

**Mendelova univerzita v Brně**

**Agronomická fakulta**

**Ústav chovu a šlechtění hospodářských zvířat**

---

**Mendelova  
univerzita  
v Brně**



**Agronomická  
fakulta**

# **Hodnocení kvality ejakulátu u ovčáckých plemen psů**

**Diplomová práce**

**Vedoucí práce:**

**Ing. Martin Hošek, Ph.D.**

**Vypracovala:**

**Tereza Leciánová**

**2017**



Prohlašuji, že jsem práci **Hodnocení kvality ejakulátu u ovčáckých plemen psů** vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

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

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

V Brně dne .....

.....  
podpis

## **Poděkování**

Děkuji Ing. Martinu Hoškovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, poskytnuté konzultace, věcné připomínky a pomoc při zpracování diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat doc. Ing. Radkovi Filipčíkovi, Ph.D., za pomoc při statistickém zpracování dat. Můj dík také patří majitelům psů, kteří byli ochotni zapůjčit je k výzkumným účelům pro mou diplomovou práci, bez nich by tato práce nemohla vzniknout. V neposlední řadě musím poděkovat své rodině, příteli a přátelům, kteří mě podporovali nejen v době vypracovávání závěrečné práce, ale po celou dobu studia a vždy mi byli oporou.

## ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá kvalitou ejakulátu u ovčáckých plemen psů. V první části jsme si zařadili ovčácké psy v rámci organizace FCI a přiblížili jsme si plemena, která hodnotíme přímo v této práci. Navázali jsme popisem anatomických a fyziologických vlastností reprodukčního orgánu psa – samce, ejakulátu, průběhu ejakulace, spermií a jejich vývojem a seznámili jsme se také s možnostmi odběru ejakulátu u psa.

V hlavní části se zabýváme samotným hodnocením ejakulátu, zaměřujeme se na makroskopické a mikroskopické vyšetření u čerstvého ejakulátu. V rámci práce bylo hodnoceno 100 ejakulátů od 28 psů řadicích se do I. FCI skupiny, každý pes byl odebrán dvakrát až čtyřikrát a z každého odběru byl vyhotoven jeden nátěr. Psi byli rozřazeni do skupin podle věku, plemene, ustájení a krmiva, u jednotlivých skupiny byly porovnávány a diskutovány zkoumané parametry kvality ejakulátu.

V rámci sledovaných ukazatelů byl prokázán vysoce statisticky průkazný ( $P \leq 0,01$ ) vliv pořadí odběru na objem získaného ejakulátu. U vyhodnocení vlivu pořadí odběru během jednoho dne byl prokázán statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) mezi prvním a druhým odběrem, kdy byl zjištěn u druhého odběru nižší objem než u prvního. Také bylo prokázáno, že tuto hodnotu ovlivňuje věk psa.

Plemenná příslušnost a věk psa dle našeho výzkumu způsobuje statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) u aktivity spermií, pořadí a ubytování má na tento ukazatel menší vliv a krmivo zcela zanedbatelný.

U koncentrace spermií v ejakulátu se nám podařilo prokázat vysoce statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) mezi věkovými skupinami psů a typem jejich ubytování. Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) jsme zjistili u pořadí odběrů. Faktory plemenné příslušnosti a krmiva měli v tomto případě minimální vliv.

Neprokázali jsme statistický rozdíl u vlivu zkoumaných faktorů na barvu a pach, z toho můžeme usuzovat, že tyto faktory měly na tyto hodnoty zanedbatelný vliv.

Z kvalitativních ukazatelů kvality spermatu jsme se zaměřili na procentuální množství změněných hlaviček, spojovacích částí, bičíků, degenerovaných a nezralých spermií. Z námi zjištěných hodnot vyplývá, že největší vliv na tyto parametry má plemenná příslušnost psa, jeho věk a u nezralých spermií také pořadí odběru.

Klíčová slova: ejakulát psa, spermie, odběr ejakulátu, vyšetření, koncentrace, objem

## **ABSTRACT**

This diploma thesis deals with the quality of ejaculate of shepherd dog breeds. In the first part we will classify shepherded dogs within the FCI organization and we will approach the breeds that we assess in this work. We will describe the anatomical and physiological characteristics of the reproductive organ of male dog, its ejaculate, ejaculation, semen and their development. We will also learn about the possibilities of dog ejaculate collection.

In the main section we will deal with the evaluation of the ejaculate and we will focus on the macroscopic and microscopic examination of fresh ejaculate. In the course of the work, 100 ejaculates from 28 dogs belonging to I. FCI group will be evaluated, each dog will be taken twice to four times and one shot will be made from each sampling. The dogs will be divided into groups according to age, breed, stabling and feeding, and the examined parameters of the quality of the ejaculate will be discussed and compared.

In terms of the monitored indicators, a highly statistically significant effect ( $P \leq 0.01$ ) of the order of collection on the volume of ejaculate obtained will be demonstrated. A statistically significant difference ( $P \leq 0.05$ ) between the first and the second sampling will be found in the evaluation of the effect of the order of collection during one day. The second volume will be found to be lower than the first one. It will be also shown that this value is affected by the age of the dog.

According to our research, breed type and age of the dog causes a statistically significant difference ( $P \leq 0,05$ ) for sperm activity. The order of collection and stabling have a

lesser influence on this indicator and the feed represents a negligible factor.

Concerning the sperm concentration in the ejaculate, we will demonstrate a statistically significant difference ( $P \leq 0.01$ ) between the age groups of the dogs and the type of their accommodation. We will find a statistically significant difference ( $P \leq 0.05$ ) in the order of sampling. The factors of breed type and feed will have minimal influence in this case.

We will not prove a statistical difference in the influence of the studied factors on color and odor, and we will be able to assert that these factors have negligible influence on these values.

As for the qualitative sperm indicators, we will focus on the percentage of altered heads, connecting parts, flagella, degenerate and immature sperm. Concerning the values, we will conclude that the breed type, the age and, in the case of immature sperm, the order of collection have the most important influence on these parameters.

Key words: dog ejaculate, sperm, ejaculate collection, its examination, concentration and volume

## OBSAH

1 ÚVOD .....	9
2 CÍL PRÁCE.....	11
3 LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	12
3.1 ZAŘAZENÍ PSA V ZOOLOGICKÉM SYSTÉMU .....	12
3.2 PLEMENA PSŮ .....	12
3.2.1 ROZDĚLENÍ PLEMEN DLE MEZINÁRODNÍ KYNOLOGICKÉ FEDERACE	12
3.2.2 OVČÁCKÁ PLEMENA .....	13
3.2.2.1 HISTORIE OVČÁCKÝCH PLEMEN .....	13
3.2.2.2 PLEMEN ZE SKUPINY FCI I – PLEMENA OVČÁCKÁ, PASTEVECKÁ A HONÁCKÁ .....	14
3.3 HISTORIE ASISTOVANÉ REPRODUKCE U PSA .....	16
3.4 POHLAVNÍ ORGÁNY PSA .....	17
3.4.1 VARLATA .....	17
3.4.2 NADVARLATA.....	18
3.4.2.1 HLAVA NADVARLETE .....	18
3.4.2.2 TĚLO NADVARLETE.....	19
3.4.2.3 OCAS NADVARLETE .....	19
3.4.3 VÝVODNÉ POHLAVNÍ CESTY.....	20
3.4.3.1 PŘÍMÉ KANÁLKY .....	20
3.4.3.2 VARLETNÍ SÍŤ .....	20
3.4.3.3 ODVODNÉ KANÁLKY .....	20
3.4.4 CHÁMOVODY .....	21
3.4.5 PŘÍDATNÉ POHLAVNÍ ŽLÁZY .....	21
3.4.6 PENIS (PYJ) .....	21
3.4.7 ŠOUREK.....	22
3.4.8 CÉVY.....	22
3.4.9 SVALY SAMČÍHO POHAVNÍHO ÚSTROJÍ.....	22
3.5 REPRODUKCE PSA SAMCE .....	23
3.5.1 EJAKULÁT PSA.....	23
3.5.1.1 TVORBA SPERMÍÍ.....	24
3.5.1.1.1 Spermatogeneze.....	24
3.5.1.1.2 Spermatocytogeneze .....	24



3.5.1.1.3 Spermatohistogeneze .....	25
3.5.1.2 SPERMIE .....	26
3.5.1.2.1 Chemické složení spermií.....	31
3.5.1.3 SEMENNÁ PLAZMA .....	31
3.5.2 VLIV NEUROHORMONÁLNÍHO SYSTÉMU NA REPRODUKCI.....	31
3.5.2.1 GONADOTROPIN RELEASING HORMON .....	32
3.5.2.2 FOLIKULY STIMULUJÍCÍ HORMON .....	32
3.5.2.3 LUTEINIZAČNÍ HORMON .....	32
3.5.2.4 TESTOSTERON .....	33
3.5.2.5 INHIBIN.....	33
3.5.3 EJAKULACE .....	33
3.5.4 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU .....	34
3.5.4.1 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU MASTURBACÍ PENISU.....	34
3.5.4.2 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU DO UMĚLÉ VAGÍNY.....	35
3.5.4.3 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU ELEKTROEJAKULACÍ.....	36
3.5.4.4 PŘÍČINY NEÚSPĚŠNÉHO ODBĚRU EJAKULÁTU.....	36
3.6 HODNOCENÍ EJAKULÁTU PSA.....	36
3.6.1. MAKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ EJAKULÁTU.....	37
3.6.1.1 OBJEM.....	37
3.6.1.2 BARVA .....	38
3.6.1.3 PACH .....	38
3.6.1.4 CIZÍ PŘIMÍSENINY .....	38
3.6.2 MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ EJAKULÁTU .....	39
3.6.2.1 POHYBLIVOST (AKTIVITA) SPERMÍÍ.....	39
3.6.2.2 KONCENTRACE SPERMÍÍ .....	40
3.6.2.3 MORFOLOGIE SPERMÍÍ.....	41
4 MATERIÁL A METODIKA .....	43
4.2 SLEDOVANÉ FAKTORY .....	43
4.2.1 POŘADÍ ODBĚRU .....	43
4.2.2 PLEMENNÁ PŘÍSLUŠNOST .....	44
4.2.3 VĚK .....	44
4.2.4 TYP UBYTOVÁNÍ .....	44
4.2.5 KRMIVO .....	44

4.3 SLEDOVANÉ UKAZATELE KVALITY EJAKULÁTU .....	45
4.3.1 OBJEM .....	45
4.3.2 BARVA.....	45
4.3.3 PACH.....	45
4.3.4 AKTIVITA SPERMÍÍ.....	45
4.3.5 KONCENTRACE SPERMÍÍ.....	46
4.3.6 MORFOLOGICKÉ HODNOCENÍ.....	47
5 VÝSLEDKY A DISKUZE .....	48
5.1 OBJEM EJAKULÁTU .....	48
5.2 AKTIVITA SPERMÍÍ .....	51
5.3 KONCENTRACE SPERMÍÍ.....	53
5.4 BARVA .....	55
5.5 PACH.....	56
5.6 ZMĚNY NA HLAVIČCE.....	58
5.7 ZMĚNY NA SPOJOVACÍ ČÁSTI .....	60
5.8 ZMĚNY NA BIČÍKU .....	62
5.9 DEGENERACE.....	64
5.10 NEZRALÉ SPERMIE .....	66
6 ZÁVĚR.....	68
7 LITERATURA.....	71
8 SEZNAM OBRÁZKŮ .....	77
9 SEZNAM TABULEK.....	78

## 1 ÚVOD

Pes je považován za jedno z prvních domestikovaných zvířat a tak doprovází člověka již mnoho tisíc let, bohužel se vědci neshodují na přesnější časovém období, kdy divocí vlci skutečně začali žít s člověkem. Vzhledem k tomu, že se vlci mimo jiné živili i mršinami, bylo pro ně výhodné zdržovat se v blízkosti lidských sídel a tak se mohlo stát, že si vlci na přítomnost lidí zvykli. Je ovšem nepravděpodobné, že by se dospělý vlk začlenil do lidské společnosti, proto se předpokládá, že si lidé osvojili vlčí mláďata, ta byla schopná se alespoň částečně začlenit do společnosti lidí. Vzájemné soužití lidí a psů bylo nejspíše na začátku založeno na citovém vztahu, protože pes v té době neměl žádný konkrétní účel. Postupem času si ovšem člověk začal přetvářet psa k obrazu svému a dělat z něj nepostradatelného pomocníka při nejrůznějších činnostech a úkonech. Psi se začali využívat k loveckým účelům, strážení, nebo nahánění stád již domestikovaných zvířat.

Lidé si psi přetvářeli v různých částech světa dle různých měřítek a kritérií k nejrůznějším potřebám a tak vznikla opravdu široká škála plemen psů, kteří se od sebe liší vzhledově i povahově. Dle Mezinárodní kynologické federace jich je téměř 500 a stále přibývají další. Využití psů je v dnešní době opravdu široké, stále je spousta psů, kteří slouží jen jako společníci svým pánům, některá plemena jsou přímo za tímto účelem vyšlechtěna, ale velké množství psů je využíváno k práci, či sportu. Psi jsou využíváni našimi bezpečnostními složkami, kdy vyhledávají drogy a výbušniny, pomáhají zastavit pachatele trestných činů, také díky svému skvělému čichu hledají pohřešované osoby nebo osoby zahrabané pod sutinami, či sněhem. K dalšímu pracovnímu využití psů patří canisterapie, nebo pomáhání nevidomým, či jinak handicapovaným lidem. Některá plemena jsou vyšlechtěna k hlídání stád hospodářských zvířat, jiná k nejrůznější manipulaci se zvířaty, kdy jsou psi pro farmáře nepostradatelnými pomocníky. V neposlední řadě jsou psi využíváni i k lovu divoké zvěře, kdy člověku pomáhají třeba vyhledat raněné kusy. V dnešní době je velmi moderní sportovní využívání psů, často jde o práci převedenou do sportovního odvětví, jako například sportovní pasení, či myslivost. Nemálo psích sportů však vzniklo pouze pro zabavení psa i majitele, kdy spolu musí oba velmi dobře komunikovat a úspěchy stojí nemálo času a trénování, k těmto sportům patří například agility, obedience, flyball a další.

Abychom udrželi, nebo ještě lépe zlepšili vlastnosti psů využívaných při věch odvětvích, je velmi důležitá kvalitní reprodukce, kdy se v rámci šlechtění jednotlivých plemen utvrzují a vyzdvihují požadované vlastnosti. Na úspěšnost reprodukce má samozřejmě vliv

nejen samice, ale i samec. Úspěšné oplození vajíčka závisí na kvalitě ejakulátu a to konkrétně na počtu spermií, jejich koncentraci a aktivitě, na schopnosti se pohybovat a jejich životaschopnosti. V současné době je reprodukce nejen u zvířat, ale i v lidské společnosti velmi diskutovaným tématem. V rámci chovatelské praxe je dobré se na kvalitu ejakulátu zaměřit a sledovat všechny ukazatele reprodukce.

## **2 CÍL PRÁCE**

Cílem diplomové práce je zhodnocení ejakulátu u ovčáckých plemen psů, jejich rozdělení do skupin dle plemene, věku, ustájení a krmiva a u jednotlivých skupin porovnat a diskutovat zkoumané kvantitativní i kvalitativní parametry ejakulátu. Diplomová práce navazuje na práci bakalářskou, v úvodu si připomínáme pohlavní orgány psa – samce, proces tvorby spermií, jejich morfologii, odběr ejakulátu a metody makroskopického i mikroskopického hodnocení.

## **3 LITERÁRNÍ PŘEHLED**

### **3.1 ZAŘAZENÍ PSA V ZOOLOGICKÉM SYSTÉMU**

Říše: Živočichové (*Animalia*)

Kmen: Strunatci (Chordata)

Podkmen: Obratlovci (Vertebrata)

Třída: Savci (Mammalia)

Řád: Šelmy (Carnivora)

Podřád: Pozemní šelmy (Fisioedia)

Nadčeleď: Cynofeloidea

Čeleď: Psovité (Canidae)

Rod: Vlk (Canis)

Druh: Pes domácí (Canis lupus familiaris)

### **3.2 PLEMENA PSŮ**

Plemenem rozumíme skupinu (populaci) zvířat stejného fylogenetického původu, která vznikla za určitých sociálně ekonomických podmínek v určitém místě. Oproti jiným skupinám (plemenům) se vyznačuje společnými znaky a vlastnostmi. Tato skupina musí být dostatečně početná, aby se mohla rozmnožovat bez páření s jedincem jiného plemene či příbuznými jedinci. Znaky a vlastnosti typické pro plemeno se přenáší na potomstvo. (Hrouz, Šubrt, 2000).

#### **3.2.1 ROZDĚLENÍ PLEMEN DLE MEZINÁRODNÍ KYNOLOGICKÉ FEDERACE**

Mezinárodní kynologická federace neboli FCI vznikla v roce 1911, díky dlouhodobé a cílevědomé práci v chovu a šlechtění psů po celém světě v dnešní době sdružuje 80 členských zemí a eviduje 468 plemen psů.

#### **ROZDĚLENÍ PLEMEN**

I. - plemena ovčácká, pastevecká a honácká

II. - pinčové, knírači, plemena molossoidní a švýcarští salašníčtí psi

III. - teriéři

IV. - jezevčáci

V. - špicové a tzv. primitivní plemena

VI. - honiči a barváři

VII. - ohaři

VIII - slídiči, retrieveři a vodní psi

IX. - plemena společenská

X. - chrti

N - FCI neuznaná plemena

(<http://www.cmku.cz/index2.php?stranka=plemena> 16.2. 2014)

### **3.2.2 OVČÁCKÁ PLEMENA**

Do této skupiny se řadí plemena, která mají pastevecký původ. Většina z nich byla vyšlechtěna k držení stáda zvířat (nejčastěji ovcí, ale i koz, krav a dalších) pohromadě a zabráňovala jim v přístupu do polí, později do silnic při vypásání strání. Povahově se tyto psi vyznačují samostatností a iniciativností. Díky těmto schopnostem a také dobrou spoluprací s člověkem se mnoho plemen této skupiny prosadilo jako psi služební. Nejrozšířenějším plemenem z ovčáckých psů je v ČR německý ovčák, stále oblíbenější se stávají také border kolie, šeltie, belgičtí či švýcarští ovčáci a další.

