

Od oocytů k elitním telatům: moderní způsob plemenitby pomocí laboratorní produkce embryí

J. ŠICHTAŘ
EmbryoLab s. r. o.

SOUHRN

Šichtař J. **Od oocytů k elitním telatům: moderní způsob plemenitby pomocí laboratorní produkce embryí.** Veterinářství 2026;76(1):

Článek představuje in vitro produkci embryí (IVPE) jako moderní nástroj šlechtění skotu, který doplňuje a často překonává tradiční inseminaci (AI) a embryotransfer (MOET). Technologie OPU–IVP umožňuje zrychlit genetický pokrok, výrazně zkrátit generační interval a efektivně využít genetický potenciál elitních jalovic, krav i březích plemenic. Text popisuje klíčové faktory ovlivňující kvalitu oocytů – zejména fáze folikulární vlny, synchronizační protokoly (Ovsynch, DFA, progesteronové implantáty, FSH) a rozdíly mezi kategoriemi zvířat. Vysvětluje vliv použití sexované inseminační dávky na fertilizaci a počet vzniklých blastocyst (blastocyst rate). Shrnuty jsou metody nakládání s IVP embryi: čerstvý přenos, pomalé zmrazování a vitrifikace, jejich rozdílná kryotolerance i dopad na zabřezávání. Ekonomická část ukazuje embryo jako obchodovatelnou komoditu a popisuje, jak IVP může být ziskové při kombinaci prodeje embryí a vlastní reprodukce. Budoucí trendy zahrnují genotypizaci embryí, sexování, pokročilé kultivační systémy a genové editace. Součástí je i stručný přehled post-transferových výsledků, které ukazují mírně vyšší rizika raných ztrát či vyšší porodní hmotnost, avšak moderní metodiky tyto efekty výrazně omezují.

Klíčová slova: in vitro produkce embryí; OPU; folikulární vlna; FSH; kvalita oocytů; sexovaná inseminační dávka; kryokonzervace; vitrifikace; genetický pokrok; genotypizace embryí

SUMMARY

Šichtař J. **From oocytes to elite calves: a modern breeding method using laboratory embryo production.** Veterinářství 2026;76(1):

The article presents in vitro embryo production (IVP) as a modern breeding tool that increasingly surpasses traditional AI and MOET. OPU–IVP technology accelerates genetic gain, shortens the generation interval and maximizes the reproductive value of elite females, including young heifers and pregnant donors. The text highlights key determinants of oocyte quality, such as follicular wave stage, synchronization protocols (Ovsynch, DFA, progesterone devices, FSH stimulation) and differences among animal categories. It also describes how sexed semen affects fertilization and blastocyst development. Methods of managing IVP embryos—fresh transfer, slow freezing and vitrification—are compared with regard to cryotolerance and pregnancy outcomes. The economic section emphasizes embryos as a tradable genetic asset and explains how IVP can become profitable through a combination of embryo sales and internal herd use. Future developments include embryo genotyping, sexing, advanced culture systems and genome editing. Post-transfer outcomes of IVP embryos are briefly summarized, showing slightly higher early losses or birth weights, though modern serum-free protocols greatly reduce these risks.

Keywords: in vitro embryo production; OPU; follicular wave; FSH; oocyte quality; sexed semen; embryo cryopreservation; vitrification; genetic improvement; embryo genotyping

Úvod

Moderní plemenitba skotu prochází v posledních letech zásadní transformací. Klasické metody, jako je umělá inseminace (AI) nebo přenos embryí po superovulaci (MOET), jsou postupně doplňovány a v řadě chovů i překonávány technologií in vitro produkce embryí (IVPE). Díky pokroku v ultrazvukem asistovaném odběru oocytů, zdokonaleným kultivačním systémům a širokým možnostem využití genomiky mají chovatelé bezprecedentní příležitost urychlit genetický pokrok, zvýšit efektivitu stáda a zlepšit udržitelnost chovu. Tento článek shrnuje vývoj, principy a přínosy IVPE jako moderního nástroje šlechtění skotu a opírá se o nejnovější vědecké poznatky publikované v odborné literatuře.^{1–3}

1. Současné reprodukční metody: inseminace, MOET a IVPE

Reprodukční biotechnologie u skotu lze rozdělit do tří hlavních kategorií: **umělá inseminace (AI)**, **multiple ovulation embryo transfer (MOET)** a **in vitro produkce embryí (IVPE)**.

Umělá inseminace je dlouhodobě základním nástrojem šlechtění. Je bezpečná, cenově dostupná a umožňuje rychlé rozšíření geneticky hodnotných plemenů. Každá kráva však může dát maximálně jedno tele ročně a genetický příspěvek matky nelze navýšit, což omezuje možnost intenzivního selekčního tlaku na chovanou populaci.

