

In vitro produkce embryí u masného skotu – moderní nástroj pro zrychlení genetického pokroku a zvýšení efektivity chovu

Doc. Ing. Jiří Šichtař, Ph.D., EmbryoLab s.r.o.

1. Úvod

In vitro produkce embryí (IVPE) představuje moderní a efektivní nástroj pro šlechtění masného skotu, který nachází stále širší uplatnění v chovech po celém světě. Důvody jsou nasnadě: IVPE umožňuje rychlejší genetický pokrok, efektivní reprodukci vysoce kvalitních zvířat a lepší využití dostupného plemenného materiálu.

Oproti konvenčnímu embryotransferu (tedy výplachu embryí po superovulaci dárkyně) má IVPE několik klíčových výhod. Jednak lze získat oocyty i od jalovic nebo krav s reprodukčními problémy, které jinak selhávají v tradičním přirozeném či hormonálně řízeném cyklu. Dále je proces méně invazivní a umožňuje opakovaný odběr oocytů s minimálním vlivem na zdraví dárkyně. V neposlední řadě je IVPE metodou, která efektivně využívá sexované sperma, čímž umožňuje plánované pohlaví potomstva, což je v masném sektoru – zejména s ohledem na preferenci býků – velkým přínosem.

2. Kroky procesu in vitro produkce embryí u masného skotu

Výběr dárkyně

Úspěch in vitro produkce embryí začíná výběrem správné dárkyně. Nejde jen o genetiku, ale i o aktuální zdravotní a metabolický stav zvířete. Optimální dárkyně by měla být v dobré tělesné kondici (BCS mezi 3–3,5), bez známek chronického zánětu nebo reprodukčních poruch a měla by být případně schopná reagovat na hormonální stimulaci růstu folikulů.

Z hlediska věku a reprodukčního statusu se jako vhodnější dárkyně většinou ukazují krávy. Mají vyš-

ší vývojovou kompetenci oocytů než jalovice, což se projevuje vyšším počtem získaných kvalitních embryí. Jalovice se však využívají v případech, kdy je požadováno urychlení genetického pokroku v rámci velmi mladé linie, nebo pokud se jedná o mimořádně cenné zvíře ještě před zapojením do přirozené plemenitby. U jalovic je však třeba počítat s nižší výtěžností embryí. V praxi je při výběru jalovic potřeba dbát na jejich somatickou vyspělost – doporuču-

je se vybírat jedince s hmotností alespoň 65–70 % očekávané dospělé hmotnosti. Jalovice by neměly být ve fázi intenzivního růstu, aby nebyl metabolismus příliš zatížen. Ideální věkové rozmezí dárkyně jalovice je cca od 12–20 měsíců věku, která je ve výborné nutriční i zdravotní kondici. Důležité je také, aby měly jasně stanovený genetický přínos pro chov – například pocházely z rodin s nadstandardními produkčními a růstovými parametry.



Aspirace vajíček u jalovice plemene Wagyu. Dárkyně musí být vždy umístěna ve fixační kleci, aby se minimalizoval pohyb zvířete. Poté je do pochvy umístěna ultrasonografická sonda ve speciálním držáku s drážkou pro jehlu.

Příprava dárkyně na odběr vajíček – Ovum Pick Up (OPU)

Hormonální stimulace je klíčem k maximalizaci výnosu a kvality oocytů. Nejčastěji používané protokoly u masného skotu zahrnují:

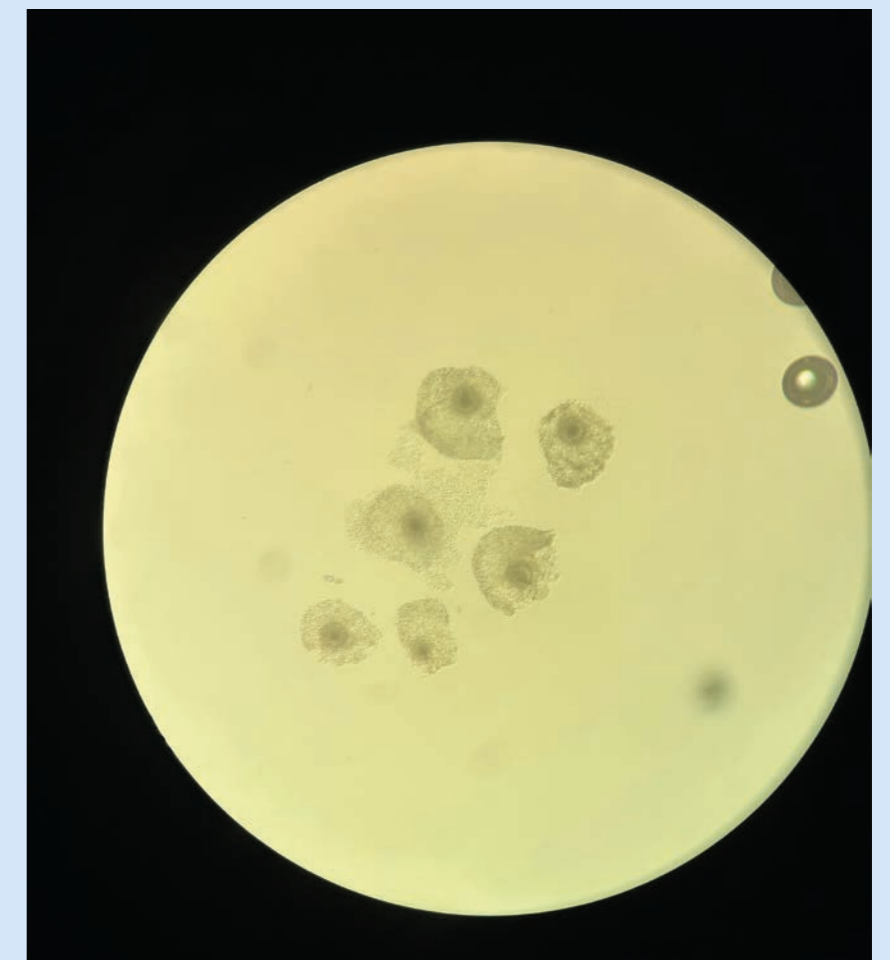
- Krátký protokol: GnRH (den 0), jednorázově FSH (den 1,5), OPU (den 3)
- Protokol s více dávkami FSH: FSH 2× denně po dobu 3–4 dnů
- FSH + coasting: pauza 24–30 hodin bez hormonů zvyšuje kvalitu oocytů
- Bez stimulace: ekonomická alternativa, ale s nižší výtěžností

OPU lze při hormonální přípravě provádět každých 10–14 dní bez negativního vlivu na plodnost. Aspirace oocytů z dárkyně

Odběr oocytů (OPU) se provádí transvaginálně pod ultrasonografickou kontrolou. Zvíře je nejprve bezpečně fixováno ve fixační kleci a obvykle dostává epidurální anestezii, aby byl zákrok bezbolestný. Po důkladném očištění se do vagíny se zavede ultrazvuková sonda s vedením pro aspirační jehlu. Ovariální struktury jsou pomocí rektální manipulace přitlačeny k ultrazvukové sondě a zobrazeny na ultrazvukovém přístroji. Aspirace se provádí jednorázovou jehlou, napojenou na aspirační systém s nastaveným tlakem. Nasátá folikulární tekutina je transportována do sběrné zkumavky s předem ohřátým médiem. Aspirované vajíčko musí být neustále v téměř sterilním prostředí a nesmí se s ním manipulovat hrubě a vystavovat ho kolísání teploty.

Laboratorní zpracování oocytů

V laboratoři jsou oocyty tříděny dle kvality pod mikroskopem a následně kultivovány ve speciálním médiu 22–24 hodin. Kvalitní vybavení (laminární box, mikroskopy, inkubátory s kontrolovanou atmosférou) a zkušený personál jsou pro úspěšnou produkci embryí nezbytné. Inkubace oocytů probíhá v řízené atmosféře, vlhkosti a teplotě a cílem je dosažení oplození schopné fáze.



Vajíčka se od dárkyně získávají v nezralém stavu, ve kterém se nedají oplodnit spermií. Proto se zhruba 24 hodin od aspirace inkubují ve speciálním prostředí inkubátoru. Míra dozrání se hodnotí podle expanze buněk obklopujících vajíčko (černá tečka).

