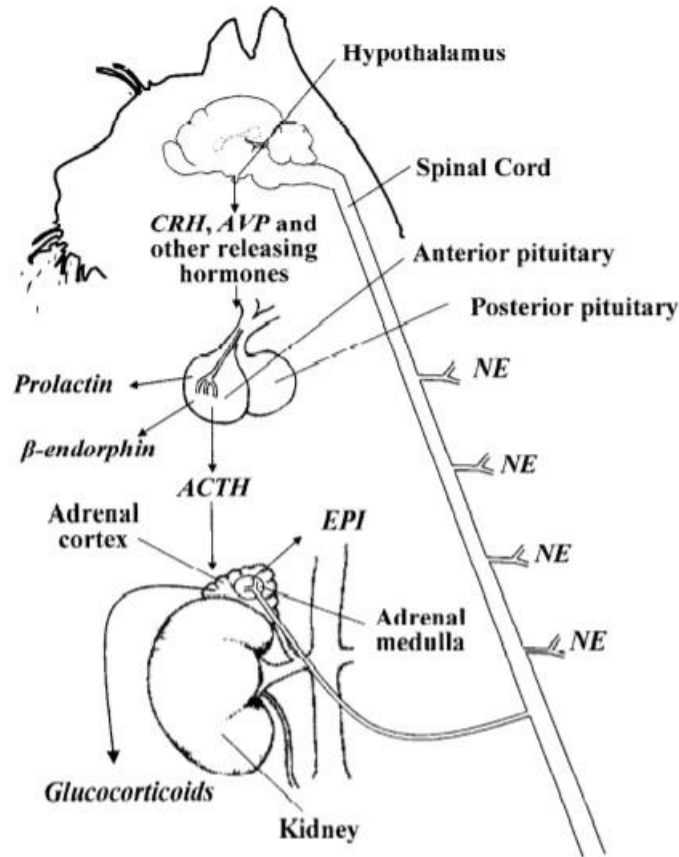
### 3.2.1 HPA osa

Vzhledem ke stavu poznání metabolických, neuroendokrinních a imunologických mechanismů je možné popsat stresovou reakci na fyziologické úrovni. Stres jako fyziologický mechanismus nemusí být nutně škodlivý. Glukokortikoidy jsou uvolňovány i ve zdánlivě nestresových situacích. Jedná se například o lov, námluvy a kopulaci (Möstl & Palme 2002).

Důležitá odpověď na působení stresoru začíná aktivací sympatického nervového systému a hypotalamo-hypofyzární-adrenální osy. Oba tyto systémy jsou zaktivovány v centrálním nervovém systému. Když začne na organismus působit stresor, HPA osa a sympatický nervový systém (NS) způsobí uvolňování nor epinefrinu z míšních nervů a epinefrinu z nadledvinek. Současně dochází k uvolňování hypotalamického kortikoliberinu. Jedná se o hormon uvolňující kortikotropin z hypofýzy. Dalším uvolňovaným hormonem hypotalamu je vazopresin. Tyto a další hormony procházejí uzavřeným krevním oběhem k přední hypofýze, kde způsobí již zmíněné uvolnění ACTH a  $\beta$ -endorfinu do krevního řečiště. V důsledku stresu je z přední hypofýzy také vyplavován prolaktin. ACTH v kůře nadledvin působí na tvorbu kortizolu, kortikosteronu či jejich kombinace (Reeder 2005).

Převládající primární glukokortikoid se může u jednotlivých druhů zvířat lišit. Některé druhy produkují kortizol i kortikosteron ve významném množství (Hennessy et al. 1979).

K větší aktivaci HPA, než je normální, však dochází až ve chvíli, kdy je paraventriculární jádro stimulováno i jinými částmi mozku. Jedná se o amygdalu, která zpracovává paměťové stopy a emoční citění, a o prodlouženou míchu (*medulla oblongata*), která je pro tuto situaci důležitá zpracováním informací o krevním tlaku (Reeder 2005).



Obrázek 1: HPA osa a vzájemné působení hormonů (Reeder 2005)

### 3.2.2 Vliv stresu na hladinu kortizolu a jiných hormonů

Kortizol je hormon ze skupiny glukokortikoidů produkovaný kůrou nadledvin a jeho sekrece je ovlivňována sympatickým nervovým systémem. Glukokortikoidy a katecholaminy jsou vylučovány ve velice krátkém čase po stresové situaci, proto se glukokortikoidy využívají ke zhodnocení životních podmínek zvířat. V případě stresu dochází díky kortizolu k mobilizaci energie za účelem ochrany homeostázy. Při zkoumání hladiny kortizolu během stresových reakcí je třeba zohlednit denní rytmické fluktuace kortizolu konkrétního jedince, a proto je třeba odebírat vzorky ve stejném časovém období (Malinowski et al. 2018). Již zmíněný pokles hladiny progesteronu během stresové situace je pravděpodobně zapříčiněn kortikosteroidy nadledvinové kůry (Vanderwall 2008).

Pokud je jedinec vystaven krátkodobému stresu, glukokortikoidy zlepšují kondici díky mobilizaci energie. Může též dojít ke změnám chování. Pokud působí na jedince dlouhodobá vysoká koncentrace kortizolu, jedná se o těžký chronický stres. V tom případě může dojít

k oslabení zdatnosti imunosupresí, ke zhoršení reprodukčních úspěchů a k atrofizaci tkání (Möstl & Palme 2002).

Kortizol je ale i fetální signál, spouštěč porodu u mnoha druhů zvířat. Je také nezbytný pro zrání plodu a jeho přechod z nitroděložního prostředí (Nagel et al. 2019).

Nagel et al. (2012) popisuje fyziologické zvýšení kortizolu u vysokobřezích klisen. Zatímco koncentrace plazmatického kortizolu narůstá v přibližně čtyřech dnech před porodem, salivární kortizol se nezvyšuje dříve, jak dva dny před porodem hříběte.

Koncentrace kortizolu ve slinách klisny se shoduje s vyšším uvolňováním tohoto hormonu plodem. K přenosu kortizolu transplacentárně v obou směrech dochází pouze v malém množství. Hladina kortizolu se během vypuzení hříběte může zvýšit až trojnásobně, než je tomu u koní vystavených stresu způsobeném silniční dopravou, akutním břišním onemocněním, traumatickým stavem nebo abdominální operací.

U koní a skotu začátku porodu předchází zvýšené uvolňování plodového kortizolu, u prasat však tento signál plodu není zcela jasný. Takzvaná hypotalamo-hypofyzárně-adrenokortikální kaskáda byla poprvé popsána u ovcí. Porod iniciuje prudký vzestup hladiny kortizolu z nadledvinek plodu. Ten má za následek zvýšení sekrece estrogenu, hladinu progesteronu naopak klesá. Změna poměru těchto dvou hormonů spustí uvolnění prostaglandinu F<sub>2</sub>alfa, který dále zvyšuje myometriální odpověď na hormon oxytocin a dochází ke kontrakcím a porodu. Na rozdíl od tepové frekvence, která bezprostředně po porodu klesá, hladina kortizolu vrcholí na konci porodu nebo krátce po něm.

