

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav chovu a šlechtění zvířat



**Vliv stájového mikroklimatu na vybrané kvalitativní a
kvantitativní parametry ejakulátů plemenných býků**

Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Martin Hošek, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Radka Škarecká

Brno 2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Radka Škarecká**
Studijní program: Zootechnika
Obor: Krmivářství
Název tématu: **Vliv stájového mikroklimatu na vybrané kvalitativní a kvantitativní parametry ejakulátů plemenných býků**
Rozsah práce: 50-60 stran text a přílohy

Zásady pro vypracování:

1. Studentka bude zpracovávat DP ve spolupráci s CHD Impuls.
2. Zaměří se na hodnocení vlivu stájového mikroklimatu na vybrané kvalitativní a kvantitativní parametry ejakulátů plemenných býků.
3. Studentka se bude aktivně účastnit získávání a zpracování podkladů a dat nezbytných pro vypracování DP.
4. Zjištěné výsledky zpracuje vhodnými matematicko-statistickými metodami a předá chovateli býků.

Seznam odborné literatury:


1. SCHILLO, K K. *Reproductive physiology of mammals : from farm to field and beyond*. Clifton Park: Delmar/Cengage Learning, 2009. 462 s. ISBN 978-1-4180-3013-1.
2. ŘÍHA, J. a kol. *Plemenitba hospodářských zvířat*. Rapotín: Asociace chovatelů masných plemen, 2003. 151 s. ISBN 80-903143-4-1.
3. Louda, f. *Inseminace hospodářských zvířat se základy biotechnických metod*. ČZU Praha, 2001, 224s. ISBN 80-213-0702-1
4. Říha, J a kol.: *Biotechnologie v chovu a šlechtění hospodářských zvířat*, Rapotín 1999, 168s

Datum zadání diplomové práce: březen 2015

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2015


Bc. Radka Škarecká
Autorka práce




Ing. Martin Hošek, Ph.D.
Vedoucí práce


prof. Ing. Ladislav Máchal, DrSc.
Vedoucí ústavu


doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Děkan AF MENDELU

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma *Vliv stájového mikroklimatu na vybrané kvalitativní a kvantitativní parametry ejakulátů plemenných býků* vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji Ing. Martinu Hoškovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, poskytnuté konzultace, věcné připomínky a pomoc při zpracování diplomové práce. Dále děkuji Ing. Michaele Paldusové, která mi pomáhala při praktickém zpracování preparátů a věnovala mnoho času při zpracování výsledků.

Děkuji Interní grantové agentuře Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně za poskytnutí finančních prostředků z grantového projektu TP 5/2014.

Velké poděkování patří také mé rodině a příteli za podporu a pomoc během mého studia.

ABSTRAKT

Tématem této práce bylo zjistit *Vliv stájového mikroklimatu na kvalitativní a kvantitativní parametry ejakulátů plemenných býků*, kdy byl hodnocen vliv stájového prostředí a věku na objem, koncentraci, aktivitu a na změnu morfologie spermií v ejakulátech býků. V období od 1. března do 31. srpna 2014 bylo celkem provedeno 154 odběrů ejakulátů od 9 býků českého strakatého plemene ustájených na inseminační stanici býků provozované Chovatelským družstvem Impuls v Bohdalci. Ihned po odběru bylo u všech vzorků provedeno makroskopické a mikroskopické vyšetření, které zahrnovalo zjištění objemu, koncentrace a aktivity spermií. Po zhodnocení morfologických parametrů bovinních ejakulátů bylo vyhodnoceno procento morfologicky normálních a patomorfologicky poškozených spermií. Sledovány byly především změny na hlavičce, akrozomu, spojovací části a bičíku (torze, dag efekt). Z našich výsledků vyplývá, že největší vliv na kvalitativní a kvantitativní parametry ejakulátů u plemenných býků měl věk, dále pak teplota spolu s vlhkostí, kde byly největší rozdíly ve výsledcích při naměřených extrémních hodnotách. Zanedbatelný vliv měla hodnota teplotně – vlhkostního indexu (THI), kde byly rozdíly v získaných vzorcích nejmenší.

Klíčová slova: bovinní ejakulát, objem, koncentrace, aktivita, morfologie spermií.

ABSTRACT

The aim of this diploma thesis *The effect of stable microclimate on qualitative and quantitative parameters of ejaculates of breeding bulls*, where the effect of stable environment and age on the volume, concentration, activity and changes in morphology of sperm in ejaculates of bulls was evaluated. In the period from 1st March to 31st August 2014, there were done 154 collections of semen from nine bulls of Czech Pied cattle lairaged at the insemination center of bulls operated by a breeder's cooperative Impuls in Bohdalec. Immediately after the collections macroscopic and microscopic examinations have been performed for all samples, which included determining the volume, concentration and activity of sperm. After evaluation of morphological parameters of bovine sperm the percentage of morphologically normal sperm and pathomorphological damaged sperm were evaluated. There were observed changes on the head, acrosome, connecting part and flagellum. Our results show that the biggest effect on the qualitative and quantitative parameters of semen for breeding bulls has age, the temperature along with moisture, where the greatest differences in results were found for the extreme values. A value of temperature - humidity index (THI) has negligible effect, where there were the smallest differences in the obtained samples.

Key words: bovine ejaculate, volume, concentration, activity, sperm morphology.

OBSAH

1 ÚVOD	10
2 CÍL PRÁCE	11
3 LITERÁRNÍ PŘEHLED	12
3.1 ANATOMIE POHLAVNÍCH ORGÁNŮ BÝKA	12
3.1.1 <i>Varlata (testes)</i>	12
3.1.2 <i>Nadvarle (epididymis)</i>	13
3.1.3 <i>Chámovod (ductus deferens)</i>	13
3.1.4 <i>Pyj (penis)</i>	13
3.1.5 <i>Přídatné pohlavní žlázy (glandulae genitales accessoriae)</i>	14
3.1.5.1 <i>Měchýřkovité žlázy</i>	14
3.1.5.2 <i>Předstojná žláza (prostata)</i>	14
3.1.5.3 <i>Bulbouretrální žlázy</i>	14
3.2 EJAKULÁT (SEMENO, SPERMA, CHÁM)	15
3.2.1 <i>Spermatogeneze</i>	15
3.2.2 <i>Spermatocytogeneze</i>	16
3.2.3 <i>Spermatohistogeneze</i>	17
3.2.4 <i>Spermie</i>	17
3.2.4.1 <i>Chemické složení spermií</i>	20
3.2.5 <i>Semenná plazma</i>	20
3.2.6 <i>Metody získávání ejakulátu</i>	21
3.2.7 <i>Frakce ejakulace</i>	22
3.3 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ EJAKULÁTU BÝKA	22
3.3.1 <i>Makroskopické vyšetření</i>	22
3.3.1.1 <i>Objem</i>	22
3.3.1.2 <i>Konzistence, zrnitost</i>	23
3.3.1.3 <i>Barva</i>	23
3.3.1.4 <i>Pach</i>	23
3.3.1.5 <i>Cizí přímíseniny</i>	23
3.3.2 <i>Mikroskopické vyšetření</i>	23
3.3.2.1 <i>Aktivita spermií</i>	23
3.3.2.2 <i>Koncentrace spermií (hustota)</i>	24
3.3.2.3 <i>Stanovení procenta živých a mrtvých spermií barvením</i>	28
3.3.2.4 <i>Stanovení koncentrace vodíkových iontů – pH spermatu</i>	28
3.3.2.5 <i>Mitochondriální aktivita spermií</i>	29
3.3.2.6 <i>Morfologie spermií</i>	30
3.3.2.7 <i>Morfologické změny spermie</i>	30
3.4 PRVKY STÁJOVÉHO MIKROKLIMATU	32
3.4.1 <i>Teplota ovzduší</i>	32
3.4.2 <i>Relativní vlhkost ovzduší (RH)</i>	34
3.4.3 <i>Teplotně – vlhkostní index (THI)</i>	34
3.4.4 <i>Rychlost proudění vzduchu</i>	35

3.4.5 Složky stájového vzduchu	36
3.4.5.1 Amoniak (čpavek, čpavková voda, hydroxid amonný, NH ₃)	36
3.4.5.2 Oxid uhličitý (CO ₂).....	37
3.4.5.3 Sirovodík (sulfan – H ₂ S).....	38
4 MATERIÁL A METODIKA	39
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	41
5.1 VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ EJAKULÁTU	41
5.1.1 Vyhodnocení po makroskopickém vyšetření.....	41
5.1.1.1 Vyhodnocení objemu (ml)	41
5.1.2 Vyhodnocení po mikroskopickém vyšetření.....	42
5.1.2.1 Vyhodnocení aktivity (%).....	42
5.1.2.2 Vyhodnocení koncentrace (× 10 ⁶ ml)	44
5.1.2.3 Vyhodnocení celkového počtu spermií (× 10 ⁶ ml)	45
5.1.3 Vyhodnocení po morfolgickém vyšetření.....	46
5.1.3.1 Vyhodnocení morfolgicky normálních spermií v ejakulátu (%)	47
5.1.3.2 Vyhodnocení nezralých spermií v ejakulátu (%).....	48
5.1.3.3 Vyhodnocení degenerovaných spermií v ejakulátu (%)	49
5.1.3.4 Vyhodnocení morfolgicky změněného bičíku (%).....	50
5.1.3.5 Vyhodnocení morfolgicky změněného krčku (%).....	51
5.1.3.6 Vyhodnocení morfolgických změn na akrozomu (%).....	52
5.1.3.7 Vyhodnocení morfolgických změn na hlavičce spermie (%).....	53
5.1.3.8 Vyhodnocení DAG efektu u spermie (%).....	54
6 ZÁVĚR	55
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	57
7.1 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ.....	62

1 ÚVOD

Skot domácí je domestikovanou formou tura domácího. Pod pojmem skot se nejčastěji myslí tur domácí, domestikovaný pratur (*B. primigenius f. taurus*), ovšem mezi hovězí dobytek patří též asijský gayal (*B. gaurus f. frontale*), domestikovaný gaur (*B. gauros*), tur domácí baliský (*B. javanicus f. banteng*), což je domestikovaná forma bantenga (*Bos javanicus*) a jak domácí (*Bos mutus f. grunniensis*).

U domestikovaných turů bylo vzhledem k poskytované mnohočetné užitkovosti skotu vyšlechtěno asi 600 plemen. Jako plemeno se charakterizuje skupina zvířat téhož druhu, která má stejný fylogenetický původ a proti jiným zvířatům se vyznačuje společnými vlastnostmi přenášenými na své potomstvo. V současnosti existuje asi 450 jednotlivých plemen. Tato plemena se zařazují do jednotlivých plemenných skupin a liší se užitkovým zaměřením. V České republice se chová především dojný skot, kde má nejpočetnější zastoupení černostrakatý skot, dále plemena s kombinovanou užitkovostí a to český strakatý skot a masná plemena skotu jako například charolais.

Plodnost je u skotu jednou z nejdůležitějších vlastností. Zajištění pravidelné reprodukce je základní podmínkou ekonomické produkce v chovu hospodářských zvířat. U skotu je tato stránka ještě důležitější vzhledem ke skutečnosti, že skot produkuje během relativně dlouhé březosti pouze jedno mládě a březost s porodem spouští důležité hormonální mechanismy hospodářsky důležité laktace. V dnešní době se nejčastěji využívá při reprodukci inseminace. Za pomoci metod laboratorního vyšetření kvality spermatu můžeme získat opravdu kvalitní ejakulát, který je potřebný pro vznik potomstva.

Kvalitní ejakulát je ovlivněn mnoha vnějšími i vnitřními faktory. Mezi nejdůležitější patří zajisté výživa, ale neméně důležitou roli hraje způsob chovu, technologie a ustájení, s ním spojená stájová hygiena, welfare zvířat, způsob a hygiena odběru semene. Z významných podmínek využívání produkčního potenciálu chovaných zvířat je sledování a řízení optimálního mikroklimatu ve stájích. Řízení mikroklimatu ve stájích se tak stává důležitou součástí zootechnické práce při vytváření vhodných podmínek při uplatňování daného technologického systému.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo zjistit vliv stájového mikroklimatu na vybrané kvantitativní a kvalitativní parametry ejakulátů plemenných býků českého strakatého skotu. Získané vzorky ejakulátů byly makroskopicky a mikroskopicky vyšetřeny v laboratoři inseminační stanice býků v Bohdalci, kde rovněž byly provedeny morfologické nátěry. Jejich následné vyšetření bylo uskutečněno v laboratoři oddělení reprodukce ÚCHŠZ MENDELU v Brně. Získané výsledky byly vyhodnoceny vhodnými matematicko – statistickými metodami.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Anatomie pohlavních orgánů býka

Pohlavní orgány býka jsou tvořeny – varlaty (*testes*), nadvarlaty (*epididymis*), chámovodem (*ductus deferens*), kopulačním orgánem – pyjem (penis) a přídatnými pohlavními žlázami (*gladulae genitales accesoriae*), kam se řadí měchýřkovité žlázy, předstojná žláza a bulbouretrální žlázy.

3.1.1 Varlata (*testes*)

Varlata jsou párový orgán plnící dvě funkce. V točitých semenotvorných kanálcích se vytvářejí spermie, hovoříme o činnosti exkretorické a v intestinálních Leydigových buňkách se vytvářejí androgeny, jedná se pak o činnost inkretorickou. Varlata jsou uložena v šourku (Gamčík, Kozumplík, *et al.*, 1984).

Vzhledem k uložení nadvarlete popisujeme na varleti dva konce a to hlavový konec – *extremitas capitata* a konec ocasní – *extremita caudata*. Hlavový a ocasní konec spojuje nadvarletní okraj – *margo epididymalis*, po němž postupuje tělo nadvarlete (Najbrt *et al.*, 1982). Povrch varlete je tvořen serózním povlakem, ten je srostlý s pevným fibrózním obalem a je označován jako pouzdro varietní. Parenchym varlete je rozdělován na jednotlivé lalůčky pomocí paprskovitě uspořádaných vazivovitých přepážek. Lalůčky jsou tvořeny ze stočených semonoplných kanálků vystlaných zárodečným epitelem a Sertoliho buňkami. Síť varletní je tvořena stočenými kanálky, které přecházejí v přímé kanálky. Ze sítě varlete vystupuje na hlavovém konci varlete asi 15 – 20 vývodných kanálků, které prostupují až do hlavy nadvarlete (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1984).

Varlata se v embryonálním období vyvíjí v dorzální části břišní dutiny, odkud sestupují do šourku. Sestup se uskutečňuje pomocí vazivového pásu, který se upíná na kůži v místě budoucího šourku. U přežvýkavců se uskutečňuje sestup před porodem, u hřebce a kance v čas porodu. Může se stát, že na jedné nebo na obou dvou stranách varlata nesestoupí do šourku, pak hovoříme o abdominálním (břišním) kryptorchizmu, pokud varlata zůstanou v břišní dutině. V případě, že zůstanou v tříselném kanálu, pak mluvíme o kryptorchizmu ingvinálním (tříselném) (Kliment *et al.*, 1983). Pro správný vývoj spermií ve varleti je nutná teplota v šourku o 3 – 5 °C nižší než je normální tělesná teplota (Svoboda, Senior *et al.*, 2001).

