

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta tropického zemědělství



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta tropického
zemědělství**

Metody rozmnožování hadů v chovech

Bakalářská práce

Praha 2018

Vypracoval:

Michal Čáp

Vedoucí práce:

Ing. Tomáš Holer

Prohlášení

Čestně prohlašuji, že jsem tuto práci na téma Metody rozmnožování hadů v chovech vypracoval samostatně, veškerý text je v práci původní a originální a všechny použité literární prameny jsem podle pravidel Citační normy FTZ řádně uvedl v referencích.

V Praze dne

Michal Čáp

Poděkování

Chtěl bych především poděkovat vedoucímu mé práce Tomášovi Holerovi, dále profesorce Lukešové, panu doktorovi Mouchovi ze ZOO Dvůr Králové a panu profesorovi Knotkovi z Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

Abstrakt

Metody rozmnožování hadů v chovech

Tato práce byla zaměřena na shromáždění dosavadních poznatků z oblasti anatomie pohlavní soustavy hadů, reprodukčních strategií a rozmnožování hadů se zaměřením na umělou inseminaci, které by bylo možné využít v záchranných programech, ale i v chovu a šlechtění. Práce se zaměřovala na porovnání výsledků umělé inseminace a uchování chlazeného spermatu, prováděné různými autory. K využití u ohrožených druhů je třeba dalšího výzkumu, jelikož u těchto druhů dosud žádný proveden nebyl. U běžně chovaných druhů, např. u užovky červené bylo prokázáno, že je možné umělé inseminace využít. Po dalším výzkumu v kategorii ohrožených druhů by se mohlo začít naplno využívat konzervovaného spermatu k rozmnožení ohrožených hadů a přispět tím k záchraně vymírajících druhů.

Klíčová slova: rozmnožování, *Serpentes*, umělá inseminace, anatomie, reprodukční poruchy

Author's abstract

Methods of snake reproduction in breeding

This work was aimed to get knowledges about anatomy of reproductive system, reproductive strategies and reproduction of snakes with a focus on artificial insemination, which could be used in rescue programs and in breeding as well. The work was focused on the comparison of the results of artificial insemination and preservation of cooled semen made by various authors. For use in endangered species, further research is needed, since no such research was conducted on such species. Commonly breed species, such as corn snake, have been shown to be suitable for using artificial insemination. After further research on endangered species, conserved semen could be fully exploited to multiply the number of endangered species of snakes and therefore contribute to rescue a species, before it go extinct.

Key words: reproduction, *Serpentes*, artificial insemination, anatomy, reproduction disorders

Obsah

1. Úvod	- 1 -
2. Cíle práce	- 2 -
3. Literární rešerše	- 3 -
3.1 Hadi (<i>Serpentes</i>)	- 3 -
3.1.1 Systematika	- 3 -
3.1.2 Rozdělení dle způsobu usmrcení kořisti	- 3 -
3.1.3 Rozšíření	- 4 -
3.1.4 Smysly.....	- 4 -
3.1.5 Poikilotermie	- 4 -
3.1.6 Potrava	- 4 -
3.2 Anatomie pohlavní soustavy hadů.....	- 4 -
3.2.1 Samčí pohlavní soustava.....	- 5 -
3.2.1.1 Varlata	- 5 -
3.2.1.2 Penis	- 5 -
3.2.1.3 Spermie	- 6 -
3.2.2 Samičí pohlavní soustava.....	- 7 -
3.2.2.1 Vaječníky	- 7 -
3.2.2.2 Vejcovody	- 7 -
3.2.2.3 Vejce	- 8 -
3.2.3 Určování pohlaví.....	- 8 -
3.2.4 Nemoci pohlavního aparátu	- 8 -
3.2.4.1 Poruchy hormonální funkce vaječnicků	- 8 -
3.2.4.2 Resorpce folikulárních buněk	- 9 -
3.2.4.3 Aseptický zánět vaječnicků	- 9 -
3.2.4.4 Infekce penisu	- 10 -
3.2.4.5 Prolaps (výhřez penisu).....	- 10 -
3.3 Rozmnožování hadů.....	- 10 -
3.3.1 Rozmnožování v přírodě.....	- 12 -
3.3.1.1 Vejcorodost	- 12 -
3.3.1.2 Vejcoživorodost	- 12 -

3.3.1.3	Živorodost	- 12 -
3.3.1.4	Páření	- 12 -
3.3.1.5	Oplození	- 13 -
3.3.1.6	Gravidita.....	- 13 -
3.3.1.7	Snáška	- 13 -
3.3.2	Rozmnožování v zajetí.....	- 15 -
3.3.2.1	Užovka červená.....	- 15 -
3.3.2.2	Krajta královská	- 15 -
3.3.2.3	Hroznýš královský	- 16 -
3.3.2.4	Rod <i>Thamnophis</i>	- 16 -
3.3.2.5	Rod <i>Lampropeltis</i>	- 16 -
3.3.3	Metody rozmnožování hadů v zajetí.....	- 17 -
3.3.3.1	Přirozené	- 17 -
3.3.3.2	Umělé	- 17 -
3.3.4	Přirozené metody	- 17 -
3.3.4.1	Hibernace	- 17 -
3.3.4.2	Páření	- 18 -
3.3.4.3	Snáška	- 18 -
3.3.4.4	Inkubace	- 18 -
3.3.4.5	Líhnutí mláďat	- 20 -
3.4	Umělá inseminace.....	- 20 -
3.4.1	Odběr spermatu	- 20 -
3.4.2	Skladování spermatu	- 22 -
3.4.3	Ředění spermatu.....	- 23 -
3.4.4	Vyšetření spermatu	- 23 -
3.4.5	Vyšetření samice	- 24 -
3.4.6	Inseminace	- 24 -
3.4.7	Výsledky inseminace	- 26 -
3.5	Poruchy plodnosti	- 27 -
3.5.1	Předčasné připouštění	- 27 -
3.5.2	Pseudogravidita.....	- 28 -
3.5.3	Přerušení porodu	- 28 -
3.5.4	Zadržení snůšky	- 28 -

3.5.4.1	Klinické příznaky	- 28 -
3.5.4.2	Diagnostika	- 28 -
3.5.4.3	Terapie	- 29 -
4.	Závěr.....	- 30 -

Seznam tabulek:

Tabulka 1: Délky umělé inkubace vajec Užovky obojkové (Kocourek 2000)

Tabulka 2: Morfologické abnormality spermií (Fahrig et al. 2007)

Tabulka 3: Vyšetření ejakulátu (Fahrig et al. 2007)

Tabulka 4: Analýza semene inseminovaného jednou každé ze samic jeden týden po hibernaci (Mattson et al. 2007)

Tabulka 5: Analýza semene inseminovaného dvakrát každé ze samic 1 a 2 týdny po hibernaci (Mattson et al. 2007)

Seznam obrázků (a grafů):

Obrázek 1: Varlata hadů (Knotek et al. 1999)

Obrázek 2: Vysunutý hemipenis *Aspidites melanocephalus*

(https://www.mindenpictures.com/search/preview/researcher-guido-westhoff-showing-everted-hemipenis-of-a-road-kill/0_90227971.html)

Obrázek 1: Spermie *Pantherophis guttatus* (Oliveri et al. 2018)

Obrázek 2: Vajíčka ve vejcovodu (Knotek et al. 1999)

Obrázek 3: Vejce plazů (Vitt & Caldwell 2014)

Obrázek 6: Zánět vaječníku a vejcovodu Užovka červená (Knotek et al. 1999)

Obrázek 4: SST - oblast skladování spermatu (Sever & Ryan 1999)

Obrázek 5: Vlevo dvě neoplozená vejce; vpravo oplozené vejce

Obrázek 6: Krajta zahřívající svá vejce (<https://www.zoopraha.cz/aktualne/novinky-u-zvirat/6839-klokan-vykoukl-z-vaku-a-krajta-nakladla-vejce>)

Obrázek 10: Líhnutí mláďat

(<http://mujweb.cz/richardhorcic/www%20stranky/ramsayi.htm>)

Obrázek 7: Odsávání ejakulátu (Zacariotti et al. 2007)

Obrázek 8: Procento motility při delším skladování (Fahrig et al. 2007)

1. Úvod

Cílem této práce je seznámit se s otázkou rozmnožování hadů, se zaměřením na inseminaci, která by mohla mít velký ekologický i ekonomický dopad na chov hadů.

Inseminace by se dala využít v záchranných programech ohrožených druhů. Ohrožené druhy chované v zoologických zahradách nebo v soukromých sbírkách se mohou složitě rozmnožovat. Ať již z hlediska nechuti se spojit, tak také chovatelé nemusejí mít dostatek informací o jejich přirozeném páření a nejsou schopni jim navodit optimální podmínky k reprodukci. Toto by mohla umělá inseminace vyřešit.

Při využití této metody v chovech by se výrazně ušetřilo díky tomu, že chovatelé by si nemuseli pořizovat (v případě méně častých a výrazně dražších barevných mutací) velmi drahé jedince a také čekat, než dospějí do pohlavní dospělosti, než by bylo možné připářovat samice.

