

L. Stádník a kol.

ZVÝŠENÍ EFEKTIVNOSTI EMBRYOTRANSFERU U HOLŠTÝNSKÝCH DOJNIC VYUŽITÍM HODNOCENÍ JEJICH TĚLESNÉ KONDICE



ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra speciální zootechniky

Kamýcká 129, Praha 6 - Suchbát, ČR

tel.: +420 224 383 057

e-mail: stadnik@af.czu.cz

www.czu.cz

ZDARMA - neprodejné

ISBN 978-80-213-2371-1

METODIKA

2013



Uplatněná certifikovaná metodika vznikla za podpory „S“ grantu
MŠMT a grantového úkolu MZe ČR, NAZV č. QI91A061.



ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra speciální zootechniky

ZVÝŠENÍ EFEKTIVNOSTI EMBRYOTRANSFERU
U HOLŠTÝNSKÝCH DOJNIC VYUŽITÍM
HODNOCENÍ JEJICH TĚLESNÉ KONDICE

UPLATNĚNÁ CERTIFIKOVANÁ METODIKA

AUTOŘI:

DOC. ING. LUDĚK STÁDNÍK, PH.D.

ING. ZDENKA HEGEDŮŠOVÁ, PH.D.

MVDR. ALEXANDER MAKAREVICH, DRSC.

RNDR. ELEN KUBOVIČOVÁ, PH.D.

PROF. ING. FRANTIŠEK LOUDA, DRSC.

ING. JAN BERAN, PH.D.

ING. MICHAELA NEJDLOVÁ

DEDIKACE:

UPLATNĚNÁ CERTIFIKOVANÁ METODIKA VZNIKLA
ZA PODPORY „S“ GRANTU MŠMT A MZE ČR, NAZV Č. QI91A061.

2013

Autorský kolektiv:

doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D.¹
Ing. Zdenka Hegedüšová, Ph.D.²
MVDr. Alexander Makarevich, Ph.D.²
RNDr. Elen Kubovičová, Ph.D.²
prof. Ing. František Louda, DrSc.^{1,2}
Ing. Jan Beran, Ph.D.¹
Ing. Michaela Nejdlová¹

- ¹ Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra speciální zootechniky, Kamýcká 129, 165 21, Praha 6 – Suchbátův
² Výzkumný ústav pro chov skotu s.r.o. Rapotín, Výzkumníků 267, 788 13 Víteňovice

Dedikace výsledků typu „N“ - Uplatněná certifikovaná metodika vznikla za podpory „S“ grantu MŠMT a MZe ČR, NAZV č. QI91A061.

Uplatněná certifikovaná metodika byla Ministerstvem zemědělství schválena dne 2.4.2013, pod č. 17210/2013-2.

Určení publikace:

Publikace je určena pracovníkům v oblasti chovu skotu. Mezi cílové skupiny lze zařadit chovatele, chovatelské svazy dojených plemen, řídicí pracovníky a poradce v oblasti chovu a šlechtění skotu.

Oponenti:

prof. Ing. Gustav Chládek, CSc.
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Ing. Pavel Hakl
MZe, odbor živočišných komodit – 17210,
Těšnov 17, 117 05 Praha 1

ISBN 978-80-213-2371-1

ZVÝŠENÍ EFEKTIVNOSTI EMBRYOTRANSFERU U HOLŠTÝNSKÝCH DOJNIC VYUŽITÍM HODNOCENÍ JEJICH TĚLESNÉ KONDICE

Abstrakt:

Cílem metodiky je vyhodnotit význam embryotransferu u dojníc v kontextu počtu realizovaných výplachů a přenosů embryí na úrovni národního i mezinárodního porovnání; popsat postupy hormonální přípravy a vyhodnotit odezvu krav s odlišnou tělesnou kondicí na synchronizaci a superovulaci definovanou počtem a kvalitou získaných embryí. Podrobný souhrn a aktualizace informací usnadní rozhodování chovatelů, zda embryotransfer využívat ve své plemenářské práci a správně celý proces organizovat s cílem optimalizace počtu a kvality získaných embryí. Z toho vyplývající další cíl je umožnit využitím základních faktorů následné dosažení významnějšího genetického zisku v kvalitě chovaných zvířat a jejich užitkových vlastnostech včetně zvýšení efektivity této nákladné biotechnologické metody. Na základě výsledků můžeme konstatovat, že nejlepší výsledky vykazovala skupina dárkyň s tělesnou kondicí (BCS) v hodnotách 3 - 3,75, při mléčné užitkovosti odpovídající průměru sledovaného stáda, tedy nádoji 3000 až 4000 kg mléka za prvních 100 dnů laktace.

Klíčová slova:

Embryotransfer, biotechnické postupy, superovulace, kondiční skóre, užitkovost, skot

INCREASING OF EMBRYOTRANSFER EFFECTIVENESS IN HOLSTEIN COWS USING THEIR BODY CONDITION EVALUATION

Abstract:

The aim of the methodology is to evaluate the importance of embryo transfer in dairy cows in the context of the number of completed irrigation and transfer of embryos at the level of national and international comparisons. Further aim is to describe hormonal preparation procedures and evaluate the response of cows with different body condition on the synchronization and super ovulation defined by the number and quality of embryos. Detailed summary and updates of information help breeders decide whether to use embryo transfer in their breeding work and properly organize the entire process in order to optimize the number and quality of the embryos. The next aim resulting of it is to enable achieve more significant genetic gain and utility parameters in the quality of livestock as well as increase the efficiency of this expensive biotechnical method by the use of the basic factors. Based on the results, we can conclude that the best results showed a group of donors with body condition (BCS) in values 3 – 3.75, when the milk yield corresponded of the average milk yield of the observed herd, thus yielding 3000 – 4000 kg of milk for the first 100 days of lactation.

Key words:

Embryo transfer, biotechnological processes, super ovulation, condition score, yield, cattle

Obsah

I.	Cíl metodiky	8
II.	Vlastní popis metodiky	9
	1. Současný stav a význam ET	9
	2. Faktory limitující využití embryotransferu	14
	2.1 Využití ET u dalších hospodářských zvířat	16
	3. Postup přípravy zvířat	17
	3.1 Hormonální ošetření dárkyň	17
	3.1.1. Synchronizace říje	17
	3.1.2. Superovulace	18
	3.1.3. Příprava příjemkyň	19
	4. Metodický postup výplachu embryí	19
	5. Metodické postupy přenosu embryí	23
	5.1 Postupy přenosu čerstvých embryí	23
	6. Vlastní výsledky	23
	6.1 Sledování vlivu tělesné kondice dojnic na výsledky provedeného embryotransferu	23
	6.1.1. Metodické postupy vlastní práce	23
	6.1.2. Výsledky	26
	7. Závěr a doporučení pro praxi:	29
III.	Srovnání „novosti postupů“	30
IV.	Popis uplatnění metodiky	30
V.	Ekonomické aspekty	31
VI.	Seznam použité související literatury	32
VII.	Seznam publikací, které předcházely metodice	33
VIII.	Dedikace na příslušný projekt	33

I. CÍL METODIKY

Cílem metodiky je vyhodnotit význam embryotransferu u dojnic v kontextu počtu realizovaných výplachů a přenosů embryí na úrovni národního i mezinárodního porovnání; vypracovat přehled postupů hormonální přípravy a také vyhodnotit odezvu krav s odlišnou tělesnou kondicí na synchronizaci a superovulaci definovanou počtem a kvalitou získaných embryí. Podrobný souhrn a aktualizace informací usnadní rozhodování chovatelů, zda embryotransfer využívat ve své plemenářské práci a správně celý proces organizovat s cílem optimalizace počtu a kvality získaných embryí. Z toho vyplývající další cíl je umožnit využitím základních faktorů následné dosažení významnějšího genetického zisku v kvalitě chovaných zvířat a jejich užitkových vlastnostech včetně zvýšení efektivity této nákladné biotechnologické metody.