3.1.2 Nadvarle (*epididymis*)

Nadvarlata nasedají na povrch varlat. Je to orgán, který je tvořen nahloučením kliček vývodných kanálků varlete a kliček vývodu nadvarlete. Na nadvarleti rozlišujeme hlavu, tělo a ocas nadvarlete (Najbrt *et al.*, 1982). Hlavní funkcí nadvarlete je ve shromažďování spermií a jejich ukládání do zásob. Spermie zde zcela dozrávají a získávají schopnost pohybu (Věžník *et al.*, 2004). Funkce jednotlivých částí nadvarlete je možné charakterizovat tak, že v hlavě nadvarlete dochází k odnímání tekutiny, která vyplavuje spermie z varlete a k zahuštění spermií. V těle nadvarlete dochází k setkání spermií se sekrety, které obsahují velké množství tuků a dalších látek. Tyto látky zvyšují odolnost povrchových membrán spermií. Spermie projdou celým tělem nadvarlete za 8 – 11 dní (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1984).

3.1.3 Chámovod (*ductus deferens*)

Chámovod je tvořený sliznicí, svalovinou a serózou. Prochází po výstupu z ocasu nadvarlete dutinou šourkovou, tříselným kanálem a dutinou břišní se dostává do dutiny pánevní až na dorzální plochu močového měchýře (Věžník *et al.*, 2004). Ve své konečné části se chámovody spojují s vývodem semenného vajíčku příslušné strany ve vývodný kanálek, který vyústí do močové roury na semenném hrbolku (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1984). V břišní dutině je chámovod spolu s varletní tepnou, žílou a nervem, lymfatickými cévami, svalem a vnitřním zdvihačem varlete obalen útrobním listem poševního obalu. Celý tento útvar se nazývá semenný provazec (Věžník *et al.*, 2004).

3.1.4 Pyj (*penis*)

Pyj je samčí pářící pohlavní orgán, který díky své anatomii zabezpečuje přenos spermatu do pohlavních cest samic a současně i odvodnou cestou moči mimo tělo (Věžník *et al.*, 2004). Podkladem pyje je topořivé těleso pyje. Topořivé těleso je obaleno tlustou blánou z fibrózního vaziva. Pomocné svaly pyje, jejichž funkcí je spojení kořenu penisu s pánví a ocasními obratli, umožní uvedení pyje do polohy vhodné pro páření – napřimovač pyje. Po kopulaci zatažení pyje zpět do předkožky – zatahovač pyje (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1984).

Erekce je způsobena zvýšením tlaku krve uvnitř dutinek v topořivých tělesech penisu a díky tomu je větší přítok krve než jeho odtok. U přežvýkavců je ztopoření založeno na vyrovnání esovitého zakřivení penisu (Reece, 1998). Za klidového stavu je pyj zcela schován v předkožce. Kůže předkožky je volná a ochlupená (Najbrt *et al.*, 1982).

3.1.5 Přídavné pohlavní žlázy (*glandulae genitales accesoriae*)

Jsou uloženy v pánevní oblasti (Věžník *et al.*, 2004). Jedná se o ampule chámovodu, měchýřkovité žlázy, dále prostata a bulbouretrální žlázy (Reece, 1998).

3.1.5.1 Měchýřkovité žlázy (*glandulae vesiculosae*)

Jsou uloženy na horní ploše močového měchýře vedle ampulí chámovodu, s nimiž mohou ústit společně, jako je to v případě býka a hřebce. Sekret těchto žláz obsahuje cukry, které jsou zdrojem energie pro spermie, dále bílkoviny, volné AK, kyselinu mléčnou a další (Věžník *et al.*, 2004).

3.1.5.2 Předstojná žláza (*prostata*)

Je to svalově žláznatý orgán, který obepíná močovou trubici (Věžník *et al.*, 2004). Leží na krčku močového měchýře a začátku močové trubice, do které vyúsťuje četnými vývody (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1984). Nápadně je utvářena zejména u psa. Její zvětšení může být příčinou obstrukce průtoku močí urethrou (Reece, 1998).

3.1.5.3 Bulbouretrální žlázy (*glandulae bulbourethralis*)

Jsou to párové žlázy založeny u močové trubice (Věžník *et al.*, 2004). Jsou uloženy nejkaudálněji ze všech přídavných pohlavních žláz (Reece, 1998). Sekret těchto žláz je zásaditý, tvoří ochranu spermií tím, že neutralizují zbytky kyselé moči v uretře (Věžník *et al.*, 2004).

3.2 Ejakulát (semeno, sperma, chám)

Ejakulát je viskózní, nažloutlá, šedobílá tekutina, která se skládá ze dvou základních částí. A to z buněčné části, tj. spermií a z části tekuté neboli semenné plazmy (Marvan *et al.*, 2007). K tvorbě ejakulátu dochází od období pohlavního dospívání ve varleturním ústrojí (spermie) a v přídatných pohlavních žlázách (semenná plazma) samců (Kliment *et al.*, 1983). Největší podíl ejakulátu tvoří voda 90 až 98 %. Z anorganických látek obsahuje Na, K, Cl, P, Ca, S. Z organických látek obsahuje bílkoviny, cukry a tuky (Komárek *et al.*, 1964). Ejakulát má druhově specifickou barvu, pach a konzistenci. Přežvýkavci mají obecně ejakulát o menším objemu ale s vyšší koncentrací spermií (Marvan *et al.*, 2007).

Tab. 1 Přehled ejakulátů různých druhů zvířat

Druh zvířete	Objem ejakulátu (ml)	Celkové množství v ejakulátu v miliardách	Koncentrace spermií ($10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$)	Vzhled ejakulátu
<i>Býk</i>	2 - 10	4 - 10	1 - 2	Bělavě nažloutlá smetanovitá tekutina, páchne po čerstvě nadojeném mléku.
<i>Kanec</i>	200 - 400	20 - 80	100 - 200 tis.	Řídká, mléčně vodnatá tekutina, páchne po moči.
<i>Hřebeč</i>	80 - 120	4 - 20	30 - 500 tis.	Bělavě opaleskující tekutina.
<i>Beran</i>	1 - 2	2 - 10	1 - 4	Smetanovitá tekutina.

(Komárek *et al.*, 1971)

3.2.1 Spermatogeneze

Spermatogenezí nazýváme proces tvorby spermií, který probíhá v semenotvorných kanálcích varlat. Cyklus je tvořen obdobím rozmnožování, meiózy a metamorfózy. Cyklus probíhá pravidelně a celoročně.

Spermatogenezi dělíme na dvě etapy: spermatocytogeneze, kde dochází k rozmnožování, růstu a zrání. A na spermatohistogenezi, kde dochází k přeměně spermatid na spermie (Sova *et al.*, 1981).

3.2.2 Spermatocytogeneze

Období rozmnožování je charakterizováno opakovaným mitotickým dělením původních kmenových buněk A – spermatogonií. Dochází zde k dělení mateřských buněk A – spermatogonií na dvě nestejně velké dceřinné buňky (Jelínek, Koudela *et al.*, 2003).

Na období množení navazuje období růstu, kdy spermatocyty I. řádu zvětší svůj objem.

Období zrání – meiozy je charakteristické dvěma po sobě následujícími děleními a díky tomu dochází k redukci počtu chromozomů na polovinu – z diploidního počtu chromozomů se stává haploidní počet chromozomů. Vstupují do ní spermatocyty I. řádu a v prvním meiotickém dělení vznikají dva spermatocyty II. řádu. Druhým meiotickým dělením vznikají čtyři spermatidy, které jsou charakteristické přítomností vždy jednoho sex chromozomu – X chromozom nebo Y chromozom, poměr spermatid se zřetelem na sex chromozomy je 50 : 50 (Jelínek, Koudela *et al.*, 2003).

První meiotické dělení je charakteristické velmi dlouhou profází, která se skládá z leptotenního stádia a ze zygotenního stádia, zde vznikají dvojice bivalentních chromozomů. Pachytenní stádium je charakteristické vznikem chromatidové tetrády. Diplotenní stádium je z genetického hlediska nejdůležitějším stádiem charakteristické výměnou materiálu mezi jednotlivými chromozomy. Diakineze je posledním stádiem meiozy, jehož výsledkem jsou dvě haploidní buňky – sekundární spermatocyty (Sova *et al.*, 1981).

Při druhém meiotickém dělení dochází ke vzniku spermatid vytvářejících se ze sekundárních spermatocytů. Spermatidy mají rovněž haploidní počet chromozomů a vznikly mitotickým dělením spermatocytů II. řádu (Marvan *et al.*, 1992). Vznikem spermatid, kde z jednoho primárního spermatocytu vznikají čtyři spermatidy, se uzavírá fáze spermatocytogeneze (Sova *et al.*, 1981).

3.2.3 Spermatohistogeneze

V průběhu spermiogenezise prochází spermatidy do formy zralé spermie. Dochází k transformaci jádra spermatidy, mění se postupně jádro chromatinu za pomoci ztráty tekutiny a kondenzace do krystalické formy deoxyribonukleové kyseliny. Tento proces doprovází vytváření akrozomálního aparátu, který má základ v Golgiho aparátu (Věžník *et al.*, 2004).

Charakteristická pro vlastní průběh metamorfózy je tvorba pohybového aparátu – bičíku a vznik akrozomu na hlavičce spermie potřebného pro penetraci - vniknutí spermie do vajíčka. Hlavička spermie vzniká za pomoci prodloužení jádra spermatidy, které se prodloužilo, oploštilo a posunulo k apikálnímu pólu buňky. Oba buněčné centrioly dávají vznik krčku a osovému vláknu bičíku spermie.

Spermie postupují odvodnými kanálky do ocasu nadvarlete během 10 - 15 dní. V ocasu nadvarlete jsou uchovány až do ejakulace bez vykazujícího pohybu (Sova *et al.*, 1981).

3.2.4 Spermie

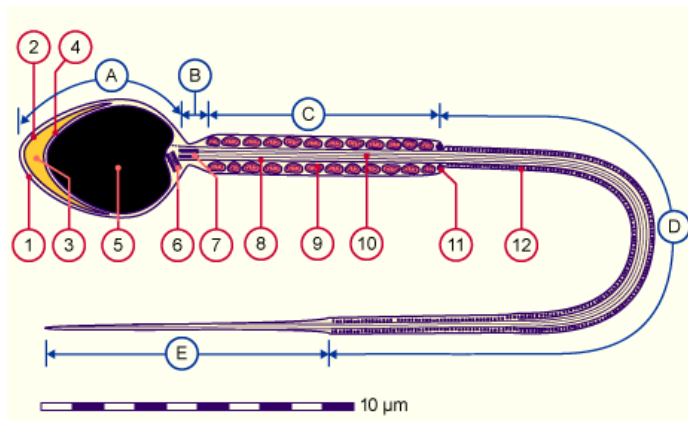
Tvoří nejdůležitější část ejakulátu. Jsou to samčí pohlavní buňky vytvářející se v semenotvorných kanálcích (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1976). Společným znakem spermií je pohyblivost a schopnost oplození. Velikost spermií se pohybuje v rozmezí 50 – 80 μm . Spermie mající heterochromozom Y (androspermie) jsou lehčí než spermie s heterochromozomem X (gynospermie) (Jelínek, Koudela *et al.*, 2003).

Hlavička má oválný tvar a je zploštěná ze stran. Přední část hlavičky je kryta čepičkou, u živých spermií je dobře barvitelná. Pod čepičkou se nachází akrozom. Jeho defekty jsou provázeny sníženou plodností. Akrozomální systém je nositelem enzymů a to hyaluronidázy a akrozínu. Tyto enzymy jsou pak následně uvolňovány při kontaktu vajíčka se spermií a mají tak významnou úlohu při penetraci. Převážná část hlavičky spermie je vyplněna jádrem a obsahuje chromatin, který se skládá převážně z deoxyribonukleové kyseliny (DNA) (Sova *et al.*, 1981). Nukleoplazma vyplňuje celé jádro hlavičky, její struktura je homogenní a kompaktní, mohou se však vyskytovat větší nebo menší světlá prázdná místa, tzv. vakuoly (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1984).

Krček je poměrně krátký a obsahuje dva za sebou uložené centrioly, mezi nimiž je rozepjato devět segmentovaných provazců neboli chord. Z distálního centriolu vystupují mikrofibrily, které dohromady tvoří osově vlákno bičíku (Sova *et al.*, 1981).

Bičík reprezentuje pohybové ústrojí spermie. Rozdělujeme ho na část hlavní, spojovací a koncovou. Ve spojovací části bičíku je osově vlákno, které je obaleno mitochondriemi, ty jsou seřazeny v podobě spirály. Hlavní úsek bičíku a jeho osově vlákno obaluje zevně fibrózní pochva z homogenní a silně kontrastní hmoty. Koncová část bičíku je tvořena pouze osovým vláknem bez chord i fibrózní pochvy (Sova *et al.*, 1981).

Celá spermie je kryta cytoplazmatickou membránou (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1976). Hlavním úkolem cytoplazmatické membrány je chránit spermie před nepříznivými vlivy vnějšího prostředí a zároveň permeabilita cytoplazmatické membrány umožňuje látkovou výměnu spermií. Poznotek, že cytoplazmatická membrána u živých spermií nepropouští některá barviva jako je eozin a fluorochromy, dal možnost vzniku metodě vitálně letálního barvení, díky které lze rozlišovat živé a mrtvé spermie. Dalším důkazem mrtvé spermie je i zvýšení permeability cytoplazmatické membrány spermie (Jelínek, Koudela *et al.*, 2003).



Obr. 1 Morfologie spermie

- 1 cytoplazmatická membrána
- 2 vnější akrozomální membrána
- 3 akrozom
- 4 vnitřní akrozomální membrána
- 5 jádro
- 6 proximální centriola
- 7 zbytek centrální centrioly
- 8 vnější fibrózní vlákna
- 9 mitochondrie
- 10 axonema
- 11 terminální disk (anulus)
- 12 prstencovitá vlákna

- A hlavička
- B krček
- C střední část
- D hlavní část bičíku
- E koncová část bičíku

<http://www.embryology.ch/anglais/cgametogen/spermato05.html>

Tab. 2 Rozměry spermií (μm)

Hlavička bičíku						
Druh zvířete	kanec	býk	hřebec	králík	pes	muž
Délka	8,73	9,11	6,27	8,46	6,49 – 7,06	4,0 – 5,0
Šířka	4,63	5,05	3,21	4,7	3,77 – 4,46	2,5 – 3,5
Bičík spermie						
Druh zvířete	kanec	býk	hřebec	králík	pes	muž
Spojovací část	10	14,8	8,6	8	11	5,6 - 2005
Hlavní část	30	45 - 50	43,7	38	50	38,5 - 40
Délka celé spermie						
Druh zvířete	kanec	býk	hřebec	králík	pes	muž
	48,15	68,9 – 73,9	57,55 – 59,7	54,2	67,5 – 68,1	47,5 - 51

(Věžník *et al.*, 2004)

3.2.4.1 Chemické složení spermií

Hlavička spermie obsahuje chromatin, který v sobě nese deoxyribonukleovou kyselinu. Akrozom pokrývající hlavičku spermie, je složen z mukopolysacharidů. Pronikání spermií do vajíčka přes zonu pellucidu je za pomoci proteinázy, která je obsažena v akrozomech spermií. Bičík spermií je bohatý na proteiny, lipoproteiny a enzymy. Minerální látky tvoří asi 1 – 2 % hmotnosti spermie. Patří mezi ně fosforečnany, chloridy a sírany (Gamčík, Kozumplík, *et al.*, 1984).

3.2.5 Semenná plazma

Semenná plazma je tvořena sekrety přídatných pohlavních žláz a na jejím složení se do jisté míry podílí i tekutina, která má svůj původ ve varleti, nadvarleti, chámovodu a močové trubici (Marvan *et al.*, 2007). Jedná se o tekutinu specifického množství, barvy, rozdílného pH 6,2 – 5,6 a konzistence. Vytváří přirozené prostředí pro spermie a umožňuje jejich výživu, transport v pohlavních orgánech samice. Na celkovém objemu ejakulátu je rozdílný podíl semenné plazmy (Jelínek, Koudela *et al.*, 2003). Tvorba semenné plazmy v přídatných pohlavních žlázách není plynulá, tvoří se a uvolňuje reflektoricky ve chvíli odběru spermatu. Její množství z velké části závisí na produkci testosteronu a

na stupni pohlavního dráždění (Kliment *et al.*, 1983). Semenná plazma má relativně stálý osmotický tlak a vyznačuje se velkou pufrací schopností. Rovněž stimuluje pohyb spermií (Jelínek, Koudela *et al.*, 2003).