Otázkou však je, jestli je vůbec možné umělou inseminaci u hadů provádět a zdali by se tato metoda finančně vyplatila, tzn., jak náročný by byl odběr, ředění, skladování spermatu a jeho aplikace.

2. Cíle práce

1. Shromáždit dosavadní informace o reprodukčním systému, reprodukčních strategiích a poruchách reprodukce hadů.
2. Shromáždit dosavadní informace o metodách rozmnožování hadů v zajetí.
3. Vytvořit literární přehled tématu - inseminace hadů.

3. Literární rešerše

3.1 Hadi (*Serpentes*)

3.1.1 Systematika

Přehled recentních čeledí hadů podle

Slepčikoví – Anomalepididae

Slepákoví – Typhlopidae

Slepanoví – Leptotyphlopidae

Bradavičnickoví – Acrochordidae

Hroznýšoví – Boidae

Hroznýškoví – Bolyeriidae

Pahroznýškoví – Tropidophidae

Krajtoví – Pythonidae

Krajtovkoví – Loxocemidae

Krajtíkoví – Xenophidiidae

Krátkorepoví – Uropeltidae

Vinějšoví – Aniliidae

Duhovcoví – Xenopeltidae

Zemězmijoví – Atractaspididae

Užovkoví – Colubridae

Korálovcoví – Elapidae

Zmijoví – Viperidae (S. B. McDowell 1987; J. Moravec 1999).

3.1.2 Rozdělení dle způsobu usmrcení kořisti

Jedovatí hadi usmrcují svou kořist za pomoci jedu, který mají uložený v jedových váčcích a svými dlouhými a ostrými jedovými zuby ho dopravují do krevního oběhu své kořisti, zatímco škrtiči zabijí svou kořist, když ji celou omotají svým tělem, které dokáže vyvinout velmi pevný stisk (Lillywhite 2014).

3.1.3 Rozšíření

Hadi jsou rozšířeni po celém světě, ale nejvíce druhů obývá tropické pásmo. Obývají jak deštný prales, tak i pouště. Hadi se také dají rozdělit na terestrické (např. Užovka červená - *Pantherophis guttatus*), stromové (např. Bojga stromová - *Boiga dendrophila*), podzemní (např. Hroznýšek pestrý - *Gongylophis colubrinus*) a vodní (např. Vodnář belcherův – *Hydrophis belcheri*) (Lillywhite 2014).

3.1.4 Smysly

Zde stojí za zmínku Jacobsonův orgán, do kterého hadi zasunují svůj rozeklaný jazyk. Při vyplazení na něj nachytají molekuly ze vzduchu, ty poté Jacobsonův orgán vyhodnocuje a díky tomu jsou hadi schopni daleko lépe rozpoznávat pachy. Zrak a sluch mají vyvinutý velice slabý. Dalším smyslovým orgánem, který je u některých druhů chřestýšů, hroznýšů a krajt jsou termoreceptory, umístěné v obličejové části, kterými jsou schopni zaznamenávat změny v okolní teplotě (Lillywhite 2014).

3.1.5 Poikilotermie

Hadi patří mezi poikiloterní živočichy, což znamená, že nemají stálou tělesnou teplotu, ale jejich teplota se odvíjí od teploty okolí (Lillywhite 2014).

3.1.6 Potrava

Hadi se řadí mezi zoofágy. Existují však mezi nimi i potravní specialisté, kteří se zaměřují jen na určité druhy živočišné potravy. Například ichtiofágové (rod *Enhydryis*), batrachofágové (*Natrix natrix*) nebo herpetofágové (*Coluber najadum*) (Kocourek 2000).

3.2 Anatomie pohlavní soustavy hadů

Rozmnožovací soustava je zkoumána po více než 50 let a studie zahrnují základní biologii, anatomii, fyziologii a biotechnologie. Hadi mají reprodukční soustavu velmi podobnou savčí, ale je zde několik rozdílů v anatomii a fyziologii (Vasaruchapong 2014).

3.2.1 Samčí pohlavní soustava

3.2.1.1 *Varlata*

Hadi mají dvě nažloutlé nebo krémově zbarvená varlata, oválného tvaru, přičemž pravé varle je umístěno více vpředu (viz obrázek 1) v těle hada (Vasaruchapong 2014). Skládají se především z dlouhých složených kanálků - *tubuli seminiferi* (Knotek et al. 1999). Obě varlata jsou uložena ve druhé třetině těla hada. Každé varle je napojeno na spermatický kanálek, který vede podél střev přes kloaku až do hemipenisu (Vasaruchapong 2014).



Obrázek 9: Varlata hadů (Knotek et al. 1999)

3.2.1.2 *Penis*

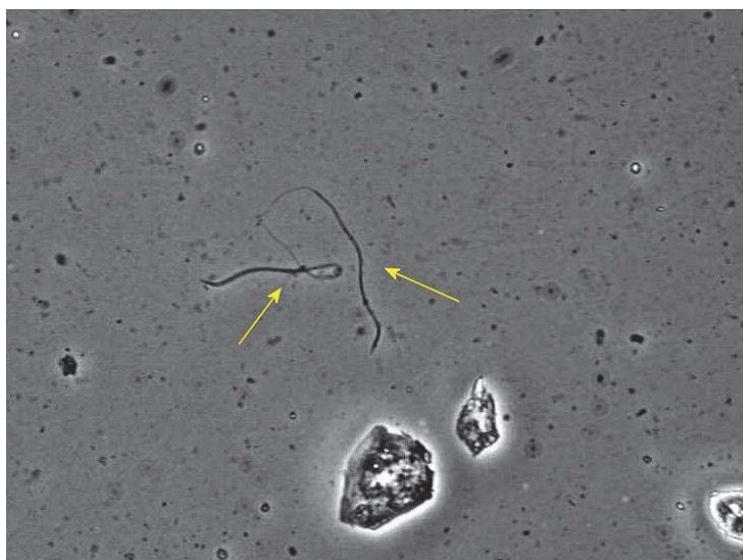
Samci mají dva hemipenisy, pravý a levý, které mají odděleně uložené (Jacobson 2007). Jsou vztyčovány svalem a naplněním krevních komůrek (viz obrázek 2). Většinou je červovitého nebo vidlicovitého tvaru s drobnými háčky k dobrému zachycení v kloace samice (Knotek et al. 1999). Hemipenis každého druhu má jinou velikost a tvar, což může být užitečné při identifikaci druhů hadů (Jintakune 2000), ale může se také měnit v průběhu sezóny (Knotek et al. 1999).



Obrázek 10: Vysunutý hemipenis *Aspidites melanocephalus* (Jurgen Freund 2008)

3.2.1.3 Spermie

Spermie mají dlouhou vřetenovitou hlavičku s bičíkem (viz obrázek 3). Zrání spermií probíhá v nadvarleti, než vstoupí do spermatického kanálku a hemipenisu (Vasaruchapong 2014). Folikulární stimulační hormon stimuluje spermatogenezi, stejně



Obrázek 11: Spermie *Pantherophis guttatus* (Oliveri et al. 2018)

jako luteinizační hormon stimuluje Leydigovi buňky k produkci testosteronu u savců (Licht 1974).

3.2.2 Samičí pohlavní soustava

Literární informace týkající se anatomie hadí kloaky jsou stále vzácné (Stahl 2006). Levý vaječník je také uložený nad pravým, případně může zcela chybět. Vstup do pohlavního aparátu se nachází v kloace, stejně jako do vylučovací a močové soustavy (Aldridge & Sever 2016).

3.2.2.1 Vaječníky

Párový orgán uložený v zadní části těla. Lze snadno rozpoznat, jako drobné nahromadění folikulů. Na vaječnicích lze při bližším rozboru zjistit pojivovou tkáň, hladkou svalovinu, krevní a lymfatické cévy i nervová zakončení. Ve folikulech na stěnách vaječníků je možné najít oocyty v různých stádiích vývoje. Když se oocyt uvolní z Graafova folikulu, vytvoří se žluté tělísko – *corpus luteum* (Knotek et al. 1999).

3.2.2.2 Vejcovody

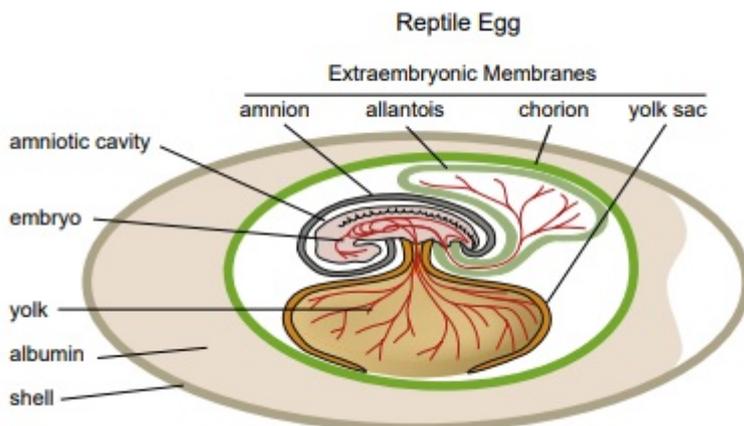
Mullerovi kanálky, které jsou základem vejcovodu, jsou nejvíce viditelné v období před kladením vajec. V jiných obdobích jsou zřetelné jako světlé zřasené kanálky, vystupující z urodea. Wolfův kanálek je degenerovaný a zbytek utváří pouze kanálek Gartnerův. Oplození probíhá v horní části vejcovodu, oplozené vajíčko pokračuje dál a žlázy ve stěně vejcovodu ho obalují svými produkty (viz obrázek 4).