Nedávná studie rozdělila vysokobřezí klisny na dvě skupiny. Jedna skupina byla přepravována autem v délce tří hodin, zatímco druhá skupina byla kontrolní a zůstala ve stáji. Nejenom, že transport u klisen vyvolal zvýšenou hladinu kortizolu, ale také výrazně posunul čas porodu. U transportovaných matek se jednalo o  $42 \pm 2$  hodiny, u kontrolních matek  $116 \pm 28$  hodin. Placenta byla vypuzena do jedné hodiny v obou testovaných skupinách (Nagel et al. 2019)

Při indikaci stresu pomocí měření hladiny kortizolu se doporučuje pracovat obezřetně, protože ne všechny typy stresu způsobují zvýšení jeho koncentrace. U mnoha druhů mají glukokortikoidy cirkadiální rytmus (Möstl & Palme 2002). Pravidelnými krevními odběry byly prokázány tyto cirkadiální rytmy také u prasat ve fázi růstu (De Jong et al. 2000). Ovšem také samotné odběry mohou být pro zvířata stresující, protože často dochází k jejich fixaci a následné manipulaci, může proto dojít k mylným výsledkům (Cook et al. 2000).

Aby nedocházelo k těmto stresovým situacím a následným chybným výsledkům, zkoumalo několik vědců neinvazivní postupy pro odběr vzorků. Jednalo se o stanovení kortikoidů v moči, ve slinách a v mléce. U každého typu odběrů byly však shledány nedostatky: sbírka všech těchto tekutin vyžaduje stále jistou manipulaci s jedinci a u volně žijících zvířat je odběr těchto vzorků náročný nebo až nemožný (Möstl & Palme 2002).

Nagel et al (2012) uvádí jako výhody salivárního kortizolu bezstresový odběr a skutečnost, že je zde měřen pouze kortizol volný. U koní je navíc výhodou, že manipulace člověkem, včetně dotyků v hubě, je zpravidla běžnou denní rutinou.

Kortizol v krvi lze rozdělit na vázaný a volný. Pouze tento volný kortizol je biologicky aktivní a je zastoupen z 10 až 15 % z jeho celkového plazmatického množství (Gayrard et al. 1996).

Velký význam při stanovení hladiny metabolitů glukokortikoidů mají především vzorky trusu, které se dají lehce získat i bez nutnosti stresovat dané zvíře. Metody pro měření fekálních steroidů, ať už původu gonadálního nebo placentárního, jsou nyní dobře známy (Schwarzenberger et al. 1996).

Mezi fyziologické ukazatele stresu patří, kromě kortizolu, plazmatický oxytocin či intenzita srdeční frekvence. Na rozdíl od kortizolu, oxytocin snižuje hladinu stresových hormonů glukokortikoidů a podporuje funkci parasympatiku, jeho účinek je tudíž antistresový. Patří mezi neuropeptidy a je produkován jádrem hypotalamu. Jeho role v sociálním chování, včetně reprodukce a rodičovství, je proto velmi důležitá (Malinowski et al. 2018).

### 3.2.3 Vliv stresu na srdeční tepovou frekvenci

Doposud byla primárním ukazatelem stresu u zvířat hladina glukokortikoidů. Nyní se za vhodný indikátor stresu ve výzkumu hospodářských a domácích zvířat považují parametry srdeční činnosti, kromě srdeční frekvence recentně i variabilita srdeční frekvence a vagální tonus (Pohlin et al. 2017).

Variabilita srdeční frekvence (HRV) je založena na zhodnocení kolísání intervalů mezi po sobě následujícími stahy srdce (Pumpřla et al. 2014). HRV patří mezi neinvazivní měření posuzující regulaci kardiovaskulárního systému autonomním nervovým systémem (ANS). Analýza této variability bývá použita jako nástroj k posouzení změn v sympatovagální rovnováze spojené například se stresem, patologickými stavy, poruchami v chování, tréninkovými plány a emočními stavy a následnému určení, jak rozdíly mezi sympatickou a parasympatickou aktivitou souvisí s působením stresorů a se strategií zvládnutí tohoto působení (Gehrke et al. 2011).

Právě Gehrke et al. (2011) vidí v analýze HRV budoucnost například při určování vhodnosti koně a klienta v oboru hiporehabilitace, neboť do nedávna se zaměřovalo pouze na psychickou pohodu klienta, nikoliv však jeho terapeuta – koně.

Variabilita srdeční činnosti může charakterizovat psychologické poruchy, jako je deprese a panická porucha, například úzkost. Během mentálního či emocionálního stresu aktivita sympatiku narůstá a parasympatická aktivita klesá, stejně je tomu tak u vzpomínek na vztek (Malinowski et al. 2018).

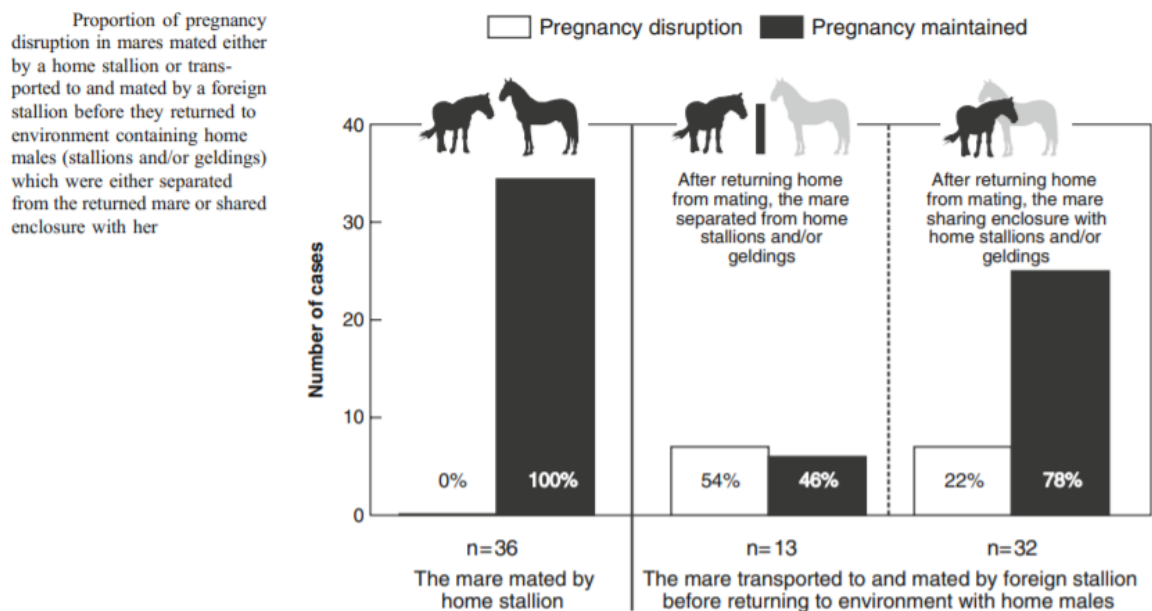
Hodnoty HRV, nasbírané v roce 2006, byly použity k hodnocení stresových situací u koní. Jednalo se o reakce na agresivní zacházení s jedinci, nevhodné ustájení, krmení nebo přeprava na dlouhé vzdálenosti. Přestože studie prokázaly, že koně vykazují v průběhu života dobrou stabilitu HRV, byly též zaznamenány velké odchylky bazálních hodnot mezi jedinci. Za tyto odchylky jsou pravděpodobně zodpovědné faktory včetně genotypu, prostředí, chování, temperamentu a nutričního stavu jedince (Gehrke et al. 2011).

