

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chovu hospodářských zvířat**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Metody umělé inseminace využívané v chovu prasat**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Barbora Motyčková**

**Chovatelství**

**Vedoucí práce: Ing. Kateřina Zadinová, Ph.D.**

**© 2020 ČZU v Praze**

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Metody umělé inseminace využívané v chovu prasat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 1.7.2020

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Kateřině Zadinové, Ph.D., která byla vedoucí mé práce, za její pomoc, vstřícnost, věnovaný čas, rady a odborné vedení při zpracování této bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu, kterou mi poskytovali po celou dobu mého studia.

# Metody umělé inseminace využívané v chovu prasat

## Souhrn

Cílem bakalářské práce bylo prostudovat odborné a vědecké publikace týkající se vývoje a metod umělé inseminace v chovu prasnic, včetně tvorby a využití inseminačních dávek a vypracovat literární přehled o možnostech a metodách umělé inseminace v chovu prasat.

Bakalářská práce se zaměřuje na popsání reprodukčního aparátu a pohlavní soustavy prasnic včetně definování pohlavních cyklů, říje a ovulace a jejich indukce, pohlavní dospělosti a první zapouštění prasniček. Dále se práce zabývá plodností kanců, jejich výběrem k plemenitbě, odběrem, hodnocením, ředěním a konzervováním spermatu. Poslední část se věnuje umělé inseminaci, její historii a používaným metodám se stručným shrnutím některých výsledků z různých studií a nastíněním vhodnosti použití každé metody. Mezi zmiňované metody patří standardní cervikální inseminace, postcervikální inseminace, intrauterinní inseminace a intaoviduktální inseminace. Postcervikální inseminace patří k nejvíce používaným metodám v komerčních chovech a v podstatě tam zcela nahradila klasickou cervikální inseminaci. U intrauterinní inseminace a intraoviduktální inseminace lze sice snížit objem inseminační dávky a počet spermií potřebných k oplodnění, ale vysoké náklady a obtíže spojené s těmito metodami je tak stále ponechávají spíše jako metody vhodné pro použití biotechnologií, jako je inseminace zmrazeným a rozmrazeným spermatem nebo sexovaným spermatem. Na základě poznatků získaných při zpracování této práce bylo navrženo tyto okruhy dalšího výzkumu, které mohou pomoci při zlepšení reprodukčních postupů v chovu prasat: zvýšení přežitelnosti spermií v ID, tvorby vhodných ředidel a metody zmrazování kančího spermatu.

**Klíčová slova:** umělá inseminace, inseminační dávka, prasnice, kanec

# **Artificial insemination methods in pig breeding**

## **Summary**

The aim of this bachelor thesis was to study academic and scientific publications focused on the development and methods of artificial insemination used in swine breeding, including the production and utilization of insemination doses. The thesis reviews and analyses literature about the possibilities and methods of artificial sow insemination.

First, the bachelor thesis describes the reproductive system of swine and analyses their sexual cycles, rut and ovulation, their induction, sexual maturity and the first insemination of gilts. Furthermore, the study explores fertility of hogs, their breeding selection and the extraction, evaluation, dilution and conservation of their sperm. Last but not least, the thesis concentrates on artificial insemination - its history and most utilized methods. The methods are evaluated based on their suitability and the paper offers a summary of the findings of relevant academic studies. The examined methods include standard cervical insemination, post-cervical insemination, intrauterine insemination and oviductal insemination. The post-cervical insemination represents one of the most frequently used methods in commercial breeding, where it has practically substituted the standard cervical insemination. Even though the intrauterine and oviductal inseminations offer the possibility of reducing the insemination dose and the amount of sperm necessary for fertilization, their higher cost and related difficulties make them mostly a viable option for biotechnical procedures such as insemination with frozen/thawed or sexed semen. Building on the findings of this bachelor thesis, the following areas for further research which could help improve the reproductive methods used in pig breeding have been identified: the increase of survivability of sperm in insemination doses, production of suitable diluters and methods of boar semen freezing.

**Keywords:** artificial insemination, insemination dose, sow, boar

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>8</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>10</b>
<b>3 Reprodukce prasat.....</b>	<b>11</b>
<b>4 Reprodukční aparát a pohlavní soustava prasnic.....</b>	<b>11</b>
4.1 Vaječník.....	111
4.2 Vejcovod.....	12
4.3 Děloha.....	12
4.4 Pochva (vagina).....	13
4.5 Vulva.....	13
<b>5 Pohlavní cyklus - říje - ovulace.....</b>	<b>14</b>
5.1 Říje (estrus).....	14
5.1.1 Proestrus – předříjová fáze.....	14
5.1.2 Estrus – říje.....	15
5.1.3 Metestrus – poříjová fáze.....	15
5.1.4 Diestrus – meziříjová fáze.....	15
5.2 Ovulace.....	16
<b>6 Pohlavní dospělost a první zapouštění prasniček.....</b>	<b>16</b>
<b>7 Plodnost kanců.....</b>	<b>17</b>
7.1 Pohlavní dospělost kanců.....	17
7.2 Pohlavní potence kanců.....	17
7.3 Výběr kanců k plemenitbě.....	18
7.4 Nácvik kanců na fantom.....	18
7.5 Odběr spermatu.....	18
7.6 Ejakulát kance, složení a produkce.....	20
7.7 Hodnocení spermatu.....	22
7.8 Ředění a konzervace spermatu.....	23
<b>8 Indukce říje a ovulace.....</b>	<b>25</b>
8.1 Hormony používané k řízení ovulace.....	26
8.1.1 GnRH analogy.....	26
8.1.2 hCG (Human choronic gonadotrophin).....	27
8.1.3 LH (Luteinizing hormone).....	27
<b>9 Význam a historie inseminace prasat.....</b>	<b>27</b>

<b>10 Inseminace.....</b>	<b>28</b>
10.1 Standardní inseminace.....	30
10.2 Postcervikální inseminace (PCAI).....	30
10.2.1 Metoda Dp-CAI (hluboko-krčková inseminace).....	32
10.2.2 Kombinace PCAI a fixní čas inseminace.....	32
10.2.3 Kryokonzervace a PCAI.....	33
10.3 Hluboká nitroděložní inseminace (DUI).....	33
10.4 Intraovidukální inseminace.....	34
<b>11 Sexace.....</b>	<b>35</b>
<b>12 Embryoztransfer (ETS).....</b>	<b>36</b>
<b>13 Účinnost inseminace.....</b>	<b>37</b>
<b>14 Závěr.....</b>	<b>38</b>
<b>15 Literatura.....</b>	<b>39</b>
<b>16 Seznam použitých zkratk a symbolů.....</b>	<b>42</b>

# 1 Úvod

Moderní a intenzivní chov prasat má v České republice dlouholetou tradici a patří ke stabilním úsekům živočišné výroby (Stupka et al. 2013). Chovné cíle u prasat se zaměřují na uniformitu kvality masa s důrazem na reprodukční výkonnost zvířat (Louda et al. 2002). Neopomenutelný je také jeho význam jako odbytiště značné části vyprodukovaných obilovin, čímž se do značné míry podílí na celkovém rozměru a stabilitě zemědělského sektoru (Stupka et al. 2013).

V České republice se pohybuje průměrný stav prasat na úrovni 1,5 milionů kusů, přičemž stavy prasníc dosahují nejčasněji osmiprocentního podílu (90 – 10 tisíc) (zdroj: <http://www.akcr.cz/txt/soupis-hospodarskych-zvirat-k-1-4-2019>). Ve vztahu k dosahované užitkovosti patří prasata mezi nejvýkonnější hospodářská zvířata. Je to dáno zejména vysokou schopností syntézy proteinů a tukových rezerv v těle, což se projevuje značnou intenzitou růstu. K dalším příznivým vlastnostem prasat patří ranost, vysoká plodnost, mléčnost, krátké období březosti a příznivá jatečná výtěžnost (Stupka et al. 2013). Počet odchovaných selat, nebo prodaných selat na prasnici za rok, je ukazatelem míry produktivity prasnice s významem pro rentabilitu chovu. V současné době můžeme považovat dosažení 2 - 2,4 vrhů a odstav 24 - 28 selat za rok od prasnice za běžně dosahovanou úroveň reprodukční výkonnosti u prasníc v našich chovech. Tato výkonnost je však ještě stále nižší než je biologický potenciál, který se odhaduje až na 40 selat a více. Rozvoj biotechnických metod zaměřených na řízení reprodukčního procesu u prasat vytváří předpoklad pro postupné snižování rozdílu mezi skutečností a potenciálem plodnosti (Louda et al. 2002).

Deponování spermií do samičího genitálního traktu pomocí umělé inseminace (AI) je nejstarší šlechtitelskou technologií používanou u domácích hospodářských zvířat. Kromě toho, navzdory době, zůstává AI nejrozšířenější šlechtitelskou technologií používanou za komerčních podmínek u hospodářských zvířat (Roca et al. 2006). Umělá inseminace u prasat ve srovnání s přirozenou plemenitbou má několik výhod, jako je snížení nákladů na transport a chov kance, kontrola nemocí, zvýšení kvality chovného materiálu, zvýšení míry porodnosti a velikosti vrhu (Arokai et al. 2016). Protože se však komerční zájem nyní zaměřuje na nové biotechnologie, jako je umělá inseminace se spermiemi tříděnými podle pohlaví (sexace) a transgenními spermatickými buňkami, diskuse se znovu zaměřila na to, jaká by mohla být optimální koncentrace spermií pro AI. Testování je komplikováno skutečností, že jak pro úspěšnost AI prasníc, tak pro faktory jako je březost i velikost vrhu, jsou nezbytně nutné poměrně velké dávky spermatu, protože kanci jsou „intrauterinními inseminátory“. Jejich obvyklý objem ejakulátu je mnohem větší než u přežvýkavců a jejich ejakulát je méně koncentrovaný. Prasnice je multiparní zvíře s dlouhými děložními rohy a spermie cestují daleko od místa inseminace k ampuli vejcovodu setkat se s oocyty (Rath 2002).

Inseminace prasat je prováděna především dodavatelským způsobem, kdy si chovatel objednává a kupuje inseminační dávky a inseminaci plemenic si zajišťuje sám nebo podnikovým způsobem, kdy se v podniku produkuje inseminační dávky pro inseminaci vlastních stád a v malé míře servisním způsobem, kdy si chovatel objednává provedení



inseminace za úhradu. V ČR převažuje dodavatelský způsob nad podnikovou formou a provádí se inseminace v celém stádě (Louda et al. 2002).

AI je v chovu prasat široce využívána a je nástrojem pro globální zlepšení plodnosti, genetiky a zdraví stáda (Arokai et al. 2016). V komerčních chovech v České republice je převažující metodou, proto zásadně ovlivňuje ekonomiku chovu. Zjednodušení AI a zvýšení její účinnosti je proto zásadním nástrojem chovu prasat.

## **2 Cíl práce**

Cílem práce bylo zpracovat ucelený literární přehled o možnostech, využití a používaných metodách umělé inseminace v chovu prasat.

### 3 Reprodukce prasat

Efektivní produkci živočišných produktů doprovází adekvátní úroveň reprodukce daného druhu hospodářských zvířat. To se týká hlavně chovu prasat, kde počet odchovaných selat připadajících na prasnici za sledovanou časovou jednotku (obvykle 1 rok) je jedním ze základních ukazatelů ekonomiky produkce jatečných prasat. Počet narozených selat, ale zejména počet odchovaných na prasnici za rok, je mezinárodně uznávaným měřítkem reprodukční výkonnosti stáda prasnic s ekonomickým významem (Říha et al. 2001). K 31.12.2019 se na jednu prasnici narodilo 32,4 selat za rok a odchovalo 28,9. Úhyn selat z počtu všech narozených činil 11 % (SCHPČM 2020).

### 4 Reprodukční aparát a pohlavní soustava prasnic

K reprodukčním orgánům samice patří párové vaječníky a vejcovody, dále děloha, pochva a vulva (Reece 2010). Souhrnně jsou tyto struktury podporovány širokým vazem a visí volně zavěšené pod konečником v pánevním kanálu v dolní dutině břišní. Skrz tuto velkou tkáň vede spousta cév a nervů, aby byl reprodukční trakt dostatečně zásoben krví, hormony a nervovými stimuly (SwineReproNet, 2003).

Samičí pohlavní orgány se rozdělují na vnitřní, tj. vaječník, vejcovod, dělohu a pochvu, a zevní, k nimž patří poševní předsíň, vulva a poštváček (Marvan et al. 2007).

#### 4.1 Vaječník

Vaječník (*ovarium*) je párová samičí pohlavní žláza, v níž se tvoří samičí pohlavní buňky – vajíčka a pohlavní hormony – estrogeny a progesteron. Je to kompaktní orgán šedorůžové barvy a tuhoelastické konzistence, uložený v kaudální části břišní dutiny, při vstupu do dutiny pánevní (Marvan et al. 2007). Vaječníky jsou zavěšeny na vlastním okruží (*mesovarium*) v dutině břišní za pravou a levou ledvinou. *Mesovarium* je část širokého závěsného vazů dělohy, což je společný název pro okruží vejcovodů (*mesosalpinx*) a vaz děložní (*mesotrium*) (Říha et al. 2001).