Metoda MOET vznikla jako způsob, jak reprodukční kapacitu elitních krav znásobit. Při kontrolované superovulaci je možné získat průměrně 5–7 přenosuschopných embryí z jednoho výplachu,¹ což představuje významný posun oproti AI. Nevýhodou MOET je variabilní odpověď na FSH, hormonální zatížení dárkyně, logistická náročnost a omezené možnosti použití u březích nebo velmi mladých zvířat.

Technologie IVPE přináší zásadní kvalitativní skok. Umožňuje získávat oocyty pomocí transvaginální aspirace (OPU) od jalovic, dospělých krav i březích plemenic až do třetího měsíce gravidity.² Zásadní výhodou IVPE je také nízká spotřeba inseminačních dávek, možnost rutinní práce se sexovanou inseminační dávkou, flexibilní frekvence odběrů (týdně až jednou za 14 dní) a výrazně vyšší počet embryí produkovaných za rok na jednu dárkyni.

Statistika IETS ukazuje, že od roku 2016 je celosvětově poprvé produkováno více embryí in vitro než embryí získaných metodou MOET.³ V roce 2023 tvořila IVPE embrya přibližně 76 % všech produkovaných embryí v globálním měřítku, přičemž nejvyšší podíly hlásí Severní a Jižní Amerika.⁴

2. Proč volit IVPE: efektivita, selekční tlak a udržitelnost

Hlavní výhodou IVPE je schopnost dramaticky zrychlit genetický pokrok. OPU lze v zásadě provádět již u osmi-měsíčních jalovic, což znamená, že genomicky vybrané samice mohou produkovat embrya ještě před dosažením pohlavní dospělosti.⁵ Generační interval se tak zkracuje až o dva roky, což má zásadní dopad na rychlost šlechtění celého stáda. Nicméně u takto mladých zvířat je získáváno mnohem menší množství embryí než například u jalovic

v pubertě. Dalším přínosem je možnost kombinovat IVPE s genomickou selekcí. Embrya mohou být bioptována a geneticky analyzována bez významného vlivu na jejich životaschopnost.^{6,7} Tato strategie umožňuje převádět do příštích generací pouze embrya s nejvyšší genetickou hodnotou a současně eliminovat nositele recesivních vad.

Významnou roli hraje také udržitelnost. OPU–IVPE zvyšuje produkci telat na dárkyni, čímž snižuje potřebu chovu velkého množství zvířat a nepřímo také emise skleníkových plynů na jednotku produkce.⁸ V kombinaci s vhodným managementem stáda lze takto dosáhnout jak vyšší užitkovosti, tak nižší environmentální zátěže.

3. Dárkyně oocytů a hormonální řízení folikulární vlny před OPU

3.1 Věk, fyziologie a reprodukční stav dárkyně

Oocyty lze získávat od jalovic, krav po otelení i od březích krav. Na rozdíl od MOET nejsou u IVPE limitující synchronizace estru ani přítomnost žlutého tělíska. Zásadní je však fáze folikulární vlny. Vysoce kvalitní oocyty pocházejí z folikulů o průměru 3–8 mm, které se nacházejí na počátku nové folikulární vlny.⁹ Proto je běžné využívat mechanickou ablaci dominantního folikulu nebo hormonální synchronizaci, která vede k homogenizaci folikulární populace.¹⁰ Vhodnými dárkyněmi jsou jak cyklující, tak acyklické či anestrické krávy, protože vývojová kompetence oocytů je více závislá na kvalitě ovariálního prostředí než na přítomnosti pravidelného cyklu. Některé studie však uvádějí, že krávy v časně laktaci produkují oocyty s nižší vývojovou kompetencí, zejména vlivem negativní energetické bilance a metabolického stresu.¹¹

3.2 Význam folikulární vlny a synchronizační protokoly

Nejvyšší kvalitu vykazují oocyty získané z folikulů o průměru 3–8 mm na počátku nové folikulární vlny.^{9,11} Pokud je na ovariu přítomen aktivní dominantní folikul, ten prostřednictvím suprese FSH inhibuje růst ostatních folikulů což vede k jejich atresii. Výsledkem je menší počet kvalitních oocytů a nižší následná úspěšnost IVF. Proto se před OPU běžně používají různé hormonální protokoly, jejichž cílem je vytvořit homogenní kohortu folikulů, odstranit vliv dominantního folikulu a zvýšit počet i kvalitu získaných oocytů.

3.2.1 Ovsynch a jeho modifikace (GnRH – PGF_{2α} – GnRH)

Protokol Ovsynch byl původně vyvinut pro synchronizaci ovulace v rámci načasované inseminace, avšak stal se účinným nástrojem také v oblasti OPU–IVPE. Sekvence GnRH – PGF_{2α} – GnRH umožňuje luteinizaci či ovulaci aktuálního dominantního folikulu, následnou luteolýzu a přesné načasování ovulace nové folikulární vlny. Využití intravaginálního progesteronového implantátu zvyšuje synchronizaci zejména u acyklických nebo peripartálních krav.^{10,13} Výsledkem je homogennější ovariální prostředí, vyšší počet folikulů vhodné velikosti a větší množství COC (kumulo oocytární komplex) kvalitních kategorií A a B.