Na srdeční frekvenci matky i plodu má vliv gestační věk. Přibližně kolem 270. dne těhotenství se srdeční frekvence plodu blíží ke 100 tepům za minutu. Poslední dny březosti se tepová frekvence snižuje na 80 tepů. Nebyl shledán rozdíl mezi tepovými frekvencemi plodu u shetlandského ponyho a plnokrevného koně. Na rozdíl od plodu, srdeční frekvence klisny se během posledních 20 % gravidity zvyšuje, týden před porodem se ustaluje a má konstantní hodnotu (Nagel et al. 2012, 2019).



### 3.3 Vliv sociálního prostředí na EEM

Bartoš et al. (2011) na základě odpovědí dotazovaných chovatelů klisen zjistili, že březí klisny, které byly připuštěny mimo svoji domovskou stáj a poté navraceny do stáda, v 31 % případů o potvrzenou březost přišly. V přímém okolí těchto klisen se často vyskytoval jiný samec, ať už valach či hřebec, než kterým byla klisna připuštěna. Následně po příjezdu do stáje byla u klisen zpozorována další sexuální aktivita s dominantním samcem domácí skupiny. Klisny, které byly ustájeny izolovaně, vybízely samce přes danou bariéru (hrazení, plot). Výsledky zkoumání proto naznačují, že je klisna schopna promiskuitním chováním manipulovat se samcem, navodit u něho pocit otcovství, a tím zabránit možnému infanticidě. Pokud nemá možnost uplatnit toto chování, může dojít ke ztrátě plodu. Proto v praxi běžně využívaný převoz klisny k připouštění či umělé inseminaci a její následný návrat do své skupiny je pravděpodobně jednou z mnoha příčin výrazného procenta ukončení gravidity u domácích koní. Uvedené možnosti situace jsou přehledně znázorněny na obrázku č. 2.

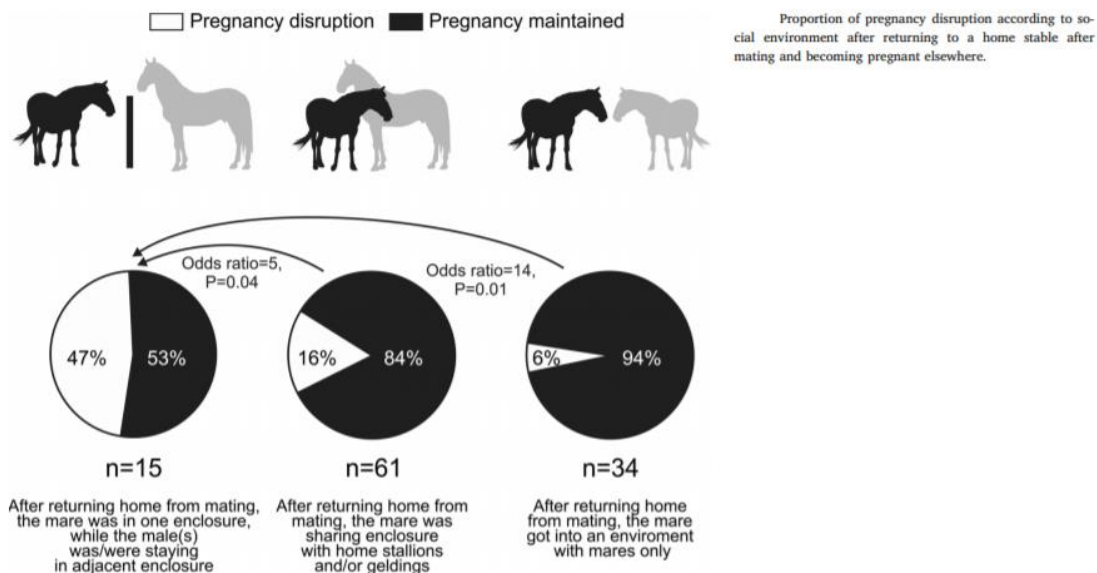


Obrázek 2: Vliv umožnění kontaktu klisny a domácího hřebce/valacha po návratu z připouštění na udržení její březosti (Bartoš et al. 2011)

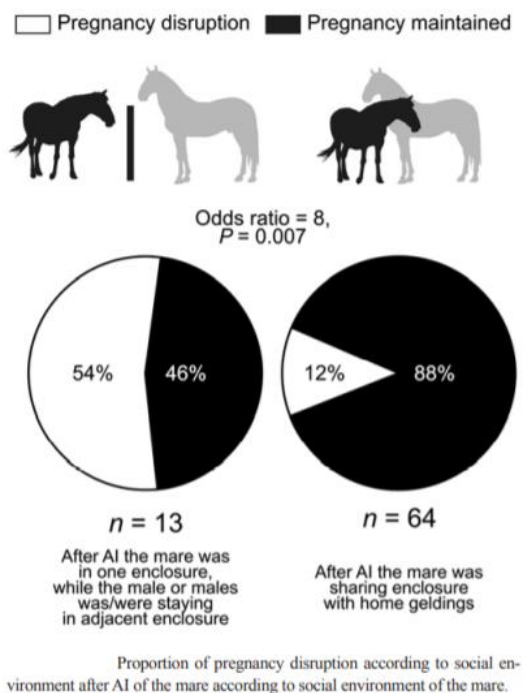
Riziko ztráty březosti bylo velmi nízké a srovnatelné s klisnami, které zabřezly v domácím prostředí, pokud klisna sdílela prostor pouze s dalšími klisnami (Bartoš et al. 2018). Naopak, míra selhání březosti byla nejvyšší v případě, kdy klisna byla od samce či samců „neotců“ oddělena bariérou (ohrada, plot). Oproti nim klisny sdílející výběh s valachy či hřebci ztratily březost významně méně často, nedosáhly však úrovně klisen držných jen v monosexuálních skupinách (jakkoli zde nebyl rozdíl vzhledem k vysoké individuální variabilitě statisticky významný).

Způsob oplodnění klisny (připouštění z ruky, umělá inseminace) neměl na ztrátu gravidity významný vliv, jakmile si je klisna hormonálně vědoma své březosti a nemá možnost

se spářit s domácím samcem, vzrůstá nebezpečí následného ukončení gravidity (Bartoš et al. 2015). Výsledky tak naznačují, že přerušení březosti může být stimulováno sociálním prostředím domovské stáje u klisen uměle inseminovaných stejně jako u klisen, které byly zapuštěny přirozeně mimo svou stáj. Z toho je možné vycházet, že inseminovaná klisna vnímá početí stejně jako při páření se s hřebcem (Bartoš et al. 2015).



Obrázek 3: Rozdíl mezi návratem březích klisen do samotatného výběhu, do skupiny obsahující samce a do čistě samičí skupiny (Bartoš et al. 2018)



Obrázek 4: Rozdíl mezi návratem březích klisen do samotatného výběhu, do skupiny obsahující samce a do čistě samičí skupiny (Bartoš et al. 2018)

### 3.3.1 Samčí infanticidní chování

Samčí infanticida je považována za adaptační strategii, při které dosáhne samec zkrácení intervalu mezi porody a samec může zplodit svého potomka. Výhodné je rozmnožování těchto samců pouze za předpokladu zabití mládřat jiného samce (Van Schaik 2000).

Samčí infanticida se vyskytuje u celé řady živočišných druhů, zejména však mezi masožravci a primáty, příkladem lze zmínit sysla, surikatu, sviště horského, medvěda hnědého, lva či vřešťana (Cameron et al. 2003). Infanticidní chování bylo zpozorováno u koňovitých, včetně zeber, koně Převalského a domácího koně (přehled např. v Bartoš et al. 2011). Divocí koně jsou v tomto výčtu druhů zvláštností, neboť tvoří celoroční stabilní skupiny, tzv. harémy (Gray 2009).