II. VLASTNÍ POPIS METODIKY

1. Současný stav a význam ET

Metoda přenosů embryí zasahuje do procesu reprodukce a šlechtění převážně u vysokoužitkových jedinců. Hlavním cílem embryotransferu je produkovat více potomstva od vynikajících rodičovských párů při současném zkrácení generačního intervalu. Využívání přenosu embryí ve šlechtění přináší reálný genetický zisk a tím i ekonomický efekt pro chovatele i dané plemeno.

Přenos embryí v souvislosti s rozvojem dalších biotechnologií - metod OPU (zisk oocytů z ovarii živých dárkyň), identifikace pohlaví, IVP metod (metody in vitro) bude i nadále působit pozitivně z hlediska šlechtění, zejména u dojených plemen skotu. Zhoršené reprodukční parametry špičkových dojnic související se změnami vnitřního prostředí organismu způsobenými metabolickou zátěží, je možné eliminovat právě metodami produkce embryí. Získaná embrya od vysokoužitkových krav lze s vysokou úspěšností uchycení embrya přenést do jalovic. Narozené jedince - jalovičky lze úspěšně odchovat a zařadit do dalšího chovu.

Využívání ET u dojených plemen je zaměřeno na genetické zvyšování úrovně chovaných plemen, zkrácení generačního intervalu, možnost zisku embryí od jalovic nezatížených produkcí ještě před zařazením do klasického reprodukčního procesu.

Počet přenosů embryí skotu má ve světě trvale stoupající tendenci, v České republice však počty provedených přenosů klesají od roku 2004 a výplachů od roku 2006.

V roce 2011 bylo v ČR vypláchnuto pouze 82 dárkyň, což je o 1128 méně oproti roku 2006. Počet přenosů se radikálně snížil, v roce 2004 bylo provedeno v ČR 6427 přenosů, v roce 2011 to bylo pouze 182. Došlo také ke snížení průměrného počtu přenosuschopných embryí z výplachu, v roce 2011 jsou uváděna pouze 3,4 embrya na dárkyni, zatímco v roce 2004 to bylo 5,4 (Annual Meeting A.E.T.E., 2005 - 2012). Uvedené snížení efektivity embryotransferu může souviset se zvyšující se užitkovostí dojnic v ČR, ale se snižujícím se počtem výplachů embryí může teoreticky také docházet ke zhoršování praktických zkušeností reprodukčních techniků, s touto reprodukční biotechnologickou metodou.

V současné době odpovídají u nás používané technologické postupy a vybavení světovému standardu a i dosahované výsledky v uplynulých letech byly srovnatelné s chovatelsky vyspělými zeměmi. I přes klesající počty přenosů embryí, stále tato metoda představuje z hlediska genetického přínosu významnou biotechnologickou metodu v chovu skotu.

Podle údajů Evropské společnosti pro přenosy embryí (A.E.T.E.) bylo v roce 2011 provedeno v Evropě 23480 výplachů dárkyň a 121490 nechirurgických přenosů embryí. V rámci Evropy se počty provedených výplachů a přenosů stále zvyšují.

Stav metody přenosů embryí u skotu v ČR komentuje ve své práci PETELÍKOVÁ (2008) - aktivita ET v roce 2007 v porovnání s rokem 2006 byla méně úspěšná. Došlo nejen k poklesu počtu přenosů embryí, ale i ke snížení počtu vyplachovaných dárkyň, zejména u mléčných plemen, k nižšímu počtu získaných přenosuschopných embryí a k poklesu počtu uložených zmrazených embryí. Důvodem tohoto stavu může být skutečnost, že se změnila dotační politika státu ve vztahu k realizaci ET. Někteří chovatelé přestali s ohledem na vysoké náklady tuto metodu používat, proto je nezbytné optimalizovat nejen technologické postupy, ale i výběr dárkyň s cílem maximalizovat efektivitu embryotransferu vyjádřenou především počtem přenosuschopných embryí.

Tab. 1 Přehled počtu provedených ET v ČR (1983 - 2011)

Rok	Počet dárkyň	Počet přenosů
1983	120	72
1985	1070	2553
1990	3064	11182
1995	1189	3833
2000	1027	4928
2001	1036	4930
2002	1321	5901
2003	1073	5920
2004	1184	6427
2005	1151	5575
2006	1210	6075
2007	1002	5880
2008	469	2245
2009	255	1725
2010	229	1213
2011	82	182

Tab. 2 Podrobný přehled rozsahu a výsledků ET 2006 - 2011 – Česká republika

Ukazatel	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Počet dárkyň (výplachů)	1210	1002	469	255	229	82
Počet získaných embryí	13357	10589	5072	2966	2365	455
- vhodných k přenosu	6383	5451	2654	1556	1180	275
Průměr na dárkyni	5,3	5,4	5,7	6,1	5,1	3,4
Počet přenosů	6075	5880	2245	1725	1213	182

Pro potřebu praktického využívání ET byly vypracovány komplexní technologické postupy a v ČR je dostatek kvalifikovaných specialistů schopných tyto postupy zajistit. Výsledky v letech 2007-2010 jsou srovnatelné s těmi, které jsou dosahovány v chovatelsky vyspělých zemích. V tab. 3 jsou pro srovnání uvedeny výsledky ET ve vybraných evropských zemích, které každý rok zveřejňuje organizace AETE. Hodnoty dokumentují standardní úroveň průměrného počtu získaných embryí na dárkyni při mezinárodním porovnání i vyrovnané počty dárkyň (výplachů) v jednotlivých zemích během sledovaného období. Výjimkou jsou pouze výsledky ČR, ve které průběžně klesá počet vypláchnutých dárkyň a také výrazně klesl počet získaných embryí na dárkyni (z 6,1 embrya v roce 2009 na 3,4 embrya v roce 2011).

Tab. 3 Výsledky ET ve vybraných evropských zemích (Zdroj: IETS 2011)

Ukazatel	ČR	AUS	DEU	FRA	ITA	POL
	2002					
Počet dárkyň (výplachů)	1321	84	2567	6797	1078	72
Počet získaných embryí	12187	1525	23693	66031	15428	497
- vhodných k přenosu	5945	883	14099	37725	7576	289
Průměr na dárkyni	4,5	10,5	5,49	5,55	7,03	4,01
Počet přenosů	5901	776	10141	32720	6504	345
	2007					
Počet dárkyň (výplachů)	1002	170	2430	5753	2350	16
počet získaných embryí	10589	1848	28012	54733	24660	97
- vhodných k přenosu	5451	1084	16305	31282	13144	72
Průměr na dárkyni	5,4	6,4	6,7	5,4	5,6	4,5
Počet přenosů	5880	857	13929	33827	12153	253
	2008					
Počet dárkyň (výplachů)	469	138		5856	2089	27
Počet získaných embryí	5072	1588	30755	55356	19803	178
- vhodných k přenosu	2654	1096	17377	31841	12224	91
Průměr na dárkyni	5,7	7,9		5,4	5,9	3,4
Počet přenosů	2245	715	15149	27403	14697	165
	2009					
Počet dárkyň (výplachů)	255	118	2445	nepublikováno	1922	76
Počet získaných embryí	2966	1290	26504		18367	659
- vhodných k přenosu	1556	883	16098		11341	432
Průměr na dárkyni	6,1	7,5	6,6		5,9	5,7
Počet přenosů	1725	585	15724		12506	494
	2010					
Počet dárkyň (výplachů)	229	nepublikováno		5714	2039	86
Počet získaných embryí	2365		23572	50680	18856	729
- vhodných k přenosu	1180		14596	29585	11035	510
Průměr na dárkyni	5,1			5,2	5,4	5,9
Počet přenosů	1213		15553	29155	11625	510
	2011					
Počet dárkyň (výplachů)	82	37	2215	5665	2103	84
Počet získaných embryí	455		24055	50660	19680	644
- vhodných k přenosu	275	162	14780	29966		476
Průměr na dárkyni	3,4	4,4	6,7	5,3	6,2	5,7
Počet přenosů	182	147	16295	29747	13451	450

V tab. 4 a 5 jsou uvedeny počty a úspěšnost provedených výplachů embryí v Evropě a dalších světadílech. Vysoké počty ET jsou prováděny v Severní Americe (51735 výplachů a 253671 přenosů embryí). Uvedené hodnoty dokumentují vysoký význam ET jako metody umožňující intenzifikaci reprodukčního procesu i šlechtění dojnic.