U prasnice má vaječník v důsledku většího počtu vystupujících folikulů a žlutých tělísek hrbatý povrch, u mladých samic se podobá malině. U starších prasnic je větší, tvaru protáhlého hroznu, o délce 4 - 5 cm a hmotnosti 10 - 15 g (Marvan et al. 2007). Vaječník je zvláště citlivý na důležité hormony, které jsou uvolňovány z jiných orgánů, zejména z hypofýzy. Hypofýza je umístěna blízko základny mozku a je zdrojem folikuly stimulujícího hormonu (FSH) a luteinizačního hormonu (LH). Právě tyto dva hormony jsou zodpovědné za iniciaci a stimulaci vaječníku, aby se stal aktivním a zahájil reprodukci (SwineReproNet, 2003).



Obrázek 1 Vaječník prasnice (Reece 2011)

## 4.2 Vejcovod

Vejcovod (*tuba uterina*) je párová svalová a slizniční trubička tloušťky stěbla, dlouhá u prasnice 15 – úšůgdé) y30 cm. Slouží k zachycení ovulované vaječné buňky a k jejímu přemístění do dělohy. V počátečním úseku vejcovodu dochází k dokončení vývoje vaječné buňky a jejímu oplození. Vejcovod má silně zvlněný a klikatý průběh a je zavěšen na vejcovodovém okruží. Stěna vejcovodu se skládá ze sliznice, svaloviny a pobřišnice. Působením vaječnickových hormonů prodělává sliznice vejcovodu v průběhu pohlavního cyklu samice opakované změny, souborně označované jako vejcovodový – tubární cyklus. Svými rytmickými stahy spolu s kmitáním řasinek zajišťuje přesun vaječné buňky do dělohy (Marvan et al. 2007).

## 4.3 Děloha

Děloha (*uterus*) je silnostěnný dutý orgán, sloužící k vývoji nového jedince z oplozeného vajíčka až do narození mláďete (Marvan et al. 2007). Charakteristickým rysem dělohy je její interspecifická variabilní morfologie (García-Vázquez et al. 2019). Přes některé druhové odlišnosti ve svém utváření se skládá děloha hospodářských zvířat ze tří základních částí. Je to kaudálně umístěný děložní krček, který dopředu přechází v děložní tělo, na něž kraniálně navazují dva děložní rohy (Marvan et al. 2007).

Na rozdíl od těla dělohy a děložních rohů, děložní krček nehraje žádnou roli v placentaci, ale je zodpovědný za jiné, stejně důležité funkce v reprodukci, jako je mikrobiologická izolace děložní dutiny a působí jako filtrační bariéra z vnějšího prostředí a jako selektivní bariéra pro spermie. Během březosti udržuje plod v děloze a poté se dostatečně otevírá, aby umožnil průchod plodu v daném termínu porodu (García-Vázquez et al. 2019).

## 4.4 Pochva

Pochva (*vagina*) je přibližně 12 – 18 palců dlouhá a spojuje děložní hrdlo s vnějšími genitáliemi prasnice (SwineReproNet, 2003). Slouží pro příjem samčího penisu během kopulace. Je vystlána sliznicí krytou vrstevnatým dlaždicovým epitelem bez žláz. Kaudálně přechází pochva v poševní předsíň (*vestibulum vaginae*), která končí vnějším vyústěním. Předsíň je od pochvy oddělena příčnou prstencovitou řasou, která ztěžuje postup sondy při inseminaci, zvláště u mladých prasnic (Hovorka et al. 1987).

Na rozhraní mezi pochvou a poševní předsíní ústí krátká močová trubice samic (Říha et al. 2001). Hranice mezi pochvou a poševní předsíní je vytvořena u mladých samic, které se ještě nepářily, 1 – 3 mm vysokou tenkou a kruhově probíhající slizniční řasou, tzv. panenskou blánou (*hymen*). U starších samic *hymen* zachován není a zůstává po něm slabě naznačené jizvovité stažení sliznice. Z vnější strany je stěna poševní předsíně doplněna ještě vrstvou žíhané svaloviny vytvářející vůli ovladatelný svěrač předsíně (Marvan et al. 2007).

## 4.5 Vulva

Vulva, vateň – ochod je vstup do pohlavních cest samice a spolu s poštváčkem tvoří zevní části samičí pohlavní soustavy. Nachází se ventrálně od řitě, od níž je oddělena pomocí krátké hráze. Vulva se skládá ze dvou stydkých pysků, které ze stran ohraničují svisle postavenou stydkou štěrbinu. Ve ventrální spojce stydkých pysků se nachází poštváček (*clitoris*) jako vývojový zbytek po základu samčího pyje (Marvan et al. 2007).

Vulva je bohatě zásobena krevními cévami a u prasnic je často pozorováno, že vulva otéká a mění barvu v době, kdy se prasnice nachází v říji. Tento otok a změna barvy nejsou u prasnic zas tak zřejmé a změna barvy není pozorovatelná u prasnic s tmavou kůží (SwineReproNet, 2003).



Obrázek 2 Pohlavní soustava prasnice

(Zdroj: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=1752&typ=html](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1752&typ=html))

## 5 Pohlavní cyklus – říje – ovulace

Zatímco sperma kanců se tvoří nepřetržitě po dosažení pohlavní dospělosti a kanci se mohou kdykoliv připouštět, pohlavní činnost prasnic charakterizují pohlavní (ovariální) cykly (Říha et al. 2001). Vzhledem k tomu, že nejvýraznějším jevem v tomto procesu je u zvířat říje – estrus, tedy je projev zvýšeného pohlavního pudu, nazývá se pohlavní cyklus také jako říjový – estrický cyklus. Říjový cyklus je fyziologický děj, při němž se v celém organismu samice, především však v jejích pohlavních orgánech periodicky vytvářejí příznivé podmínky pro oplození vajíčka a pro vývoj zárodku a plodu (Marvan et al. 2007).

Řízení ovarialního cyklu zajišťuje kromě tzv. spouštěcích (releasing) hormonů hypofyzární hormony, hormony vaječníků a prostaglandiny produkované dělohou. Délka pohlavního cyklu u ne gravidních prasnic a dospělých prasniček kolísá. Délku cyklu 18 až 24 dnů považuje konvence za délku fyziologickou, pod 18 a nad 24 za délku nefyziologickou, spojenou s poruchou reprodukce (Říha et al. 2001).

## **5.1 Říje (estrus)**

Dle Belstra et al. (2007) je estrus definován jako období sexuální vnímavosti a ovulace, během kterého prasnice přijme kance a je schopna zabřeznout. Vyvrcholením říje je tzv. stádium ochoty, které je charakteristické reflexem nehybnosti, během kterého prasnice na tlak v bedrech reaguje obvykle absolutně nehybným postojem. Reflex nehybnosti zjišťuje buď chovatel tlakem v krajině bederní, nebo častěji za pomoci kance prubíře (Čechová 2015).

Podle Belstra et al. (2007) estrus u prasniček trvá 40 hodin a 55 hodin u prasnic. Reflexu stání předchází období v trvání asi 1 až 2 dny, ve kterém pozorujeme růst zarudnutí (překrvení) a zvětšení vulvy (ochodu). Tyto zevně pozorovatelné znaky vrcholí na počátku estru.

Dle Marvana et al. (2007) u většiny polyestických zvířat, mezi něž prasnice patří, trvá jeden říjový cyklus 21 dnů a podle morfologických a funkčních změn v celém organismu a zejména na pohlavních orgánech se dělí na 4 fáze: Proestrus – předříjová fáze, Estrus – říje, Metestrus – poříjová fáze, Diestrus – meziříjová fáze.

Estrální cyklus se skládá se z folikulární fáze 5 – 7 dnů a luteální fáze 13 – 15 dnů (Soede et al. 2011).

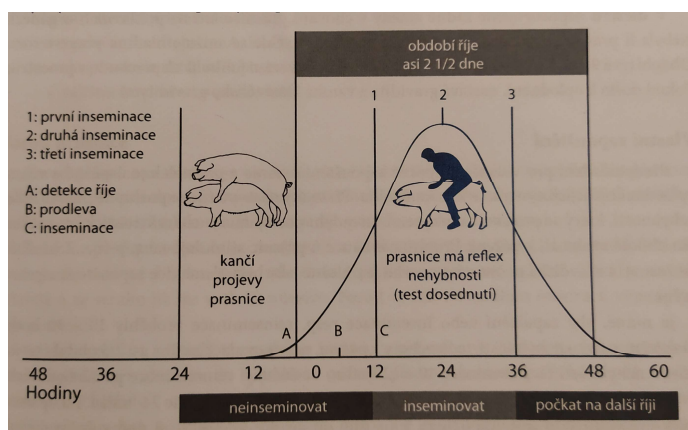
### **5.1.1 Proestrus – předříjová fáze**

Podle Říhy et al. (2001) prvé období trvá zpravidla 1 až 2 dny a vyznačuje se sníženým zájmem o krmivo, neklidem (těkavostí), obtěžováním ostatních zvířat (pokusy o vzeskok) ve společném kotci, nechutí k uléhání po nakrmení a k odpočinku, zarudnutím a zvětšením vulvy, odmítáním vzeskoku kance (krytí).

### **5.1.2 Estrus – říje**

Pro období estru, které u prasnic trvá v průměru 2 až 3 dny je charakteristické postupné zklidňování a návrat k příjmu krmiva a postupný úbytek změn na vulvě (Říha et al. 2001).

Prasnice v říji neodmítá skok kance a umožňuje provedení inseminace, která se používá ve velkochovech. Inseminace se u prasnic provádí za 10 až 12 hodin po zjištění reflexu nehybnosti a za dalších 10 až 12 hodin dochází k reinseminaci. U prasniček se inseminace provádí ihned po zjištění reflexu nehybnosti. Přibližně deset dní před zapuštěním je možné prasnicím zvýšit krmnou dávku oproti normované o 50 až 100 %, jedná se o tzv. flushing, který spočívá v krátkodobém překrmování (hyperalimentace) před říjí, ve které chceme prasnici zapustit. Cílem je zvýšit počet ovulovaných vajíček (Čechová 2015),



Obrázek 3 Projevy a křivka nástupu říje u prasnic (Stupka et al. 2013).

### 5.1.3 Metestrus – poříjová fáze

Metestrus je časné poovulační období. Místo ovulovaných folikulů se začínají vytvářet žlutá tělíska. Sliznice pohlavních orgánů se mění, překrvení ustává, vulva i krček dělohy se zmenšuje. Pokud došlo k oplození, udržují žlutá tělíska ve vaječniku luteotropní hormon (LTH), zároveň žlutá tělíska vylučují progesteron. Toto období trvá 7 dní (Stupka et al. 2013).

### 5.1.4 Diestrus – meziříjová fáze

V diestru nepozorujeme žádné změny v chování prasnice ani na pohlavních orgánech. Nebyla-li prasnice oplozena, žlutá tělíska zanikají. Rychle se snižuje hladina progesteronu. Období trvá 9 dní. Ke konci dochází k rychlému růstu a zrání folikulů a k přechodu v proestrus. Pokud došlo k oplodnění, nastává gravidita a vzniká žluté tělísko gravidity (Stupka et al. 2013).

## 5.2 Ovulace

Ovulace je posledním stupněm dlouhodobého komplexního procesu růstu a zrání folikulů. Primární folikuly se nacházejí již ve vaječnících narozených prasniček v množství 60 až 120 tisíc (Říha et al. 2001). Převážná většina těchto primárních folikulů se však dále nevyvíjí a podléhá zániku – atrezii. K atrezii primárních folikulů dochází v průběhu celého života samice, nejvíce však před pubertou a v období končící pohlavní aktivity. Přesto však zůstává ve vaječníku pohlavně dospělé samice mnohem větší množství folikulů, než může během celého jejího života dozrát. S nástupem puberty se jednotlivé primární folikuly začínají postupně zvětšovat a přeměňovat tak v rostoucí – sekundární folikuly a měchýřkovité folikuly. Zralý měchýřkovitý – terciální folikul (Graafův folikul) představuje poslední vývojové stádium vaječnickového vácku. Dosahuje velikosti 15 – 20 mm a polokulovitě prominuje nad povrch vaječníku (Marvan et al. 2007).

Při uvolnění z folikulu do vejcovodu je oocyt pokryt granulózními buňkami, které jej obklopovaly před ovulací. Takovýto buněčný obal je znám jako *corona radiata*. Oocyt s granulózními buňkami opustí folikul spolu s viskózní (želatinózní) tekutinou, která jej ve folikulu obklopuje. Při ovulaci je oocyt spolu s želatinózní tekutinou splaven do vejcovodu za pomoci pohyblivých třásní – fimbrií (Reece 2010).

Hned po ovulaci se tvoří v místě prasklého folikulu po ovulaci žlutá tělíska (*corpora lutea*) v počtu ovulací, která na vrcholu růstu (kolem 12. dne) dosahují velikosti 8 – 12 mm a navzdory označení „žlutá“ mají u prasnic barvu fialovou až fialově šedou. V případě zabřeznutí žlutá tělíska setrvávají na vaječnících, produkují hormon progesteron pro udržení březosti a označujeme je jako žlutá tělíska březosti (*corpora lutea graviditatis*) na rozdíl od žlutých tělísek, která po 12. dnu cyklu u negravidních plemenic postupně degenerují a nazývají se žlutá tělíska periodická (*corpora lutea periodica*) (Říha et al. 2001).