Obrázek 12: Vajíčka ve vejcovodu (Knotek et al. 1999)

V prvním úseku je vajíčko obaleno albumenem, ve druhém se tvoří dvojitá skořápkovitá membrána a naposled je vajíčko obaleno skořápkou, která je u vejcorodých hadů kožnatá a pružná (Knotek et al. 1999). U živorodých hadů se tvoří primitivní placenta (Steward & Blackburn 1988).

3.2.2.3 Vejce



Obrázek 13: Vejce plazů (Vitt & Caldwell 2014)

3.2.3 Určování pohlaví

Při určování pohlaví se můžeme řídit pohlavními dimorfismy, které ovšem mohou být zavádějící. Samice bývají většinou větší. Samci mají širší část těla za kloakou směrem k ocasu, kde mají uložené hemipenisy, kdežto u samic se tělo směrem k ocasu zužuje rovnoměrně. Ocas bývá u samců delší než u samic.

Nejspolehlivější metodou k určení pohlaví u mladých hadů je kloakální sondování. Provádí se vsunutím chirurgické sondy, nejlépe potřenou vazelínou pro lepší průchodnost, pod anální štítek a pokračuje se směrem k ocasu. U samců je délka vniku 3-6x taková jako u samic (Kocourek 2000).

3.2.4 Nemoci pohlavního aparátu

3.2.4.1 Poruchy hormonální funkce vaječnicků

Významný vliv na funkci vaječnicků a oogenezi mohou mít hormonální změny zapříčiněné vnějšími faktory. U rodu *Thamnophis* byl pozorován případ, kdy byly na

vaječnicích pouze folikuly prvního řádu. Příčinou byl chov užovek v nepřírodných podmínkách (stále stejné teploty, žádná fotoperioda) (Knotek et al. 1999).

3.2.4.2 Resorpce folikulárních buněk

Je to chronický proces trvající i několik let. Buňky folikulů a vnější membrána oocytů jsou napadány fagocytujícími buňkami a lymfocyty. Cévy, kterými je pojivová tkáň vaječníků prostoupena, umožní průchod velkému množství fagocytů. Pojivové pouzdro vaječníků se zesiluje a může dojít i k centrální kalcifikaci. V tomto místě je možné na těle zjistit zesílení a kalcifikované úseky můžeme vidět pomocí ultrasonografu nebo rentgenu (Knotek et al. 1999).

3.2.4.3 Aseptický zánět vaječníků

Toto onemocnění může být vyvoláno nešetrnou palpací při určování pohlaví, kdy praskne folikul i vajíčko a uvolní se viteliní tekutina do tělní dutiny. Mesenchymální tuková tkáň degeneruje a vzniká granulomatózní zánětlivá reakce (viz obrázek 6) (Knotek et al. 1999).



Obrázek 14: Zánět vaječniku a vejcovodu Užovka červená (Knotek et al. 1999)

3.2.4.4 Infekce penisu

Příčinou bývá nesprávně prováděné sondování. Kanálky jsou vyplněné masou, která hnisá. Při nezvládnutí infekce nastává sepse. Léčí se výplachem kanálků dezinfekčním roztokem a periodickým podáváním antibiotické emulze (Knotek et al. 1999).

3.2.4.5 Prolaps (výhřez penisu)

Může k němu docházet při páření, ale může být vyvolán i zácpou nebo celkovou slabostí (Knotek et al. 1999).

3.3 Rozmnožování hadů

Kvůli nedostatku výzkumu v oblasti chování hadů, se na toto téma zaměřuje v poslední době čím dál, tím více výzkumníků (Shine & Bonnet 2000).

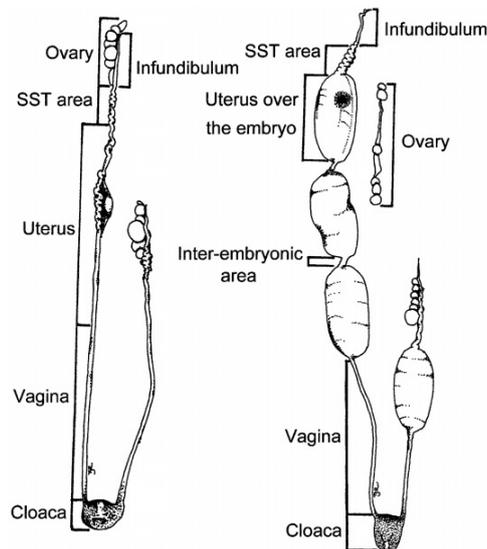
Strategie, kterou hadi ke svému rozmnožení využívají, se liší podle podmínek, ve kterých žijí, dále zde hraje významnou roli jejich morfologie a v neposlední řadě také ekologie (Shine 2003).

Nejnámější rozmnožovací strategie u samic hadů je živorodost, vejcoživorodost a vejcorodost. První zmíněná, je evolučně mladší a vyvinula se v průběhu nejméně 30 nezávislých generací a to zřejmě kvůli příchodu chladnějšího klimata (Blackburn 1985). Všechny mají rozdílnou dobu gravidity (Vasaruchapong 2014).

Jelikož je reprodukce u samic velice energeticky náročná, vyvinulo se u nich několik morfologických odlišností od samců. Často dorůstají větších rozměrů než samci, z důvodu zvýšení plodnosti (Shine 1994). Mají větší hlavu v porovnání s velikostí těla než samci, kvůli schopnosti požívat větší kořist a tím si zajistit víc energie (Houston a Shine 1993). Jsou těžší, vzhledem k nutnosti uchovávat energii (Madsen & Shine 2002). Mění své reprodukční zvyklosti na základě dostupnosti potravy a tak i energie (Bonnet et al. 2001). S dostatkem energie pro páření souvisí podle Vitta a Caldwell (2013) také fakt, že se samice většinou páří pouze s jedním samcem za sezónu. Další svůj čas věnují hledání potravy. Například u *Crotalus viridis*, jež jsou polygamní, platí, že svou sexuální pachovou stopu zanechávají pouze v krátkých časových úsecích a to opět kvůli nedostatku času na hledání potravy.

Z toho vyplývá, že v jeden čas je schopno se pářit více samců, než samic (Vitt & Caldwell 2013).

Mezi další zvláštnosti, které se u hadů vyvinuly, patří uchovávání spermatu v reprodukčním traktu (viz obrázek 7) po delší dobu.



Obrázek 15: SST - oblast skladování spermatu (Sever & Ryan 1999)

První, kdo pozoroval ukládání spermatu, byl (Rahn 1940), ovšem popsal ji (Fox 1956). (Bull 1997) při svém výzkumu nepozoroval u *Boiga irregularis* dlouhodobější uložení spermatu, ale tato schopnost u hadů bezpochyby je (Sever & Ryan 1999). Některé zprávy o dlouhodobém ukládání spermatu mohou být milné, protože se může jednat o možnou partenogenezi, to je stav kdy se z vajíčka, které nebylo oplozeno samčí spermií, vyvine nový jedinec. Tento jev byl pozorován např. u Slepáka květinového (Schuett et al. 1997).

Mikroskopické studie o dlouhodobém uchovávání spermatu byly prováděny pomocí transmisního elektronového mikroskopu u *Thamnophis sirtalis* (Hoffman & Wimsatt 1972) a dále pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu u *Diadophis punctatus* (Perkins & Palmer 1996). Spermie mohou být uchovány přes zimu, když se samice páří na podzim, aby bylo možné vyklást vejce ve správný čas (Perkins & Palmer 1996).

Mezi samčí strategie patří soupeření nebo vzájemná tolerance v období páření.

U samců je také vyvinutá schopnost rozpoznat samice připravené k páření. Díky jejich chemoreceptorům, jsou schopni vyhledat pachovou stopu, kterou za sebou nechávají samice, ale také vyhledat kořist nebo predátora (Greene 1997).

Dále se samci páří s více samicemi za jednu sezónu, ke zvýšení počtů svých potomků. Toto neplatí u všech druhů, ale u většiny ano (Vitt & Caldwell 2013).

3.3.1 Rozmnožování v přírodě

3.3.1.1 Vejcorodost

Rozmnožovací strategie, kdy samice po několika týdnech vyklade vejce do vnějšího prostředí a zárodky dozrávají zde, jsou vyživovány pouze z vejce a samice se o ně většinou nestarají (Lillywhite 2014).