Tab. 4 Přehled rozsahu a výsledků ET v Evropě v období let 2009 - 2011

Rok	Počet vypláchnutých		
	dárkyň	vhodných embryí	vhodných embryí/ dárkyni
2009	16856	94148	5,82
2010	17694	117913	6,66
2011	23480	108711	4,6
Rok	Počet provedených přenosů		
	celkem	čerstvých embryí	zmrazených embryí
2009	90270	39142	51074
2010	109414	48555	60859
2011	121490	48856	72634

Zdroj: IETS 2011

Tab. 5 Přehled rozsahu a výsledků ET ve světovém měřítku v roce 2010

Světadíl	výplachů	vhodných embryí	Počet přenesených embryí		
			čerstvých	zmrazených	celkem
Afrika	1515	9738	4685	3730	8415
Asie	12986	131718	34148	53590	87738
Evropa	17694	117813	48555	60859	109414
Severní Amerika	51735	338540	106400	147271	253671
Jižní Amerika	12263	77643	47353	24205	71558
Oceánie	8458	56775	21895	37870	59765
Celkem	104651	732227	263036	327525	590561

Zdroj: IETS 2011

2. Faktory limitující využití embryotransferu

Biotechnologie se využívají v chovu skotu k dosažení vyššího počtu potomstva a zlepšení genotypu (GALLI et al., 2003). Embryotransferem (ET) je možné dosáhnout lepšího využití dojníc, dosáhnout genetický pokrok a zkrátit generační interval (DOHY, 1999). Posledních 30 let byl embryotransfer slibným nástrojem pro produkci embryí a zlepšování genetického potenciálu u různých druhů zvířat (MERTON et al., 2003). Embryotransfer nabízí mnoho výhod v chovu hospodářských zvířat, nabízí také možnost zvýšit celkovou míru pokroku ve šlechtění pro zvýšení produktivity (GREVE et al., 2005).

Hodně let bylo úspěšně věnováno výzkumu nových technologií v rámci embryotransferu, zatímco základní postup superovulace prošel za posledních 20 let jen málo změnami. Největší problém v rámci ET je nespolehlivost superovulační reakce, jejíž široká variabilita výrazně zvyšuje náklady ET (SZABARI et al., 2008), protože pro získání potřebného počtu embryí je nutné připravit různý, zpravidla výrazně větší počet dárkyň.

Stále nejsou úplně známy faktory, které vedou k variabilitě zisku embryí. Tyto vlivy zahrnují typ gonadotropinu, jeho dávkování, délku aplikace i použití dalších hormonů v superovulačním schématu. Dále se na projevu vlastnosti podílejí faktory vnitřní a vnější (ALVAREZ, 1994; KAFI a MCGOWAN, 1997). Mezi vnitřní faktory patří genetika (plemena a jednotlivá zvířata, která jsou více či méně citlivá na gonadotropin), fyziologické vlastnosti (věk, folikulární dominance, přítomnost a kvalita populace folikulů v době superovulace, případné opakování superovulace), stav výživy (tělesná kondice a deficity nebo přemíra živin); podmínky vnitřního prostředí (vaječníků, dělohy a vejcovodu). K vnějším faktorům patří používání různých komerčních přípravků folikulostimulačního hormonu (FSH) a jejich dávkování, způsob podání, roční období, věk plemenic, jejich historická reprodukční výkonnost a také různé řízení reprodukce plemenic (BREUEL et al.; 1991, ALVAREZ, 1994; KAFI a MCGOWAN, 1997).

V posledních letech je ve vztahu k plodnosti dojníc věnována velká pozornost hodnocení tělesné kondice jako významného faktoru řízení výživy, zdravotního stavu, úrovně reprodukce, dlouhověkosti a celkové ekonomiky chovu skotu.

Nepříznivý účinek délky období negativní energetické bilance (NEB) a její hloubky, přebytku proteinů, deficitu vitamínů, toxického vlivu močoviny a dalších metabolitů na plodnost krav je všeobecně znám. NEB se odráží ve změně tělesné kondice (BCS – body condition score) v první fázi laktace, což se v konečném důsledku projeví negativním dopadem na plodnost. Metoda bodového hodnocení tělesné kondice charakterizuje výživný stav každého jedince ve stádě a postihuje individuální variabilitu využití živin. Pro chovatele pak může tato metoda sloužit jako vhodná pomůcka pro usměrňování výživy stáda i jednotlivých zvířat. Vztah

mezi bodovým hodnocením kondice a vlastní hmotností zvířat není lineární, protože stejnou hmotnost může mít kráva velká a kostnatá, ale také malá a zavalitá.

Nedostatky v krmné dávce negativně ovlivní také vývoj ovariálních folikulů. Z dietetického hlediska jsou problematické hlavně dojnice s vysokými požadavky na příjem krmiva, u kterých je důležitý soulad potřeby příjmu energie, mléčné užitkovosti a tělesné kondice tak aby byly zachovány potřebné mechanismy folikulogeneze zabezpečující normální průběh reprodukčních cyklů.

Nesoulad mezi přísunem živin a jejich potřebou naruší vnitřní prostředí dojnic včetně jejich metabolismu. Tento nesoulad následně ovlivňuje také pohlavní funkce a jejich regulační mechanismy hypotalamo-hypofyzárního-ovariálního systému. Dochází k poruše syntézy a sekrece gonadotropních releasing hormonů (GnRH) a gonadotropinů hypofýzy - folikulostimulačního (FSH) a luteinizačního hormonu (LH), což vede k poruchám metabolismu steroidních hormonů vaječníků a zhoršení plodnosti dojnic. Vysoké hladiny proteinů mohou negativně ovlivňovat sekreci progesteronu a zvyšovat obsah močoviny v krvi a tím toxicky působit na vyvíjející se embryo. Rozhodující vliv na plodnost dojnic a vývoj embryí a plodů má adekvátní, vyvážená a toxicky nezávadná KD.

Opožděný nástup říje způsobený například vysokou produkcí mléka anebo prodloužením období negativní energetické bilance u krav s nízkými, ale i vysokými hodnotami BCS je spojený se změnami v metabolismu a endokrinním stavu krav. Změny metabolismu a endokrinního stavu spojené s vysokou anebo nízkou hodnotou tělesné kondice krav následně vedou ke změnám dynamiky ovariálních folikulů, ovlivňují vývoj a kvalitu oocytů, změny sekrece LH, ukončení vývoje žlutého tělíska a tím také snižují až nulují koncentraci progesteronu v krvi.

Poruchy tvorby žlutého tělíska (CL) a jeho nedostatečná funkční aktivita u krav s nízkou (BCS 1 a 2) a vysokou (BCS 4 a 5) hodnotou tělesné kondice a zkrácené luteální fáze (žluté tělísko s krátkou životností) mohou způsobovat neplodnost. Žluté tělísko u těchto dojnic produkuje nízké hladiny progesteronu, které nedokáže potlačit luteolytický efekt prostaglandinů. Tyto vztahy byly prokázány u spontánních synchronizovaných ovariálních cyklů. Existuje předpoklad, že superovulace jako součást přípravy dojnice na ET uvedené vztahy zvýrazňuje a zvyšuje význam dostupnosti energie v organismu dojnice pro optimální průběh přípravy na ET včetně zvýšení počtu a zlepšení kvality získaných embryí. Výsledky superovulace se vyznačují velkou variabilitou, která je dána řadou faktorů s větším či menším významem. Obecně platí, že dárkyně musí být ve výborné kondici, aby jejich regulační endokrinní mechanismy zvládly nefyziologickou situaci při superovulaci (PETELÍKOVÁ, 2004), náročnější na dostatek energie, jejímž rychlým zdrojem jsou např. zásoby podkožního tuku vyjádřené tělesnou kondicí.