Možnou odpovědí klisny na toto nebezpečí ze strany hřebce je efekt Bruceové. Předpokladem je, že se jedná o opatření proti dětem, které nemají velkou šanci na přežití a došlo by tím pádem ke zbytečnému výdaji energie na vývoj plodu (Ebensperger 1998). Klisny se tímto ukončením březosti vyhýbají riziku budoucímu infanticidnímu chování samce, který není otcem daného potomka (Bartoš et al. 2015).

Bartoš et al. (2011) však považuje efekt Bruceové za nepravděpodobný, jelikož klisny během studie neměly možnost kontaktu s močí hřebce. Je tedy možné, že existuje jiný mechanismus způsobující luteolýzu a následné přerušování gravidity.

Na rozdíl od klasického efektu Bruceové, ukončení těhotenství klisen bylo sedmkrát nižší, pokud byla klisna umístěna do skupiny se samci a byl jí umožněn fyzický kontakt, než když měla možnost se s těmito samci kontaktovat pouze nepřímo (Bartoš et al. 2015).

Z výše uvedených studií tedy vyplývá doporučení chovatelům koní, aby po páření klisen mimo své domácí prostředí či po umělé inseminaci umístili tuto klisnu do stáje bez samců nebo naopak do společného prostoru se samcem či s více samci a zlepšili tím reprodukci a welfare koní (Bartoš et al. 2015, 2018).

Zharkikh (1999) udává kromě zabití hříbat nově příchozím vedoucím hřebcem i útok nově přivezeného hřebce do ZOO v San Diegu. V předchozím chovatelském zařízení se s jeho agresí nesetkali. Je proto doporučeno, aby byly samice před porodem odděleny od své skupiny pro větší bezpečí.

### 3.3.2 Sociální prostředí u divoce žijících koní

Divocí koně žijí celoročně v menších skupinách harémového typu. V takových skupinách se nachází společně s několika klisnami jeden či více hřebců. Hřebec tyto své klisny získá buď oddělením klisen od jiného stáda nebo poražením původního dominantního hřebce a přebráním celého jeho harému (Boyd & Keiper 2005).

Tato dlouhodobá a soudržná skupina je zřejmě důležitým faktorem majícím za následek vývoj dlouhého estrálního období, tj. 5–7 dní oproti ostatním kopytníkům, kde je estrus přibližně 1–2 dny. I přes soudružnost stáda může občas dojít i k boji mezi klisnami, a to v případě, kdy je v estrální fázi více klisen najednou. Nadřazená samice může níže postavené bránit kontaktu s hřebcem a vyhánět ji z jeho blízkého okolí (Crowell-Davis 2007).

Logicky by měli dominantní hřebci ve své skupině vykazovat vysokou míru potomků, krevní testy 975 koní z Velké pánve v Nevadě z roku 1990 však dokazují, že u téměř třetiny hříbat tomu tak není a otcem je jiný hřebec (Bowling & Touchberry 1990). Klisny ve věkovém rozmezí 6–8 let měly v této studii dvakrát vyšší šanci na hříbě než klisny mladší (2–5 let) nebo naopak starší (9–25 let).

Jiné výzkumy zjistily, že klisny pocházející ze stabilního stáda rodí více hříbat než klisny ze skupin nestabilních (Berger 1986; Kaseda et al. 1995). Hříbata, nejsou-li potomkem dominantního hřebce, mají nižší šanci na přežití v období do odstavu od matky (Gray 2009).

U většiny druhů kopytníků se samice a samci sházejí pouze v období rozmnožování a poté se opět oddělují. Rodinné skupiny (*family bands*) koní však setrvávají po celý rok pohromadě, samec pomáhá s ochranou stáda a mláďat před nebezpečím, jakým jsou například predátoři nebo cizí hřebci snažící se získat stádo pro sebe. Sexuální aktivita mezi klisnami a hřebcem byla zaznamenána i mimo ovulační období, pravděpodobně se jedná o snadnější udržení této sociální organizace a klisny si budují u hřebce lepší postavení pro nadcházející reprodukční sezónu (Crowell-Davis 2007).

Hříbata, jejichž otcem není držitel harému, mají nižší šanci na přežití, naopak jejich matka jim věnuje výraznější péči, umisťují je mezi ostatní hříbata a aktivně je brání proti útokům. Klisna si pozorněji hlídá svého potomka i v případě, že je sice hřebec součástí stáda, ale ve stádě jsou i další samci (Gray et al. 2012)

V Nevadě testovali DNA z trusu volně žijících koní. Celkem bylo otestováno 51 hříbat, 27 hřebců a 33 klisen z 23 skupin. Do studie bylo také zahrnuto 48 cizích hřebců, protože by se mohlo jednat o potenciální otce hříbat. Zde však výsledky dokazují, že klisny mají většinou potomky s vedoucím hřebcem stáda, pokud se nejedná o klisny, které migrovaly z jedné skupiny do druhé. Klisny zde prokázaly vysokou věrnost svému dominantnímu hřebci. Během pozorování vybraných skupin v Nevadě byl sice zpozorován pouze jediný infancidní útok na hříbě, to však neznamená, že tyto ataky neexistují. Jsou spíše hůře zdokumentované. Úmrtí hříbat nejsou mnohdy jednoznačně odůvodněná, mohou být způsobeny i například nemocemi nebo útoky predátorů (Gray et al. 2012).

Grande et al. (2009) pozorovali v letech 1974 až 1982 volně žijící klisny obývající rozsáhlou plochu u ústí řeky Rhona ve Francii. V této studované skupině byl věk nejmladší klisničky při porodu pouhých 24 měsíců, dále se zde nacházelo deset klisen ve věku dvou let, tříletých klisen bylo nejvíce, a to 16. První hříbě ve čtyřech letech měla pouze jedna klisna. Jedinci v pokročilém věku jsou citlivější na vzrůstající hustotu populace ve srovnání s mladými koňmi. Tato hustota se ukázala jako důležitý faktor v přežití klisen a jejich potomků spíše než jejich samotná plodnost.

## 4 Metodika

Náplní diplomové práce byla elektronizace a zpracování dat nasbíraných v experimentu naplánovaném a prováděném pracovníků a spolupracovníků oddělení etologie VÚŽV, v.v.i., v letech 2012 a 2016. Objemově velké množství nahrávek behaviorálních dat a záznamů ze snímačů srdečního tepu byly převedeny do tabulek potřebného formátu a záznamy chování postupně sloučeny do analyzovatelných proměnných.

Pro pozorování byly vybrány klisny plemene starokladrubský kůň chované ve stájích areálu Národního hřebčína v Kladrubech nad Labem. Tato volba byla pro studii vhodná z hlediska početnosti chovných klisen a plemenných hřebců, a rovněž pro kvalitní a dostupné množství informací o jednotlivých klisnách, včetně reprodukčních výsledků. Provedení studie bylo umožněno na základě dlouhodobé spolupráce oddělení etologie VÚŽV, v.v.i., s NH Kladruby nad Labem.

### 4.1 Sběr dat

Experiment spočíval v přivádění hřebce ke stáji klisen. Pracovník z úseku chovu plemenných hřebců NH Kladruby nad Labem přivedl hřebce ke vstupu do stáje a zastavil před bariérou (břevnem). Pokud to chování hřebce a klisen umožnilo, setrval 20 minut. Chování klisen a hřebce zaznamenávali na diktafon dva pozorovatelé. Jeden pozoroval dění uvnitř stáje, druhý stále před stájí do vzdálenosti 10 m (podle situace a bezpečnosti). Pokud mohly hřebce vidět klisny z jiné stáje, byly i tyto opatřeny snímačem srdečního tepu a v případě dostatečného počtu přítomných pozorovatelů přímo sledovány.