#### **3.2.2.1 HISTORIE OVČÁCKÝCH PLEMEN**

Četné kosterní nálezy psů na různých světadílech svědčí o tom, že vývoj a zdomácnění psa probíhaly na různých místech světa. Na území dnešního Iráku a Íránu byly objeveny nejstarší nálezy předků psů se známkami domestikace, patří zhruba do doby před 10 000 – 15 000 roky. Spolu s těmito kosterními pozůstatky byly nalezeny i pozůstatky koz, proto se

dodnes neví, které z těchto zvířat bylo domestikováno člověkem dříve (Slimák, Duchaj, 1973).

Za předka ovčáků se označuje *Canis familiaris matris optima*e (pes bronzový), který pochází z doby bronzové. Původ ovčáckých psů tedy datujeme do let 4000 – 5000 př. n. l. (Pokorná, 2007).

### **3.2.2.2 PLEMEN ZE SKUPINY FCI I – PLEMENA OVČÁCKÁ, PASTEVECKÁ A HONÁCKÁ**

Americko-kanadský ovčák

Australská kelpie

Australský ovčák

Bearded kolie (Bradatá kolie)

Beauceron (též francouzský ovčácký pes, Beaucký ovčák)

Belgický ovčák - Groenendael

Belgický ovčák - Laekenois

Belgický ovčák - Malinois

Belgický ovčák - Tervueren

Bergamský ovčák

Bílý švýcarský ovčák

Bobtail (též Staroanglický ovčák)

Border kolie

Briard

Československý vlčák

Holandský ovčácký pudl - šápendús

Holandský ovčák



Chorvatský ovčák

Jihoruský ovčák

Katalánský ovčák

Kolie dlouhosrstá

Kolie krátkosrstá

Komondor

Kuvasz

Malorský ovčák

Maremmansko-abruzský pastevecký pes

Mudi

Německý ovčák

Německý pinč

Pikardský ovčák

Podhalaňský ovčák

Polský ovčák nížinný

Portugalský ovčák (také Cao de Serra de Aires)

Puli

Pumi

Pyrenejský ovčák

Rumunský pastevecký pes - carpatin

Saarlosův vlčák

Sheltie

Slovenský čuvač

Šiperka

Tornjak

Welsh Corgi Cardigan

Welsh Corgi Pembroke

(<http://www.pejskar.cz/plemena-ovcacka-pasteveck-a-honacka-k1/ovcacti-psi-k10/> , 16. 2.2014)

### 3.3 HISTORIE ASISTOVANÉ REPRODUKCE U PSA

Nejstarší zmínky o umělé inseminaci se dochovaly z dob 800 let před naším letopočtem, a to v podobě ság, vyprávění nebo obrazových materiálů. Výskyt první zmínky o přenosu semene se v arabském písemnictví datuje do roku 1286, v tomto případě šlo o přenos semene koně. Ze 14. století pocházejí další historické podklady k inseminaci, v těch se uvádí, že se roku 1332 podařilo arabskému náčelníkovi získat semeno hřebce, který byl chovatelsky velmi cenný, pomocí chomáče chlupů z pochvy připouštěné klisny. Chomáč s takto získaným semenem vložil do pochvy druhé klisny, která byla v tu dobu také v říji, a ta následně zabřezla. Další velmi pozoruhodné pokusy prováděl italský mnich Lazzaro Spallanzani, který v letech 1779–1785 pokusy s osemeňováním fen a jiker ryb (Gamčík a Kozumplík, 1992). První asistovanou reprodukci u savců provedl Abbé Lazzaro Spallanzani, popsal ji právě na psech v roce 1784 (Dostál, 2007). Pomocí umělé inseminace prokázal oplozovací schopnost samčího spermatu, ale chybně ji přičítal chemickému vlivu semenné tekutiny na vajíčko. K tomuto omylu došlo z toho důvodu, že předpokládal odstranění spermií pomocí filtrace ze vzorku ejakulátu. Prevots s Dumasem přišli až v roce 1824 se sdělením, že Spallanzaniho závěry jsou mylné (Gamčík a Kozumplík, 1992). První umělou vagínu, určenou pro odběr psího ejakulátu, vyvinul v roce 1914 italský fyziolog Giuseppe Amanteo, tak bylo poprvé možné získat kompletní psí ejakulát. U jiných druhů zvířat se začaly umělé pochvy často využívat ve 20. letech, to dalo impuls k dalšímu rozsáhlému spermiologickému výzkumu (Rob a Herčík, 1987). První inseminace ze všech druhů zvířat byla použita právě u psů, ale první štěňata po umělé inseminaci mrazeným spermatem popsal až v roce 1969 Seager. Vzápětí následoval rychlý rozvoj inseminace mrazeným spermatem. V dnešní době jsou chovatelé po celém světě schopni tuto metodu využívat k produkci vynikajících jedinců. To byl důvod, proč FCI rozhodla o tom, že štěně narozené po inseminaci nesmí být zapsáno do

plemenné knihy bez toho, aby jeho oba rodiče prokázali, že jsou schopni přirozeného krytí a dali po tomto krytí životaschopné potomstvo (Dostál, 2007).

### **3.4 POHLAVNÍ ORGÁNY PSA**

Schopnost rozmnožování je jedna ze základních vlastností všech forem živé hmoty. Schopností rozmnožovat se, vytvářet nové jedince, zajišťují organismy zachování druhu, předávají život z pokolení na pokolení. Proces rozmnožování v přírodě probíhá v zásadě dvojnásobným způsobem, jednak pohlavně (sexuálně), nebo nepohlavně – vegetativně (asexuálně).

Při pohlavním rozmnožování je podmínkou vzniku nového jedince existence a vzájemné splynutí dvou speciálních buněk, tj. pohlavních buněk – gamet. Pohlavní rozmnožování představuje kvalitativně dokonalejší typ rozmnožování a je charakteristické pro vyšší organismy.

K zajištění rozmnožovací funkce se během vývoje živočichů vyvinulo několik specializovaných orgánů, sloužících k tvorbě pohlavních buněk a umožňujících jejich spojení. Podle těchto orgánů se následně většina živočichů dělí na jedince samčího a samičího pohlaví. Přes tento pohlavní dimorfismus mají samčí i samičí orgány stejný vývojový původ a v podstatě mají i stejný stavební princip (Marvan, 2007).

Pohlavní orgány samce se skládají z pohlavních žláz, vývodných cest, přídatných pohlavních cest a kopulačního orgánu. V prenatálním období vznikají pohlavní žlázy (gonády, varlata) z pohlavní řasy. Vývodné cesty (nadvarlata, chámovody) z Wolfových vývodů. *Z tuberculum genitále* Cowperovy žlázy, prostata a močopohlavní cesty (Gamčík a Kozumplík, 1992).

#### **3.4.1 VARLATA**

Varlata jsou uložena mimo tělní dutinu v šourku. Tento párový orgán, plní dvě základní funkce, kdy se v točitých semenotvorných kanálcích vytvářejí spermie, druhou funkcí je tvorba androgenů v intersticiálních Leydigových buňkách (inkretorická činnost) (Gamčík, Kozumplík et al., 1984).

Zárodečné buňky, ze kterých vznikají spermatozoa, se neustále dělí v průběhu života. Spermie se hromadí a dozrávají v součásti varlete, v nadvarletí. Tam se zahušťuje sperma a zajišťuje se výživa pro zralé spermie, které čekají na dobu páření. K tzv. anabióze, neboli

zimnímu spánku spermií, dochází v době klidu. Dojde-li ke krytí, rychle se vzbudí a jsou připraveny splnit svou úlohu, jestli ne, po 1-2 měsících zaniknou a organismus je vstřebá (Marvan, 2007).

Velikost varlat psa se odvíjí od plemenné příslušnosti, průměrně jsou velká 3 x 2 x 1,5 cm. Pro správný vývoj spermií je velmi důležitá nízká teplota, která je udržována několika mechanismy (Čtyřoká, 2002).

Během prenatalního vývoje plodu vzniká v břišní dutině základ varlat, štěňata se tak i rodí (Procházka, 2005). Varlata u psů sestupují do šourku během prvních osmi týdnů života, do té doby se nachází buď v tříselném kanálku, nebo v dutině břišní. Pokud varlata nesestoupnou po osmi týdnech stáří psa, je tento stav považován za abnormální. V případě, že jedno, nebo obě varlata nesestoupnou vůbec, dojde ke stavu nazývaném kryptorchismus.

Kůže šourku je tenká, pigmentovaná, obsahuje potní žlázy a je pokryta jemným ochlupením (Svoboda, Senior et al. 2001).

### **3.4.2 NADVARLATA**

Nadvarle je orgán vytvořený nahloučením kliček vývodných kanálků varlete a kliček vývodu nadvarlete. Nadvarle je podélně upevněno na margo epididymalis varlete a na kaudální ploše mesorchia. U nadvarlete rozlišujeme hlavu, tělo a ocas (Najbrt et al., 1982). Hlavní funkcí nadvarlete je shromažďování spermií, které ukládá do zásob. Spermie zde dozrávají a také získávají schopnost pohybu (Věžník et al., 2004). Průchod nadvarletem trvá spermii 8-11 dnů (GAMČÍK, KOZUMPLÍK et al., 1984).

#### **3.4.2.1 HLAVA NADVARLETE**

Hlava nadvarlete doširoka překrývá hlavový konec nadvarlete a je k němu pevně připojená. Složená je z 15 až 20 lalůčky, ty tvoří kličky odvodných kanálků varlete (Marvan, 2007). Spermie jsou do nadvarlete dopravovány proudem tekutiny ze semenotvorných kanálků. Dále dochází ke značné resorpci této tekutiny společně s tekutinou testikulární (Reece, 1998). V této části nadvarlat dochází jednak k zahušťování spermií a také k fagocytóze spermií poškozených. Všechny odvodné kanálky se na přechodu hlavy a těla nadvarlete slučují v jediný vývod (Gamčík a Kozumplík, 1992).

### **3.4.2.2 TĚLO NADVARLETE**

Tělo nadvarlete je volně připojeno k varleti, plynule navazuje na hlavu nadvarlete a má tvar protáhlého oblouku (Marvan, 2007). V těle nadvarlete je prostředí bohaté na tuky a další prospěšné látky pro spermie, zvyšuje se zde odolnost povrchových membrán spermií. Tělo nadvarlete se před dosažením ocasního konce varlete zřetelně rozšiřuje a přechází tak v ocas nadvarlete (Doležal et al., 2001).

### **3.4.2.3 OCAS NADVARLETE**

Ocas nadvarlete slouží jako vývod nadvarlete, tedy četné silně zprohýbané meandrovité kličky, které jsou propojené řídkým vazivem. Má tubě zaoblený, kuželovitý tvar (Marvan, 2007). Vývodné kanálky se spojují v jediný klikatě probíhající vývod. V rozvinutém stavu může u psa měřit až osm metrů (Jelínek a Koudela, 2003). V ocasu nadvarlete se shromažďují spermie, než dojde k ejakulaci, slouží tedy jako dočasný rezervoár. Vývod nadvarlete se pozvolna směrem k chámovodu rozšiřuje. Stěnu tvoří epitel a vrstva řídkého vaziva. Buňky tohoto vaziva, mimo jiného, vylučují do lumen vývodu sekret poskytující spermiím výživu. Sekret slouží k blokaci motility spermií, čímž zabraňuje vyčerpání jejich nepatrné energetické zásoby, je mírně kyselé povahy (Marvan, 2007). Při ejakulaci dochází ke styku s prostatickým sekretem, který obnovuje pohyblivost spermií. Spermie, které nejsou využity, zůstávají v nadvarleti asi 40 dní, později se rozpadají, vstřebávají a tím uvolňují místo pro nové spermie (Gamčík a Kozumplík, 1992). Průchod spermie celým nadvarletem trvá přibližně osm až jedenáct dní, morfologicky lze poznat dozrávání spermií odloučením protoplazmatické kapky od spermie (Jelínek a Koudela, 2003). Při průchodu nadvarletem spermie postupně získávají schopnost pohybu v před za hlavičkou a také schopnost oplodnit vajíčko. Během této doby ve spermií dochází také ke změně jaderného chromatinu a změně povrchové struktury plazmatické membrány.

V ocasu nadvarlete se shromažďuje přibližně 70% spermií z celkové produkce, mnoho vytvořených spermií je fagocytováno už ve vývodném systému, kterým procházejí, nebo odcházejí společně s močí (Reece, 1998).

### **3.4.3 VÝVODNÉ POHLAVNÍ CESTY**

Vývodné pohlavní cesty slouží u samce v první řadě k odvodu spermií, ale také jako jejich rezervoár nebo k odvodu výměšků přídatných pohlavních žláz. Tvoří je několik oddílů, které se od sebe liší vývojově, morfologicky i funkčně. Tyto oddíly na sebe navazují (Marvan, 2007).

Jednotlivé oddíly vývodných pohlavních žláz jsou:

#### **3.4.3.1 PŘÍMÉ KANÁLKY**

Přímé kanálky vznikají uvnitř lalůček varlete a to spojením stočených semenotvorných kanálků. Tyto kanálky vystýlá jednovrstevný kubický až cylindrický epitel. Má jen krátký průběh a ústí do varletní sítě (Marvan, 2007).

#### **3.4.3.2 VARLETNÍ SÍŤ**

Varletní je uložena ve středovém vazivu varlete. Je tvořena soustavou nepravidelných štěrbinových prostorů a kanálků, které jsou vzájemně propojeny, tyto kanálky a dutinky slouží jako sběrací systém spermií. Vystýlá je jednovrstevný kubický nebo dlaždicový epitel (Marvan, 2007).

#### **3.4.3.3 ODVODNÉ KANÁLKY**

Odvodné kanálky mají funkci převodního systému, na hlavovém konci varlete vystupují z varletní sítě v podobě 15-20 rovných trubiček. Následně se spirálově stácejí a tvoří tak kuželovité lalůčky, které jsou spojeny s hlavou nadvarlete pomocí vaziva (Schillo, 2009). Odvodné kanálky vystýlá epitel cylindrický, víceřadý až vícevrstvý, obsahuje také vysoké buňky s kinociliemi a nižší sekreční buňky (Marvan, 2007). Ještě nepohyblivé spermie jsou pomocí kmitavých pohybů řasinek plynule a rovnoměrně dopravovány z varletní sítě do vývodu nadvarlete (Svoboda et al., 2001).

### **3.4.4 CHÁMOVODY**

Chámovod spojuje vývod nadvarlete s močovou trubicí, je to párová silnostěnná trubička tloušťky stébla až brku. Jejich hlavním úkolem je aktivní transport spermií do močové trubice, spermie se v chámovodu mísí se semennou plazmou (Čtyřoká, 2002). Chámovod vystupuje z ocasu nadvarlete, pak prochází šourkovou dutinou, tříselným kanálem a dutinou břišní se dostává do dutiny pánevní až na dorzální plochu močového měchýře. V břišní dutině je chámovod spolu s varletní tepnou, žílou a nervem, lymfatickými cévami, svalem a vnitřním zdvihačem varlete obalen útrobním listem poševního obalu, který je spojuje do semenného provazce (Věžník et al., 2004).

Pes patří mezi samce, kteří nemají ampuly na chámovodu, takže se spermie dostávají do močové roury při ejakulaci přímo z ocasu nadvarlete kontrakčními vlnami celého chámovodu (Jelínek a Koudela, 2003).

### **3.4.5 PŘÍDATNÉ POHLAVNÍ ŽLÁZY**

Prostata je u psů jedinou přídatnou pohlavní žlázou. Leží přibližně v polovině pánve okolo kraniální části utery asi 1 cm za krčkem močového měchýře. Sekret prostaty se vylučuje při ejakulaci těsně před spermii a zároveň s nimi. Sekret prostaty obsahuje volné aminokyseliny, je v něm relativně vysoký obsah anorganických solí, které udržují stejný osmotický tlak v ejakulátu, ale nejsou v něm cukry (Gamčík, Kozumplík et al., 1984). Funkce sekretu je výživa spermií, aktivuje je a chrání před bakteriemi, upravuje prostředí a ředí ejakulát (Čtyřoká, 2002). Prostata je tuhoelastický kulovitý útvar s mediální prohlubeninou, na dorzální straně rozdělena na dvě symetrické části s hladkým povrchem. Délka, šířka a tloušťka prostaty se liší podle velikosti plemene, ale u pohlavně dospělého psa se v průměru pohybuje od 1,4 – 1,9 cm do 2,5 – 2,8 cm (Svonoda, Senior et al., 2001).

### **3.4.6 PENIS (PYJ)**

Penis je kopulační orgán určený k vpravení spermatu do pochvy, eventuálně dělohy feny (Procházka, 2005). Aby mohl plnit tuto funkci, má zvláštní stavbu, která mu umožňuje se při pohlavním vzrušení napřímit a zpevnit, aby mohl být do genitálu samice snáze zasunut (Marvan, 2007). Je tvořen dlouhým žaludem a topořivým tělesem, které obkružuje zadní část

pyjové kosti, ta tvoří podpěru penisu, pyjová kost dosahuje délky až 10 cm. Topořivé těleso zajišťuje svázání psa s fenou (Čtyřoká, 2002).

Konečná část pyje – žalud, je intenzivně inervována a v jeho sliznici nacházíme početná senzitivní tělíska. Pomocné svaly pyje sloužící ke spojení kořenu penisu s pánví a ocasionální obratli, umožní ztopoření pyje a jeho umístění do polohy vhodné pro páření – napřimovač pyje. Zatahovač pyje slouží k zatažení pyje po kopulaci zpět do předkožky (Gamčík, Kozumplík et al., 1984).