Pochopení faktorů, které se podílejí na produkci embryí je důležité pro efektivní zootechnické i ekonomické využití embryotransferu (SILVA et al., 2009). Proto je

cílem vyhodnotit odezvu krav na synchronizaci definovanou počtem a kvalitou získaných embryí a superovulaci ve vztahu k rozdílným úrovním tělesné kondice s cílem maximalizovat efektivitu této nákladné biotechnologické metody.

2.1 Využití ET u dalších hospodářských zvířat

Prasata

V chovu prasat je situace využití embryotransferu poněkud jiná. Odlišnosti jsou dány rozdíly v reprodukčních schopnostech a fyziologii a dále pak obtížemi spojenými s druhovou odlišností přežvýkavců a prasat. U skotu je možné získávat embrya nechirurgickým transcervikálním výplachem děložních rohů, nechirurgickou transcervikální cestou přenášet embrya, bez problémů je uchovávat a konzervovat při nízkých teplotách a v tomto stavu je transportovat na velké vzdálenosti. U prasat je nezbytné pro získávání embryí provést laparoskopický chirurgický odběr a dříve pouze chirurgický způsob přenosu, i když dnes se již experimentálně propracovává nechirurgický transcervikální způsob přenosu. Největší obtíže však přináší kryokonzervace embryí prasat. Touto otázkou se výzkum stále zabývá.

Ovce, kozy

U ovcí je uplatňován podobný způsob indukce superovulace jako u skotu. Nejběžněji používaným preparátem pro vyvolání superovulace u ovcí byl dříve pregnant mare serum gonadotropin (PMSG). V 80. letech se dostaly na trh komerční preparáty obsahující FSH (např. FSH-P).

Základní chirurgický postup odběru a přenosu embryí ovcí vypracovali v padesátých letech ROWSON et al. (1971). NELLENSCHULTE a NIEMANN (1992) popsali odběr a přenos ovčích embryí metodou laparoskopie. STEYN et al. (1993) porovnali metodu laparoskopie s chirurgickou metodou a zjistili, že chirurgická metoda nepříznivě ovlivnila fertilitu v následujících reprodukčních cyklech.

Řadu let byla ovčí embrya získávána metodou chirurgického výplachu – v současné době je k odběru používána metoda laparoskopická. K odběru a uchovávání ovčích embryí jsou používána různá média. Embrya by měla být přenesena do kvalitního kultivačního prostředí co možná nejdříve po odběru a lze je v nich uchovat po několik hodin při laboratorní teplotě za předpokladu, že je vyloučena kontaminace média. K přenosu jsou používána obvykle 3 až 7-denní embrya. Podobně jako u skotu (ŘÍHA, 1993) je podle názoru některých odborníků vitifikace považována za možný způsob náhrady využívání nákladných programovatelných kryogenních jednotek v praktických podmínkách (<http://biostasy.com/Controller.html>).

3. Postup přípravy zvířat

Příprava dárkyň a příjemkyň vychází z obecných principů a zahrnuje následující postup:

- výběr dárkyň a synchronizace jejich pohlavního cyklu
- superovulační ošetření
- synchronizaci pohlavních cyklů příjemkyň (říje v den inseminace dárkyň)
- inseminaci a reinseminaci dárkyň
- 7. den po 1. aplikaci inseminační dávky výplach a odběr embryí a přenos čerstvých embryí příjemkyním, popřípadě zamrazení embryí.

3.1 Hormonální ošetření dárkyň

3.1.1. Synchronizace říje

ROWSON et al. (1971) dokázal, že synchronizaci říje u krav během jejich luteální fáze lze navodit aplikací prostaglandinu F2 α (PGF2 α). V dalších letech byly vyrobeny analogy, které jsou v porovnání s přírodním prostaglandinem účinnější. Předpokladem efektivního výsledku jsou cyklující plemence, aplikace musí být provedena v době, kdy má žluté tělísko (corpus luteum, CL) receptory na PGF2 α . Uvádí se jako vhodný termín od 5. do 17. dne cyklu. Aplikace je účinná, pokud byla detekována říje a ovulace byla potvrzena zjištěním CL. Říje se dostaví za 3-4 dny, kdy se provádí inseminace.

Výsledky synchronizace říje preparáty PGF2 α pro účely přenosu embryí je možné shrnout asi takto:

- ošetření zvířat je jednoduché,
- nástup říje je cca 36 až 72 hodin po aplikaci účinné látky,
- ošetření prostaglandinem umožňuje inseminaci v předem stanovené době, tj. 72 hodin
- zabřezávání po inseminaci v synchronizované říji je srovnatelné s fertilitou po inseminaci ve spontánní říji.

Podle názoru řady našich i zahraničních autorů široké použití PGF2 α a jeho syntetických analogů vyřešilo uspokojivě otázku synchronizace cyklu dárkyň a příjemkyň.

3.1.2. Superovulace

Superovulační ošetření

S cílem regulovat cyklus říje zvířat, byly do současné doby u dejených plemen i plemen masného typu skotu použity různé gonadotropiny v kombinaci s progesteronem nebo PGF2 α . Superovulace vyžaduje aplikaci přípravků na bázi gonadotropinů schopných imitovat efekt folikul-stimulačního hormonu (FSH). Důležité je, aby hormony působily delší dobu a umožnily růst folikulů a dozrání oocytů, což je základním předpokladem úspěšného oplodnění.

Úspěšná superovulace je v současné době limitujícím faktorem pro široké uplatnění přenosů embryí u skotu. K vyvolání superovulace se v našich podmínkách nejčastěji používá FSH, preparát Folicotropin (Spofa Praha, ČR) a v posledních letech preparát Pluset (Bioniche Animal Health, Španělsko). Jedná se o přírodní preparát získaný extrakcí vepřových nebo ovčích hypofýz. Základním principem je stimulace folikulárního systému podáním vyšších dávek FSH, než jsou jeho endogenní hladiny (ŘÍHA, 1990). Polyovulace dárkyně (superovulace) je prozatím hlavním zdrojem vhodných embryí k přenosu, i když se využívají další postupy, jako je např. získávání ovariálních oocytů, jejich kultivace a zrání v podmínkách in vitro, oplození in vitro a jejich další kultivace do přenosuschopného stadia.

Tab. 6 Příklad harmonogramu superovulačního ošetření (GALLI et al., 2003)

	Úkon	Dávkování a časový rozpis	
	Dárkyně		
1.	Gynekologické vyšetření		
2.	Aplikace Oestrophanu (OE)	3 ml	
3.	Kontrola říje		
4.	VYŠETŘENÍ CL (corpus luteum)		
		Ráno: 6-8 hod.	Večer: 18-20 hod.
5.	Aplikace Plusetu (FSH)	2 ml	2 ml
6.	Aplikace FSH	1,5 ml	1,5 ml
7.	Aplikace FSH + OE (3ml)	1 ml	1 ml + OE
8.	Aplikace FSH	0,5 ml	
9.	Inseminace	celkem 4 x	8-10 hod.
10.	Inseminace		18-20 hod.
		7-9 hod.	14-16 hod.
11.	ODBĚR EMBRYÍ	1000 ml transfermedium, 5 ml OE	