3.3.1.2 Vejčoživorodost

Je to schopnost, kdy se vejce vyvíjí v těle samice a potomci na svět přichází jako miniatury dospělého hada, kromě pohlavní dospělosti. Ovšem matka mu neposkytuje žádnou výživu, například skrz placentu, veškerá výživa pochází z vejce (Aldridge & Sever 2016).

3.3.1.3 Živorodost

Samice, které mají jako rozmnožovací strategii živorodost nosí své potomky ve svém těle a vyživují přes placentu. Mohou tímto také ochránit zárodky před nepříznivými vlivy vnějšího prostředí, jako je například dehydratace, teplota, mikrobiální útok a predátoři (Shine 1985).

Tato strategie s sebou nese také nevýhody, během gravidity má samice sníženou schopnost pohyblivosti, tudíž je pro ni méně snadné si obstarat potravu, jak pro sebe, tak pro své potomky (Blackburn 1999).

3.3.1.4 Páření

Probíhá jako pohlavní styk dvou jedinců opačného pohlaví, kdy po namlouvacích rituálech (otírají se o sebe, celkově zvýšená aktivita), samec obtočí poslední třetinu svého těla i ocas kolem těla samice a vsune svůj hemipenis do kloaky samice. Tento akt může trvat několik minut, ale může se protáhnout až na několik hodin. Hadí se ve svém přirozeném prostředí páří většinou na jaře po hibernaci nebo v období, kdy se mláďata budou líhnout na začátku období dešťů a jedním z důvodů je,

že se mláďata rodí v období, kdy je dostatek potravy a vejce zrají v optimálních podmínkách (Kocourek 2000).

3.3.1.5 Oplození

Na začátku pářicí sezóny mnohočetné folikuly dozrávají v Graafovi folikuly společně s vitelogenezí k uložení žloutku do vajíček. Po ovulaci projde vajíčko přes infundibulum do vaječníku, kde jsou všechna vajíčka oplozena. U vejcorodých hadů se skořápka vejce utváří ve vaječníku. U živorodých hadů se embryo vyvíjí v děloze. Výživa embrya je zajištěna vaječným žloutkem, kdežto kyslík a voda jsou dodávány z vaječníku (Vasaruchapong 2014). Folikuly stimulující hormon stimuluje folikuly k růstu a vede k vitelogenezi. Luteinizační hormon stimuluje ovulaci a mění folikul na žluté tělísko, které produkuje progesteron (Edwards & Jones 2001).

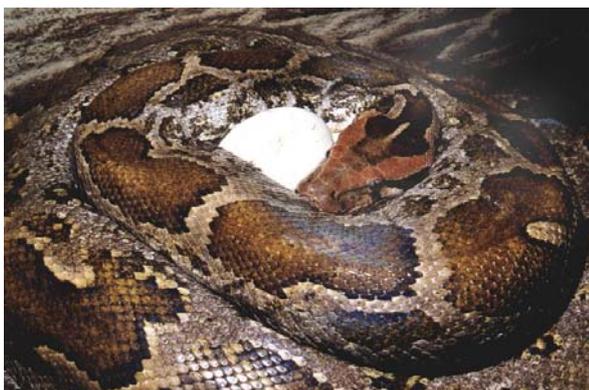
3.3.1.6 Gravidita

U každého druhu se délka gravidity různí, např. u Užovek červených je samice gravidní cca. 60 dní. V průběhu můžeme sledovat, jak se samici zvětšuje zadní část těla, kde dozrávají vejce, nebo u živorodých, mláďata a mohou být cítit i po prohmatání. Je dobré omezit manipulaci s gravidní samicí na minimum (Kocourek 2000). Nebezpečím, které může nastat, je zadržení vejce nebo vajec (Knotek et al. 1999).

3.3.1.7 Snáška

Na rozdíl od živorodých a vejcoživorodých hadu, kteří mají potomky ve svém těle, vejcorodí hadi svá vejce po několika týdnech kladou do tlejících klád, pařezů, písku nebo hlíny, kde se vyvíjí (Niell 1964).

Většina kraitů u vajec zůstává, opouští je jen v případě, že se jde ohřát nebo napít, jinak zůstává téměř veškerý čas obtočená kolem své snášky a zahřívá ji drobnými záškuby svého těla (viz obrázek 8). Užovkovití hadi se ve většině případů o svá vejce



**Obrázek 16: Kraita zahřívající svá vejce
(Vladimír Motyčka 2001)**



Obrázek 17: Vlevo dvě neoplozená vejce; vpravo oplozené vejce nestarají (Kocourek 2000). Vejce, která samice snese mohou být buď oplozená nebo neoplozená. Oplozené vejce je bílé a správně tvarované, kdežto neoplozené je spíše žluté, menší a často deformované (viz obrázek 9) (Lillywhite 2014).

Maximální počty vajec ve snůškách u vejcorodých hadů (dle různých autorů)

Farancie červenobřichá – *Farancia abacura* 104

Užovka obojková – *Natrix natrix* 105

Krajta tygrovaná – *Python molurus molurus* 107

Maximální počty mláďat ve vrzích vejcoživorodých hadů (dle různých autorů)

Užovka proužkovaná – *Thamnophis sirtalis* 85

Thamnophis radix 90

Anakonda velká – *Eunectes murinus* 90

Užovka krtčí – *Pseudaspis cana* 94

Užovka mokasínová – *Nerodia sipedon* 99

Nerodia cyclopion 101

3.3.2 Rozmnožování v zajetí

3.3.2.1 Užovka červená

Pro lepší stimulaci užovek k páření je dobré je zimovat, avšak není to podmínkou. Samce probouzíme ze zimního spánku o 2-3 týdny dříve než samice a páření zahajujeme po prvním svlečení kůže po zimování (Kocourek 2000). Užovky se páří od března do června a je dobré je v tomto období vydatně krmit.

Po 4-9 týdnech od páření samice kladou 5-30 pětcentimetrových vajec (Bruins 1999). Samice mohou ročně vyprodukovat i 2-3 snášky, ovšem toto nijak nepřispívá k jejich zdravotnímu stavu, doporučuje se proto, rozmnožovat pouze jednou za sezónu. Délka inkubace se liší dle teploty. Při teplotě 25 °C – 90 dnů, 27-30 °C – 51-70 dnů, 32 °C 53 dnů. Mláďata jsou velká 20-40 cm, obvykle 26-31 cm. Většinou dobře přijímají jednodenní holata, ale jsou i výjimky, které je nutné rozkrmit násilně (Kocourek 2000).

3.3.2.2 Krajta královská

K úspěšnému rozmnožení tohoto druhu je nutné navodit období sucha a dešťů. Hadi se poté páří od února do března. Vejce kladou v březnu až květnu, do předem připravené krabice s vrstvou rašeliny, kde buď necháme samici s vejci nebo je po snesení přemístíme do inkubátoru. Při inkubaci pod samicí se vejce líhnou po 61 dnech.

V inkubátoru s teplotou 30-31 °C a vlhkostí 90 % bylo zaznamenáno líhnutí mezi 63-72 dny (Kocourek 2000). Samice klade 6-10 velkých vajec. Po vylíhnutí mláďata měří 40-45 cm a pohlavně dospívají ve třech letech (Bruins 1999).

3.3.2.3 Hroznýš královský

I u tohoto druhu je k dosažení úspěšné reprodukce nechat hady před obdobím rozmnožování odpočinout a to od října do prosince při teplotě 20 °C v suchém teráriu (70% vlhkost). Svítíme 4-6 hodin denně. Poté navrátíme zvířata do normálních podmínek. Hady je dobré několik týdnů vydatně krmit a poté k samici připustit větší množství samců, kteří se mezi sebou stimulují k páření. Po jednom až dvou týdnech dochází u samice k ovulaci, ta je patrná ve druhé třetině těla, která se zvětšuje. Samici je v období gravidity lepší chovat odděleně od samců a vydatně krmit, avšak v posledních týdnech březosti se příjem potravy rapidně sníží. Po 16-23 dnech od ovulace se samice připravuje ke svlékání, o 96-114 dní déle se rodí živá mláďata. V období jednoho týdne před porodem je samice nervózní. Ve vrhu je 15- 70 mláďat, která se rychle dostanou z ochranné blány. Mláďata jsou 20-30 cm dlouhá a po 1-3 týdnech svlékají kůži a žerou přiměřenou kořist. Pohlavní dospělost přichází ve 3 letech (Bruins 1999).

3.3.2.4 Rod *Thamnophis*

Zimují se při teplotě 10-15 °C, po dobu 8 týdnů. Poté se pár připustí k sobě. Lepší stimulace nastává, jsou-li hadi chováni v menších skupinkách. Páření může zabrat několik hodin. Tyto samice mohou uchovávat sperma po výrazně dlouhou dobu. U *T. proximus* samice rodí 5-30 živých mláďat, u *T. sirtalis* až 80 mláďat. Délka březosti je 2-3 měsíce a zhruba týden před porodem samice přestane mít zájem o potravu. Novorozenci měří asi 20 cm a nejsou silnější, než zápalka (Bruins 1999).