3.2.2 Mechanická synchronizace: Odstranění dominantního folikulu (DFA)

Velmi účinným postupem je mechanická ablace dominantního folikulu, při níž je folikul pomocí ultrazvukem

řízené aspirace odstraněn. Jeho eliminace vede během 24–48 hodin k přirozenému vzestupu FSH a vzniku nové, velmi homogenní folikulární vlny. De Roover a kol. uvádějí, že DFA zvyšuje počet folikulů vhodných pro OPU a zlepšuje kvalitu získaných oocytů, což se u masného skotu projevuje vyšší produkcí embryí.¹² Ciftci a Dinç doplňují, že kombinace DFA s následnou FSH stimulací poskytuje jedny z nejlepších výsledků z hlediska počtu a kvality oocytů vhodných pro IVPE.¹⁰

3.2.3 Progesteronové protokoly a estradiol

V mnoha zemích, zejména v Jižní Americe, je běžné využití progesteronového implantátu v kombinaci s estradiol benzoátem nebo cypionátem. Progesteron vytvoří luteální prostředí a supresí LH omezuje vývoj dominantního folikulu, estradiol současně potlačuje FSH. Po metabolizaci a snížení estradiolu FSH „restartuje“ folikulární dynamiku a dochází ke vzniku nové folikulární vlny. Tato metoda je mimořádně efektivní u acyklických, podvýživou omezených nebo stresovaných plemen a v kombinaci s FSH aplikovaným před OPU vede k navýšení počtu oocytů o 20–40 %.^{13,14}

3.2.4 FSH stimulace

Aplikace FSH před OPU je jedním z neúčinnějších způsobů, jak zvýšit počet folikulů citlivých na stimulaci a zlepšit kvalitu oocytů. Klasický 4denní protokol s FSH podávaným dvakrát denně významně zvyšuje počet FSH dependentních folikulů a tím i počet kvalitních oocytů.¹⁵ Novější jednodenní protokoly využívají jednu dávku FSH v adjuvantu, která se uvolňuje postupně. Studie ukazují, že tyto jednodenní protokoly vedou k obdobnému nebo lepšímu nárůstu homogenních folikulů než klasický režim, přičemž snižují stres i manipulaci se zvířetem.¹⁰

FSH stimulace v rámci 14denního OPU programu dále zvyšuje produkci embryí, a to i v případech, kdy celkový počet oocytů není významně vyšší; klíčový je zejména kvalitativní efekt na oocyty.¹²

5. Počty získaných oocytů, embryonální vývoj a faktory ovlivňující kvalitu oocytů

Úspěšnost IVPE závisí na celé řadě faktorů, z nichž nejdůležitější je kvalita oocyty. Kvalitní oocyt se vyznačuje vyžralou cytoplazmou, správnou morfologií kumulárních buněk, adekvátní mitochondriální aktivitou a vhodným epigenetickým nastavením. Vývojová kompetence oocytů je určujícím faktorem pro úspěšnost maturace (IVM), fertilizace (IVF) i následného embryonálního vývoje až do stadia blastocysty (IVC). Moderní IVPE systémy vykazují výrazný pokrok, nicméně biologické rozdíly mezi kategoriemi zvířat stále přetrvávají, a proto je nutné s nimi počítat.^{2,5,8,15}

5.1 Průměrné počty získaných oocytů podle kategorie zvířat

Počet oocytů získaných při jedné OPU se významně liší mezi jalovicemi, dojnici, masnými kravami i plemeny *Bos indicus*. Tyto rozdíly souvisejí s ovariální rezervou, hormonálním profilem i chovatelskými podmínkami.

Jalovice

Jalovice mají obecně nižší počet folikulů vhodných k aspiraci než dospělá kráva, ale jejich oocyty často vyka-

zují dobrou vývojovou kompetenci. U holštýnských jalovic se uvádí průměrně 12–18 oocytů na OPU, z toho 6–10 kvalitních COC vhodných pro IVM.^{2,5}

Dojnice

U laktujících krav je počet oocytů ovlivněn negativní energetickou bilancí, metabolickým stresem a hormonálními změnami spojenými s laktací. Typicky se získává 10–15 oocytů na OPU, kvalita však bývá kolísavá a dochází k nižšímu podílu COC kategorií A a B. Laktace negativně ovlivňuje růst folikulů a steroidogenezi, což pravděpodobně vede k horší vývojové kompetenci.¹¹

Masné krávy

Masná plemena mají výrazně vyšší ovariální rezervu než holštýnské dojnice, a to i v laktaci. Typicky se uvádí 18–25 oocytů na OPU s vysokým podílem kvalitních COC. Masná plemena navíc lépe reagují na FSH stimulaci i na vysokou frekvenci OPU (každých 7–14 dní) a produkují více životaschopných oocytů než mléčná plemena.¹²

Bos indicus

Plemena *Bos indicus* mají nejvyšší ovariální rezervu. Běžně se získává 25–40 oocytů na OPU bez stimulace, po FSH stimulaci i více. Vyšší počet folikulů je však někdy kompenzován lehce vyšší variabilitou kvality oocytů, a proto je u *Bos indicus* klíčová správná synchronizace folikulární vlny.^{2,8,14}

5.2 Úspěšnost maturace (IVM)

Pro optimálně odebrané oocyty platí, že 80–90 % COC dosáhne jaderné maturace in vitro, a to napříč kategoriemi zvířat (5). Rozdíly však panují v kvalitě cytoplazmatické maturace, která je určující pro úspěšnost pozdější embryogeneze. Jalovice mají často mírně nižší míru cytoplazmatického dozrání, což může vést k nižšímu blastocyst rate (11), zatímco masná plemena a *Bos indicus* vykazují obvykle lepší kompetenci.

5.3 Úspěšnost fertilizace (IVF)

Míra fertilizace závisí zejména na kvalitě oocyty, typu použité inseminační dávky, koncentraci a kapacitaci spermií a genetické kombinaci mezi rodiči. Průměrně je fertilizováno 70–85 % všech zralých oocytů a až 90 % u masných plemen a *Bos indicus* za optimálních laboratorních podmínek.^{5,15} Použití sexované inseminační dávky fertilizaci i následný vývoj výrazně zhoršuje (viz níže).

5.4 Vývoj embryí a procento vzniklých embryí (blastocyst rate)

Z počtu fertilizovaných oocytů se průměrně do stadia blastocysty (D7) vyvíjí:

- jalovice: 30–40 %,
- dojnice: 25–35 %,
- masné krávy: 35–50 %,
- *Bos indicus*: 45–60 % (2,5,8).

Vyšší blastocyst rate u *Bos indicus* souvisí s vysokým počtem folikulů a specifickou folikulární dynamikou.⁸

5.5 Kvalita oocytů jako hlavní limit IVPE

Výsledky jednoznačně potvrzují, že vývojová kompetence oocytů je klíčovým faktorem úspěšnosti IVPE.¹⁵ Důležitá je nejen morfologie COC, ale také mitochondriální aktivita, hladiny mRNA klíčových genů, epigenetická stabilita, stav cytoskeletu a schopnost regulace lipidového metabolismu. Bylo prokázáno, že IVPE embrya obsahu-

jí více lipidů než embrya in vivo, což má například negativní vliv na kryotoleranci i na schopnost implantace.¹⁶

5.6 Vnější a vnitřní faktory ovlivňující kvalitu oocytů

Mezi vnější (environmentální) faktory patří:

- výživa – negativní energetická bilance snižuje kompetenci oocytů,¹¹
- tepelný stres poškozující granulózní buňky,
- stres, prostředí a welfare,
- transport a dojení u dojnic.

Mezi vnitřní (faktory dárkyně) řadíme:

- stáří – jalovice mohou mít omezenou cytoplazmatickou zralost, starší krávy naopak vyšší epigenetickou variabilitu,
- laktaci a s ní spojený narušený metabolismus steroidů,¹¹
- aktivaci stresové osy (kortizol),
- fázi folikulární vlny – nejvýznamnější faktor ovlivnitelný managementem.

Studie ukazují, že synchronizace folikulární vlny a FSH stimulace mají na kvalitu oocytů často větší vliv než samotná genetika dárkyně.^{14,15}

5.7 Vliv sexované a konvenční inseminační dávky

Používání sexovaných inseminačních dávek (ID) je dnes standardem v mléčném i masném šlechtění, avšak je spojeno s několika biologickými omezeními. Sexované dávky mají nižší motilitu, nižší počet progresivně pohyblivých spermií, vyšší citlivost na kapacitaci a nižší fertilizační schopnost. V důsledku toho vede použití sexované inseminační dávky k nižší fertilizaci (o 5–15 %), nižšímu počtu blastocyst a snížení blastocyst rate o 5–20 %.¹⁷ Studie potvrzují, že při použití sexované inseminační dávky dochází ke snížení kvality raných embryí a nižšímu výtěžku blastocyst ve srovnání s konvenční inseminační dávkou.¹⁷

Sexované ID je tedy vhodné tam, kde je prioritou pohlaví telete, ale pro maximalizaci počtu embryí je vhodnější konvenční ID. Konvenční ID vykazuje vyšší fertilizační kapacitu, lepší embryonální vývoj, vyšší blastocyst rate i lepší úspěšnost kryokonzervace. Nejlepších výsledků se dosahuje při použití velmi nízkých koncentrací spermií, typicky $1\text{--}2 \times 10^6$ spermií/ml.^{5,15,17}