Penis je přibližně válcovitého tvaru, u některých plemen psů je až 25 cm dlouhý a 2 – 3 cm silný (Najbrt et al., 1982).

### **3.4.7 ŠOUREK**

Šourek je kožní vak sloužící k uložení varlat, nadvarlat a semenného provazce (Marvan, 2007). Šourek také plní funkci mechanické ochrany pro varlata a nadvarlata, zajišťuje termoregulaci a je to oblast sexuálního dráždění. Šourek je náchylný ke zranění. Při zánětu dojde ke zvýšení teploty, což narušuje funkci varlat (Čtyřoká, 2002). Pod kůží šourku je vrstva buněk hladké svaloviny, která za chladných vnějších podmínek kontrahuje a přidržuje tak varlata blíže k břišní stěně (Reece, 1998).

### **3.4.8 CÉVY**

K pánevní části močové trubice, přídatným pohlavním žlázám a pyji je krev přiváděna větvemi vnitřní stydké tepny, šourek a předkožka jsou krveny větvemi zevní stydké tepny. Krev pro varlata, nadvarlata a chámovody je přiváděna varletní a tepnou chámovodu. Stejnomené žíly pak odvádí odkysličenou krev z jednotlivých orgánů (Marvan, 2007).

### **3.4.9 SVALY SAMČÍHO POHAVNÍHO ÚSTROJÍ**

Zdvíhač varlete odstupuje z kaudální části vnitřního břišního šikmého svalu, prochází tříselným kanálem a následně se napojuje na vnější parietální vrstvu vlastního obalu varlete. Úkol tohoto svalu spočívá v zatahování varlat nahoru k vnějšímu tříselnému prstenci a to převážně při nízkých okolních teplotách. Tento sval je tvořen vlákny hladko-svalových buněk, napomáhá udržovat integritu semenného provazce, který obklopuje.



Musculus urethralis obaluje pánevní část močové trubice, je pokračováním hladko-svalové stěny močového měchýře v oblasti pánve. Slouží k napomáhání transportu moči a semene pánevní částí močové trubice.

Svaly napřimovače pyje jsou příčně pruhované párové svaly, odstupují od laterální strany sedacího oblouku a upínají se na tělo penisu, při jejich smrštění dochází k zatažení penisu ke spodině pánevní.

Zatahovač pyje je hladký sval, jehož dvě části odstupují ze závěsných vazů konečníku, následně se upínají na tělo penisu. Spojují se na spodní straně penisu a dále pokračují dopředu k žaludu. Tento sval slouží k zatažení ochablého penisu zpět do předkožky (Reece, 1998).

### **3.5 REPRODUKCE PSA SAMCE**

Psi pohlavně dospívají většinou o něco později než feny stejného plemene. Obvykle spermatogeneze nastupuje okolo pátého či šestého měsíce, ale zralé spermie lze prokázat až od devátého, případně desátého měsíce. Plnohodnotný ejakulát můžeme očekávat až od psů starších dvanácti měsíců (Doležal et al., 2001).

U psů je reprodukční aktivita vyvolána dostatečnou produkcí pohlavního hormonu testosteronu, ten se vytváří ve varlatech díky vlivu hormonů z podvěsku mozkového. Testosteron ovlivňuje tvorbu spermií, vývoj sekundárních pohlavních znaků psa a také jeho chování.

Spermie se tvoří celý život psa (Kvapil, Kvapilová, 2007). Po 8-9 roce stáří psa se ale kvalita ejakulátu snižuje, ovšem libido sexualis většinou přetrvává do pokročilého věku (Svoboda, Senior et al., 2001).

#### **3.5.1 EJAKULÁT PSA**

Ejakulát (sperma, semeno či chám) je tekutina, která se skládá z buněčné části – spermií, a z tekuté části – semenné plazmy (Marvan, 2007). Objem ejakulátu je variabilní a mění se podle plemene, velikosti psa, věku, frekvence ejakulace a stupně dráždění. Objem ejakulátu se běžně pohybuje mezi 1 a 40 ml (Kvapil, Kvapilová, 2007).

Ejakulace u psa probíhá ve třech fázích, ty jsou na sobě závislé, ovšem na zcela zřetelně oddělené:

1. **Prespermatická frakce** je nažloutlá tekutina z prostaty, obvykle má objem 0,2 až 3 ml. Vylučuje se v průběhu kopulačních pohybů psa a to po dobu 5 až 20 sekund. Tato frakce obsahuje spermie jen ojediněle.
2. **Spermatická frakce** je bílá až mléčně zbarvená tekutina o objemu 0,5 až 12 ml. Její uvolňování začíná až po zklidnění psa, při maximálně zduřelém pyji. Vylučování této frakce trvá 30 sekund až 4 minuty, obsahuje spermie.
3. **Postspermatická frakce** je mírně zkalená tekutina pocházející z prostaty o objemu 2 až 30 ml. Je vylučována po spermatické frakci v době svázání, trvá přibližně 5 až 15 minut a většinou neobsahuje spermie. U jedinců, kteří jsou velmi citliví, může i při zachování všech pohlavních reflexů (erekce, pulzace utery) výjimečně docházet k částečné nebo úplné retrográdní ejakulaci směrem k močovému měchýři (Doležel et al., 2001).

### **3.5.1.1 TVORBA SPERMIÍ**

#### **3.5.1.1.1 Spermatogeneze**

Spermatogeneze je složitý proces tvorby spermií, který probíhá v semenotvorných kanálcích varlat. Spermatogenní cyklus je tvořen obdobím rozmnožování, miózy a metamorfózy.

Spermatogenezi dělíme na dvě etapy: spermatocytogeneze, při které dochází k rozmnožování, růstu a zrání. Druhou nazýváme spermatohistogeneze, při níž dochází k přeměně spermatid na spermie (Sova et al., 1981).

#### **3.5.1.1.2 Spermatocytogeneze**

Pro období rozmnožování je typické opakování mitotického dělení původních kmenových buněk – A spermatogonií (primordiálních gonocytů). Všechny tyto mateřské buňky A – spermatogonie se rozdělují na dvě nestejně velké dceřiné buňky. Jedna z nich je větší a podobná mateřské buňce, ta zůstává delší dobu v „latentním stadiu“. Druhá je menší, nazýváme ji intermediální buňkou (typ  $I_m$ ), ta se opětovně několikrát dělí na buňky typu B

(spermatogonie). Během závěru rozmnožovací fáze se dělí B – spermatogonie a vznikají spermatoocyty I. řádu (primární spermatoocyty).

Následuje období růstu, kdy spermatoocyty I. řádu zvětšují svůj objem.

Pro třetí období – období zrání (meiózy) jsou typické dvě po sobě jdoucí dělení a díky tomu dochází k redukci počtu chromozomů na polovinu. Z diploidního počtu chromozomů se stane haploidní počet chromozomů a dochází tak k rekombinaci vloh. Vstupují do ní spermatoocyty I. řádu a během prvního meiotického dělení vznikají dva spermatoocyty II. řádu. Při druhém meiotickém dělení vznikají čtyři spermatidy charakteristické přítomností jednoho sexchromozomu – X chromozom nebo Y chromozom. Při braní zřetele na sexchromozomy je poměr spermatid 50:50 (Jelínek, Koudelka et al., 2003).

Pro první meiotické dělení je charakteristická velmi dlouhá profáze. Ta je složena z leptotenního stádia, zygotenního stádia, pachytenního stádia, diplotenního stádia a diakeneze, jejíž výsledkem jsou dvě haploidní buňky – sekundární spermatoocyty (SOVA et al., 1981).

Během druhého meiotického dělení se ze sekundárních spermatoocytů vytvářejí spermatidy, vznikly mitotickým rozdělením spermatoocytů II. řádu a mají také haploidní počet chromozomů. Následný složitý proces metamorfózy na bičkaté spermie prodělávají spermatidy v záhybech cytoplazmatické membrány (Marvan et al., 1992).

Při vývoji spermií se jednotlivá stádia posunují k luminu kanálků, tudíž na příčném histologickém řezu můžeme vidět několik buněčných generací nad sebou. Rozdíl mezi cykly je asi  $\frac{1}{4}$  délky celého cyklu, proto v řezu zaznamenáváme čtyři buněčné generace nad sebou, každá z jiného cyklu. Z jednoho primárního spermatoocytu vznikají čtyři spermatidy a tím se uzavírá fáze spermatoocytogeneze (Sova, et., al., 1981).

### **3.5.1.1.3 Spermatohistogeneze**

Během spermiohistogeneze prochází spermatidy posledními strukturálními změnami a mění se do formy zralé spermie. V průběhu této fáze dochází k transformaci jádra spermatidy, mění se jádro chromatinu při ztrátě tekutiny a kondenzace do krystalické formy deoxyribonukleové kyseliny. K tomuto procesu je přidružená tvorba akrozomálního aparátu, který má základ v Golgiho aparátu (Věžník et al., 2004).

Samotný průběh metamorfózy můžeme charakterizovat tvorbou pohybového aparátu – bičíku a akrozomu na hlavičce spermie, který je potřebný k vniknutí spermie do vajíčka. Metamorfózu můžeme rozdělit na stadium Golgiho, stadium akrozomové čepičky, kaudální manžety a zrání.

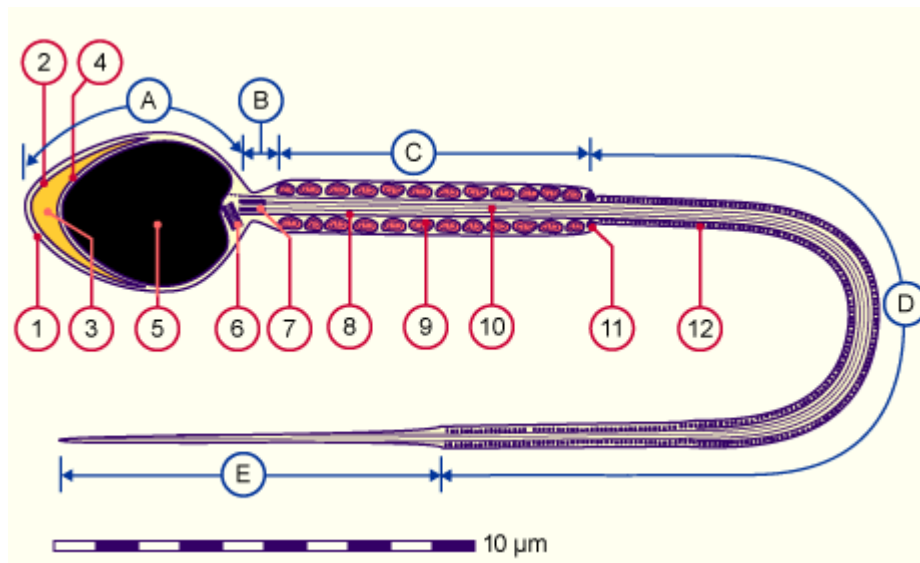
Během spermiohistogeneze dochází k prodloužení jádra spermatidy, jeho oploštění a posunutí k apikálnímu pólu buňky, čímž vznikne hlavička spermie. Na předním pólu jádra se z Golgiho aparátu vytváří akrozom, který má význam pro penetraci spermie do vajíčka. Z buněčných centriol vzniká krček a osově vlákno bičíku spermie.

Po uvolnění spermií z výběžků podpůrných buněk se jako volné buňky dostávají do vývodných cest. Spermie pak postupují odvodnými kanálky do ocasu nadvarlete asi 10 -15 dnů., zde jsou uskladněny až do ejakulace a nevykazují aktivní pohyb. U mladých spermií se setkáváme s tzv. protoplazmatickými kapkami, jsou to kapkovité útvary na hlavičce, spojovací části nebo bičíku. Jedná se o přebytečnou plazmu, která se odděluje od morfologicky hotové spermie. Tvorbu spermií přímo kontroluje gonadotropní hormon hypofýzy (Sova et al., 1981).

### **3.5.1.2 SPERMIE**

Spermie je zralá pohlavní buňka samce, která je schopna samostatného pohybu s cílem aktivního vyhledávání a oplození vajíčka. (Marvan, 2007). Spermie tvoří nejdůležitější složku ejakulátu. Velikost i tvar spermie se druhově liší, jsou dlouhé 50 a 80  $\mu\text{m}$ , hmotnostní rozdíly jsou s ohledem na velikost sechromozomu. Spermie, které mají malý heterochromozom Y (androspermie), jsou lehčí než spermie mající větší heterochromozom X (gynospermie) (Jelínek, Koudela, et., al. 2003).

Obr. 1 Morfologie spermie



1. Plazmatická membrána
2. Vnější akrozomální membrána
3. Akrozom
4. Vnitřní akrozomální membrána
5. Jádro
6. Proximální centriola
7. Zbytek distální centrioly
8. Vnější fibrózní vlákna
9. Mitochondrie
10. Axonema
11. Terminální disk (annulus)
12. Prstencovitá vlákna (ring fibers)

- A Hlavička  
 B Krček  
 C Střední část  
 D Hlavní část bičíku  
 E Koncová část bičíku

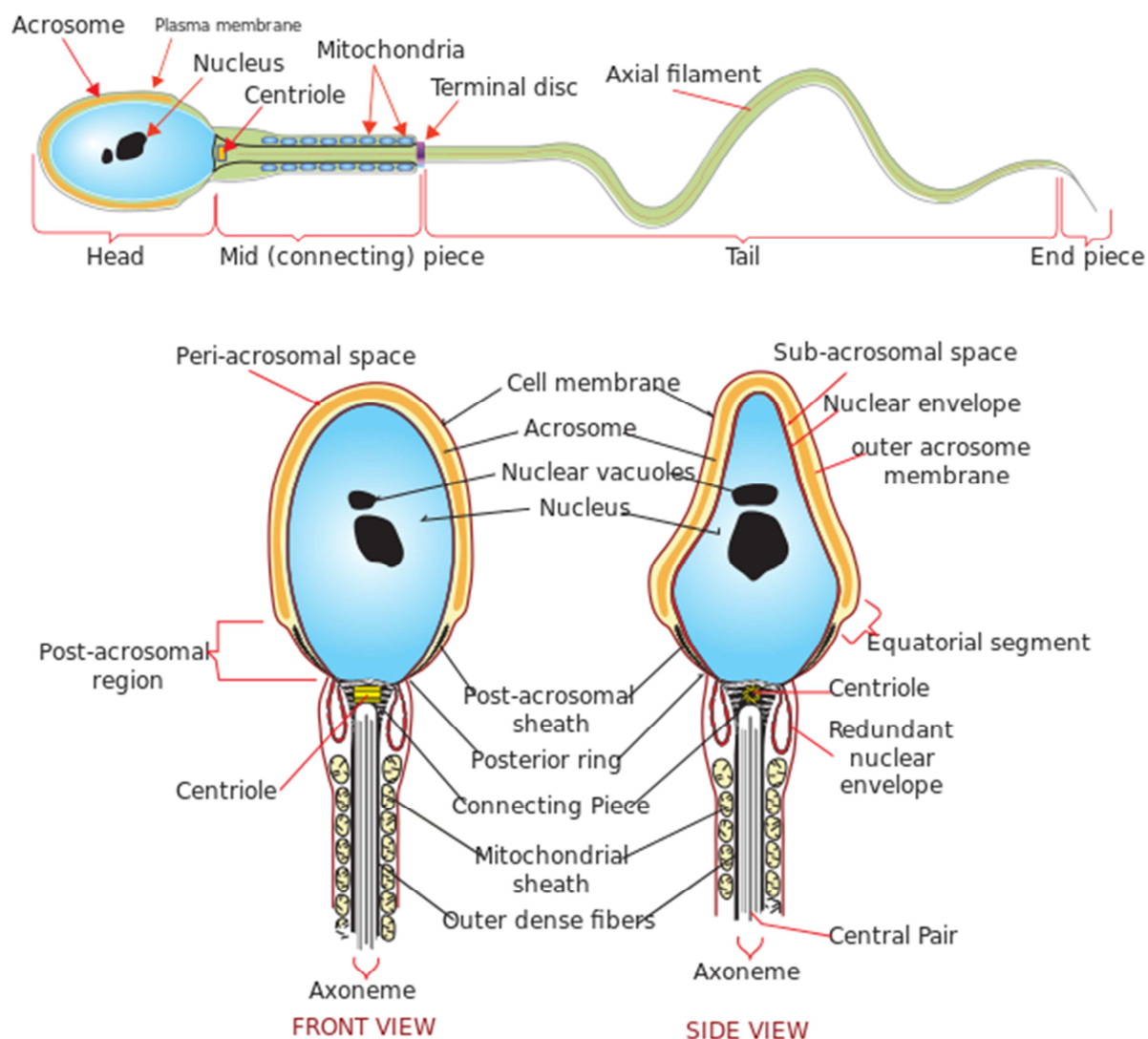
(<http://www.embryology.ch/anglais/cgametogen/spermato05.html#spermiohistogenese>, 13.4.2017)

Hlavička spermie u domácích zvířat je 5-10  $\mu\text{m}$  dlouhá, má oválný tvar a ze stran je zploštělá (Gamčík, Kozumplík et., al. 1976). Její podstatou je jádro pohlavní buňky, které je obaleno jadernou membránou. Akrozóm je čepičkovitý obal na předním pólu hlavičky, celou hlavičku i bičík pokrývá cytoplazmatická membrána (Marvan, 2007).

Akrozóm obsahuje polysacharidy a pokrývá jádro téměř z 40%. Defekty akrozomu způsobují sníženou plodnost a mohou mít i hereditární povahu. Akrozomální systém nese enzymy, v první řadě hyaluronidázy a akrozín, který lokalizujeme na vnitřní akrozomální membráně spermií. Tyto enzymy se při kontaktu spermie s vajíčkem uvolňují a hrají významnou roli při penetraci. Většinu hlavičky spermie vyplňuje jádro, které obsahuje chromatin, ten je složen především z deoxyribonukleové kyseliny (DNA) (Sova et al., 1981). Celé jádro hlavičky je vyplněno nukleoplazmou, struktura je kompaktní a homogenní a má významnou afinitu k nukleárním barvivům (hematoxylin). Jádro hlaviček je rezistentní na působení deoxyribonukleázy a lehce se rozpouští v Na OH. Jádro kromě chromatinu obsahuje také bílkovinu bohatou na arginin.