3.3.2.5 Rod *Lampropeltis*

Poslední týden 4-6 - týdenní hibernace se připouští samec k samici. Páří se od března do června. Korálovky kladou 5-25 delších vajec a snáška může být i 2x ročně. Samice je lepší chovat odděleně, kvůli možné likvidaci vajec jinou samicí. Mláďata se líhnou po 75 dnech při teplotě 26 °C, při 30 °C po 60 dnech a měří 20-30 cm. Péče je podobná jako u užovky červené (Bruins 1999).

3.3.3 Metody rozmnožování hadů v zajetí

3.3.3.1 Přírozené

Jedná se o klasický kopulační akt dvou jedinců různého pohlaví.

3.3.3.2 Umělé

Jedinou dosud prokázanou umělou rozmnožovací metodou je inseminace.

3.3.4 Přírozené metody

3.3.4.1 Hibernace

U zvířat chovaných v zajetí, se hibernaci říká zimování. Před samotným zimováním je třeba hady nechat dostatečně dlouho vylačnit, cca. jeden měsíc. Dobrým způsobem, jak tento akt urychlit je, nechat zvířata několik chvil ve vlažné vodě. Dalším důležitým krokem je teplotu snižovat postupně, jako je tomu i v jejich přirozeném prostředí, ne ihned přesunout hady do prostředí požadované teploty. Zvířata by mohla utrpět tepelný šok. Nejvhodnějším způsobem zimování je po plynulém snižování teploty zvířata umístit do malých nádob se substrátem a pitnou vodou, pro navození pocitu bezpečí, nemusíme mít strach, že budou stresována malým prostředím, je pro ně v tuto chvíli optimální. Běžně se zimuje při 8 °C, ale teplota může v rozmezí několika málo stupňů kolísat. Toto platí především u *Pantherophis guttatus*, ovšem tento druh je již tak navyklý na život v lidské péči, že zimování nemá tak zásadní vliv na kvalitu snášky. Provádí se spíše kvůli regeneraci zvířat. V ubikacích se musí každý den měnit voda a při výměně je vhodné nechat nádobu otevřenou, pro výměnu vzduchu. Také není vhodné hady vystavovat světlu, po celodenním pobytu ve tmě by jim to nebylo příjemné. V případě, že je substrát suchý, je třeba ho porosit, aby zde byla vždy vyšší vzdušná vlhkost. Přibližně po dvou měsících zimování začneme teplotu opět postupně zvyšovat a poté můžeme hady přesunout zpět do terárií a zahájit pokusy o páření (Bruyndonckx 1984). Toto ovšem neplatí u všech druhů, např. u *Python regius*, které obývají západní a střední Afriku, je v těchto místech střídání období sucha a dešťů a zimní období zde vůbec nepřevládá, tudíž by bylo fatální chybou zimovat tento a ostatní druhy hadů, žijící v těchto klimatech. Pro úspěšné rozmnožení těchto hadů je třeba od jara do podzimu udržovat denní teploty od 34 °C do 36 °C a v noci pokles na 26 °C. Zvyšujeme také

vzdušnou vlhkost na 70-90 %. Od konce podzimu do předjaří snižujeme denní teplotu na 26-28°C a noční na 24°C, vlhkost v teráriu udržujeme na 50-60 % (Kocourek 2000).

3.3.4.2 Páření

Pro větší stimulaci k páření je možné vložit k samici do terária samce dva, kteří o samici svádějí rituální souboje. Intenzivnější boje jsou zaznamenány u *Corallus enydris*, kde se samci škrábou kloakálními drápkami, koušou a škrtnou. Vítězný samec se poté spojí se samicí. Samci se připouštějí k samici do terária ve večerních hodinách a necháváme ho zde pouze, když se páří se samicí. Po páření samce opět od samice odejmeme a takto opakujeme po několik dní (Kocourek 2000). Hadí pak mají o sebe větší zájem, než kdyby byli u sebe chováni permanentně (Vergner 2013).

3.3.4.3 Snáška

Po úspěšném páření klade samice slepenec několika kožovitých vajec (počty se liší dle druhu) do navlhčeného substrátu, který má již připravený v teráriu. (Kocourek 2000)

3.3.4.4 Inkubace

Při chovu v zajetí, není vhodné nechávat vejce u samice. Nejvhodnějším způsobem, jak se postarat o oplozená vejce, je přemístění do inkubátoru, kde můžeme kontrolovat teplotu i vlhkost a nehrozí mechanické poškození (Kocourek 2000).

Nejvhodnější teplota pro vývoj zárodků je 27-29°C (viz tabulka 1) a relativní vlhkost o hodnotách 80-90%. Vejce se buď nechají pohromadě ve slepenci nebo se mohou od sebe oddělit (Kocourek 2000).

Tabulka 3: Délky umělé inkubace vajec Užovky obojkové

Inkubační teplota	°C	Délka inkubace (dny)
Konstantní	29	23-30
Konstantní rozmezí	28-30	30-33
Denní/noční	24-29/20-22	33-34
konstantní	28	35-39
konstantní	25.6	40
konstantní	26	42
Denní/noční konstantní	26/20	43
konstantní	24	49-51

V přírodě se doba inkubace pohybuje okolo 75 dní (Kocourek 2000).

3.3.4.5 Líhnutí mlád'at

Mlád'ata se líhnou po úspěšné inkubaci zhruba po 2 měsících (liší se dle druhu). Vejce je tvrdé a kožovité, tudíž si mlád'ata musejí pomáhat vaječným zubem. To je rohovitý útvar, který se mlád'atům vytvoří ještě ve vejci, na horní čelisti. Tímto si mohou prorazit cestu na svět (viz obrázek 10). V případě, že se to dlouho nedaří, je



Obrázek 18: Líhnutí mlád'at (Richard Horčic)

nutná výpomoc. Nejlépe posvítit UV světlem přes vejce a tam, kde není plod, provést malý řez žiletkou, aby se mláděti lépe dostávalo ven. Případně můžeme zjistit, že je plod uhynulý a vejce ihned odstraníme, abychom zabránili plesnivění, hnití a kontaminaci dalších vajec (Kocourek 2000).

3.4 Umělá inseminace

3.4.1 Odběr spermatu

Provádíme, když jsou samci stimulováni k produkci zdravých a zralých spermií. To znamená, že samci musí být již pohlavně dospělí a odběr se musí provést v období jejich přirozeného páření. Bez těchto podmínek by nebylo možné odebrat sperma, které by bylo vhodné k pozdější inseminaci. Dříve, u zastaralejších metod odběru, byla většina odebraných vzorků znehodnocena výkaly a uráty, které se nacházely v kloace a

spermie byly kontaminovány při průchodu přes ně. Tak zvaná ‘stroking’ metoda (Fitch 1960), se dnes již nevyužívá. Kloaka se před odběrem musí důkladně očistit od veškerých nečistot, aby již nedocházelo ke znehodnocování vzorků. Dnes se používá metoda, kterou popsal (Mengden et al. 1980). Tato metoda spočívá v jemné masáži zadní třetiny těla ve spodní části, směrem ke kloace k odstranění kontaminantů, poté omytí fyziologickým roztokem a následně masáží na obou stranách kloaky.

Po 2-3 minutách se na kloace objeví malé množství semene, které je tekuté a má bílou, až nažloutlou barvu, poté je odebráno do injekční stříkačky a dále zpracováno (viz obrázek 11).



Obrázek 19: Odsávání ejakulátu (Zacariotti et al. 2007)

Při aplikaci této metody použil (Zacariotti et al. 2007) anesteziologický přípravek 1% roztok lidocainu, pro lokální anestezii. Další metody používané pro odběr spermatu jsou například pomocí slabých elektrošoků spojených s masáží (Quinn et al. 1989) nebo usmrcení samců euthanasií, odebráním spermatu přímo z těla a jeho uložení do Petriho misek (Langlada et al. 1991). Poslední zmíněná metoda je nevhodná pro druhy, u kterých provádíme odběr a inseminaci za účelem zachování druhu nebo pomoci s obnovením populace, na druhou stranu je to možnost, jak získat největší možné množství materiálu, který bude zároveň nejčistší. Metoda je vhodná pro zvířata, která se najdou uhynulá v přírodě nebo přejetá na silnici.