Celkem proběhlo 5 pozorovacích dnů v roce 2012 a doplňkově další 3 dny v roce 2016. Přivedeno bylo postupně 7 různých hřebců (1 v obou letech) v celkem 11 sezeních. Všichni hřebci byli dospělí zkušení plemenníci. Pozorováno bylo celkem 65 klisen (9 v obou letech), a to 28 klisen v roce 2012, z nichž 9 pod sebou mělo kojené hříbě, a 37 klisen v roce 2016, z nich 19 s hříbětem.

Jelikož bylo v jeden časový moment pozorováno velké množství koní, byl pro zpětnou kontrolu nahrán i videozáznam a pořízeny fotografie areálu. Klisny byly pro spolehlivou orientaci během studie označeny barevnými stuhami na ohlávkách.

Klislám byly s předstihem alespoň 30 minut nasazeny snímače srdečního tepu Polar Team2 (na hrudním popruhu s elektrodami, viz např. obr. č. 5, ze kterých byla posléze data stažena standardním způsobem prostřednictvím příslušného softwaru do počítače. Systém Team2 vyniká synchronizovaným monitoringem dat u vícero snímačů. Ukládá data přímo do snímačů, nikoli do sporttesteru – „hodinek“, jak je běžné u jiných typů snímačů. Data se pak stahují zapojením do dokovacího bloku přes základní stanici.



*Obrázek 5: Přivedení hřebce ke vchodu do stájí klisen (Bartošová, 2012)*



*Obrázek 6: Hřebec ve stáji a snaha klisny o přímý kontakt (Bartošová, 2012)*



Obrázek 7: Hřebčení (Bartošová, 2012)

#### 4.1.1 Zpracování dat

Veškeré písemné záznamy byly seřazeny a přepsány do počítače. Proběhlo dohledání a doplnění chybějících údajů o klisnách pomocí online plemenné knihy starokladrubskeho koně (dostupné z <http://pk.nhkladruby.cz/>) a zkontrolována správnost identifikace klisen (barevné značení a identifikační prvky vs. jméno klisny).

Následně byly klisny pod svým životním číslem a jménem zaneseny do tabulky s potřebnými informacemi o věku a místě ustájení, o předchozím přípouštěcím období, o aktuálním přípouštěcím období včetně jeho výsledku. Doplněna byla příslušná čísla snímačů srdečního tepu Polar Team2, které měly klisny v daný pozorovací den nasazený.

V hlavní tabulce s chováním byly pak detailně a chronologicky rozepsány veškeré reakce jednotlivých klisen. Postupně byly reakce sloučeny a zaznamenány do tabulky proměnných, které byly statisticky analyzované.

Data o srdeční činnosti zahrnovala jak údaje BPM (tepová frekvence v úderech za minutu), tak údaje o vzdálenostech mezi jednotlivými údaji (*beat-to-beat*). Pro účely diplomové práce byly vzhledem k excesivnímu rozsahu potřebné práce hodnoceny pouze tepové frekvence (BPM).

Tabulky byly přeneseny do statistického programu SAS 9.4, vzájemně propojeny a postupně vyhodnoceny. Ke zjištění vazeb mezi jednotlivými kategorickými proměnnými byly



v závislosti na jejich typu (nominální, ordinální) využity různé chí-kvadrát testy, a to Cochran-Mantel-Haenszel statistiky dostupné v PROC FREQ, SAS. Základní popisné statistické parametry kontinuálních počítatelných proměnných byly získány v proceduře PROC UNIVARIATE.

K analýze vlivu testovaných faktorů na srdeční frekvenci byl použit multifaktoriální přístup. Byl sestaven obecný lineární smíšený model (PROC GLIMMIX), kde závislou proměnnou byla srdeční frekvence a pevnými efekty stav klisny (březí po přivedeném hřebci, březí po jiném hřebci nebo jalová), perioda, kdy byl tep měřen (před přivedením hřebce, během přítomnosti hřebce, po odvedení hřebce), interakce těchto dvou faktorů a „blízkost“ (zda byla klisna ve stáji, ke které byl hřebec přiveden a měla tak možnost ho kontaktovat, nebo zda jej pouze pozorovala z jiné stáje). Identita klisny a pozorovací sekvence vstupovaly do modelu jako náhodný faktor z důvodu ošetření opakovaného měření na stejných jedincích (daná klisna v určitém exposé).

## 5 Výsledky

### 5.1 Sledované kategorie chování a jejich projevy u klisen

V letech 2012 a 2016 bylo v rámci studie pozorováno chování 65 klisen (z toho 9 v obou zkoumaných letech) v 11 situacích, kdy byl jeden ze 7 plemenných hřebců přiveden do blízkosti klisen. Celkem bylo zaznamenáno 155 dyád ve vztahu hřelec – klisna, z nichž 13krát byl hřelec otcem plodu březí klisny, v 72 případech nebyl hřelec otcem plodu a 70 klisen bylo jalových. Proporce klisen v různém vztahu paternity plodu vůči přiváděnému hřebci byla u jednotlivých hřebců obdobná (v průměru 8,39 % klisen březích po přivedeném hřebci, 46,45 % březích po jiném hřebci a 45,16 % jalových,  $\chi_{(12)} = 16,9$ ,  $P = 0,15$ , PROC FREQ, SAS).

Celkem bylo zaznamenáno 825 projevů zahrnujících 77 různých prvků chování, včetně 46 ex post doplněných záznamů indikujících, že mezi danou klisnou a hřebcem po dobu sledování nedošlo k žádné viditelné interakci. Podíly interakcí zaznamenaných pro klisny v různém vztahu k hřebci se mírně lišily od podílu zastoupení těchto klisen (viz odstavec výše). Interakcí klisen březích po daném hřebci (5,03 %) a klisen jalových (37,21 %) bylo poměrově méně, než odpovídá zastoupení klisen (8,39, resp. 45,16 %), zatímco u klisen březích po jiném hřebci podíl interakcí stoupl (57,70 % interakcí vs. 46,45 % klisen). To indikuje větší pozornost vůči hřebcům, které mohla klisna vnímat jako potenciálně infanticidní.

Sledovaných 77 typů projevů chování bylo finálně kategorizováno do 7 skupin, z nichž 4 měly přímý vztah k hřebci, 1 se týkala zájmu o dění v místě, kde se hřelec pohyboval (klisna projevila zájem, dala uši dopředu nebo se ohlédla směrem ke vchodu), a 2 referenční kategorie sdružovaly chování, které s hřebcem přímo nesouviselo (viz Tab. Č. 1). Vůči hřebci projevovaly klisny pozitivní chování či interakce (zájem o hřebce bez prvků agrese, kontakt, snaha o kontakt bez agresivních prvků, proceptivní chování), negativní chování či interakce (agresivní prvky – kousnutí, hrozba, kopnutí, nervozita klisny v přítomnosti hřebce), cíleně se mu vyhýbaly (16 jasně definovaných interakcí) nebo o něj nejevily zájem (klisna prošla nebo stála poblíž vchodu s hřebcem bez odezvy vůči němu, popřípadě odešla od vchodu bez projevů agrese nebo snahy vyhnout se kontaktu – 90 případů; v této skupině jsou zařazeny i klisny, u kterých nebyl nahlášen žádný záznam).

