

Posudek oponenta na disertační práci
vypracovanou na Katedře zootechnických věd Fakulty zemědělské a technologické
Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích,
v oboru Speciální zootechnika

Název práce: Kvalita ejakulátu hřebců působících v inseminaci

Autor: Ing. Jana Vokrouhlíková

Školitel: doc. Ing. Jan Beran, Ph.D.

Disertační práce Ing. Jany Vokrouhlíkové je zaměřena na posouzení vztahů mezi morfologickými parametry spermií a jejich motilitou u teplokrevných hřebců používaných v inseminaci v ČR. Soubor vybraných hřebců pocházel ze Zemského hřebčince v Písku. V disertační práci jsou zhodnoceny i další charakteristiky ejakulátu a vliv vybraných mléčných ředitelů na studované vlastnosti a na kvalitu chlazeného spermatu. Experimentální část práce je rozdělena do dvou částí, a to podle období odběru vzorků, které proběhly v letech 2016 a 2017. Základní vlastnosti ejakulátu (objem, koncentrace spermií, celková motilita, progresivní motilita, vitalita spermií a jejich morfologická charakteristika) byly doplněny dalšími detailnějšími pohybovými (kinematickými) charakteristikami spermií stanovenými počítačovou analýzou spermatu (CASA) za použití komerčního systému SCA (Sperm Class Analyzer).

Disertační práce je členěna tradičně, je sepsána na 103 stranách (včetně seznamu literatury). Přehled použité literatury obsahuje 176 literárních pramenů a vypovídá o zodpovědné teoretické přípravě doktorandky a odráží se i v obsáhlém literárním přehledu a diskuzi. Větší část rešerše je věnovaná metodám hodnocení ejakulátu hřebců včetně využití počítačové analýzy a popisu kinematických markerů. Vlastní práce je uvedena vcelku podrobnou hypotézou a na ní navazujícími cíli rozepsanými do čtyř bodů. Kapitola „Materiál a metodika“ je na 6 stranách, poskytuje potřebné údaje i časové schéma odběru ejakulátu a jeho zpracování, jsou popsány laboratorní metody vyšetření ejakulátu a statistické testy použité k hodnocení získaných dat. Výsledky jsou uvedeny v přehledných tabulkách a grafech. V diskuzi je bohatě využito citované literatury. Disertační práce je zakončena „Závěrem“ s uvedeným přehledem výsledků a „Souhrnem včetně doporučení pro praxi“. Pro větší orientaci mohly být v kapitole „Závěr“ místo zkratk uvedeny plné názvy hodnocených ukazatelů ejakulátu. Jiné připomínky ke zpracování a obsahu práce nemám.

Dotazy k diskuzi:

V úvodu práce autorka uvádí, že dovozem hřebců, kteří by měli působit jako zlepšovatelé, by se měla kvalita našeho chovu pozdvihnout na evropskou úroveň. Mohla by autorka charakterizovat úroveň chovu teplokrevných koní v ČR, a jakým směrem naše chovy zlepšovat.

V diskuzi jsou porovnány výsledky kinematických parametrů s údaji autorů Rezagholizadeh et al. (2015) a Florez-Rodriguez et al. (2014), kteří uvádějí hodnoty, například pro přímočarou rychlost (VSL), ale i pro další parametry, dvakrát až třikrát vyšší. Rozdíly autorka vysvětluje nestejnou metodikou analýzy. Kterou z porovnávaných metod, vzhledem ke značným rozdílům ve výsledcích analýzy, lze preferovat nebo pokládat za objektivnější.

Vyšetřením ejakulátu počítačovou analýzou CASA byly získány dalších podrobné informace o morfologii a pohybu spermií. Je možné, některý z těchto parametrů doporučit jako doplňkový ukazatel při výběru hřebců do plemenitby.