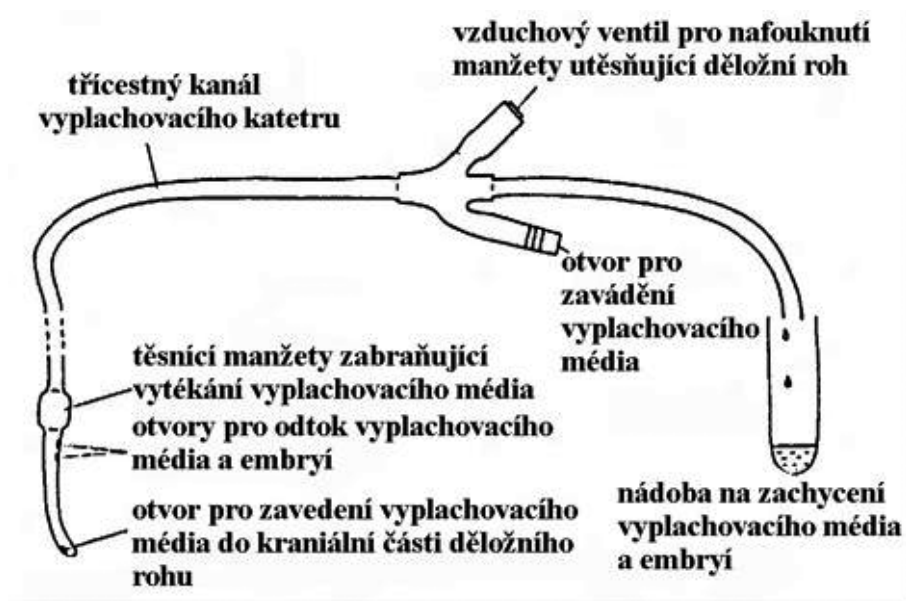
3.1.3. Příprava příjemkyň

Příprava příjemkyň vychází z toho, že estrální cyklus příjemkyně musí být synchronizovaný s cyklem dárkyně, tedy příjemkyně má být v říji v den inseminace dárkyně. Říje u příjemkyň před přenosem může být buď spontánní, nebo indukovaná prostaglandinem. Ošetření PGF2 α se provádí buď 7. - 17. den po známé říji nebo při rektálním/sonografickém zjištění přítomnosti CL na vaječníku.

4. Metodický postup výplachu embryí

Nechirurgický odběr embryí se provádí vždy 7. den po 1. aplikaci inseminační dávky (ŘÍHA et al., 1988) výplachem kraniálních částí děložních rohů 300 ml komerčního vyplachovacího media (Bioniche Animal Health, Španělsko). V posledních letech se využívá dvoucestný nebo třícestný katetr. Následující obrázky dokumentují vybrané fáze výplachu a hodnocení embryí.

Obr. 1 Princip vícečetného katetru pro výplach embryí



Obr. 2 Výplach embryí



Obr. 3 Oddělení výplaškové tekutiny z filtru



Obr. 4 Prohlédávání výplaškové tekutiny pod stereomikroskopem



K přenosu jsou nejvhodnější vývojová stádia: kompaktní morula, časná blastocysta a blastocysta.

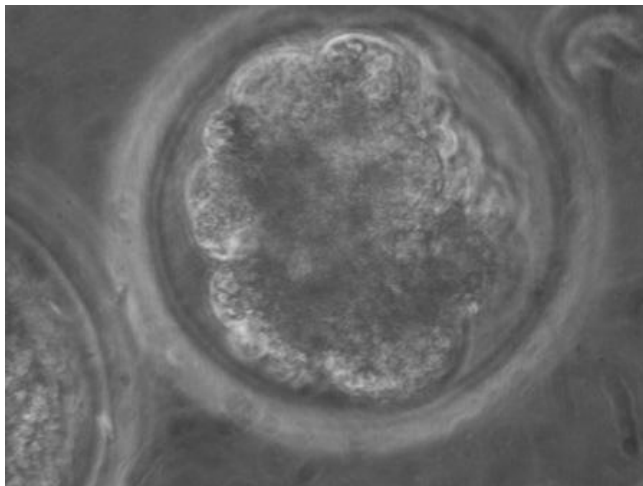
Nejčastěji používaná kritéria pro zařazení embryí do vývojových stadií:

- **oocyt** – neoplozené vajíčko – vaječná buňka před oplozením, charakteristická homogenním stavem ooplazmy
- **zygota** – útvar po oplození
- **časná morula** – 4. až 5. den po oplození, útvar o 16 až 32 buňkách s patrnými jednotlivými blastomery
- **morula** – 5. den; embryo o více než 32 buňkách, u kterého jsou patrné jednotlivé blastomery (Obr. 5)
- **pozdní nebo-li kompaktní morula** – 6. až 7. den, jednotlivé blastomery nelze rozeznat
- **časná blastocysta** – 7. den, začíná se tvořit prvotní dutina – blastocel, blastomery embrya se diferencují na embryoblast a trofoblast, buněčný obsah nevyplňuje prostor zóny pellucidy
- **blastocysta** – 7. až 8. den, blastocelová dutina je zřejmá
- **expandovaná blastocysta** – 8. až 9. den, diferenciací buněk ukončena, trofoblast jednovrstevný.
- **blastocysta po opuštění ZP** – „hatching“ blastocysta (Obr. 6)

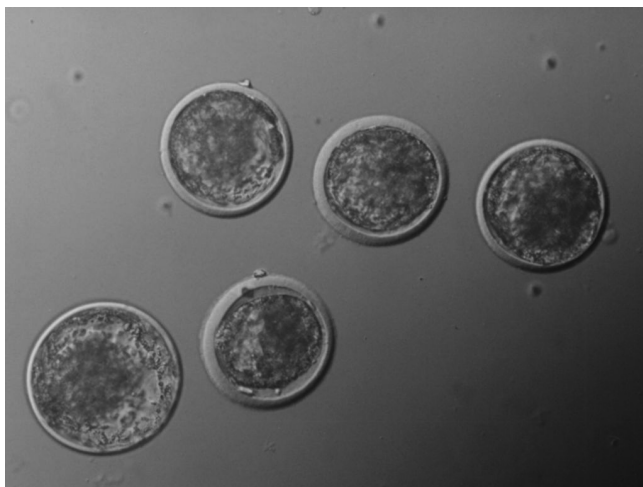
Klasifikace a kritéria výběru embryí skotu na základě:

- a) morfologických vlastností
- b) chronologické vývojové posloupnosti (deset stadií, značení mezinárodním číselným kódem 1-9)
- c) kvality embrya (4 stupně kvality, značení mezinárodním číselným kódem 1-4)

Obr. 5 Morula



Obr. 6 Blastocysty



5. Metodické postupy přenosu embryí

Získaná embrya jsou po určení stádia rozdělena na embrya určená k přenosu a ke zmrazení. Zmrazování embryí probíhá podle stanoveného metodického postupu.

5.1 Postupy přenosu čerstvých embryí

Čerstvá embrya jsou přenesena do recipientek, které byly v průběhu hormonální přípravy synchronizovány a jsou ve stejné fázi ovariálního cyklu jako dárkyně. Embrya se pro transport naplní do pejet po jednom (komerční médium, Bioniche Animal Health, Španělsko). Po transportu se embrya přenáší do ipsilaterálního děložního rohu k vaječníku s dostatečně vyvinutým CL.