Jako referenční kategorie byly zvoleny interakce, které neměly přímý vztah k hřebci nebo dění u vchodu stáje. Kategorie „ostatní-negativní“ obsahuje 11 případů agresivního chování vůči jiné klisně a kategorie „ostatní-neutrální“ zahrnuje chování jako pití, žraní, zájem o věci nesouvisející s hřebcem, jeden případ vzájemného groomingu dvou klisen a další nezařaditelné prvky chování (zvednutí hlavy, nejednoznačný pohyb tělem apod.).

Tabulka 1: Zastoupení výsledných sdružených typů interakcí v závislosti na paternitním vztahu přivedeného hřebce vůči plodu klisny, u které bylo chování zaznamenáno (originální výstup z PROC FREQ, SAS)

Table of reakce4 by stav_skym				
reakce4	stav_skym			Total
	jalová	neotec	otec	
<b>other_negative</b>	3 0.36 27.27 0.98	8 0.97 72.73 1.68	0 0.00 0.00 0.00	11 1.33
<b>other_neutral</b>	20 2.42 37.04 6.51	31 3.76 57.41 6.51	3 0.36 5.56 7.14	54 6.55
<b>stallion_avoid</b>	6 0.73 37.50 1.95	10 1.21 62.50 2.10	0 0.00 0.00 0.00	16 1.94
<b>stallion_negative</b>	19 2.30 24.36 6.19	57 6.91 73.08 11.97	2 0.24 2.56 4.76	78 9.45
<b>stallion_nezajem</b>	63 7.64 39.62 20.52	83 10.06 52.20 17.44	13 1.58 8.18 30.95	159 19.27
<b>stallion_positive</b>	89 10.79 40.09 28.99	123 14.91 55.41 25.84	10 1.21 4.50 23.81	222 26.91
<b>stallionplace_interest</b>	107 12.97 37.54 34.85	164 19.88 57.54 34.45	14 1.70 4.91 33.33	285 34.55
<b>Total</b>	307 37.21	476 57.70	42 5.09	825 100.00

\*Vysvětlivky k uvedeným hodnotám v jednotlivých buňkách: absolutní počet (1. řádek), následuje % z celku, % v daném řádku a % ve sloupci. Poslední řádek a poslední sloupec udávají marginální součty.

Z pohledu jednoduchého statistického testu popisujícího vztah mezi proměnnými v kontingenční tabulce nejsou výsledné poměry statisticky významně rozdílné ( $\chi_{(12)} = 14,7$ ,  $P = 0,26$ ), nicméně zastoupení jednotlivých kategorií chování u klisen v různém paternitním vztahu k jejich plodu zasluhuje pozornost a následné hlubší statistické zpracování s využitím multifaktoriálních metod a zohledněním opakovaných měření (a rovněž nižšího počtu záznamů u vztahu klisna – otec plodu). Z výše uvedené tabulky č. 1 lze vyčíst, že nadprůměrně agresivní byly klisny vůči hřbcům, kteří nebyli otci jejich plodu (73,08 % negativního chování vůči hřebci oproti 57,7 % zastoupení všech chování vůči „neotcům“), zatímco vůči otcům plodu byly klisny méně negativně vyladěny nebo o ně častěji neprojevovaly zájem.

V 16 případech vyhýbání se hřebci šlo především o vyhýbání se „neotci“ plodu (62,5 %), ani jednou se hřebci nevyhýbala klisna, která po něm byla březí. Důležitým pozorováním je 8 případů proceptivního chování (aktivní svádění hřebce klisnou, projevy říje – blýskání, ocas na stranu, nastavování se, močení před hřbcem), a to vždy před hřbcem, který nebyl otcem

plodu. K tomu 3x močila klisna bez možnosti určení, zda se týkalo hřebce (2x jalová, 1x šlo o klisnu březí po jiném hřebci).

Okrajově byly zaznamenány interakce, kterých se účastnila kojená hříbata. Obecně lze říci, že projevovala o hřebce a dění u vchodu zájem, některá se snažila kontaktovat hřebce. Často projevovala typické submisivní chování, v angličtině označované jako *snapping* (česky nejvýstižněji klapání hubou). Hodnocení chování hříbat vůči hřebcům nebylo cílem experimentu, proto nebyla ani individuálně označena, a tudíž byla jejich identifikace prakticky nemožná. V 6 případech klisna svého potomka před hřebcem aktivně bránila. Ani v jednom z těchto případů hřebec nebyl otcem hříběte.

## 5.2 Výsledky tepové frekvence

Celkem 45 klisnám byl v 8 sledovacích dnech 185x nasazen snímač srdečního tepu (Polar Team2). Hřebce přiváděného ke vchodu do volné stáje viděly buď „přímo“ (byly v dané stáji) nebo „nepřímo“ (byly ustájeny v sousední budově, z níž bylo na testovanou stáj vidět). Některé klisny tak mohly být v daném dni součástí jednoho přivedení hřebce přímo a jiného nepřímo.

Celkem bylo pozorováno 263 situací, kdy byla klisna vystavena přímé či nepřímé přítomnosti hřebce. Ve 13 případech snímač selhal a nebyla naměřena žádná data (ani jednou se nejednalo o kombinaci březí klisny a otce jejího plodu). Analyzováno tak bylo 250 situací. Ve 23 případech se jednalo o otce plodu březí klisny, ve 113 o hřebce, který nebyl otcem plodu, a ve 114 případech klisna březí nebyla. Jednotlivé klisny byly snímány ve 3 až 14 exposé. Ve 157 případech šlo o klisnu umístěnou ve stáji, ke které byl hřebec přiveden, a klisna jej tak mohla přímo kontaktovat (přes pevnou bariéru, viz obr. 6), v 93 situacích mohla klisna pozorovat hřebce z jiné stáje.

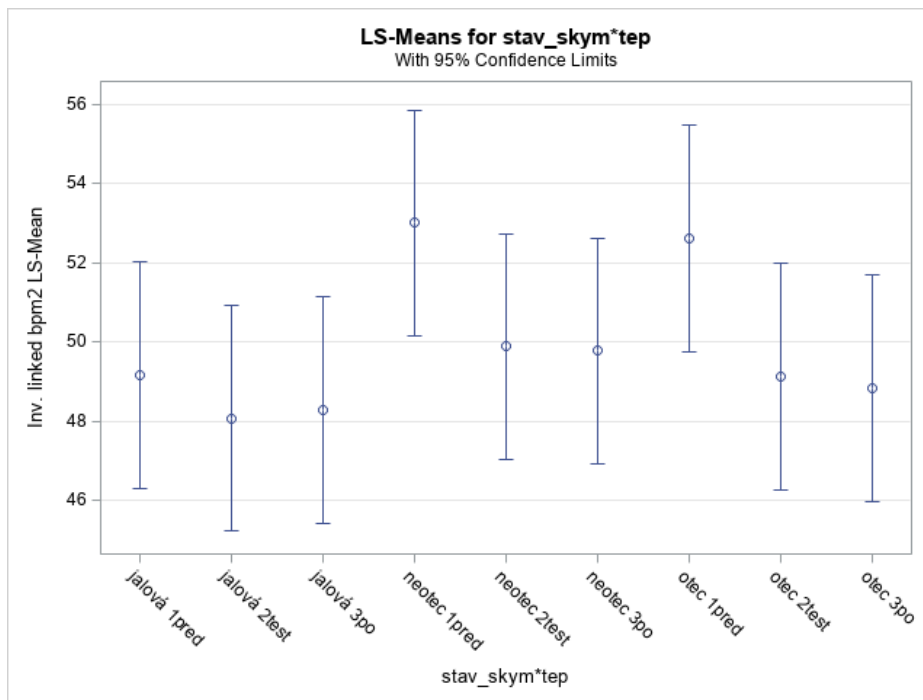
Multifaktoriální analýza ukázala významný vliv testovaných faktorů na srdeční frekvenci, testová kritéria a statistická významnost jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka 2: Výsledky obecného lineárního smíšeného modelu testujícího vliv uvedených proměnných na tepovou frekvenci (N = 219 281 záznamů BPM, PROC GLIMMIX, SAS)