V nukleoplazmě můžeme příležitostně pozorovat tzv. vakuoly, vidíme je jako větší nebo menší světlá prázdná místa. Nejčastěji se vyskytují na apikárním okraji a ekvatoriálním segmentu hlavičky (Gamčík, Kozumplík et al., 1984).

Obr. 2 Popis spermie a její hlavičky



([https://en.wikipedia.org/wiki/File:Complete\\_diagram\\_of\\_a\\_human\\_spermatozoa.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Complete_diagram_of_a_human_spermatozoa.svg), 13.4.2017)

Krček spermie je poměrně krátký a měří jen 2-3  $\mu\text{m}$ . Krček obsahuje dva za sebou uložené centrioly, proximální a distální, mezi těmito centrioly je rozepjato devět příčně segmentovaných provazců, nazývaných také chordy. Osově vlákno bičíku tvoří dvacet mikrofibril, které vystupují z distálního konce a jsou uspořádány do dvojic. Jedna dvojice je centrální, obklopuje ji devět periferních dvojic, které jsou doprovázeny zvnějšku ještě devíti hladkými provazci neboli chordami (Sova et al., 1981).

Bičák slouží k pohybu spermie a podle toho je uzpůsobena jeho stavba. Přední konec bičíku zasunutý do zadního pólu hlavičky (implantační jamky) tvoří proximální a distální centriol, tuto část nazýváme krček bičíku. Na konci spojovací části bičíku je část distálního centriolu a tvoří tzv. prstenec. Podklad celého bičíku tvoří osově vlákno navazující na distální centriol. Bičák rozdělujeme na několik částí a to na spojovací část bičíku, hlavní část bičíku a koncovou část bičíku (Marvan, 2007). Celý bičák je dlouhý 50-70  $\mu\text{m}$ , spojovací část bičíku je dlouhá 10 – 15  $\mu\text{m}$  a jeho osově vlákno obalují mitochondrie seřazené za sebou v podobě spirály. Hlavní úsek bičíku je dlouhý 40 – 50  $\mu\text{m}$ , jeho osově vlákno je zevně obalené tzv. fibrózní pochvou z homogenní a silně kontrastní hmoty. Koncová část bičíku je nejkratší, měří pouze kolem 4  $\mu\text{m}$ , tvoří ji pouze osově vlákno bez chorid a fibrózní pochvy (Sova et al., 1981).

Tab. 1 Rozměry spermii  $\mu\text{m}$

HLAVIČKA BIČÍKU						
Druh zv.	kanec	býk	hřebec	králík	pes	muž
Délka	8,73	9,11	6,27	8,46	6,49 – 7,06	4,0 – 5,0
Šířka	4,63	5,05	3,21	4,7	3,77 – 4,46	2,5 – 3,5
BIČÍK SPERMIE						
Druh zv.	kanec	býk	hřebec	králík	pes	muž
Spojovací část	10	14,8	8,6	8	11	5,6 - 2005
Hlavní část	30	54 - 50	43,7	38	50	38,5 - 40
DÉLKA CELÉ SPERMIE						
Druh zv.	kanec	býk	hřebec	králík	pes	muž
Délka spermie	48,15	68,9 – 73,9	57,55 – 59,7	54,2	67,5 – 68,1	47,5 - 51

(Věžník et al., 2004)



### **3.5.1.2.1 Chemické složení spermíí**

Celou spermii pokrývá cytoplazmatická membrána, tato membrána obsahuje bílkovinu podobající se keratinu, ta je pravděpodobně vázána na lipidy, je bohatá na cystein, histidin a arginin.

Hlavičku spermie tvoří jádro, to je vyplněno chromatinem složeným převážně z deoxyribonukleové kyseliny (DNK). Ve zralých spermích je množství DNK proti ostatním tělním buňkám poloviční, ovšem pro všechny živočišné druhy relativně konstantní. Změna obsahu DNK nebo její poškození vede k poruchám až ztrátě oplozovací schopnosti dané spermie. Hlavičku spermie pokrývá akrozóm, je složen z mukopolysacharidů, obsahuje fruktózu, manózu, galaktózu, lipidy, kalium, kyselou a alkalickou fosfatázu aj. K proniknutí spermíím přes zonu pellucidu do vajíčka slouží proteináza samčího semene.

Bičků spermie obsahuje hlavně proteiny, lipoproteiny a enzymy, v cytoplazmě se nachází řada enzymů podmiňující metabolickou funkci spermíí. Fibrily bičků jsou složeny převážně z proteinů. Spirála obepínající fibrily sestává z lipoproteidů. Při průchodu nadvarletem se povrch spermie pokrývá vrstvičkou, ta má podobné vlastnosti jako keratin.

1 – 2 % hmotnosti spermie tvoří minerální látky, nejčastěji ve formě fosforečnanů, méně ve formě chloridů a síranů. Železo se vyskytuje hlavně jako hematin (Gamčík, Kozumplík et. Al., 1984).

### **3.5.1.3 SEMENNÁ PLAZMA**

Semenná plazma vytváří prostředí vhodné pro přežití spermíí, slouží k zabezpečení výživy a přirozené ochrany spermíí. Jsou sem také vylučovány zplodiny metabolismu spermíí. Semenná plazma představuje hlavní podíl ejakulátu, je tvořena hlavně výměšky přídatných pohlavních žláz (u psa pouze prostatou). Jedná se o tekutinu, která má druhově specifickou barvu, množství i konzistenci, pH semenné plazmy se pohybuje v rozmezí 6,2 až 7,5. Jsou v ní obsažené minerální látky, cukry, bílkoviny, kyselina askorbová a citronová. Enzymy a také prostaglandiny, estrogeny a androgeny (Jelínek, Koudelka et al., 2003).

## **3.5.2 VLIV NEUROHORMONÁLNÍHO SYSTÉMU NA REPRODUKCI**

Reprodukce je řízena fyziologickou souhrou nervového a endokrinního systému. Tato regulace je řízena geneticky fixovaným, řídicím systémem, jenž je ovlivňován vnějším

časovým činitelem, ten je odpovědný za druhově a individuálně typický průběh reprodukčních dějů. Centrální nervová soustava je nadřazeným orgánem pro řízení pohlavní činnosti. Vlastní řízení reprodukčních funkcí má ústředí v mezimozku a v zadních partiích míchy. V hypotalamu jsou dvě místa označována jako sexuální ústředí – přední a zadní (SOVA et al., 1981). Hypotalamus přijímá různorodé nervové vstupy z periferní a centrální nervové soustavy. S četnými nervovými buňkami, které se kupí do tzv. jader, představuje vlastní centrum pro řízení reprodukční činnosti (Jelínek, Koudela et., al. 2003).

### ***3.5.2.1 GONADOTROPIN RELEASING HORMON***

Z hlediska chemického jde o dekaeptid, který se dostává krevním řečištěm do adenohipofýzy, zde iniciují tvorbu gonadotropních hormonů (Schillo, 2009). Pod vlivem těchto hormonů se v buňkách adenohipofýzy vytvářejí dva gonadotropní hormony – folikuly stimulující hormon (FSH) a lutenizační hormon (LH). (Jelínek a Koudelka, 2003).

### ***3.5.2.2 FOLIKULY STIMULUJÍCÍ HORMON***

Koncentrace FSH celý den ve větší či menší míře kolísá, ovšem u zdravých psů a kryptorchidů se udržuje pod hranicí 70 ng/ml plazmy. U psů, kteří mají narušenou spermiogenezi, se může hladina FSH běžně pohybovat nad 100 ng/ml plazmy, u kastrovaných psů pak bývá hladina FSH nad 700 ng/ml plazmy (Svoboda et al., 2001).

### ***3.5.2.3 LUTEINIZAČNÍ HORMON***

Luteinizační hormon, který se u samců označuje také jako intersticiální buňky stimulující hormon, působí na Leydigovy buňky a stimuluje tak tvorbu specifického pohlavního hormonu testosteronu (Jelínek a Koudela, 2003). Hladina LH během dne výrazně kolísá a to z důvodu pulzačního vylučování v devadesáti minutových intervalech, díky tomu může být rozdíl mezi hladinami až čtyřnásobný. U zdravého psa a kryptorchida je fyziologická hranice LH do 30 ng/ml, u psa kastrovaného a psa s narušenou spermiogenezí se může hladina LH zvýšit i nad 70 ng/ml plazmy (Svoboda et al., 2001).

#### **3.5.2.4 TESTOSTERON**

Testosteron se tvoří ve varlatech spolu s dalšími androgeny, je to steroidní hormon a řídí vznik pohlavní a sexuální diference, stimuluje vývin sekundárních pohlavních znaků, růst pohlavního údu, růst a sekreční funkci přídatných pohlavních žláz, také ovlivňuje formování pohlavního pudu a samčího pohlavního chování (Jelínek a Koudela, 2003). Hladina testosteoronu se během dne pohybuje v poměrně širokém rozmezí, proto má její stanovení význam pouze jako průkaz hormonální činnosti varlat. U zdravého psa se koncentrace tohoto hormonu v krvi pohybuje mezi 0,5 až 5 ng/ml plazmy. U kastrovaného psa je tato hladina pod 200 pg/ml plazmy. U psů s narušenou spermiogenezí i kryptorchidní psi vykazují obvykle stejnou hladinu testosteronu jako zdraví psi (Doležal et al., 2001).

#### **3.5.2.5 INHIBIN**

Inhibin se tvoří v podpůrných buňkách semenotvorných kanálků varlete, jedná se o glykoprotein, který zpětně působí na hypofýzu a tím brzdí tvorbu FSH. Účinek pohlavních hormonů na výše nadřazená centra, kterými jsou adenohipofýza a hypotalamus, označujeme jako zpětnou vazbu ( Shillo, 2009). Principem zpětné vazby je pozitivní i negativní ovlivnění jejich činnosti. Pohlavní hormony tedy stimulují i brzdí produkci nadřazených hormonů, tento mechanismus můžeme tedy chápat jako autoregulaci pohlavních funkcí (Jelínek a Koudela, 2003).

#### **3.5.3 EJAKULACE**

Při ejakulaci dochází k vypuzení spermií z nadvarlete přes svalový chámovod do močové trubice a z ní do pochvy samice. Z každého nadvarlete vychází jeden chámovod, který prochází ze šourku dokola a dozadu za močový měchýř. Tam se chámovody spojují do seminálního váčku, a tak vytváří krátký ejakulační vývod (Campbell a Reece, 2006).

Ejakulace u psů probíhá ve třech po sobě jdoucích fázích:

Prespermatická frakce obsahuje jen minimální množství spermií. Jedná se o tekutinu nažloutlé barvy pocházející z prostaty o celkovém množství 0,2 – 0,3 ml. Je vylučována během kopulačních pohybů po dobu 5 – 20 vteřin (Svoboda, Senior et., al. 2001).

Spermatická frakce představuje mléčně bílou tekutinu, která obsahuje největší množství spermií ze všech tří frakcí (Root Kustritz, 2007). Objem této frakce je 0,5 – 12,0 ml. Její vylučování trvá 0,5 – 4 minuty po skončení kopulačních pohybů a zklidnění psa.

Postspermatická frakce ve většině případů neobsahuje spermie. Jedná se o zkalenou tekutinu, která pochází z prostaty o objemu 2 – 30 ml (Svoboda, Senior, et al., 2001). Tato frakce je vylučována přibližně 5 – 20 minut během tzv. svázání (Doleželík, 2011).

### **3.5.4 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU**

Aby byl odběr semene úspěšný, je potřeba ho provádět v klidném prostředí. Problém se vzrušením psa může nastat, pokud jsou v blízkosti pro něj neznámí lidé, případně pokud cizí člověk manipuluje s jeho pyjem. V tomto případě je potřeba, aby odběr provedl sám majitel psa. Nejlépe se odběr provádí za přítomnosti říjící feny, kdy je pes přirozeně vzrušený. U psů, kteří jsou odebírání poprvé, můžeme očekávat komplikace při odběru (Vežník a kol. 2004).

Začátek ejakulace bývá zpravidla doprovázen kopulačními pohyby. Druhá frakce, která je nejbohatší na spermie, o jejíž zachycení se nám jedná především, trvá přibližně 3 – 5 minut a vyznačuje se zklidněním psa. Na základě průběžné kontroly odebíraného ejakulátu, je možné ukončit odběr před začátkem post-spermatické frakce a to zachycením okamžiku změny semene z hustého, mléčně bílého na řídké a vodnaté (Svoboda et., al. 2001).

U psa je možné provést odběr semene třemi různými metodami a to masturbací pyje, umělou pochvou nebo elektroejakulací, která se ovšem u psů využívá jen výjimečně. Kvalitu semene negativně ovlivňuje nadměrná exploatace. Zhoršenou kvalitu můžeme pozorovat při prvním až třetím odběru po dlouhém pohlavním klidu. Je možné provést dva odběry během jednoho dne, ale je potřeba umožnit psovi následné dva dny odpočívát, rovněž při nárazovém každodenním odběru je po třech dnech potřeba dát psovi dva dny volno. Pokud odebíráme dlouhodobě, je přiměřený jeden odběr za 48 hodin (Vežník a kol., 2004).

#### **3.5.4.1 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU MASTURBACÍ PENISU**

Na začátku se rytmickými pohyby masíruje pyj psa přes předkožku. Po vysunutí pyje z předkožkového vaku se v masáži pokračuje až do zduření bulbu. V této době dochází

k samotné ejakulaci, během které je potřeba vyvíjet na penis v oblasti za bulbem stále stejný tlak (Gamčík a Kozumplík, 1992).

Ejakulát zachytáváme do širší skleněné nebo plastové nádoby, která má objem minimálně 10 – 15 ml při pokojové teplotě. Jelikož spermie psa nejsou citlivé na teplotní šok, není potřeba nádobu předem zahřívat.

Pokud chceme inseminovat čerstvým semenem, je možné odebrat celý ejakulát. Ovšem pro konzervaci semene je potřeba odebrat pokud možno jen druhou spermatickou frakci, která je nejbohatší na spermie, jelikož sekret prostaty tvořící většinu prespermatické a postspermatické frakce negativně působí na přežitelnost konzervovaných spermií. Druhá frakce obvykle začíná zklidněním psa, trvá 3 – 5 minut a následuje poslední frakce, kterou rozeznáme podle přeměny charakteru ejakulátu z hustého mléčně bílého na řídký a vodnatý (Vežník a kol., 2004).

#### ***3.5.4.2 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU DO UMĚLÉ VAGÍNY***

Při odběru touto metodou se v našich podmínkách nejčastěji používá typ dvoustěnné gumové trubice, která má průměr přibližně 8 – 10 cm a délku 15 – 20 cm, na její konec se připevňuje skleněný sběrač nebo sáček z umělé hmoty. Sběrná nádoba musí mít objem minimálně 10 -15 ml. Napuštěním teplé vody mezi stěny umělé vagíny zahřejeme její vnitřní stranu na 40 – 42 °C. Vnitřní stěna umělé vagíny musí být vymazána sterilní vazelínou. Pomocí nafouknutí vzduchu mezi stěny upravíme vnitřní průměr umělé vagíny dle velikosti psa (Vežník a kol., 2004).

Tento způsob odběru je možný pouze za přítomnosti říjící se feny. Pes se nechá na fenu naskočit, ale jeho pyj je zaveden do umělé vagíny umístěné po boku feny. V případě, že je fena agresivní, psa nenecháváme na fenu naskočit, pro stimulaci stačí její přítomnost. Pes zůstane stát za fenou a pomocí masáže penisu přes předkožku se vyvolá reflex erekce a následně je pyj zaveden do umělé pochvy (Gamčík a Kozumplík, 1992). Po té se umělou vagínou mohou dělat mírné pohyby pro napodobení frikčních pohybů do nastoupení vlastních kopulačních pohybů psa. Pokud máme v plánu semeno konzervovat, je opět vhodné ukončit odběr před začátkem třetí frakce (Vežník et al., 2004).

### **3.5.4.3 ZÍSKÁVÁNÍ EJAKULÁTU ELEKTROEJAKULACÍ**

Tato metoda se u psů provádí jen výjimečně. Metoda je postavena na pulzačním dráždění bedro-křížové oblasti přes rektum psa pomocí elektrického proudu o napětí přibližně 5 – 10 V a intenzitě 50 – 100 mA. Je naprosto nezbytné provádět ji v celkové anestezii psa (Svoboda et., al. 2001).

### **3.5.4.4 PŘÍČINY NEÚSPĚŠNÉHO ODBĚRU EJAKULÁTU**

Za neúspěchem při odběru kvalitního vzorku ejakulátu může stát mnoho příčin. Mezi nejčastější příčiny patří špatná technika vlastního odběru, získávání ejakulátu od abnormálně citlivého nebo nervózního psa, případně nadměrné zasahování majitele během odběru. K běžným chybám v technice odběru patří nedostatečné přetažení předkožky, abnormální stisk penisu, používání studených pomůcek a doteky na sliznici pyje. Za neúspěchem může stát také neznámé prostředí, nepřítomnost majitele psa nebo agresivní fena.

Některé psy je možné odebrat jen v domácích podmínkách, jiné jedině bez přítomnosti majitele a některé může odebrat pouze majitel. V odběru může bránit také zdravotní stav psa, případně špatné dřívější zkušenosti (Doležal a kol., 2001).