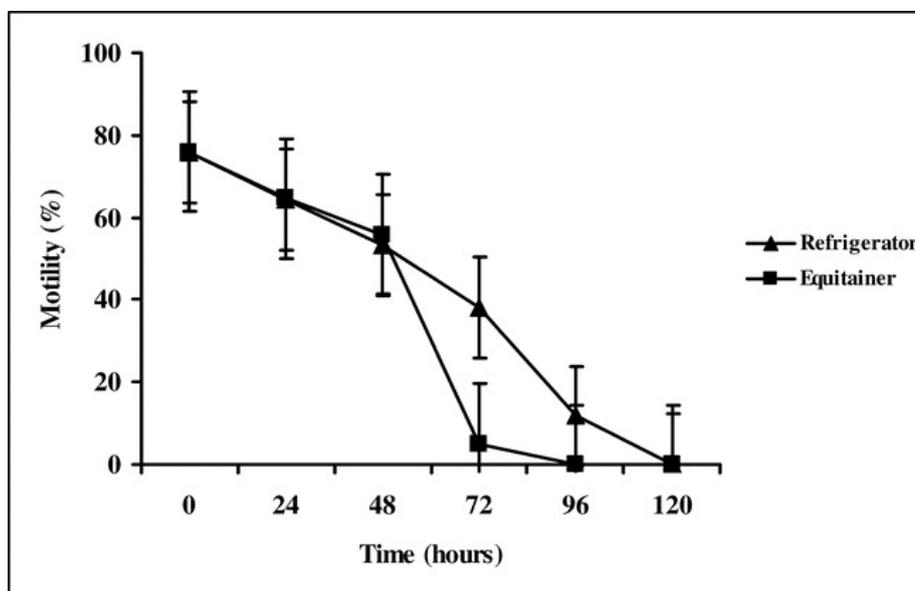
Hadí, od kterých sperma odebíráme, musí být dobře fixováni, kvůli správnému provedení odběru a zabránění možnému poranění hadů, při snaze o útěk.

Fixují se speciálními háky, pro manipulaci s hady a plastovými trubičkami (Murphy & Armstrong 1978).

3.4.2 Skladování spermatu

Dostupná data ukazují, že sperma je schopné přežít po několik dnů, pouze při nízkých teplotách, bez nutnosti zamrazení. Je to velmi přínosné pro možnost transportu na větší vzdálenosti nebo při nutnosti čekat na připravenost samice k umělé inseminaci.

Z počátku po zředění je motilita (pohyblivost) spermií 50-90 % (Zimmerman et al. 2013). Po delším skladování se motilita spermií snižuje. Při skladování vzorků od *Pantherophis guttatus*, které se uchovávali v chladničce a zařízení Equitainer I. se při delším skladování liší. V obou zařízeních byla nastavena teplota 4 °C. Po 24 hodinách se motilita nijak významně nezměnila. V obou případech byla motilita po 48 hodinovém skladování vyšší, než 50 %. Při 72 hodinách se procento motility začalo u obou zařízení různit. V chladničce dosahovali hodnoty 38,1 %, v Equitainer I 14,5 %. Po 96 hodinách byly naměřeny hodnoty v chladničce 11,7 %, v Equitainer I 0,2 % motility spermií. Poslední měření proběhlo po 120 hodinách, kdy spermie nevykazovaly žádné známky pohybu (Fahrig et al. 2007). (viz obrázek 12)



Obrázek 20: Procento motility při delším skladování (Fahrig et al. 2007)

3.4.3 Ředění spermatu

Je velice důležité, protože objem odebraného spermatu není nikterak velký a pro inseminaci většího počtu samic jedním samcem, je potřeba daleko větší množství. Materiál se tedy ředí s fyziologickým roztokem pufovaným fosfátem, při pH 7,4, na výslednou koncentraci 1×10^6 spermatických buněk/ml (Fahrig et al. 2007).

3.4.4 Vyšetření spermatu

Provádí se především pro zjištění vzhledu, objemu, koncentrace, motility a morfologie ejakulátu. Při vyšetření je ke každému vzorku přidáno 1ml modifikovaného Hamova F10 média s albuminem. Malá kapka roztoku je aplikována na podložní sklíčko a překrytá sklíčkem krycím, při teplotě 26-27 °C při 400x zvětšení.

Objem spermatu se druhově velmi liší. U sledovaného druhu *Pantherophis guttatus* je střední hodnota objemu spermatu 0,01 ml. Vzhled je obecně zakalený, bílé až nažloutlé barvy. Průměrná koncentrace je na úkor malého objemu překvapivě vysoká a to 852×10^6 spermií/ml, u ejakulátu světlejší barvy byla koncentrace znatelně vyšší $1\,859 \times 10^6$, oproti nažloutlým vzorkům, které měli koncentraci okolo 601×10^6 . Na počátku sledování bylo u spermií zjištěno 92,5 % progresivní motility, která se bohužel vlivem doby skladování snižovala.

Při morfologickém vyšetření bylo 75,7 % buněk spermií v pořádku, což se dá srovnat s ejakulátem savců (beranem, býkem, kancem) a 24,3 % vykazovalo morfologické abnormality (viz tabulka 2) (Fahrig et al. 2007).

Tabulka 4: Morfologické abnormality spermií

Abnormal morphologic types	Median (%)	25–75% quartile	Min/max
Folded tail	18.5	11.0–21.3	6–40
Detached head	1.0	0.0–3.0	0–10
Proximal droplet	0.5	0.0–5.3	0–14
Distal droplet	0.5	0.0–3.0	0–7
Coiled tail	0.0	0.0–1.3	0–4
Abnormal head shape	0.0	0.0–0.0	0–1

Při vyšetření u *Erythrolamprus poecilogyrus sublineatus* byla pozorována motilita, integrita DNA, akrozomu, membrány a mitochondrií, dále životaschopnost

buněk a buněčné funkce. Motilita po odběru byla 80 %, 84,1 % buněk bylo nepoškozených. Dále bylo pozorováno 48 % intaktního akrozomu v buňkách, 91,8 % funkčních mitochondrií a 73,6 % perfektní DNA. Další hodnoty jsou uvedené v tabulce 3 (Silva et al. 2017).

Tabulka 5: Vyšetření ejakulátu

<i>In vitro analysis</i>	<i>Mean</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Intact acrosome (%)	48	10	98
Functional membrane (%)	30	10	48
Concentration (cells/ml)	330,000	217,500	580,000
Intact DNA (%)	73	51	95
Intact membrane (%)	84	57	100
Intact mitochondria (%)	92	79	100
Sperm with normal morphology (%)	92	82	99
Sperm with coiled tail (%)	8	1	18
Viable cells (%)	80	67	92
Sperm motility (%)	80	70	90

3.4.5 Vyšetření samice

Při umělé inseminaci je také důležité dokázat určit dobu, kdy je nejvhodnější sperma aplikovat. Nejlepším ukazatelem jsou základní fyziologické parametry hadů, čili, kdy se páří přirozeně v přírodě. U všech druhů není doba páření stejná, tudíž nelze stanovit konkrétní termín, dalším znesnadněním je také individuální připravenost samic k páření. Při uspěchání nebo naopak pozdější inseminaci, než je v době, kdy je samice nejlépe připravena pro přijetí spermií, je výsledek inseminace nejistý. U hadů chovaných v zajetí, ke zvýšení pravděpodobnosti úspěšné inseminace, významně přispívá navození stejných podmínek, jaké mají hadi ve svém přirozeném prostředí, jako je například období hibernace nebo období sucha a dešťů.

Pro zjištění nejvhodnější doby, kdy inseminovat, se používá ultrasonografická metoda vyšetření, kde se zjišťuje přítomnost předovulačních folikulů (Oliveri et al. 2018).

V případě, kdy není možné provést ultrasonografii, se inseminuje týden po ukončení hibernace (v případě *Pantherophis guttatus*) (Mattson et al. 2007).

3.4.6 Inseminace

Před samotnou inseminací, je třeba vyčistit kloaku od výkalů a urátů, stejnou metodou, kterou byla čištěna u samců, před odběrem spermatu (Mengden et al. 1980).

Dále se kloaka vypláchne solným roztokem. Je lépe provádět tento zákrok ve více lidech, jeden, který drží hlavu, kvůli případné agresivitě samice, druhý, který zajišťuje dobrý přístup ke kloace třetímu, co bude inseminační dávku aplikovat (Mattson et al. 2007). U větších hadů bude počet potřebných asistentů vyšší, pro lepší manipulaci s tělem hada.

K inseminaci *Pantherophis guttatus* je třeba použít 50 μ l zředěného ejakulátu, do každého vaječníku. Do 1 ml tuberkulinové stříkačky bylo nabráno 100 μ l vzduchu a vpraveno do kloaky k uvolnění svalového napětí a roztažení kloaky, kvůli lepší dostupnosti vaječnicků a snadnější manipulaci při inseminaci. Inseminováno bylo 10 samic, z nichž u 5 bylo použito čerstvé semeno a u dalších 5 semeno, které bylo skladováno po dobu 3 dnů, při teplotě 4-10 °C. Materiál byl nabrán do 1 ml tuberkulinové injekční stříkačky zakončené jehlou s kulatým koncem, aby nedošlo k poškození uvnitř kloaky. Při vstupu do kloaky se nejprve provádí krouživý pohyb jehlou k uvolnění svalového napnutí v kloace a tím se usnadňuje průnik ke konci vejcovodu. Jehla byla vpravována tak dlouho, dokud nebyl cítit odpor. Poté byla inseminační dávka pro jeden vaječník (50 μ l) aplikována a jehla pomalu vytažena. To samé se provedlo i druhým vaječníkem (Mattson et al. 2007).