Type III Tests of Fixed Effects				
Effect	Num DF	Den DF	F Value	Pr > F
paternita plodu (otec plodu, cizí hřebec, jalová klisna)	2	219E3	591.03	<.0001
perioda (před, během, po vystavení klisen hřebci)	2	219E3	546.15	<.0001
interakce paternita*perioda	4	219E3	77.92	<.0001
kontakt s hřebcem (přímý, vizuální)	1	219E3	3.21	0.0732

Klisny březí po jiných otcích vykázaly vyšší tepovou frekvenci ( $50,89 \pm 1,458$  BPM, LSMEANS  $\pm$  střední chyba průměru) než klisny březí po prezentovaných hřebcích ( $50,18 \pm 1,459$  BPM,  $P < .0001$ ). Nejnižší tepovou frekvenci měly klisny jalové ( $48,50 \pm 1,458$  BPM). Obr. č. 8 ukazuje rozdílné tepové frekvence v jednotlivých fázích snímání podle typu paternity plodu. Graf ukazuje i zvýšenou tepovou frekvenci již před příchodem hřebce, která byla podle všeho způsobena zvýšeným pohybem osob (pozorovatelů) a neobvyklým děním ve stáji.

Srdeční tepová frekvence byla vyšší u klisen, které mohly hřebce přímo kontaktovat, jednalo se však o řád jedné desetiny BPM na průměrných datech ( $49,90 \pm 1,457$  vs.  $49,81 \pm 1,458$  BPM). Tento fakt si zaslouží podrobnou analýzu z pohledu jednotlivých fází sledování.



Obrázek 8: Tepová frekvence (LSMEANS  $\pm$  konfidenční interval) klisen různého vztahu paternity k předváděnému hřebci v jednotlivých fázích snímání (před, během a po předvedení hřebce; GLMM, PROC GLIMMIX, SAS)

Uvedené výstupy jsou předběžným náhledem na shromážděná data srdeční tepové frekvence. Ta budou dále podrobněji zpracována v dalších analýzách, včetně dat z polarových pásů hřebců a analýzy variability srdeční frekvence a dalších parametrů. Tato práce je zaměřena především na projevy chování a zpracování detailů tepové frekvence je mimo její rámec.

## 6 Diskuze

Předkládaná diplomová práce zkoumá vliv gravidity na chování klisen ke hřebci v jejich blízkosti, ať už se jedná o otce plodu či nikoliv. Pokud je hřelec otcem plodu, je klisna k hřebci vstřícná, ale spíše bez zájmu. K cizímu hřebci, který není otcem plodu nebo hříběte, kterého má pod sebou, se chová vyhýbavě, až útočně.

Bartoš et al. (2011) na základě zpracovaných dotazníků uvádí, že některé klisny po příjezdu z připouštění projevily sexuální náklonnost ke svému domácímu hřebci a pokud neměly možnost přímého kontaktu, vyzývaly je i přes plot. Klisny v našem případě byly však k cizímu hřebci lhostejné (52,2 %), vyhýbavé (62,5 %) a ve velké míře i útočné (73,08 %). Avšak u osmi březích klisen (ze 72 dyád klisna – neotec plodu) bylo během pozorování shledáno sexuální vyzývavé chování vůči cizímu testovanému hřebci, a mohlo se proto jednat o snahu zmást hřebce, aby v budoucnu nedošlo ke ztrátě jejího potomka.

Další klisny, které s testovaným hřebcem nebyly březí, už tak náklonné nebyly. 6 matek si bránilo své hříbě, odvádělo ho od vchodu nebo stálo mezi potomkem a hřebcem, což souhlasí s chováním klisen divokých koní, které vykazují vyšší míru ochrany potomka, pokud je ve stádě hřelec neotec (Gray et al. 2011).

Poslední tři kategorie chování v tabulce č. 1 naznačují zvýšený nezáměr klisen o otce svého plodu. Můžeme to být z důvodu, že hřelec už svou část poslání splnil a klisna ho pro další období nepotřebuje.

Výše uvedené výstupy jsou předběžným náhledem na shromážděná data srdeční tepové frekvence určené k budoucímu zpracování, včetně zpracování dat z polarových pásů hřebců a analýzy HRV a dalších parametrů.

## 7 Závěr

Cílem této diplomové práce bylo pomocí dostupných dat zhodnotit chování klisen v přítomnosti různých hřebců a následně pak pomocí tohoto hodnocení vyvrátit či potvrdit hypotézu, že tyto klisny budou mít vyšší srdeční tep, vyšší hladiny salivárního kortizolu a silnější behaviorální reakce než klisny vystavené kontaktu s hřebcem, otcem jejich plodu.

Přestože nebyl odběr slin u celého souboru jedinců reálný a tím se tato část studie neuskutečnila, klisny reagovaly na různé hřebce podle očekávání.

Tím můžeme výše uvedenou hypotézu, v závislosti na námi provedené studii chování, potvrdit. Pro další výzkum je doporučeno podrobněji zpracovat tepovou frekvenci klisen včetně zohlednění vnějších rušivých vlivů (v našem případě přítomnost velkého množství cizích lidí v roli pozorovatelů) a stanovení postupu pro odběr velkého množství vzorků slin, jejichž laboratorní vyšetření může přinést nové důležité poznatky. Další vědecké poznatky mohou ještě více přispět k pochopení všech elementů mající vliv na březost klisen.

Výsledky této práce doporučuji promítnout do praxe, neboť správný management chovu koní je základem pro dosažení klidného reprodukčního života klisen a kvalitního odchovu jejich potomků. Při respektování již zjištěných informací o chování matek v přítomnosti cizích hřebců jsme schopni v praxi eliminovat počet konfliktů, případně počet EEM a úrazů u mladých hříbat. Navozením harmonického stáda v kombinaci s vhodným typem ustájení včetně použití moderních technologií (při oplození, diagnostice březosti a následném porodu a období těsně před ním – monitoring vysokobřezích klisen) a nejnovějších poznatků o embryologii, výživě, etologii atd. lze dosáhnout prvotřídního zázemí pro úspěšnou produkci koní.



