

Možnosti asistované reprodukce pro chovatele malých přežvýkavců

Ing. Tereza Ranná

Různé možnosti asistované reprodukce u malých přežvýkavců nejsou v České republice dosud tolik známé a rozšířené. Přesto existuje mnoho způsobů, jak mohou chovatelé rozšiřovat chov svých zvířat. Tento článek se zaměřuje na různé metody asistované reprodukce, které mohou usnadnit reprodukci a zároveň zlepšit genetickou rozmanitost chovů.

Asistovaná reprodukce je soubor metod, které usnadňují a korigují rozmnožování zvířat. Nejenže napomáhají rychlejší reprodukci, ale zejména zlepšují genetickou kvalitu chovu, což je klíčové pro dosažení lepších a rychlejších výsledků. Díky laboratorním kontrolám a metodám, jako je hodnocení a výběr kvalitních spermií a oocytů, je možné efektivněji využívat kvalitní samce a samice.

Odběr ejakulátu

Nejběžnější metodou asistované reprodukce je umělá inseminace. Namísto přirozené plemenitby, kdy samec připouští samici ve stádě, je ejakulát odebírán člověkem. Ejakulát je obvykle odebírán pomocí umělé vagíny, kdy je samec přiveden k atrapě (živé samici) a ejakulát je zachycen. Pokud není možné získat ejakulát tímto způsobem, lze využít elektroejakulátor. Elektroda, která generuje elektrické impulzy, je zavedena do konečníku samce. Tyto impulzy stimulují nervy, které způsobují kontrakci hladkého svalstva a následnou ejakulaci. I z kastrátů či uhynulých samců je možné odebrat spermie. Odběr spermií se provádí z ocasu nadvarlete. Takto získané spermie mohou být uchovány a následně využity k asistované reprodukci.



Obrázek 1: Odběr ejakulátu pomocí atrapy (samice) a umělé vagíny

Uchování spermií

Odebrané spermie je možné uchovávat po různě dlouhou dobu. Spermie je důležité naředit ředidly, která zajišťují ochranu spermií, dodávají jim živiny a zabraňují bakteriální kontaminaci. Ředidla obsahují například sacharidy pro energii, pufrý a soli pro udržení správného prostředí pro spermie a lipoproteiny, které chrání spermie před chladovým šokem. Zchlazené sperma je možné uchovávat až 72 hodin při teplotě 0–15 °C, což prodlužuje jejich oplozovací schopnost, protože chladem se vratně sníží nebo zastaví jejich pohyblivost a metabolismus.

Dlouhodobé uchování spermií je možné pomocí kryokonzervace, při níž jsou spermie uloženy v tekutém dusíku při teplotě -196 °C. Tento proces umožňuje prakticky neomezenou dobu uchování, ale může mít vliv na kvalitu spermií. Při kryokonzervaci je k již zmíněným ředidlům potřeba přidat kryoprotektanty, které chrání spermie před ledovými krystalky. Jedním z kryoprotektantů je

6% glycerol, který chrání spermie tím, že nahrazuje intracelulární vodu (vodu uvnitř spermií), čímž minimalizuje poškození buněk při zmrazování. Výhodou tohoto uchování je dlouhá doba skladování spermií, ale za cenu jejich následné nižší kvality oproti chlazeným inseminačním dávkám.

Dalším způsobem dlouhodobého uchování spermií je lyofilizace. Tento poměrně nový (spíše experimentální) způsob funguje na principu sušení mrazem. Spermie jsou v průběhu lyofilizace zmrazeny, a následně dochází k sušení ve vakuu, přičemž voda ve spermiích sublimuje (přechází z pevného stavu přímo do plynného). Poté je možné vysušené spermie dlouhodobě uchovávat bez nutnosti tekutého dusíku, čímž se snižují náklady na uchování i případný transport spermií. Nevýhodou je, že takto vysušené spermie lze využít pouze pro laboratorní metodu oplození ICSI (intracytoplazmatická injekce spermií). Lyofilizace zajistí zachování nepoškozené DNA, ale spermie jsou neživotaschopné a po rehydrataci nepohyblivé, takže nemohou být využity k inseminaci.



Obrázek 2: Kontejner s tekutým dusíkem a kryokonzervovanými inseminačními dávkami

Umělá inseminace

Odebrané či uchované spermie lze využít k umělé inseminaci. Inseminace je proces, při kterém jsou spermie inseminačními nástroji zavedeny do reprodukčního traktu samice, aby došlo k oplodnění bez přirozeného páření a přímého styku zvířat. Existují různé způsoby umělé inseminace, které se liší nejen náročností, ale i účinností.