Závěr:

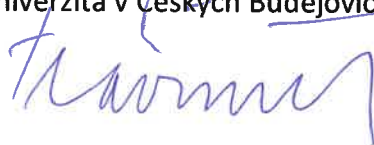
Výsledky disertační práce přináší nové poznatky o morfologii a fyziologii spermií teplokrevných hřebců. Disertační práce je vypracovaná velmi pečlivě. Výsledky jsou významné pro další rozvoj oboru. Cíle disertační práce byly splněny. Ing. Jan Vokrouhlíková vypracovala přínosnou disertační práci a prokázala podle § 47, odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách schopnost a připravenost k samostatné i týmové činnosti v oblasti výzkumu nebo vývoje.

Disertační práci doporučuji k obhajobě a souhlasím, aby po jejím úspěšném průběhu byl Ing. Janě Vokrouhlíkové udělen akademický titul Ph.D..

V Českých Budějovicích

26. 4. 2022

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
Zemědělská a technologická fakulta
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích



POSUDEK OPONENTA DOKTORSKÉ DISERTAČNÍ PRÁCE

Název práce: Kvalita ejakulátu hřebců působících v inseminaci

Jméno studenta: Ing. Jana Vokrouhlíková

Jméno školitele: doc. Ing. Jan Beran, Ph.D.

Jméno oponentky: doc. Ing. Iva Jiskrová, Ph.D.

Předložená doktorská disertační práce je sepsána na 103 stranách, obsahuje 6 citovaných obrázků, 12 grafů a 15 tabulek. Autorka dokládá 176 položek prostudovaných literárních podkladů.

Disertační práce řeší aktuální téma reprodukce u koní. Je to oblast velmi důležitá a práce je příspěvkem k často zkoumané otázce kvality hřebčího ejakulátu. Autorka tedy navazuje na významnou problematiku a plně využívá množství literárních zdrojů, které jsou k dispozici. Literární přehled dokládá, že se autorka pečlivě na svůj experiment teoreticky připravila, což považuji za kladnou stránku práce. Literární přehled je tedy vynikajícím východiskem pro další výzkum.

Práce je velmi dobře uvedena, autorka nastiňuje význam zvolené problematiky a zdůrazňuje reprodukční výkonnost koní jako nezbytnou součást šlechtění.

Cíl práce i hypotézy jsou logicky a přehledně sestaveny a dobře objasněny. Stejně tak je tomu i u metodiky, která jasně a srozumitelně přibližuje badatelský záměr autorky.

Výsledky práce jsou spojeny do jedné kapitoly s diskusí. Autorka využívá rozsáhlých znalostí prací jiných autorů a intenzivně je zapojuje do své diskuse. Vytkla bych autorce skutečnost, že nezmiňuje častěji i vlastní názory a komentáře.

Tuto výtku však musím po přečtení závěru, souhrnu a doporučení pro praxi. Je to dle mého názoru příkladné zakončení disertační práce.

Po formální stránce je předložená disertační práce vynikající. Úprava, tabulky i grafy jsou z formálního hlediska bezchybné. V práci jsem neobjevila ani jednu gramatickou chybu či překlep. Navíc je práce sepsaná pěknou češtinou s jasnou a čistou strukturou, vhodnou pro

formulování vědeckého díla. Kladně hodnotím nejen autorčinu vědeckou fundovanost, ale i vysokou úroveň jejích vyjadřovacích schopností.

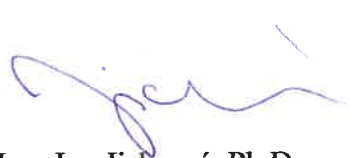
K předložené disertační práci mám následující připomínky a dotazy:

1. V literárním přehledu je citováno, že věk hřebců je jedním z vlivů působících na kvalitu ejakulátu. Ve sledování jsou zařazeni hřebci ve věku 3 - 22 let. Byla tato věková rozmanitost v práci zohledněna?
2. Má na kvalitu spermií vliv období odběru? Mám na mysli např. začátek připouštěcího období vs. vrcholné období připouštěcí sezony?
3. Jaké je procento zabřezávání u jednotlivých metod umělé inseminace?
4. Jaká by měla být rychlost rozmrazování inseminační dávky?
5. Zajímá mě názor autorky na význam embryotransferu u koní. Prosím o popis principu embryotransferu u klisen.

Závěr:

Po posouzení předložené disertační práce mohu konstatovat, že práce splňuje požadavky kladené zákonem č. 111/1998 Sb., o vysokých školách. Doporučuji doktorskou disertační práci Ing. Jany Vokrouhlíkové přijmout k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení udělit akademický titul „doktor“ ve zkratce Ph.D.

V Brně dne 4.5.2022



Doc. Ing. Iva Jiskrová, Ph.D.

Mendelova univerzita v Brně

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci Ing. Jany Vokrouhlíkové

„Kvalita ejakulátu hřebců působících v inseminaci“

Disertační práce Ing. Jany Vokrouhlíkové obsahuje celkem 103 stran textu, vč. 176 citací vědecké a odborné literatury, které shrnují poznatky ve studované problematice. Práce je členěna na kapitoly Úvod, Literární přehled, Hypotéza, Cíl práce, Materiál a metodika s popisem použitých metod vyšetření kvalitativních ukazatelů ejakulátu. Získanými výsledky a jejich porovnáním s autory se zabývá kapitola Výsledky a diskuze. Práci uzavírají kapitoly Závěr, Souhrn a doporučení pro praxi a Seznam literatury.

Literární přehled, který obsahuje i novější literární odkazy, je rozdělen do sedmi hlavních částí. Autorka se v nich zabývá plodností hřebců, kvalitativními ukazateli ejakulátu a jejich hodnocením a také ředěním a konzervací spermatu. Literární přehled je doplněn o morfometrickou analýzu spermií.

Cíl práce byl stanoven jednoznačně a jeho zaměřením bylo zpracování přehledu o kvalitě spermatu hřebců využívaných v inseminaci v Zemském hřebčinci v Písku. V disertační práci jsou stanoveny dílčí cíle, které vychází ze čtyř hypotéz: 1. Vyhodnotit základní charakteristiky ejakulátu hřebců na základě objektivního hodnocení metodou CASA. 2. Posoudit morfometrické parametry spermií na základě velikosti a tvaru hlaviček spermií. 3. Posoudit pohybové charakteristiky spermií v závislosti na morfometrickém měření hlaviček. 4. Vyhodnotit vliv vybraných ředidel na kvalitativní parametry ejakulátu (motilitu a životaschopnost spermií).

V kapitole *Materiál a metodika* je uveden počet 11ti plemenných hřebců teplokrevných plemen koní, u kterých bylo prováděno sledování kvalitativních ukazatelů ejakulátu. Všichni hřebci byli v majetku Zemského hřebčince v Písku a byla u nich definována i standardní krmná dávka.

Metodika práce je podrobně popsána a dokládá způsob odběru ejakulátu od hřebců s frekvencí odběrů 2 – 3x týdně. K hodnocení sledovaných kvalitativních a kvantitativních ukazatelů ejakulátu byly vhodně zvoleny aktuální postupy a analýzy. Kvalitativní ukazatele ejakulátů byly analyzovány pomocí objektivního hodnocení metodou CASA v laboratoři ZF JU v Českých Budějovicích, motilita spermií byla objektivně analyzována prostřednictvím modulu Sperm Class Analyzer Motility and Concentration. Vitalita spermií byla analyzována pomocí vitálního fluorescenčního barvení. Morfometrická analýza spermií byla hodnocena pomocí Sperm Class Analyzer Morphology module. U všech analyzovaných spermií bylo automaticky vypočteno osm morfometrických parametrů hlavičky. V rámci sledování vlivu vybraných ředidel na motilitu a životaschopnost spermií byla testována celkem tři ředidla – dvě komerční a jedno připravené na bázi privátní receptury. Použité matematické a statistické metody pro vyhodnocení dat považuji za vhodně zvolené.

Kapitola *Výsledky a diskuze* je prezentována na 28 stranách. Tato část práce je členěna do jednotlivých 4 podkapitol a soustřeďuje se na posouzení základních charakteristik ejakulátu hřebců metodou CASA, posouzení morfometrických parametrů hlaviček spermií a analýzu pohybových charakteristik spermií v závislosti na morfometrické analýze spermií. Kapitulu doplňují i analýzy kinetických charakteristik spermií v souvislosti s provedenou morfometrií hlaviček spermií.

Výsledky jsou podrobně číselně dokumentovány a komentář k nim je srozumitelný. Jednotlivá zjištění jsou bohatě diskutována s jinými autory.

Závěry práce jsou srozumitelně a přehledně formulovány. Obsahují zásadní hodnoty morfometrie spermií hřebců v Zemském hřebčinci v Písku a také jejich vztahu k motilitě spermií u jednotlivých skupin hřebců. Autorka správně zdůrazňuje významný vliv hřebce na jednotlivé ukazatele morfometrie spermií a jejich vztah k motilitě spermií. Při sledování přežitelnosti spermií doporučuje při použití různých ředidel využití kaseinátových ředidel, které zaručují pomalejší pokles motility spermií v čase.

Seznam literatury, který tvoří 176 literárních zdrojů je zpracován dle vžitého usu a je dostatečně rozsáhlý. Jeho rozhodující podíl tvoří vědecké a zahraniční zdroje.

K výsledkům práce mám následující dotazy a připomínky, převážně formální povahy:

1. Jaký byl stupeň ředění u jednotlivých testovaných ejakulátů? Byl konstantní?
2. Jaký byl podíl arteficiálních změn při morfometrické analýze hlaviček spermií?
3. Fertilita hřebců, na jejímž základě byli hřebci rozděleni do skupin, byla vypočtena na základě březosti klisen. Můžete uvést počty klisen u hřebců, případně jaký byl jejich věk?
4. U grafů 1 – 7 by bylo patrně vhodnější použít název „Vliv *té určité sledované vlastnosti* na plodnost“ poněvadž vypočtená plodnost asi neovlivňovala morfometrii hlaviček, ale naopak.
5. V kapitole Souhrn a doporučení praxi autorka uvádí, že je důležité vytvořit pro chovatele materiál, který bude podávat potřebné informace k výběru hřebce z hlediska jeho plodnosti. Je možné ho specifikovat?
6. Uvedené procentické údaje je vhodné zaokrouhlit na 1 desetinné místo. Je dobré tyto údaje sjednotit.
7. Uváděné jednotky koncentrace spermií (M/ml) nejsou v souladu se soustavou SI (např. str. 55), bylo by vhodnější použít jednotku $10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$ nebo $10^9 \cdot \text{cm}^{-3}$.
8. Byla také sledována dynamika hodnot u jednotlivých hřebců v průběhu sezóny?
9. V tab. 3 a 4 by bylo vhodné vypsát sledované parametry, ve zkratkách se čtenář ztrácí, i když jsou zkratky již dříve vysvětleny. Například u tab. 10 už tomu tak je a tabulka je přehledná.
10. Při označení směrodatné odchylky se uvádí malé s_x .

Závěr:

Při celkovém hodnocení považuji předloženou dizertační práci za pečlivě zpracovanou, obsahující nová zjištění z hlediska vztahu morfometrie spermií k jejich motilitě u hřebců. Zjištěné výsledky vychází z dlouhodobého experimentu v Zemském hřebčinci v Písku a získaná data jsou zpracována odpovídajícími biometrickými metodami. Za významný přínos práce je také možné považovat vytipování vhodného ředidla pro inseminační dávky hřebců při krátkodobém uchovávání. Práce je psána kultivovaným jazykem. Po formální i obsahové stránce splňuje předložená práce požadavky na disertační práci.

Předloženou disertační práci doporučuji k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení **doporučuji** udělit Ing. Janě Vokrouhlíkové titul Ph.D.

V Brně dne 28.4.2022

Prof. Ing. Ladislav Máchal, DrSc.