## 6 Pohlavní dospělost a první zapouštění prasniček

Pohlavní dospělost prasnice je podmíněna tvorbou oplození schopných vajíček při plnohodnotném pohlavním cyklu. Za plnohodnotný se považuje takový cyklus, při kterém jsou kromě oplození schopných vajíček připraveny i pohlavní orgány a cesty k páření. Děloha musí být schopna přijmout uvolněná vajíčka k zahnízdění a pohlavní reflexy a zvláště projevy říje jsou tak významné, že je možné normální páření (Hovorka et al. 1987).

U prasniček u nás chovaných plemen začíná pohlavní dospívání, tj. první příznaky pohlavních projevů, ve věku kolem 5 měsíců a v živé hmotnosti kolem 50 kg (Kozumplík & Kudláč 1980). Říha et al. (2001) říká, že prakticky všechny normální prasničky bez ohledu na plemennou příslušnost prodělávají minimálně jednu říji do věku 8 měsíců.

Zařazení prasniček do chovu se provádí na základě výběru. Důležitým kritériem pro zařazení prasničky do chovu je pořadí říje. Na první říji, která se u prasničky dostaví, není vhodné zapouštět z hlediska nízkého stupně zabřezávání a nízkého počtu narozených selat v 1.



vrhu. Za optimální dobu zapaštění prasničky se doporučuje 3. plnohodnotná říje, kdy je prasnička ve věku 210 - 230 dnů (7,5 - 8,5 měsíců) a její hmotnost by měla dosahovat 130 - 140 kg (Čechová 2015).

## **7 Plodnost kanců**

Plodnost kanců je schopnost vykonávat koitus a produkovat sperma do vysokého věku. Rozmnožovací schopnost zahrnuje vlastnosti jako je pohlavní dospělost, pohlavní potence a oplozovací schopnost. Oplozovací schopnost je vyjádřena počtem potomstva vyprodukovaného v průběhu jednoho roku (Stupka et al. 2013).

Plodnost kanců roste s věkem, nejvyšší je ve věku 18 – 30 měsíců. S tím souvisí i produkce spermatu, která rovněž s věkem roste. Tvorba spermií probíhá v Sertoliho buňkách ve varlatech nepřetržitě a za snížené teploty o 4 až 7°C nižší, než je tělesná teplota (Říha et al. 2001).

Bylo zjištěno, že věk kanců, denní přírůstky, obsah masa v jatečně upraveném těle, jakož i počet odběrů spermatu a interval mezi odběry byly zvláště významné pro efektivitu použití kanců (Tereszkiewicz & Pokrywka 2019).

### **7.1 Pohlavní dospělost kanců**

Pohlavní dospělost kanečků se projevuje činností inkretorických a exkretorických pohlavních žláz a schopností páření a viditelnými pohlavními sekundárními znaky, jakož i vytvářením pohlavních reflexů, charakteristických pro samčí pohlaví. Pohlavní dospělost je v úzkém vztahu s tělesným vývinem a stářím kanečků (Hovorka 1983).

### **7.2 Pohlavní potence kanců**

Hovorka (1983) tvrdí, že pohlavní potence samců je jisté kritérium pro schopnost k plemenitbě. Měřítka pro hodnocení pohlavní potence je možno vyjádřit těmito ukazateli:

- stupněm vyjádření libida, důsledností a tempem průběhu sexuálních reflexů. Ty jsou přímo měřitelné dobou předehty do ejakulace;
- počtem skoků (pohlavních aktů) za časovou jednotku při přibližně vyrovnané kvalitě a kvantitě ejakulátů.

Pohlavní potence je v přímém vztahu k sekrečním funkcím varlat, jakož od toho odvislé činnosti akcesorických pohlavních žláz a varlat.

### **7.3 Výběr kanců k plemenitbě**

Vzhledem k variabilitě vlastností kanců potřebných k plemenitbě je nezbytné kance před zařazením do plemenitby podrobit selekci (Pulkrábek et al. 2005). Při selekci neboli výběru kanců k plemenitbě si všímáme temperamentu (libida), fundamentu a vývinu varlat (1g varletního parenchymu produkuje denně 20 až 30 miliónů spermií v dospělém věku kance) (Říha et al. 2001). Varlata by měla být na pohmat pružná, kůže na nich pohyblivá a v jednom roce věku kance by měla mít výšku svislé osy nejméně 12cm. Měla být stejných rozměrů a symetricky uložena v šourku. Nejvyšší intenzitu růstu varlat zaznamenáváme mezi 120. a 150. dnem věku. *Libido sexualis* (úroveň sexuálního chování) by mělo být výrazné, krytí prasnice v říji bezproblémové, pevnost končetin a lokomoce bez vad, zaúhlení zadních končetin takové, aby nezpůsobilo pád z prasnice či fantomu po vzeskoku (Pulkrábek et al. 2005).

Při prvním krytí prasnice nebo při prvním odběru semene na fantomu zjistíme úroveň erekce, možnost a délku vysunutí pyje z předkožky a současně zkontrolujeme zevně předkožkový vak. Při druhém nebo třetím zachyceném odběru semene zkontrolujeme objem a kvalitu spermatu (Pulkrábek et al. 2005).

## 7.4 Nácvik kanců na fantom

K inseminaci získáváme semeno kanců odběrem na fantomu. S nácvikem na fantom začínáme po nákupu kance co nejdříve, nejlépe v prostředí, na které je kaneček zvyklý, a používáme k tomu přenosný fantom krytý nejlépe prasečí kůží se štětinami. Nedoporučuje se přítomnost ošetřovatele přímo v kotci, kde se nácvik provádí. Působí totiž pro kance rušivě. Teprve po vzeskoku kance na fantom a spuštění erekčních a frikčních (vyhledávacích) reflexů přistoupíme opatrně ke kanci a provedeme odběr semene (Pulkrábek et al. 2005).

První odběry semene provádíme zásadně manuální metodou, kterou jsme schopni vyhovět individuálním požadavkům kance pro ejakulaci, a kterou používáme plošně na inseminačních stanicích v ČR (Říha et al. 2003). Teprve po provedení cca 2 odběrů ejakulátu, kdy jsou fixovány podmíněné reflexy „na atrapu“ v kotci, je možné začít s vypracováním podmíněných reflexů „na místo“ (tzv. místnost na odběr spermatu) (Bažant 1988).

Větší problémy s nácvikem máme u kanečků s nízkou geneticky fixovanou úrovní libida a u kanečků dlouho izolovaných (individuálně ustájených) během odchovu, chybí u nich totiž zkušenost skoku získaná ze společného ustájení (Pulkrábek et al. 2005).

## 7.5 Odběr spermatu

Fantom pro odběr by měl mít pevnou konstrukci bez ostrých hran a měl by být umístěn v tiché místnosti určené pro odběr spermatu s neklouzavou podlahou (Maes et al. 2011).

Odběr spermatu provádíme v podstatě dvěma způsoby: pomocí umělých vagín, nebo jen rukou, tzv. metodou do ruky (Šmerha et al. 1980). Zásadní rozdíl mezi oběma metodami spočívá v tom, že manuální způsob vyžaduje účast technika odběru po celou dobu ejakulace,

kdežto při odběru do umělých vagín zachycených ve fantómu probíhá proces ejakulace bez přímé účasti technika (Louda et al. 2001).

Hlavní fyziologický požadavek pro ejakulaci u kance spočívá v zajištění tlaku na esovitě zakončení pyje. Tlak je zajišťován nejlépe rukou technika (Šmerha et al. 1980). Výhodou tohoto jednoduchého způsobu je možnost měnit sevřenou rukou tlak na zakončení pyje podle fyziologických požadavků kance, možnost kontroly průběhu ejakulace a eliminace prvé predspermiové frakce. Rovněž odpadají ztráty spermií ulpěním uvnitř umělé vagíny, jednoduchost metody, nenáročnost na pomůcky, jejich mytí a sterilizaci (Říha et al. 2003).

Při odběru ejakulátu na umělou vagínu se zajišťuje teplota ohřátou vodou na 39 až 42°C a tlak nahuštěním vzduchu mezi pevnou a elastickou (gumovou) vložkou přehnutou oběma konci přes okraj pevného zevního válce umělé vagíny (Říha et al. 2003).

Po ukončení ejakulace dochází u kance k ústupu ztopoření pyje, uvolní se fixační tlak, kanec seskakuje z fantomu a odběr je ukončen (Louda 1980). Před a při odběru spermatu klademe důraz na vhodné hygienické podmínky, aby se zabránilo zbytečnému mikrobiálnímu znečištění semene (Bažant 1988). Kance udržujeme v čistotě a před každým odběrem vyústění a okolí předkožky očistíme suchou nebo vlhkou utěrkou, případně i buničitou vatou (Říha et al. 2003). Ejakulace trvá 5 až 8 minut, ale může trvat až 15 minut. Odebírá se asi 100 až 300 ml spermatu (Maes et al. 2011)



*Obrázek 4 odběr ejakulátu kance*

*(Zdroj: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=87&typ=html](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=87&typ=html))*

## **7.6 Ejakulát kance, složení a produkce**

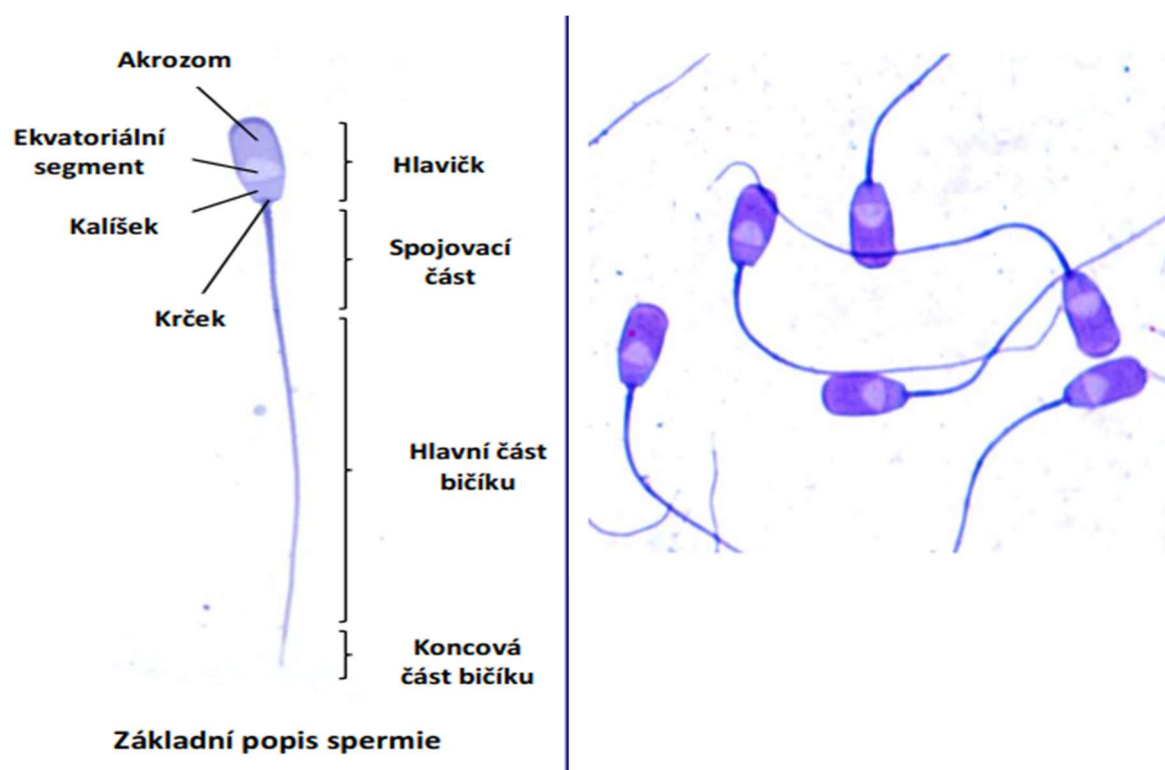
Pod pojmem ejakulát kance rozumíme celý produkt ejakulace. Objem ejakulátu u dvouletého kance se pohybuje v průměru kolem 300 ml. Ejakulát kance je charakteristický jednak velkým objemem, obsahem želatinózní části (cca 10 až 20 % z objemu), vysokým stupněm naředění sekretu nadvarlete (90 až 100×) a vysokým celkovým počtem spermií (Šmerha et al. 1980).

Kančí ejakulát se skládá ze spermií (3 až 7 % z objemu) a sekretů přídatných žláz, tj. Z plazmy semenné (93 až 97 %). Semennou plazmu v ejakulátu tvoří asi 3 % sekretu nadvarlat, 20 % sekretu váčků semenných, 15 % sekretu Cowperových žláz a 60 % sekretu prostaty a

uretrálních žlázek. U kanců velký objem ejakulátu (plazmy) slouží jako médium pro dopravu spermií při páření. Hlavní složkou semenné plazmy je voda (97 až 99 %) (Říha et al. 2003).

Sperma kance má frakci předpermiovou, spermatickou a pospermiovou. **Předpermiová frakce** je tvořena výměšky přídatných pohlavních žláz s nepatrným množstvím spermií; **spermatická frakce** má vysoký obsah spermií; **pospermiová frakce** je rosolovitá (sekret Cowperových žláz) a chudá na spermie (Kovář et al. 1973).