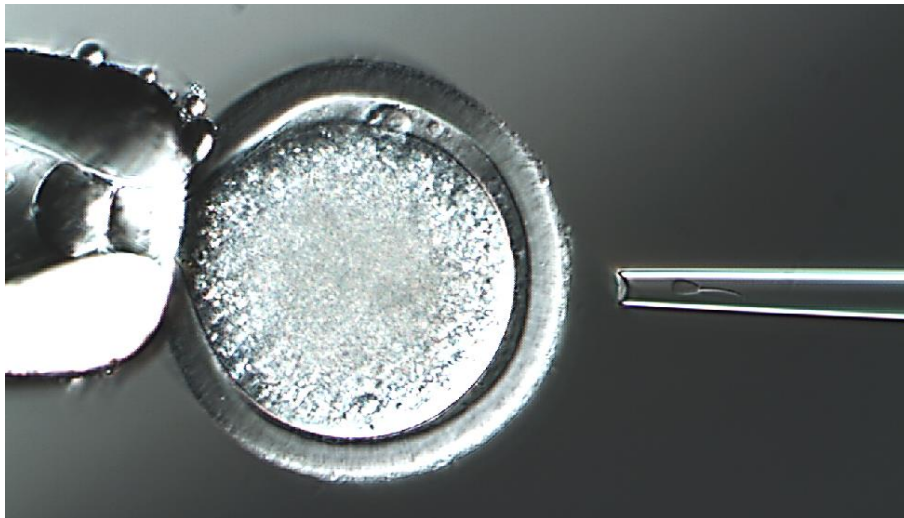
Nejjednodušší a nejrychlejší metodou je vaginální inseminace. Sperma se pomocí inseminační pipety zavede hluboko do pochvy, což je vhodné zejména pro čerstvě odebrané inseminační dávky, které nebyly zchlazeny. Tento postup je nenáročný, ale jeho účinnost je o něco nižší ve srovnání s jinými

metodami. Pokud je potřeba metoda účinnější, přichází na řadu intracervikální inseminace. Zde je pipeta zavedena do děložního hrdla, a to do hloubky 1-3 cm. Tato technika je vhodná i pro prvorodičky, které by mohly mít potíže s dalšími způsoby inseminace. Naopak laparoskopická inseminace, i když náročná a nákladná metoda, nabízí velmi vysokou úspěšnost zabřeznutí. Jedná se o chirurgický zákrok, při kterém je inseminační dávka chirurgicky aplikována přímo do dělohy samice prostřednictvím malých řezů v břišní dutině. Tato metoda je velmi efektivní, ale vyžaduje více času a technických dovedností. Pro ty, kteří hledají „alternativu“ k chirurgickému zásahu, je zde transcervikální inseminace. Tento způsob rovněž umožňuje deponování spermatu přímo do dělohy, ale bez nutnosti chirurgického zákroku, protože pipeta se zavádí přes pochvu skrze děložní čípek. Tato metoda je pro zvíře méně stresující a v některých případech může přinést lepší výsledky než laparoskopie. Nevyžaduje anestezii ani pozici s hlavou dolů, která se běžně používá při laparoskopickém zákroku a díky tomu se stres u samic snižuje. Každá z těchto metod má své specifické výhody, a výběr té správné závisí na konkrétní situaci a požadovaném výsledku.

Metody laboratorního oplození

Jednou z možností asistované reprodukce a rozmnožování zvířat je oplození vajíček v laboratorních podmínkách. Tento proces začíná získáním vajíček (oocytů). Oocyty lze získat z vaječníků uhynulých nebo jatečných zvířat, ale také z živých samic. U živých zvířat se oocyty získávají metodou laparoskopické aspirace (L-OPU), kdy veterinář laparoskopicky odebere vajíčka z vaječníků přes malé řezy v břišní dutině. Po získání vajíček, ať už z vaječníků nebo metodou L-OPU, následuje jejich hodnocení a zpracování. Vybraná vajíčka se umístí do speciálního média, kde dozrávají do fáze připravené pro oplození. Tento proces se nazývá maturace. Oplození se může provést dvěma způsoby: metodou IVF nebo ICSI. IVF je proces, při kterém se vajíčka oplozují mimo tělo samice v laboratorních podmínkách. Spermie a vajíčka se umístí do kultivační misky a spermie přirozeně proniknou do vajíček a oplodní je. Tento způsob je výhodný, protože umožňuje oplodnit více vajíček najednou a k oplození stačí menší množství spermií, než je potřeba například u umělé inseminace. Spermie však musí být pohyblivé a schopné oplodnit vajíčko – nelze použít spermie, které jsou nepohyblivé nebo lyofilizované. U metody ICSI (intracytoplazmatická injekce spermií) je do vajíčka vpravena pouze jedna spermie pomocí speciálního mikromanipulátoru a skleněné injekční kapiláry. Tato metoda je zajímavá tím, že není závislá na pohyblivosti spermií, ale na kvalitě jejich DNA. Díky tomu lze použít i spermie nepohyblivé nebo lyofilizované, což u metody IVF není možné. IVF a ICSI se často využívají u genových zdrojů či kvalitních zvířat. Lze totiž efektivně využívat omezený genetický materiál, a to i v případě, že běžná inseminace selhala nebo není možná, například kvůli úhynu samce nebo samice.