U býků se semenná plazma na celkovém objemu ejakulátu podílí 90 – 95 %. U berana a kozla je to díky vysoké koncentraci spermií v ejakulátu jen 70 – 75 %. Největší podíl semenné plazmy je u hřebce, kance a psa (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1976).

3.2.6 Metody získávání ejakulátu

Máme různé způsoby získávání ejakulátu. V tabulce jsou uvedeny nejvhodnější metody u jednotlivých druhů zvířat.

Tab. 3 Metody získávání ejakulátu

Druh	Metoda získávání
Býk	Umělá vagína, elektroejakulace, masáž měchýřkovitých žláz (ojediněle)
<i>Beran, kozel</i>	Umělá vagína, elektroejakulace
<i>Kanec</i>	Umělá vagína, manuální metoda, elektroejakulace
<i>Hřelec</i>	Umělá vagína
<i>Pes</i>	Masturbace penisu, umělá vagína, elektroejakulace
<i>Kožešinová zvířata</i>	Masturbace penisu, elektroejakulace
<i>Králík</i>	Umělá vagína
<i>Kohout</i>	Kondom fixovaný na kloaku, masáž mělké části břicha, elektroejakulace
<i>Kačer</i>	Elektroejakulace, masáž mělké části břicha

(Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1976)

3.2.7 Frakce ejakulace

Prespermatická frakce – tato frakce neobsahuje spermie nebo jen ojediněle. Jedná se o nažloutlou tekutinu z prostaty.

Spermatická frakce – tato frakce obsahuje spermie. Má bílou až mléčnou barvu.

Postspermatická frakce – většinou už neobsahuje spermie. Zkalená tekutina pochází z prostaty (Svoboda, Senior, *et al.*, 2001).

3.3 Laboratorní vyšetření ejakulátu býka

3.3.1 Makroskopické vyšetření

Makroskopické hodnocení ejakulátu provádíme ihned po odběru. Hodnotíme objem, hustotu, barvu, pach a obsah cizích přímísenin (Louda *et al.*, 2001).

3.3.1.1 Objem

Stanoví se v kalibrované zkumavce nebo kalibrovaných odměrných válcích s přesností odpovídající celkovému objemu ejakulátu. Při stanovení objemu vážením se používají torzní váhy nebo laboratorní digitalizované váhy (Vežník *et al.*, 2000). Objem je variabilní a značně kolísá (Louda *et al.*, 2001). Závisí na výživě, zdravotním stavu, ročním období a způsobu odběru. Objem zjišťujeme měřením v kalibrovaném válci nebo vážením na laboratorní automatické váze (v gramech) (Louda *et al.*, 2001). Toto stanovení je nejzákladnější pro vyšetření ejakulátu. U býka, berana a muže se ejakulát získává v plném rozsahu a objem se stanoví z celkového množství. Veškeré nádoby a pomůcky, se kterými přijde ejakulát do styku, musí mít určitou teplotu. U býka a hřebce se doporučuje teplota 37 – 38 °C. Laboratorní prostředí by mělo mít teplotu 20 – 22 °C.

Průměrné hodnoty objemu u ejakulátu jsou u býka 6 ml, hřebce 60 ml, kance 230 ml.

Minimální objem ejakulátu by měl mít hodnoty u býka 4 ml, hřebce 20 ml, kance 100 ml (Vežník *et al.*, 2004).

3.3.1.2 Konzistence, zrnitost

Posuzujeme u každého ejakulátu ve sběrači v dopadajícím nebo procházejícím světle. Řídké sperma špatné jakosti je vodnaté, průsvitné bez zrnitosti. Husté sperma dobré jakosti je neprůhledná vazká tekutina, zpravidla smetanového mírně zrnitého vzhledu, zrnité shluky spermatu se pomalu pohybují (Louda *et al.*, 2001).

3.3.1.3 Barva

Barvu posuzujeme proti světlu. Dobré sperma je barvy bělavé, v některých případech šedobílé nebo mírně nažloutlé. Špatné sperma nehodící se k inseminaci bývá zbarveno žlutozeleně nebo zeleně přimísením hnisu, moče nebo nežádoucími mikroorganismy. Žlutavé zbarvení může být způsobeno flavinovými barvivy obsaženými v krmivu. Špatné je i sperma s přimísením krve (Louda *et al.*, 2001).

3.3.1.4 Pach

Pach posuzujeme čichem ve sběrači. Dobré sperma má slabý specifický pach, připomínající pach kravského mléka. Nazelenalé sperma páchne močí. Hnilobný zápach svědčí o přimísení hnisu (Louda *et al.*, 2001).

3.3.1.5 Cizí přimíseniny

Nejčastěji se jedná o chlupy, vazelínu, nečistoty z předkožky. Při odběru venku to může být prach nebo písek. Hnis zjišťujeme při zánětech semenných váčků, pyje nebo varlat a předkožky. Dobré sperma má být bez přimísenin (Louda *et al.*, 2001).

3.3.2 Mikroskopické vyšetření

3.3.2.1 Aktivita spermií

Jeden z nejvýznamnějších ukazatelů oplozovací – fertilizační schopnosti čerstvého ejakulátu je pohyb, a to progresivní pohyb vpřed za hlavičkou. Vyjadřuje se v procentech. Hodnotíme charakter pohybu, určujeme směr a rozsah kmitů hlavičky spermie. Mini-

mální aktivita 70 % je vyžadována u ejakulátu, který používáme pro přímou inseminaci nebo pro konzervaci (Louda *et al.*, 2001).

Vedle pohybu progresivního vpřed za hlavičkou můžeme sledovat i ostatní druhy pohybu, které hodnotíme jako závadné – kolébavý, kruhový, na místě, zpětný. Nežádoucí je shlukování spermií – aglutinace (Louda *et al.*, 2001).

Při hodnocení motility aplikujeme kapku spermatu na čisté předeřáté podložní sklíčko. Hodnotíme minimálně 3 zorná pole a odhadem stanovíme % zastoupení spermií, které se pohybují progresivním pohybem vpřed za hlavičkou (Louda *et al.*, 2001). Hodnocení provádíme ve světelném mikroskopu nebo fázovém kontrastu za zvětšení 200 – 300× (Věžník *et al.*, 2000).

K posouzení aktivity se dříve používalo pětibodové stupnice:

5 bodů – více než 90 % spermií se pohybuje vpřed za hlavičkou

4 body – 70 – 90 % spermií se pohybuje vpřed za hlavičkou

3 body – 50 – 70 % spermií se pohybuje vpřed za hlavičkou

2 body – 30 – 50 % spermií se pohybuje vpřed za hlavičkou

1 bod – do 30 % spermií se pohybuje vpřed za hlavičkou

K – spermie s kruhovým pohybem, N – spermie bez pohybu (Louda *et al.*, 1980).

Také se díváme na rychlost spermií v $\mu\text{m/s}$. U býka je to 80 $\mu\text{m/s}$, králíka 70 $\mu\text{m/s}$, hřebce 50 $\mu\text{m/s}$ a kance se spermie pohybují rychlostí 43 $\mu\text{m/s}$ (Věžník *et al.*, 2004).

3.3.2.2 Koncentrace spermií (hustota)

Celkový počet spermií v ejakulátu je jedním z nejdůležitějších parametrů svědčících o kvalitě semene. Koncentrace ejakulátu je dána funkční aktivitou semenoplodného epitelu varlat, věkem, zdravotním stavem, technikou odběru. Podává základní informace o kvalitě ejakulátu. Faktory, které ovlivňují koncentraci spermií, se všeobecně uplatňují prostřednictvím vnitřního prostředí organismu a negativním působením na řídicí mechanismy, popřípadě přímo na cílové tkáně pohlavního systému (Louda *et al.*, 2001).

Hustotu spermií v ejakulátu vyjadřujeme počtem spermií v 1 mm³ ejakulátu nebo v 1 ml (Louda *et al.*, 2001).

Koncentraci spermií posuzujeme fotometricky (nefelometricky), počítačem částic a hemocytometricky. Fotometrické stanovení koncentrace je orientační. Pro posouzení koncentrace spermií je doporučeno automatické posouzení počtu spermií elektronickým počítačem částic nebo hemocytometrickou metodou s použitím klasické metody počítání spermií v Bürkerově komůrce po naředění ejakulátu roztokem dle Hayema v melanžeru na červené krvinky. Hodnocení se provádí ve světelném mikroskopu při zvětšení 200× (Věžník *et al.*, 2000).

Tab. 4 Vztah mezi koncentrací, barvou a konzistencí semene u různých plemenů

Plemeno	Konzistence ejakulátu	Barva ejakulátu	Hustota odhadem	Koncentrace spermií (mil/mm ³)
<i>Býk</i>	Vodnatá	Šedobílá průhledná	0-1	0-0,2
	Slabě mléčná	Žlutobílá průhledná	2	0,2-0,5
	Mléčná	Barva slonoviny	3	0,5-1,0
<i>Kozel</i>	Vodnatá	Šedobílá	0-1	0-0,6
	Mléčná	Nažloutlá	2	0,6-2,0
<i>Beran</i>	Smetanově mléčná	Bílá až sědě bílá	3	2,0-3,5
	Smetanová	Nažloutlá až žlutá	4	Nad 3,5
<i>Hřebeč</i>	Skoro vodnatá	Šedivá	0-1	0-0,03
	Hlenovitá, syrovátková	šedobílá	2-3	0,03-0,5
	Málo hlenovitá mléčná	bílá	4	Nad 0,5

(Louda *et al.*, 2001)

Stanovení koncentrace spermií fotometricky:

Toto stanovení je orientační a provádí se především v běžných provozních laboratořích. Ve své podstatě jde o nefelometrické stanovení stupně zákalu. Tento zákal vzniká při naředění nativního ejakulátu s daným ředidlem. Nefelometry používané při stanovení

jsou specificky kalibrované a mají na stupnici přímo údaje o koncentraci. Fotometrické stanovení je za daných podmínek objektivní (Věžník *et al.*, 2004).

Jednou za měsíc kontrolujeme měření fotometru porovnáním výsledků s hodnotami zjištěnými počítáním v Bürkerově komůrce. Rozdíl nesmí být větší než 15 % (Louda *et al.*, 1980).

Stanovení hustoty spermatu hemocytometricky:

Hustotu spermatu stanovíme také počítáním spermií v počítací komůrce - Bürkerově (Říha *et al.*, 2003).

Při tomto stanovení jsou zapotřebí následující pomůcky:

- počítací komůrka Bürker s krycím sklíčkem
- melanžér na červené krvinky
- balónek se zpětným ventilem
- dvě hodinová sklíčka
- 3 % roztok NaCl zbarvený methylenovou modří, eozinem nebo neutrální červení
- 96 % líh
- etyléter
- destilovaná voda (Louda *et al.*, 2001).

Při tomto stanovení užíváme mísící pipetu tzv. melanžér. Semeno můžeme používat nativní nebo ředěné, kdy se poměr ředění musí stát součástí výpočtového vzorce. Před odebráním vzorku k počítání v komůrce je nutno suspenzi v mísící pipetě dobře homogenizovat. Ejakulát, který má větší koncentraci jako u býka, se ředí 1 : 200. Na rozdíl od ejakulátu, který má nižší koncentraci, se ředí 1 : 100. Toto ředění se používá u ejakulátu kanců, hřebců a králíků (Věžník *et al.*, 2004).

Do melanžéru nasajeme sperma až ke značce 0,5 a ke značce 101 se doplní 3 % roztokem. Obsah melanžéru homogenizujeme po dobu tří minut (Louda *et al.*, 2001). Prvních pět až deset kapek se odkape na buničitou vatu (Věžník *et al.*, 2004). Další kapka se aplikuje na počítací plochu komůrky s prisátým sklíčkem. Krycí sklíčko komůrky se uchytí svorkami a roztíracími pohyby palců provedeme mírné přetírání krycího skla, až jsou patrné duhové skvrny (Louda *et al.*, 1980).

Vzorec pro výpočet:

$$X = PS \times \check{C} \times Z \times V/P\check{C}$$

X... počet spermií v 1 mm³ neřaděného ejakulátu

PS... počet napočítaných spermií

Č... plocha čtverce, ve kterém jsme počítali

Z... stupeň ředění

V... výška komůrky

PČ... počet čtverců, ve kterých jsme počítali (Věžník *et al.*, 2004).

Počítáme spermie ležící uvnitř čtverce o velikosti 1/16 mm² a všechny spermie, jejichž hlavičky se dotýkají nebo leží na levé a horní straně čtverce. Počítáme spermie v deseti čtverečcích (Louda *et al.*, 2001).

Koncentrace spermií v 1mm³ u vybraných druhů:

- býk 700 000
- hřebec 50 000
- kanec 150 000
- králík 450 000
- pes 200 000 (Věžník *et al.*, 2004).

Stanovení hustoty spermatu spermiodenzimetrem podle Karrassa:

Spermie počítáme po příslušném naředění také v Karrassově spermiodenzimetru (Říha *et al.*, 2003).

Při tomto stanovení potřebujeme Karrassův klín, tabulku k určení hustoty ejakulátu, 1% roztok NaCl a pipetu dělenou po 0,1 cm³.

Do Karrassova klínu odpipetujeme 0,1 cm³ spermatu a objem klína se doplní 10 cm³ 1 % roztoku NaCl. Po opatrném promíchání obsahu odečteme na stupnici spermiodenzimetru hodnotu, která je dobře viditelná pouhým okem. Následně stanovíme koncentraci spermií v 1 mm³ ejakulátu.

traci spermií v 1 cm³. Chyba se pohybuje ± 5 % od skutečného počtu spermií (Louda *et al.*, 2001).

Stanovení hustoty spermatu odhadem:

Na sklíčko s důlkem dáme kapku spermatu, přikryjeme krycím sklíčkem a vyšetřujeme pod světelným mikroskopem při 100 - 200 násobném zvětšení. Na základě prostorového uspořádání spermií a jejich vzdálenosti mezi nimi subjektivně zhodnotíme koncentraci ejakulátu (Louda *et al.*, 1980).

3.3.2.3 Stanovení procenta živých a mrtvých spermií barvením

Stanovujeme pomocí vitálních barvicích testů (Věžník *et al.*, 2000). Obraz o kvalitě je založen na rozdílné afinitě živých a mrtvých spermií k barvivům. Mrtvé nebo oslabené spermie přijímají barvivo. Živé spermie nepropouštějí semipermeabilní membránou barvivo a zůstávají bílé. Málo životaschopné spermie se značně sníženým metabolismem se barví bledě růžově až červeně (Louda *et al.*, 2001). Posuzujeme 200 buněk při zvětšení 1000× (Věžník *et al.*, 2000).

Způsoby barvení:

- eosinem- použité barvivo je eosin
- barvení podle Bloma I. – použítá barviva jsou 1 kapka eosinu a 4 kapky roztoku nigrosinu
- barvení podle Lasleye – barviva jsou nigrosin nebo opálová modř
- barvení podle Bloma II. – barviva 5 % roztoku eosinu v citrátu sodném a 10 % vodní roztok nigrosinu (Louda *et al.*, 2001).