In vitro oplození

Po „dozrání“ se oocyty oplodňují spermatem, které je nejprve selektováno pomocí gradientní centrifugace a poté se přidává v určité koncentraci k oocytům. Zde je nutné podotknout, že ne každý býk je vhodný pro IVPE. Správná příprava spermatu a optimalizace podmínek jsou v tomto případě zásadní. Proto je chovatelům doporučováno přemýšlet nad vícero variantami býků, kdyby se po gradientní centrifugaci nevyseletovaly použitelné spermie

Denudace, kultivace embryí a jejich následný přenos nebo kryokonzervace

Denudace neboli „oholení“ kumulárních buněk obklopujících oocyt probíhá v závislosti na použitém protokolu 15–20 hodin po oplodnění. Embrya jsou poté kultivována až do dne 7.–8. dne. Pokud má chovatel dostatek synchronizovaných

náhradních matek (příjemkyň embrya), je možné je tentýž den přenášet čerstvá. Přenos se provádí do ipsilaterálního děložního rohu a zkušenost technika transferu významně ovlivňuje úspěšnost březosti.

Pokud není možné vyprodukovat embrya přenést do příjemkyň, přistupuje se k jejich zamrazení neboli kryokonzervaci. Hlavním cílem této procedury je zachovat buněčnou strukturu a funkčnost embrya a dále pak zastavit metabolické procesy. Nejčastěji používané metody jsou pomalé zmrazování a vitrifikace. Pomalé zmrazování je výhodnější z pohledu práce techniků na farmách, protože se takto připravená embrya rozmrazují podobně jako inseminační dávka. Na druhou stranu je vitrifikace k embryím šetrnější, ovšem vyžaduje již manipulaci pod mikroskopem a rychlou a bezchybnou práci při přenosu.



V průběhu celého procesu in vitro produkce se s embryi opakovaně manipuluje. Rychlost zpracování, čistota a teplota prostředí má zásadní vliv na množství vyprodukovaných blastocyst.

3. Počty produkovaných embryí a srovnání výsledků mezi konvenční a sexovanou ID

Průměrné počty vyprodukovaných embryí jsou velmi variabilní a jsou ovlivněny mnoha faktory (viz. níže). Obecně se dá říci, že z jednoho odběru se získá průměrně 9,5 oocytů. U konvenčního spermatu vzniká 4–5 blastocyst, u sexovaného 2–4, dle kvality býka. Blastocyst rate u krav je vyšší než u jalovic. Jak již bylo zmíněno, výběr vhodného býka a kvalita laboratorního zpracování zásadně ovlivňují výtěžnost embryí. Kromě toho promlouvá do úspěšnosti celého procesu i individualita dárkyně.

4. Faktory ovlivňující blastocyst rate a post-transfer výsledky

Mezi vnitřní faktory, které ovlivňují úspěšnost vývoje embryí do stadia blastocysty, patří především kvalita oocytů, fáze folikulárního vývoje, hormonální profil dárkyně, genetické predispozice a věk. Mladší jalovice mohou mít vyšší počet folikulů, ale jejich oocyty často vykazují nižší vývojovou kompetenci ve srovnání s dospělými kravami. Studie ukazují, že blastocyst rate bývá vyšší u krav než u jalovic (např. 46,5 % vs. 33,4 %)

Z hlediska vnějších faktorů hrají klíčovou roli laboratorní podmínky: kvalita a složení kultivačního média, technické zpracování embryí a schopnosti personálu. Dalším klíčovým faktorem je především u masných stád schopnost chovatelů dohlédnout na přípravu příjemkyně embryí. V extenzivních chovech je to nejčastější důvod nezabřeznutí, protože příjemkyně musí být ve stejné fázi reprodukčního cyklu jako embryo, tzn. 7.-8. den po ovulaci. O bezchybné práci technika transferu již bylo psáno. Pokud se v celém procesu in vitro produkce embryí sejde vše tak jak má, lze po přenosu čerstvých embryí dosáhnout 50-60 % a po přenosu rozmrazených embryí cca 40 %.

5. Urychlení genetického pokroku pomocí IVPE – případ začínajícího chovatele

Začínající chovatel masného skotu často čelí situaci, kdy má k dispozici pouze omezený počet kvalitních zvířat a potřebuje rychle vybudovat základnu stáda s požadovanými znaky (traits) – například vysokou jatečnou výtěžností, konverzí krmiva, klidným temperamentem nebo bezrohostí.