Spermie kance se podobá spermiím ostatních savců. Skládá se z hlavičky, střední (spojovací) části a vlastního bičíku s terminálním úsekem (Říha et al. 2003).



Obrázek 5 Spermie kance (Lipenský et al. 2014)

Denní produkce spermií kanců ve věku 10 měsíců se pohybuje v rozmezí 10 až 39 miliard. Tyto údaje slouží k selekci, resp. k výběru kanců vhodných k inseminaci. Jsou k dispozici údaje o tom, že kanci selektovaní na velikost varlat vyprodukovali o 15 miliard spermií v ejakulátu více než kontrolní neselektovaná skupina. Tento údaj je zajímavý pro oblast šlechtění. Navíc existuje pozitivní korelace hmotnosti varlat s *libidem sexualis*. Doba spermatogeneze je 45 dní, 10 až 12 dní probíhá průchod a zrání spermií v nadvarleti. Ejakulát s pohyblivými spermii získáme od kanců kulturních plemen ve věku 5 měsíců, k inseminaci je možné omezené použití od 8 měsíců věku kance, plné využití pak po dosažení 10 měsíců věku (Louda et al. 2001).

## 7.7 Hodnocení spermatu

Obecně existují čtyři základní parametry, které se měří pro hodnocení kvality kančího spermatu: koncentrace, pohyblivost, morfologie a integrita akrozomu. Z nich je možná nejčastěji používána koncentrace a pohyblivost pro třídění ejakulátů před zpracováním, protože vyžadují nejmenší množství času a jsou požadovány pro výpočet dávky spermatu/ejakulátu. Měření koncentrace spermatu nebo celkový počet spermií není součástí hodnocení kvality spermatu, ale spíše jako nástroj ke sledování zdravotního a produkčního výkonu a jako primární funkce při zpracování kančího ejakulátu pro optimalizaci genetického potenciálu jednotlivce (Rozeboom 2000).

Progresivní pohyb spermií je předpokladem pro vyhledání vajíčka a pro dopravu genetického materiálu k vajíčku, normálně utvářená akrozómová část s neporušeným penetračním materiálem je podmínkou pro realizaci vlastního oplozovacího procesu, tj. pro proniknutí spermie do vajíčka (Šmerha et al. 1980). Protože se pohyblivost spermatu během skladování snižuje, měly by být minimální míry pohyblivosti během počátečního hodnocení spermatu u plemenného kance vyšší než 60% (Rozeboom 2000). Pro hodnocení spermatu kanců se používá stejných nebo upravených metod používaných pro hodnocení spermatu býků, beranů, hřebců apod. Sperma se hodnotí makroskopicky a mikroskopicky (Louda et al. 2001).

Makroskopicky se hodnotí obsah cizích příměsí (krev, moč, hnis, částice steliva, štětiny a jiné nečistoty). Pach (vůně) spermatu poskytuje informace o použití ejakulátu k inseminaci a podává informaci o kvalitě odběru semene (Louda et al. 2001). Normálně ejakulující kanec musí mít značný objem (> 150 ml) a v závislosti na koncentraci by měl být mléčně bílé barvy. Jeho barva může být trochu nažloutlá, ale obvykle má podobný vzhled jako odstředěné mléko. V ejakulátu může být občas přítomno malé množství krve, obvykle pocházející z močové trubice, což dává spermatu narůžovělý odstín. To normálně nesnižuje plodnost nebo životaschopnost ejakulátu, ale tmavší červená barva spojená se štiplavým zápachem by měla být příčinou pro její vyřazení. Shromážděné sperma nesmí mít znatelný zápach, a pokud ano, pravděpodobně během odběru došlo ke špatným hygienickým postupům. Emise zápalu pravděpodobně odráží předpouštěcí tekutiny (moč), které jsou obvykle silně zatíženy bakteriálními a cizorodými kontaminanty. Antibiotika v přípravcích na sperma jsou určena k regulaci růstu patogenu během skladování, nikoliv ke snížení nebo boje proti velké bakteriální kontaminaci ve spermatu. Ejakuláty musí být vyhodnoceny z hlediska odchylek od pachů a v případě zjištění vyřazeny (Rozeboom 2000).

Mikroskopické hodnocení navazuje na makroskopické. Používané pomůcky k mikroskopickému hodnocení se předehřívají na teplotu 30 až 35°C. Objem spermatu se měří v odměrných skleněných sterilních nádobách v ml, nebo se sperma váží a výsledek se udává v gramech. Aktivita spermií se hodnotí mikroskopicky při zvětšení 200 až 300× vizuálně a vyjadřuje se v procentech aktivních spermií ve vzorku spermatu. Koncentrace spermií se vyjadřuje v tisících spermií na 1 mm<sup>3</sup> spermatu. Morfologické odchylky spermií se hodnotí zpravidla při zvětšení 1500×, abychom mohli posoudit i drobné změny na spermiích mimo změn

na prvý pohled registrovaných. V praxi se používají spermie s jednou nebo více odchylkami jako spermie morfologicky defektní (abnormální, patologické). Zpravidla se hodnotí 200 spermií a z nich se pak vyjádří procento abnormálních. Spermie pro toto hodnocení musíme obarvit. Používá se tzv. diferenciálního barvení, jehož výsledkem je odlišné zbarvení částí spermie zejména zbarvení akrozomu. Přežitelnost spermií se hodnotí v ředěném konzervovaném spermatu kontrolou aktivity spermií v průběhu celé doby použitelnosti k inseminaci (Říha a kol. 2003).

Tabulka 1: Normální a mezní hodnoty kvality spermií (Rozeboom 2000).

Vlastnosti ejakulátu	Normální hodnoty	Mezní hodnoty
Objem	100 – 500 ml	50 ml
Celkový počet spermií	10 – 100 · 10 <sup>9</sup>	10 · 10 <sup>9</sup>
Motilita	70 – 95 %	62 %
Shlukování	0 – 10 %	25 %
Zvlněné bičíky	1 – 2 %	10 %
Morfologické abnormality	5 – 10 %	30 %
Akrozomální abnormality	5 – 10 %	49 %
Cytoplazmatické kapky	< 5 %	15 %

## 7.8 Ředění a konzervace spermatu

Kančí sperma se ředí z důvodu zvětšení objemu pro rozdělení spermií do více inseminačních dávek a kvůli zachování a prodloužení oplozovací schopnosti spermií pomocí konzervačních činidel (Louda et al. 2001).

Při ředění spermatu postupujeme tak, že ředidlo o stejné teplotě jako je sperma postupně po skle přiléváme do semene a to nejprve ve stejném množství, jako je objem spermatu. Naředíme tak sperma v poměru 1:1. Provádíme tak nejprve tzv. předředění spermatu. Poté za 10 až 20 minut se provede doředění na předem určený objem. Stupeň ředění spermatu, resp. konečný objem naředěného spermatu, určuje zvolený počet aktivních spermií v jedné inseminační dávce a celkový počet aktivních spermií ve spermatu. Vydělením celkového počtu aktivních spermií stanoveným počtem spermií v jedné inseminační dávce získáme údaj, kolik inseminačních dávek můžeme naředěním daného spermatu získat. Znásobením počtu inseminačních dávek objemem jedné dávky vypočteme celkový objem ředěného spermatu a odečteme-li od tohoto objemu objem neředěného spermatu, dostaneme údaj o tom, kolik ředidla musíme přidat ke spermatu (Říha a kol. 2003). Při optimálním poměru ředění by se počet všech spermií v dávce měl pohybovat od 2 do 6 miliard. Platí obecné pravidlo, že dávka by měla zahrnovat 1 miliardu spermií pro každý den skladování (tzn. jestliže má být inseminační dávka uskladněna 2 dny, měla by obsahovat 2 miliardy všech spermií) (Smital 2001).

K ředění spermatu je v podstatě možno použít tři druhy ředících roztoků. Jde o ředidla ze skupiny extendorů, dále protektorů a o ředidla označovaná jako implementory. Extendory jsou ředidla, která zvětšují jen objem spermatu. Pro uchování spermatu 24, 48 a 72 hodin nebo déle se používají složitější ředidla typu protektorů, jenž poskytují i živiny pro spermie, a implementory jsou vlastně protektory, ke kterým jsou přidány látky působící na pohlavní orgány prasnic (Smital 2001). Použití spermatu k inseminaci, ředěného a konzervovaného krátkodobými ředidly, je zpravidla vymezeno dobou do 72 hodin, u střednědobých ředidel na dobu použitelnosti 5 až 7 dnů (Louda et al. 2001). Mimo krátkodobou a střednědobou konzervaci spermatu v tekutém stavu se ve velmi omezeném měřítku sperma ředí speciálními postupy a ředidly pro dlouhodobou konzervaci hlubokým zmrazením na teplotu tekutého dusíku, tj.  $-196^{\circ}\text{C}$  (Říha et al. 2003).

Běžně se surové sperma ředí s cílem prodloužit životnost spermií a zvýšit použitelnost kanců s vysokou genetickou hodnotou na více než 50 dávek spermatu/ejakulátu. Díky zvyšujícím se požadavkům na kvalitu spermatu a zároveň snaze o snížení počtu spermií obsažených v dávkách určených pro umělou inseminaci, dochází k vyšší zranitelnosti spermií. Zranitelnost spermií je způsobena vyšším ředěním a potřebou zajistit ideální teplotní a časový režim, který je potřeba pro automatizovaný ředící a plnicí proces. Celkově je cílem minimalizovat „účinek ředění“, který způsobuje ztrátu pohyblivosti a membránové integrity spermií a změny v organizaci proteinů a lipidů na povrchu spermií, což vede k destabilizaci membrány (Schulze et al. 2017).

Při konzervaci spermatu jsou spermie uvedeny do stavu anabiózy, při kterém je pohyb spermií zastaven a jejich metabolismus je omezen na nejnižší míru. Důležité je, aby v průběhu konzervace nedošlo k poškození povrchových membrán a akrozomálního systému spermií, čímž by se porušila oplozovací schopnost spermií (Smital 2001). Využití konzervovaného spermatu pro AI u prasat se za posledních 15 let zvýšilo přibližně trojnásobně. Více než 99 % z odhadovaných 19 milionů inseminací provedených po celém světě je provedeno spermatem, které bylo zředěno a v tekutém stavu použito ve stejný den, nebo skladováno při teplotě  $15 - 20^{\circ}\text{C}$  po dobu 1 až 5 dnů. Osmdesát pět procent všech inseminací je provedeno v den odběru nebo následující den a méně než 1 % všech inseminací se provádí pomocí zmrazeného a rozmrazeného spermatu (Johson et al. 2006).

V současné době je čerstvé sperma smícháno s ředidly, které zaručují trvanlivost mezi třemi až pěti dny. Jedním z nejčastějších ředidel je Beltsville Thawing Solution (BTS). Objem dávek byl do značné míry stabilizován na 80 ml – 100 ml a požadovaná skladovací teplota, zpravidla mezi  $16$  a  $18^{\circ}\text{C}$ . Tato skladovací teplota představuje logistický problém nejen pro přepravu, ale také pro skladování na farmě. Jsou nutné speciální teplotně regulované boxy (Riesenbeck 2011). Příliš rychlé zchlazení ejakulátů na  $15^{\circ}\text{C}$  nebo zchlazení pod  $15^{\circ}\text{C}$  vede ke ztrátě životaschopnosti spermií nebo chladovému šoku. Aby se tomuto chladnému šoku zabránilo, předředěné ejakuláty se nechají při teplotě nad  $15^{\circ}\text{C}$  po dobu několika hodin, aby se vyvolala odolnost proti chladu. V praxi se sperma shromažďuje v izolovaných nádobách, aby se zabránilo kontaktu s chladnějšími povrchy, a následné ředění se provádí způsobem, při



kterém se teplota postupně snižuje (Johnson et al. 2006). Zmrazené sperma má výrazně delší trvanlivost než čerstvé sperma (Riesenbeck 2011).

Inseminace zmrazeným kančím spermatem není v praxi tak rozšířená, jako je tomu například u skotu. Ve většině zemí je využíváno pro inseminaci čerstvé tekuté sperma a používání zmrazeného spermatu je ještě v experimentálním stupni. Odhaduje se, že ve světě je každoročně prováděno zhruba 5 až 10 miliónů inseminací, ale pouze 26 000 je prováděno zmrazeným spermatem (Smital 2001). Pro zmrazení kančího spermatu bylo vyvinuto několik metod, ale po stránce biologické není dosud tato metoda konzervace definitivně vyřešena (Louda et al. 2001). Prakticky se zmrazují jen spermie bez semenné plazmy (po odstředění) v malém objemu speciálního ředidla s přísadkou glycerolu, který slouží jako ochrana proti zhroucení struktury spermie při zmrazování a rozmrazování. Nařazené spermie takto připravené se zmrazují ve formě pelet (kuliček), nebo se jimi plní plastové pejetý (trubičky), u kterých jsou oba konce před zmrazením uzavřeny. Takto zmrazené spermie se uchovávají v tekutém dusíku ve speciálních nádobách (kontejnerech) neomezeně dlouhou dobu. Těsně před použitím k inseminaci se zmrazené semeno rozmrazuje a ředí některým ředidlem pro krátkodobou nebo střednědobou konzervaci až na objem inseminační dávky a okamžitě se použije k inseminaci (Říha et al. 2003). Nízké využívání zmrazeného spermatu je především přičítáno snížení míry zabřezávání o 10 až 30 % a snížení počtu selat ve vrhu o 1 až 3 kusy v porovnání s používáním čerstvého spermatu (Smital 2001). Příčina nižšího zabřezávání a nižšího počtu selat ve vrhu spočívá hlavně v krátké přežitelnosti spermií po rozmrazení a v problému doby inseminace v reflexu nehybnosti, resp. v problému délky intervalu mezi inseminací a ovulací (Louda et al. 2001). Nevýhodou zmrazeného spermatu je složitý a pracný výrobní proces a výrazně vyšší náklady (Riesenbeck 2011).