6. Vlastní výsledky

6.1 Sledování vlivu tělesné kondice dojnic na výsledky provedeného embryotransferu

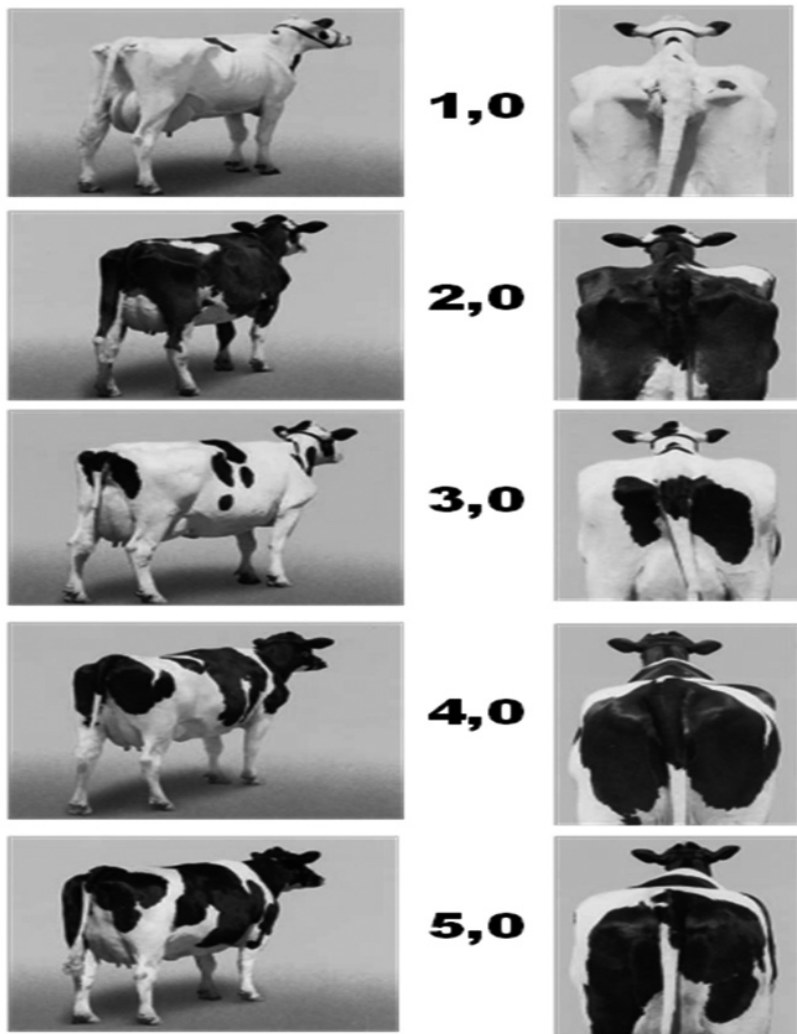
6.1.1. Metodické postupy vlastní práce

V letech 2011 a 2012 byl sledován vliv tělesné kondice na zisk a kvalitu získaných embryí při využití ET. Bylo hodnoceno celkem 64 výplachů 58 holštýnských dojnic realizovaných na farmě Ruda (ŠZP Lány). Plemence zařazené do přípravy na ET byly v 1. až 5. laktaci při průměrném pořadí laktace 1,9. Jejich tělesná kondice při ET se pohybovala v rozpětí 2,0 až 5,0 bodu s průměrnou hodnotou 2,85 bodu. Výplachy embryí byly realizovány v průměru 142. den laktace. Všechny dojnice byly před zahájením přípravy na ET sonograficky vyšetřeny a zařazeny do schématu hormonálního ošetření v případě nálezu žlutého tělíska, předchozích dobrých reprodukčních výsledků a požadované aktuální tělesné kondice.

Hodnocení kondičního skóre

Kondiční skóre v experimentu hodnotil zootechnik chovu před provedením výplachu s přesností na 0,25 bodu dle metodiky hodnocení BCS pro holštýnské dojnice – viz obr. 7.

Obr. 7 Hodnocení tělesné kondice (BCS) podle Edmonsona a kol. (1989)



1,0 - vyhublost, 2,0 – tendence k vyhubnutí, 3,0 – optimální tělesná kondice, 4,0- tendence k přetučnění, 5,0 – přetučnělost

Superovulační ošetření

Aplikované superovulační ošetření zahrnovalo u sonograficky klinicky zjištěných cyklujících zvířat (den 0) synchronizaci pohlavních cyklů jednou aplikací prostaglandinu (Oestrophon, léčiva Praha) v dávce 0,5 µg PGF2α. Po kontrole vývoje

žlutého tělíska (CL, 3. den) byly dárkyně od 13. do 16. dne pohlavního cyklu ošetřeny preparátem folikulostimulujícího hormonu FSH Pluset po 3 dny ráno v 7.00 a večer v 19.00 hodin, 4. den pak jen ráno v 7.00 hodin. Současně pak 15. den byl ráno i večer opakovaně aplikován Oestrophan s cílem indukce říje.

Aplikovaný harmonogram přípravy dárkyň a příjemkyň pro ET

(Synchronizace říje 1 aplikací Oestrophanu – základním předpokladem efektu je přítomnost CL)

Příprava dárkyň			
Den ošetření	Datum	Ráno	Večer
0		Vyšetření na CL + Oestrophan 2ml	
3		Kontrola říje	
12		Vyšetření velikosti a vývoje CL	
13		Aplikace Pluset (3 ampule) 7 hod.	Aplikace Pluset (3 ampule) 19 hod.
14		Aplikace Pluset (2 ampule) 7 hod.	Aplikace Pluset (2 ampule) 19 hod.
15		Aplikace Pluset (1 ampule) + aplikace 2ml Oestrophanu 7 hod.	Aplikace Pluset (1 ampule) + aplikace 2ml Oestrophanu 19 hod.
16		Aplikace FSH (1 ampule) 7 hod.	
17		Inseminace (12 hod. po příznacích říje); v 8 hod.	Reinseminace 18-19 hod.
18		Reinseminace v 8. hod.	Reinseminace v 15-16 hod.
24		Výplach embryí	

Inseminace

Od 17. dne probíhala inseminace všech sledovaných dojnic podle stejného časového harmonogramu, který zahrnoval inseminaci ráno mezi 8.00 a 9.00 a reinseminaci odpoledne mezi 18.00 a 19.00. Další reinseminace pak byly realizovány 18. den ráno v 8.00 a odpoledne mezi 15.00 a 16.00. Všechny dojnice byly inseminovány stejným inseminačním technikem za použití inseminačních dávek 1 plemenného býka vyrobených v 1 šarži.

Odběr a hodnocení embryí

Nechirurgický odběr embryí byl prováděn vždy 7. den po 1. aplikaci inseminační dávky obvyklým způsobem (ŘÍHA et al., 1988, PETELÍKOVÁ 2004) výplachem kraniálních částí děložních rohů 300 ml média doplněného Krebs-Ringer fosfátu s 1 % inaktivovaného bovinního séra (BOS, Bioveta, Ivanovice na Hané, ČR). Embrya byla izolována z výplaškové tekutiny pod stereomikroskopem a morfologicky hodnocena.

Použité statistické metody pro vyhodnocení výsledků

Při zpracovávání výsledků byl použit program Excel, verze 2000. Při hodnocení vlivů na počet a kvalitu embryí byla použita metoda GLM (general linear models). Statistické hodnocení počtů získaných embryí celkem a vhodných k přenosu bylo provedeno pomocí zobecněných lineárních modelů se smíšenými efekty v prostředí statistického programu R verze 2.9.1., v knihovně lme4, verze 0.999375-31.

6.1.2. Výsledky

Zisk a kvalita embryí u dojnic dle zjištěné užitkovosti je uvedena v tab. 7 a znázorněna obr. 8. Nejvyšší počty celkem vypláchnutých a získaných embryí vhodných k přenosu byly zjištěny u dojnic se zjištěnými hodnotami kontroly užitkovosti za 100 dnů laktace (KU 100) mezi 3000 – 4000 kg – 5,24 embrya celkem a 3,52 embrya vhodného k přenosu. Rozdíly vůči ostatním skupinám představovaly 1,45 až 2,16 embrya celkem a 1,2 až 1,52 embrya schopného přenosu. Hodnoty počtů neoplozených a degenerovaných embryí byly ve všech skupinách relativně vyrovnané.

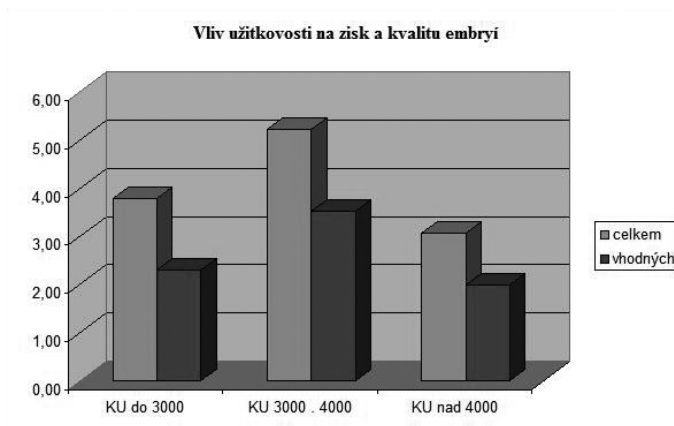
Nejnižší hodnoty byly zjištěny u skupiny dojnic s užitkovostí za prvních 100 dnů laktace nad 4000 kg – 3,08 embrya celkem a 2,0 embrya vhodná k přenosu. Stejně tak byly detekovány nižší počty embryí celkem i přenosuschopných u dojnic s podprůměrnou dojivostí (do 3000 kg mléka).