Po oplození se vzniklá embrya kultivují v inkubátoru, kde se vyvíjejí v prostředí, které napodobuje přirozené podmínky vejcovodů. Embrya se nechávají růst až do fáze moruly nebo blastocysty (± 6 dní). V tomto stádiu jsou embrya připravená k přenosu do dělohy samice, kde dojde k jejich implantaci a vývoji embrya. Pokud není možné embrya ihned přenést do dělohy, mohou být zmrazena (kryokonzervována) a uchována v tekutém dusíku, dokud nebudou připravena k transferu.



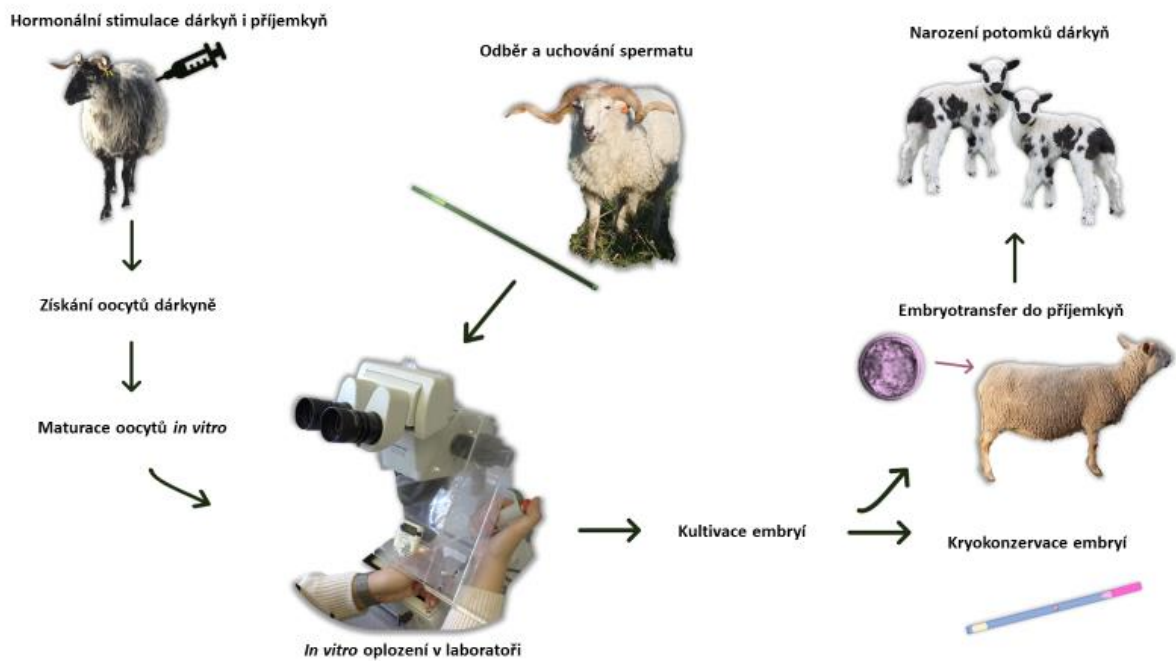
Obrázek 3: Intracytoplazmatická injekce spermie (ICSI)

Embryotransfer

Embryotransfer je proces, při kterém jsou embrya laparoskopicky přenesena do dělohy samice, která je připravena je odnosit a porodit. Tato samice (příjemkyně) tak nepředá své geny na potomky – embryo nese genetickou informaci pouze od dárkyně. Embrya mohou být získána buď po inseminaci, nebo mohou pocházet z laboratorně vytvořených embryí. Hlavní výhodou embryotransferu je, že umožňuje získat více potomků z jedné samice, než by to bylo možné při přirozené inseminaci. A tím při opakovaných odběrech lze od jedné samice získat až desítky potomků během jedné sezóny.

Závěr

Asistovaná reprodukce přináší nové, ale i osvědčené metody, které mohou výrazně zlepšit efektivitu rozmnožování a genetickou kvalitu chovů malých přežvýkavců v České republice. Jejich využívání představuje pro chovatele cenný nástroj pro rychlejší dosažení lepších výsledků. Tato technologie nejen zvyšuje reprodukční úspěšnost, ale také otevírá nové možnosti pro záchranu ohrožených či uhynulých zvířat a zajišťuje lepší genetickou rozmanitost chovů.



Obrázek 4: Možnosti využití asistované reprodukce a laboratorního oplození