Minimální požadavky na sperma ke zmrazení:

70 % motilita spermií

90 % spermií s neporušeným akrozomem

45 miliard spermií v ejakulátu (Říha et al. 2003).

## 8 Indukce říje a ovulace

Pro chov prasat a produkci vepřového je důležité vyvíjet nové technologie, které účinně snižují náklady na pracovní sílu, zvyšují propustnost a optimalizují využití zemědělských zařízení. Technologií ve středu zájmu je umělá inseminace (artificial insemination; AI) v předem určených časech po indukci synchronizovaného estru (časovaná umělá inseminace - timed artificial insemination; TAI). To bylo dále vylepšeno zahrnutím kontroly ovulace s inseminací v přesně určeném čase bez požadavku detekce estru (umělá inseminace s pevným časováním - fixed-timed artificial insemination; FTAI) (De Rensis & Kirkwood 2016).

Říjí s ovulací můžeme u prasnic po odstavu selat vyvolat skupinově a synchronizovaně pomocí injekčního ošetření hormonálními přípravky. Pak lze přistoupit k tzv. frontální inseminaci, tj. k provedení inseminace v předem určeném termínu u všech ošetřených prasnic bez ohledu na projev příznaků říje. K ošetření jednotlivých anestrických prasnic a prasniček používá veterinární služba hormonální přípravky k indukci říje (Říha et al. 2001).

K řízení vývoje folikulů a synchronizaci ovulace u prasniček a prasnic lze použít celou řadu exogenních hormonů. Estrus může být indukován podáním eCG (Equine chorionic gonadotropin) s nebo bez souběžného podání hCG (Human chorionic gonadotrophin), přičemž posledně jmenovaný je analogem LH (Luteinizing hormone). Protokoly, které obsahují hCG, budou pravděpodobně relativně účinnější za podmínek omezeného endogenního LH, například u mladších prasnic, protože u prasat je LH hlavním hnacím motorem vývoje folikulů od stadia 4 nebo 5 mm středního folikulu až po ovulaci. Následné použití analogů hCG, LH nebo GnRH (Gonadotropin-releasing hormone) může účinně vyvolat časovanou ovulaci u prasniček a odstavených prasnic. Reakce na řízené ovulační protokoly závisí na stupni vývoje folikulů v době léčby (De Rensis & Kirkwood 2016).

Nejznámějším hormonálním přípravkem s gonadotropním účinkem je přípravek PG 600 (kombinace hormonů FSH a hCG). Používá se u předpubertálních prasniček ( $\pm 6$  měsíců věku) k redukci počtu dnů od konečné selekce ke spontánní říjí, u prasnic v den odstavu. Pro prasnice se doporučuje použití jen v určitých vhodných obdobích, např. při tzv. letní interfilitě, nebo u jiných skupin plemenic, jako např. u prvniček, kdy nástup říje po odstavu prvního vrhu selat je nízký. Individuálně se tento přípravek může použít při absenci říje (anestru) u prasniček (do 7 měsíců věku), nebo u prasnic 8. až 10. den po odstavu. V obou případech však musí být zajištěno, že v období před použitím byla pečlivě sledovaná říje, aby nedocházelo k ošetření již cyklujících zvířat (Říha et al. 2001).

## **8.1 Hormony používané k řízení ovulace**

### **8.1.1 GnRH analogy**

Exogenní GnRH působí na úrovni hypofýzy a vyvolává endogenní ovulační nárůst LH. Jeho účinnost může být omezena dostupnými hypofyzárními zásobami LH. I když ovulace nevyžaduje zvláště velké zvýšení LH, oslabený nárůst může negativně ovlivnit kvalitu folikulární luteinizace. Bylo prokázáno, že analogy GnRH jsou schopné indukovat ovulaci u prasniček a prasnic. Léčba GnRH také zkrátila dobu trvání estru a interval mezi počátkem a ovulací; počet porodů a velikost vrhu nebyly léčbou ovlivněny (De Rensis & Kirkwood 2016).

### **8.1.2 hCG (Human chorionic gonadotrophin)**

Dle Hovorky et al. (1987) se hCG vytváří v placentě gravidní ženy a jeho účinek je obdobný jako u hypofyzárního LH, neboť podporuje dozrávání folikulů a ovulaci a zesiluje luteinizační proces na vaječnicích.

Dle De Rensis & Kirkwood (2016) jako analog LH působí hCG na ovariální úrovni a není omezován endogenními hypofyzárními zásobami LH.

### **8.1.3 LH (Luteinizing hormone)**

Podobně jako hCG, exogenní prasečí LH působí na úrovni vaječníků, a tak není omezován endogenními hypofyzárními zásobami LH. Hormon pLH (porcine luteinizing hormone) vyvolá ovulaci asi 38 hodin po injekci (rozmezí 35–40 hodin) u prasniček a prasnic. Proto v populaci prasnic, u nichž se očekává, že ovulují 38 nebo více hodin po začátku estru, bude léčba exogenním pLH vyvolávat předvídatelné načasování ovulace, které usnadní FTAI (umělá inseminace s pevným časováním) (De Rensis & Kirkwood 2016).

De Rensis & Kirkwood (2016) dále tvrdí, že GnRH, hCG a pLH jsou všechny potenciálně účinné při regulaci doby ovulace u prasat, aniž by ovlivnily rychlost porodu a velikost vrhu a mohou být použity v TAI (časovaná umělá inseminace). Aby však tato léčba byla účinná, vyžaduje přítomnost vhodně zralých folikulů schopných reagovat na léčbu. Tuto kontrolu lze dosáhnout blokováním vývoje folikulů ve stádiu středních folikulů orálním altrenogestem nebo stimulací vývoje folikulů pomocí eCG (equine chorionic gonadotropin) nebo kombinací eCG a hCG.

## **9 Význam a historie inseminace prasat**

Význam inseminace prasat je především ve zlepšení organizace práce a ve zvyšování produktivity práce ve velkochovech, protože umožňuje turnusové připouštění a tím plynulý zástav prasat na výkrm. Inseminace umožňuje maximální využití kvalitních plemenů. Od jednoho kance lze získat až 500 inseminačních dávek během roku, což znamená 10krát větší využití než v přirozené plemenitbě. Zvyšuje se plodnost prasnic, protože opatřeními při inseminaci se umožňuje včas zjistit březost prasnic, hromadně vyprovokovat říji (synchronizovat). Na počet zabřelých prasnic příznivě působí také vyšetření spermatu kanců. Inseminace znamená úspory na krmivu vznikající snížením počtu plemenů (na 1 kance se počítá 1,2 t krmiva za rok). Velký význam má inseminace i z veterinárního hlediska, kdy díky stálé kontrole zvířat dochází ke snížení šíření nálezů spermatem kanců (Kovář et al. 1973).

Umělá inseminace prasat byla zahájena v Rusku na počátku 20. století. Rozsáhlejší výzkum byl pak veden ve 30. letech. Počáteční práce byly zahájeny ve Spojených státech v Missouri, v Japonsku v roce 1948 a v západní Evropě v 50. letech 20. století (Foote 2010). Kanci se snadno učí naskakovat na fantom. Všechny umělé vagíny pro odběr spermatu kanců jsou vyvíjeny tak, že dochází k přímému tlaku na esovitě zakončení pyje kance, nebo se odběr provádí přímo do ruky technikou v rukavici, což minimalizuje množství bakteriální kontaminace

v odebraném spermatu. Ve Spojených státech byl zahájen vývoj metody pro skladování spermatu určeného pro přepravu a použití v terénu. Ito et al. (1948) byl první, kdo doporučil skladovací teplotu 15 – 20°C. S rychlým rozšiřováním umělé inseminace vzrůstaly nároky na sperma. Nejjednodušším řešením bylo zředit každý ejakulát s použitím menšího počtu spermií na inseminaci. Roztok Beltsville Thawing Solution (BTS) byl vyvinut laboratoří USDA v Beltsville a umožnil zředění spermatu a prodloužil dobu skladování až na 48 hodin. Složení BTS je stále základem pro ředidla spermatu používaná v dnešní době (Broekhuyse et al. 2012).

Přípravy k zavedení inseminace prasat do praxe trvaly v ČR více než desetiletí. V té době byly prověřovány různé metody, zkoušeny a testovány byly zejména sovětské metody a zkušenosti. Současně probíhal výzkum a vlastní inseminace prasnic byla provozována experimentálně a poloprovozech. V podstatě se hledala vhodná metoda pro naše výrobní podmínky. Bylo konstatováno, že nelze nekriticky přebírat a uplatňovat metody používané v zahraničí. Teprve koncem 60. let byla vypracována metoda, která byla celoročně ověřena v r. 1967 – 1968 ve velkokapacitním chovu na farmě Rýcholka (Choustíkovo Hradiště) velkovýkrmem o.p., závodu Smiřice, díky pochopení tehdejšího vedení oborového podniku v Praze, rozhodnutím ze dne 17.4.1967 (Ing. Šimůnek, MVDr. Pirogov) (Čeřovský 2002).

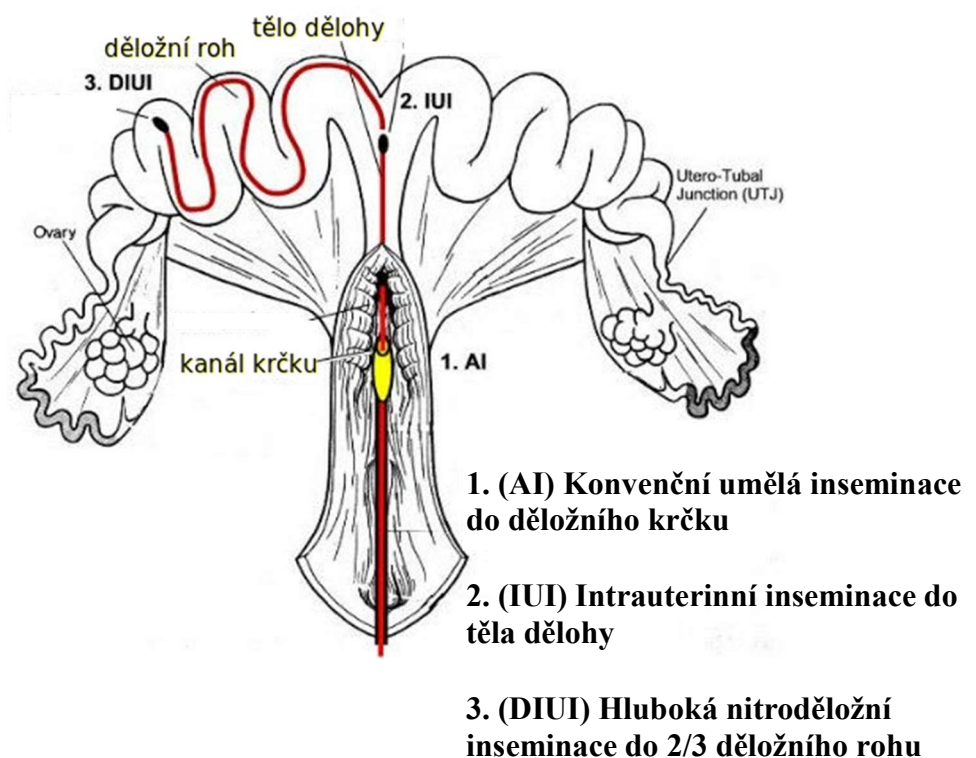
Systematický nástup plošného zavádění inseminace v ČR začal historickým datem 27.2.1970 po společném jednání představitelů Státních plemenářských podniků generálního ředitelství v Praze (Ing. Příbyl, Ing. Šafránek, Ing. Kaňka) a zástupců Výzkumného ústavu pro chov prasat v Kostelci nad Orlicí s výsledkem společného postupu při zajišťování a rozvoji inseminace prasat. Plemenářská organizace začala školit své pracovníky a realizovat zavádění inseminace do zemědělských podniků. Začal bouřlivý rozvoj, tzv. dodavatelského způsobu zajišťování inseminace prasat, tj. produkce inseminačních dávek na specializovaných inseminačních stanicích kanců v majetku státní plemenářské organizace, jejich rozvoj do zemědělských podniků a provozování inseminace prasnic pak školenými techniky zemědělských podniků (Čeřovský 2002).