## 8 Literatura

- Adams GP, Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther JO. 1987. Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *Journal of Reproduction Fertility* **35**: 445-454.
- Bain AM. 1969. Foetal losses during pregnancy in the thoroughbred mare; a record of 2562 pregnancies. *N Z Vet J* **17**: 155-158.
- Bartoš L, Bartošová J, Pluháček J. 2018. Male-free environment prevents pregnancy disruption in domestic horse mares mated away of home. *Applied Animal Behaviour Science* **200**: 67-70.
- Bartoš L, Bartošová J, Pluháček J. 2015. Pregnancy disruption in artificially inseminated domestic horse mares as a counterstrategy against potential infanticide. *Journal of Animal Science* **93**: 5465-5468.
- Bartoš L, Bartošová J, Pluháček J, Šindelářová J. 2011. Promiscuous behaviour disrupts pregnancy block in domestic horse mares. *Behav Ecol Sociobiol* **65**: 1567-1572.
- Berger J. 1983. Induced abortion and social factors in wild horses. *Nature* **303**: 59-61.
- Berger J. 1986. *Wild horses of the Great Basin: social competition and population size*. University of Chicago Press, Chicago
- Bowling AT, Touchberry RW. 1990. Parentage of Great Basin feral horses. *The Journal of Wildlife Management* **54**: 424-429.
- Boyd L, Keiper R. 2005. Behavioural ecology of feral horses. *The domestic horse: the origins, development, and management of its behaviour*. Cambridge University Press, Cambridge, 55-82.
- Cameron EZ, Linklater WL, Stafford KJ, Minot EO. 2003. Social grouping and maternal behaviour in feral horses (*Equus caballus*): the influence of males on maternal protectiveness. *Behav Ecol Sociobiol* **53**: 92-101.
- Chopin JB. 2011. Preventive medicine for broodmares farm. *Equine Reproduction*. 2747-2752.
- Cook CJ, Mellor DJ, Harris PJ, Ingram JR, Matthews LR. 2000. Hands-on and hands-off measurement of stress. *The biology of animal stress*. 123-146.
- Crowel-Davis SL. 2007. Sexual behaviour of mares. *Hormones and Behavior* **52**: 12-17.
- De Jong IC, PELLE IT, Burgwall JA, Lambooij E, Korte SM, Blokhuis HJ. 2000. Effects of environmental enrichment on behavioural responses to novelty, learning, and memory, and the circadian rhythm in cortisol in growing pigs. *Physiol Behav* **68**: 571-578.
- Długolecka E, Tobolski D, Janowski T. 2019. Endometrial histopathology, bacteriology and cytology outcomes in mares with early embryonic death (EED): a field study. *Polish Journal of Veterinary Sciences* **22**: 377-384

- Ebensperger LA. 1998. Strategies and counterstrategies to infanticide in mammals. *Biol Rev* **73**: 321-346.
- Gayrard V, Alvinerie M, Toutain PL. 1996. Interspecies variations of corticosteroid-binding globulin parameters. *Domest Anim Endocrinol* **13**: 35-45.
- Gehrke KE, Baldwin A, Schiltz PM. 2011. Heart Rate Variability in Horses Engaged in Equine-Assisted Activities. *Journal of Equine Veterinary Science* **31**: 78-84.
- Ginther OJ, Garcia MC, Bergfelt DR, Leith GS, Scraba ST. 1985. Embryonic loss in mares: pregnancy rate, length of interovulatory intervals, and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology* **24**: 409-417.
- Grange S, Duncan P, Gaillard J-M. 2009. Poor horse traders: large mammals trade survival for reproduction during the process of feralization. *The Royal Society* **276**: 1911-1919.
- Gray ME. 2009. An infanticide attempt by a free-roaming feral stallion (*Equus caballus*). *Biol. Lett.* **5**: 23-25.
- Gray ME, Cameron EZ, Peacock MM, Thain DS, Kirchoff VS. 2012. Are low infidelity rates in feral horses due to infanticide?. *Behav Ecol Sociobiol* **66**: 529-537.
- Hennessy MB, Heybach JB, Vernikos J, Levine S. 1979. Plasma corticosterone concentrations sensitively reflect levels of stimulus intensity in the rat. *Physiology & Behaviour* **22**: 821-825.
- Hušková J. 2009. Dějiny Národního hřebčína Kladruby nad Labem [BSc. Thesis]. Czech University of Life Sciences Prague, Prague.
- Kaseda Y, Khalil AM, Ogawa H. 1995. Harem stability and reproductive success of Misaki feral mares. *Equine Vet J* **27**: 368-372
- Malinowski K, Yee C, Tevlin JM, Birks EK, Durando MM, Pournajafi-Nazarloo H, Cavaiola AA, McKeever KH. 2018. The Effects of Equine Assisted Therapy on Plasma Cortisol and Oxytocin Concentrations and Heart Rate Variability in Horses and Measures of Symptoms of Post-Traumatic Stress Disorder in Veterans. *Journal of Equine Veterinary Science* **64**: 17-26.
- Mestre AM, Rose BV, Chang YM, Wathes DC, Verheyen KLP. 2019. Multivariable analysis to determine risk factors associated with early pregnancy loss in thoroughbred broodmares. *Theriogenology* **124**: 18-23.
- Meyers PJ, Bonnett BN, McKee SL. 1991. Quantifying the occurrence of early embryonic mortality on three equine breeding farms. *Can Vet J* **32**: 665-672.
- Morel MCGD. 2015. *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*. Institute of Rural Studies, UK
- Möstl E, Palme R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animals Endocrinology* **23**: 67-74.

- Nagel C, Aurich C, Aurich J. 2019. Stress effects on the regulation of parturition in different domestic animal species. *Animal Reproductive Science* **207**: 153-161.
- Nagel C, Erber R, Bergmaier C, Wulf M, Aurich J, Möstl E, Aurich C. 2012. Cortisol and progesterin release, heart rate and heart rate variability in the pregnant and postpartum mare, fetus and newborn foal. *Theriogenology* **78**: 759-767.
- Národní hřebčín Kladruby nad Labem. Historie hřebčína a starokladrubských koní. Available from: <https://www.nhkladruby.cz/historie> (accessed July 2020).
- Národní hřebčín Kladruby nad Labem. Regenerační proces v chovu starokladrubského vraníka. Available from: <https://www.nhkladruby.cz/regeneracni-proces> (accessed July 2020).
- Newcombe JR. 2000. Embryonic loss and abnormalities of early pregnancy. *Equine Vet Educ* **12**: 88-101.
- Papa FO, Lopes MD, Alvarenga MA, Meira C, Luvizotto MCR, Langoni H, Ribeiro EF, Azedo AE, Bomfim ACD. 1998. Early embryonic death in mares: clinical and hormonal aspects. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.* **35**: 170-173.
- Pohlin F, Brabender K, Fluch G, Stalder G, Petit T, Walzer C. 2017. Seasonal Variations in Heart Rate Variability as an Indicator of Stress in Free-Ranging Pregnant Przewalski's Horses (*E. ferus przewalskii*) within the Hortobágy National Park in Hungary. *Frontiers in Physiology* **8**: 664.
- Pumpřla J, Sovová E, Howorka K. 2014. Variabilita srdeční frekvence: Využití v interní praxi se zaměřením na metabolický syndrom. *Interní Med.* **16**: 205-208.
- Rambags BPB, Colenbrander B, Stout TAE. 2003. Early pregnancy loss in aged mares: Probable causes and possible cures. *Pferdeheilkunde.* **19**.
- Reeder DM, Kramer KM. 2005. Stress in free-ranging mammals: integration physiology, ecology, and natural history. *Journal of Mammology* **86**: 225-235.
- Schwarzenberger F, Möstl E, Palme R, Bamberg E. 1996. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Anim Reprod Sci* **42**: 515-526.
- Vanderwall DK. 2008. Early Embryonic Loss in the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science* **28**: 691-702.
- Zharkikh T. 1999. The Cases of Infanticide in the Przewalskii Horses in Askania-Nova. 80-82.