Tab. 7 Vliv mléčné užitkovosti na zisk a kvalitu embryí

Vypláchnuto				
KU 100 (kg)	celkem	neoplozených	degenerovaných	vhodných
do 3000 (n = 19)				
LSM	3,79	0,26	1,21	2,32
SE	4,21	0,56	2,04	2,75
3000 – 4000 (n=27)				
LSM	5,24	0,29	1,25	3,52
SE	5,01	0,53	2,44	2,77
nad 4000 (n=17)				
LSM	3,08	0,33	0,75	2,00
SE	3,34	0,65	1,06	2,70

LSM – průměr nejmenších čtverců, statistická hodnota počtu získaných embryí
SE – střední chyba LSM

Obr. 8 Vliv mléčné užitkovosti dojníc na zisk a kvalitu embryí



Význam hodnocení tělesné kondice se ukázal při sledování vlivu kondice na zisk a kvalitu embryí (Tab. 8 a Obr. 9). Sledovaná zvířata byla rozdělena podle určené kondice do tří skupin – dojnice s tělesnou kondicí do 2,75 bodu (n=36), kondicí 3,0 - 3,75 bodu (n=18) a kondicí 4,0 - 5,0 bodů (n=10). Nejvyšší zisk a kvalita embryí byla zjištěna u skupiny s kondicí 3,0 - 3,75 bodu – 5,82 embrya celkem a 4,06 embrya vhodného k přenosu – tab. 8. Rozdíly vůči ostatním skupinám se pohybovaly v rozpětí

1,43 až 4,42 v počtu celkem vypláchnutých embryí a 1,38 až 2,86 přenosuschopných embryí. Což v % vyjádření představovalo o 32,6 % až 204 % vyšší počet embryí celkem a 51,5 % až 70,4 % vyšší počet embryí vhodných k přenosu. Vzhledem k vysoké variabilitě však byly, i přes jednoznačnou tendenci, rozdíly zjištěny jako neprůkazné ($P>0,05$).

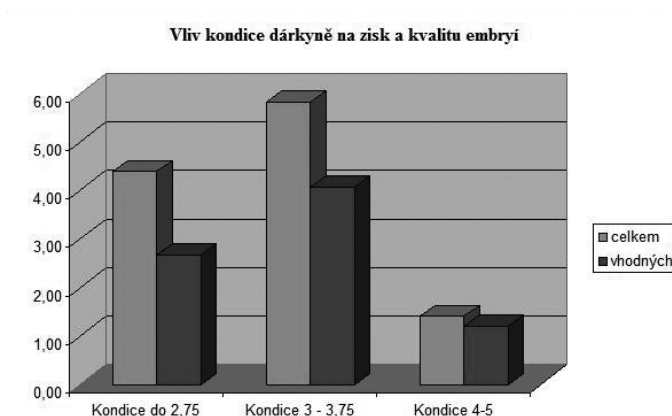
Tab. 8 Vliv tělesné kondice dárkyň na zisk a kvalitu embryí

Tělesná kondice	Vypláchnuto			
	celkem	neoplozených	degenerovaných	vhodných
do 2,75 (n=36)				
LSM	4,39	0,35	1,32	2,68
SE	4,53	0,61	2,36	2,57
3 - 3,75 (n=18)				
LSM	5,82	0,35	1,41	4,06
SE	4,59	0,61	2,09	2,97
4,0 - 5,0 (n=10)				
LSM	1,40	0,00	0,18	1,20
SE	1,96	0,00	0,40	1,87

LSM – průměr nejmenších čtverců, statistická hodnota počtu získaných embryí

SE – střední chyba LSM

Obr. 9 Vliv tělesné kondice dárkyň na zisk a kvalitu embryí



Výsledky dále naznačují, že spodní hranicí tělesné kondice vhodné pro embryotransfer je hodnota do 2,75 bodu, protože při nižší tělesné kondici se zhoršila reakce na superovulaci, což dokumentuje o 20 až 40 % nižší podíl vypláchnutých zvířat, při současném nižším počtu získaných, resp. přenosu vhodných embryí. Obdobná situace je pak patrná v případě embryotransferu realizovaného u dojnic, jejichž tělesná kondice dojnic překročila hodnotu 4 bodů. Obdobné výsledky byly vědeckými pracemi potvrzeny ve vztahu ke klasickým reprodukčním výsledkům a tato zjištění byla statisticky významná ($P < 0,05$). Relativně nízký počet sledovaných dojnic a realizovaných výplachů, který však představoval podíl 79,2 % všech výplachů provedených v celé ČR v roce 2011, způsobil vysokou variabilitu výsledků. Nicméně, lze předpokládat, že zjištěné tendence mají biologický a fyziologický podklad a lze je využít při výběru vhodných dárkyň.

7. Závěr a doporučení pro praxi

Metoda přenosů embryí zasahuje do procesu reprodukce a šlechtění převážně u vysokoužitkových jedinců. Hlavním cílem embryotransferu je produkovat více potomstva od vynikajících rodičovských párů a zkrátit generační interval. Na základě výsledků můžeme konstatovat, že nejlepší výsledky vykazovala skupina dárkyň s tělesnou kondicí (BCS) v hodnotách 3 - 3,75, při mléčné užitkovosti odpovídající průměru sledovaného stáda, tedy nádoji 3000 až 4000 kg mléka za prvních 100 dnů laktace. Otázkou zůstává, jaký podíl geneticky nadprůměrných dojnic bude splňovat uvedené kritéria, která významně pozitivně ovlivňují počet vypláchnutých a přenosuschopných embryí a tím celou ekonomickou efektivitu metody.

III. Srovnání „novosti postupů“

V metodice jsou uvedeny nové, vlastními výsledky výzkumně ověřené metodické postupy a především výsledky vybraných sledovaných vlivů na úspěšnost embryotransferu a jeho využití v chovatelské praxi. Uváděné informace jsou výsledkem výzkumné činnosti autorů a výsledkem systematického studia vědecké literatury v biotechnických metod v reprodukci hospodářských zvířat, umožňují zpřesnění systému organizace embryotransferu ve vysokoužitkových stádech s cílem zajištění vyšší efektivity celého procesu, která je nezbytná vzhledem k relativně vysoké nákladovosti embryotransferu jako celku.

IV. Popis uplatnění metodiky

Metodika bude vhodnou pomůckou pro zemědělské podnikatele, konkrétně chovatele dojného skotu, pro pracovníky ve šlechtění skotu a pro uplatnění progresivních technologických postupů v reprodukci skotu s cílem jejího zefektivnění.

Předložená publikace poskytne informace pracovníkům šlechtitelských organizací, poradcům, chovatelům, pracovníkům v živočišné výrobě. Výsledky jsou také využitelné v procesu průběžného vzdělávání a v pedagogické činnosti.