## 10 Inseminace

Umělá inseminace (AI) u prasat je považována za jednu z nejúspěšnějších reprodukčních technik na světě. V současnosti tuto technologii používá 90 – 95 % farem v rozvinutých zemích. Postupy umělé inseminace (AI) dosáhly vysoké úrovně účinnosti, například u 80 – 90 % porodů prasnice produkují mezi 11 a 14 narozenými selaty. Kromě produktivní a ekonomické účinnosti je žádoucí minimální dávka spermatu pro optimalizaci ejakulátu kanců vysoké biologické a produktivní hodnoty (García-Vázquez et al. 2019).

Celkové řízení umělé inseminace (AI) je velmi důležité pro stanovení úspěšného postupu a reprodukčního výkonu prasnic. Kontrola říje, načasování a počet inseminací, technika inseminace, skladování spermatu a použití nových technologií umělé inseminace, to vše vyžaduje specializované znalosti reprodukční fyziologie prasat (Maes et al. 2011). Správné

načasování umělé inseminace vyžaduje pečlivou detekci říje v pravidelných intervalech. Kančí přítomnost a podněty jsou důležité při podpoře folikulárního vývoje a vyjadřování říjového chování (Langendijk et al. 2006). Kromě toho vysoká úroveň kančí stimulace zvyšuje frekvenci kontrakcí dělohy, což ukazuje na podpůrnou roli při pasivním transportu spermií přes dlouhé děložní rohy v době inseminace. Inseminace by měla být načasována co nejbližší ovulaci, nejlépe 12 až 24 hodin před ovulací. Stanovení doby ovulace v souvislosti s říjovým chováním a řízením inseminace v reprezentativním počtu prasnic v po sobě jdoucích dnech má velký potenciál, který umožní zkrátit časování inseminace a vyvinout strategie specifické pro farmy pro zlepšení řízení inseminace (Maes et al. 2011).

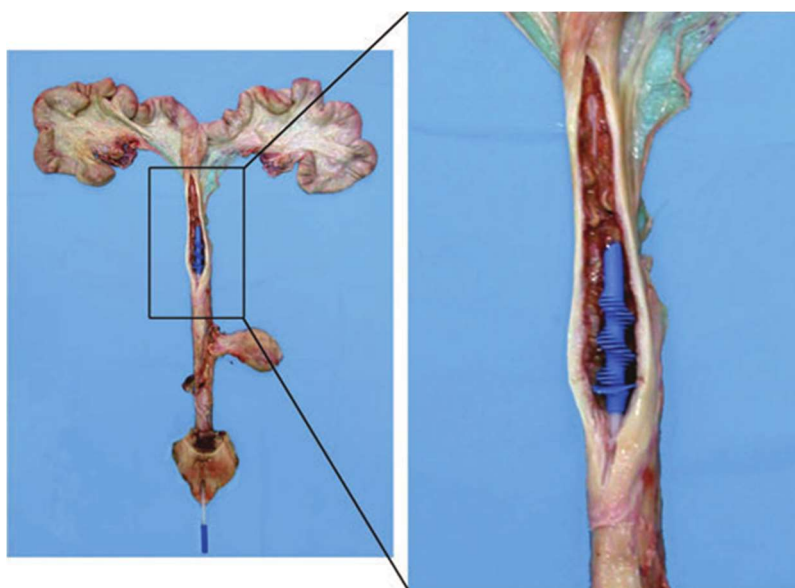


Obrázek 4 Schéma reprodukčního traktu prasnice znázorňující místo uložení spermatu pro 3 různé typy umělého oplodnění.

(Zdroj: <http://porkgateway.org/wp-content/uploads/2015/07/review-intrauterine-and-fixed-time-artificial-insemination-in-swine.pdf>)

## 10.1 Standardní inseminace

V současné době AI do značné míry nahradila přirozené páření v chovech prasat, protože je to levný, snadný a rychlý postup, který byl úspěšný po mnoho let. Jeho vysoká hodnota pro prasečí průmysl se odráží v přibližně 25 milionech AI, které jsou každoročně registrovány po celém světě. V Evropě se provádí až 85 – 90 % inseminací prasat ročně. Účelem inseminace je vytvořit odpovídající funkční rezervoár spermatu ve vejcovodu, aby oplodnil všechny ovulované oocyty. Klasická intra-cervikální inseminace spočívá v uložení dávky spermatu do zadní části děložního krčku (přibližně 15 cm hluboko) pomocí speciálního katetru. Průměrná roční produkce spermatu na jednoho kance je 1500 dávek, schopných inseminovat přibližně 700 prasníc (Vazquez et al. 2008).



Obrázek 5 Reprodukční trakt prasnice ukazující polohu špičky konvenčního inseminačního katetru uloženého mezi záhyby v zadní části děložního krčku při intra-cervikální inseminaci (Roca et al. 2006).

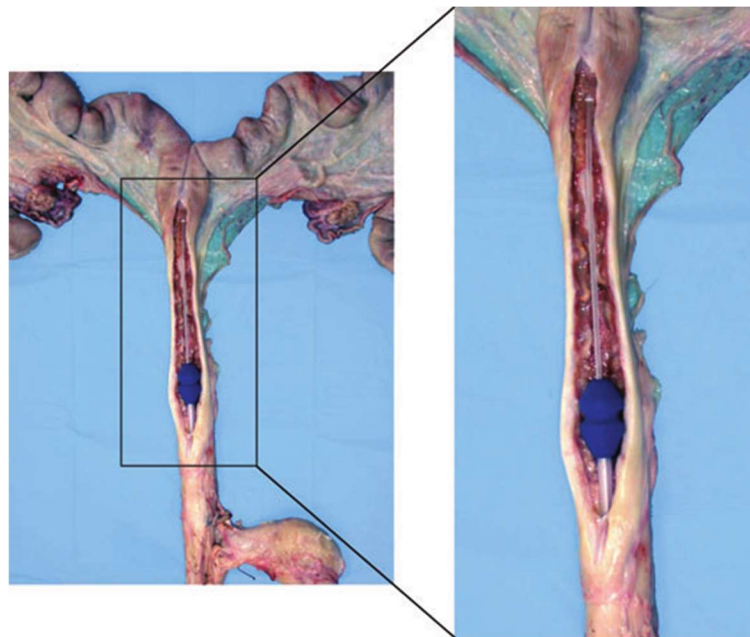
## 10.2 Postcervikální inseminace (PCAI)

Přestože se AI úspěšně používá po celá desetiletí, mnoho studií se pokusilo zlepšit její účinnost. Jedním z výsledků je vývoj postcervikální umělé inseminace (PCAI) (García-Vázquez et al. 2019). V posledních několika desetiletích se PCAI jeví jako jedna z nejúspěšnějších reprodukčních biotechnologických metod a nyní se používá ve většině zemí (Llamas-Lopez et al. 2019). Cílem této inseminační metody je uložení spermatu přímo v těle dělohy namísto děložního krčku, jak se tradičně provádí. Tělo dělohy se nachází mezi děložním krčkem a děložními rohy (Donald et al. 2001). Hlavní překážkou postcervikální inseminace je kanál krčku děložního, který se vyznačuje přítomností cervikálních záhybů. Bylo vyvinuto několik nástrojů, které procházejí děložním krčkem a ukládají spermie do těla dělohy nebo do zadního děložního rohu prasníc. Katetr, obvykle o 15 – 20 cm delší než konvenční katetr, se zavádí skrz spirálovou dutinu a poté se protahuje děložním krčkem dopředu k tělu dělohy. Nejčastěji je používáno  $1\ 000 \times 10^6$  spermií v objemu 30 ml. Hlavní výhoda uváděná pro tento

postup inseminace je snížena ztráta zpětným tokem (Vazquez et al. 2008). Mezi další výhody této metody patří: menší potřeba spermatických buněk na dávku, menší objem spermatu, méně času na vniknutí spermií po umístění katetru do těla dělohy, menší náklady na inseminační dávku díky sníženému počtu spermatických buněk v dávce a díky menšímu počtu spermatických buněk na dávku je k produkci kvalitního spermatu potřeba méně kanců (Donald et al. 2001). Některé z nevýhod postcervikální inseminace: vyšší náklady na inseminační katetr, potřeba věnovat čas školení inseminačních techniků pro používání nového katetru, katetr se nedoporučuje používat u prasniček, opatrnější zavedení katetru trvá déle, potřeba vyšší úrovně hygieny katetru z důvodu umístění vnitřní kanyly přímo do těla dělohy (Donald et al. 2001).

Zvláštní pozornost by měla být věnována vhodné inseminační technologii, aby se minimalizoval výskyt poškození děložního krčku a dělohy, protože polotuhé rozšířené katetry mohou poškodit reprodukční tkáň (Vazquez et al. 2008).

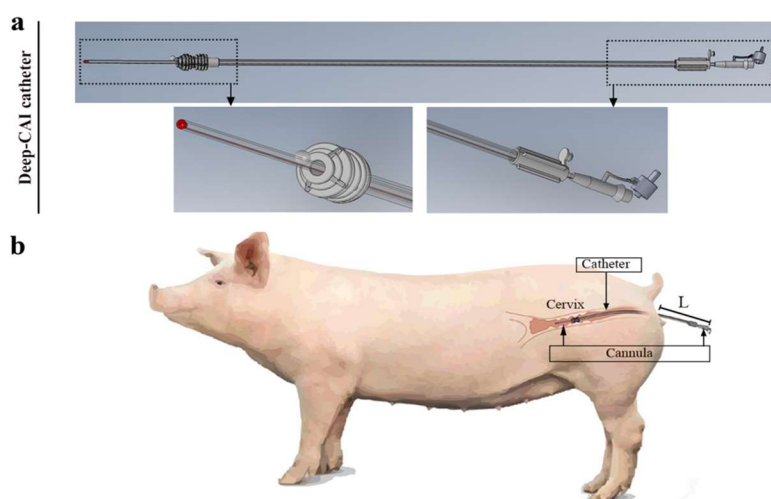
Od doby, kdy se PCAI začalo plošně používat kolem roku 2002, počet kanců postupně klesal, zatímco počet samic inseminovaných PCAI se zvýšil. PCAI postupně nahrazuje tradiční cervikální inseminaci, zejména v zemích s intenzivním chovem prasat. Po překročení záhybů děložního hrdla během PCAI může být dávka spermatu uložena velmi rychle s minimálním rizikem zpětného toku. Ve skutečnosti jsou ztráty spermií zpětným tokem během PCAI minimální: Při aplikaci cervikální inseminace se sperma shromážděná ve zpětném toku odhaduje na 25 – 45 %, což se s použitím PCAI snižuje přibližně na 15 % (García-Vázquez et al. 2019).



*Obrázek 6 Reprodukční trakt prasnice ukazující polohu špičky postcervikálního katetru uvnitř děložního těla při post-cervikální inseminaci (Roca et al. 2006).*

### 10.2.1 Metoda Dp-CAI (hluboko-krčková inseminace)

Ačkoli metoda PCAI byla úspěšně použita v zemědělských podmínkách pro snížení dávek spermií, aniž by to narušilo reprodukční výkon, má tato technika omezení u prasniček, zejména kvůli obtížím spojeným se zavedením vnitřní kanyly přes kraniální část děložního krčku. Z tohoto důvodu, byla vytvořena nová metoda Dp-CAI (hluboko-krčková inseminace). Tato nová metoda se používá jako alternativa k cervikální inseminaci PCAI u prasniček, čímž se snižuje počet spermií použitých na inseminaci, aniž by to narušilo konečnou reprodukční výkonnost. Míra úspěšnosti aplikace nové inseminační metody Dp-CAI byla téměř 90 %, což je v kontrastu s nízkou úrovní dosaženou při použití PCAI u prasniček, která se pohybuje mezi 20 – 60 %. Jedním z hlavních rozdílů mezi dvěma technikami používanými u prasniček (PCAI vs. Dp-CAI) je délka vnitřní kanyly, která u PCAI měří 16 cm kdežto u Dp-CAI měří 8 cm. Jiní autoři uvedli, že zavedení vnitřní kanyly nad 10 cm do děložního krčku bylo možné pouze u 44 % prasniček. Aplikace Dp-CAI pomocí nového zařízení speciálně navrženého pro prasničky umožňuje ukládání spermatu hluboko do děložního čípku s vysokou mírou úspěchu (Llamas-Lopez et al. 2019).



Obrázek 7 Zařízení určené k hluboko-krčkové inseminaci (Dp-CAI) u prasniček

(a) 1) katetr: délka 52 cm, průměr 17 mm

2) vnitřní kanyla: délka 65 cm (dosahuje o 8 cm dále než katetr), průměr 3 mm

(b) Reprezentativní obrázek znázorňující nové AI zařízení umístěné v děloze (Llamas-Lopez et al. 2019).

### 10.2.2 Kombinace PCAI a fixní čas inseminace

Umělá inseminace ve fixním čase (FTAI) je reprodukční biotechnologie, ve které indukovaná ovulace umožňuje inseminaci v optimálním okamžiku k dosažení uspokojivé míry oplození. Protokoly pro FTAI zahrnují použití hormonů podávaných ve strategických okamžicích podle kategorie prasnic. U prasnic lze po odstavení použít induktor ovulace, zatímco prasničky dosahují puberty v různých okamžicích a použití progestogenu je nezbytné pro synchronizaci říje před použitím induktoru ovulace. Z tohoto důvodu jsou protokoly FTAI



u prasniček složitější a použití této technologie se zaměřuje na odstavené prasnice (García-Vázquez et al. 2019).