Při použití klasické inseminace lze od jedné krávy (při optimálním ročním intervalu telení) získat v průměru 1 tele ročně. Pokud

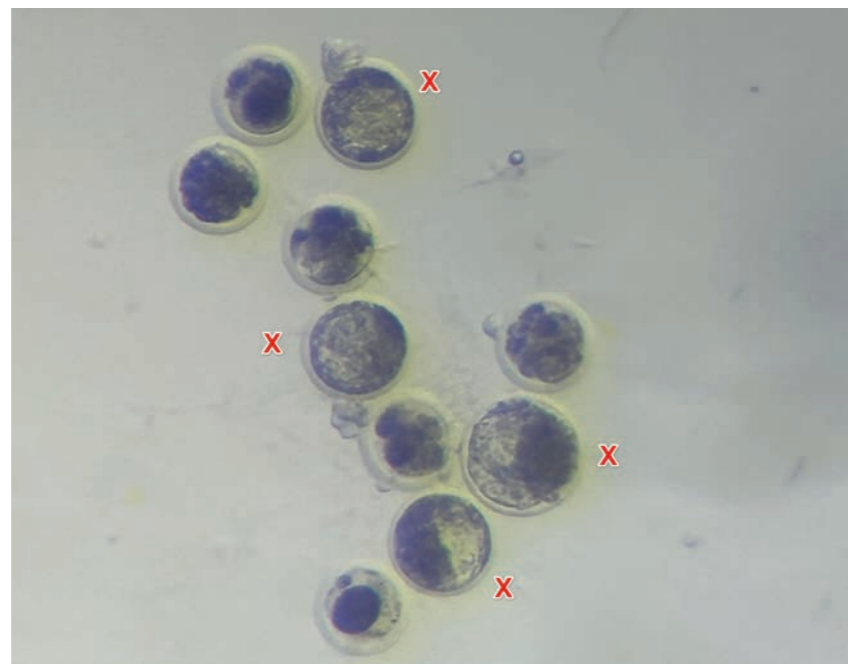
má chovatel např. 3 kvalitní krávy, může během 5 let získat přibližně 15 potomků. Z těchto zvířat je třeba následně znovu selektovat pouze nejlepší jedince pro další reprodukci. Genetický pokrok je tedy pomalý a rozmnožení stáda do požadovaného počtu trvá mnoho let.

Oproti tomu při použití in vitro produkce embryí lze od jedné kvalitní dárkyně získat i 4–5 embryí každé dva týdny. Za rok tak může jedna kráva poskytnout přes 100 embryí, z nichž je možné dosáhnout 40-60 % březostí. V případě využití více příjemkyň (i z běžné populace) lze tedy velmi rychle vybudovat stádo s jednotnou a vysoce kvalitní genetickou základnou. Při správném plánování je možné rozmnožit základní linii do desítek jedinců během pouhých dvou let.

Tato strategie umožňuje:

- výrazné zkrácení generačního intervalu,
- urychlení fixace žádoucích znaků v chovu,
- vyšší tržní hodnotu zvířat již od první generace.

IVPE se tak ukazuje jako mimořádně efektivní nástroj právě pro nové a progresivní chovy, které chtějí „naskočit do pokročilého šlechtění“ bez nutnosti čekat na pomalou přirozenou expanzi stáda.



Všechny rušivé prvky jako stíny, kaluže, kanálové mřížky, předměty na zemi či ostré zatáčky by měly být odstraněny – skot se tímto překážkám vyhýbá, což může vést ke zpomalení pohybu nebo panice.

6. Prodej embryí jako nástroj zhodnocení špičkové genetiky

Prodej embryí představuje významný nástroj pro zhodnocení špičkové genetiky v chovech masného skotu. Ceny embryí se liší podle plemene a kvality genetického materiálu. Například embrya plemene wagyu dosahují cen 850–950 USD za kus, zatímco embrya plemen aberdeen angus a limousine se mohou prodávat až za 70–90 tisíc Kč za kus. Prodej embryí tak může významně zvýšit příjmy chovu a využít genetický potenciál nad rámec vlastní produkce masa.

7. Výhody využití systému in vitro produkce embryí oproti klasickému embryotransferu v chovu masného skotu

In vitro produkce embryí představuje pomyslnou špičku pyramidou používaných biotechnologií v asistované reprodukci skotu. Zařazení IVPE do systému chovu je dobré důkladně rozmyslet a případně ji doplňovat i klasickým embryotransferem (ET), který má v reprodukci masného také své místo. Využití IVPE přináší oproti klasickému embryotransferu řadu výhod, které mají praktický i ekonomický dopad na provoz chovů masného skotu.