Další pokus o inseminaci provedl (Oliveri et al. 2018), který inseminoval více druhů hadů (*Pantherophis guttatus*, *Corallus hortulanus*, *Sanzinia madagascariensis* a *Hydrodynastes gigas*). Rozdíl oproti předchozí metodě je, že zde byly použity endoskopické metody při inseminaci, pro lepší orientaci uvnitř kloaky. Podle velikosti těla hada, byl zvolen endoskopický aparát. Pro *Pantherophis guttatus* a *Hydrodynastes gigas* byl použit uretroskop a pro *Corallus hortulanus* a *Sanzinia madagascariensis*, se zvolil artroskopický teleskop. Endoskop byl zasunut do kloaky po 2-3 cm a poté opět vytažen ven, k prozkoumání kloakálních struktur.

S uretroskopem byl použit také solný roztok, k uvolnění urodea, aby byl umožněn snadný přístup k vaginálnímu váčku a katetrem, zavedeným přes pracovní kanálek v uretroskopu, dopravena inseminační dávka do vaječníku. To samé opakované na druhém vaječníku.

Při použití artroskopu bylo využito vzduchu k rozevření kloaky a uvolnění svalového napětí. Tento bohužel nedisponuje pracovním kanálkem, intravenózní katetr byl tedy manuálně vložen do kloaky a posunoval se vaječníkem, než dosáhl vaginálního

váčku, kde byla inseminační dávka aplikována. Opět to stejné bylo provedeno ve druhém vaječníku.

Samice nevykazovaly žádné známky stresu nebo bolesti při inseminaci, tudíž sedace nebo uspání zvířat není nutné.

Při obou technikách byla na katetr připojena injekční stříkačka s připravenou inseminační dávkou.

3.4.7 Výsledky inseminace

U metody, kterou popsal (Oliveri et al. 2018), se umělá inseminace podařila pouze u dvou druhů. Dvě ze tří samic *P. guttatus* vykladly, po dvou měsících od inseminace 14 a 16 vajec, což je u tohoto druhu průměrná hodnota. Všechna vejce byla oplozená a líhla se po dvou měsících inkubace. Samice *Crotallus hortulanus* vykladla po čtyřech měsících 7 vajec, ze kterých bylo 5 neoplozených a 2 vejce byla zdravá (podle zkušeností autorů, u tohoto druhu je počet vajec velice variabilní, 4-14 se považuje za normální rozsah). U *H. gigas* a *S. madagascariensis* nevyvolala umělá inseminace snůšku.

(Mattson et al. 2007) uvádí, že pouze 3 samice z 10 vykladla vejce, přičemž 2 snůšky ze 3 byly z chlazeného spermatu. Z celkového množství 51 vajec se vylíhlo pouze 10 mlád'at, z nichž bylo 5 při použití čerstvého semene a 5 při použití semene chlazeného a skladovaného 3 dny, při teplotě 4-10 °C (viz tabulka 4).

Tabulka 6: Analýza semene inseminovaného jednou každé ze samic jeden týden po hibernaci

Female	Male	Semen type	Motility (%)	RFP ^a	Concentration (sperm/mL) × 10 ⁶	Eggs laid	Eggs hatched
15313	15312	Fresh	88.9	4.5	3.4	0	0
15314	15312	Fresh	88.9	4.5	3.4	0	0
15315	15312	Fresh	91.9	4	5.5	0	0
15316	15312	Fresh	95	4.5	18	0	0
15317	15312	Fresh	95	4.5	18	15	5
15318	15311	Cooled	95	4.5	5.6	0	0
15319	15312	Cooled	72.6	4.5	2.5	23	0
15320	15311	Cooled	95	3	13.5	0	0
15321	15311	Cooled	95	4.5	5.6	13	5
15322	15312	Cooled	70.4	4	3.5	0	0

^aRFP, rate of forward progression (0 = no movement to 5 = fast forward progression).|

Další metodou, kterou pospal opět (Mattson et al. 2007) bylo inseminování deseti samic první a následně i druhý týden, po ukončení hibernace (viz tabulka 5).

Tabulka 7: Analýza semene inseminovaného dvakrát každé ze samic 1 a 2 týdny po hibernaci

Female	Semen type	Insemination on April 6, 2006			Insemination on April 14, 2006			Eggs laid	Eggs viable
		Motility (%)	Concentration (sperm/ml)	RFP	Motility (%)	Concentration (sperm/ml) $\times 10^6$	RFP		
15313	Fresh	63	12×10^6	3.5	75.7	35	4	0	0
15314	Cooled	22	19×10^6	2.5	74.2	3.5	4	0	0
15315	Cooled	22	19×10^6	2.5	74.2	3.5	4	0	0
15316	Fresh	63	12×10^6	3.5	75.7	35	4	16	14
15317	Fresh	63	12×10^6	3.5	75.7	35	4	0	0
15318	Cooled	22	19×10^6	2.5	74.2	3.5	4	31	25
15319	Fresh	63	12×10^6	3.5	75.7	35	4	0	0
15320	Fresh	63	12×10^6	3.5	75.7	35	4	0	0
15321	Cooled	22	19×10^6	2.5	74.2	3.5	4	16	15
15322	Cooled	22	19×10^6	2.5	74.2	3.5	4	0	0

^aFemales were inseminated each time with either fresh or cooled semen from the same male. RFP, rate of forward progression.

3.5 Poruchy plodnosti

3.5.1 Předčasné připouštění

V podmínkách při chovu v zajetí je běžné, že hadi projevují svůj sexuální zájem již na konci svého prvního roku stáří. Při předčasném páření se kvalita snášky většinou snižuje (neoplozená a deformovaná vejce, malformované plody). V ohrožení nejsou pouze mláďata, ale také samice, protože velký počet neoplozených vajec a vyčerpání způsobují vznik dystokie (narušení porodu mechanickým vlivem). I když samice vejce vyklade, je zde stále nebezpečí celkového zhroucení organismu (Knotek et al. 1999).

3.5.2 Pseudogavidita

Zpočátku jde o normální průběh gravidity, jenže v polovině nebo i v poslední třetině je vidět změna chování samice. Po veterinárním vyšetření se ukáže, že samice těhotná není. Příčinou může být vstřebání neoplozených vajec (Knotek et al. 1999).

3.5.3 Přerušení porodu

Objevuje se u živorodých druhů, když jsou samice u porodu rušeny nebo při vyčerpání. Řeší se aplikací dávky oxytocinu (Knotek et al. 1999).

3.5.4 Zadržení snůšky

Stres, infekce a poruchy metabolismu jsou hlavními příčinami zadržení snůšky.

U stresu je to především absence místa k vykladení vajec, samice pak v sobě vejce buď zadrží nebo je vyklade na nevhodné místo a vejce se tím zničí. Na tomto problému se podílí i několik dalších stresujících faktorů, jako je špatná fotoperioda, časté rušení a manipulace se zvířaty, souboje samic nebo přítomnost agresivního samce. Často je to kombinací několika faktorů. Nejlepší variantou je, když jde tento stav upravit pouze provedením chovatelských opatření. Při horších stavech se tyto problémy řeší dodáním energie a iontů nebo hormonální stimulací.

Z poruch metabolismu, které přispívají tomuto onemocnění, je to především karence vápníku a změna poměru Ca:P (1,5-1:1) ku prospěchu fosforu.

Z infekčních onemocnění jsou to většinou bakteriální infekce, které stojí za příčinou zadržení snůšky a u samic z importu je třeba zkontrolovat možné parazitózy (Knotek 1999).

3.5.4.1 Klinické příznaky

Na počátku jsou samice velmi neklidné, často močí a zvedají ocas. Později jsou ze zvýšené aktivity vyčerpané a přestávají se pohybovat. V některých případech pozorujeme zvýšenou žíznivost (Knotek 1999).

3.5.4.2 Diagnostika

Na základě anamnézy, klinického vyšetření stavu přítomnosti vajec nebo plodů, rentgenem nebo sonografií (Knotek 1999).

3.5.4.3 *Terapie*

U přerušení snůšky se může aplikovat vápník a koupel ve vlažné vodě. Možná je i jemná masáž ke kloace. Parafinovým olejem se mohou zvlhčovat porodní cesty (Knotek 1999).

Když je to více než 12 hodin od vykladení posledního vejce, masírovat se nesmí. Mohlo by dojít k výhřezu kloaky. Při této variantě se vajíčka propíchnou a vysají. Zbytek skořápky jde pak jednoduše vyjmout

Pokud jsou vejce přenášena několik dní, je nutné zvolit chirurgický zákrok (Knotek 1999).