Při inseminaci ve fixním čase, je třeba synchronizovat estrální cyklus a vyvolat folikulární vývoj a ovulaci pomocí analogů GnRH a hCG, přičemž ovulace nastane do 36 – 42 hodin. Obecným doporučením je tyto prasnice inseminovat dvakrát, tj. 24 a 40 hodin po indukci ovulace (Brüssow et al. 2009). Teoreticky lze pomocí FTAI dosáhnout několika výhod, jako je snížení počtu inseminací a spermatických buněk použitých na prasnici. Ve FTAI je optimalizace kanců přímo spojena s počtem prasnic, které vyžadují pouze jednu inseminaci (García-Vázquez et al. 2019).

### 10.2.3 Kryokonzervace a PCAI

Zatímco kryokonzervace spermií u prasat se používala více než čtyři desetiletí, méně než 1 % všech postupů AI u prasat se provádí pomocí spermií zmrazených a rozmrazených. Příchod PCAI však znovu vzbudil zájem o použití této techniky. Bylo provedeno několik studií s kombinací zmrazených spermií a PCAI, zaměřených hlavně na srovnání výkonu s čerstvým spermatem nebo jinými mechanismy AI, jakož i na přidání různých látek do zmrazeného a rozmrazeného spermatu. Obecně s 1 - 3 miliardami zmrazených a rozmrazených spermií na AI použije v objemu 20 - 80 ml s PCAI. Výsledky s použitím zmrazených a rozmrazených spermií jsou však stále horší, než s použitím čerstvých spermií (García-Vázquez et al. 2019).

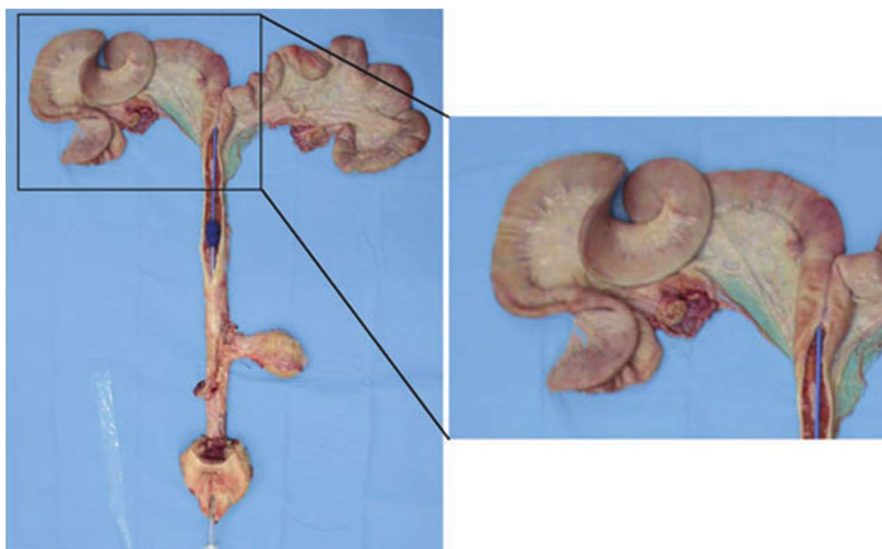
## 10.3 Hluboká nitroděložní inseminace (DUI)

Cílem hluboké nitroděložní inseminace (DUI) je uložení spermatu hluboko do děložních rohů. Hlavní překážkou pro DUI prasnic je složitá anatomie jejich genitálního traktu, nejen přítomností cervikálních záhybů (stejných jako u postcervikální inseminace), ale také délkou a stočeným tvarem děložních rohů. Nové, speciálně navržené zařízení má pracovní délku 1,80 m, vnější průměr 4 mm a průměr vnitřní trubice 1,80 mm. Katetr se zavede přes cervikální záhyby, přes krčkový kanál a vytlačí se dopředu podél těla děložního a rohu dělohy (Vazquez et al. 2008). Dřívější studie ukázaly, že pružný katetr je možné zavést přes děložní krček do jednoho děložního rohu u 90 – 95 % prasnic, přičemž doba potřebná k inseminaci je zhruba 4 minuty (Tummaruk et al. 2007).

Použitím hluboké nitroděložní inseminace se speciálně navrženým katetrem lze až 20× snížit počet spermií potřebných na inseminační dávku, aniž by došlo k ovlivnění porodnosti (Vazquez et al. 2005). Tato technika inseminace je také vhodná pro některé pokročilé biotechnologické metody, jako je inseminace zmrazeným a rozmrazeným spermatem, sexace spermií a přenos embryí (Tummaruk et al. 2007).

V několika studiích, s dostatečným počtem prasnic, byla porodnost a celkový počet narozených selat na vrh po DUI přibližně 82 – 86 %, respektive 9,7 – 10,0 selat/vrh. Také bylo prokázáno, že hormonálně ošetřené (eCG/hCG) odstavené prasnice inseminované jednou

dávku  $150 \times 10^6$  spermií technikou DUI, za použití čerstvého spermatu vedlo k 82,7% porodnosti a bylo 9,96 celkově narozených selat. Prasnice spontánně odstavené, inseminované dvakrát dávkou  $150 \times 10^6$  spermií technikou DUI s použitím čerstvého spermatu, vedly k 84,2% porodnosti a celkový počet narozených selat byl 9,88. V jiné studii zase zjistili, že při inseminaci metodou DUI na jednu stranu děložního rohu dávkou  $150 \times 10^6$  spermií vedlo k 86,3% březosti, 82,9% porodnosti a 9,7 % celkově narozených selat. Snížení počtu spermií pod  $25 \times 10^6$  spermií/dávku vedlo k významnému snížení porodnosti (Tummaruk et al. 2007).



*Obrázek 8 Reprodukční trakt prasnice ukazující lokalizaci flexibilního zařízení vedoucího přes děložní krček, děložní tělo a jeden děložní roh, při hluboké nitroděložní inseminaci (Roca et al. 2006).*

## 10.4 Intraovidukální inseminace

Cílem této techniky je inseminovat malým množstvím spermií v malém objemu, aby se zvýšila účinnost inseminace při použití pohlavně tříděných spermií nebo spermiemi zprostředkovaný přenos genu. Předpokládá se, že inseminace do vejcovodu je schopna maximálně snížit množství potřebných spermií (Arokia et al.2016). Laparoskopie je méně invazivní technika než laparotomie pro ukládání spermatu přímo do dělohy nebo vejcovodu; tento postup může provádět jen speciálně vyškolený personál (Vazquez et al. 2008).

Jedná se o menší chirurgický zákrok, který lze provést během 15 minut, vyžaduje celkovou anestézii a umístění prasnice na chirurgický stůl v leže, v šikmé poloze 30° hlavou dolů. Řez na střední linii se provádí na pupeční úrovni, kde se do peritoneální dutiny vloží Veressova jehla, aby se insufloval CO<sub>2</sub>, z důvodu roztažení břišní dutiny. Následně se do stejného řezu vloží trokar-kanyla, aby se umožnil průchod laparoskopem, přičemž se udržuje

tlak plynu zařízením připojeným k trokar-kanyle. Jakmile je lokalizován reprodukční trakt, je na místě zkontrolovat vaječníky a ověřit jejich funkčnost. Dva vedlejší trokary se pak vloží laterálně mezi druhý nebo třetí pár struků. Trokary se používají k umístění páru netraumatických uchopovacích kleští do dutiny břišní, aby držely vaječníky a inseminační jehlu. Aby se provedla inseminace, jehla se vloží přes stěnu vaječníku rychlým, přesným a kontrolovaným pohybem a spermie se vstříknou do ampule vaječníku. Při použití této techniky byly míry březosti až 80 % s použitím  $0.3 \times 10^6$  pohlavně tříděných spermií na děložní roh. Navíc tato studie také prokázala, že spermie musí být uloženy těsně před ovulací, aby se dosáhlo maximálních hodnot oplodnění, protože spermie tříděné podle pohlaví mají krátkou životnost v samičím reprodukčním traktu (Roca et al. 2006).



(a)

(b)

(c)

*Obrázek 9 Intraoviduální inseminace prasnice laparoskopii.*

*(a) laparoskop je umístěn do břicha pře trokar-kanylu a zařízením k němu připojeným udržuje tlak plynu*

*(b) mezi druhým nebo třetím párem struků jsou do břicha vloženy dva vedlejší trokary pro umístění dvojice netraumatických uchopovacích kleští, které drží vaječník a inseminační jehly*

*(c) vaječník je uchopen netraumatickými kleštěmi a dávka spermatu je uložena do ampule vaječníku pomocí inseminační jehly (Roca et al. 2006).*

## 11 Sexace spermií

Tato technologie umožňuje identifikaci spermií nesoucích X- nebo Y- chromozomy na základě poměrného rozdílu v jejich obsahu DNA a určit pohlaví potomstva ještě před oplodněním. Pro separaci pohlaví jsou spermie obarveny fuorochromem (Hoechst 33342), který pronikne membránou do hlavičky spermie a naváže se na DNA. Protože Y- chromozom je menší a nese méně DNA než větší X- chromozom, vede expozice spermatických buněk k laserovému světlu ke dvěma různým intenzitám fluorescence, které lze měřit pomocí průtokového cytometrického třídění (Roca et al. 2006).

Sexace spermií (třídění spermií podle pohlaví) má v produkci prasat obrovské reprodukční výhody, urychluje genetický pokrok a umožňuje volbu produkce prasniček.

Navzdory tomu není používání sexace spermií v průmyslu prasat zdaleka rutinním postupem (García-Vázquez et al. 2019). Lawrence Johnson, vedoucí laboratoře fyziologie zárodečných buněk a zárodečné plazmy v Betsville (Maryland, USA) vyvinul jako první v r. 1989 metodu separace živých spermií na bázi obsahu DNA. Ministerstvo zemědělství (USDA) tuto metodu patentovalo, nazvalo ji Bestvillská technologie separování spermií. Johnson demonstroval efektivnost metody u králíků, prasat a skotu, ale byl schopen klasifikovat pouze 1,5 – 2 mil. spermií denně s přesností 75 – 90 %. Od té doby byl zaznamenán výrazný pokrok ve vývoji metody (Říha et al. 1999).

Rozdíl v obsahu DNA mezi spermiemi X a Y zůstává hlavním rozlišovacím znakem pro jejich oddělení průtokovou cytometrií. Stejně jako u použití zmrazeného spermatu a navzdory skutečnosti, že nové metody AI snižují počet spermií potřebných pro každou dávku AI, stále je zapotřebí značné množství spermatu. Při současné situaci je sexování spermií a frekvence jejího používání velmi nízká nebo prakticky nulová. Aby se vygenerovala jediná dávka AI (2 - 3 miliardy spermií), je zapotřebí asi 100 hodin třídění (García-Vázquez et al. 2019).

## 12 Embryotransfer (ETS)

Technologie přenosu embryí je v odvětví chovu prasat požadována již po více než 60 let a to z mnoha důvodů, zejména pro bezpečnou výměnu vysoce hodnotného genetického materiálu (Martinez et al. 2016). ETS lze obecně definovat jako soubor opatření, který zahrnuje následující pracovní kroky: (I) výběr a stimulace dárkyň, (II) regenerace embryí, (III) manipulace s embryi, tj. morfologické hodnocení, uchovávání, kultivace a transport a (IV) přenos získaných embryí do příjemkyň (Brüssow et al. 2018). Přínosem ETS může být mezinárodní výměna prasečích embryí hodnotných plemen namísto živých prasat, produkce selat pro xenotransplantaci a pravděpodobně ochrana ohrožených plemen prasat. Perspektivní uplatňování ETS však nebude mít stejný význam ve srovnání s přenosem embryí u jiných druhů hospodářských zvířat (Brüssow et al. 2018).

Ve srovnání s ostatními hospodářskými zvířaty je přenos embryí u prasat používán pouze v omezené míře. Důvodem je především vysoká plodnost prasat, ekonomická situace ve výrobě prasat a především techniky chirurgického odběru a přenosu embryí, nízký poměr dárkyň a příjemkyň a omezení pro dlouhodobé skladování embryí (Brüssow et al. 2018). U prasat není transcervikální proplachování dělohy pro odběr embryí možné vzhledem k délce a stočené anatomii rohů dělohy. V současné době je odběr embryí z dárcovských prasnic možný pouze chirurgickým zákrokem nebo po porážce (Martinez et al. 2016). Přestože byl ETS již několikrát aplikován v chovu prasat, dosud je v praxi využíván jen velmi málo (Brüssow et al. 2018).