6. Možnosti nakládání s embryi: čerstvý přenos, pomalé zmrazování a vitrifikace

Embrya vyprodukovaná metodou in vitro mohou být přenesena čerstvá nebo kryokonzervována. Přenos čerstvých embryí je považován za „zlatý standard“, protože eliminuje rizika spojená s působením nízkých teplot. Čerstvá IVPE embrya vykazují zabřezávání běžně v rozmezí 45–55 %, někdy i více, pokud jsou použita embrya vysoké kvality a dobře připravené příjemkyně.⁵ Z tohoto důvodu představují čerstvé transfery významnou část všech IVPE přenosů celosvětově.³ Nižší úspěšnost u IVPE embryí po kryokonzervaci je vysvětlována zejména vyšším obsahem lipidů, odlišnou blastomerní dynamikou a citlivostí na podmínky kultivace.^{16,18}

6.1 Přenos čerstvých embryí

Čerstvá embrya mají nejvyšší implantační schopnost, protože nejsou vystavena stresu zmrazování. U IVPE embryí zabřezne po přenosu běžně 45–55 %, u dobře vybraných embryí a zkušených techniků až kolem 60 %. Embrya získaná in vivo dosahují obvykle o 5–10 % vyšší míry zabřezávání než embrya IVPE.^{1,5,16,18}

6.2 Pomalé zmrazování

Pomalé zmrazování je tradiční metoda používaná od 80. let. U embryí IVPE byla dlouho preferována, protože umožňuje tzv. okamžitý přenos (DT), tedy přenos přímo po rozmrazení bez nutnosti odstraňovat kryoprotektant. Metoda spočívá v postupném snižování teploty (obvykle o 0,3–0,6 °C/min), použití permeabilních kryoprotektantů (glycerol, ethylenglykol) a kontrole tvorby ledových krystalů.^{3,16}

Výhody pomalého zmrazování slow freezing:

- relativní jednoduchost a dobrá reprodukovatelnost,
- možnost okamžitého přenosu,
- vysoká opakovatelnost u embryí in vivo.

Nevýhody u IVPE embryí souvisejí s vyšším obsahem lipidů, který podporuje vznik intracelulárního ledu a zvyšuje riziko poškození buněk během pomalého mrazení. Proto tato metoda snižuje přežitelnost embryí po rozmrazení a vede k nižšímu zabřezávání než vitrifikace či přenos čerstvých embryí.^{3,16}

Průměrná zabřezávání po pomalém zmrazování:

- IVPE embrya: 25–35 %,
- embrya in vivo: 50–60 %.^{19,20}

U *Bos indicus* lze dosáhnout mírně vyšších hodnot (30–40 %), protože jejich embrya mají nižší metabolickou aktivitu a lépe se vypořádávají s nízkými teplotami.

6.3 Vitrifikace

Vitrifikace je moderní ultrarychlá metoda kryokonzervace, založená na vytvoření amorfního, „sklovitého“ stavu bez tvorby ledových krystalů. Provádí se za použití velmi vysokých koncentrací kryoprotektantů (např. ethylenglykol, DMSO), mikrolitrových objemů média a okamžitého zmrazení (rychlosti zmrazování v řádu desítek tisíc °C/min). Tento postup prakticky eliminuje tvorbu ledu a výrazně zvyšuje přežitelnost buněk po jejich opětovném ohřátí.^{3,16}

Výhody vitrifikace:

- minimální riziko tvorby ledu,
- vyšší přežitelnost IVPE embryí,
- rychlý postup vhodný pro rutinní provoz,
- lepší výsledky než u pomalého mrazení u embryí s vysokým obsahem lipidů.

Nevýhodou je náročnější laboratorní praxe, potřeba precizního vybavení a skutečnost, že vitrifikace zatím obvykle neumožňuje tak jednoduchý okamžitý přenos jako pomalé mrazení.³

6.4 Porovnání pomalého mrazení a vitrifikace

Obecně lze shrnout:

- vitrifikace poskytuje vyšší přežitelnost po rozmrazení (60–90 % vs. 30–60 %),
- zabřezávání po přenosu vitrifikovaných IVPE embryí se pohybuje kolem 35–45 %,
- zabřezávání po přenosu embryí po pomalém mrazení u IVPE je obvykle 25–35 %,
- zabřezávání po přenosu čerstvých embryí dosahuje 45–55 %.^{3,5,16,19,20}

7. Budoucnost in vitro produkce embryí: genotypizace, sexování, nové kultivační systémy a genové editace

Budoucí rozvoj IVPE směřuje k technologiím, které zásadně mění způsob, jakým se pracuje s genetickou infor-

mací embryí ještě před jejich přenosem. Významně se prosazuje **genotypizace embryí, určování pohlaví (sexování)**, zdokonalené **kultivační systémy** reflektující fyziologii reprodukčního traktu a také nástup **precizní genové editace**, zejména pomocí systému CRISPR/Cas9. Tyto nástroje umožní chovatelům ještě přesněji plánovat genetický pokrok a zvyšovat užitkovost a zdraví zvířat.^{2,7,20-30}

7.1 Genotypizace embryí

Genotypizace embryí představuje jeden z nejvýznamnějších technologických průlomů posledních let. Z embryí ve stadiu blastocysty se odebírá malý počet buněk a provádí se genetická analýza, nejčastěji formou SNP genotypizačního panelu. Tím je možné:

- stanovit genetickou hodnotu embrya,
- vybrat embrya s nejvyšším ekonomickým dopadem,
- vyloučit embrya s genetickými vadami,
- urychlit selekční proces o celé generace^{7,30}

Kombinace IVPE a genomiky představuje nejrychlejší cestu genetického zlepšování u mléčných i masných plemen.³⁰ Genotypizace embryí se již běžně provádí i v komerční sféře.