Hormonální léčba: ET versus IVPE

Jedním z hlavních rozdílů mezi klasickým ET a IVPE je způsob získávání oocytů nebo embryí a s tím související potřeba hormonální stimulace dárkyně. V rámci klasického embryotransferu je nutná intenzivní superstimulace pomocí hormonální léčby – typicky aplikace FSH (folikuly stimulujícího hormonu) po dobu několika dní. Tento proces nejen že zvyšuje náklady a náročnost manipulace, ale také zatěžuje organismus krávy a může mít vedlejší účinky, například změny v cyklu či výkyvy hormonálních hladin.

Naproti tomu in vitro produkce embryí umožňuje získávat oocyty i bez superstimulace,

tedy z přirozeně rostoucích folikulů. U masného skotu je častá praxe provádět tzv. „bezstimulovanou OPU“, při které se oocyty odebírají bez nutnosti předchozí hormonální přípravy. Tím se IVPE stává méně invazivní a šetrnější metodou. V případech, kdy je cílem maximalizace počtu kvalitních oocytů, lze použít i mírnou stimulaci, která je však méně náročná než klasická superstimulace u ET.

Z pohledu welfare zvířat i ekonomiky chovu je tedy absence nebo omezení hormonální stimulace v rámci IVPE jednoznačnou výhodou. Kromě toho je možné odebrat oocyty častěji než embrya po superstimulaci – OPU lze provádět každých cca 7 až 10 dní, zatímco mezi superstimulačními cykly v ET je třeba zachovávat delší intervaly (minimálně 4–6 týdnů). Možnost odběru oocytů od březích krav

Další výraznou výhodou IVPE je možnost odběru oocytů i od březích matek, a to především v první třetině březosti (do 3. měsíce). Zatímco v klasickém ET lze embrya získat pouze od nebřezích, cyklujících krav, IVPE tuto omezenost překonává.

Tato vlastnost je obzvláště důležitá v masném chovu, kde bývá klíčová co nejkratší neproduktivní fáze mezi porody. Umožnění odběru oocytů během březosti tak otevírá prostor pro výrazně efektivnější využití geneticky cenných krav. Z jedné dárkyně lze během roku získat nejen potomka z přirozeného nebo inseminálního připouštění, ale zároveň i desítky embryí prostřednictvím IVPE. Vzhledem k tomu, že superstimulace je během březosti kontraindikována, je IVPE jedinou reálnou metodou pro produkci embryí z březích krav.

Udržení calving intervalu

V chovu masného skotu je z hlediska reprodukční efektivity důležité udržet calving interval (interval mezi porody) v rozumných hodnotách, ideálně kolem

365 dní. Klasický ET však často způsobuje prodloužení tohoto intervalu, protože během superstimulační přípravy a synchronizace příjemkyň je dárkyně mimo produkční cyklus a může hůře zabřezávat. Tento výpadek může trvat 1–2 měsíce, což z dlouhodobého hlediska znamená snížení roční produkce potomstva na úrovni stáda.

Naopak IVPE nabízí strategii, která umožňuje kombinovat běžnou reprodukci a produkci embryí. Kráva může být inseminována a současně odevzdávat oocyty, což minimalizuje výpady v zabřezávání. Díky tomu se výrazně snižuje riziko prodloužení calving intervalu. V důsledku toho lze z každé krávy získat vyšší počet potomků ročně bez nutnosti kompromisů mezi reprodukcí a produkcí embryí.

8. Závěrečné shrnutí článku

In vitro produkce embryí představuje pro chovatele masného skotu významný nástroj k dosažení rychlejšího genetického pokroku, efektivnější reprodukce a zvýšení ekonomické rentability celého chovu. Tato metoda umožňuje efektivně využít genetický potenciál elitních matek a otců a produkovat velké množství embryí i od jalovic či krav (březí, s určitými reprodukčními omezeními nebo brzy po porodu).

Díky kombinaci technické preciznosti, laboratorní profesionality a dobrého managementu lze dosahovat stabilních výsledků, jak v produkci embryí, tak i v následné březosti po embryotransferu. Významným benefitem je možnost komerčního prodeje nadbytečných embryí, který dokáže znatelně navýšit příjmy chovu a využít hodnotu genetiky nad rámec vlastní produkce masa.

IVP tak není pouze technologickou novinkou v ČR, ale racionálním rozhodnutím pro každého chovatele, který chce systematicky budovat konkurenceschopný a výnosný chov masného skotu v souladu s trendy moderního zemědělství.