## 13 Účinnost inseminace

K hodnocení účinnosti umělé inseminace je možné použít:

- sledování počtu potomků
- předpokládanou ekonomickou hodnotu potomstva narozeného z umělé inseminace, jakou je ztráta na čase a zvířatech vzniklá v důsledku rozdílu mezi dosaženou plodností a hypotetickou 100% plodností (březost po první inseminaci) (Louda et al. 2002). Výsledky inseminace hodnotíme zabřezáváním prasnic a prasniček procenticky z inseminovaných a počtem narozených selat. Březostí po první inseminaci se rozumí procento březích (oprasených) z inseminovaných prasnic poprvé po odstavu selat, u prasniček je to procento zabřezlých (oprasených) z prvně inseminovaných, tedy jak u prasnic, tak u prasniček se do tohoto počtu nezapočítávají přeběhlé prasnice a prasničky, tj. zapouštěné po neúspěšné první inseminaci (Říha et al. 2003). Sdružený (produkční) ukazatel výsledků inseminace se vyjadřuje počtem narozených selat připadajících na 100 inseminací. Vypočítává se jako násobek % březosti a průměrného počtu narozených selat na vrh za dané období (Louda et al. 2001). Hodnocení šlechtitelské práce je založeno na řadě faktorů a rozhodujícím kritériem musí být vždy ekonomická stránka vyjádřená ziskem - nejdůležitějším úkolem šlechtění zvířat je zvyšování jejich užítkovosti, čímž je dosahováno vyššího zisku na jednotku nákladů (Louda et al. 2002).

## 14 Závěr

Umělá inseminace (AI) u prasat je považována za jednu z nejúspěšnějších a nejpoužívanějších reprodukčních technik na světě. Při chovu prasat ve velkochovu je dnes téměř jediným způsobem, jak realizovat reprodukci prasnic. Vzhledem k výše popsaným nárokům na chov kanců, není možné mít ve velkochovech dostatečné množství kvalitních plemeníků. Ať už z hlediska nároků na prostor nebo péči o kance. Vzhledem k tomu, že k úspěšné inseminaci u prasat je potřeba velkého množství ejakulátu, nejvíce je snaha zaměřena především na snížení jak objemu inseminační dávky, tak počtu spermií potřebných k úspěšné inseminaci.

V komerčních chovech se převážně využívá krátkodobá konzervace spermií s použitelností od tří do deseti dnů podle druhu ředidla. U klasické cervikální inseminace kdy se inseminační dávka zavádí do děložního krčku, dochází k velkým ztrátám zpětným tokem, z toho důvodu se inseminační dávka začala zavádět až za děložní krček, čímž se ztráty výrazně snížili a mohlo dojít i k snížení objemu dávky. Postcervikální inseminace (PCAI) tedy umožňuje lepší využití ejakulátu ve srovnání s klasickou cervikální inseminací (AI). Technika PCAI tak může být na komerčních farmách používána místo klasické AI, aniž by narušovalo reprodukční účinnost. Co se týče hluboké intrauterinní inseminace a intraovidukální inseminace, to jsou techniky velmi vhodné pro použití biotechnologií, jako je inseminace zmrazeným a rozmrazeným spermatem nebo sexovaným spermatem. Vysoké náklady na vybavení pro tento postup a obtíže při provádění těchto technik však stále přetrvávají jako překážky pro jejich používání v komerčních farmách.

V budoucnu by bylo dobré zaměřit výzkum těmito směry.

- Výroba kvalitních inseminačních dávek se zvýšenou přežitelností a s tím související tvorba vhodných ředidel.
- Odpovídající vyhledávání říje a určení doby inseminace – vzhledem ke šlechtění na stále se zvyšující produkční užitkovost.
- Hledání možností jak zmrazovat kančí sperma bez výrazné ztráty oplozovací schopnosti a kvality spermií v inseminační dávce.
- Snížení nákladů na provádění hluboké intrauterinní inseminace a intraovidukální inseminace.

## 15 Literatura

- Arokia RM, Shibu S, Benjamin ED, Aravinda GKN. 2016. Improving reproductive efficacy in swine husbandry through artificial insemination. *International Journal of Science, Environment and Technology* (Vol. 5) **4**: 2486 – 2494.
- Bažant J. 1988. Inseminace prasat. Státní plemenářské podniky, Praha.
- Belstra B, Flowers W, See T, Singleton WL. 2007. Estrus or Heat Detection. Available from: <http://porkgateway.org/resource/estrus-or-heat-detection/>
- Broekhuijse MLWJ, Feitsma H, Gadella BM. 2012. Artificial insemination in pigs: predicting male fertility. *Veterinary Quarterly* **32**:151-157.
- Brüssow KP, Schneider F, Kanitz W, Rátky J, Kauffold J, Wähner M. 2009. Studies on fixed-time ovulation induction in the pig. University of Applied Sciences, Germany. D-06406 Bernburg.
- Brüssow KP, Rátky J, Antosik P, Kempisty B, Jaśkowski JM. 2018. Embryotransfer in swine – an indispensable key for the application of reproductive techniques. DOI:10.30825/5.EJPAU.78.2018.21.3
- Čechová M. 2015. Technologie a technika chovu prasnic. Available from <http://www.chovzvirat.cz/clanek/716-technologie-a-technika-chovu-prasnic/> (accessed April 2015).
- Čerovský J. 2002. Třicet let vývoje inseminace prasat v České republice. Pages 6-11 in Houška K, editor. Inseminace prasat ve službách šlechtitelského programu. SCHP Praha, ČMPU Říčany.
- De Rensis F, Kirkwood RN. 2016. Control of estrus and ovulation: Fertility to timed insemination of gilts and sows. *Theriogenology*, **86**:1460-1466.
- Donald GL, Burroughs S, Williams S. 2001. Use of Intra-Uterine Insemination of Pigs: Pros, Cons & Economics. The Ohio Pork Industry Center. Available from [https://digitalcommons.unl.edu/animalscifacpub/618/?utm\\_source=digitalcommons.unl.edu%2Fanimalscifacpub%2F618&utm\\_medium=PDF&utm\\_campaign=PDFCoverPages](https://digitalcommons.unl.edu/animalscifacpub/618/?utm_source=digitalcommons.unl.edu%2Fanimalscifacpub%2F618&utm_medium=PDF&utm_campaign=PDFCoverPages) (Accessed May 2001)
- Foot RH. 2010. The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of animal science* **80**:1-10.
- García-Vázquez FA, Mellagi APG, Ulguim RR, Hernandez-Caravaca I, Llamas-Lopez PJ, Bortolozzo FP. 2019. Post-cervical artificial insemination in porcine: The technique that came to stay. *Theriogenology*, **129**:37-45.
- García-Vázquez FA, Llamas-López PJ, Jacome MA, Sarrias-Gil L, López Albors O. 2019. Morphological changes in the porcine cervix: A comparison between nulliparous and multiparous sows with regard to post-cervical artificial insemination. *Theriogenology* **127**:120-129
- Hovorka F. 1983. Biologické aspekty užítkovosti prasat. Vysoká škola zemědělská. Praha.
- Hovorka F, Sidor V, Smíšek V. 1987. Chov prasat. Státní zemědělské nakladatelství. Praha.
- Johson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WMC. 2006. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science* **62**:143–172.

- Kovář V, Charvát J, Šarudy L. 1973. Porodnictví a inseminace. Státní zemědělské nakladatelství. Praha.
- Kozumplík J, Kudláč E, 1980. Reprodukce prasat ve velkochovech. Státní zemědělské nakladatelství. Praha.
- Langendijk P, Soede NM & Kemp B. 2006. Effects of boar stimuli on the follicular phase and on oestrus behaviour in sows. *Society for Reproduction and Fertility Supplement* **62**:219-30
- LIPENSKÝ, Jan. *Základy hodnocení morfologického obrazu spermií kance*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2014. ISBN sbn978-80-7403-122-9.
- LOUDA F. 1980. Reprodukce hospodářských zvířat. 1. vyd. Praha: SPN, 270 s.
- LOUDA F, ČEŘOVSKÝ J, JEŽKOVÁ A, STÁDNÍK L. 2001. Inseminace hospodářských zvířat se základy biotechnických metod. Praha: Česká zemědělská univerzita. Živočišná výroba, 225 s. ISBN 80-213-0702-1
- Louda F, Stádník L, Ježková A. 2002. Inseminace – nositelka šlechtitelského pokroku v chovu hospodářských zvířat. Available from <https://www.naschov.cz/inseminace-nositelka-slechtitelskeho-pokroku-v-chovu-hospodarskych-zvirat/> (Accessed January 2002)
- Llamas-Lopez PJ, Lopez-Úbeda R, Lopez G, Antinoja E, García-Vazquez FA. A new device for deep cervical artificial insemination in gilts reduces the number of sperm per dose without impairing final reproductive performance. *J Anim Sci Biotechnol* 2019;10:11. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0313-1>.
- Maes D, López RA, Rijsselaere T, Vyt P, Van Soom A. 2011. Artificial Insemination in Pigs. Pages 79-94 in Milad M editor. *Artificial Insemination in Farm Animals*. InTech, Croatia.
- Martinez CA, Nohlez A, Parrilla I, Vazquez JL, Roca J, Cuello C, Rodriguez-Martinez H, Martinez EA, Gil MA. Surgical embryo collection but not nonsurgical embryo transfer compromises postintervention prolificacy in sows. *Theriogenology* xxx (2016) 1–5
- MARVAN, František et al. *Morfologie hospodářských zvířat*. Praha: Brázda s.r.o., 2007, ISBN 978-80-213-1658-4.
- Pulkrábek J et al. 2005. Chov prasat. Profi Press, Praha.
- Rath D. 2002. Low Dose Insemination in the Sow – A Review. *Reprod Dom Anim* **37**:201–205.
- REECE, William O. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Praha: Grada, ISBN 978-80-247-3282-4.
- Riesenbeck A. 2011. Review on international trade with boar semen. *Reproduction in Domestic Animals* **46**:1-3
- Roca J, Vázquez JM, Gil MA, Cuello C, Parrilla I, Martínez EA. 2006. Challenges in Pig Artificial Insemination. *Reprod Dom Anim* **41**: 43–53.
- ROZEBOOM KJ. 2000. Evaluating boar semen quality. *Animal Science Facts: Extension Swine Husbandry*. North Carolina.
- Říha J, Machatková M, Petelíková J, Jakubec V, Pytloun J, Šereda L, Pavlok A. 1999. *Biotechnologie v chovu a šlechtění hospodářských zvířat*. Výzkumný ústav pro chov skotu s.r.o., Rapotín.



- ŘÍHA, Jan et al. Reprodukce v procesu šlechtění prasat. Rapotín: Asociace chovatelů masných plemen, 2001.
- Říha J. a kol. 2003. Plemenitba hospodářských zvířat. Rapotín.
- SCHPČM. 2020: Ročenka 2019. Available from <https://www.czso.cz/csu/czso/chov-prasat-2-pololeti-2019>
- SCHULZE M, AMMON C, SCHAEFER J, LUTHER AM, JUNG M, WABERSKI D. 2017. Impact of different dilution techniques on boar sperm quality and sperm distribution of the extended ejaculate. *Animal Reproduction Science* **182**:138-145.
- SMITAL J. Ředění a konzervace kančího spermatu pro účely inseminace. *Náš chov*[online]. 2001 [cit. 2017-11-27]. Dostupné z: <http://naschov.cz/redeni-a-konzervace-kanciho-spermatu-pro-ucely-inseminace/>
- Soede, NM & Langendijk, Pieter & Kemp, Bas. (2011), Reproductive cycles in pigs. *Animal reproduction science*. 124. 251-8.10.1016/j.anireprosci.2011.02.025.
- Stupka R, Šprysl M, Čítek J. 2013. *Základy chovu prasat*. Powerprint, Praha.
- Swine reproduction: The Female. In: *Illinois Livestock Trail* [online], 2003 [cit. 2016-03-07]. Available from: <http://livestocktrail.illinois.edu/swinerepronet/paperDisplay.cfm?ContentID=6274>
- ŠMERHA J. 1980. *Reprodukce hospodářských zvířat*. Praha: SPN, 270 s
- Tereszkiewicz K, Pokrywka K. 2019. Evaluation and prediction of semen parameters of breeding boars and their use in stock management. *International Journal of Advanced and Applied Sciences*, 6(9). 48-53.
- Tummaruk P, Sumransap P, Techakumphu M, Kunovongkrit A. 2007. Distribution of Spermatozoa and Embryos in the Female Reproductive Tract after Unilateral Deep Intra Uterine Insemination in the Pig. *Reprod Dom Anim* **42**:603–609.
- Vazquez JM, Martinez EA, Roca J, Gil MA, Parrilla I, Cuello C, Carvajal G, Lucas X, Vazquez JL. 2005. Improving the efficiency of sperm technologies in pigs: the value of deep intrauterine insemination. *Theriogenology* **63**:536–547
- Vazquez JM, Roca J, Gil MA, Cuello C, Parrilla I, Vazquez JL, Martínez EA. 2008. New developments in low-dose insemination technology. *Theriogenology* **70**:1216–1224.

## 16 Seznam použitých zkratek a symbolů

AI	(Artificial Insemination) umělá inseminace
PCAI	(Post-Cervical Artificial Insemination) postcervikální umělá inseminace
Dp-CAI	(Deep-Cervical Artificial Insemination) hluboko-krčková umělá inseminace
FTAI	(Fixed-time Artificial Insemination) umělá inseminace ve fixním čase
TAI	(Timed Artificial Insemination) časovaná umělá inseminace
DUI	(Deep Intrauterine Insemination) hluboká nitroděložní inseminace
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone
hCG	Human chorionic gonadotrophin
eCG	Equine chorionic gonadotropin
LH	Luteinizing hormone
pLH	Porcine luteinizing hormone
FSH	Follicle-stimulating hormone
ETS	(Embryo transfer) embryotransfer
BTS	Beltsville Thawing Solution