3.3.2.4 Stanovení koncentrace vodíkových iontů – pH spermatu

Kyselost spermatu je výrazem činnosti a zdravotního stavu přídatných pohlavních žláz (Louda *et al.*, 2001). Mělo by být stanoveno do 15 minut po odběru, a to z toho důvodu, že životní pochody spermií se mění a to zejména u přežvýkavců. Jeden autor doporučuje, aby se pH měřilo ihned po odběru pomocí přesných zařízení a důrazně nedoporučuje

používat měřicí tyčinky (Threlfall, 2003). Nepříznivé hodnoty pH negativně působí na fertilitu spermatu (Gamčík, Kozumplík *et al.*, 1992).

Pracovní postup: do pinzety uchopíme nitrazínový papírek, který si mírně navlhčíme sterilní tyčinkou se vzorkem spermatu. Sperma necháme působit asi 1 minutu. Po zaschnutí vznikne na indikátorovém papírku barevný odstín, který porovnáváme s barevnou srovnávací stupnicí. U každého barevného odstínu je vyznačeno číslo určující pH. Vyhledáme barevný odstín srovnávací stupnice souhlasící se zbarvením indikátorového papírku, příslušné číslo udává hodnotu pH (Louda *et al.*, 2001). Stanovení pH papírky nebo jinými titračními postupy je jen orientační (Věžník *et al.*, 2000).

Pokud chceme získat přesnější hodnoty, tak stanovujeme pH potenciometricky na pH metrech (Věžník *et al.*, 2000).

Tab. 5 Průměrné hodnoty pH normálního spermatu

Býk	6,4 - 6,8
<i>Beran, kozel</i>	6,2 - 7,6
<i>Hřebec</i>	7,2 - 7,6
<i>Kanec</i>	7,3 - 7,9

(Louda *et al.*, 2001)

3.3.2.5 Mitochondriální aktivita spermií

Stanovujeme ji pomocí redukce nitrotetrazoliové modře a výpočtu ER. Jako redukčního činidla se používá nitrotetrazoliová modř v koncentraci 0,1 %. Hodnocení se provede po 30 minutové inkubaci při zvětšení 1000× fázovým kontrastem nebo ve světelném mikroskopu po dobarvení 0,5 % eosinem (Věžník *et al.*, 2000).

3.3.2.6 Morfologie spermíí

Poznatky o morfológické abnormalitě a morfologii spermíí mohou přispět ke zjištění neplodnosti plemeníků. Pro zjištění těchto poznatků se využívá zdokonalené mikroskopické techniky a různých způsobů barvení. Pro morfológické laboratorní a cytochemické vyšetření musí být sperma čerstvé (Louda *et al.*, 2001).

Morfologický obraz zjišťujeme mikroskopickým posouzením minimálně 200 spermíí a stanovením procenta abnormálních, nebo morfologicky změněných spermíí. Hodnocení provádíme na obarveném nátěru za zvětšení 1000 – 1500×. Pro přehledné barvení se používají metody dle Hancocka a Farelly. Při použití fluorescenční mikroskopie jsou nejvhodnější fluorochromy pro přehledné zbarvení akridin oranž, primulin, thioflavin S (Věžník *et al.*, 2000).

Pomůcky, které přicházejí do styku se spermatem, musí být sterilní, chemicky čisté a mít přibližně stejnou teplotu jako vyšetřované sperma.

Jako zředovací roztok je nejvhodnější fyziologický roztok NaCl. Sperma ředíme na předeřátém hodinovém sklíčku v poměru 1 : 1 až 1 : 20 podle hustoty spermatu. Při nanášení spermatu je důležité krouživými pohyby provést promíchání spermíí se zředovacím roztokem na hodinovém sklíčku tak, aby se nevytvářely shluky, které by znesnadnily posouzení. Po rozetření ejakulátu necháme preparát oschnout a následně se dobarví (Louda *et al.*, 2001).

V současné době se doporučuje při morfológické analýze postupovat tzv. striktní analýzou spermatické morfologie a k hodnocení využít programu SASMO (Věžník *et al.*, 2000).

3.3.2.7 Morfológické změny spermie

Mezi primární změny spermíí patří vady, které vznikly v průběhu spermatogenního cyklu jako například degenerativní změny spermíí, změny tvaru hlavičky, změny v nukleoplazmě a akrozomu, tvarové změny bičíku a další vývojové anomálie.

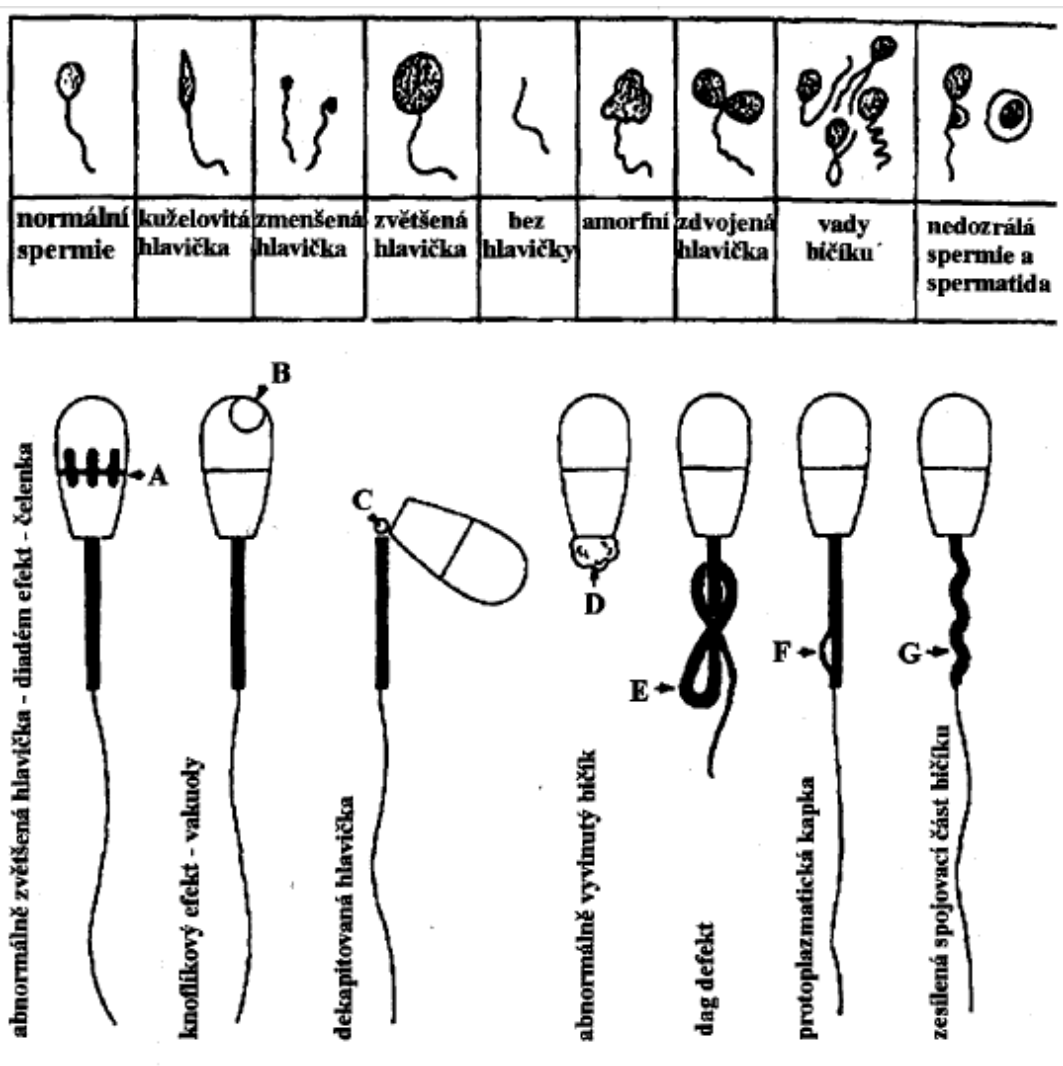
Sekundární změny spermíí nastávají při dlouhém pobytu spermíí v ocasu nadvarlete, v průběhu ejakulace, špatnou manipulací s odebraným spermatem, nesprávné přípravě preparátů. Změny jsou projevem kvalitativních změn v semenné plazmě a nesprávně

ného technologického postupu při zpracování spermatu. Řadíme sem změny na hlavičce spermií, změny akrozomu, torze bičíku (Louda *et al.*, 2001).

Tab. 6 Vybrané změny na spermiích

Umístění	Vada
<i>Hlavička</i>	Makrocefalie, mikrocefalie
	Zúžená prodloužená
	Zdvojená hlavička
	Zbobtnání akrozomu
<i>Krček</i>	Abnormální postavení inserce bičíku
	Rozvolnění vazby v implantační rýze
	Rezidua cytoplazmy v oblasti krčku
<i>Spojovací část</i>	Ztluštěná
	Zúžená
	Zdvojená
	Změněná délka
<i>Bičík</i>	Ohnutí bičíku
	Stočení bičíku
	Svinutí bičíku
	Primární svinutí bičíku – Dag defekt

(Věžník *et al.*, 2000)



Obr. 2 Morfologické anomálie hlaviček spermií a bičků

(Louda *et al.*, 2001)

3.4 Prvky stájového mikroklimatu

3.4.1 Teplota ovzduší

Teplotou vzduchu se rozumí teplota stanovená teploměrem, chráněným před radiací (teplota stanovená ve stínu) (Chloupek, Suchý, 2008). Z faktorů ovlivňujících tepelnou pohodu organismu hraje rozhodující úlohu teplota. Je hlavním klimatickým faktorem, nadřazeným ostatním faktorům teplotně vlhkostního komplexu, který přizpůsobuje produkci a výdej tepla stavu prostředí (Jánský, 1991).

Teplota je jednou ze základních veličin. Je mírou střední kinetické energie termodynamického pohybu molekul a její jednotkou je v soustavě SI Kelvin (K). V meteorologické praxi se však teplota vzduchu nebo půdy dodnes nejčastěji udává ve stupních Celsiovy teplotní stupnice (Sobíšek *et al.*, 1993).

Teplota suchého teploměru je nejčastěji měřená a popsaná klimatická proměnná v teorii i praxi ustájení dobytka. Plně však nevystihuje tepelné nároky prostředí pro zvířata. Přesto jde o nejvýznamnější samostatnou proměnnou a obvykle je nejsnadněji měřitelná při rutinním denním sledování (Wathes, Charles, 1994).

Základním údajem o teplotě je hodnota zjištěná ve výšce 2 m nad zemským povrchem v zastíněném prostředí meteorologické budky či adekvátního prostředí. Protože teplota vzduchu závisí na tom, kolik energie je předáno do ovzduší ze zemského povrchu, nebo kolik energie je zemským povrchem z ovzduší odebráno, může za předpokladu, že se vzduch ve směru horizontálním nepohybuje, teplota v přízemní vrstvě s výškou buď klesat, nebo stoupat (Rožnovský, Havlíček, 1998).

Za ideálních teplotních podmínek je z těla odváděno přesně takové množství tepla, jaké se v těle produkuje, teplota těla je stále na stejné výši, bez nutnosti zapojení termoregulačních mechanismů. Při nízkých teplotách, zejména v zimním období, nastává zvýšení spotřeby krmiva na jednotku přírůstku, a naopak při vyšších teplotách v letním období se intenzita metabolismu snižuje, dochází k nechutenství s následným snížením příjmu krmiva. Organismus s vyvinutou termoregulací je schopen se snadněji přizpůsobit nižším teplotám proti vysokým (Jánský, 1991).

Tab. 7 Požadovaná optima a přípustná minima teploty vzduchu ve stájích pro skot

Kategorie zvířat	Teplota vzduchu (°C) v interiéru	
	minimum	optimum
<i>Teletník</i>	8	10 - 14
<i>Mladý skot - volná stáj</i>	2	2 - 10
<i>Mladý skot - vazná stáj</i>	6	10 - 12
<i>Dojnice - vazná stáj</i>	8	10 - 12
<i>Dojnice - volná stáj</i>	2	4 - 10
<i>Dojírna</i>	10	14 - 16

(Klabzuba, 2002)

3.4.2 Relativní vlhkost ovzduší (RH)

Vlhkost vzduchu je po teplotě prostředí druhým hlavním ukazatelem kvality stájového mikroklimatu. Ovlivňuje tepelné ztráty zvířat všeho druhu (Šoch *et al.*, 2003). Relativní vlhkost ovzduší vyjadřuje nasycení vzduchu vodní párou a značně tedy ovlivňuje mikroklima (Rožnovský, Havlíček, 1998). Relativní vlhkost vzduchu posuzujeme vždy ve vztahu k teplotě. Maximální vlhkost se připouští při minimální teplotě vzduchu. Vlhkost vzduchu v podstatné míře ovlivňuje výdej tepla z organismu a jeho tepelnou bilanci (Pulkrábek *et al.*, 2005).

Pokud je obsah páry ve vzduchu příliš vysoký, snižuje se tím možnost ochlazování těla skotu pomocí evaporace a zvíře se tak může dostat do tepelného stresu již při relativně nízké teplotě prostředí (Koukal, 2001).

Zvířata sama jsou ve stájích hlavním zdrojem vlhkosti, dále jsou to pak mokré plochy a vodní zdroje. Množství výparu záleží hlavně na teplotě, na stupni nasycení vodními parami a na proudění vzduchu (Šoch *et al.*, 2003).

Ideálně by se měla relativní vlhkost vzduchu ve stáji pohybovat v rozmezí 40 – 80 %. I když vysoká relativní vlhkost vzduchu nemá negativní vliv na pohodu a užitkovost dojnic, tak by její hodnota ve stáji neměla přesáhnout 85 % (Šoch *et al.*, 2003). Škodlivý je ovšem i příliš suchý vzduch pod 35 %, který se však v našich podmínkách vyskytuje zřídka. Suchý vzduch vysušuje sliznice dýchacích trubic a snižuje vliv přirozené infekční bariéry, kterou tvoří hlenový povlak na sliznicích horních cest dýchacích (Novák *et al.*, 1996).

3.4.3 Teplotně – vlhkostní index (THI)

Nejdůležitějšími mikroklimatickými prvky jsou teplota a relativní vlhkost ovzduší při posuzování pohody zvířat. Proto se často používá teplotně – vlhkostní index, který zahrnuje kombinaci efektu teploty a relativní vlhkosti (West, 2003).

Výpočet THI se provádí podle následující rovnice (Hahn, 1999):

$$\text{THI} = 0,8t_{\text{db}} + [(t_{\text{db}} - 14,4) * \text{RH}] / 100 + 46,4$$

Kde t_{db} představuje teplotu ovzduší a RH relativní vlhkost ovzduší ve stáji.

Za optimální hodnotu teplotně – vlhkostního indexu považujeme 70 nebo méně, hodnotu 75 – 78 za stresující a hodnoty vyšší než 78 způsobují extrémní utrpení a zvířata nejsou schopna udržovat termoregulační mechanismy nebo normální tělesnou teplotu (Lemerle, Goddard, 1986).

Za limitující hodnotu THI, jejíž překročení může znamenat pro dojnice teplotní stres, je považována hodnota THI 72, což při relativní vlhkosti ovzduší 50 % představuje zhruba teplotu 25 °C (Kendall *et al.*, 2006). Jiní autoři naopak udávají jako limitující vyšší hodnotu THI a to 75 (Algers *et al.*, 2009, Kadzere *et al.*, 2002).

THI byl široce používán jako indikátor teplotního stresu u skotu po více než 4 desetiletí. Nicméně má THI i svá omezení, jelikož nezahrnuje důležité klimatické vlivy jako je solární radiace, rychlost větru (m/s), managementové faktory (vliv stínu) nebo faktor zvířete – genotypové diference (Gaughan, Lisle, 2008).

3.4.4 Rychlost proudění vzduchu

Je nutno posuzovat společně s teplotou a vlhkostí. Chceme-li zhodnotit vliv proudění na organismus, musíme znát jak směr proudění vzduchu, tak rychlost proudění. Vzduch proudí vždy z míst s nižší teplotou, kde je vyšší tlak vzduchu do míst s vyšší teplotou, kde je tlak nižší (Pulkrábek *et al.*, 2005).

Vzduch ve stájích proudí jak turbulentně (vířivě), tak i přímočaře. Ovlivňují to konstrukce, systémy větrání, otevírání oken a vrat, výskyt netěsností apod. (Chloupek, Suchý, 2008).

Proudění vzduchu kolem zvířat může mít pozitivní i negativní efekty. Odebírá teplo a vodní páru, podporuje termoregulaci a to zejména v létě, přivádí čerstvý vzduch, nebo může transportovat škodlivé plyny a způsobovat nepříjemný průvan. To je zvláště důležité pro krávy, které jsou ve vazných stájích a nemohou uniknout do pohodlnějšího prostoru stáje (Pelzer, 1998).

Význam proudění vzduchu spočívá v ochlazování kůže zvířat a v ovlivňování vydávání tepla z organismu zvířat. Jeho účinek se zvyšuje u zvířat, která jsou nedostatečně

osrstěná a mají malou vrstvu podkožního tuku, respektive na těch částech těla která jsou nedostatečně osrstěná jako například mléčná žláza (Chloupek, Suchý, 2008).

Optimální rychlost proudění vzduchu ve stáji by se měla pohybovat v rozmezí 0,1 – 0,3 m/s (Chloupek, Suchý, 2008). Proudění vzduchu v těchto rozmezích má příznivý účinek na krevní oběh a látkovou výměnu. Při vyšších rychlostech a při nízké teplotě prostředí nastává nadměrné ochlazení. Za průvan se považuje stav, kdy rychlost proudění vzduchu převyšuje 0,3 m/s. Ve stájích vzniká průvan při větrání, při příčném otevírání oken a dveří nebo při netěsnostech (Kursa, 1998).

3.4.5 Složky stájového vzduchu

Ve stájovém prostředí se nalézá přes 130 odlišných plynů. Z nich nejdůležitější jsou NH_3 , CO_2 , H_2S . (Pulkrábek *et al.*, 2005).

3.4.5.1 Amoniak (čpavek, čpavková voda, hydroxid amonný, NH_3)

Z pohledu zátěže životního prostředí má největší význam především tvorba a únik amoniaku (NH_3). Emise amoniaku působí významně na okyselování půdy a na citlivé rostliny (Pulkrábek *et al.*, 2005).

Amoniak je bezbarvý plyn s typickým čpícím štiplavým zápachem. Je zásaditý, dráždivý a žíravý. Hustotou $0,77 \text{ kg/m}^3$ je zhruba o polovinu lehčí než vzduch. Může být skladován za zvýšeného tlaku v kapalném stavu. Má výbornou rozpustnost ve vodě. Reaguje s kyselinami za vzniku amonných solí. Má silné korozivní účinky vůči kovům, zejména vůči slitinám mědi (Pulkrábek *et al.*, 2005).

Čpavek vzniká při rozkladných procesech organických dusíkatých látek, močůvky, výkalů. Jeho produkce závisí na tom, jak dlouho zůstává ve stáji hnůj nebo močůvka, tedy na technologii odklizu hnoje.

Obsah NH_3 ve stájovém ovzduší kolísá od 0,0001 do 0,003 obj. %. Nejvyšší přípustná koncentrace ve všech stájích je 0,0025 obj. % = $18,3 \text{ mg/m}^3$.

Vysoké koncentrace čpavku vyvolávají emfyzém plic, krvácení na sliznicích dýchacích cest, poškození CNS s rozvojem křečí, dyspnoí (dušností) a komatózními stavy.

Nejzávažnější je chronické zatížení organismu při překračování maximální přípustné koncentrace, kdy vedle dráždivého účinku na sliznice dochází až k poleptání epitelu sliznic čpavkem rozpuštěným v tekutině nebo hlenu na jejich povrchu. Tím se poruší lokální nespecifická obrana a je uvolněn prostor pro nejrůznější infekce. Při obraně organismu proti čpavku dochází k edematóznímu prosáknutí stěny alveolů a vytváří se lipoproteinová ochranná vrstva, která ztěžuje výměnu plynů při dýchání (Kursa *et al.*, 1986).

Pro snížení obsahu amoniaku v ovzduší je nutné dodržovat technologii odklizení výkalů a zajistit rychlý odtok močůvky (Pulkrábek *et al.*, 2005).

3.4.5.2 Oxid uhličitý (CO₂)

Je bezbarvý plyn bez zápachu, těžší než vzduch, ve vodě je dobře rozpustný. Ve stájo-
vém prostředí je ho zpravidla desetkrát více než v atmosférickém vzduchu. I při dosaže-
ní maximální přípustné koncentrace CO₂ není pro zvířata toxický (Kursa *et al.*, 1986).

Vzniká ve stájích především jako produkt dýchání zvířat, kvasných pochodů v zaží-
vacím traktu a při zrání podestýlky. Negativně na organismus zvířat působí koncentrace
vyšší než deset objemových procent. Je to významný indikátor větrání (Pulkrábek *et al.*,
2005).

Tab. 8 Vliv koncentrace CO₂ na organismus

Koncentrace (obj. %)	Působení
Do 1	Bez negativního vlivu
1 - 2	Snížení příjmu krmiva
4 - 10	Vyšší tep a prohloubený dech
10 - 20	Poruchy vědomí
25 - 50	Úhyn

www.af.mendelu.cz/external/poradenstvi/publikace_download.php?id=5&file=5_stavby_pro_chov_prasat.ppt

3.4.5.3 Sirovodík (*sulfan* – H_2S)

Je bezbarvý, páchnoucí plyn, který i v malých koncentracích je intenzivně cítit po zkažených vejcích. Je silně toxický. Ve vodě je méně rozpustný, je těžší než vzduch. Vzniká ve stájih anaerobním rozkladem organických látek, zejména bílkovin se sirnými aminokyselinami (Pulkrábek *et al.*, 2005).

H_2S vniká do organismu dýchacími cestami. Při vysokých koncentracích mají otravy perakutní průběh, dochází k ochrnutí dýchacího centra a kardiovaskulárního systému. H_2S má podobně jako NH_3 metatoxický účinek (dlouhodobý účinek zvýšené netoxické koncentrace jedů), který se projevuje tím, že připravuje podmínky pro jiná infekční onemocnění. Přímý účinek sirovodíku není tak výrazný jako u amoniaku. Nebezpečný je kumulativní charakter sirovodíku, kdy se při vdechování nízkých koncentrací H_2S v organismu zadržuje a dochází k chronickým otravám, které se projevují celkovou slabostí, poklesem živé hmotnosti, pocením a katarom horních cest dýchacích.

Nejvyšší přípustná koncentrace ve všech stájích je 0,001 obj. % = 14,1 mg/m³. Letální koncentrace se v závislosti na stáří a hmotnosti zvířete pohybují v rozmezí 0,05 – 0,1 obj. % (Kursa *et al.*, 1986).

Tab. 9 Doporučené hodnoty stájových plynů ve stájovém prostředí

Stájové plyny	Měrná jednotka	Maximálně
CO_2	% obj.	do 0,30
	mg (resp. ppm)	do 3000
NH_3	% obj.	do 0,0025
	mg (resp. ppm)	do 25
H_2S	% obj.	do 0,0006
	mg (resp. ppm)	do 6

(Zeman, 2004)

4 MATERIÁL A METODIKA

V období od 1. března do 31. srpna 2014 bylo provedeno celkem 154 odběrů ejakulátů od 9 býků českého strakatého plemene skotu ustájených na inseminační stanici býků provozované Chovatelským družstvem Impuls na Bohdalci v kraji Vysočina (GPS: 49°28'25.137"N, 16°4'3.303"E; 558 m.n.m.).

Všechny odběry ejakulátů byly provedeny vedoucím ISB, v místnosti speciálně k tomuto úkonu uzpůsobené, metodou odběru do umělé vagíny, zakončené plastovým sběračem. Z bezpečnostních důvodů jsou v provozních podmínkách ISB říjící se plemene nahrazovány atrapou, býky klidného temperamentu, kteří jsou po čtyřech odběrech střídáni z důvodu značného zatížení zadních končetin, především hlezenních kloubů (Louda *et al.*, 2007).

Ihned po odběru bylo u všech vzorků provedeno makroskopické a mikroskopické vyšetření, které zahrnovalo zjištění objemu ejakulátu, aktivity a koncentrace spermií. Objem ejakulátu byl zjištěn přímo, odečtením ze stupnice kalibrované odběrové nádoby. Aktivita spermií byla hodnocena subjektivní metodou, dle procentuálního zastoupení spermií v nativním ejakulátu vykazujících progresivní přímočarý pohyb vpřed za hlavičkou (Louda, 2001) a koncentrace spermií byla hodnocena spektrofotometrickou metodou. Celkový počet spermií byl stanoven prostřednictvím výpočtu z koncentrace spermií v 1 mm³ a objemu ejakulátu (Bane, 1954). Na základě výsledků výše uvedených laboratorních vyšetření bylo rozhodnuto, jestli je daný ejakulát vhodným biologickým materiálem pro výrobu inseminačních dávek, či nikoliv, a zda je vhodné jej do naší studie zařadit.

Pro zhodnocení morfologických parametrů bovinních ejakulátů byly na ISB zhotoveny morfologické nátěry (n = 86), které byly převezeny do laboratoře oddělení reprodukce hospodářských zvířat Ústavu chovu a šlechtění zvířat Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně. Zde byly obarveny metodou dle Farrellyho a mikroskopicky posouzeny při 1000 násobném zvětšení za použití olejové imerze. Při tomto vyšetření bylo vyhodnoceno procento morfologicky normálních a patomorfologicky poškozených spermií. Sledovány byly především změny na hlavičce, akrozomu, spojovací části a bičíku (torze, dag efekt). Dále pak byla sledována přítomnost spermií nezralých a degenerovaných. Na každém morfologickém preparátu bylo hodnoceno 200 spermií.

Vliv stájového prostředí na kvalitativní parametry bovinního ejakulátu byl hodnocen pomocí THI (teplotně-vlhkostního indexu), kdy teplota a relativní vlhkost stájového vzduchu byla měřena za pomoci HOBO čidel, v 30 minutových intervalech, v průběhu 24 hodin před odběrem. THI bylo z naměřených hodnot stanoveno dle následující rovnice (Mader *et al.*, 2006).

$$\text{THI} = \frac{\{0,8 \times t_{ab} + [(t_{ab} - 14,4) \times RH]\}}{100} + 46,4$$

Kde:

- t_{ab} představuje teplotu stájového vzduchu ($^{\circ}\text{C}$),
- a RH relativní vlhkost stájového vzduchu (%).

Statistické vyhodnocení získaných dat bylo provedeno prostřednictvím lineárního modelu (GLM) procedury v programu Statistical Analysis System (SAS, 2005). Pro každý sledovaný mikroklimatický faktor bylo stanoveno rozmezí pásem, v rámci kterých byly hodnoceny kvalitativní parametry bovinního ejakulátu prezentované: objemem ejakulátu, aktivitou spermií, koncentrací spermií, celkovým počtem spermií obsažených v ejakulátu a procentem spermií morfologicky poškozených.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Vyhodnocení výsledků ejakulátu

5.1.1 Vyhodnocení po makroskopickém vyšetření

5.1.1.1 Vyhodnocení objemu (ml)

Tab. 10 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na objem ejakulátu

		Celkový počet vzorků	Objem - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	73	7,40	0,34	a
	Prověření býci	81	11,76	0,30	b
THI	< 45	34	8,60	0,60	n.s.
	45 - 50	79	9,78	0,46	n.s.
	50 <	41	10,36	0,51	n.s.
Teplota	< 10 °C	25	10,15	0,75	n.s.
	10 - 20 °C	93	9,40	0,35	n.s.
	20 °C <	36	9,19	0,62	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	79	9,87	0,31	n.s.
	60 - 80 %	49	10,28	0,42	a
	80 % <	26	8,58	0,50	b

P – průkaznost; a, b – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$

Jak ukazuje tabulka č. 10, tak objem ejakulátu roste s věkem zvířete a je zde vysoce statisticky průkazný rozdíl, můžeme vidět, že větší objem ejakulátu měli býci prověření (starší) než ti, kteří jsou zařazení v testaci (mladší). Se zvyšující se hodnotou teplotně – vlhkostního indexu (THI) rostl i objem u jednotlivých vzorků. U teplot jsme zjistili, že čím nižší máme teplotu, tak tím získáme větší objem ejakulátu. Největšího objemu jsme dosáhli u teplot, které byly 10 °C a menší. Pro získání největšího objemu se ukázala ideální vlhkost v rozpětí 60 – 80 %, dále pak vlhkost menší než 60 %, naopak nejmenšího objemu bylo dosaženo při vlhkosti 80 % a větší. Mezi vlhkostí 60 - 80 % a vlhkostí 80 % a větší byl statisticky průkazný rozdíl.

Věžník *et al.* (2004) uvádí jako nejmenší hodnotu objemu 4 ml a průměrnou hodnotu objemu 6 ml. Mathevon *et al.* (1998) uvádí objem u mladých býků 5,48 ml a u starších býků 6,73 ml, naše výsledky ukazují u mladých býků objem 7,40 ml a u starších býků hodnot 11,76 ml. Paldusová *et al.* (2014) uvádí průměrné hodnoty objemu okolo 7 ml.

Naše výsledky dosahují minimální hodnoty objemu, průměrná hodnota objemu v našich výsledcích se pohybovala okolo 9 až 10 ml.

Paldusová *et al.* (2014) uvádí menší závislost teplotně – vlhkostního indexu (THI) na objemu, kde byly získané hodnoty jednotlivých objemů skoro vyrovnané a pohybovaly se v rozmezí od 9,47 – 9,85 ml objemu v ejakulátech. Naše rozmezí objemu v ejakulátech u hodnot THI se pohybovalo od 8,60 – 10,36 ml.

Jalal (2007) uvádí při teplotách vyšších než 20 °C objem 7,16 ml, v našem pokusu byl objem při dané teplotě 9,19 ml.

Při jednotlivých hodnotách vlhkostí se v našem pokusu objem pohyboval v rozmezí od 8,58 ml až 10,28 ml, Jalal (2007) uvádí při stejných hodnotách vlhkostí menší objemy ejakulátů a to od 7,12 ml do 7,16 ml.

5.1.2 Vyhodnocení po mikroskopickém vyšetření

5.1.2.1 Vyhodnocení aktivity (%)

Tab. 11 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na aktivitu spermií v ejakulátu

		Celkový počet vzorků	Aktivita - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	73	75,83	0,79	n.s.
	Prověření býci	81	76,20	0,70	n.s.
THI	< 45	34	76,76	1,40	n.s.
	45 - 50	79	75,99	1,08	n.s.
	50 <	41	75,30	1,18	n.s.
Teplota	< 10 °C	25	75,13	1,75	n.s.
	10 - 20 °C	93	75,36	0,82	n.s.
	20 °C <	36	77,55	1,44	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	79	74,97	0,71	n.s.
	60 - 80 %	49	76,30	0,98	n.s.
	80 % <	26	76,78	1,17	n.s.

P – průkaznost; a, b – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$

Jak je vidět z tabulky č. 11, tak aktivita spermií v ejakulátu byla vyšší u býků, kteří jsou prověřeni a starší než u býků, kteří jsou teprve v testaci a věkově jsou mladší. U teplot-

ně- vlhkostního indexu (THI) byla zaznamenána klesající aktivita spermií v ejakulátu se zvyšující se hodnotou daného THI, i když rozdíly mezi jednotlivými hodnotami byly nepatrné. Největší aktivita spermií v ejakulátu byla u teplot 20 °C a vyšších. Nejnižší aktivita spermií v ejakulátu byla zjištěna u vlhkosti 60 % a menší, naopak největší aktivity spermií v ejakulátu bylo dosaženo při vlhkosti 80 % a vyšší.

Louda *et al.* (2001) uvádí jako minimální aktivitu spermií v ejakulátu 70 %. Všechny naše získané hodnoty u všech měřených parametrů splňovaly tuto minimální aktivitu. Mathevon *et al.* (1998) uvádí aktivitu spermií v ejakulátu mladých býků 51 % a u starších býků aktivitu 57 %, naši mladší býci dosahovali daleko vyšší aktivity spermií 75,83 % a starší býci 76,20 % aktivity spermií. Singh *et al.* (2012) uvádí průměrnou aktivitu spermií v ejakulátu 79 %. Průměrná aktivita u našich odebraných vzorků se pohybovala okolo 76 %.

Jalal (2007) uvádí aktivitu spermií v ejakulátu 63,60 % při teplotách větších než 20 °C, naše aktivita spermií při uvedené teplotě byla 77,55 %.

V našem pokusu bylo dosaženo nejnižší aktivity 74,97 % u vlhkosti menší než 60 %, nejvyšší aktivity spermií pak bylo získáno při vlhkosti 80 % a větší, naproti tomu Jalal (2007) uvádí nejnižší aktivitu spermií v rozmezí 60 – 80 % a to 63,03 %, nevyšší aktivitu spermií pak u vlhkosti menší než 60 % a to 64,87 %.

5.1.2.2 Vyhodnocení koncentrace ($\times 10^6$ ml)

Tab. 12 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na koncentraci spermií v ejakulátu

		Celkový počet vzorků	K - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	73	1174,09	45,90	n.s
	Prověření býci	81	1090,38	40,58	n.s
THI	< 45	34	1073,65	81,41	n.s
	45 - 50	79	1169,77	62,65	n.s
	50 <	41	1153,29	68,27	n.s
Teplota	< 10 °C	25	1177,35	101,39	n.s
	10 - 20 °C	93	1062,49	47,58	n.s
	20 °C <	36	1156,86	83,20	n.s
Vlhkost*	< 60 %	79	1013,03	41,36	a
	60 - 80 %	49	1168,40	56,69	n.s
	80 % <	26	1215,27	67,92	b

P – průkaznost; a, b – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$; K - koncentrace

Z tabulky č. 12 je vidět, že koncentrace spermií v ejakulátu je oproti objemu a aktivitě spermií vyšší u býků mladších, kteří jsou zařazeni do testace než u býků starších, kteří jsou již prověřeni. V rozmezí hodnot 45 – 50 teplotně – vlhkostního indexu (THI) byla zjištěna největší koncentrace spermií v ejakulátu. Největší koncentrace spermií bylo dosaženo u teplot menších než 10 °C, naproti tomu nejmenší koncentrace spermií v ejakulátu byla u teplot 10 – 20 °C. Koncentrace spermií v ejakulátu vzestupně rostla spolu s vlhkostí, největší koncentrace byla u vlhkosti 80 % a vyšší, nejmenší koncentrace u vlhkosti menší než 60 %. Rozdíl mezi získanými hodnotami u vlhkosti menší než 60 % a vlhkosti 80 % a větší je statisticky průkazný.

Paldusová *et al.* (2014) uvádí, že vyšší koncentraci spermií měli býci starší oproti mladším býkům. Stejněho výsledku dosáhl i Mathevon *et al.* (1998), který uvádí vyšší koncentraci spermií u starších býků než u mladších býků. Naše výsledky vykazují opačný charakter.

U našich získaných hodnot THI jsme dosahovali rozmezí 1073,65 – 1169,77 $\times 10^6$ ml koncentrace spermií v ejakulátech, Paldusová *et al.* (2014) uvádí rozmezí koncentrace spermií od 1050,00 – 1183,12 $\times 10^6$ ml, z výše uvedených výsledků je patrný jen malý rozdíl v získaných hodnotách.

U teplot vyšších než 20 °C uvádí Jalal (2007) koncentraci $1271,5 \times 10^6$ ml, naše koncentrace při zmíněné teplotě byla nižší a to $1156,86 \times 10^6$ ml.

U vlhkosti menší než 60 % byla získána v našem pokusu nejmenší koncentrace spermií v ejakulátu $1013,03 \times 10^6$ ml, Jalal (2007) uvádí při dané vlhkosti větší koncentraci spermií $1319,4 \times 10^6$ ml, v našich výsledcích vychází nejvyšší koncentrace spermií u vlhkosti 80 % a větší a to hodnoty $1215,27 \times 10^6$ ml, i Jalal (2007) uvádí nejvyšší koncentraci spermií při dané vlhkosti a to v hodnotě $1325,8 \times 10^6$ ml.

5.1.2.3 Vyhodnocení celkového počtu spermií ($\times 10^6$ ml)

Tab. 13 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na celkový počet spermií v ejakulátu

		Celkový počet vzorků	CPS - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	73	9024,87	617,01	a
	Prověření býci	81	12711,71	545,43	b
THI	< 45	34	8773,05	1094,29	n.s.
	45 - 50	79	11629,77	842,12	n.s.
	50 <	41	12202,07	917,64	n.s.
Teplota	< 10 °C	25	12694,73	1362,81	n.s.
	10 - 20 °C	93	9766,59	639,54	n.s.
	20 °C <	36	10143,56	1118,33	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	79	10240,40	555,94	n.s.
	60 - 80 %	49	12172,84	762,01	n.s.
	80 % <	26	10191,65	912,98	n.s.

P – průkaznost; a, b – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;

** $P \leq 0,001$; CPS – celkový počet spermií

Tabulka č. 13 uvádí, že větší celkový počet spermií s vysoce statisticky průkazným rozdílem byl u prověřených (starších) býků oproti býkům zařazených v testaci (mladší). Vzestupná tendence celkového počtu spermií byla zjištěna spolu se zvyšující se hodnotou teplotně – vlhkostního indexu (THI). Nejvyššího celkového počtu spermií bylo dosaženo u teplot menších než 10 °C, avšak nejmenší celkový počet spermií byl zaznamenán u teplot v rozmezí 10 až 20 °C. U vlhkosti 60 – 80 % byl získán největší celkový počet spermií, nejmenší pak u vlhkosti 80 % a vyšší.

Paldusová *et al.* (2014) uvádí, že větší celkový počet spermií byl u býků starších oproti býkům mladším. Stejný výsledek uvádí i Mathevon *et al.* (1998), v jeho pokusu

dosáhli mladší býci 7090×10^6 ml a starší býci 9310×10^6 ml celkového počtu spermií. Naše výsledky se shodují s výsledky Paldusové *et al.* (2014).

Mathevon *et al.* (1998) uvádí, že největšího celkového počtu spermií bylo získáno při nižších teplotách, stejný výsledek se ukázal i u našich naměřených hodnot u jednotlivých teplot.

U jednotlivých hodnot teplotně - vlhkostního indexu (THI) je rozmezí našich získaných výsledků celkového počtu spermií od $8773,05 - 12202,07 \times 10^6$ ml, Paldusová *et al.* (2014) uvádí menší rozmezí od $10224,38 - 11106,50 \times 10^6$ ml celkového počtu spermií u jednotlivých hodnot THI, z výše uvedených výsledků je patrné, že naše rozmezí získaných hodnot koncentrací bylo větší.

Jalal (2007) uvádí celkový počet spermií $9162,8 \times 10^6$ ml při teplotách větších než 20°C , naše výsledky ukazují při dané teplotě vyšší celkový počet spermií a to $10143,56 \times 10^6$ ml.

V našem pokusu byl nejvyšší celkový počet spermií v rozmezí vlhkostí 60 – 80 % a to v hodnotě $12172,84 \times 10^6$ ml, naproti tomu Jalal (2007) uvádí při dané hodnotě vlhkosti nejmenší celkový počet spermií a to pouze $9140,9 \times 10^6$ ml. Z výše uvedeného je patrný velký rozdíl celkového počtu spermií při dané vlhkosti 60 – 80 %.

5.1.3 Vyhodnocení po morfologickém vyšetření

5.1.3.1 Vyhodnocení morfologicky normálních spermií v ejakulátu (%)

Tab. 14 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na normální spermie v ejakulátu

		Celkový počet vzorků	NS - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	85,02	1,11	a
	Prověření býci	43	82,31	1,00	b
THI	< 45	17	87,94	1,87	n.s.
	45 - 50	55	82,57	1,55	n.s.
	50 <	14	80,48	1,97	n.s.
Teplota	< 10 °C	12	78,56	2,59	a
	10 - 20 °C	61	87,04	1,02	b
	20 °C <	13	85,39	1,92	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	52	84,55	0,84	n.s.
	60 - 80 %	18	80,87	1,64	n.s.
	80 % <	16	85,57	1,50	n.s.

P – průkaznost; a, b – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;

** $P \leq 0,001$; NS – normální spermie

Dle hodnot uvedených v tabulce č. 14 byla zjištěna nejvyšší hodnota morfologicky normálních spermií u býků mladších, kteří jsou teprve zařazeni v testaci oproti býkům, kteří jsou již prověření. U zjištěných hodnot byl vysoce statisticky průkazný rozdíl. U hodnoty teplotně – vlhkostního indexu (THI) byla zaznamenána sestupná tendence výskytu morfologicky normálních spermií v ejakulátu, největší počet morfologicky normálních spermií bylo získáno u hodnoty menší než 45. Nejvíce morfologicky normálních spermií se statisticky průkazným rozdílem bylo zaznamenáno v teplotním rozpětí 10 – 20 °C a to 87,04 %. Nejméně morfologicky normálních spermií se ukázalo v rozpětí vlhkosti 60 – 80 %, naproti tomu největší počet morfologicky normálních spermií bylo u vlhkosti 80 % a vyšší.

V našich výsledcích se při teplotách vyšších než 10 °C vyskytovalo % morfologicky normálních spermií okolo 78 %, Vilakazi *et al.* (2004) uvádí podobné % morfologicky normálních spermií v ejakulátu a to 79 %.

5.1.3.2 Vyhodnocení nezralých spermií v ejakulátu (%)

Tab. 15 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na nezralé spermie v ejakulátu

		Celkový počet vzorků	NeS - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	3,51	0,26	a
	Prověření býci	43	2,75	0,23	b
THI	< 45	17	3,16	0,44	n.s.
	45 - 50	55	2,79	0,36	n.s.
	50 <	14	3,45	0,46	n.s.
Teplota	< 10 °C	12	2,86	0,61	n.s.
	10 - 20 °C	61	2,66	0,24	a
	20 °C <	13	3,87	0,45	b
Vlhkost*	< 60 %	52	2,63	0,20	a
	60 - 80 %	18	3,56	0,38	b
	80 % <	16	3,19	0,35	n.s.

P – průkaznost; a, b – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;

** $P \leq 0,001$; NeS – normální spermie

Z tabulky č. 15 je vidět, že nejvyšší počet morfologicky nezralých spermií se vyskytoval u býků zařazených v testaci, jedná se o zvířata mladší, než jsou prověření býci. Mezi hodnotami mladých a starších býků je vysoce statisticky průkazný rozdíl. Teplotně – vlhkostní index (THI) s hodnotou větší než 50 ukázal nejvíce morfologicky nezralých spermií 3,87 %. Nejvíce morfologicky nezralých spermií bylo zjištěno u teploty větší než 20 °C a to byl největší počet v daném rozpětí teplot. Nejmenší počet morfologicky nezralých spermií se vyskytoval v teplotním rozpětí 10 – 20 °C. Statisticky průkazný rozdíl byl mezi hodnotami teplot 10 – 20 °C a 20 °C a vyšších. U vlhkosti menší než 60 % byl zjištěn nejmenší počet morfologicky nezralých spermií, jinak tomu bylo v rozpětí vlhkosti 60 – 80 %, kde bylo nejvíce morfologicky nezralých spermií a to 3,56 %, mezi jednotlivými vlhkostmi a získanými hodnotami byl statisticky průkazný rozdíl.

5.1.3.3 Vyhodnocení degenerovaných spermií v ejakulátu (%)

Tab. 16 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na degenerované spermie v ejakulátu

		Celkový počet vzorků	DS - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	1,31	0,18	n.s.
	Prověření býci	43	1,26	0,16	n.s.
THI	< 45	17	1,20	0,30	n.s.
	45 - 50	55	1,22	0,25	n.s.
	50 <	14	1,43	0,32	n.s.
Teplota	< 10 °C	12	1,84	0,42	n.s.
	10 - 20 °C	61	1,03	0,16	n.s.
	20 °C <	13	0,99	0,31	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	52	1,19	0,14	n.s.
	60 - 80 %	18	1,54	0,27	n.s.
	80 % <	16	1,13	0,24	n.s.

P – průkaznost; *a*, *b* – statisticky průkazný rozdíl; *n.s.* – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;

** $P \leq 0,001$; DS – degenerované spermie

Jak ukazuje tabulka č. 16, tak největší počet degenerovaných spermií byl u býků zařazených v testaci a to 1,31 %. Teplotně - vlhkostní index (THI) s hodnotou větší než 50 ukázal nejvíce degenerovaných spermií v ejakulátu, nejméně degenerovaných spermií bylo u hodnoty menší než 45. Nejméně degenerovaných spermií bylo zaznamenáno u teploty větší než 20 °C a to 0,99 %, naproti tomu nejvíce degenerovaných spermií bylo u teploty menší než 10 °C a to 1,84 %. V rozpětí vlhkosti 60 – 80 % bylo zjištěno nejvíce degenerovaných spermií, pro nejmenší počet degenerovaných spermií se ukázala vlhkost 80 % a vyšší.

5.1.3.4 Vyhodnocení morfologicky změněného bičíku (%)

Tab. 17 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny bičíku u spermie

		Celkový počet vzorků	Bičík - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	5,42	0,57	n.s.
	Prověření býci	43	6,39	0,52	n.s.
THI	< 45	17	3,85	0,96	n.s.
	45 - 50	55	6,13	0,80	n.s.
	50 <	14	7,74	1,01	n.s.
Teplota	< 10 °C	12	9,04	1,33	a
	10 - 20 °C	61	4,45	0,52	b
	20 °C <	13	4,23	0,99	b
Vlhkost*	< 60 %	52	5,69	0,43	n.s.
	60 - 80 %	18	7,21	0,85	n.s.
	80 % <	16	4,82	0,77	n.s.

P – průkaznost; a, b – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$;

Tabulka č. 17 uvádí, že méně morfologických změn na bičíku měli býci starší - prověření oproti býkům mladším – zařazení v testaci. Nejméně změn na bičíku ukázal teplotně – vlhkostní index (THI) s hodnotou menší než 45 a to 3,85 %, nejvíce změn na bičíku a to 7,74 % bylo u hodnoty THI větší než 50. Teplota, která byla menší než 10 °C, se projevila nejvíce na morfologických změnách bičíku u spermie a bylo zde zjištěno nejvíce změn a to až 9,04 %, nejmenší vliv na bičík spermie měla teplota větší než 20 °C a výskyt změn na bičíku zde byl 4,23 %, rozdíly zjištěných hodnot mezi teplotami byly statisticky průkazné. Vlhkost 80 % a vyšší byla s nejmenším výskytem morfologických změn na bičíku – 4,82 %, naopak vlhkost v rozpětí 60 – 80 % byla ta, kde se ukázalo nejvíce vad na bičíku – 7,21 %.

5.1.3.5 Vyhodnocení morfologicky změněného krčku (%)

Tab. 18 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny krčku u spermie

		Celkový počet vzorků	Krček - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	2,27	0,42	n.s.
	Prověření býci	43	2,91	0,38	n.s.
THI	< 45	17	1,87	0,71	n.s.
	45 - 50	55	3,45	0,58	n.s.
	50 <	14	2,45	0,74	n.s.
Teplota	< 10 °C	12	2,52	0,98	n.s.
	10 - 20 °C	61	2,71	0,38	n.s.
	20 °C <	13	2,55	0,72	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	52	2,40	0,32	n.s.
	60 - 80 %	18	2,87	0,62	n.s.
	80 % <	16	2,50	0,57	n.s.

P – průkaznost; *a*, *b* – statisticky průkazný rozdíl; *n.s.* – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$;

Z tabulky č. 18 je vidět, že býci prověření měli více morfologických změn krčku než býci zařazení v testaci. Nejvíce změn na krčku bylo zjištěno u teplotně – vlhkostního indexu (THI) v rozmezí 45 – 50, nejméně vad na krčku bylo u hodnoty THI menší než 45. Velmi malé rozdíly v počtu výskytu změn na krčku bylo zjištěno u teploty, přesto však při teplotním rozmezí 10 – 20 °C bylo nejvíce vad krčku a to až 2,71 %, nejméně pak při teplotách menších než 10 °C a to 2,52 %. Vlhkost rovněž neukázala velké rozdíly ve výskytu vad na krčku spermie, avšak nejvíce jich bylo zaznamenáno ve vlhkostním rozmezí 60 – 80 %, nejméně potom při vlhkosti menší než 60 %.

5.1.3.6 Vyhodnocení morfologických změn na akrozomu (%)

Tab. 19 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny akrozomu u spermie

		Celkový počet vzorků	Akrozom - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	0,17	0,10	n.s.
	Prověření býci	43	0,30	0,09	n.s.
THI	< 45	17	0,14	0,17	n.s.
	45 - 50	55	0,29	0,14	n.s.
	50 <	14	0,28	0,18	n.s.
Teplota	< 10 °C	12	0,11	0,23	n.s.
	10 - 20 °C	61	0,18	0,09	n.s.
	20 °C <	13	0,42	0,17	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	52	0,31	0,08	n.s.
	60 - 80 %	18	0,17	0,15	n.s.
	80 % <	16	0,23	0,13	n.s.

P – průkaznost; *a*, *b* – statisticky průkazný rozdíl; *n.s.* – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$;

Tabulka č. 19 uvádí, že více morfologických změn na akrozomu měli býci, kteří jsou prověřeni než býci zařazení v testaci. Velké rozdíly v počtu změn u akrozomu se moc nelišily mezi jednotlivými hodnotami teplotně – vlhkostního indexu, přesto největší počet byl u hodnoty THI 45 – 50 nejmenší pak u THI s hodnotou menší než 45. Se zvyšující se teplotou rostl i počet vad na akrozomu, u teplot větších než 20 °C bylo zjištěno 0,42 % změn na akrozomu, to byl největší počet změn u všech měřených teplot. U vlhkosti byl zaznamenán opačný trend a nejvíce změn akrozomu bylo u vlhkosti menší než 60 %, naopak nejméně změn akrozomu bylo v rozmezí hodnot 60 – 80 % vlhkosti.

Vilakazi *et al.* (2004) uvádí v různém teplotním rozpětí daleko více změn na akrozomu a to v rozpětí 0,9 až 1 % vad akrozomu.

5.1.3.7 Vyhodnocení morfologických změn na hlavičce spermie (%)

Tab. 20 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny hlavičky spermie

		Celkový počet vzorků	Hlavička - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	1,19	0,21	a
	Prověření býci	43	1,82	0,19	b
THI	< 45	17	0,40	0,36	a
	45 - 50	55	1,55	0,30	a
	50 <	14	2,56	0,38	b
Teplota	< 10 °C	12	2,96	0,49	a
	10 - 20 °C	61	0,99	0,19	b
	20 °C <	13	0,55	0,37	b
Vlhkost*	< 60 %	52	1,61	0,16	n.s.
	60 - 80 %	18	1,88	0,31	n.s.
	80 % <	16	1,02	0,29	n.s.

P – průkaznost; *a*, *b* – statisticky průkazný rozdíl; *n.s.* – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$;

Z tabulky č. 20 je vidět, že nejvíce morfologických změn na hlavičce spermie bylo u býků prověřených než u býků v testaci a byl zde vysoce statisticky průkazný rozdíl. Statisticky průkazné rozdíly v počtu změn na hlavičce spermie byly zjištěny u hodnot teplotně – vlhkostního indexu (THI), nejvíce změn na hlavičce bylo u hodnoty THI větší než 50 a to 2,56 %, naopak nejméně vad hlavičky bylo u hodnoty THI menší než 45 a to 0,40 %. I různé teploty vykazovaly statisticky průkazné rozdíly v počtu změn na hlavičce spermie, největší počet změn hlavičky 2,96 % byl u teplot menších než 10 °C, naproti tomu nejmenší počet změn hlavičky spermie 0,55 % byl u teplot větších než 20 °C. U vlhkosti nebyl zjištěn tak velký rozdíl v počtu změn hlavičky spermie. V rozpětí vlhkosti 60 – 80 % bylo dosaženo největšího počtu změn na hlavičce spermie a to 1,88 %, nejméně změn na hlavičce potom u vlhkosti 80 % a vyšší.

5.1.3.8 Vyhodnocení DAG efektu u spermie (%)

Tab. 21 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na DAG efekt spermie

		Celkový počet vzorků	DAG efekt - Vážený průměr	Standardní chyba	P
Věk**	Býci v testaci	43	1,76	0,54	n.s.
	Prověření býci	43	2,73	0,49	n.s.
THI	< 45	17	1,72	0,91	n.s.
	45 - 50	55	2,92	0,75	n.s.
	50 <	14	2,11	0,96	n.s.
Teplota	< 10 °C	12	2,40	1,26	n.s.
	10 - 20 °C	61	1,13	0,49	n.s.
	20 °C <	13	3,21	0,94	n.s.
Vlhkost*	< 60 %	52	1,98	0,41	n.s.
	60 - 80 %	18	2,75	0,80	n.s.
	80 % <	16	2,02	0,73	n.s.

P – průkaznost; *a*, *b* – statisticky průkazný rozdíl; n.s. – není statisticky průkazné; * $P \leq 0,05$;
** $P \leq 0,001$;

Jak ukazuje tabulka č. 21, tak nejvíce zjištěných DAG efektů spermie měli býci starší – prověření oproti mladším – zařazených v testaci. V rozpětí hodnot 45 – 50 teplotně – vlhkostního indexu (THI) bylo dosaženo nejvíce DAG efektů u spermie a to 2,92 %, nejméně pak u hodnoty THI menší než 45, kde bylo této anomálie 1,72 %. U teplot větších než 20 °C byl zjištěn největší počet DAG efektů – 3,21 %, v teplotním rozpětí 10 – 20 °C bylo naopak nejméně DAG efektů – 1,13 %. V rozpětí vlhkostí 60 – 80 % se ukázalo nejvíce DAG efektů a to až 2,75 %, u vlhkostí menších než 60 % byl nejmenší počet DAG efektů a to 1,98 %.

6 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo zjistit vliv stájového mikroklimatu na vybrané kvalitativní a kvantitativní parametry ejakulátů u plemenných býků. Bylo provedeno celkem 154 odběrů ejakulátů od 9 býků českého strakatého plemene skotu ustájených na inseminační stanici býků provozované Chovatelským družstvem Impuls v Bohdalci.

Hodnotili jsme objem, aktivitu, koncentraci spermií, celkový počet spermií, následně bylo provedeno morfologické vyšetření spermií.

Největšího objemu dosahovali býci prověření a to 11,76 ml. S hodnotou teplotně – vlhkostního indexu se zvyšoval i objem ejakulátu býků, největšího objemu bylo dosaženo u hodnoty THI větší než 50 a to 10,36 ml. U teploty byla opačná tendence, se zvyšující se teplotou klesal objem ejakulátu, největší objem byl naměřen u teplot menších než 10 °C a to 10,15 ml, nejmenší objem ejakulátu byl u teplot větších než 20 °C a to 9,19 ml. Podobně tomu bylo u vlhkosti, kde bylo zjištěno u vlhkostí větších než 80 % nejmenšího objemu – 8,58 ml, nejvíce pak bylo dosaženo v rozmezí vlhkostí 60 – 80 %, kde byl objem 10,28 ml. Všechny naměřené hodnoty objemu splňovaly požadavek na minimální objem ejakulátu u býka, který je 4 ml.

Aktivita spermií v ejakulátu byla vyšší u býků prověřených, kde bylo dosaženo aktivity 76,20 %. S rostoucí hodnotou teplotně – vlhkostního indexu (THI) klesala aktivita, rozdíly v aktivitě mezi jednotlivými hodnotami THI však byly nepatrné. Nejvyšší aktivita byla zjištěna u teplot 20 °C a vyšších a to 77,55 %. Naopak se zvyšující se vlhkostí klesala aktivita. Všechny naměřené hodnoty aktivity splňovaly požadavek minimální aktivity spermií v ejakulátu a to 70 %.

Vyšší koncentrace spermií dosahovali býci zařazení v testaci. Teplotně – vlhkostní index v rozmezí hodnot 45 – 50 dosahoval nejvyšší koncentrace $1169,77 \times 10^6$ ml spermií. U teplot byla nejmenší koncentrace naměřena v rozpětí 10 – 20 °C, naopak největší koncentrace byla u teplot menších než 10 °C. Se zvyšující se vlhkostí rostla i koncentrace, největších hodnot bylo dosaženo u vlhkostí větších než 80 %.

Celkový počet spermií měli vyšší býci prověření. Se zvyšující se hodnotou teplotně – vlhkostního indexu (THI) rostl i celkový počet spermií. Nejvyšší celkový počet spermií $12694,73 \times 10^6$ ml byl zjištěn u teplot menších než 10 °C, nejméně pak bylo v rozpětí teplot 10 – 20 °C. Nejmenšího počtu spermií bylo dosaženo u vlhkosti 80 % a

vyšší, v rozpětí vlhkostí 60 – 80 % byl největší celkový počet spermií $12172,84 \times 10^6$ ml.

Všechny zjišťované změny v morfologii spermií vykazovaly velmi podobných výsledků. Jasně se ukázalo, že nejvíce změn v morfologii měli býci již prověřeni oproti býkům zařazených v testaci, avšak více nezralých spermií měli býci zařazení v testaci. Nejvíce podobných výsledků bylo zjištěno u teplotně – vlhkostního indexu (THI), kde s rostoucí hodnotou THI rostl i počet změn na morfologii spermií. U teploty a vlhkosti byly jen velmi malé rozdíly v počtu změn na morfologii spermií, různé vady ukazovaly na rozdílné hodnoty teploty i vlhkosti. Nejvíce morfologických změn bylo zjištěno u teplot menších než 10 °C, naopak teploty 20 °C a vyšší měly morfologických změn nejméně, nedá se však takto plošně tvrdit u všech morfologických anomálií. Na nižší počet morfologických změn se příznivě projevila vlhkost v rozmezí 60 – 80 % a také vlhkost 80 % a vyšší.

Závěrem lze říci, jak tato práce ukazuje, že vliv stájového mikroklimatu na vybrané kvalitativní a kvantitativní parametry bovinního ejakulátu není zanedbatelný. Zvláště vyšší hodnoty některých prvků stájového mikroklimatu nepůsobí příznivě na ejakulát býků, následně je pak získáván méně kvalitní ejakulát s nižší oplozovací schopností. Proto je důležité nezanedbávat tento někdy opomíjený prvek stájové zoohygieny.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ALGERS, B., BERTONI, G., BROOM, D., HARTUNG, J., LIDFORS, L., METZ, J., MUNKSGAARD, L., PINA, T. N., OLTENACU, P., REHAGE, J., RUSHEN, J., SMULDERS, F., STASSEN, E., STILWELL, G., WAIBLINGER, S., WEBSTER, J.: *Scientific report of EFSA prepared by the Animal Health and Animal Welfare Unit on the effects of fading systems on dairy cow welfare and disease*. Annex to the EFSA Journal 2009, 1143, 1 – 38, 284 s.

BANE, A.: *Studies on monozygous cattle twins. XV. Sexual functions of bulls in relation to heredity, rearing intensity and somatic conditions*. *Acta Agric. Scand.*, vol. 2, 1954, 95–208 s. In: Sarder, J., U.: *Environment related variations in the semen characteristics of bulls used for Artificial Insemination (AI) programme in Bangladesh*. Univ. j. zool. Rajshahi Univ., vol. 26, 2007, 81–88 s. ISSN 1023-6104.

GAMČÍK, P., KUZUMPLÍK, J. et al.: *Andrológia a umela inseminácia hospodárskych zvierat*, Príroda, Bratislava, 1992, 298 s. ISBN 80 – 07 – 00540 – 4.

GAMČÍK, P., KOZUPLÍK, J. et al. *Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat*. Bratislava: Príroda, 1984. 344 s.

GAMČÍK, P., KOZUMPLÍK, J. et al.: *Umelá inseminácia a andrológia hospodárskych zvierat*, Príroda, Bratislava, 1976, 574 s. ISBN 64 – 025 – 76.

GAUGHAN, J. B., LISLE, A.: *A new heat load index for feedlot cattle*. Faculty papers and publications in animal science. Paper 613. University of Nebraska – Lincoln. 2008.

HAHN, G. L.: *Dynamic response of cattle to thermal heat loads*. Journal of Animal Science, ISSN 0021 – 8812.

CHLOUPEK, J., SUCHÝ, P.: *Mikroklimatická měření ve stájích pro hospodářská zvířata*, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VFU Brno, 2008. 229 s.

JALAL, U., S.: *Environment related variations in the characteristics of bulls used for artificial Insemination (AI) programme in Bangladesh*. Department of Animal Husbandry and Veterinary Science, Faculty of Agriculture, University of Rajshahi, Rajshahi – 6205, Bangladesh. Vol. 26, 2007. Pp. 81 – 88. ISSN 1023 – 6104.

JÁNSKÝ, L.: *Vývojová fyziologie I. Základy termoregulace*, Praha:UK 1991, 120 s.

JELÍNEK, P., KOUDELA, K., et al.: *Fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Brno Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. 414 s. ISBN 80 – 7157 – 644 – 1.

KADZERE, C. T., MURPHY, M. R., SILANIKOVE, N., MALTZ, E.: *Heat stress in lactating dairy cows: a review*. Livestock Production Science 77, 2002, 59 – 61 s. ISSN 0301 – 6226.

KENDALL, P. E., NIELSEN, P. P., WEBSTER, J. R., VERKERK, G. A., LITTLEJOHN, R. P., MATTHEWS, L. R.: *The effects of providing shade to lactating dairy cows in temperature climate*. Livestock Science, 103. 2006. 148 – 157 s. ISSN 1871 – 1413.

KLIMENT, J et al.: *Reprodukcia hospodářských zvierat*, Príroda, Bratislava, 1983, 376 stran. ISBN 64 – 020 – 83.

KOMÁREK, V. et al.: *Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat*, Státní zemědělské nakladatelství v Praze, 1964, 387 stran. ISBN 07 – 012 – 64.

KOUKAL, P.: *Výživa dojníc v teplém počasí podle zkušenosti z léta 2000*, Farmář 9. 2001. 75 – 76 s. ISSN 1210 – 9789.

KURSA, J.: *Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat*, 1. Vyd. České Budějovice JUZF, 1998, 200 s.

KURSA, J., FRAIS, Z., HERČÍK, J., KLEIN, Z., KOLÁŘ, P., SUCHÝ, P.: *Zoohygiena a prevence*, VN MON, VŠZ Praha, 1986, 165 s.

LEMERLE, C., GODDARD, M. E.: *Assessment of heat stress in dairy cattle in Papua New Guinea*. Anim. Health Prod. 18. 1986, 232 – 242 s.

LOUDA, F., BJELKA, M., JEŽKOVÁ, A., POZDÍŠEK, J., STÁDNÍK, L., BEZDÍČEK, J.: *Zásady využívání plemenných býků v podmínkách přirozené plemenitby*. Raportín: Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., 1 vyd., 2007, 43 s. ISBN: 978-80-87144-01-5.

LOUDA, F., et al.: *Inseminace hospodářských zvířat: se základy biotechnických metod*. 1. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2001. 225 s. ISBN 80 – 213 – 0702 – 1.

LOUDA, F a kol.: *Reprodukce hospodářských zvířat I. Návody k praktickému cvičení*, Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 1980, 270 stran. ISBN 17 – 268 – 80.

MADER T. L., DAVIS M. S., a BROWN-BRANDL T.: *Environmental factor influencing heat stress in feedlot cattle.* „Journal of Animal Science, sv. 84, pp. 712-719, 2006.

MARVAN, F. et al.: *Morfologie hospodářských zvířat*, Nakladatelství Brázda, s.r.o., Praha, 2007, str. 174 – 194. ISBN 978 – 80 – 213 – 1658 – 4.

MARVAN, František. *Morfologie hospodářských zvířat*. 1.vyd. Praha: Brázda, 1992. 303 s. ISBN 80-209-0226-0.

MATHEVON, M., BURH, M. M., DEKKERS, J. C. M.: *Environmental, Management, and Genetic Affecting Semen Production in Holstein Bulls*. Department of Animal and Poultry, University of Guelph, Guelph, ON, Canada, 1998.

NAJBRT, R. et al.: *Veterinární anatomie 2*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1982. 594 s.

NOVÁK, P., KUBÍČEK, K., OPATŘIL, M., ŠOCH, M., ZEMAN, J., FIŠER, A.: *Ustájení dojníc ve vztahu k hygieně dojení*. Sborník tezí přednášek z mezinárodní konference “Current problems in production and technology of milk”, ZF JU České Budějovice, 1996. 134 – 135 s.

PALDUSOVÁ, M., KOPEC, T., CHLÁDEK, G., HOŠEK, M., MÁCHAL, L., FALTA, D.: *The effect of the stable environment and age on the semen production in the Czech Fleckvieh bulls*. In POLÁK, o. – CERKAL, R. – ŠKARPA, p. Mendel Net 2014 - Proceedings of International PhD Students Conference. 1, vyd. Brno, Czech Republic. Mendel University in Brno, 2014, s. 178 – 182. ISBN 978 – 80 – 7509- 174 – 1.

PELZER, A.: *Environmental kontrol in cattle housing*. Milchpraxis, 36. 1998. 70 – 74 s.

PULKRÁBEK, J. et al.: *Chov prasat*, Profi press, Praha 2005, 157 s.

REECE, W. O.: *Fyziologie domácích zvířat*, Grada Publishing., spol. s.r.o., Praha 7, 1998, 456 stran. ISBN 80 – 7169 – 547 – 5.

ROŽNOVSKÝ, J., HAVLÍČEK, V.: *Bioklimatologie*, 1. Vyd. Brno, 1998. 155 s. ISBN 80 – 7157 – 291 – 8.

ŘÍHA, J. et al.: *Plemenitba hospodářských zvířat*, vydala Asociace chovatelů masných plemen, Rapotín 2003, 151 stran. ISBN 80 – 903143 – 4 – 1.

SAS: *The GLM Procedure, Procedure Corr.*, SAS/STAT Software. SAS Institute Inc., 2005.

SINGH, A. P., SINGH, R., SINGH, A. K., GUPTA, A. K., RAINA, V. S.: *Influence of microclimate modification on sexual behaviour and semen characteristics of Murrah buffalo bull during hot humid period in India*. National Dairy Research Institute, Karnal, Haryana 132 001 India, 2012.

SOBÍŠEK, B. et al.: *Meteorologický slovník a výkladový terminologický*. 1. Vyd. Praha: Ministerstvo životního prostředí ČR, 1993. 594 s. ISBN 80 – 85368 – 45 – 5.

SOVA, Z. et al.: *Fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1981. 512 s.

SVOBODA, M., SENIOR, D. et al.: *Nemoci psa a kočky II. díl*. 1. vyd. Brno: Noviko, 2001. 1010 s.

ŠOCH, M., BASÍK, M., NOVÁK, P., VRÁBLÍKOVÁ, J.: *Vliv relativní vlhkosti vzduchu a ochlazovací hodnoty prostředí na mléčnou produkci krav*. Sborník z mezinárodní bioklimatologické konference ``Functions of nergy and water in bioclimatological systems``. Bratislava, 2003. ISBN 80 – 8069 – 244 – 0.

THRELFALL, WR.: Semen collestion and evaluation. In: Root Kustritz MV, editor. *The practical veterinarian: small animal theriogenology*. St. Louis: Butterworth – Heineman, 2003. P. 97 – 123.

VĚŽNÍK, Z. et al.: *Repetitorium: dermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy*. 1. vyd. Brno: VUVEL, 2004. 197 s. ISBN 80 – 86895 – 01 – 7.

VĚŽNÍK, Z. et al.: *Hodnocení semene pro asistovanou reprodukci a výběr plemeníků*. Striktní analýza spermatické morfologie SASMO. Brno: VUVEL, 2000. 10 – 11 s.

VILAKAZI, D. M., WEBB, E. C.: *Effect of age and season on sperm morphology of Friesland bulls at an artificial insemination centre in South Africa*. Department of Animal and Wildlife Sciences, University of Pretoria, Pretoria 0002, South Africa. 2004.

WATHES, C. M., CHARLES, D. R.: *Livestock housing. Animal science and engineering division*. Silsoe research institute, Wrest Park, Silsoe, Bedford UK, and D. R. Charles, ADAS, Chalfont drive, Nottingham UK, 1994. ISBN 0 – 85198 – 774 – 5.

WEST, J. W.: *Effects of Heat – Stress on Production in Dairy Cattle*, J. Dairy Sci. 86, 2003. 2131 – 2144 s. ISSN 0022 – 0302.

7.1 Seznam tabulek a obrázků

Seznam tabulek

Tab. 1 Přehled ejakulátu různých druhů zvířat

Tab. 2 Rozměry spermií (μm)

Tab. 3 Metody získávání ejakulátu

Tab. 4 Vztah mezi koncentrací, barvou a konzistencí semene u různých plemenů

Tab. 5 Průměrné hodnoty pH normálního spermatu

Tab. 6 Vybrané změny na spermiích

Tab. 7 Požadovaná optima a přípustná minima teploty vzduchu ve stájích pro skot

Tab. 8 Vliv koncentrace CO_2 na organismus

Tab. 9 Doporučované hodnoty stájových plynů ve stájovém prostředí

Tab. 10 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na objem ejakulátu

Tab. 11 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na aktivitu spermií v ejakulátu

Tab. 12 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na koncentraci spermií v ejakulátu

Tab. 13 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na celkový počet spermií v ejakulátu

Tab. 14 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na normální spermie v ejakulátu

Tab. 15 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na nezralé spermie v ejakulátu

Tab. 16 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na degenerované spermie v ejakulátu

Tab. 17 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny bičíku u spermie

Tab. 18 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny krčku u spermie

Tab. 19 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny akrozomu u spermie

Tab. 20 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na změny hlavičky u spermie

Tab. 21 Vliv věku a parametrů stájového prostředí na DAG efekt spermie

Seznam obrázků

Obr. 1 Morfologie spermie

Obr. 2 Morfologické anomálie hlavičky spermií a bičků

PŘÍLOHY

Seznam příloh

Obr. 1 Český strakatý skot

Obr. 2 Připouštědlo s atrapou – živá atrapa

Obr. 3 Příprava umělé vagíny k odběru – vyjmutí z termostatu

Obr. 4 Vlastní odběr – vagína zavedení a zasunutí pyje

Obr. 5 Nezralá spermie s protoplazmatickou kapkou

Obr. 6 Torze bičíku

Obr. 7 Mrtvá spermie a 2 odumírající spermie

Obr. 8 Živá a mrtvá spermie obě s torzí

Obr. 1 Český strakatý skot



Foto: LOUDA, F.: *Zásady využívání plemenných býků v podmínkách přirozené plemennitby, Metodika. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín, 2007.*

Obr. 2 Připouštědlo s atrapou – živá atrapa



Foto: LOUDA, F.: *Zásady využívání plemenných býků v podmínkách přirozené plemennitby, Metodika. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín, 2007.*

Obr. 3 Příprava umělé vagíny k odběru – vyjmutí z termostatu



Foto: LOUDA, F.: *Zásady využívání plemenných býků v podmínkách přirozené plemennosti, Metodika. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín, 2007.*

Obr. 4 Vlastní odběr – vagína zavedení a zasunutí pyje

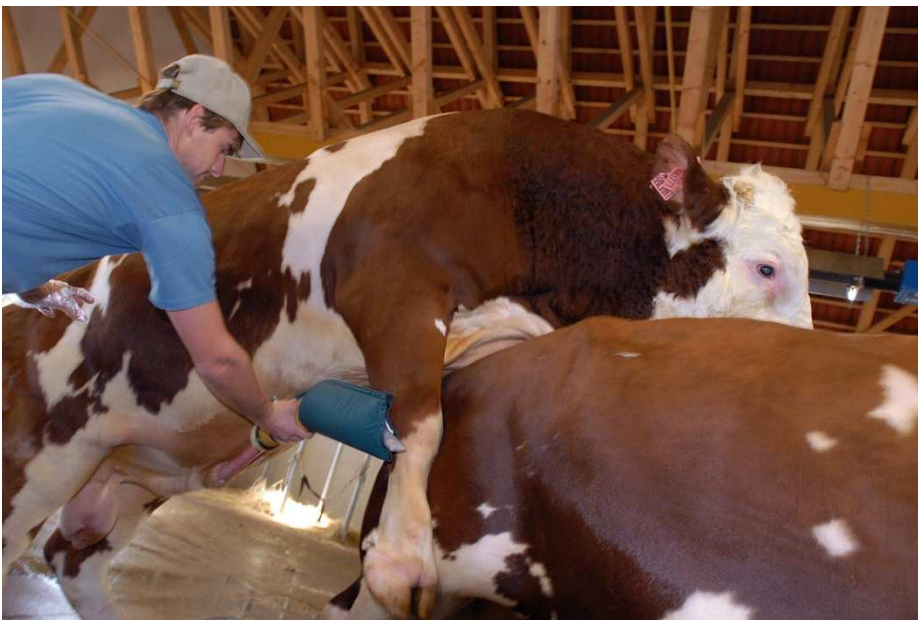


Foto: LOUDA, F.: *Zásady využívání plemenných býků v podmínkách přirozené plemennosti, Metodika. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín, 2007.*

Obr. 5 Nezralá spermie s protoplazmatickou kapkou

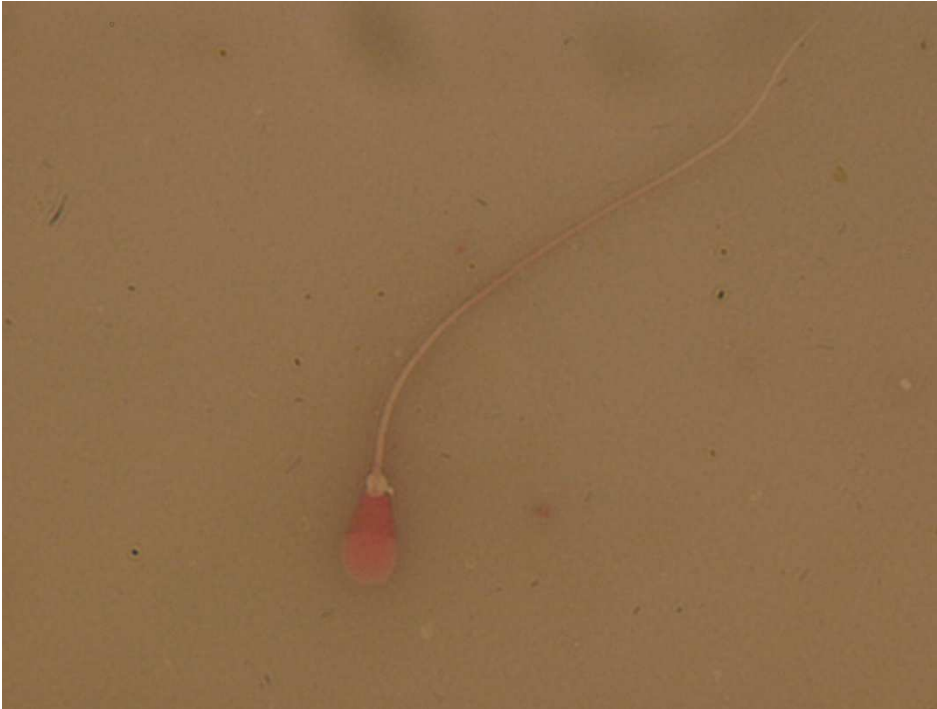


foto Michaela Paldusová

Obr. 6 Torze bičíku



foto Michaela Paldusová

Obr. 7 Mrtvá spermie a 2 odumírající spermie

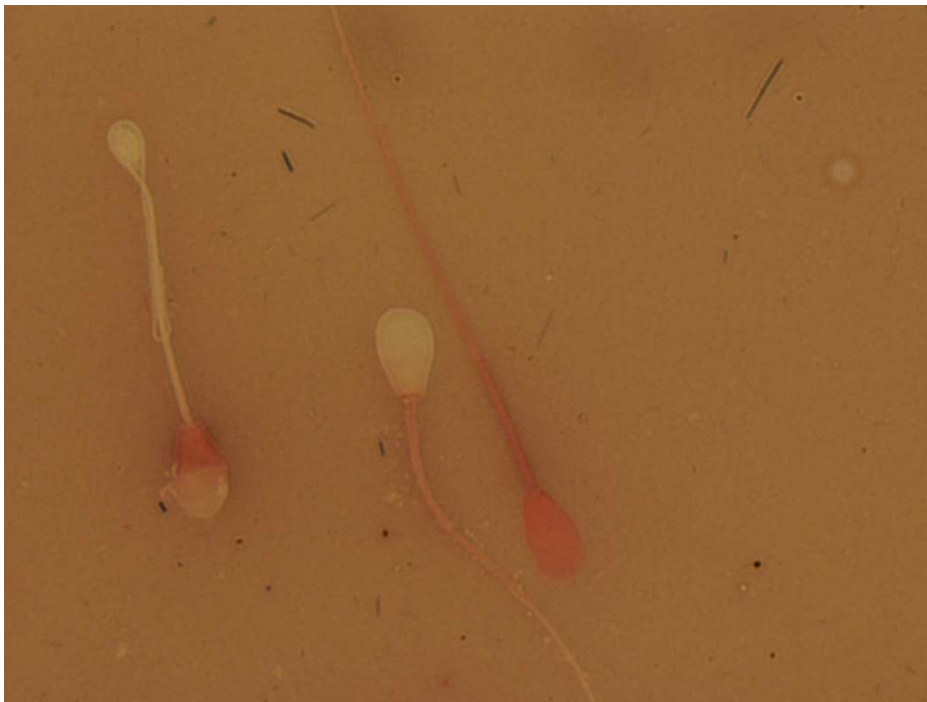


foto Michaela Paldusová

Obr. 8 Živá a mrtvá spermie obě s torzí



foto Michaela Paldusová