Biopsie embrya pro genotypizaci se provádí obvykle u blastocysty (D7–D8), kdy se odebírá 5–10 buněk trofektodermu. Postup vyžaduje invertovaný mikroskop s mikromanipulátorem, laser nebo mechanické mikronástroje, biopické pipety a systém pro amplifikaci celého genomu (WGA). Embryo se po biopsii vrací do kultivačního média a může být následně přeneseno nebo zamraženo. Moderní systémy umožňují genotypizovat embryo s přesností srovnatelnou s dospělým zvířetem a riziko poškození embrya je minimální.⁵

7.2 Sexování embryí

Sexování embryí je významné pro řízení struktury populace – u mléčných plemen jsou preferovány jalovičky, u masných býčci. Oproti použití sexovaného spermatu, které má nižší fertilizační schopnost i blastocyst rate,¹⁷ je sexování embryí přesnější a nenarušuje IVF proces.

Biopická metoda využívá PCR detekce Y-chromozomu. Postup je analogický genotypizaci: odebere se 5–10 buněk, provede se PCR amplifikace specifických sekvencí (např. SRY gen) a detekce amplifikátu potvrzuje samčí pohlaví. Přesnost metody dosahuje 95–99 %. Požadavky na vybavení jsou stejné jako u biopsie pro genotypizaci, doplněné o PCR nebo qPCR aparaturu. Sexování embryí se v budoucnu stane standardní součástí IVPE a umožní výrazně zvýšit ekonomickou efektivitu produkce telat.

7.3 Nové kultivační technologie

Budoucnost IVPE nespočívá jen v práci s genetickou informací embrya, ale také ve vytváření optimálních podmínek pro jeho vývoj. Moderní přístupy zahrnují:

- **nízký obsah kyslíku (5 % O₂)** – dnes standard, napodobující podmínky vejcovodu a dělohy,³
- **přidávání embryokinů** – fyziologických signálních molekul, jako jsou CSF2, IGF-1 nebo LIF, které stimulují buněčné dělení, podporují elongaci a zvyšují odolnost vůči stresu; bylo prokázáno, že mohou výrazně zlepšit implantaci IVPE embryí po přenosu,¹⁸
- **mikrofluidní kultivační systémy**, které napodobují mikroprůtoky v oviduktu a umožňují dynamický

pohyb média, odplavování toxických produktů a simulaci ciliarity vejcovodu; tyto systémy vykazují vyšší blastocyst rate a lepší morfologii embryí,

- **redukci lipidů v embryích** – použití L-karnitinu, řízených hladin mastných kyselin či „indukci lypolýzy“ s cílem snížit obsah lipidů v blastocystách a tím zlepšit jejich kryotoleranci.¹⁶

7.4 Genové editace – CRISPR a další technologie

Nejradikálnějším technologickým směrem je využití genových editací, zejména systému CRISPR/Cas9. Ten umožňuje:

- cíleně vyřadit patogenní mutace,
- upravit geny spojené s odolností vůči chorobám,
- zvyšovat efektivitu metabolismu či mléčné produkce,
- vytvářet zvířata odolnější vůči infekčním a parazitárním onemocněním.

CRISPR lze aplikovat do embrya ve stadiu zygoty nebo rané blastomery mikroinjekcí RNA a Cas9 proteinu, elektroporací nebo editací buněk trofektodermu. Současný výzkum se zaměřuje zejména na snížení necílených efektů a minimalizaci mozaicity. Regulační prostředí se mezi státy liší, ale u hospodářských zvířat se očekává rychlejší přijetí než u lidí, protože technologie přináší potenciál pro zvyšování welfare, snižování antibiotické zátěže a zlepšování udržitelnosti.^{2,7,30}

8. Telata narozená po přenosu embryí z in vitro a in vivo produkce

Diskuse o in vitro produkci embryí se dnes soustředí nejen na počet a kvalitu získaných embryí, ale také na to, **jaká telata se po přenosu IVPE embryí skutečně rodí**. Zda se liší od telat z embryí získaných in vivo (MOET), zda mají vyšší výskyt patologií, vyšší embryonální mortalitu nebo komplikovanější porody. Odpovědi poskytuje řada experimentálních a terénních studií.

8.1 Raná embryonální mortalita a ztráty březosti

Souhrnný přehled Ealyho a kol. ukazuje, že po přenosu IVPE embryí je celková pravděpodobnost narození živého telete kolem 27 %, přičemž **největší podíl ztrát nastává do 30.–40. dne březosti**.¹⁸ Přibližně 40 % příjemkyň, které obdrží IVPE embryo 7. den, není březích mezi 18.–21. dnem a okolo 60 % není březích do 30.–40. dne.¹⁸ Ve studiích, které porovnávaly IVPE a in vivo embrya, byla pravděpodobnost udržení březosti po IVPE embryích **o 10–25 % nižší** než po embryích získaných pomocí MOET.¹⁸ Analýzy dále ukazují, že asi **dvě třetiny ztrát březosti** jsou způsobeny vlastnostmi samotného embrya a pouze třetina podmínkami v děloze.¹⁸

8.2 Délka březosti, porodní hmotnost a syndrom velkého telete (LOS)

Numabe a kol. porovnávali telata po IVPE embryích a embryích získaných in vivo. Studie ukázala:²⁰

- vyšší porodní hmotnost po IVPE (31,0–31,8 kg) vs. in vivo (27,2 kg),
- delší délku březosti (292 dní vs. 284 dní),
- vyšší výskyt dystokií a vyšší perinatální mortalitu.

Tyto nálezy byly jedním z prvních důkazů LOS, popsaného dříve Youngem a kol.³² Jde o stav charakterizovaný zvýšenou porodní hmotností, delší březostí, poruchami

placenty a zvýšenými perinatálními ztrátami. van Wagendonk-de Leeuw a kol. potvrdili vyšší výskyt abnormalit a perinatálních ztrát u telat po IVPE při použití séra v médiích, zatímco u médií bez séra byl výskyt komplikací výrazně nižší.³¹

Novější práce ukazují, že moderní IVPE protokoly (nízký O₂, absence séra, definovaná média) riziko LOS výrazně snižují, přesto může být porodní hmotnost mírně vyšší než u embryí in vivo.¹⁸

8.3. Perinatální mortalita a zdravotní stav telat

Starší studie uváděly vyšší perinatální mortalitu u telat po IVPE.^{31,32} Moderní studie, např. Agerholm a kol. ukazují, že v systémech bez séra jsou rozdíly méně výrazné, a neonatální zdraví telat se významně neliší od telat po embryích in vivo.³³

Bonilla a kol. porovnávali zdraví telat po přenosu IVPE embryí a po inseminaci a zjistili, že **telata po IVPE mohou mít mírně vyšší porodní hmotnost**, ale zdravotní stav matek i telat se zásadně neliší.³⁴

8.4. Obtížnost porodů a dystokie

Výskyt dystokií je zvýšený především v případech, kdy telata po IVPE vykazují vyšší porodní hmotnost.^{20,32} Při použití moderních IVPE systémů, pečlivém výběru býka a vhodném managementu příjemkyň se však rozdíly v obtížnosti porodu mezi IVPE a in vivo embryi významně snižují.³⁴

Celkově lze říci, že IVPE embrya jsou spojena s vyšší ranou embryonální mortalitou a v některých případech s mírně vyšší porodní hmotností telat, nicméně při použití moderních, médií bez séra a správném managementu lze dosáhnout neonatálních výsledků srovnatelných s embryi produkovanými in vivo.^{18,20,31-34}

Závěr

IVPE je dnes jedním z nejúčinnějších způsobů, jak rychle a cíleně produkovat geneticky hodnotná telata. Úspěch této biotechnologické metody stojí především na správném načasování aspirací oocytů, na kvalitě oocytů, vhodné volbě inseminační dávky (sexovaná vs. konvenční) a promyšlené strategii přenosu (čerstvé vs. kryo). Při moderních protokolech a důsledném managementu může IVPE přinášet nejen genetický, ale i ekonomický přínos a současně se postupně přibližovat „in vivo“ výsledkům v oblasti zabřezávání. Navíc se ukazuje, že zdravotní stav telat narozených po přenosu IVP embrya se zásadně neliší od těch vzniklých přirozenou cestou.

Tento příspěvek vznikl za přispění grantu NAZV QL26010328.

Literatura:

- HASLER J. F. The current status of oocyte recovery, in vitro embryo production, and embryo transfer in domestic animals, with an emphasis on the bovine. *J Anim Sci* 2003;81(E-Suppl 2):E9–E24.
- FERRÉ, L. B., KJELLAND, M. E., STRICKLAND, L., et al. Board invited review: Post-transfer consequences of in vitro-produced embryos in cattle. *J Anim Sci* 2019;97:2555–2570.
- FERRÉ, L. B., et al. Recent advances in bovine in vitro embryo production: reproductive biotechnology, history and methods. *Reprod Fertil Dev* 2020;32:1–16.

- International Embryo Technology Society (IETS). Data retrieval committee reports. online 2023 <https://www.iets.org>
- DEMETRIO, D. G. B., SANCHES, B. V., ISPADA, J., et al. Advances in bovine IVF technology: Improving embryo development and pregnancy outcomes. *Animals* 2022;12:1–15.
- DE SOUSA, R. V., et al. Biopsy and genomic analysis of preimplantation bovine embryos. *Theriogenology* 2017;90:124–133.
- KASINATHAN, P., et al. Genomic selection of embryos increases genetic gain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112:139–147.
- SALEK, J., et al. Historical background and significance of embryo transfer in cattle. *J Anim Biotechnol* 2025;4:55–72.
- BLONDIN, P., SIRARD, M. A. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Theriogenology* 1995;43:1–13.
- CIFTCI, Y., DINÇ, D. A. The effect of different FSH administration protocols before ovum pick up on follicular response and oocyte quality in cattle. *Reprod Domest Anim* 2023;58:1–12.
- RIZOS, D., et al. Consequences of metabolic and environmental stress on oocyte and embryo development in cattle. *Reprod Domest Anim* 2005;40:4–12.
- DE ROOVER, R., FEUGANG, J. M., BOLS, P. E., LEROY, J. L. M. R. Prolonged FSH stimulation before OPU: Effects on follicular growth, oocyte recovery and in vitro embryo production in cows with high and low ovarian responses. *Theriogenology* 2008;70:1029–1039.
- BARUSELLI, P. S., SALES, J. N. S., SALA, R. V., VIEIRA, L. M., SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. *Anim Reprod* 2012;9:139–152.
- FERRÉ, L. B., et al. An update protocol for in vitro production of bovine embryos. *Anim Reprod* 2023;20:1–15.
- MAPLETOFT, R. J., BÖ, G. A., ADAMS, G. P. Superstimulation, superstimulation before IVF and transvaginal oocyte recovery in cattle. *Reprod Domest Anim* 2015;50(Suppl 3):90–99.
- FARIN, P. W., CROSIER, A. E., FARIN, C. E. Influence of in vitro systems on embryo survival and fetal development in cattle. *Theriogenology* 2001;55:151–170.
- PELLEGRINO, C. A. G., MOROTTI, F., UNTURA, R. M., et al. Extended-use sexed semen for IVF in cattle. *Theriogenology* 2016;85:1–8.
- EALY, A. D., JOHNSON, S. E., EALY, R. L. Growth factors in bovine embryo development and their application in vitro. *J Anim Sci* 2019;97:1–14.
- HASLER, J. F., HENDERSON, W. B., HURTGEN, P. J., et al. Superovulatory responses of Holstein cows. *Theriogenology* 1995;43:141–156.
- NUMABE, T., OIKAWA, T., KIKUCHI, T., HORIUCHI, T. Transfer of bovine embryos produced in vitro and in vivo: Effects of estrous synchronization and recipient management. *Theriogenology* 2000;53:1341–1350.
- Kirkton Veterinary Clinic. Embryo transfer services & pricing. (online 2024) <https://kirktonvetclinic.com>
- Champion Genetics. Cattle reproduction pricing. (online 2024) <https://championgenetics.com>
- Angus Semen Store. IVF embryos for sale. (online 2024) <https://angussemen.com>
- Lightning Ridge Genetics. Embryos for sale. (online 2024) <https://lrggenetics.com.au>
- Angus Australia. Angus on Ice Sale results. (online 2025) <https://www.angusaustralia.com.au>
- Wagyu Cattle Sales. Wagyu genetics marketplace. (online 2024) <https://wagyu-online.com.au>
- Mahan Wagyu. Fullblood Wagyu embryos. (online 2024) <https://mahanwagyu.com>
- Wagyu Association Australia. Elite Wagyu Sale report. (online 2024) <https://wagyu.org.au>
- SPECKHART, H., et al. In vitro maturation physiology of bovine oocytes. *Anim Reprod* 2023;20:383–395.
- PONSART, C., et al. IVF in cattle: A comparative review. *Anim Reprod Sci* 2013;141:1–11.
- VAN WAGTENDONK, D. E., LEEUW, A. M., MULLAART, E., DE ROOS, A. P., et al. Abnormal offspring following in vitro embryo production. *Theriogenology* 2000;53:1105–1120.
- YOUNG, L. E., SINCLAIR, K. D., WILMUT, I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Theriogenology* 1998;49:131–146.
- AGERHOLM, J. S., BENDIXEN, C., ANDERSEN, O., ARNBJERG, J. Congenital abnormalities in calves produced after transfer of in vitro-produced embryos. *Acta Vet Scand* 2002;43:99–105.
- BONILLA, A. Q., OLIVEIRA, R., HANSEN, P. J., et al. Neonatal health and dam outcomes after transfer of IVPE embryos. *J Dairy Sci* 2014;97:692–703.

Adresa autora:
Doc. Ing. Jiří Šichtař, Ph.D.
EmbryoLab s.r.o.
Chovatelů 500
252 09 Hradištko