## **3.6 HODNOCENÍ EJAKULÁTU PSA**

Hodnocení kvality ejakulátu se běžně provádí při podezření na subfertility nebo interfilitu u psů samců. Provádí se tehdy, když feny po určitém pleméníkovy špatně zabřezávají (méně než 75% zabřezlých fen), nebo při opakovaném nezabřeznutí různých fen v krátkém časovém období. Dále se odběr provádí u mladých psů před zařazením do plemenitby, případně u starších psů po prodělání dlouhodobé nemoci a po použití léků.

Aby nedošlo ke zkreslování výsledků, je nutné se vzorky zacházet opatrně. Nešetrná manipulace může způsobit zvýšení procenta mrtvých nebo morfologicky poškozených spermií a snižuje jejich motilitu. Ideální je vyšetřit semeno bezprostředně po odběru za dodržení přísných hygienických podmínek a bez kolísání vnějších teplot (Doležal a kol., 2001).

Podle metody odběru, věku, plemene a velikosti odebíraného psa i podle jeho výživového stavu se může lišit jak konečný objem ejakulátu a fyzikální či chemické vlastnosti, tak i laboratorní hodnoty semene (Klementová, 2011).

K hodnocení psího ejakulátu patří makroskopické, mikroskopické a speciální vyšetření.

Tab. 2 Metody odběru ejakulátu u jednotlivých druhů zvířat

Druh zvířete	Metoda odběru ejakulátu
Býk	Umělá pochva, elektroejakulace, výjimečně masáž měchýřkovitých žláz
Kanec	Umělá pochva, elektroejakulace, manuální metoda
Hřebeč	Umělá pochva
<b>Pes</b>	<b>Umělá pochva, masturbace penisu, elektroejakulace</b>
Beran, kozel	Umělá pochva, elektroejakulace
Kožešinová zvířata	Masturbace penisu, elektroejakulace
Kačer	Elektroejakulace, masáž mělké části břicha
Kohout	Elektroejakulace, masáž mělké části břicha, kondom fixovaný na kloaku
Králík	Umělá pochva

(Gamčík, Kozumplík et al., 1976)

### 3.6.1. MAKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ EJAKULÁTU

Makroskopické hodnocení se provádí bezprostředně po získání ejakulátu při dodržení hygienických pravidel. Zhodnotí se objem (hmotnost), barva, konzistence, pach a obsah cizích příměsí (Louda et al., 2001).

#### 3.6.1.1 OBJEM

Objem ejakulátu je variabilní a silně kolísá, vliv na to má především plemeno, velikost psa, frekvence odběru, věk, stupeň pohlavního dráždění, podmínky odběru a to, zda se odchyťávají všechny frakce (Doležal a kol., 2001). Dále má na objem vliv výživa, roční

období a zdravotní stav (Louda et al., 2001). Samotný objem ejakulátu není ukazatelem jeho kvality, je ovšem nezbytně nutný k výpočtu celkového množství spermií v ejakulátu, což už ukazatelem kvality je (Root Kusritz, 2007). Běžné množství odebraného semene se pohybuje od 1 do 40 ml (Doležal a kol., 2001).

Výslednou hodnotu můžeme zjišťovat měřením v kalibrovaném válci, nebo vážením na automatických laboratorních vahách (Louda et al., 2001).

### **3.6.1.2 BARVA**

Barvu ejakulátu posuzujeme proti světlu. Správná barva spermatu je bělavá, případně šedobílá až mírně nažloutlá. Sperma špatné, nehodící se k inseminaci, se vyznačuje barvou žlutozelenou nebo zelenou s přimísením hnisu, moče, nežádoucími mikroorganismy, nežádoucí je i příměs krve (Louda et al., 2001). Bezbarvý a čirý ejakulát je signifikantní pro azoospermii, proto je k inseminaci taktéž nevhodný stejně jako sperma žluté barvy, která může svědčit o přítomnosti shluku vloček doprovázejících záněty pohlavních systémů.

Doplňkovou metodou tohoto vyšetření je měření pH ejakulátu, které však zpravidla nepodává významné informace o jeho kvalitě. Normální pH spermatu je 6,3 – 6,7, ale záleží na tom, zda se odebírá i postspermická frakce, jejíž pH se pohybuje od 7,0 do 7,4. Zásadité pH sekretu prostaty zvyšuje motilitu spermií, také neutralizuje prostředí v pochvě. Zvýšení pH může svědčit o nekompletní ejakulaci, zánětu varlat, nadvarlat nebo prostaty (Svoboda, Senior et al., 2001).

### **3.6.1.3 PACH**

Pach posuzujeme čichnutím k čerstvému vzorku ve sběrači. Dobrý ejakulát má jemný specifický pach připomínající mléko. Špatné sperma může páchnout močí, nebo má hnilobný zápach svědčící o přítomnosti hnisu v ejakulátu (Louda et al., 2001).

### **3.6.1.4 CIZÍ PŘIMÍSENINY**

Nejčastěji se do vzorku ejakulátu dostanou chlupy psa, vazelína z umělé vagíny nebo nečistoty z předkožky. Při venkovním odběru můžeme nalézt písek a prach. Při zánětu některé části pohlavního ústrojí nacházíme v ejakulátu hnis (Louda et al., 2001).



## 3.6.2 MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ EJAKULÁTU

### 3.6.2.1 POHYBLIVOST (AKTIVITA) SPERMIÍ

Aktivitu spermií bychom měli posuzovat co nejdříve po odběru ejakulátu. Vyšetření provedeme tak, že nanese kapku ejakulátu na čisté předeřtávané podložní sklíčko, přikryjeme krycím sklíčkem a bezprostředně vyšetřujeme pod mikroskopem při 100 – 400 násobném zvětšení. Hodnotíme fyziologický pohyb spermií, který je nepřerušovaný, pravidelný a přímočarý ve směru za hlavičkou. Patologický pohyb spermií představuje točení kolem hlavičky, kývání ze strany na stranu, pohyb v kruhu, trhavý pohyb.

Vyhodnocení aktivity může být ztíženo vysokou hustotou ejakulátu. V tomto případě sperma ředíme citrátem sodným ohřátým na 37<sup>0</sup>C, nebo fyziologickým roztokem v poměru 1:1 (Doležal a kol. 2001).

Motilitou spermií rozumíme progresivní pohyb vpřed za hlavičkou, je jedním z nejdůležitějších ukazatelů oplozovací – fertilizační schopnosti čerstvého spermatu. Přímý progresivní pohyb spermií značí jejich funkční plodnost, vyjadřujeme jej v procentech. Minimální aktivita spermií vyžadována k přímé inseminaci nebo konzervaci je 70%. Určuje se v nativním preparátu 10 bodovou stupnicí. Nejvyšší hodnocení 10 bodů (100%) dostane ejakulát, ve kterém se všechny spermie pohybují přímočaře progresivně vpřed za hlavičkou. Při získání 9 bodů, přibližně 10 spermií z 10 (90%), při hodnocení 8 bodů, 8 spermií z 10 (80%), při 7 bodech, přibližně 7 spermií z 10 (70%) atd.

S prodlužující se dobou od odběru ejakulátu se mění progresivní přímočarý pohyb, dochází k tzv. vitální degeneraci spermií. Rychlost pohybu spermií se zpomaluje, pohyb se mění na kruhový, přerušovaný až úplně ustane (Louda et al., 2001). Aktivita spermií může být snížena při vystavení ejakulátu extrémním teplotám, kontaktu s okyselujícími roztoky, s močí, vodou, krví nebo hnisem (Svoboda, Senior et al., 2001).

U psího ejakulátu je důležité vyhnout se rychlému kolísání teploty. Lepší pohyblivost je zachována při uchovávání vzorků při pokojové teplotě, než při teplotě tělesné (Kustritz, 2007).

Nižší aktivitu spermií může vykazovat ejakulát, která je odebrán psovi po dlouhodobém sexuálním klidu z důvodu skladování mrtvých a starých spermií v nadvarletí. U vzorků s nízkou aktivitou spermií nebo s výskytem velkého množství poškozených a mrtvých spermií je nutné provést odběr opakovaně, abychom vyloučili negativní vliv špatné techniky odběru, případně výše zmíněný vliv dlouhodobého sexuálního klidu (Svoboda, Senior et al., 2001).

Průměrná motilita spermií v ejakulátu psa je 68,8%. U psů chovaných v domácím prostředí se aktivita pohybuje kolem 77,8 %. Motilita spermií u psů se sportovní zátěží je v průměru 76,7%. Vzorky ejakulátu psů využívaných pro potřeby policie vykazovali pouze 49,4% aktivitu. Aktivita spermií u starších psů je o 10% nižší než u psů mladších. U psů velkých plemen byla zaznamenána nižší motilita spermií, než u psů malých a středních plemen (Vágenknechtová et al., 2011).

### **3.6.2.2 KONCENTRACE SPERMIÍ**

Koncentrace spermií a jejich celkový počet patří mezi nejdůležitější parametry svědčící o kvalitě ejakulátu. Množství spermií je proměnlivé, závisí na plemeni a velikosti varlat. Průměrné množství spermií v ejakulátu psa je  $3 \times 10^6 - 2 \times 10^7$ . Na počet spermií může mít negativní vliv nedostatečná sexuální stimulace v nepřítomnosti feny, stres z bolesti, popřípadě jiné faktory (Martínez, 2004).

Celkové množství spermií ve vzorku získáme vynásobením objemu ejakulátu s počtem spermií v  $1 \text{ mm}^3$ . I tato hodnota je velmi variabilní, velký vliv na počet spermií má to, které frakce odebíráme, dalšími neméně významnými faktory jsou plemenná příslušnost, stáří a sexuální aktivita. Obecně platí, že plemena velká mají celkově v ejakulátu více spermií, než plemena malá (Doležal a kol., 2001). Což vyplývá ze zjištění, že celkový počet spermií v ejakulátu je přímo úměrný velikosti varleční tkáně (Kvapil, Kvapilová, 2007).

Nejčastější metodou pro stanovení počtu spermií v ejakulátu je v praxi nejčastěji využívaná metoda, při které spočítáme spermie pomocí Bürkerovy komůrky. Před samotným počítáním je nezbytné ejakulát naředit v poměru 1:20 až 1:100. Poměr ředění volíme dle barvy ejakulátu, jelikož koncentrovanější vzorek je zabarven více do bíla (Svoboda et. al., 2001).

### **3.6.2.3 MORFOLOGIE SPERMIÍ**

K mikroskopické analýze se častěji používá ředěný vzor, ale je možné použít i neředěný (Svoboda, Senior, 2001). V případě ředění toto provádíme na předeřátém hodinovém sklíčka a ředíme na poměr 1:1 až 1:20 podle aktuální hustoty vzorku (Louda et al., 2001). Pro získání objektivních výsledků při morfologickém vyšetření je nezbytné správné zhotovení nátěru vyšetřovaného vzorku. Správný nátěr je souvislý, jemný a nepoškozený, je také nezbytné, aby byla správně připravena podložní sklíčka. Při špatném postupu mohou vznikat artefakty, které bychom mohli považovat za morfologické malformace spermií.

Nátěr provádíme tak, že malou kapku ejakulátu rozetřeme na podložním sklíčku tahem kapky za hranou sklíčku, semeno se při tom nesmí dostat pod hranu krycího sklíčka, kterým se provádí nátěr (Svoboda, Senior, 2001). Po uschnutí nátěr barvíme přípravky hemocolor, giemsa nebo eosin – nigrosin. Takto připravený preparát necháme opět uschnout a hodnotíme ho při 1000 – 1500 násobném zvětšení pod imerzním roztokem. Je nezbytné posoudit nejméně 200 různých spermií na rozdílných místech nátěru. Pokud se na jedné spermii vyskytne více změn, hodnotí se závažnější. Při současném výskytu primární a sekundární anomálie se hodnotí jen primární. Jestliže se vyskytne vyšší množství anomálií je potřeba provést opakované odběry a hodnocení.

Vznik defektních spermií způsobuje řada faktorů – genetické, toxické, infekční. Ke zvýšené tvorbě poškozených spermií dochází v závislosti na intenzitě a místě účinku. Změny na spermiích dělíme dle místa poškození spermie na primární a sekundární. Změny primární vznikají během spermiogeneze ve varleti do doby, než spermie proniknou do ocasu nadvarlete. Patří mezi ně degenerativní změny hlavičky, změny tvaru hlavičky, abaxiální nasazení bičíku, změny na akrozómu, spermie s proximálně uloženou protoplasmatickou kapkou, změny tvaru na mitochondriálním oddíle atd. Sekundární změny vznikají, pokud jsou spermie dlouhou dobu umístěny v ocasu nadvarlete a jsou nespecifické. Také se sem řadí změny vzniklé při průchodu vývodními cestami při ejakulaci a artefakty vznikající při nesprávném zhotovení preparátu. Mezi takto vzniklé změny patří zduření hlavičky, uvolnění hlavičky, roztrhnutý akrozóm, torze bičíku a jeho ulomení atd.

Morfologicky změněné spermie by u zdravého psa neměly přesahovat 30% z celkového množství. Spermií, které jsou primárně pozměněny, by mělo být pod 10%, u sekundárně změněných spermií je hranice 20%. U psů, u kterých bylo zjištěno minimálně

60% morfologicky normálních spermií, bylo vysledováno zabřezávání v 61%. U psů s méně než 60% morfologicky normálními spermii bylo zjištěno zabřezávání jen 13%.

Při cytologickém vyšetření provádíme nátěr neředěným ejakulátem, který barvíme např. Methylenovou modří. Můžeme tak vyloučit přítomnost zánětlivých buněk a bakterií. Pokud pouze příležitostně zachytíme nepoškozené zánětlivé buňky (neurofily, lymfocyty, makrofágy, plasmatické buňky), erytrocyty či bakterie, znamená to, že byl ejakulát kontaminován v uretře a pes může být zdravý. Zvláště u psů, kteří dlouhodobě nebyli sexuálně využíváni je normální výskyt epitelálních buněk. O zánětlivém procesu uvažujeme, pokud v ejakulátu zjistíme enormní množství těchto buněk a bakterií. Ovšem jejich nepřítomnost jednoznačně zánět nevylučuje (Doležal a kol., 2001).

## **4 MATERIÁL A METODIKA**

V průběhu dvou měsíců, ledna a února 2017, byly získávány ejakuláty od 28 psů. Všichni psi zařazení do výzkumu spadají do skupiny FCI I, mezi odebíranými psy byli zástupci několika plemen a to Border kolie, Německý ovčák, Australský ovčák, Belgický ovčák, Chodský pes a Československý vlčák. U každého psa byl proveden odběr ejakulátu dvakrát během jednoho dne v rozmezí 30 minut až 2 hodin. U 6 psů byly provedeny pouze 2 odběry během jednoho dne, u zbývajících 22 bylo toto opakováno o cca měsíc později, a tudíž od nich byly získány 4 odběry. Dohromady bylo získáno 100 vzorků.

Všechny odběry byly provedeny stejnou osobou v domácím prostředí majitelů psů, nebo v domácnosti odebírajícího. Psi byli odebíráni formou manuální stimulace. Penis psa byl masírován přes předkožku, v době začínající erekce byla předkožka jemně přetažena za bulbus glandis. V tomto okamžiku byla na penis nasazena sběrná nádoba, penis byl stále stimulován tlakem prstů za bulbus glandis. Sbírány byly všechny 3 frakce ejakulátu, po ukončení ejakulace byla sběrná nádoba uzavřena a odebraný nativní ejakulát byl ihned vyhodnocen. U odebraného vzorku se následně hodnotil objem, pach, barva, aktivita a koncentrace, pro následné morfologické vyšetření byl vyhotoven nátěr.

### **4.2 SLEDOVANÉ FAKTORY**

U psů bylo sledováno několik faktorů, mezi ně je zařazeno pořadí odběru, plemenná příslušnost, věk psa, typ ubytování a krmivo.

#### **4.2.1 POŘADÍ ODBĚRU**

Každý pes byl odebrán během jednoho dne dvakrát a to v rozmezí 30 minut až 2 hodin, dle tohoto kritéria řadíme odběry do dvou skupin u všech 28 psů.

#### **4.2.2 PLEMENNÁ PŘÍSLUŠNOST**

Podle plemenné příslušnosti byli psi rozděleni do 3 skupin. V první skupině byli pouze psy plemene Border kolie, dohromady jich bylo 15. Druhá skupina byla tvořena psy plemene Australský ovčák, v této skupině bylo 7 psů. Třetí skupinu tvořili psi ostatních plemen ze skupiny FCI I, zahrnovala psy plemene Československý vlčák, Belgický ovčák, Německý ovčák a Chodský pes, celkem byla tvořena 6 psy.

#### **4.2.3 VĚK**

Dle věku byli psi rozděleni do 3 skupin. Do první skupiny byli zařazeni psi do 1,5 roku věku, tvořili ji 3 psi. Do druhé skupiny byli zařazeni psi ve věku od 1,5 roku do 7 let včetně, tato skupina byla složena z 22 psů. Do třetí skupiny byly zařazeni psi od 8 let včetně a starší, tuto skupinu tvořili 3 psi.

#### **4.2.4 TYP UBYTOVÁNÍ**

Podle typu ubytování byli psi zařazeni do 2 skupin. V první skupině byli psi žijící v bytě či domě se svými majiteli, zařadili jsme sem 16 psů. Do druhé skupině byli zařazeni psi žijící venku, žádný z nich nebyl zavřený pouze v kotci, všichni měli přístup na výběhovou plochu v podobě zahrady, nebo dvorku, v této kategorii je 12 psů.

#### **4.2.5 KRMIVO**

Dle tohoto kritéria byli psi rozděleni do dvou skupin. První skupina zahrnovala psy, kteří jsou krmeni pouze komerčně vyráběnou kompletní stravou ve formě granulí, do této skupiny spadalo 16 psů. Zbývajících 12 psů spadalo do druhé skupiny, sem byli zařazeni psi krmení syrovým masem, případně tzv. BARF stravou (syrové maso, zelenina, ovoce, přílohy, doplňky).

### **4.3 SLEDOVANÉ UKAZATELE KVALITY EJAKULÁTU**

Bezprostředně po odběru ejakulátu byla odběrná nádoba uzavřena, aby se do ní nedostaly příměsi z vnějšího prostředí. Dále byl ejakulát přelit do odměrného válce a bylo u něj hodnoceno několik ukazatelů, a to objem, barva, pach, koncentrace a aktivita.

#### **4.3.1 OBJEM**

Objem ejakulátu byl měřen pomocí odměrného válce, do něj se z odběrné nádoby vpravil daný vzorek ejakulátu, válec byl postaven na rovnou podložku a po ustálení hladiny vzorku se na číselné rysce odečetl množství udávající objem.

#### **4.3.2 BARVA**

Barva ejakulátu byla zjišťována pomocí průhledné nádoby, v níž byl vzorek vystaven proti bílému papíru, barva byla následně určena podle odstínu. Rozlišovali jsme 6 různých barev, a to normální barvu (bělavá), sytě bílou, lehce růžovou, červenou (krvavou), krémovou a čirou.

#### **4.3.3 PACH**

Subjektivní hodnocení zápachu probíhalo přičichnutí k čerstvě odebranému ejakulátu, který byl v čisté nádobě bez vlastního zápachu. Zde jsme určovali jen, zda je pach normální, nebo nestandardní.

#### **4.3.4 AKTIVITA SPERMII**

Aktivita spermií byla zjišťována pozorováním ejakulátu pomocí mikroskopu subjektivní metodou. Ihned po odebrání vzorku se na podložní sklíčko nanasla kapa ejakulátu, byla přikryta krycím sklíčkem a sledována pod mikroskopem při 200 násobném zvětšení. Aktivita se posuzovala minimálně ve třech zorných polích, kdy se odhadem stanovilo procentuální množství spermií pohybujících se vpřed za hlavičkou.

#### 4.3.5 KONCENTRACE SPERMIÍ

Koncentraci spermií byla určována pomocí počítání v Bürkerově komůrce. Do melanžéru byl nasát 3% roztok NaCl ke značce /4975  $\mu\text{l}$ /, tento obsah roztok byl následně nechal vytéct do baňky. Sperma bylo nasáto mikropipetou po značku 25  $\mu\text{l}$  a přidáno do stejné baňky, následně byl obsah 1 – 2 minuty promícháván.

Kapka zředěného spermatu byla opatrně kápnuta ke hraně krycího sklíčka Bürkerovi komůrky, následně se roztekla do prostoru počítací mřížky. Byl proveden jemný tlak palci s roztíracími pohyby na krycím sklíčku, tím bylo docíleno rovnoměrného rozvrstvení spermií po celé ploše všech čtverečků. Následovalo počítání spermií pod mikroskopem při 300 – 400 násobném zvětšení.

Počítali jsme všechny spermie, které ležely uvnitř čtverečku o velikosti 0,25  $\text{mm}^2$  a také ty spermie, jejichž hlavičky ležely na levém nebo horním okraji čtverečku. Výška čtverečku je 1/10 m. Počítali jsme spermie v 10 náhodně vybraných čtverečcích.

Výsledný počet byl vypočítán podle následujícího vzorce:

$$X = (\text{SP} * \check{C} * Z * V) / \text{P}\check{C}$$

Kde

X = počet spermií v 1 $\text{mm}^3$  neředěného ejakulátu

PS = počet celkové napočítaných spermií

$\check{C}$  = plocha čtverce

Z = stupeň zředění

V = výška komůrky

$\text{P}\check{C}$  = počet čtverců počítaných celkem



#### 4.3.6 MORFOLOGICKÉ HODNOCENÍ

K morfolologickému hodnocení bylo využito barvení nátěrů podle B. T. Farellyho. Tato metoda je vhodná k diferenciaci patologických a nezralých spermií, také k vyšetření akrozomu a střední části bičíku. Její výhodou je rychlost barvení.

Reagencie:

- 10% roztok 35% formaldehydu ve fyziologickém roztoku Na Cl
- 5% roztok anilinové modři v destilované vodě
- 0,5% roztok krystalické violeti v destilované vodě

Pracovní postup:

- Na chemicky vyčištěné podložní sklíčko byl proveden nátěr ejakulátu, následně se nechal uschnout na vzduchu
- Nátěr byl fixován v roztoku formaldehydu po dobu 15 sekund
- Po fixaci byl nátěr opláchnut slabým proudem vody
- Následně byl nátěr barven roztokem anilinové modři p dobu 15 sec a opět opláchnut slabým proudem vody
- Druhé barvení proběhlo v roztoku krystalické violeti po dobu 4 až 6 sekund
- Po posledním opláchnutím proudem vody bylo provedeno usušení preparátu na vyhřívací plotýnce
- Následovalo mikroskopické posouzení nátěru za použité olejové imerze

Celkem se hodnotilo 100 spermií na každém preparátu, při čemž se hodnotilo procentuální zastoupení morfologicky normálních spermií a zastoupení jednotlivých morfologických abnormalit.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 OBJEM EJAKULÁTU

Tab. 3 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na objem odebraného ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
			ml	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>9,65</b>	<b>7,49</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	11,48 <sup>B</sup>	7,26
	2	27	6,09 <sup>AC</sup>	4,68
	3	20	13,23 <sup>B</sup>	9,58
	4	20	8,40	6,54
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	12,22 <sup>b</sup>	8,27
	2	47	7,07 <sup>a</sup>	5,60
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	9,73	7,58
	AUO	20	10,75	9,10
	OSTATNÍ	22	8,45	5,59
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	2,44 <sup>b</sup>	1,67
	1,5 - 8 LET	73	11,60 <sup>a,c</sup>	7,31
	≥ 8 LET	12	3,17 <sup>b</sup>	2,94
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	9,62	7,86
	MASO	31	9,69	6,79
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	10,08	8,23
	VENKU	32	8,81	5,80

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Měření objemu ejakulátu je nezbytnou součástí pro výpočet celkového množství spermií v něm obsaženým, i když sám o sobě není směrodatným ukazatelem kvality ejakulátu (Root Kustritz, 2007). Námi zjištěný průměr objemu ejakulátu je  $9,65 \pm 7,49$  ml, tato hodnota je vyšší, než uvádí většina autorů. Kvapil a Kvapilová (2007) uvádějí jako průměrnou hodnotu kolem 7 ml, přičemž fyziologické množství ejakulátu u psů se pohybuje od 1 do 40 ml. Mastachio et al. (2012) hodnotu 3,3 ml, ještě nižší hodnotu shodně uvádějí Věžník et al. (2004) a England et al. (2006) a to 2 ml objemu ejakulátu, kterou uvádějí jako průměrnou. Naopak Vágenknechtová et al. (2014) uvádí hodnotu více se blížící hodnotě z naší studie a to  $8,49 \pm 6,51$  ml. Tyto odchylky byly nejspíše způsobeny skutečností, že autoři uvádějící menší průměrný objem se snažili odebrat pouze spermatickou frakci ejakulátu, naopak v našem výzkumu byl odebírán celý ejakulát včetně prostatické frakce, stejně jako ve výzkumu Vágenknechtové et al. (2014).

Jak lze vyčíst z tabulky č. 3 největší objem ejakulátu byl odebrán během třetího odběru a to  $13,23 \pm 9,58$  ml, nejmenší během druhého odběru a to  $6,09 \pm 4,68$  ml, mez těmito hodnotami se nám tak podařilo prokázat vysoce statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ), stejně tak jako u hodnoty prvního odběru vůči druhému. Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl prokázán u prvního odběru během jednoho dne, jehož hodnota činila  $12,22 \pm 8,27$  ml vůči druhému odběru ve stejný den, ta měla hodnotu  $7,07 \pm 5,60$  ml.

V rámci plemen z vyhodnocení vyplývá, že největší množství spermatu jsme získali od australských ovčáků a to  $10,75 \pm 9,10$  ml, od psů plemene border kolie to bylo  $9,73 \pm 7,58$  ml a od ostatních plemen  $8,45 \pm 5,59$  ml.

Dle našeho výzkumu vyplývá, že věk má na množství ejakulátu poměrně velký vliv, od psů ve věku od 1,5 roku do 8 let jsme získali výrazně větší objem, a to  $11,60 \pm 7,31$  ml, než u psů mladších, kdy to bylo pouze  $2,44 \pm 1,67$  ml, nebo starších, kde byla naměřená hodnota 3,17 v 2,94 ml. A tak se nám podařilo prokázat statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) mezi první a druhou skupinou, stejně jako mezi druhou a třetí.

Zda byli odebíraní psi krmeni masem, či granulami nemělo dle našeho výzkumu na objem ejakulátu vliv, průměrné výsledky byly téměř shodné a to  $9,62 \pm 7,86$  ml u krmení granulami a  $9,69 \pm 6,79$  ml u krmení masem. Paldusová et al. (2013) ovšem ve své studii

uvádí, že psi krmení granulemi dali vzorek o objemu  $10,26 \pm 7,87$  ml a psi krmení masem jen  $6,75 \pm 3,16$  ml. Tento rozdíl by mohl být způsoben kvalitou podávaného masa, případně doplňků, které psi dostávají.

Dle výsledků je pro vyšší objem ejakulátu vhodné mít psa ubytovaného uvnitř, v tomto případě vycházel odebraný objem ejakulátu na  $10,08 \pm 8,23$  ml, u psů ustájených ve venkovních ubikacích s volným výběhem byl výsledek  $8,81 \pm 5,80$  ml. Paldusová et al. (2013) uvádí, že tento rozdíl může být ještě větší, dle jejího výzkumu mají psi žijící v domácnosti objem ejakulátu  $12,07 \pm 8,35$  ml a psi žijící ve volném výběhu pouze  $4,79 \pm 2,20$  ml.

Tab. 4 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na aktivitu odebraného ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$S_x$
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>77,50</b>	<b>17,84</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	79,44	19,39
	2	27	70,00	25,61
	3	20	82,75	8,35
	4	20	79,75	7,52
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	80,85	14,23
	2	47	74,15	20,44
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	77,40	16,34
	AUO	20	84,25 <sup>c</sup>	5,20
	OSTATNÍ	22	71,59 <sup>b</sup>	25,61
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	85,00 <sup>c</sup>	6,14
	1,5 - 8 LET	73	78,70	18,24
	≥ 8 LET	12	64,58 <sup>a</sup>	15,59
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	77,54	17,11
	MASO	31	77,52	19,53
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	79,54	13,61

	VENKU	32	73,75	23,83
--	-------	----	-------	-------

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

## 5.2 AKTIVITA SPERMIÍ

Tab. 4 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na aktivitu spermií v odebraném ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>JEDNOTKY</b>			%	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>77,50</b>	<b>17,84</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	79,44	19,39
	2	27	70,00	25,61
	3	20	82,75	8,35
	4	20	79,75	7,52
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	80,85	14,23
	2	47	74,15	20,44
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	77,40 <sup>c</sup>	16,34
	AUO	20	84,25 <sup>b</sup>	5,20
	OSTATNÍ	22	71,59	25,61
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	85,00 <sup>c</sup>	6,14
	1,5 - 8 LET	73	78,70	18,24
	≥ 8 LET	12	64,58 <sup>a</sup>	15,59
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	77,54	17,11
	MASO	31	77,52	19,53
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	79,54	13,61
	VENKU	32	73,75	23,83

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

K transportu spermií pohlavním ústrojím samice do místa oplození je zapotřebí splnění několika atributů, jedním z nejdůležitějších je právě správná aktivita spermií (Scott, 2000). Root Kustritz (2007), Kim et al. (2010) a Věžník et al. (2004) se shodují na tom, že normální procento pohyblivých spermií u běžného psího ejakulátu by mělo být více jak 70 %, dle tohoto námi naměřená průměrná hodnota  $77,50 \pm 17,84$  % odpovídá kvalitnímu psímu ejakulátu. Ovšem Silva et al. (2003) udává jako minimální hodnotu aktivity u kvalitního ejakulátu 80%, takovýchto hodnot výsledky našeho výzkumu nedosahovaly.

Podle tabulky č. 4 dosahovaly nejvyšších hodnot vzorky odebrané jako třetí v pořadí, stejně tak jako u objemu. Dosahovaly aktivity spermií  $82,75 \pm 8,35$  %. Stejně tak se opakoval nejnižší výsledek u druhého odběru, zde hodnoty odpovídají  $70,00 \pm 25,61$  %. Pořadí odběru během dne nemělo na aktivitu spermií takový vliv jako na objem odebraného vzorku, u prvního odběru dosahovali hodnoty dle našeho výzkumu  $80,85 \pm 14,23$  %, u druhého  $74,15 \pm 20,44$  %.

V rámci plemenné příslušnosti byly stejně jako u objemu zjištěny nejvyšší hodnoty aktivity spermií u australských ovčáků, dosahovaly v průměru  $84,25 \pm 5,20$  %. Druhých nejvyšších hodnot opět dosáhly border kolie, konkrétně  $77,40 \pm 16,34$  %, nejnižších hodnot dosáhla ostatní plemena a to  $71,59 \pm 25,61$  %. Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) se nám tak podařil získat u psů plemene australský ovčák vůči plemenům ostatním.

S ohledem na věk odebíraných psů se výsledky aktivity spermií lišily nejvíce, u mladých psů do věku 1,5 roku byla zjištěna průměrná aktivita  $85,00 \pm 6,14$  %, u starších psů do věku 8 let byla zjištěna hodnota  $78,80 \pm 18,24$  %, u osmiletých psů a starších byla průměrná aktivita změřena pouze na  $64,58 \pm 15,59$ %. Paldusová et al. (2013) ve své práci uvádí u psů mladších dvou let aktivitu nejnižší a to  $68,23 \pm 9,51$  %, tento výsledek odůvodňuje pravděpodobným stresem mladých psů z prvního odběru, případně cizího prostředí. Dle našich výsledků můžeme usuzovat, že ani mladí psi nebyli během odběrů ve stresu a z toho důvodu dosahují tak vysokých hodnot. Naopak u starších psů uvádí Paldusová et al. (2013) hodnotu aktivity spermií  $73,47 \pm 13,18$  %, což je výrazně vyšší výsledek než v našem výzkumu. To je pravděpodobně zapříčiněno odlišným věkovým rozdělením psů, kdy byli do třetí kategorie v našem výzkumu řazeni psi osmiletí a starší, zatímco Paldusová et al. (2013) do této skupiny řadila psy od 6 let věku.

Vliv krmiva nebyl dle našeho výzkumu prokázán ani u aktivity spermií, psi krmení granulami dosahovali výsledku  $77,54 \pm 17,11$  % a psi krmení masem  $77,52 \pm 19,53$  %.

Ubytování psa mělo na aktivitu podobný vliv jako na objem ejakulátu, psi ubytovaní v domácnosti tak dosahovali hodnot  $79,54 \pm 13,61$  %, psi z volných výběhů pak hodnoty  $73,75 \pm 23,83$  %.

### 5.3 KONCENTRACE SPERMIÍ

Tab. 5 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na koncentraci spermií v odebraném ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>JEDNOTKY</b>			<b>*10<sup>3</sup> * mm<sup>-3</sup></b>	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>221,83</b>	<b>145,89</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	286,46 <sup>b,c</sup>	181,63
	2	27	183,47 <sup>a</sup>	125,54
	3	20	179,52 <sup>a</sup>	126,50
	4	20	228,69	107,30
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	240,95	167,67
	2	47	202,71	119,05
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	229,71	157,06
	AUO	20	220,63	144,20
	OSTATNÍ	22	204,32	122,72
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	154,43	148,03
	1,5 - 8 LET	73	252,55 <sup>C</sup>	125,41
	≥ 8 LET	12	85,53 <sup>A</sup>	175,58
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	206,76	151,98
	MASO	31	252,47	129,61
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	192,18 <sup>B</sup>	138,01
	VENKU	32	279,29 <sup>A</sup>	145,63

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Koncentrace spermií v 1 ml ejakulátu by u zdravého psa měla činit  $300 * 10^6$  až  $800 * 10^6$ . Tuto hodnotu může ovlivňovat několik faktorů, za nejvýznamnější považujeme plemennou příslušnost, stáří a sexuální aktivitu psa (Doležal et al., 2004). Celkový počet spermií v ejakulátu může také negativně ovlivňovat nedostatečná sexuální stimulace, nezkušenost a stres v případě bolestivého odběru (Peña Martinez 2004).

Průměrná koncentrace spermií, uváděná v milionech, u námi odebraných psů je  $221,83 \pm 145,89 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ , tato hodnota koresponduje se zjištěným objemem odebraného ejakulátu, který byl v průměru vyšší, než udávají autoři, protože obsahovala všechny 3 frakce ejakulátu. Vzorky tak byly nařaděné prostatickou frakcí a koncentrace spermií tudíž nižší.

Nejvyšších hodnot koncentrace spermií dle tabulky č. 5 dosahují v průměru vzorky z prvního odběru, tato hodnota činí  $286,46 \pm 145,89 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ . Nejnižší hodnotu vykazují vzorky z třetího odběru, kde tato hodnota koresponduje právě s nejvyšším naměřeným objemem, a to  $179,52 \pm 126,50 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ . Mezi těmito hodnotami se nám podařilo prokázat statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ).

Pořadí odběru během jednoho dne prokázalo vliv i na koncentraci spermií v ejakulátu, a to stejně jako u předešlých hodnot, kdy první vzorek vykazuje vyšší hodnotu než ten následující. Během prvního odběru byla průměrná koncentrace  $240,95 \pm 167,67 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ , během druhého to bylo  $202,71 \pm 119,05 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ .

Plemenná příslušnost v tomto případě vykazovala odlišný vliv, než u předchozích hodnot, nejvyšší koncentrace dle našeho výzkumu dosahovali psi plemene border kolie a to  $229,71 \pm 157,06 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ , druhé nejvyšší koncentrace dosahovali psi plemene australský ovčák a nejnižší koncentrace spermií byla naměřena u ostatních plemen, konkrétně  $204,32 \pm 122,72 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ .

Věk měl dle našich výsledků na koncentraci spermií v ejakulátu opravdu výrazný vliv, nejvyšší koncentraci vykazovali psi od 1,5 roku do 8 let a to  $252,55 \pm 125,41 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ , psi osmiletí a starší pak vykazovali hodnotu pouze  $85,53 \pm 175,58 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$  spermií. Mezi těmito hodnotami jsme tak mohli prokázat statisticky vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ).

Z tabulky č. 5 můžeme vyčíst, že i ubytování psů mělo na koncentraci spermií opačný vliv než u předchozích ukazatelů. Podařilo se nám zde prokázat vysoce statisticky průkazný



rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) a to u psů ubytovaných uvnitř, jejichž hodnoty dosahovali  $192,18 \pm 138,01 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$  spermíí, vůči psům ubytovaným venku ve výběžích, kteří vykazovali hodnotu koncentrace spermíí  $279,29 \pm 145,63 * 10^3 * \text{mm}^{-3}$ .

## 5.4 BARVA

Tab. 6 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na barvu odebraného ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>1,40</b>	<b>0,90</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	1,52	1,09
	2	27	1,41	0,84
	3	20	1,35	0,99
	4	20	1,30	0,57
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	1,45	1,04
	2	47	1,36	0,74
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	1,23	0,81
	AUO	20	1,80	0,89
	OSTATNÍ	22	1,45	1,01
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	1,44	0,53
	1,5 - 8 LET	73	1,32	0,78
	$\geq 8$ LET	12	1,92	1,51
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	1,37	0,87
	MASO	31	1,48	0,96
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	1,31	0,64
	VENKU	32	1,59	1,24

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Louda et al. (2001) uvádí, že správná barva ejakulátu je bělavá, případně šedobílá až mírně nažloutlá. Špatné sperma, nehodící se k inseminaci, má barvu žlutozelenou až zelenou způsobenou hnisem, močí, nebo mikroorganismy, špatný ejakulát je i ten s obsahem krve a tudíž růžovou až červenou barvou. Svoboda, Senior et al. (2001) doplňují, že nevhodný může být také bezbarvý, čirý nebo žlutý ejakulát.

V rámci výzkumu jsme správnou, žádoucí, barvu označili číslem 1, další barvy vyššími čísly, v průměru tato hodnota dosahovala hodnoty  $1,40 \pm 0,90$ .

## 5.5 PACH

Tab. 7 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na pach odebraného ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>1,05</b>	<b>0,23</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	1,07	0,27
	2	27	1,07	0,27
	3	20	1,00	0,00
	4	20	1,05	0,22
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	1,04	0,20
	2	47	1,06	0,25
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	1,00	0,00
	AUO	20	1,10	0,31
	OSTATNÍ	22	1,14	0,35
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	1,00	0,00
	1,5 - 8 LET	73	1,07	0,25
	≥ 8 LET	12	1,00	0,00
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	1,03	0,18
	MASO	31	1,10	0,30
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	1,03	0,18
	VENKU	32	1,09	0,30

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Louda a kol. (2001) uvádí, že sperma má slabý specifický pach, který připomíná vůni kravského mléka. Může také páchnout močí, hnilobně, nebo při příměsi krve může mít podobný železitý zápach jako sama krev.

V rámci výzkumu jsme označovali normální pach číslem 1, pach, který se nedal označit za normální pak číslem 2. V celkovém průměru nám pak vycházela hodnota  $1,05 \pm 0,23$ . Z tabulky č. 7 můžeme také vyčíst, že v rámci třetího odběru jsme nezaznamenali žádný vzorek s nestandardním pachem, stejně tak v rámci plemen u border kolií a v rámci věkového rozdělení u nejmladší a nejstarší skupiny.

## 5.6 ZMĚNY NA HLAVIČCE

Tab. 8 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na hlavičce spermií v odebraném ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
JEDNOTKY			%	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>3,65</b>	<b>1,90</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	3,44	2,01
	2	27	3,93	2,09
	3	20	3,85	1,93
	4	20	3,35	1,46
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	3,62	1,96
	2	47	3,68	1,85
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	3,13 <sup>c</sup>	1,55
	AUO	20	3,80	2,33
	OSTATNÍ	22	4,73 <sup>a</sup>	1,83
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	4,78	1,99
	1,5 - 8 LET	73	3,58	1,92
	≥ 8 LET	12	3,25	1,48
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	3,44	1,88
	MASO	31	4,06	1,90
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	3,42	1,82
	VENKU	32	4,09	2,01

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Kim et al. (2010) uvádí průměrné množství poškozených hlaviček na  $4,4 \pm 0,7$  %, čemuž přibližně odpovídá námi zjištěný výsledek  $3,65 \pm 1,90$ , ovšem autoři Ortega-Pacheto et al. (2006) uvádí více jak dvojnásobné množství a to  $9,3 \pm 2,3$  %, podobně jako Vágenknechtová et al. (2014), která uvádí  $9,0 \pm 6,6$  %.

Z tabulky č. 8 můžeme vyčíst, že nejmenší množství poškozených hlaviček spermií bylo nalezeno hned v prvních odběrech, a to  $3,44 \pm 2,01$  %, nejvíce v druhém odběru, konkrétně  $3,93 \pm 2,09$  %. Pořadí odběru během jednoho zřejmě nemělo na výskyt poškozených hlaviček výraznější vliv, zjištěné hodnoty byl téměř stejné a to  $3,62 \pm 1,96$  % u prvního a  $3,68 \pm 1,85$  % u druhého.

Plemenná příslušnost naopak měla na výskyt poškozených hlaviček větší vliv, nejmenší počet jsme napočítali u psů plemene border kolie a to v procentech  $3,13 \pm 1,55$ , u psů plemene australský ovčák nám vyšla hodnota  $3,80 \pm 2,33$  %, nejvyšší procento poškozených hlaviček vykazovali psi ostatních plemen, a to  $4,73 \pm 1,83$ . Díky tomu jsme mohli mezi psy plemene border kolie a psy ostatních plemen prokázat statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ).

U osmiletých a starších psů můžeme v tabulce č. 8 zjistit údaj  $3,25 \pm 1,48$  %, což je nejnižší údaj mezi věkovými skupinami. Psi mezi 1,5 rokem a 8 lety vykazovali hodnotu  $3,58 \pm 1,92$  % poškozených hlaviček. U nejmladší skupiny psů, do 1,5 roku, byly zjištěny hodnoty  $4,78 \pm 1,99$  %.

Psi krmení granulami vykazovali nižší hodnotu poškozených hlaviček, než psi krmení masem. U jedinců na granulích jsme zjistili hodnotu  $3,44 \pm 1,88$  % poškozených hlaviček, u jedinců na mase pak hodnotu  $4,06 \pm 1,90$  %.

Zjištěná průměrná hodnota poškozených hlaviček byla nižší u psů ubytovaných v domácnosti, a to  $3,42 \pm 1,82$  %, u psů ubytovaných ve venkovních výbězích tato hodnota dosahovala  $4,09 \pm 2,01$  %.

## 5.7 ZMĚNY NA SPOJOVACÍ ČÁSTI

Tab. 9 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na spojovací části spermií v odebraném ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>JEDNOTKY</b>			<b>%</b>	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>3,93</b>	<b>2,83</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	3,30	3,42
	2	27	4,22	3,24
	3	20	4,05	2,04
	4	20	4,25	1,94
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	3,62	2,91
	2	47	4,23	2,74
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	3,87	1,98
	AUO	20	2,85 <sup>c</sup>	2,01
	OSTATNÍ	22	5,05 <sup>b</sup>	4,45
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	3,67 <sup>c</sup>	2,45
	1,5 - 8 LET	73	3,48 <sup>C</sup>	1,93
	≥ 8 LET	12	6,83 <sup>a,B</sup>	5,31
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	4,27	3,12
	MASO	31	3,23	1,98
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	3,85	2,90
	VENKU	32	4,06	2,71

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Kim et al. (2010) uvádí hodnotu poškozených spojovacích částí u psích spermií  $2,6 \pm 0,6$  %, Paldusová et al. (2013) hodnotu  $2,32 \pm 2,76$  % spermií s poškozenou spojovací částí, nám vychází hodnota  $3,93 \pm 3,42$  %.

V tabulce č. 8 můžeme sledovat u druhého, třetího i čtvrtého odběru velmi podobné hodnoty od 4,05 do 4,25 % spermií s poškozenou spojovací částí, jen u prvního odběru se hodnota liší a činí  $3,30 \pm 3,42$  %. V rámci hodnocení odběrů prováděných v jeden den jsme zjistili výsledek  $3,62 \pm 2,91$  % spermií s poškozeným spojovacím článkem v prvním odběru a výsledek  $4,23 \pm 2,74$  % při odběru druhém.

Průměrná hodnota spermií s poškozenou spojovací částí byla zjištěna nejnižší u psů plemene australský ovčák, a to  $2,85 \pm 2,01$  %,  $3,87 \pm 1,98$  % jsme zjistili u border kolií, nejvyšší procento poškozených spojovacích částí jsme mohli pozorovat u ostatních plemen, kde tato hodnota činila  $5,05 \pm 4,45$  %.

V rámci věkových skupin jsme zjistili nejnižší procento poškozených spojovacích částí u prostřední skupiny, konkrétně  $3,48 \pm 1,93$ , velmi podobně na tom byli psi z nejmladší skupiny, vzorky od nich vykazovali hodnotu  $3,67 \pm 2,45$  %. Nejvyšší naměřenou hodnotu jsme pozorovali u nejstarší věkové skupiny, u psů osmiletých a starších, průměrná hodnota byla  $6,83 \pm 5,31$  %, u této skupiny se nám tak podařilo prokázat vysoce průkazný statistický rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) vůči skupině prostřední, tedy psům od 1,5 roku do 8 let. Paldusová et al. (2013) ve své práci ovšem uvádí mnohem nižší hodnoty a to  $2,17 \pm 1,58$  % u psů starších šesti let, tento rozdíl může být opět zapříčiněn odlišným rozdělením věkových skupin, kdy my jsme do této skupiny řadili psi starší, minimálně osmileté.

Stejně jako Paldusové et al. (2013) vychází i nám nižší výskyt poškozených spojovacích částí spermií u psů krmených granulemi, autorka uvádí hodnoty u psů na granulích  $2,67 \pm 3,13$  % a u psů na mase 1,56 %. Naše výsledky vykazují hodnotu  $4,27 \pm 3,12$  % u psů na granulích a  $3,23 \pm 1,98$  % u psů na mase.

V rámci ubytování psi vykazovali podobné výsledky, a to  $3,85 \pm 2,90$  % poškozených spojovacích částí u psů žijících uvnitř a  $4,06 \pm 2,71$  % u těch žijících venku.

## 5.8 ZMĚNY NA BIČÍKU

Tab. 10 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na bičíku spermií v odebraném ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>JEDNOTKY</b>			<b>%</b>	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>9,41</b>	<b>8,85</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	8,78	6,08
	2	27	9,41	6,77
	3	20	11,40	14,32
	4	20	8,30	7,67
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	9,89	10,36
	2	47	8,94	7,11
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	11,23 <sup>c</sup>	10,76
	AUO	20	9,15	5,64
	OSTATNÍ	22	5,36 <sup>a</sup>	3,39
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	11,56	7,21
	1,5 - 8 LET	73	7,68 <sup>c</sup>	5,64
	≥ 8 LET	12	18,33 <sup>b</sup>	17,48
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	10,06	9,60
	MASO	31	8,10	7,03
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	10,34	10,07
	VENKU	32	7,63	5,51

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Jako průměrné množství poškozených bičíků v ejakulátu uvádějí Kustritz in Věžník et al. (2004) 12,7 %. Kim et al. (2010) uvádějí hodnotu téměř poloviční, a to  $5,8 \pm 0,9$  % poškozených bičíků. Námi zjištěná hodnota činí  $9,41 \pm 8,58$  % a je tak přibližně mezi



hodnotami uváděnými zmíněnými autory. Podobné hodnoty zjistila i Paldusová et al. (2013), konkrétně  $10,87 \pm 7,30$  %.

Největší množství poškozených bičků jsme pozorovali během třetího odběru, a to  $11,40 \pm 14,32$  %, nejmenší pak u odběru čtvrtého, kde jsme zjistili  $8,30 \pm 7,67$  %. V rámci odběrů během jednoho dne vyšlo méně poškozených spermií u druhého odběru, kde jich bylo  $8,94 \pm 7,11$  %, u prvního  $9,89 \pm 10,36$  %.

Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) jsme prokázali mezi psy plemene border kolie, kde počet poškozených bičků byl  $11,23 \pm 10,76$  % a psy ostatních plemen, kde tato hodnota činila  $5,36 \pm 3,39$  %.

Paldusová et al. (2013) ve své práci uvádí nejnižší množství poškozených bičků u nejmladší skupiny psů (do 2 let věku) a to  $8,64 \pm 3,93$  % a největší u skupiny prostřední (ve věku od 2 do 6 let), konkrétně  $12,01 \pm 8,06$  %. V našem výzkumu obsahovala největší množství poškozených bičků skupina nejstarších psů (osmiletých a starších), tato hodnota činila  $18,33 \pm 17,48$  % a nejmenší skupina prostřední (1,5 – 8 let), a to  $7,68 \pm 5,64$  %. Mezi těmito hodnotami se nám podařilo prokázat průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ).

U psů krmených masem jsme zjistili nižší hodnotu změněných bičků, konkrétně  $8,10 \pm 7,03$  %, než u psů krmených granulemi, kde byla tato hodnota  $0,06 \pm 9,60$  %. Podobně tomu bylo i u ubytování, kde jsme mohli pozorovat nižší výskyt poškozených spermií u psů žijících venku, než uvnitř.

## 5.9 DEGENERACE

Tab. 11 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na množství degenerovaných spermií v odebraném ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>JEDNOTKY</b>			<b>%</b>	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>3,44</b>	<b>3,04</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	3,52	3,66
	2	27	3,26	1,93
	3	20	3,50	3,19
	4	20	3,50	3,38
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	3,51	3,43
	2	47	3,36	2,62
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	4,23	3,73
	AUO	20	2,30	1,26
	OSTATNÍ	22	2,59	1,40
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	2,11 <sup>c</sup>	1,17
	1,5 - 8 LET	73	3,12 <sup>C</sup>	2,30
	≥ 8 LET	12	6,33 <sup>a,B</sup>	5,57
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	3,67	3,31
	MASO	31	2,97	2,36
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	3,58	3,47
	VENKU	32	3,16	1,95

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Louda et al. (2001) uvádí, že v ejakulátu zdravého psa by se nemělo vyskytovat více než 5,00 % degenerovaných spermií. Pokud by tato hodnota přesáhla dané %, mohlo by to být ukazatelem vážnějších poruch spermiogeneze. Množství takto změněných spermií bylo u námi hodnocených jedinců průměrně  $3,44 \pm 3,04$  %.

V rámci pořadí odběrů se hodnota degenerovaných spermií lišila zcela minimálně. V rámci plemene byly ovšem odchylky větší, nejvíce takto poškozených spermií jsme mohli pozorovat u psů plemene border kolie, kde tato hodnota činila  $4,23 \pm 3,73$  %, nejméně pak u psů plemene australský ovčák, a to  $2,30 \pm 1,26$  %.

Statisticky vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) jsme zjistili mezi psy různých věkových skupin, konkrétně mezi skupinou psů od 1,5 roku do 8 let a skupinou psů osmiletých a starších. Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) se nám podařilo prokázat mezi hodnotami nejmladší skupiny psů do 1,5 roku, kde jsme zjistili  $2,11 \pm 1,17$  % degenerovaných spermií, a skupinou nejstarší, kde tato hodnota činila  $6,33 \pm 5,57$  %.

U psů krmených masem jsme zjistili nižší % degenerovaných spermií, tato hodnota činila  $2,97 \pm 2,36$  %, u psů krmených masem byla tato hodnota vyšší, a to  $2,97 \pm 2,36$  %.

Ubytování nemělo na procentuální podíl degenerovaných spermií v rámci našeho výzkumu velký vliv, u psů chovaných v domácnosti byla tato hodnota  $3,58 \pm 3,47$  %, u jedinců chovaných venku pak  $3,16 \pm 1,95$  %.

## 5.10 NEZRALÉ SPERMIE

Tab. 12 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na počet nezralých spermií v odebraném ejakulátu

		N	$\bar{x}$	$s_x$
<b>JEDNOTKY</b>			<b>%</b>	
<b>CELKOVÝ PRŮMĚR</b>		<b>94</b>	<b>6,13</b>	<b>4,61</b>
<b>ODBĚR</b>	1	27	5,19 <sup>d</sup>	3,94
	2	27	6,26	4,94
	3	20	4,75 <sup>d</sup>	3,84
	4	20	8,60 <sup>a,c</sup>	5,00
<b>POŘADÍ ODBĚRU</b>	1	47	5,00 <sup>b</sup>	3,86
	2	47	7,26 <sup>a</sup>	5,05
<b>PLEMENO</b>	BOC	52	6,79	5,53
	AUO	20	4,50	2,72
	OSTATNÍ	22	6,05	3,11
<b>VĚK</b>	< 1,5 ROKU	9	6,67 <sup>c</sup>	2,60
	1,5 - 8 LET	73	5,21 <sup>C</sup>	4,03
	≥ 8 LET	12	11,33 <sup>a,B</sup>	5,76
<b>KRMIVO</b>	GRANULE	63	6,35	5,01
	MASO	31	5,68	3,72
<b>UBYTOVÁNÍ</b>	UVNITŘ	62	6,02	4,96
	VENKU	32	6,34	3,92

a, b, c, d – ( $P \leq 0,05$ )

A, B, C, D – ( $P \leq 0,01$ )

Louda et al. (2001) uvádí, že v ejakulátu zdravého jedince by výskyt nezralých spermií neměl překročit 2,00 %. Paldusová et al. (2013) a Vágenknechtová et al. (2014) se ve svých výzkumech téměř shodují, první autorka uvádí množství nezralých spermií 3,78 %, druhá pak

4,20 %. Nými hodnocené vzorky ejakulátů vykazovaly průměrnou hodnotu nezralých spermií  $6,13 \pm 4,61$  %.

Pořadí odběru mělo na výsledky procentuálního množství nezralých spermií značný vliv, to se nám podařilo prokázat statisticky průkaznou odchylkou ( $P \leq 0,05$ ) a to mezi prvním a čtvrtým odběrem a stejně tak i mezi odběrem třetím a čtvrtým. Průkaznou odchylku ( $P \leq 0,05$ ) se nám podařilo zjistit i u pořadí odběrů během jednoho dne, kdy první odběr vykazoval hodnoty  $5,00 \pm 3,86$  % a druhý  $7,26 \pm 5,05$  %.

Plemenná příslušnost neměla na počet nezralých spermií výraznější vliv, nejvíce nezralých spermií jsme zjistili u psů plemen border kolie, konkrétně  $6,79 \pm 5,53$  %, nejméně pak u psů plemene australský ovčák, zde dosahovala tato hodnota  $4,50 \pm 2,72$  %.

U různých věkových skupin jsme prokázali vysoce průkaznou statistickou odchylku ( $P \leq 0,01$ ) mezi skupinou druhou (jedinci od 1,5 roku do 7 let) a třetí (jedinci osmiletí a starší). Průkaznou statistickou odchylku jsme prokázali opět mezi třetí skupinou a skupinou první.

Krmivo nemělo opět na měřenou hodnotu větší vliv, psi krmení masem dosahovali hodnot  $5,68 \pm 3,72$  % a psi krmení granulemi  $6,35 \pm 5,01$  %.

Ubytování psů také nemělo na množství nezralých spermií u námi pozorovaných jedinců statisticky průkazný vliv.

## 6 ZÁVĚR

Předložená diplomová práce byla zaměřená na hodnocení kvality ejakulátu ovčáckých plemen psů, tedy I. Skupiny dle členění FCI. Toto členění jsme si vysvětlili hned na začátku práce, dále jsme si popsali pohlavní orgány psa, reprodukci psa a hodnocení ejakulátu psa. Dále jsme se zaměřili na metodiku výzkumu a samotný výzkum. V rámci našeho výzkumu jsme odebrali 28 psů, celkem jsme od nich získali 100 vzorků ejakulátu a u každého jsme zjišťovali jeho makroskopické i morfologické vlastnosti.

Psi byli rozděleni do skupin podle faktorů, které by mohly ovlivňovat kvalitu jejich ejakulátu, tyto skupiny spolu byly následně porovnávány a diskutovány. Psi byli rozděleni konkrétně podle těchto faktorů: celkové pořadí odběru (skupina 1-4), pořadí odběru během jednoho dne (1-2), plemenné příslušnosti (skupina 1 – BOC, 2 – AUO, 3 – ostatní plemena), věku (1 – skupina psů do 1,5 roku, 2 – od 1,5 do 8 let, 3 – osmiletí a starší), krmiva (1 – krmení granulemi, 2 – krmení masem) a ubytování (1 – vnitřní ubytování, 2 – venkovní ubytování). Následně byl vliv těchto faktorů zkoumán u jednotlivých kvantitativních a kvalitativních znaků, jednalo se o objem ejakulátu, aktivitu spermií, koncentraci spermií, pach, barvu, množství změn na hlavičce, spojovací části a bičíku spermie, také o počet degenerovaných a nezralých spermií.

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že na objem má vysoce statisticky průkazný ( $P \leq 0,01$ ) vliv pořadí odběru, kdy jsme naměřili největší průměr objemu u třetího odběru  $13,23 \pm 9,58$  ml, nejmenší u odběru druhého, a to  $6,09 \pm 4,68$  ml. Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) se nám podařilo prokázat i mezi odběrem prvním a druhým v rámci jednoho dne, druhý odběr měl hodnotu nižší. Jako statisticky průkazný ( $P \leq 0,05$ ) vliv se také prokázal věk psa, kdy nejmenší objem byl naměřen u psů mladších 1,5 roku a to  $2,44 \pm 1,67$  ml, druhý nejmenší u psů osmiletých a starších  $3,17 \pm 2,94$  ml a největší u psů ve věku od 1,5 roku do 8 let, konkrétně  $11,60 \pm 7,31$  ml. Celkový průměr naměřených objemů činil  $9,56 \pm 7,49$  ml.

Na aktivitu spermií, jejíž průměr nám vyšel  $77,50 \pm 17,84$  %, měla dle našeho zjištění největší vliv plemenná příslušnost a opět věk psa. Nejvyšší aktivitu jsme naměřili u psů plemene australský ovčák  $84,25 \pm 5,20$  %, nejnižší u ostatních plemen  $71,59 \pm 25,61$  %, mezi těmito hodnotami se nám podařilo dokázat statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ). V rámci věku vycházela nejvyšší aktivita u nejmladší skupiny psů, a to  $85,00 \pm 6,14$  %, nejnižší u nejstarší skupiny psů  $64,58 \pm 15,59$  %. I zde jsme prokázali statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ).

Celkový průměr koncentrace spermií v ejakulátu zjištěný v naší práci je  $221,83 \pm 145,89 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Statisticky vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) se nám tentokrát podařilo prokázat hned u dvou porovnávaných faktorů. Jednalo se o věkový faktor, kdy byl tento rozdíl prokázán mezi nejstarší skupinou mající nejnižší výsledky a skupinou prostřední s nejvyšší koncentrací. Druhým takto význačným faktorem bylo ubytování, kde byla výrazně vyšší aktivita zjištěna u psů z venkovního prostředí. Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) jsme zjistili i mezi prvním a druhým, a prvním a třetím odběrem, kdy hodnota koncentrace spermií v prvním odběru dosahovala  $286 \pm 181,63 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , v druhém  $183,47 \pm 125,54 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  v 1 ml a ve třetím  $179,52 \pm 126,50 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ .

U barvy a pachu jsme nezjistili žádný statisticky průkazný rozdíl v závislosti na sledovaných faktorech, z toho můžeme usuzovat, že mají na tyto hodnoty minimální vliv.

Z výsledků morfologického vyšetření vyplývá, že průměrný počet spermií se změnami na hlavičce je v rámci našeho výzkumu  $3,56 \pm 1,90 \%$  a statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) se nám podařilo zjistit mezi psy plemene border kolie, kteří měli nejnižší počet takto změněných spermií a psy ostatních plemen, u nichž byla tato hodnota nejvyšší.

Průměrný počet spermií se změnou spojovací částí byl  $3,93 \pm 2,83 \%$ , největší vliv měl věkový faktor, kde jsme zjistili vysoce statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) mezi hodnotami psů osmiletých a starších a skupinou psů od 1,5 roku do 8 let, u nichž byl počet změněných spermií menší. Psi plemene australský ovčák vykazovali nejnižší hodnotu a to  $2,85 \pm 2,01 \%$ , nejvyšší pak psi ostatních plemen,  $5,05 \pm 4,45 \%$ , mezi těmito hodnotami jsme prokázali statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ).

Celkový průměr počtu změn na bičíku činil  $9,41 \pm 8,85 \%$ , statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) jsme zjistili mezi psy plemene border kolie, u nichž byl tento počet nejvyšší, a psy ostatních plemen. Taktéž mezi psy osmiletými a staršími, kteří vykazovali nejvyšší množství změn na bičíku a psy prostřední věkové skupiny s nejnižšími hodnotami.

Degenerovaných spermií jsme v celkovém průměru zjistili  $3,44 \pm 3,04 \%$ . Jako jediný faktor způsobující statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) a vysoce statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn věk. Kdy jsme u psů do 1,5 roku zjistili hodnotu  $2,11 \pm 1,17 \%$ , u prostřední skupiny  $3,12 \pm 2,30 \%$  a u psů osmiletých a starších  $6,33 \pm 5,57 \%$ .

Zjistili jsme, že v rámci odebraných vzorků byl počet nezralých spermií  $6,13 \pm 4,61 \%$ . Největší vliv měl na tuto hodnotu věk, kdy nejnižší hodnota  $5,21 \pm 4,03 \%$  byla zjištěna u

psů ve věku od 1,5 roku do 8 let a nejvyšší  $11,33 \pm 5,76$  % u psů osmiletých a starších. Mezi těmito hodnotami se nám také podařilo prokázat vysoce statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ )

Celkově z našeho výzkumu vyplývá, že na kvalitu ejakulátu psů ovčáckých plemen má vliv pořadí odběru, plemeno a věk psa, krmení a ubytování ji ovlivňuje jen minimálně.

Na závěr bych chtěla říct, že dle našich výsledků bych doporučila jednak chovatelům samotným, ale hlavně chovatelským klubům zabývajícím se chovem čistokrevných psů s průkazem původu, zaměřit se nejen na vzhled, pracovní či sportovní výkony chovných psů, ale také na jeho reprodukční ukazatele. Protože, jak je dobře známo, reprodukce je považována za jednu z nejdůležitějších funkcí organismu a bez ní by vyhynulo nejen plemeno, ale nejspíš i celý živočišný druh.



## 7 LITERATURA

HROUZ, J A ŠUBRT, J.: *Obecná zootechnika (přednášky)*. MZLU v Brně, 2000,207 s.

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

GAMČÍK, P., KOZUMPLÍK, J. a kol.: *Andrológia a umela inseminacia hospodárskych zvierat*, Príroda, Bratislava, 1992, 298 str. ISBN 80 – 07 – 00540 – 4.

GAMČÍK, P., KOZUMPLÍK, J. a kol.: *Andrológia a umela inseminacia hospodárskych zvierat*, Príroda, Bratislava, 1984. 344 str..

ČTYŘOKÁ, H., 2002: *Seminář pro chovatele psů na téma Krycí pes*. Databáze online [cit. 2014-04-04] Dostupné na: <http://www.veterina-info.cz/odborne-clanky/seminar-pro-chovatele-psu-na-tema-kryci-pes-131.html>

PROCHÁZKA, Z., *Chov psů*, vydání 3., Praha: Paseka, 2005. 314 str. ISBN 80-7185-768-8

SVOBODA, M., SENIOR, D.; et. al. *Nemoci psa a kočky II. Díl*. Vydání 1. Brno: Noviko, 2001. 1010 str.

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

VĚŽNÍK, Z., a kol. 2003: *Repetitorium dermatologie a andrologie a metodiky spermatolýzy*. Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně. ISBN 80 – 86895 – 01 – 7, 266 str.

SCHILLO, KEITH K.: *Reproductive physiology of mammals*, Cengage Learning, c2009. 462 str., ISBN 1-4180-3013-9

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

DOLEŽEL, R. – VITÁSEK, R. – SENIOR, FD.: *Poruchy reprodukčního systému*. In: Svoboda Senior FD, Doubek J., Klimeš J. a kol.: *Nemoci psa a kočky II. Díl* Noviko a.s.: 2001, 1235 – 1359, ISBN 80 – 902595 - 3

KVAPIL, R., KVAPILOVÁ R., 2007: *Průvodce psí reprodukci*, 145str.

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

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

MARVAN, F., *Morfologie hospodářských zvířat*, vydání 1. Praha: brázda, 1992, 303 str., ISBN 80-209-0226-0

GAMČÍK, p., KOZUMPLÍK, J. a kol.: *Umela inseminacia a andrológia hospodárskych zvierat*, Príroda, Bratislava, 1976, 574 str., ISBN 64 – 025 – 76.

CAMPBELL, Neil A a Jane B REECE. *Biologie*. Vyd. 1. Brno: Computer Press, c2006, 1332 str. ISBN 80-251-1178-4.

KUSTRITZ, M. V. Root. *The value of canine semen evaluation for practitioners*. Else – vier: Theriogenology. 2007, 68, s. 329 – 337.

DOLEŽELÍK, R. *Hodnocení kvality ejakulátu loveckých plemen psů*. Diplomová práce. Brno: Mendelova univerzita, 2011. 78 str.

KLEMENTOVÁ, J. *Patomorfologické vyšetření psích ejakulátu*, Brno, 2011, 59 str.

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

VÁGENKMECHTOVÁ, M., HOŠEK, M., MÁCHAL, L., CHLÁDEK, G. *The influence of external and internal factors on the quality of semen collection and qualitative indicators of semen in the dog (Canis familiaris)*. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 2011. Sv. 59, č. 6, str. 373 – 380. ISSN 1211 – 8516.

MARTÍNEZ, A. I. Pěna. *Canine fresh and cryopreserved semen evaluation*. Elsevier: Animal reproduction science. 2005, 82 str. 209 – 224.

ČESKOMORAVSKÁ KYNOLOGICKÁ UNIE, *Plemena – standardy*. CMKU [online]. [cit. 2014-02-02]. Dostupné na: <http://www.cmku.cz/index2.php?stranka=plemena>

INET-SERVIS.CZ, 2008-2014, *Plemena ovčácká, pastevecká a honácká*, Pejskař [online]. [cit. 2014-02-03]. Dostupné na: <http://www.pejskar.cz/plemena-ovcacka-pastevecká-a-honacka-k1/ovcacti-psi-k10/>

COMPLETE DIAGRAM OF SPERMATOOZOE, In Wikipedia: the free encyclopedia [online]. [cit. 2017-04-12]. Dostupné na: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Complete\\_diagram\\_of\\_a\\_human\\_spermatozoa.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Complete_diagram_of_a_human_spermatozoa.svg)

SPERMIOGENESIS AND STRUCTURE OF THE SPERM CELL: Human embryology, [online]. [cit. 2017-04-12]. Dostupné na: <http://www.embryology.ch/anglais/cgametogen/spermato05.html#spermiohistogenese>

DOSTÁL, J.: *Genetika a šlechtění plemen psů*. České Budějovice: DONA s.r.o. 2007. 262 s. ISBN 978-80-7322-104-1

ROB, O., HERČÍK, J.: *Inseminace I*. Praha: Vysoká škola zemědělská. 1987. 116 s.

SCOTT, M. A.: *A glimpse at sperm function in vivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract*. Animal Reproduction Science. 2000. 60 – 61 s. 337-348

SVOBODA, M., SENIOR, F. D., DOUBEK, J., KLIMEŠ, J.: *Nemoci psa a kočky: 2. díl*. 3. vydání. Brno: Noviko, a.s., 2001. 1022 s. ISBN 80-902595-3-7.

VĚŽNÍK, Z., ŠVECOVÁ, D., ZAJÍCOVÁ, A., PŘINOSILOVÁ, P.: *REPETITORIUM: spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy*. 1. vydání Brno: VUVeL, 2004. 197s. ISBN 80-86895-01-7

ENGLAND G. C. W., BURGESS C. M., FREEMAN S. L., SMITH S. C., PACEY A. A.: *Relationship between the fertile period and sperm transport in the bitch*, Theriogenology, 2006. 66 s. 1410-1418

KIM S. H., YU D. H., KIM Y. J.: *Effects of cryopreservation on phosphatidylserine translocation, intracellular hydrogen peroxide, and DNA integrity in canine sperm*, Theriogenology, 2010. 73 s. 282-292

ORTEGA-PACHECO A., SEGURA-CORREA J. C., BOLIO-GONZALEZ M. E., JIMENEZ-COELLO M., LINDE FORSERG C.: *Reproductive patterns of stray male dogs in the tropics*, Theriogenology, 2006, 66 s., 2084-2090

PROCHÁZKA Z.: *Chov psů, vlastním nákladem*, 1994, 279 s., ISBN 80-209-0015-2

POKORNÁ, J.: *Původ a domestikace psa*. Fauna [online]. 8. 6. 2007, 18, 12, [cit. 2017-04-16]. Dostupné z: <http://www.ifauna.cz/psi/clanky/r/detail/4270/puvod-a-dpmestkace-psa>.

PALDUSOVÁ, M.: *Hodnocení kvality ejakulátu různých plemen psů*, 2013. 78 s., Diplomová práce. Brno: Mendelova univerzita v Brně.

VÁGENKNECHTOVÁ, M.: *Hodnocení kvalitativních parametrů ejakulátu psů*. 2014. 117 s., Doktorská disertační práce. Brno: Mendelova universita v Brně.

MASTACHIO G. Q., APPARÍCIO M., MOTHEO T. F., ALVES A. E., VICENTE W. R. R.: *Intra-prostatic injection of botulinum toxin type A in treatment of dogs with spontaneous benign prostatic hyperplasia*. Animal Reproduction Science, 2012, 133 s., 224-228

SIVA A. R., CORDOSO R. C. S., UCHOA D. C., SILVA L. D. M.: *Quality semen submitted to single or fractionated glycerol addition during the freezing process*, Theriogenology, 2003, 59 s., 821-829

SLIMÁK K., DUCHAJ J.: *Polovné psy*, 1973, 414s., ISBN 64-059-73

## **8 SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1 Morfologie spermie

Obr. 2 Popis spermie a její hlavičky

## **9 SEZNAM TABULEK**

Tab. 1 Rozměry spermií  $\mu\text{m}$

Tab. 2 Metody odběru ejakulátu u jednotlivých druhů zvířat

Tab. 2 Metody odběru ejakulátu u jednotlivých druhů zvířat

Tab. 4 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na aktivitu spermií v odebraném ejakulátu

Tab. 5 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na koncentraci spermií v odebraném ejakulátu

Tab. 6 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na barvu odebraného ejakulátu

Tab. 7 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na pach odebraného ejakulátu

Tab. 8 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na hlavičce spermií v odebraném ejakulátu

Tab. 9 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na spojovací části spermií v odebraném ejakulátu

Tab. 10 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na bičíku spermií v odebraném ejakulátu

Tab. 11 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na množství degenerovaných spermií v odebraném ejakulátu

Tab. 12 Vliv pořadí odběru, plemene, věku, krmiva a ubytování na změny na počet nezralých spermií v odebraném ejakulátu