V. Ekonomické aspekty

Podle zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a zákona č. 154/2000 Sb., o šlechtění, plemenitbě a evidenci hospodářských zvířat a o změně některých souvisejících zákonů (plemenářský zákon), ve znění pozdějších předpisů je ČMSCH, a. s. právnická osoba pověřená ministerstvem zemědělství k výkonu činností podle jednotlivých bodů § 23c. Jmenovitě podle odstavců 1 a 2 a §7 je povinna poskytovat chovatelům a oprávněným osobám údaje, zpracovávat, zveřejňovat a evidovat výsledky. V souladu s doporučením Rady vlády pro výzkum uvádíme, že ČMSCH, a. s. nevytváří těmito činnostmi zisk, ale poskytuje široké chovatelské veřejnosti co nejobjektivnější údaje a vyhodnocením celostátních databází vytváří podklady pro prokázání kvality plemenářské práce chovatelů. Efektivní šlechtění zvířat je podmíněno zvýšením genetického a následně ekonomického zisku a na druhé straně i úsporou nákladů chovatele, které vychází z využívání kvalitního plemenného materiálu. Přínos metodiky spočívá v detailním vyhodnocení vztahu tělesné kondice k výtěžnosti přenosuschopných embryí, což významně ovlivňuje efektivitu využití nákladů, které s organizací embryotransferu souvisejí. Hlavním cílem embryotransferu je produkovat více potomstva od vynikajících rodičovských párů a zkrátit generační interval. Přestože je obecně potenciál embryotransferu uznáván, podrobným ekonomickým hodnocením se prozatím nikdo nezabýval. Případný genetický zisk lze odvodit od rozdílů průměrné plemenné hodnoty zvířat do embryotransferu zařazených. Vzhledem ke zvýšení genetického zisku je dosaženo následného ekonomického přínosu ze získaného plemenného materiálu i fenotypového projevu užitkových vlastností. Podle Kvapilíka et al. (2012) došlo v roce 2011 k zvýšení průměrné dojivosti krav (fenotyp) o 224 litry mléka a 3,2 % (na 7 128 litrů). Konkrétní navýšení průměrné dojivosti samozřejmě závisí na kvalitě dárkyň, resp. relaci jejich užitkových vlastností vůči průměru stáda či populace. Uživatelem dané metodiky mohou být chovatelské organizace a prostřednictvím nich všechny podniky a chovatelé zapojení do šlechtění.

Při výběru dárkyň dle doporučených ukazatelů je možné dosáhnout zvýšení výtěžnosti přenosuschopných embryí o 1,38 až 2,86, v procentickém vyjádření pak o 51,5 % až 70,4 %. Úroveň nákladů na hormonální přípravu dárkyně zahrnujících cenu přípravků i veterinárních úkonů, spotřebu inseminačních dávek a materiálu potřebného pro realizaci výplachu, včetně jeho pracovní náročnosti se pohybuje v rozpětí cca 7000 až 8000 Kč na 1 přenosuschopné embryo. Uvedené % zvýšení výtěžnosti embryí tak představuje přímý ekonomický potenciál definovaného postupu výběru vhodných dárkyň.

VI. Seznam použité související literatury

- Alvarez, R.H.: Recentes progressos na superovulação dos bovinos. *Zootecnia*, 1994, 32, s.3-10.
- Breuel, K.F., Baker, R.D., Butcher, R.L., Townsend, E.C., Inskip, E.K., Dailey, R.A., Lerner, S.P.: Effect of breed, age of donor and dosage of follicle stimulating hormone on the superovulatory response of beef cows. *Theriogenology*, 36, 1991, s. 241-255.
- Dohy J.: Genetika állattenyésztőknek. Mezőgazda Kiadó, Budapest 1999.
- Galli C., Duchi R., Crotti G., Turini, P., Ponderato N., Colleoni S., Lagutina I., Lazzari, G.: Bovine embryo technologies. *Theriogenology*, 2003, 59, s. 599-616.
- Greve J.: Embryo technology: implications for fertility in cattle. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties* 24, 2005, 1, s. 405-412.
- Kafi, M., McGowan, M.R.: Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. *Anim Reprod Sci*, 48, 1997, s.137-157.
- Merton J. S., de Roos A. P. W., Mullaart E., de Ruigh L., Kaal L., Vos P. L. A., Dieleman S. J.: Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. *Theriogenology* 59, 2003, s. 553-597
- Nellenschulte, E, H. Nieman. : Collection and transfer of ovine embryos by laparoscopy. *Anim. Reprod. Sci.* 27, 199, s. 293-304.
- Petelíková J.: Výroční zpráva – Přenos embryí skotu v roce 2007. 2008, s. 25.
- Rowson L.E.A., Lawson R.A.S., Moor R.M.: Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod. Fert.* 25, 1971, 2: 261-268.
- Říha J., Kneisel J., Řehořka V., Říha J.: Zhodnocení některých vlivů působících na výsledek superovulace a časný vývoj embryí. *Živ. výr.* 33, 1988, 1, s. 11-22.
- Říha, J.: Biologická hlediska přenosu embryí u skotu. *DDIS, VÚCHS Rapotín*, 1990, 228 s.
- Říha, J.: Kryokonzervace embryí hospodářských zvířat. Habilitační práce, *VÚCHS Rapotín*, 1993
- Silva J.C.C., Alvarez R.H., Zanenga C.A., Pereira G.T.: Factors affecting embryo production in superovulated Nelore cattle. *Anim. Reprod.*, 6, 2009, 3, s.440-445.
- Steyn, M. C., J. C. Morgenthal, and D. M. Barry.: The effect of embryo collection technique on subsequent fertility in SA mutton merino ewes. *Theriogenology* 39, 1993, s. 317 (Abstr.).

Szabari M., Pinnyey s., Boros, N., Sebestyén J., Retter Y.: Some factors affect of embryo-flushing in dairy cattle . *Acta Agraria Kaposváriensis* 12, 2008, 1, s. 113-120

VII. Seznam publikací, které předcházely metodice

- Beran, J., Stádník, L., Ducháček, J. 2012. Effect of body condition score at calving on reproduction indicators of dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 47 (Suppl. 5), 69-69
- Ducháček, J., Stádník, L., Beran, J. 2012. Milk fat: protein ratio and its relationships to the incidence of ovarian cysts in cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 47 (Suppl. 5), 81-81.
- Ducháček, J., Vacek, M., Stádník, L., Beran, J., Vodková, Z., Rohlíková, V., Nejdlová, M. 2012. Relationship between energy status and fertility in Czech Fleckvieh cows. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendeleianae Brunensis*. LX (6), 67-74.
- Beran, J., Stádník, L., Ducháček, J., Okrouhlá, M. 2012. Relationships between changes in Holstein cow's body condition, acetone and urea content in milk and cervical mucus and sperm survival. *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.*, LX (5), 39-48.
- Ducháček, J., Stádník, L., Beran, J. 2012. Negativní energetická bilance a zdraví dojnic. *Náš chov*, 43 (10), 57-59.
- Kubovičová, E., Makarevich, 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 (Special Issue on BQRMF), 1426-1435. ISSN 1338-5178.
- Bezdiček, J., Stádník, L., Makarevich, A., Louda, F., Hegedüšová, Z., Holásek, R., Beran, J., Nejdlová, M. 2013. Effect of inbreeding on yield and quality of embryos recovered from superovulated Holstein cows. *Journal of Dairy Research*, in print

VIII. Dedikace na příslušný projekt

Zpracováno v rámci řešení „S“ grantu MŠMT a výzkumného projektu NAZV QI91A061.

Vydal: Česká zemědělská univerzita v Praze,
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů,
Katedra speciální zootechniky

Název publikace:
ZVÝŠENÍ EFEKTIVNOSTI EMBRYOTRANSFERU U
HOLŠTÝNSKÝCH DOJNIC VYUŽITÍM HODNOCENÍ JEJICH
TĚLESNÉ KONDICE

Autoři: doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D.¹
Ing. Zdenka Hegedúšová, Ph.D.²
MVDr. Alexander Makarevich, Ph.D.²
RNDr. Elen Kubovičová, Ph.D.²
prof. Ing. František Louda, DrSc.^{1,2}
Ing. Jan Beran, Ph.D.¹
Ing. Michaela Nejdlová¹

¹ – Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra speciální zootechniky, Kamýcká 129, 165 21, Praha 6 – Suchdol

² – Výzkumný ústav pro chov skotu Rapotín s.r.o., Výzkumníků 267, 788 13, Vikýřovice

Tisk: Copy Centrum Powerprint
Kamýcká 1219
165 21 Praha 6 - Suchdol

Náklad: 50 ks
Počet stran: 34
Vydání: první
Rok vydání: 2013

Vydáno bez jazykových úprav.

Publikace je neprodejná.

Metodika vznikla v rámci řešení: - „S“ grantu MŠMT
- grantového úkolu NAZV
č. QI91A061.

ISBN 978-80-213-2371-1