4. Závěr

Z výsledků pokusů prováděných různými autory bylo prokázáno, že umělá inseminace hadů je proveditelná, ale je zapotřebí dalšího výzkumu v této oblasti, aby bylo možné použít tuto metodu v záchranných programech pro ohrožené druhy a tím udržení biodiverzity.

Využít by se tato metoda dala také v oblasti chovu a šlechtění hadů. Celý proces (odběr, skladování, vyšetření, inseminace) je méně nákladný, protože nejsou zapotřebí speciální metody pro průběh inseminace, nežli zakoupení chovatelem zvolené barevné mutace, které se nezdá pohybuje i v řádech desetitisíců.

Inseminovat bylo možné i za použití chlazeného spermatu, které bylo dle výsledků životaschopné i po čtyřech dnech skladování o teplotě 4 °C.

V práci byl vytvořen literární přehled o rozmnožování hadů, jak v zajetí, tak v přírodě a další kapitoly, nutné k pochopení reprodukce hadů.

Na tuto práci by mohla navázat diplomová práce, která by se zaměřila již na inseminaci samotnou a její aplikaci do praxe.

Přílohy

Seznam příloh:

1. Aldridge RD, Sever DM. 2016. Reproductive biology and phylogeny of snakes. CRC Press, Boca Raton.
2. Blackburn DG. 1985. Evolutionary origins of viviparity in the Reptilia. II. Serpentes, Amphisbaenia and Ichthyosauria. *Amphib.-Reptil* **6**: 259-291.
3. Blackburn DG. 1999. Viviparity and oviparity: evolution and reproductive strategies. Pages 994-1003 in Knobil E, editor. *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press, San Diego.
4. Bonnet X, Naulleau G, Shine R, Lourdaï O. 2001 Short-term versus long-term effects of food intake on reproductive output in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos* **92**: 297-308.
5. Bruins E. 1999. *Encyklopedie teraristika*. Rebo International, Nizozemsko
6. Bruyndonckx H. 1984. REFRIGERATOR HIBERNATION. *Litteratura Serpentium A*, 146-148.
7. Bull KH, Mason RT, Whittier J. 1997. Seasonal testicular development and sperm storage in tropical and subtropical populations of the brown tree snake (*Boiga irregularis*). *Australian Journal of Zoology* **45(5)**: 479-488.
8. Edwards A, Jones SM. 2001. Changes in plasma progesterone, estrogen and testosterone concentrations throughout the reproductive cycle in female viviparous Blue-tongued skinks, *Tiliqua nigrolutea* (cincidae), in Tasmania. *Gen Comp Endocrinol* **122**: 260-269.
9. Fahrig BM, Mitchell MA, Eilts BE, Paccamonti DL. 2007. Characterization and cooled storage of semen from corn snakes (*Elaphe guttata*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **38(1)**: 7-12.
10. Fitch H. 1960. Criteria for determining sex and breeding maturity in snakes. *Herpetologica* **16**: 49-51.
11. Fox W. 1956. Seminal receptacles of snakes. *The Anatomical Record* **124(3)**: 519-539.
12. Greene HW. 1997. *Snakes. The evolution of mystery in nature*. University of California Press, Berkeley.

13. Hoffman LH, Wimsatt WA. 1972. Histochemical and electron microscopic observations on the sperm receptacles in the garter snake oviduct. *Developmental Dynamics* **134(1)**: 71-95.
14. Houston DL, Shine R. 1993. Sexual dimorphism and niche divergence: feeding habits of the arafura filesnake. *Journal of Animal Ecology* **62**: 737-749.
15. Jacobson ER. 2007. Overview of reptile biology, anatomy, and histology. Pages 1-130 in *Infectious diseases and pathology of reptiles*. CRC Press, Boca Raton.
16. Jintakune P. 2000. Methods for Study and Identify Snakes. Pages 43-52 in Jintakune P, Chanhom L, editors. *Venomous snakes in Thailand*. Prachachon, Bangkok.
17. Knotek Z. 1999. *Nemoci plazů. Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat*, Brno.
18. Kocourek I. 2000. *Nejedovatí hadi v přírodě a teráriích*. Ratio, Vimperk.
19. Langlada FG, Laporta-Ferreira IL, Santos S. 1991. Atividade esperma'tica de *Crotalus durissus* e a capacidade de fecundac-a~o. *Anais da Academia Brasileira de Cie^ncia* **63**:427.
20. Licht P. 1974. Endocrinology of reptilian – the pituitary systém. *Chem Zool.* **9**: 399-488
21. Lillywhite HB. 2014. *How snakes work: structure, function and behavior of the world's snakes*. Oxford University Press, New York.
22. Madsen T, Shine R. 2002 Short and chubby or long and thin? Food intake, growth and body condition in free-ranging pythons. *Aust. Ecol.* **27**: 672-680
23. Mattson KJ, De Vries A, McGuire SM, Krebs J, Louis EE, Loskutoff N M. 2007. Successful artificial insemination in the corn snake, *Elaphe gutatta*, using fresh and cooled semen. *Zoo biology* **26(5)**: 363-369.
24. McDowell SB. 1987. Systematics. Pages 1,3-50 in Seigel RA, Collins JT, Novak SS, editors. *Snakes: ecology and evolutionary biology*. Macmillan, New York
25. Mengden AG, Platz CG, Hubbard R, Quinn H. 1980. Semen collection, freezing and artificial insemination in snakes. Pages 8-71 in Murphy JB, Collins JT, editors. *Contributions to herpetology reproductive biology and diseases of captive reptiles*. St. Louis University, St. Louis.

26. Murphy JB, Armstrong BL. 1978. Maintenance of rattlesnakes in captivity. Natural History Museum, Kansas.
27. Neill WT. 1964. Viviparity in snakes: some ecological and zoogeographical considerations. *The American Naturalist* **98(898)**: 35-55.
28. Oliveri M, Bartoskova A, Spadola F, Morici M, di Giuseppe M, Knotek Z. 2018. Method of Semen Collection and Artificial Insemination in Snakes. *Journal of Exotic Pet Medicine* DOI: 10.1053/j.jepm.2018.02.034
29. Perkins MJ, Palmer BD. 1996. Histology and functional morphology of the oviduct of an oviparous snake, *Diadophis punctatus*. *Journal of Morphology* **227(1)**: 67-79.
30. Quinn H, Blasedel T, Platz CC. 1989. Successful artificial insemination in the checkered garter snake (*Thamnophis marcianus*). *Int Zoo Yearb* **28**: 177-83.
31. Rahn H. 1940. Sperm viability in the uterus of the garter snake, *Thamnophis*. *Copeia* **1940(2)**: 109-115.
32. Sever DM, Ryan TJ. 1999. Ultrastructure of the reproductive system of the black swamp snake (*Seminatrix pygaea*): Part I. Evidence for oviducal sperm storage. *Journal of Morphology* **241(1)**: 1-18.
33. Shine R. 1985. The evolution of viviparity in reptiles: an ecological analysis. *Biology of the Reptilia* **15**: 605-694.
34. Shine R. 1994. Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia* **1994**: 326-346.
35. Shine R, Bonnet X. 2000. Snakes: a new 'model organism' in ecological research? *Trends Ecol. Evol* **15**: 221-222.
36. Shine R. (2003). Reproductive strategies in snakes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **270(1519)**: 995-1004.
37. Schuett GW, Harlow HJ, Rose JD, Van Kirk EA, Murdoch WJ. 1997. Annual cycle of plasma testosterone in male copperheads, *Agkistrodon contortrix* (Serpentes, Viperidae): relationship to timing of spermatogenesis, mating, and agonistic behavior. *General and Comparative Endocrinology* **105(3)**: 417-424.
38. Silva AC, Varela Junior AS, Cardoso TF, Silva EF, Loebmann D, Corcini CD. 2017. Evaluation of sperm quality of *Erythrolamprus poecilogyrus sublineatus*. *Brazilian Journal of Biology* **77(3)**: 553-557.

39. Stahl JS. 2006. Introduction to cloacoscopy in snakes. Pages 7-11 in Proc Abstracts The North American Veterinary Conference
40. Stewart JR, Blackburn DG. 1988. Reptilian placentation: structural diversity and terminology. *Copeia* **1988**: 839-852.
41. Vasaruchapong T. 2014. Snake Reproductive System. *Thai Journal of Veterinary Medicine* **44**: 89-91.
42. Vegner I. 2013. Úvod do teraristiky. *TERAmagazín* **4**:32-35
43. Vitt LJ, Caldwell JP. 2013. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic press, Boston.
44. Zacariotti RL, Grego KF, Fernandes W, Sant'Anna SS, de Barros Vaz Guimarães MA. 2007. Semen collection and evaluation in free-ranging Brazilian rattlesnakes (*Crotalus durissus terrificus*). *Zoo biology* **26(2)**: 155-160.
45. Zimmerman DM, Mitchell MA, Perry BH. 2013. Collection and characterization of semen from green iguanas (*Iguana iguana*). *American journal of veterinary research* **74(12)**: 1536-1541.

46. Příloha 1: