

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ  
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**BRNO 2016**

**Bc. MAGDALENA PŘIBILOVÁ**



## **Vliv tepelného stresu na kvalitu ejakulátu kanců**

Diplomová práce

*Vedoucí práce:*

Ing. Pavel Horký, Ph.D.

*Vypracovala:*

Bc. Magdalena Přibilová

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: **Vliv tepelného stresu na kvalitu ejakulátu kanců** 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**

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce, panu Ing. Pavlovi Horkému, Ph. D., za odbornou pomoc a trpělivost při zpracování výsledků a celé diplomové práce a stejně tak celému týmu na inseminační stanici ve Velkém Meziříčí.

Tento projekt byl financován z grantů IGA TP 2/2015: Vliv selenu na kvalitu rostlinné a živočišné výroby z hlediska bezpečnosti.

## **Abstrakt**

Cílem práce bylo zjistit vliv tepelného stresu na vybrané parametry vyprodukovaného ejakulátu kanci plemene duroc na inseminační stanici kanců ve Velkém Meziříčí (N 49°23.46667', E 15°52.70135') v období květen – září. Pro pokus bylo vybráno 20 kanců plemene duroc, kteří byli rozděleni do dvou skupin. Skupina A (kontrolní skupina; n = 10) měla průměrné hodnoty ejakulátu a skupina B (pokusná skupina; n = 10), která vykazovala dlouhodobé problémy s kvalitou vyprodukovaného ejakulátu. Sledovanými parametry ejakulátu byl objem ejakulátu (ml), koncentrace spermií (tis./ml), celkový počet spermií v ejakulátu (mld. ks), motilita (%) spermií a počet morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu (%). Ve stáji byla monitorována teplota (°C) a relativní vlhkost (%).

Z výsledků vyplývá, že objem ejakulátu se u obou sledovaných skupin zvyšoval a to u skupiny A ze 198 ml na 252 ml a u skupiny B z 203 ml na 241 ml. Koncentrace spermií se u skupiny A snížila (z 499 000/ml na 436 000/ml), zatímco koncentrace spermií skupiny B se udržovala na stejné hranici po celou dobu experimentu. Motilita spermií u skupiny A na konci experimentu vzrostla (ze 71.4 % na 74.0 %), zatímco motilita u skupiny B se intenzivně snížila (z 67.3 % na 62.2 %). Snížení motility u skupiny B bylo statisticky průkazné ( $P < 0,05$ ).

Vliv teploty prostředí v našem případě neměl výrazný vliv na kance s průměrnými hodnotami ejakulátu (skupina A), ale byla zaznamenána statistická průkaznost ve zhoršení motility spermií ( $P < 0,05$ ) a počtu morfologicky abnormálních spermií ( $P < 0,05$ ) u skupiny kanců, kteří vykazovali dlouhodobě podprůměrné hodnoty kvality ejakulátu (skupina B).

U obou sledovaných skupin pak došlo ke snížení koncentrace spermií, což mohlo být zapříčiněno nárůstem objemu ejakulátu v letních měsících. Z výsledků je patrné, že teploty nad 26 °C prohlubují u kanců problémy s kvalitou vyprodukovaného ejakulátu. Výše uvedená teplota může být chápána jako hranice pro tepelný stres u plemenných kanců.

**Klíčová slova:** tepelný stres; letní období; kvalita ejakulátu; kanec

## **Abstract**

The aim of the study was to investigate the effect of high temperature on selected parameters of semen quality of duroc boars at the insemination station in Velké Mezířici (N 49°23.46667', E 15°52.70135') in season from May to September. For purpose of the experiment were chosen 20 boars of the Duroc breed, divided into two groups. Group A (the control group; n = 10) has average quality of semen and group B (the experimental group; n = 10) showed below-average long-term quality of semen. Analysed parameters were volume of ejaculate (ml), concentration of sperm (thousands/ml), total account of sperm in ejaculate (mld. ks), motility (%) and rate of abnormal sperm (%). In the stable the temperature (°C) and relative humidity (%) were monitored at hourly intervals for whole period of this study.

The results of the experiment shows that the volume of ejaculate from both monitored groups increased at the same rate ( $P > 0.05$ ) and in group A from 198 ml to 252 ml; in group B from 203 ml to 241 ml. Concentration of sperm of group A decreased (from 499 000/ml to 436 000/ml), whereas concentration of sperm of group B was at the same level during the experiment. The motility of sperm of group A at the end of the experiment increased (from 71.4 % to 74.0 %) and motility of sperm of group B has intensively decreased (from 67.3 % to 62.2 %). The decrease of sperm motility was statistically significant ( $P < 0.05$ ).

The influence of ambient temperature in this case had no significant effect on boar semen with average values (group A), but has been reported statistical significance in deterioration of sperm motility ( $P < 0.05$ ) and number of morphologically abnormal sperm ( $P < 0.05$ ) in group of boars, who showed below-average long-term semen quality (group B).

In both groups there was lower sperm concentration, which could be due to the increased volume of ejaculate in the summer months.

**Keywords:** heat stress; summer season; quality of ejaculate; boar

# OBSAH

1	ÚVOD .....	9
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	10
2.1	Plemeno duroc .....	10
2.2	Rozmnožovací ústrojí kance.....	11
2.2.1	Varle (testis) .....	11
2.2.2	Nadvarle (epididymis).....	11
2.2.3	Vývodné pohlavní cesty .....	12
2.2.4	Chámovod (ductus deferens).....	12
2.2.5	Přídavné pohlavní žlázy .....	12
2.2.6	Pyj (penis) .....	13
2.2.7	Šourek (scrotum).....	14
2.3	Spermatocytogeneze, spermiogeneze .....	15
2.3.1	Růst a zrání spermií.....	15
2.3.2	Morfologie spermie .....	16
2.4	Kančí ejakulát .....	17
2.4.1	Hodnocení kvality ejakulátu kanců .....	18
2.5	Tepelný stres u hospodářských zvířat.....	19
2.6	Vliv tepelného stresu na organismus savců .....	20
2.6.1	Volné radikály .....	20
2.6.2	Vliv oxidativního stresu na spermiogenezi .....	23
2.7	Vliv tepelného stresu na plodnost samců .....	23
2.7.1	Negativní dopad tepelného stresu na organismus kanců.....	24
2.8	Termoregulace prasat .....	24
2.9	Ustájení plemenných kanců.....	26
2.10	Vliv výživy při stresových situacích .....	28
2.10.1	Makroprvky ve výživě .....	29
2.10.2	Antioxidanty.....	29
3	CÍL PRÁCE.....	31
4	MATERIÁL A METODY .....	32

5	VÝSLEDKY .....	37
5.1	Objem ejakulátu.....	37
5.2	Koncentrace spermií .....	38
5.3	Celkový počet spermií v ejakulátu .....	39
5.4	Motilita spermií .....	40
5.5	Počet morfologicky abnormálních spermií.....	41
6	DISKUZE.....	43
7	ZÁVĚR.....	45
8	POUŽITÁ LITERATURA.....	46
9	SEZNAM ZKRATEK.....	50
10	SEZNAM OBRÁZKŮ .....	51
11	SEZNAM TABULEK.....	51
12	SEZNAM GRAFŮ .....	51



# 1 ÚVOD

V posledních letech je kladen důraz na přísné dodržování podmínek welfare (pohody zvířat) a ochrany proti týrání zvířat. S tím souvisí i chov zvířat v optimálních teplotních podmínkách, což ale do budoucna může přinášet značné problémy. V důsledku globálního oteplování lze předpokládat, že tepelný stres bude u hospodářských zvířat nabývat na rozsahu. Podle rozsáhlých výpočtů klimatologů se i nadále bude zvyšovat průměrná teplota na Zemi, na evropském kontinentu má dokonce průměrná teplota vzrůstat každých 10 let až o 0,4 °C. Proto je důležité se na tyto prognózy připravit a zajistit zvířatům ideální podmínky, aby netrpěla stresem.

Živočišná výroba je jedním z nejdůležitějších odvětví zemědělské výroby a zemědělsko-potravinářského komplexu, který zabezpečuje obživu obyvatelstva. Hlavním významem živočišné výroby je zajistit obyvatelstvu přísun kvalitních potravin, které jsou v zásadě nezastupitelné. Jedná se především o maso, mléko, vejce a živočišné tuky. Významnou roli v tomto řetězci hraje i chov prasat. Celková světová produkce vepřového masa se pohybuje na úrovni 88 mil. tun masa, což představuje asi 1,2 miliardy zvířat. Největším chovatelem prasat na světě je v současné době Čína, která chová přes 50 % celosvětových stavů. EU se podílí na celosvětových stavech asi 20 %. Dle statistických dat Svazu chovatelů prasat v Čechách a na Moravě k dubnu 2015, je v ČR chováno 1 559 648 prasat, z toho 2 410 kanců.

Spotřeba a obliba vepřového masa je na světě největší, podílí se na celkové spotřebě masa asi ze 42 % a dle odhadů do roku 2025 vzroste jeho spotřeba o dalších až 5 %. V Evropě se však stavy prasat rok od roku snižují, zejména v důsledku stále se zvyšující užitkovosti prasat a vyššímu počtu odchovaných selat na prasnici za rok. Proto hraje reprodukce v chovu prasat velmi důležitou roli. Zejména pak produkce kvalitních inseminačních dávek s vysokou oplození schopností. Proto je důležité, aby byl kladen velký důraz na podmínky chovu plemenných kanců, jejich ustájení, výživu a výborný zdravotní stav.

## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Plemeno duroc

Původ má toto plemeno v Severní Americe. Pravděpodobně vzniklo splynutím třech amerických plemenných rásů: Jersey Red, Red Duroc a Red Berkshire a anglického plemene tamworth. Plemenný standard existuje od roku 1885.

Plemeno duroc je plemeno velkého tělesného rámce (kanci – KV 90 cm, 350 kg; prasnice – KV 82 cm, 300kg). Má lehce prohnutou nosní linii a klenutý hřbet. Uši jsou malé a klopené. Zbarvení jednobarevné, od světle červené po tmavě červenohnědou (**Obrázek 1**). Vyznačuje se robustností, skvělou zmasilostí, dobrou konstitucí a stabilním fundamentem. Pro tyto vlastnosti je hojně využíván v hybridizačních programech (Sambraus, 2006), v ČR pouze v otcovské linii (Pražák, 2010). Prasnice se vyznačují výbornými mateřskými vlastnostmi a dobrou mléčností. Řadí se mezi raná plemena s dobrou konverzí krmiva (1 : 2,69) a masnou výtěžností okolo 57 %. Prasata plemene duroc jsou porážena při jatečné zralosti v rozmezí 100 – 110 kg živé hmotnosti (Sambraus, 2006).



**Obrázek 1:** Plemenný kanec (Čechová *et al.*, 2013)

## 2.2 Rozmnožovací ústrojí kance

Mezi základní části rozmnožovacího ústrojí kance patří varle, nadvarle, vývodné pohlavní cesty, chámovod, přídatné pohlavní žlázy, pyj a šourek. Popis rozmnožovacího ústrojí kance je znázorněn na **Obrázku 2**.

### 2.2.1 Varle (testis)

Varlata jsou párové samčí pohlavní žlázy, ve kterých se tvoří samčí pohlavní buňky – spermie a samčí pohlavní hormon – testosteron (Miholová *et al.*, 1976). Mají vejčitý, mírně zploštělý tvar a u kanců jsou dlouhá 12 – 15 cm a dohromady činí jejich hmotnost přibližně 700 – 1200 g. Kanci mají největší varlata z hospodářských zvířat (Marvan *et al.*, 1998).

Povrch varlat je hladký, krytý tenkou serózní blankou, pod kterou se nachází **bělavý obal** varlete – vrstva hustého kolagenního vaziva s bohatě rozvětvenými krevními cévami (cévy vytvářejí typickou kresbu varlete). Z něj vycházejí do nitra parenchymu vazivové přepážky, které rozdělují parenchym na menší úseky (Reece *et al.*, 1997). Tyto úseky se nazývají lalůčky a parenchymu varlete je jich 100 – 300 ks. Lalůčky mají jehlanovitý tvar. V každém lalůčku se nachází 2 – 4 **stočené semenotvorné kanálky**. Zde vznikají a rostou spermie. Stočené semenotvorné kanálky začínají slepě na periferii lalůčku a postupně se kanálky spojují v krátký a úzký **přímý kanálek** (Marvan *et al.*, 1998).

Mimo různá vývojová stadia spermií, jsou ve varlatech dva důležité typy buněk. Sertoliho (podpůrné) buňky a Leydigovy (intersticiální) buňky (Reece *et al.*, 2009). Více o těchto buňkách v kapitole Spermioogeneze.

Na varle podélně navazuje nadvarle, tvořeno hlavou, tělem a ocasem nadvarlete (Marvan *et al.*, 1998).

### 2.2.2 Nadvarle (epididymis)

Nadvarle volně navazují na varle v místě, kde z varlete vystupují cévy a nervy (Reece *et al.*, 1997). Jednak se zde spermie shromažďují, ale i funkčně dozrávají. Nadvarle je tvořeno hlavou, tělem a ocasem nadvarlete (Miholová *et al.*, 1976).

Hlava nadvarlete – je pevně připojena k hlavovému konci nadvarlete a široce jej překrývá. Skládá se z 15 – 20 lalůček, které jsou tvořeny kličkami odvodných kanálků varlete. Na přechodu mezi hlavou a tělem nadvarlete se všechny odvodné kanálky spojují v jeden vývod nadvarlete (Marvan *et al.*, 1998). Zde spermie dozrávají a získávají schopnost pohybu (Reece *et al.*, 2009).

Tělo nadvarlete – plynule navazuje na hlavu nadvarlete a je volně připojeno k varleti. U přechodu v ocas nadvarlete se tělo znatelně rozšiřuje a volně navazuje a ocas nadvarlete (Marvan *et al.*, 1998).

Ocas nadvarlete – silně rozšířený a zaoblený tvar. Spolu s tělem, ocas nadvarlete tvoří meandrovitě stočený vývod nadvarlete. Tento vývodný kanál nadvarlete slouží jako dočasný rezervoár spermií, než dojde k ejakulaci (Marvan *et al.*, 1998).

### 2.2.3 Vývodné pohlavní cesty

Slouží k odvodu spermií, jejich dočasnému uschování a odvodu výměšků přídatných pohlavních žláz. Jsou tvořeny několika oddíly.

Přímé kanálky – vznikají spojením semenotvorných stočených kanálků.

Varletní síť – nepravidelné prostory a kanálky ve středovém vazivu varlete. Jsou vzájemně síťovitě propojeny a slouží jako sběrný systém pro spermie.

Odvodné kanálky varlete – vystupují z varletní tkáně v podobě 15 – 20 trubiček, které na hlavovém konci opouštějí varle. Po výstupu z varlete se spirálovitě stáčí a vytvářejí lalůčky hlavy nadvarlete (Marvan *et al.*, 1998).

### 2.2.4 Chámovod (ductus deferens)

Chámovod je silná párová trubička spojující vývod nadvarlete s močovou trubicí. Chámovod kance samostatně vyúsťuje na velmi nízkém semenném hrbolku, který se nachází na dorzální stěně močové trubice (Marvan *et al.*, 1998).

Silná svalová vrstva stěny chámovodu se při ejakulaci stahuje a silnými peristaltickými stahy vypuzuje spermie do močové trubice.

**Semenný provazec** – je protáhlý útvar kuželovitého tvaru. Začíná na hlavě nadvarlete a končí vstupem do dutiny břišní (Marvan *et al.*, 1998). Jeho součástí je chámovod, varletní tepna, bohatě rozvětvená varletní žíla, mízní cévy a nervy a sval vnitřního zvedače varlete (Reece *et al.*, 1997). Všechny části jsou vzájemně spojeny řídkým vazivem a hladkou svalovinou, na povrchu obaleny serózou (Miholová *et al.*, 1976).

### 2.2.5 Přídatné pohlavní žlázy

Přídatné pohlavní žlázy produkují sekrety (dohromady tvoří tzv. **semennou plazmu**), jež tvoří přirozené ředidlo spermií, obsahují látky vyživující spermie a upravují prostředí spermií, při průchodu močovou trubicí a pohlavním ústrojí samice. Obsahují elektrolyty, fruktózu,

prostaglandiny, kyselinu askorbovou a další vitamíny nezbytné pro přežití spermií (Reece *et al.*, 1997).

Měchýřkovitá žláza – párová žláza protáhlého tvaru, dlouhá 10 – 15 cm. Leží podél chámovodů. Vylučuje bělavý, slabě zásaditý sekret, který se hromadí v nitrolalúčkových a mezilalúčkových vývodech. Při ejakulaci je tento sekret vypuzen vyměšovacím kanálem do močové trubice, kam vyúsťuje u kance samostatně (Marvan *et al.*, 1998).

Předstojná žláza – *prostata*, je nepárová žláza, ležící na začátku močové trubice, kaudálně od vyústění chámovodů a měchýřkovitých žláz (Marvan *et al.*, 1998). Produkuje řídký mlékovitý sekret zásadité reakce, který zajišťuje neutralizaci prostředí v pochvě. Má charakteristický pach a je odváděn četnými vývody do močové trubice (Miholová *et al.*, 1976).

Bulbouretrální žláza (Cowperovy žlázy) – párová žláza, uložena na močové trubici v oblasti pánevního úseku močové trubice. Vytváří hlenovitý sekret, který je odváděn na začátku ejakulace a činí tak močovou trubici vazkou a neutralizuje její kyselou reakci (Miholová *et al.*, 1976). U kance je tato žláza protáhlá, dlouhá 10 -15 cm a široká 3 cm. Úst jediným vývodem do močové trubice (Marvan *et al.*, 1998).

Při ejakulaci se semenná plazma smísí se spermiemi a tekutinou nadvarlete a tím se vytváří ejakulát (Reece *et al.*, 2009).

## 2.2.6 Pyj (penis)

Samčí pářící orgán, sloužící k dopravě semene do pohlavního ustrojí samice (Miholová *et al.*, 1976). Skládá se z fixované části – kořen pyje a volné části – tělo pyje (Marvan *et al.*, 1998). Kořen pyje je pomocí dvou ramen pevně připojen na kaudální zaoblenou plochu obou sedacích kostí a přechází v tělo. Tělo pyje je uloženo v řídkém podkožním vazivu v oblasti hráze a mezinoží. Konec pyje je volný a zakončen žaludem. V ochablém stavu je ukryt v kožním vaku – předkožce a u kance vytváří charakteristické esovité ohbí (Reece *et al.*, 2009). Podstatu pyje tvoří párové topořivé těleso pyje, nepárové topořivé těleso pyje, močová trubice, pomocné svaly, cévy a nervy (Marvan *et al.*, 1998). Obě topořivá tělesa leží u kořene pyje a rovněž přirůstají k sedacím kostem. Obě topořivá tělesa dále navzájem splývají v jednotné topořivé těleso. V místě spojení se na dorzální straně pyje nachází mělký a na ventrální straně pyje hluboký žlab. Mělkým žlabem prochází cévy a nervy, hlubokým pak houbovitě těleso obklopující močovou trubici (Marvan *et al.*, 1998).

Předkožka – invaginovaná, vchlípená kožní duplikatura, která obklopuje volnou část pyje. Kanec má na dorzální straně předkožkovou výduť, která obsahuje rozkládající se moč a

maceráty epitelu. Tato tekutina obsahuje také feromony, které stimulují prasnici k reflexu nehybnosti během páření (Reece *et al.*, 1997).

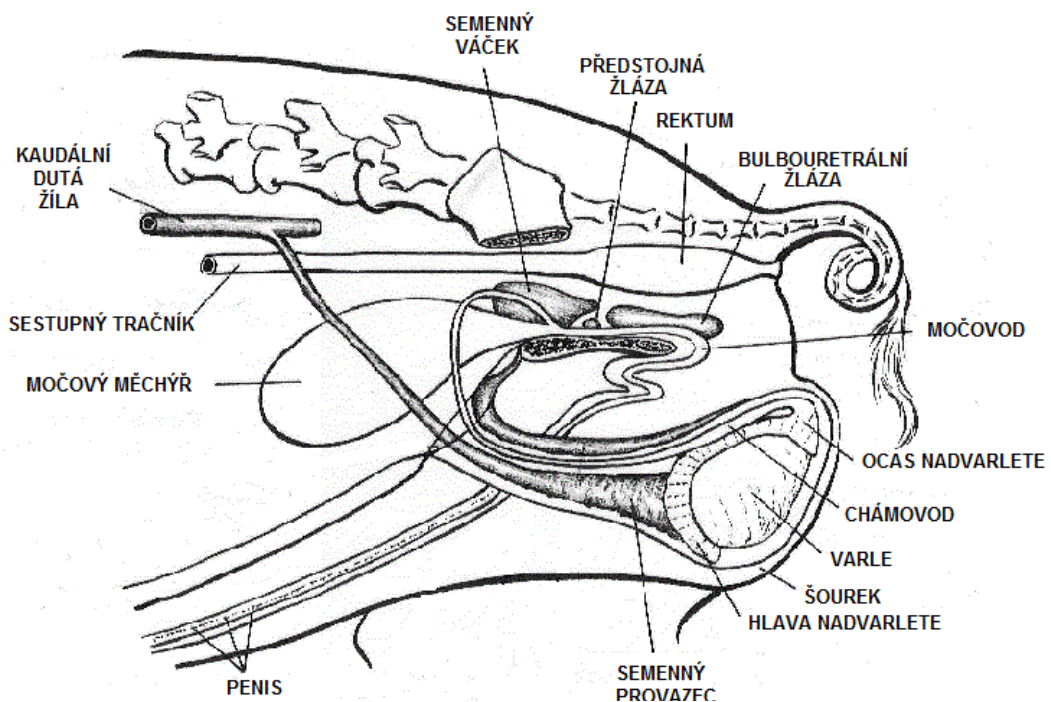
**Erekce** – ztopoření pyje. Umožňuje zasunutí pyje do pochvy samice. Principem ztopoření pyje je naplnění dutinek topořivého těla krví. Městnáním dutinek jsou stlačeny odtokové žíly, tím dojde ke ztvrdnutí penisu. Při erekci dojde také k naplnění krví dutinek houbovitého těla, což má za následek zachování průchodnosti močové trubice – tím je umožněna ejakulace. Po ejakulaci penis ochabne a tím se uvolní lumen odtokových žil a uvolní se dutinky topořivého i houbovitého těla (Marvan *et al.*, 1998).

### 2.2.7 Šourek (scrotum)

Šourek je kožní vak, ve kterém jsou uložena varlata, nadvarlata a semenný provazec. U kance leží v krajně hráze. Není zaškrcen, má širokou základnu a obloukovitě se vyklenuje kaudálním směrem, přičemž přesahuje linii stehen.

Šourek kanců není osrstěn a jeho kůže je tlustá a svráštělá. V mediánní rovině vytváří kůže šourku šourkový šev. Pod kůží je podkožní svalová vrstva vytvářející přepážku, rozdělující šourkovou dutinu na dvě poloviny.

Svalovina šourku reaguje na změny okolní teploty – v chladu se smršťuje (ochlazovaná plocha se zmenšuje) a v teple ochabuje (ochlazovaná plocha se zvětšuje). Tento termoregulační mechanismus umožňuje zachovávat u šourku teplotu o 3 – 4 °C nižší než je telota jádra, což je ideální teplota pro správnou spermiogenezi (Marvan *et al.*, 1998).



Obrázek 2: Rozmnožovací ústrojí kance (Anonym, 2016)

## 2.3 Spermatocytogeneze, spermiogeneze

Spermatocytogeneze zahrnuje proces, při kterém jsou transformovány zárodečné epitelové buňky na spermie (Reece *et al.*, 2011). Probíhá v pravidelných cyklech během celého reprodukčního období jedince. Délka spermatogenního cyklu je druhově rozdílná. U prasat trvá v průměru 35 dní. (Jelínek *et al.*, 2003).

### 2.3.1 Růst a zrání spermií

Spermatocytogenezi rozdělujeme na 4 fáze:

1. Období rozmnožování (mitotické dělení)
  - Dělení buněk, kdy každá nová buňka má diploidní počet chromozomů -  $2n$  (Reece *et al.*, 2011),
  - Kmenová buňka, spermatogonie, mitoticky rozdělena na dvě, nestejně velké, dceřinné buňky – jedna, podobná mateřské buňce zůstává v latentní fázi na stejném místě a druhou menší, A-spermatogonii, která je opakovaně dělena až na B-spermatogonie (Jelínek *et al.*, 2003),
  - B-spermatogonie jsou mitoticky rozděleny na primární spermatocyty – spermatocyty I. řádu ( $2n$ )  $2n$  (Reece *et al.*, 2011).
2. Období růstu
  - Primární spermatocyty nabývají na objemu (Jelínek *et al.*, 2003).
3. Období zrání, meiózy
  - Dvojití dělení buněk, kdy každá nová buňka má haploidní počet chromozomů –  $n$  (Jelínek *et al.*, 2003),
  - První meiotické dělení – primární spermatocyt rozdělen na dva sekundární spermatocyty – každý spermatocyt obsahuje jeden chromozóm (dvě spojené chromatidy),
  - Druhé meiotické dělení – z každého sekundárního spermatocytu vznikají dvě spermatidy – při tomto dělení se spojené chromatidy rozdělí na dva duplicitní soubory genů a každý z nich přejde do jedné vzniklé spermatidy (Reece *et al.*, 2011), celkem tedy z jednoho primárního spermatocytu vzniknou 4 spermatidy
  - Vznikem 4 spermatid končí proces spermatocytogeneze a nastává proces spermiogeneze (Jelínek *et al.*, 2003).

#### 4. Období metamorfózy (spermiogeneze)

- Okrouhlá a nepohyblivá spermatida se mění ve štíhlou pohyblivou spermii (Jelínek *et al.*, 2003), metamorfóza je rozdělena na jednotlivá stádia:
  - Golgiho stadium
  - Stadium akrozómové čepičky
  - Stadium kaudální manžety
  - Stadium zrání
- Změny jádra a cytoplazmy probíhají ve výběžcích podpůrných (Sertoliho) buněk. Dozrálé spermie jsou uvolňovány do lumen semenotvorného kanálku (Reece *et al.*, 2011). Spermie odtud putují až do ocasu nadvarlete, kde je také ukládají a dále dozrávají. Spermie jsou stále nepohyblivé (Jelínek *et al.*, 2003).

Jednotlivá vývojová stádia spermie v průběhu spermiogeneze postupují k lumen semenotvorného kanálku. Tudíž se v semenotvorném kanálku nacházejí současně všechna čtyři vývojová stádia spermii.

Při druhém meiotickém dělení dochází také k sexaci – rozdělení spermatid s chromozomy X a Y. Poměr sex-chromozomů je 50:50 (Jelínek *et al.*, 2003).

Je však dokázáno, že vznik pohlaví je značně ovlivněn teplotou při spermatogenezi. Při zvýšené teplotě dochází k výrazné převaze samičího pohlaví v potomstvu (Hansen *et al.*, 2009).

#### 2.3.2 Morfologie spermie

Tvar a velikost spermii jsou druhově rozdílné. Jsou 50 – 80  $\mu\text{m}$  dlouhé, hmotnostně se nepatrně liší v závislosti na sex-chromozomu. Androspermie - Y jsou lehčí než gynospermie - X (Jelínek *et al.*, 2003). Mezi základní části spermie patří hlavička, akrozóm, nukleoplazma a bičík. Popis spermie je znázorněn na **Obrázku 3**.

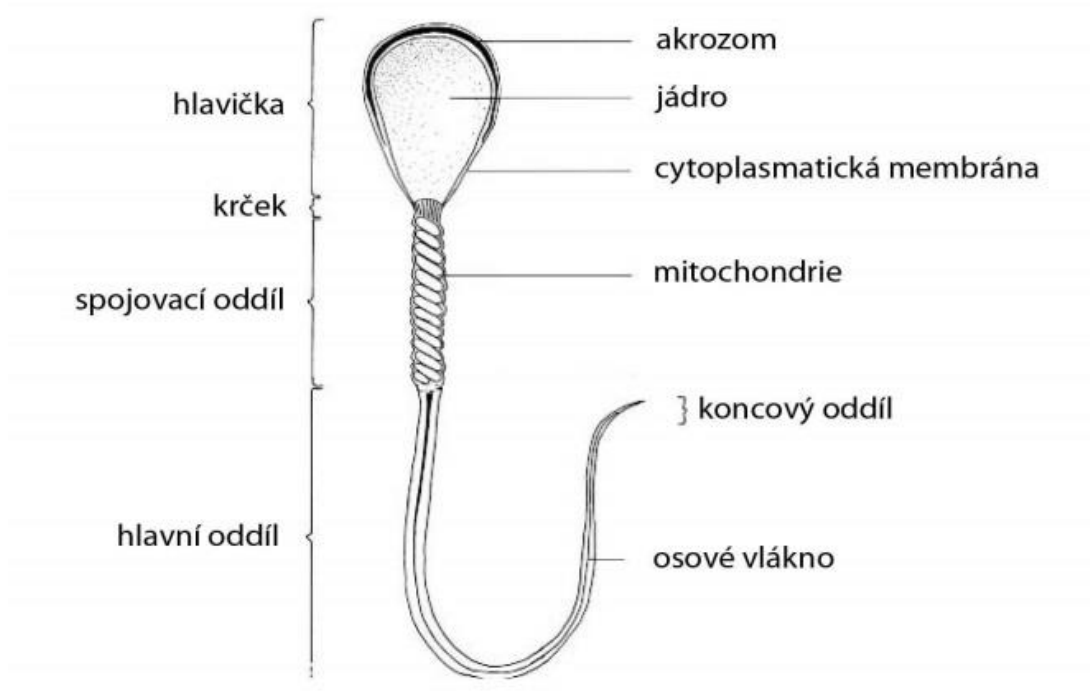
**Hlavička** – 5 – 10  $\mu\text{m}$  dlouhá, ze stran zploštělá, oválného tvaru. V hlavičce je uloženo jádro nesoucí genetickou informaci (Jelínek *et al.*, 2003).

**Akrozóm** – pokrývá přední část hlavičky spermie. Akrozóm obsahuje mukopolysacharidy a enzymy (Jelínek *et al.*, 2003). Jedná se zejména o enzymy hyaluronidáza, proakrosin a akrosin, které napomáhají pronikání spermie do ovoplazmy při kontaktu spermie a vajíčka (Kresan *et al.*, 1979).

**Nukleoplazma** – jádro spermie obsahuje pouze poloviční množství genetické informace pro vytvoření nového jedince (Jelínek *et al.*, 2003).



**Bičik** – pohybové ústrojí spermie. Je dlouhý 50 – 70  $\mu\text{m}$ . Bičik je spojen s hlavičkou tzv. centriolou. Samotný bičik se dělí na několik částí. **Krček**, spojující bičik a hlavičku, je krátký a obsahuje dva za sebou uložené centrioly. Z distálního centriolu, obklopeného devíti příčně segmentovanými provazci, vystupuje osová vlákna tvořená 9+2 duplety mikrotubulů. **Spojovací (mitochondriální) část** bičíku navazuje na krček (centriolovou část) a obsahuje velké množství mitochondrií. **Hlavní část** bičíku je nejdelší (40 – 50  $\mu\text{m}$ ) jeho základem je také osová vlákna, obklopená nesegmentovanými provazci a obalená fibrózní vrstvou. Úlohou fibrózní vrstvy je zajistit pevnost a pružnost osových vláken při pohybu spermie. **Koncový (termální) oddíl** bičíku je tvořen pouze neobaleným osovým vláknem (Jelínek *et al.*, 2003).



**Obrázek 3:** Popis spermie (Morel, 2003, upraveno)

## 2.4 Kančí ejakulát

Charakteristickým znakem ejakulátu kanců je vysoký objem ejakulátu a nízká koncentrace spermií, nicméně celkový obsah spermií je vysoký (Hájek *et al.*, 1992). Specifická je také délka ejakulace kanců, která může trvat 5 – 7 minut. Taktéž se mění i složení ejakulátu v průběhu ejakulace. Rozeznáváme 3 frakce:

**Prespermatická frakce** – jedná se o první část ejakulátu, ční asi 5 – 20% z celkového objemu. Tento sekret je nažloutlý a lepkavý, produkován uretrálními žlázami s minimálním množstvím sekretu Cowperových žláz a minimem spermií. Tato část ejakulátu pravděpodobně

slouží k výplachu močové trubice a zvlhčení vulvy a vagíny. Vykazuje značné mikrobiální znečištění, proto se při přípravě inseminačních dávek neodebírání,

Spermatická frakce – hlavní část ejakulátu s nejvyšší koncentrací spermií (asi 80% z celkového objemu spermií). Ejakulace této frakce probíhá 1 – 3 minuty a má smetanovitou konzistenci. Tvořena je tedy z větší části samotnými spermiemi a malou částí sekretů semenných váčků, prostaty a minimem sekretu Cowperových žláz. Spermatická frakce tvoří 30 – 50 % z celkového objemu ejakulátu (Louda *et al.*, 2001),

Postspermatická frakce – tvořena v závěrečné fázi ejakulace. Tvořena je semennou plazmou a nízkým počtem spermií. Ejakulace postspermatické frakce trvá 1 – 5 minut. Charakter této frakce je mléčný až vodnatý a tvoří největší část ejakulátu (40 – 60 %). Na konci ejakulace se tvoří rosolovitý sekret, který je tvořen zejména sekretem Cowperových žláz (Louda *et al.*, 2001). Funkcí tohoto sekretu je utěsnění krčku děložního a vagíny, což slouží jako opatření proti výtoku spermií z pohlavních orgánů prasnice (Hájek *et al.*, 1992).

Semenná plazma tedy u kance tvoří 95 – 97% z celkového objemu ejakulátu (Jelínek *et al.*, 2003).

#### **2.4.1 Hodnocení kvality ejakulátu kanců**

Sperma kance se skládá z 3 – 7 % spermiemi a z 93 – 97 % semennou plazmou. Ředění spermie:semenná plazma je tedy 1:90 – 100.

Průměrný objem spermatu u dospělého kance se pohybuje mezi 200 – 300 cm<sup>3</sup>, koncentrace mezi 250 – 400 tis. v 1 ml, aktivita (motilita) by se měla pohybovat mezi 60 – 90 %, celkový počet spermií při doporučené frekvenci odběrů by měl být 50 – 90 miliard. V inseminační dávce by mělo být maximálně 25 % morfologicky defektních nepatogenních spermií (Louda *et al.*, 2001).

Plodnost kanců roste s věkem, kdy vrcholu dosahuje mezi 18. – 30. měsícem věku. Spermioogeneze probíhá nepřetržitě, kdy 1 g varlečního parenchymu vyprodukuje přibližně 20 – 30 milionů spermií za den (Říha *et al.*, 2001). První odběry se uskutečňují v 5. měsíci věku. Ejakulát vykazuje malý počet nezralých spermií. Ve věku 8 měsíců už ejakulát vykazuje minimální požadavky pro inseminaci, ale v inseminaci se kanci plně využívají až od 10. měsíce. Kvalita ejakulátu roste až do 5. – 6. roku kance, poté se zpravidla z inseminace vyřazují (Hájek *et al.*, 1992).

#### 2.4.1.1 *Makroskopické hodnocení*

Pach (vůně) - normální, správně odebraný ejakulát má neutrální vůni charakteristickou pro vaječný bílek. Ostrý pach nebo druhově specifický kančí pach svědčí o znečištění spermatu močí, prepuciálním sekretem, případně obsahem předkožkového divertikula

Barva - světle šedá, bílá nebo mírně nažloutlá. Žluté, zelené, růžové nebo hnědé zbarvení znamená příměsi moči, hnisu, krve apod.

Objem spermatu - objem ejakulátu se obvykle pohybuje v rozmezí 200 – 500 ml.

pH - rozmezí mezi 6,8 – 7,8, tedy mírně zásadité (Louda *et al.*, 2001).

#### 2.4.1.2 *Mikroskopické hodnocení*

Aktivita (motilita) - určuje se při 200 – 300 násobném zvětšení na podložním sklíčku zahřátým na 38 – 40 °C. Určuje se vizuálně % spermii s přímočarým pohybem vpřed za hlavičkou.

Koncentrace - určuje se různými metodami. Nejpřesněji se určuje pomocí Bürkerovy komůrky pro počítání krvinek. Dále lze použít spermiodenzimetr podle Karrase nebo stanovení pomocí fotokolorimetru (Louda *et al.*, 2001).

#### 2.4.1.3 *Požadavky na ejakulát vhodný pro tvorbu inseminačních dávek*

Čerstvý ejakulát, ze kterého se budou tvořit inseminační dávky, by měl být mléčně bílé až šedobílé barvy charakteristické konzistence, bez zápachu a musí být bez příměsí, jako jsou krev, moč, hnis apod. Objem spermatické frakce či filtrovaného ejakulátu (bez hlenové zátky) by měl být minimálně 100 cm<sup>3</sup> (u kanečků do 12 měsíců věku min. 80 cm<sup>3</sup>). Hustota spermatu nesmí být nižší než 150 000 spermii v ml, motilita minimálně 70 %, obsah morfologicky normálních spermii min. 75 % a nesmí obsahovat patogenní mikroorganismy (Louda *et al.*, 2001).

## 2.5 Tepelný stres u hospodářských zvířat

Hospodářská zvířata, jako skupina endotermních živočichů, jejichž tělesná teplota je poměrně vysoká, jsou více tolerantní k teplotám nižším, než je teplota jejich tělesného jádra než k teplotám vyšším. Zvýšení tělesné teploty o několik stupňů než je normální nazýváme **tepelný šok** a může mít fatální následky, jelikož ovlivňuje přímo buněčné funkce. Naruší se membránová propustnost, struktura proteinů a objeví se zvýšená ztráta tekutin a elektrolytů (Hansen *et al.*, 2009).

Fyziologický proces, při kterém se udržuje stabilní teplota tělesného jádra za změn teploty okolí, se nazývá termoregulace. Termoregulaci lze považovat za homeokinetický proces,

příčemž dosažení rovnováhy tělesné teploty zahrnuje dynamické procesy, které vedou k odchylkám v jiných fyziologických procesech. Prvním procesem ohrožujícím reprodukční funkce jsou změny toku krve z tělesného jádra do periferií. Dalším procesem je redukce příjmu potravy při tepleném stresu. Při restrikci příjmu krmiva dochází sice ke snížení produkce metabolického tepla, ale také může vést k energetické disbalanci a nedostatku živin, což může vést k poruchám cykličnosti, udržení březosti a fetálního vývoje (Hansen *et al.*, 2009).

## 2.6 Vliv tepelného stresu na organismus savců

Při tepelném stresu jsou v organismu uvolňovány vysoce reaktivní molekuly, tzv. volné radikály, které mají degenerativní účinky na okolní tkáň a celý organismus.

### 2.6.1 Volné radikály

Volné radikály jsou atomy, ionty nebo molekuly obsahující alespoň jeden orbital s jediným (nepárovým) elektronem (Štípek *et al.*, 2000). Nejznámějším volným radikálem je jednomolekulový (elementární) vodík. Má jeden proton v jádru a jediný nepárový elektron v orbitalu (Halliwell *et al.*, 1994).

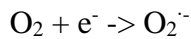
Volné radikály jsou velmi nestabilní, nejsou schopny samostatné existence, proto je jejich poločas rozpadu velmi krátký (Racek a Holeček, 1999). Okamžitě tedy reagují s okolními molekulami. Svůj volný elektron buď poskytnou jiné molekule, a samy se tak oxidují se, nebo naopak elektron přijímají z jiné molekuly a tak se redukují (Mourek *et al.*, 2009). Nejčastěji reagují zejména s mastnými kyselinami, lipidy, aminokyselinami, proteiny, mono a polynukleotidy (nukleové kyseliny, DNA) a celou řadou nízkomolekulárních metabolitů a koenzymů (Štípek *et al.*, 2000).

V organismu vzniká celá řada volných radikálů a jsou významným činitelem při přenosu energie, při imunitní reakci organismu a jsou signálními molekulami buněčné regulace (Štípek *et al.*, 2000). Radikály dusíku (RNS) jsou nejznámějšími signálními molekulami na buněčné úrovni. Reaktivní formy kyslíku (ROS) mají hned několik důležitých funkcí v organismu. Regulují kontrakci hladké svaloviny, srážlivost krve, kontrolují vazodilataci a vazokonstrikci a účastní se i genové transkripce (Fang *et al.*, 2002). Za určitých podmínek se však mohou stát toxickými a značně organismus poškodit, či zcela usmrtit (Štípek *et al.*, 2000). Vytržením elektronu z dané molekuly však vzniká další radikál s volným elektronem a nastává řetězová reakce, jež může mít až fatální následky (Kaushik *et al.*, 2003).

Pokud je jedinec vystaven stresové situaci, ať už fyzickému nebo tepelnému stresu, v organismu se vytváří velké množství ROS. Volné radikály mohou vznikat nejen při zvýšené teplotě, ale i při nižších teplotách než je optimální teplotní rozpětí prasat. Teplotní pásmo 10 – 17°C je ideální pro nízkou produkci volných radikálů a zachování dobré plodnosti kanců (Horký *et al.*, 2015).

### 2.6.1.1 *Reaktivní formy kyslíku*

#### Superoxid $O_2^{\cdot-}$



Jednoelektronový redukovaný produkt kyslíku. Je produkován fagocytujícími buňkami (neutrofil, monocyt, makrofág, eozinofil) a napomáhá jim při inaktivaci virů a bakterií (Halliwell *et al.*, 1994).

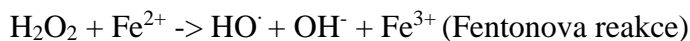
Má oxidační i redukční vlastnosti. Podléhá dismutaci, při které jedna jeho molekula poskytuje elektron druhé, takže se superoxid vlastně zároveň oxiduje i redukuje a produkty reakce jsou kyslík a peroxid vodíku. Ve vodném prostředí je reakce velmi rychlá, ale v biologických organismech je ještě urychlována enzymem superoxid-dismutázou (Štípek *et al.*, 2000).

Malé množství superoxidu pozitivně ovlivňuje funkce spermií. Napomáhá spermiím navázat se na zónu pellucidu při oplození (Sanocka & Kurpisz, 2004).

#### Peroxid vodíku $H_2O_2$



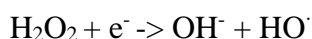
Peroxid vodíku mezi kyslíkové radikály nepatří, avšak musí být zmíněn, jelikož se na jejich vzniku podílí. Za přítomnosti tranzitních kovů (dvojmocné železo  $Fe^{2+}$  a jednomocná měď  $Cu^+$ ) se pohotově redukuje za vzniku hydroxylového radikálu (Štípek *et al.*, 2000).



Po Fentonově reakci pak další superoxid redukuje trojmocné železo zpět na dvojmocné pro další katalýzu (Štípek *et al.*, 2000).

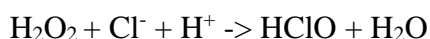
Bylo zjištěno, že inkubace spermií za nízké koncentrace peroxidu vodíku vede ke stimulaci kapacitace spermií, jejich hyperaktivaci a nastoupení akrosomové reakce (Sanocka & Kurpisz, 2004).

### Hydroxylový radikál HO·



Vzniká působením ionizačního záření na vazbu v molekule vody, která se tak rozpadá (Halliwell *et al.*, 1994). Hydroxylový radikál je vysoce toxický, extrémně silné oxidační činidlo. V organismu okamžitě reaguje s okolními molekulami, kdy vytrhuje elektrony z nenasycených mastných kyselin, hydroxyluje aminokyseliny a báze nukleových kyselin (Štípek *et al.*, 2000).

### Kyselina chlorná HClO



Kyselina chlorná je syntetizována neutrofilními granulocyty pomocí myeloperoxidázy. Působí jako silný oxidant. Společně s ROS a RNS mají silný baktericidní účinek (Štípek *et al.*, 2000).

## **2.6.1.2    *Reaktivní formy dusíku***

### Oxid dusnatý NO·

Jednoduchá molekula oxidu dusnatého je v organismu syntetizována velmi složitě (Štípek *et al.*, 2000). Za fyziologických podmínek je v organismu syntetizován při normálních metabolických procesech a je pro funkci organismu naprosto nezbytný. Je například fagocyty syntetizován z L-argininu při imunitních reakcích organismu. Má vazodilatační účinky a funguje také jako neurotransmitér (Halliwell *et al.*, 1994). Avšak za určitých podmínek jsou oxid dusnatý a jeho metabolity prudce jedovatými látkami. *In vivo* reaguje s většinou biomolekul velmi pomalu a než vůbec dojde k dané reakci, je inaktivován hemoglobinem v krvi. *In vivo* reaguje dostatečně rychle pouze s tranzitními kovy a radikály. Toxické oxidační účinky byly pozorovány pouze *in vitro* ve vyšších koncentracích.

Větším problémem *in vivo* je však navázání NO· na železo oxyhemoglobinu v erythrocytech. Vzniká tak methemoglobin a nitrát, jejichž výskyt může mít v organismus fatální následky (Štípek *et al.*, 2000).



Největší riziko vzniká u selat při očkování železa po narození. Pokud prasnice měla deficit vitamínu E, selata jsou velmi citlivá na očkování preparáty železa, protože je snižená jejich antioxidační obrana organismu. Dochází k peroxidaci lipidů, poškození svalů, ochrnutí až smrti (Slater, 1984).

## 2.6.2 Vliv oxidativního stresu na spermiogenezi

Předpokládá se, že oxidativní stres je jedním z hlavních příčin infertility. Volné radikály mohou vznikat z patogenních leukocytů a spermií (Aitken, 1994; Aitken & West, 1992). Buňky, nejvíce zasaženy tepelným stresem, jsou spermatocyty a spermatidy, ačkoliv B-spermatogonie mohou být také poškozeny. Oxidační proces je hlavním důvodem poškození spermatogenních buněk a vede k apoptóze nebo k přetrhání vlákna DNA (Hansen *et al.*, 2009). Spermie s distální protoplazmatickou kapénkou jsou nejčastěji se vyskytující morfologickou abnormalitou spermií (Lipenský *et al.*, 2010).

Nadměrná produkce ROS může hrát důležitou roli při poruchách funkce spermií, zapříčiněné peroxidací nenasycených mastných kyselin v plasmatické membráně. V důsledku tohoto poškození ztrácí spermie schopnost reagovat na signál vápníku, který je důležitý pro zahájení akrozomové reakce (Aitken *et al.*, 1989).

Dle Maya-Sorano *et al.* (2013) volné radikály postihují zejména mitochondrie, které poskytují spermiím energii a schopnost pohybu. Poškození mitochondrií způsobuje sníženou motilitu spermií.

## 2.7 Vliv tepelného stresu na plodnost samců

Většina savců má varlata uložena v šourku mimo tělní dutinu, což způsobuje, že ve varlotech je o několik stupňů nižší teplota, než teplota tělesného jádra (Hansen *et al.*, 2009). Varlata mají obvykle o 2,5 °C nižší teplotu než tělesné jádro. Tato teplota musí být zachována pro optimální plodnost kanců (Gadd, 2011), pro správný průběh spermiogeneze, skladování spermií a pro minimalizaci mutací DNA v gametách. Pokud je varletní tkáň vystavena vyšší teplotě, dochází ke snížení produkce spermií, snížení jejich motility a zvýší se výskyt morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu (Hansen *et al.*, 2009).

Ke zvýšené teplotě varlat může docházet hned z několika příčin. Při lokálním zahřátí šourku, při izolaci šourku, při kryptorchismu nebo při zvýšené tělesné teplotě v důsledku horečky nebo vysoké teploty okolí (Hansen *et al.*, 2009).

V počátku tepelného stresu se proto neprojeví změny spermií bezprostředně, ale až po určité době, kdy dané spermatocyty dozrají ve spermie a jsou ejakulovány. Například u býka, u kterého trvá spermiogeneze přibližně 61 dní, se projeví změny spermatu až si za 2 týdny po vystavení tepelnému stresu a trvá dále ještě dalších 8 týdnů po ukončení tepelného stresu (Hansen *et al.*, 2009). U kanců se projevy teplotního stresu obvykle začínají objevovat už po 7 – 14 dnech a kvalita spermatu se vrací do normálu za 5 – 8 týdnů. Obnova tvorby spermatu ve

varlatech trvá 35 dnů a jejich průchod nadvarlaty trvá průměrně dalších 10 dnů. Tedy 45 dnů musí uplynout do obnovení ejakulace normálních spermií (Smítal, 2001).

### 2.7.1 Negativní dopad tepelného stresu na organismus kanců

Tepelný stres u kanců počíná dlouhodobému vystavení teplotě nad 25 °C (Hájek *et al.*, 1992). Největší změny v kvalitě ejakulátu docházelo u kanců, vystavených krátkodobě teplotě 30°C (nepřetržitě po dobu 3 dnů v laboratorních podmínkách) nebo po dlouhodobém působení teploty 26 až 29°C (Louda *et al.*, 2001). Při pokusu, kdy byla denně zvyšována okolní teplota o 1°C po dobu 20 dnů v rozmezí 20 – 40°C, bylo zaznamenáno, že kritická hranice je 30°C, kdy se výrazně snížila pohyblivost spermií (Smítal, 2001).

Zhoršení kvality ejakulátu se projevuje zejména u kanců se slabší konstitucí (Hájek *et al.*, 1992). U vnímavých kanců se objevuje při tepelném stresu vyšší výskyt abnormálních spermií, snížená motilita spermií, nižší objem ejakulátu, sníženou produkcí pohlavních hormonů v krvi a zvyšuje se intenzita dýchání a rektální teplota. Počátek tepelného stresu zaznamenáme podle intenzity dýchání. Za fyziologických podmínek je normální intenzita dýchání 15 – 20 vdechů za minutu. Tepelný stres pak indikujeme, pokud intenzita přesáhne 40 – 50 vdechů za minutu (Smítal, 2001).

Motilita spermií u zdravého kance ve vyhovujících podmínkách se pohybuje až okolo 95%, ale pokud je vystaven teplotám nad 40 °C motilita prudce klesá až na 5% (Gadd, 2011). Toto zhoršení plodnosti kanců je přechodné, trvá ještě asi 3 – 6 týdnů po ukončení tepelného stresu, poté se kvalita ejakulátu navrácí k normálu. Jelikož k vysokým teplotám prostředí dochází zejména v letních měsících, nazývá se toto přechodné snížení plodnosti tzv. **sezónní porucha plodnosti** (Hájek *et al.*, 1992).

Společně se sníženou kvalitou ejakulátu může díky tepelnému stresu docházet ke zhoršení libida kanců v letních měsících. K těmto změnám může docházet už při vystavení teplotě nad 27 °C po dobu 5 – 14 dní. Pro zachování plodnosti kanců je vhodné, aby byli v letních měsících, nebo při zjištění snížení kvality ejakulátu, méně používáni v plemenitbě. Minimálně po dobu 4 – 6 týdnů, kdy mohou následky tepelného stresu přetrvávat (Gadd, 2011).

## 2.8 Termoregulace prasat

Termoregulace je fyziologický proces, jehož cílem je zachovat rovnováhu mezi přijímaným a vydávaným teplem z okolí. Je nezbytná pro zachování normální činnosti metabolismu a enzymatických reakcí (Jelínek *et al.*, 2003).



### 2.8.1.1 *Evaporace*

Ochlazování těla odpařováním vody (potu). Na povrch těla přichází nepřetržitě difúzí a osmózou voda, která se odpařuje. Tento jev se nazývá *perspiratio insensibilis* neboli nepozorovatelné odpařování (Jílek, 2009). Dalším druhem je pozorovatelné odpařování – pocení. Organismus se zvyšující se okolní teplotě brání pávě pocením, mělkým a zrychleným dýcháním – tzv. termická polypnoe (Reece *et al.*, 2011). U zvířat, která mají dostatečné množství potních žláz, je tento způsob termoregulace velmi účinný. Účinnost evaporace závisí na okolním prostředí, zejména na vlhkosti vzduchu. Tedy čím nižší relativní vlhkost prostředí, tím účinnější evaporace (Jelínek *et al.*, 2003). U zvířat při odpočinku se takto ztrácí 25% tepla (Jílek, 2009).

### 2.8.1.2 *Kondukcce*

Přenos tepla dotykem s okolními předměty, ale i vzduchem, vodou apod. Účinnost přenosu tepla je závislá na vodivosti daného předmětu, vzduchu nebo vody. Nevodivé látky teplo nepřijímají, mají tedy izolační účinky. Naopak silně vodivé látky tělo účinně ochlazují. Bariérou přenosu tepla je srst nebo peří. Za normálních okolností zachycují vrstvu nepohyblivého vzduchu a vytvářejí tak tenkou izolační vrstvu. Při zvlhnutí se však vodivost srsti zvýší až 25 krát a tím dojde k prudkému růstu tepelných ztrát, což může mít až fatální následky, zejména u mláďat. Izolační vlastnosti má také podkožní vrstva tuku. Za určitých podmínek ochraňují tělo před přílišnými ztrátami tepla, zejména u zvířat žijící ve vodním prostředí. Naopak přílišné přetučnění vede k nedostatečnému výdeji tepla a může dojít k přehřívání organismu (Jelínek *et al.*, 2003).

### 2.8.1.3 *Konvekce*

Přenos tepla na okolní proudící vzduch nebo tekutinu (krev). Čím jsou teploty a daného média rozdílnější, tím je účinnost výměny tepla větší. Nejúčinnější regulace tělesné teploty u dospělých zvířat. Naopak u mláďat v důsledku přílišného proudění vzduchu a konvekce dochází k jejich nadměrnému podchlazování. Je nutné sledovat rychlost proudění vzduchu ve stájích a v případě potřeby proudění vzduchu regulovat (Jelínek *et al.*, 2003).

### 2.8.1.4 *Radiace*

Přenos tepla elektromagnetickými vlnami na okolní chladnější předměty. Sálavé teplo je přenášeno na okolní předměty bezkontaktně a neohřívá okolní vzduch. Radiace je způsobena vazodilatací cév v kůži. Výdej sálavého tepla je značně omezen srstí. Absorpce tepla je mimo přítomnost srsti ovlivňován také barvou kůže. Tmavě zbarvená kůže a srst absorbuje více

infračerveného tepla než kůže bílá. Proto zvířata v tropických pouštních oblastech mají většinou pískovou až bílou barvu kůže i srsti (Jelínek *et al.*, 2003).

## 2.9 Ustájení plemenných kanců

Plemenní kanci se ustájují v individuálních kotcích (Hájek *et al.*, 1992). Kotce pro kance musí být situovány a konstruovány tak, aby měl kanec volnost pohybu k otočení, slyšel, viděl a cítil ostatní prasata. Součástí kotce musí být čistá plocha pro odpočinek. Plocha pro ležení musí být suchá a pohodlná. Minimální plocha kotce pro dospělého kance má být 6 m<sup>2</sup>. Pokud se kotec používá i jako místo pro krytí prasnic, musí být jeho plocha větší (Večerek, 2001). Hájek *et al.*, 1992 udávají, že doporučená plocha lože je 5m<sup>2</sup>. Výhodné je volit čtvercový tvar lože o rozměrech minimálně 220 x 220 cm. Doporučený spád lože je 3 – 4%. Celková plocha kotce činí 7 – 8m<sup>2</sup>. U kanců je dobré vytvořit tvrdý a případně i měkký výběh. Plocha tvrdého výběhu na jednoho kance by měla činit 10m<sup>2</sup>. Žádoucí je také zřídit měkký, nejlépe travnatý výběh.

Ustájují se zásadně individuálně v celkovém počtu 1 – 4 kanci podle kapacity chovu (Příkryl, 1997). Pro udržení dlouholeté schopnosti kance v plemenitbě má velký význam pravidelná prohlídka a ošetřování spárků. Zvláštní pozornost je třeba věnovat prostoru mezi spárky, protože při trvalém pobytu kance ve vlhkých nebo znečištěných kotcích může dojít k bolestivým zánětům kůže mezi spárky. Má-li kanec málo pohybu, narostlá rohovina spárků se málo opotřebovává a spárky se prodlužují nebo různě deformují. Tím dochází k nepravidelným postojům. Nepřirozený tlak na klouby vyvolává větší namáhání šlach, vazů a celých končetin, takže kanec projevuje nechuť ke skoku (Mikšovský, 1990).

Krmení se provádí buď pomocí samokrmítek nebo se využívá vlhké až mokré krmení. K napájení se využívá kolíková napáječka (Stupka *et al.*, 2009).

Doporučené mikroklima ve stáji pro prasata je uvedeno v **Tabulce 1**.

**Tabulka 1:** Doporučené mikroklima ve stáji pro prasata

Kategorie	Hmotnost zvířat (kg)	Teplota (°C)		Relativní vlhkost (%)		Doporučená nejvyšší rychlost proudění vzduchu při teplotě (m/s)		
		min.	optim.	optim.	max.	min	optim.	> než optim.
<b>Dochov selat (předvýkrm)</b>								
I. etapa – do odstavu selat								
- bez místního vytápění lože	6 – 18	21	21 – 24	50 – 70	75	do 0,15	0,15	0,30
- s místním vytápěním lože		18	18 – 24					
II. etapa								
- odstavená selata	18 – 30	15	18 – 24	50 – 70	75	do 0,15	0,20	0,50
<b>Výkrm prasat</b>								
I. etapa								
- celoroštové ustájení	30 – 50	15	20 – 24	50 – 75	80	do 0,15	0,30	1,0
- ostatní způsoby ustájení		13	18 – 24					
II. etapa								
- celoroštové ustájení	50 – 70	13	16 – 22	50 – 75	85	do 0,15	0,30	1,5
- ostatní způsoby ustájení:		11	14 – 22					
III. etapa								
- celoroštové ustájení	70 – 90	11	14 – 20	50 – 75	85	do 0,15	0,30	2,0
- ostatní způsoby ustájení		9	12 – 20					
IV. etapa								
- celoroštové ustájení	> 90	9	12 – 20	50 – 75	85	do 0,15	0,30	2,0
- ostatní způsoby ustájení		7	10 – 20					
<b>Odchov prasniček</b>								
	30 – 60	13	16 – 22	50 – 75	80	do 0,15	0,30	1,0
<b>Odchov prasniček - Zapouštěné a březí prasnice - Prasnice - Kanci</b>								
<b>Kanci</b>	<b>&gt; 60</b>	<b>9</b>	<b>12 – 20</b>	<b>50 – 75</b>	<b>80</b>	<b>do 0,15</b>	<b>0,30</b>	<b>0,5</b>
<b>Kojící prasnice</b>								
- se spodním ohřevem lože selat	200 – 250	15	18 – 22	50 – 70	75	do 0,15	0,30	0,5
- ostatní způsob ustájení a vytápění		13	16 – 22					

## 2.10 Vliv výživy při stresových situacích

Kvalitní a vyvážená výživa plemenných kanců je nezbytná pro dosažení optimální celoroční produkci semene (Zeman, 2006), pro výrazné projevy sexuálního chování (libida), pro zachování dobrého zdravotního stavu a kondice a pro dlouhověkost. Cílem optimální výživy kanců na inseminační stanici je vyprodukovat co nejkvalitnější inseminační dávky s dostatečným množstvím oplození schopných spermií (Václavková & Lustyková, 2011) Tedy ejakulát o vysoké koncentraci, motilitě a životaschopnosti spermií a nízkém počtu abnormálních a nezralých spermií (Zeman, 2006). Překrmováním nebo naopak nedostatečnou výživou kanců dochází ke ztrátě libida, zhoršení pohyblivosti (znesnadnění vzeskoku na fantom) a ke snížení kvality ejakulátu, což má za následek nižší procento zabřezávání prasnic a nižšímu počtu selat ve vrhu (Václavková & Lustyková, 2011).

Kanečci mají vyšší růstovou schopnost jako prasničky, musí tedy v krmné dávce přijmout o 15 – 20% aminokyselin a až o 8% minerálních látek více než odchovávané prasničky (Václavková a Lustyková, 2011).

Kanečky v odchovu krmíme zásadně dávkovaně, abychom zajistili postupné zvyšování tělesné hmotnosti. Krmná dávka se vypočítá součtem energie pro záchovu, energie pro produkci semene a dalšími faktory, jako je zvýšená energie při odběru ejakulátu nebo změnou nároků na výživu vlivem klimatických změn - léto, zima (Václavková & Lustyková, 2011). Při zvýšené intenzitě odběrů by měla být krmná dávka navýšena o 0,5 kg (Zeman, 2006) a při poklesu teploty pod 20 °C o 0,05 – 0,08 kg za každý 1 °C (Václavková & Lustyková, 2011). Zeman (2006) uvádí, že při poklesu teplot pod 17 °C zvýšíme energetickou hodnotu KD o 0,85 MJ za každý 1 °C. V případě venkovního výběhu je nutné zvýšit energetickou hodnotu KD až od 10%.

Pro výživu kanečků v odchovu používáme kompletní krmnou směs OKA – Š (odchov kanečků ve šlechtitelských chovech). Tato směs je bohatá na vitamíny a minerály, které zaručují správný růst končetin a zabraňují tak poruchám vývinu a popraskání rohoviny špárků. Je nutné dbát zejména na dostatek biotinu a zinku. Dle pokusů je tato krmná směs vhodná i kvůli vyhovujícím denním přírůstkům, nízké spotřebě KS a nepřetučňování kanečků (Zeman, 2006).

Pro výživu kanců ve velkochovech se nejčastěji používá kompletní krmná směs KA. Tato směs může být také nahrazena krmnou směsí pro březí prasnice (KPB), ale je nutno doplnit dusíkaté látky, zejména lyzin, methionin a cystin, protože KPB nepokryje potřebu dusíkatých látek pro kance (Václavková & Lustyková, 2011). Je možné také kancům přikrmovat šťavnatá objemná krmiva, jako je krmná řepa, mrkev či zelená píče, v denní dávce do 3 kg/ks/den (Zeman, 2006).

Nekvalitní výživa ovlivní spermiu už v jejich růstu a dozrávání, které trvá přibližně 6 týdnů (Václavková & Lustyková, 2011). Je nutno si tedy uvědomit, že chyba ve výživě se v ejakulátu objeví až za 42 dní po podání nekvalitního krmiva. Jeho špatná kvalita se ve výsledcích reprodukce prasnic projeví až za 157 dní (Zeman, 2006).

## **2.10.1 Makroprvky ve výživě**

### **2.10.1.1 Vápník a fosfor**

Vápník je nejzastoupenějším makroprvkem v organismu zvířat. Tvoří až 2% z celkové hmotnosti (Jelínek *et al.*, 2003). Vápník a fosfor hodnotíme společně, jelikož jejich hlavní úlohou je utváření kostry a zajištění její pevnosti (Blair, 2007). Proto jsou velmi důležité ve výživě chovných zvířat. U prasat bývají nejčastěji problémy s končetinami při přílišném překrmování (Close & Cole, 2000).

Kanci mají přibližně stejné nároky na minerální látky a vitamíny jako březí prasnice. Potřeba vápníku a fosforu je však vyšší v porovnání s krmnou směsí pro výkrm. Zvýšenou dávkou Ca a P předejdeme pozdějším poruchám pohybového aparátu, které jsou nejčastější příčinou vyřazování kanců z reprodukce.

Doporučené množství v KD je 0,85 – 0,9 % Ca a 0,7 – 0,8 % P (Svoboda, 2011).

## **2.10.2 Antioxidanty**

### **2.10.2.1 Zinek**

Důležitým prvkem je také zinek. Je součástí mnoha enzymů, zejména pak superoxiddismutázy, která je důležitá při antioxidačních procesech. Je nezbytným prvkem pro růst zvířat, metabolismus kostí a fyziologické procesy v kůži a kožních derivátech. Ovlivňuje vývoj pohlavních orgánů a jejich činnost (Jelínek *et al.*, 2003). Má význam při správném utváření rohoviny špárků a společně se selenem ovlivňuje také samotnou produkci spermií (Svoboda, 2011). Nedostatek Zn v organismu způsobuje nedostatečný vývoj Leydigových buněk a sníženou vnímavost k luteinizačnímu hormonu (Close & Cole, 2000). Projevem deficitu Zn je snížení příjmu krmiva a zpomalení růstové křivky, parakeratóza (kožní léze podobné svrabu), průjem, zvracení a v ojedinělých případech může končit až smrtí (Blair, 2007).

Doporučené množství Zn v KD je 70 – 150 mg/kg (Close & Cole, 2000). Zinek obsažený v rostlinné potravě je hůře využitelný, protože se naváže na fytát a vznikne tak

nestravitelný fytyát zinku. Je proto vhodnější doplňovat zinek krmivy živočišného původu, jako je rybí moučka, nebo podávat zinek syntetický (Blair, 2007).

### **2.10.2.2 Vitamín E a selen**

Selen je důležitým biogenním prvkem pro normální vývoj a zrání spermií. Nejdůležitější formou je alfa tokoferol, který se běžně vyskytuje v olejnatých plodinách a semenech (Blair, 2007).

Nedostatek selenu má za následek nižší koncentraci spermií a zvýšený výskyt abnormálních spermií. Jedná se zejména o morfologické změny bičíku a nárůst cytoplazmatických kapének ve spermiích. Společně s vit. E zvyšují koncentraci spermií v ejakulátu a jejich motilitu (Svoboda, 2011).

Pokud zvýšíme příjem vit. E současně s přídatkem vit. C a selenu ve stresové situaci (teplotním stresu), snížíme tak značně poškození tkání volnými radikály. Buněčné membrány jsou kombinací antioxidantů vit. E, vit. C a selenu alespoň do jisté míry chráněny (Hoppe *et al.*, 1989). Vit. E chrání buněčné membrány a selen prostřednictvím enzymu glutathionperoxidázy a dalších selenoproteinů chrání cytoplazmy buněk (Jelínek *et al.*, 2003). Doporučené minimální množství Se je 0,15 mg/kg krmiva a 44 IU/kg krmiva (Svoboda, 2011).

### **2.10.2.3 Vitamín C**

Prasata jsou si schopna syntetizovat dostatečné množství vit. C pro normální funkci organismu. Je však dokázáno, že při stresových situacích vzrůstá potřeba vit. C. Společně s vit. E a selenem napomáhají chránit buňky před oxidativním poškozením (Close & Cole, 2000) a rovněž pozitivně ovlivňuje koncentraci spermií, snižuje výskyt abnormálních spermií v ejakulátu (Svoboda, 2011).

Lin *et al.* (1990) zaznamenali lepší výsledky kvality ejakulátu (zejména nižší výskyt abnormálních spermií) u kanců při tepelném stresu, kterým přidávali 300 mg vitamínu C denně, než výsledky kvality ejakulátu kanců bez přídatku vit. C.

### **3 CÍL PRÁCE**

Cílem práce bylo zjistit vliv tepelného stresu na kvalitativní a kvantitativní ukazatele vyprodukovaného ejakulátu kanci plemene duroc na inseminační stanici.

Hypotéza: zvýšená teplota v letním období sníží motilitu, koncentraci, celkový počet vyprodukovaných spermií a objem ejakulátu. Procento abnormálních spermií bude zvýšeno.

## 4 MATERIÁL A METODY

Experiment byl proveden na inseminační stanici kanců ve Velkém Meziříčí (N 49°23.46667', E 15°52.70135').

Do pokusu bylo zařazeno 20 kanců plemene duroc (*Sus scrofa domestica*). Průměrný věk byl  $2 \pm 0,3$  roky a průměrná hmotnost kanců byla  $255 \pm 20$  kg. Délka experimentu byla stanovena na 135 dní (květen – září). Pokusná zvířata byla ustájena individuálně ( $2,5 \times 2,5$  m) a měla *ad-libitní* přístup k vodě. Všem zvířatům bylo zkrmováno 3,3 kg základní krmné směsi. Obsah ME<sub>p</sub> byl 12,6 MJ/kg krmné směsi.

**Tabulka 2:** Složení krmné směsi

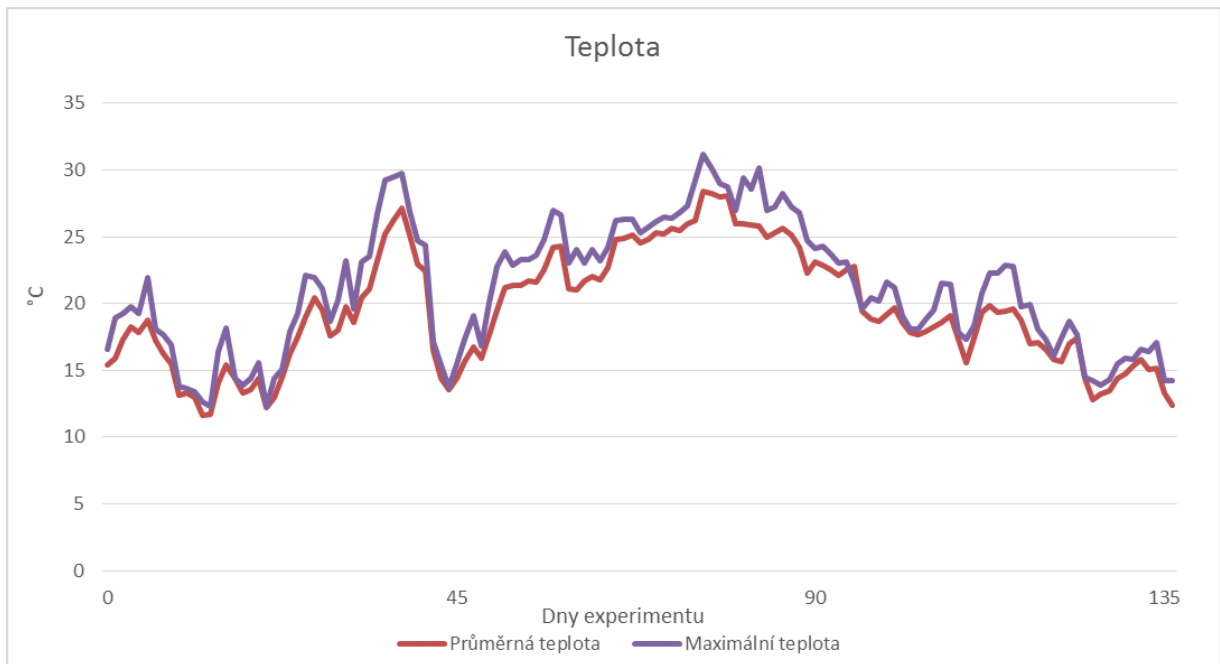
Komponenta	% zastoupení
Ječmen zrn	36,00
Pšenice zrn	20,36
Oves zrn	20,00
Sójový extrahovaný šrot	14,50
EKPO T	3,00
Bergafat	2,10
Uhlíčan vápenatý	1,50
Monodikalciumpfosfát	1,20
Minerálně vitaminózní premix (0,5 %)	0,50
Chlorid sodný	0,40
Oxid hořečnatý	0,15
L-Lyzin HCl	0,14
L-Threonin	0,09
DL-Methionin	0,06

*Bergafat (Berg + Schmidt, Germany, [www.berg-schmidt.de](http://www.berg-schmidt.de)) – palmový olej; EKPO T (Delika – Pet, Česká Republika, [www.delikapet.cz](http://www.delikapet.cz)) – biskvitová moučka*

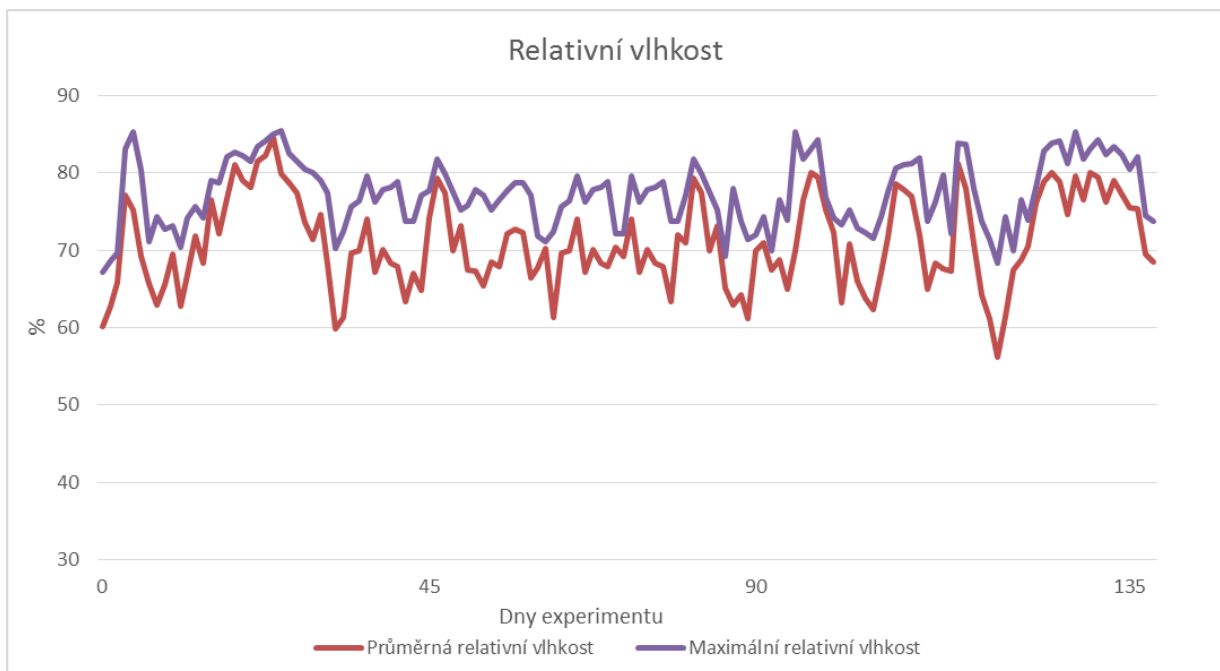


Kanci byli rozděleni do dvou skupin. První skupina kanců (skupina A, n = 10) měla hodnoty ejakulátu bez patologických změn (motilita spermií 72 %; koncentrace spermií 499 tis/ml); Do druhé skupiny (skupina B, n = 10) byla zařazena zvířata, která měla dlouhodobé problémy s kvalitou vyprodukovaného ejakulátu (nízká motilita – 67 % a koncentrace spermií 430 tis/ml). V průběhu celého pokusného sledování byla v hodinových intervalech zjišťována teplota prostředí a relativní vlhkost vzduchu za pomoci zařízení datalogger (Votcraft DL-121TH, Germany), které bylo umístěno v životní zóně zvířat (1 m nad zemí). Z těchto zjištěných hodnot byla následně spočítána průměrná teplota (°C) a relativní vlhkost vzduchu (%) v jednotlivých dnech. Naměřené průměrné a maximální hodnoty teploty v průběhu sledovaného období znázorňuje **Graf 1**. Naměřené průměrné a maximální hodnoty relativní vlhkosti v průběhu sledovaného období znázorňuje **Graf 2**.

Od kanců byl odebírán ejakulát jednou týdně. Pro biochemické analýzy byl použit ejakulát, který byl odebrán na začátku pokusu (kontrolní odběr) a dále 45., 90. a 135. den experimentu. Od kanců bylo semeno získáváno pomocí skoku na fantom. Hodnoty objemu ejakulátu, motility, koncentrace spermií a procenta morfologicky abnormálních spermií byly shromažďovány před zahájením experimentu z každé skupiny v počtu 30 vzorků (první – kontrolní perioda). Ve druhé periodě (0 až 45. den) bylo analyzováno 64 vzorků od skupiny A a 61 vzorků semene od skupiny B. Ve třetí periodě (45. až 90. den) bylo od skupiny kanců A získáno k analýze 60 vzorků a od skupiny kanců B 63 vzorků ejakulátu. V poslední čtvrté periodě (90. až 135. den) bylo od skupiny kanců A analyzováno 62 vzorků a od skupiny kanců B 60 vzorků semene. Vzorky ejakulátu byly hodnoceny a analyzovány dle kritérií ČSN 467116.



**Graf 1:** Naměřené průměrné a maximální hodnoty teploty (°C) v průběhu sledovaného období



**Graf 2:** Naměřené průměrné a maximální hodnoty relativní vlhkosti (%) v průběhu sledovaného období

**Ke stanovení jednotlivých parametrů ejakulátu (kvality) byly použity následující metody:**

### **Objem ejakulátu**

Objem ejakulátu byl stanoven pomocí odměrného válce s přesností  $\pm 0,1$  ml

### **Koncentrace spermií v ejakulátu**

Koncentrace spermií v ejakulátu se vyjadřovala jako počet spermií (tis.) v 1 ml. Koncentrace se určovala fotometricky pomocí Spekolu 11. Měření probíhalo při vlnové délce v rozmezí 340 – 850 nm. Dávkovačem pro malé množství tekutiny se nabrala do tenkostěnné zkumavky 9 ml 1M HCl, pomocí varipipety se přidalo 0,25 ml vzorku z rozmíchaného nativního ejakulátu a následně se vzorek promíchal. Zkumavka se zasunula do nástavce Spekolu 11 a odečetla se naměřená hodnota. Podle kalibrační tabulky se stanovila koncentrace spermatu.

### **Celkový počet spermií v ejakulátu (CPSE)**

Celkový počet spermií v ejakulátu byl vypočítán pomocí vzorce

$$\text{CPSE} = \text{objem ejakulátu (ml)} * \text{koncentrace spermií (tis./ml)}$$

### **Motilita**

Stanovení motility bylo provedeno do 15 minut po odběru kance, mikroskopicky z šetrně promíchaného spermatu. Semeno bylo nabráno skleněnou tyčinkou, kapka semene se nanasla na předehřáté podložní sklíčko (cca 42 °C) a překryla krycím sklíčkem. Sklíčka byla předehřívána na předehřívajícím stolku, mikroskop měl rovněž předehřívanou destičku. Mikroskopicky bylo určeno subjektivním odhadem procento spermií s přímočarým pohybem vpřed za hlavičkou, při tělesné teplotě vzorku a při zvětšení 1 : 40. Míra pohyblivosti se určovala v pěti zorných polích.

### **Procento morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu**

Procento patologických spermií bylo stanoveno z prvního odběru v měsíci. Postup při přípravě roztěru: kapka semene se nanasla pomocí skleněné tyčinky na podložní sklíčko, v úhlu 45 stupňů se ke kapce přiblížilo zabroušené roztěrové sklíčko tak, aby se kapka po dotyku se sklíčkem rozprostřela po hraně sklíčka a tahem se provedl roztěr v tenké vrstvě. Morfologické posouzení (vyhodnocení abnormálních spermií na připraveném spermioqramu v pěti zorných

polích – počítaly se jednotlivě všechny abnormální spermie), barvení a vyhodnocení spermioqramu prováděl obvodní veterinární lékař.

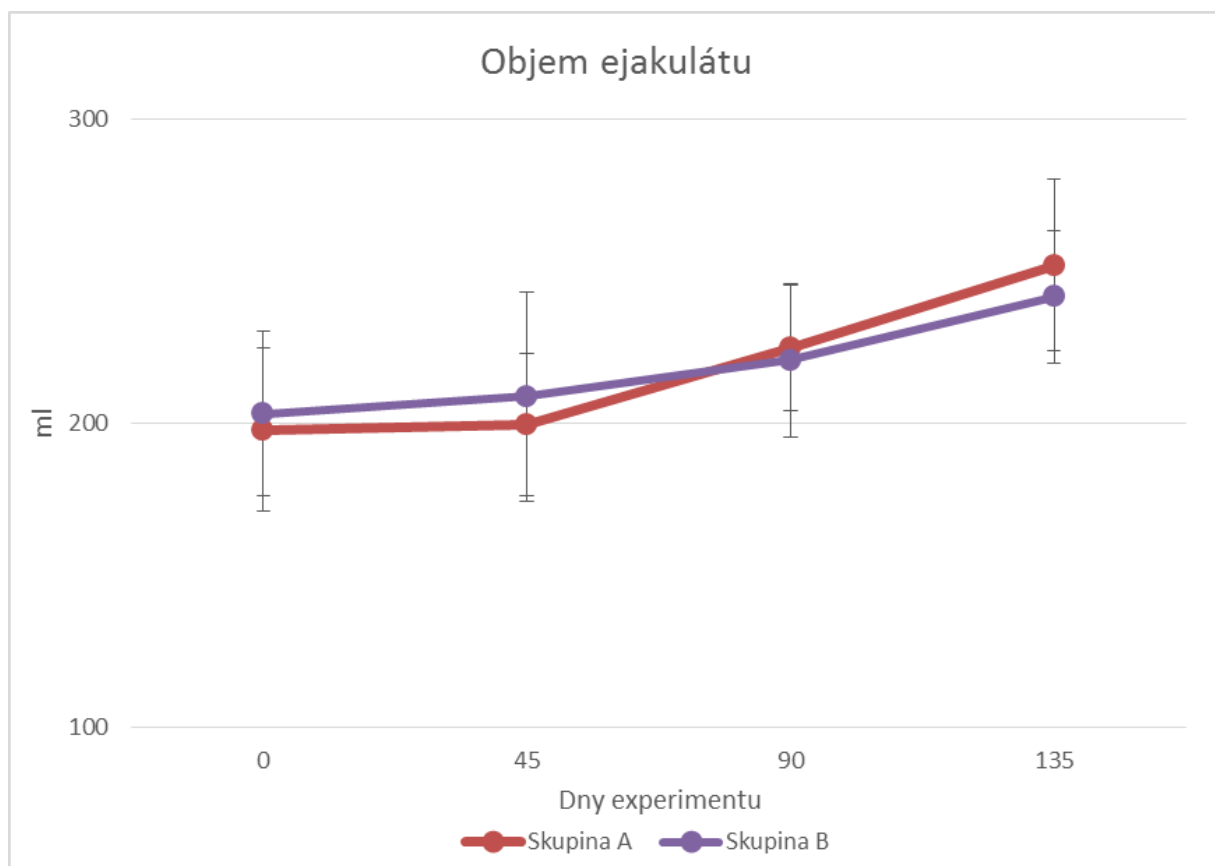
### **Statistika**

Data byla statisticky analyzována pomocí programu STATISTIKA.CZ verze 10.0 (**StatSoft ČR s.r.o.**, Česká republika). Výsledky jsou vyjádřené jako průměr  $\pm$  směrodatná odchylka. Statistická průkaznost byla sledována mezi skupinami pokusných zvířat za použití ANOVA a Scheffého testu – dvoufaktorová analýza (první faktor skupina zvířat, druhý faktor odběr vzorku) pro parametry: objem ejakulátu, koncentrace spermií, motilita spermií a počet morfologicky abnormálních spermií. Rozdíl mezi průměry při ( $P < 0,05$ ) byl považován za průkazný.

## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Objem ejakulátu

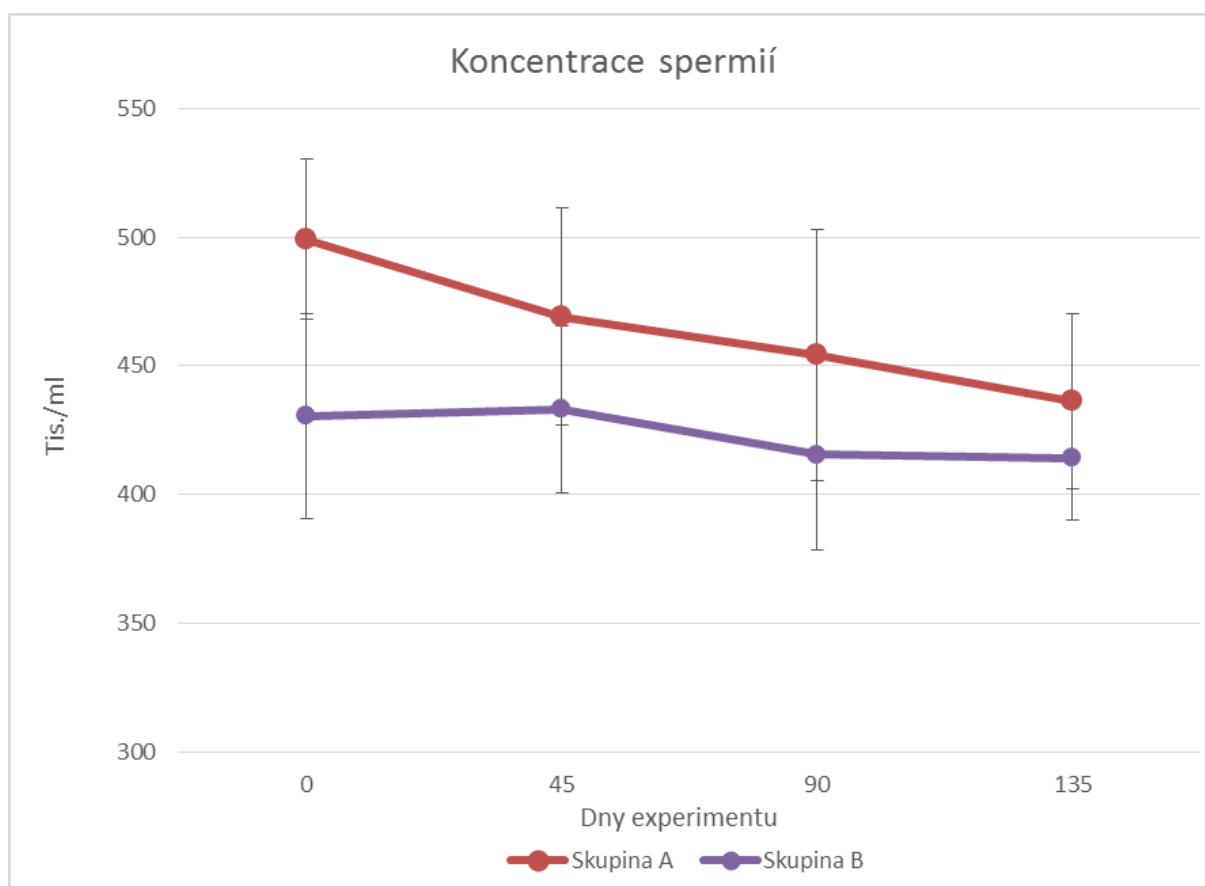
Vliv tepelného stresu na objem ejakulátu znázorňuje **Graf 3**. Objem ejakulátu za celé sledované období byl v průměru 219,7 ml, u skupiny A (kontrolní skupina) pak 221,2 ml a skupiny B (pokusná skupina) 217,8 ml. Průměrná denní teplota za celé sledované období činila 17,0 °C. Na začátku experimentu, kdy průměrná denní teplota činila 15,4 °C, byl objem ejakulátu kanců skupiny A 198,0 ml a skupiny B 203,5 ml. Na konci sledovaného období (135. den), kdy průměrná denní teplota činila 11,8 °C, byl zjištěn objem ejakulátu u skupiny A 252,1 ml (o 54,1 ml) a u skupiny B 241,6 ml (o 38,4 ml). Bylo zjištěno, že objem ejakulátu se zvyšoval u obou skupin nezávisle na teplotě prostředí i přesto, že v období od 45. do 90. dne byli kanci vystaveni tepelnému stresu. Průměrná denní teplota v tomto období byla 22,5 °C. Zjištěný nárůst objemu ejakulátu u obou skupin nebyl statisticky průkazný. V našem případě lze konstatovat, že tepelný stres nemá vliv na objem ejakulátu.



**Graf 3:** Vliv tepelného stresu na objem ejakulátu

## 5.2 Koncentrace spermií

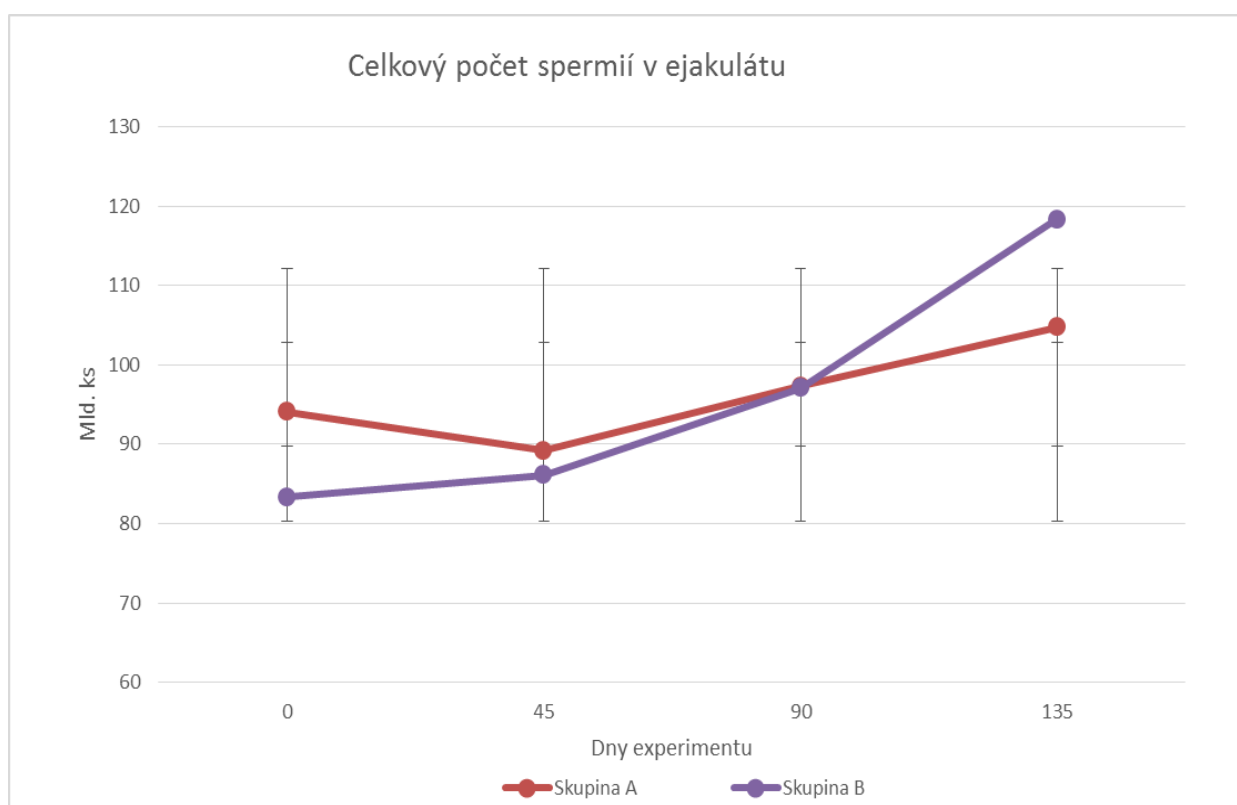
Vliv tepelného stresu na koncentraci spermií v ejakulátu znázorňuje **Graf 4**. Koncentrace spermií za celé sledované období byla v průměru 457,5 tis. ks/ml, u skupiny A (kontrolní skupina) pak 458,48 tis. ks/ml a skupiny B (pokusná skupina) 456,2 tis. ks/ml. Na začátku experimentu byla koncentrace spermií kanců skupiny A 499,1 tis. ks/ml a skupiny B 430,5 tis. ks/ml. Na konci sledovaného období (135. den) byl zjištěn pokles koncentrace spermií v ejakulátu u obou skupin a to u skupiny A na 436,4 tis. ks/ml (o 62,70 tis. ks/ml) a u skupiny B na 414,3 tis. ks/ml (o 16,2 tis. ks/ml). Zjištěný pokles koncentrace spermií v ejakulátu u obou skupin nebyl statisticky průkazný. Lze usuzovat, že tento pokles nebyl zapříčiněn teplotou prostředí, ale mohl být ovlivněn zvýšením objemu ejakulátu v průběhu sledovaného období.



**Graf 4:** Vliv tepelného stresu na koncentraci spermií v ejakulátu

### 5.3 Celkový počet spermií v ejakulátu

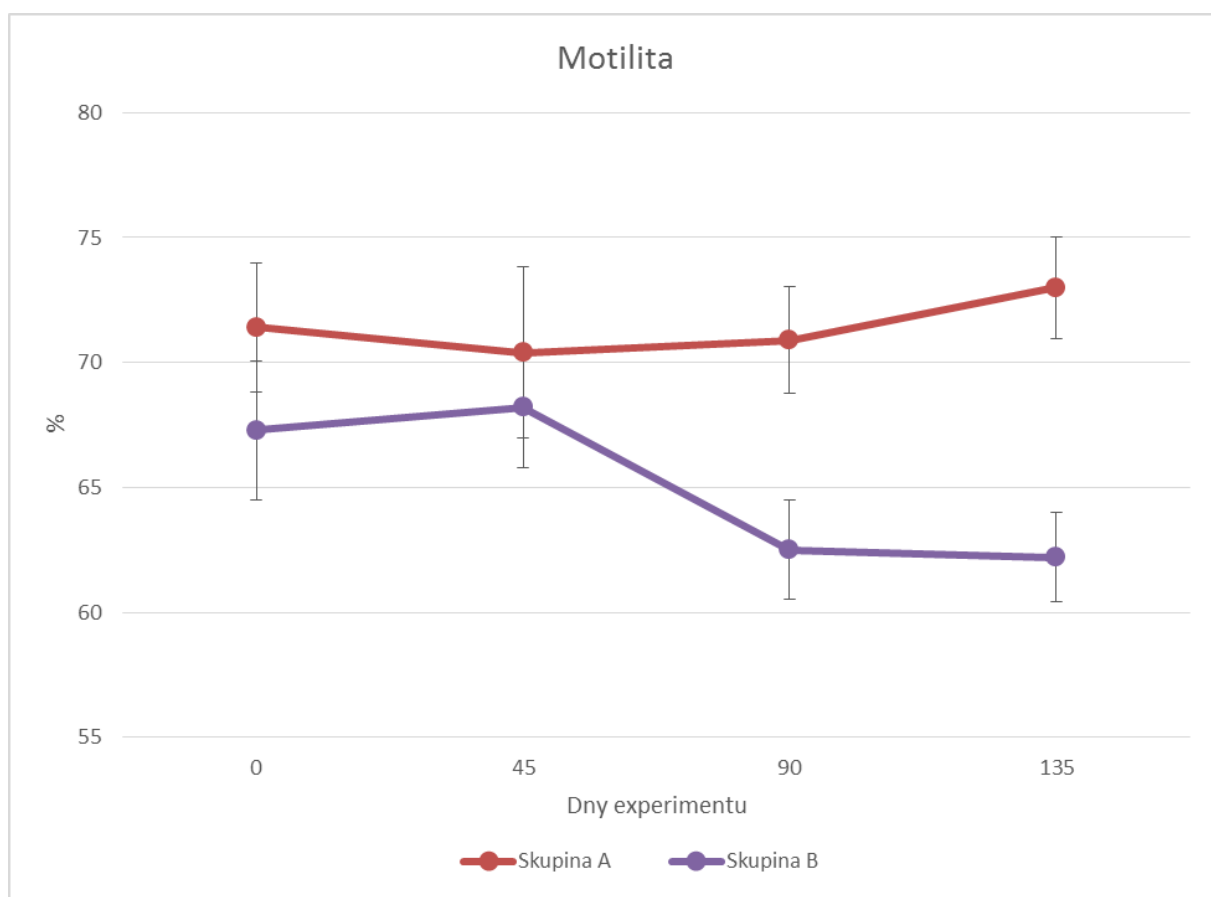
Vliv tepelného stresu na celkový počet spermií v ejakulátu znázorňuje **Graf 5**. Celkový počet spermií v ejakulátu za celé sledované období byl v průměru 95,7 mld. ks, u kanců skupiny A (kontrolní skupina) pak činil 96,6 mld. ks a skupiny B (pokusná skupina) 65,4 mld. ks. Na začátku experimentu byl celkový počet spermií u kanců skupiny A 94,1 mld. ks a skupiny B 83,3 mld. ks. Skupina A vykazovala ve 45. dnu mírný pokles v počtu spermií v ejakulátu (o 4,9 mld. ks), na konci sledovaného období (135. den) byl však zaznamenán nárůst celkového počtu spermií na 104,8 mld. ks (o 10,7 mld. ks). Oproti tomu u skupiny B byl zjištěn průběžný vzrůst počtu spermií v ejakulátu v průběhu celého experimentu (na 118,4 mld. ks). Žádné z naměřených hodnot nebyly statisticky průkazné.



**Graf 5:** Vliv tepelného stresu na celkový počet spermií v ejakulátu

## 5.4 Motilita spermií

Vliv tepelného stresu na motilitu spermií v ejakulátu znázorňuje **Graf 6**. Motilita spermií za celé sledované období byla v průměru 69,4 %, u skupiny A (kontrolní skupina) pak činila 72,6 %, u skupiny B (pokusná skupina) 65,4 %. Na začátku experimentu byla motilita spermií kanců skupiny A 71,4 % a skupiny B 67,25 %. Na konci sledovaného období (135. den), byl zjištěn u skupiny A nárůst motility spermií na 74,0 % (o 2,7 %). Oproti tomu u skupiny B byl zjištěn pokles motility spermií na 62,2 % (o 5,09 %). Byl zjištěn statisticky průkazný pokles motility spermií u kanců skupiny B v období mezi 45. dnem (68,2 %) a 90. dnem (62,6 %), kdy rozdíl činil 5,7 % ( $P < 0,05$ ). Zbývající výsledky nebyly statisticky průkazné. Lze konstatovat, že tepelný stres měl vliv na motilitu spermií pouze u pokusné skupiny kanců (skupina B), kteří již před začátkem pokusu vykazovali zhoršenou kvalitu vyprodukovaného ejakulátu.



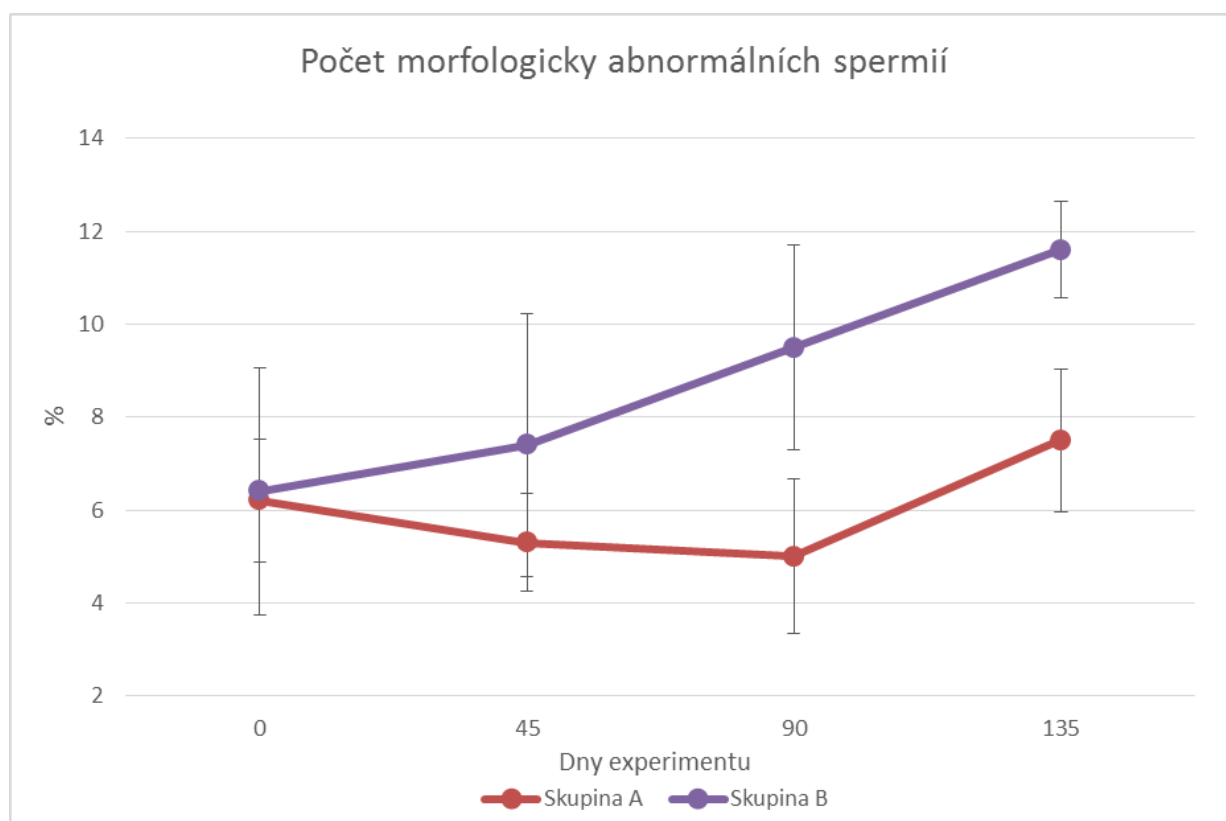
**Graf 6:** Vliv tepelného stresu na motilitu spermií v ejakulátu



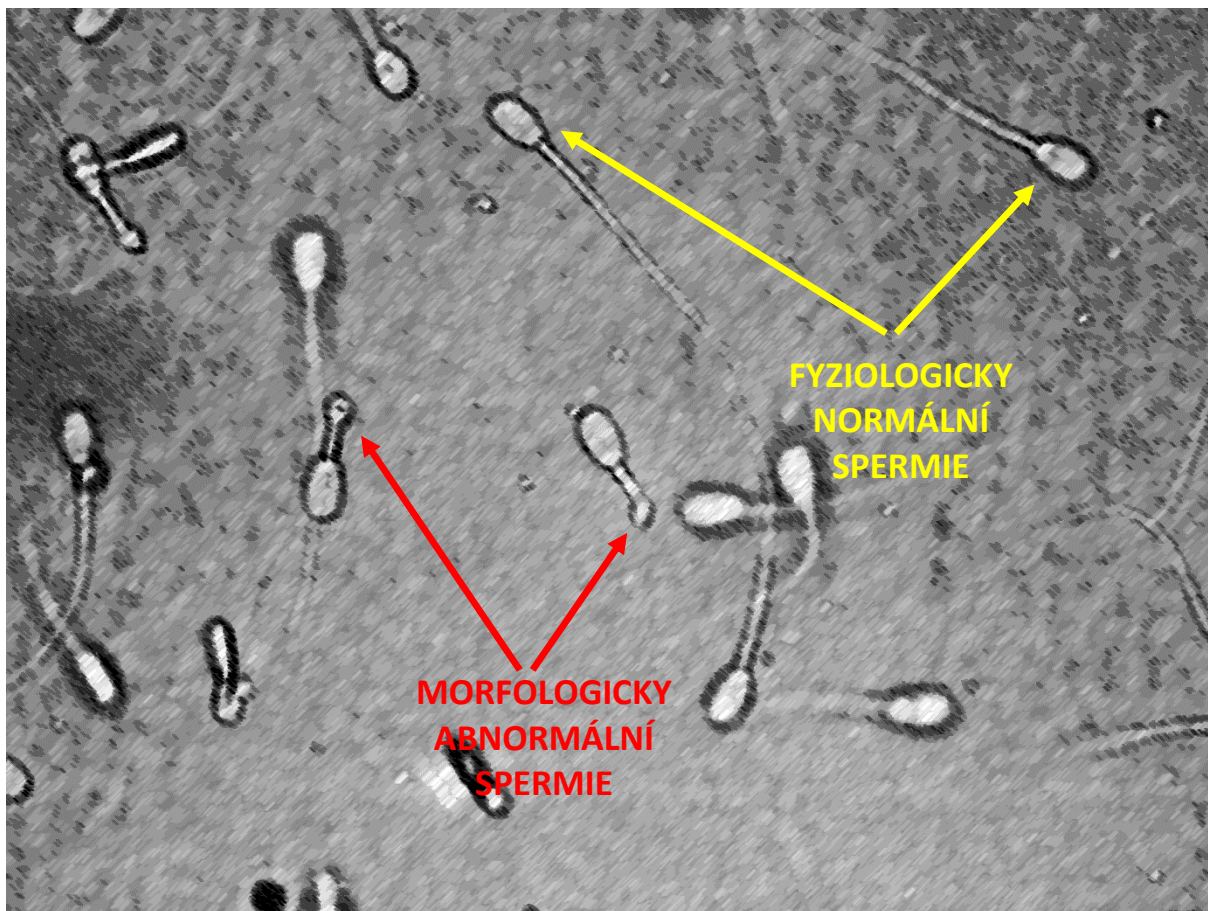
## 5.5 Počet morfologicky abnormálních spermií

Vliv tepelného stresu na počet morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu znázorňuje **Graf 7**. Porovnání zdravé a morfologicky abnormální spermie znázorňuje **Obrázek 4**.

Počet morfologicky abnormálních spermií za celé sledované období byl v průměru 7,2 %, u skupiny A (kontrolní skupina) pak činil 6,0 % a skupiny B (pokusná skupina) 8,7 %. Na začátku experimentu byl počet morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu u kanců skupiny A 6,2 % a u kanců skupiny B 6,4 %. U kanců skupiny A byl zjištěn pokles počtu morfologicky abnormálních spermií na 5,3 % (45. den) a 5,0 % (90. den). Na konci sledovaného období (135. den) byl pak zjištěn výrazný nárůst počtu morfologicky abnormálních spermií oproti 90. dnu na 7,5 %. Výsledky byly statisticky neprůkazné. U kanců skupiny B byl naopak zjištěn trvalý nárůst počtu morfologicky abnormálních spermií v celém sledovaném období na 11,6 % (o 5,2 %). Rozdíl v počtu morfologicky abnormálních spermií na začátku a konci sledovaného období byl statisticky průkazný ( $P < 0,05$ ).



**Graf 7:** Vliv tepelného stresu na počet morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu



**Obrázek 4:** Fotografie zdravé a morfologicky abnormální spermie (vlastní zdroj)

## 6 DISKUZE

Cílem tohoto sledování bylo zjistit, jak reaguje organismu kanců na tepelný stres a jakým způsobem bude ovlivněna kvalita ejakulátu. Při sledování kvality vyprodukovaného ejakulátu kanců na inseminační stanici, bylo pozorováno, že nejvyšší kvality je dosaženo v zimních měsících. Nejnižší objem ejakulátu byl zaznamenán v zimě, v létě naopak nejvyšší. Bylo prokázáno, že se zvyšováním objemu ejakulátu je tendence ke snižování koncentrace spermií (Knecht *et al.*, 2014). V našem experimentu jsme výsledky výše uvedených autorů potvrdili. V letním období, do kterého spadal náš experiment, byl rovněž sledován vyšší objem ejakulátu obou skupin kanců. Což potvrzují také Kunavongkrit *et al.* (2005), kteří uvádějí, že nejvyšší koncentrace spermií byla zaznamenána na podzim a v zimě a nejnižší v nejteplejším období jara a léta, což mělo za následek snížení počtu inseminačních dávek z odebraných ejakulátů.

Na motilitu nemělo roční období významný vliv (Knecht *et al.*, 2014). V případě našeho sledování byl pozorován podobný vliv letních měsíců (tepelného stresu) na kance skupiny A, kdy denní maxima dosahovala i přes 30 °C. K odlišným závěrům naopak došli Barranco *et al.* (2013), kteří uvádějí, že v letním období se průkazně snižuje motilita spermií v porovnání s jarním, podzimním a zimním obdobím. Tuto skutečnost jsme potvrdili u kanců skupiny B, kde byl sledován průkazný pokles motility spermií.

Stejně jako Knecht *et al.* (2014) jsme zaznamenali sníženou koncentraci spermií, zvyšující se objem ejakulátu a rovněž jsme potvrdili skutečnost, že v případě, že se jedná o bezproblémové kance, letní období nemá významný vliv na motilitu spermií.

Vzhledem k tomu, že do našeho experimentu byly zařazeny dvě skupiny kanců jedna se špatnou a druhá s dobrou kvalitou ejakulátu, můžeme tvrdit, že podle našich výsledků tepelný stress prohlubuje problémy u kanců, kteří dlouhodobě trpí nízkou kvalitou spermatu (špatná motilita, špatná koncentrace).

Pokles okolní teploty na konci léta má za následek vzrůst koncentrace spermií na podzim, a to vzhledem k navrácení normálních funkcí varlat (Banaszewska *et al.*, 2007). Jarní kolísání kvality ejakulátu může být způsobeno náhlými výkyvy teplot nebo nedostatky ve výživě (Kozdrowski & Dubiel, 2000). Při provádění výzkumu vlivu klimatu na fotoperiodu kanců bylo zjištěno, že zde nejsou výraznější rozdíly v hodnocených parametrech spermatu, ačkoliv se vyskytly odlišnosti v koncentraci spermií a motilitě (Rivera *et al.*, 2005). Fotoperioda a teplota ovlivňuje činnost varlat a nadvarlat regulací produkce testosteronu. Výrazný nárůst byl zaznamenán v jarních měsících (Cheon *et al.*, 2002). Testosteron je nezbytný pro začátek a

průběh spermiogeneze, zejména pro regulaci fáze meiózy. Správný vývin spermatocytů může být zajištěn pouze udržením dostatečné hladiny testosteronu (Sarlós *et al.*, 2011).

Při sledování kvality v průběhu celého ročního období, byl sledován stejně jako u předchozích autorů pokles kvality ejakulátu v letních měsících. Ejakulát, který byl získán od kanců v období říjen až prosinec, měl v porovnání s ostatními měsíci nejvyšší oplozovací schopnost. Při použití tohoto semene byl zjištěn rovněž nejvyšší počet narozených selat (Steyn *et al.*, 2012).

Při vystavení kanců tří dennímu tepelnému stresu (nad 28 °C) došlo ke zvýšení teploty v rektu a šourku, což mělo za následek nižší počet spermií v ejakulátu a vyšší procento výskytu morfologicky abnormálních spermií. Funkce přídatných pohlavních žláz však nebyla narušena (Li *et al.*, 2015). Měření rektální teploty je nejpřesnější metodou, jak zjistit, zda je jedinec vystaven tepelnému stresu (Sarikandakumar & Johnson, 2004). Jedinci, jejichž teplota v rektu a šourku vzrostla nad normální fyziologickou hodnotu, vykazovali zhoršené kvality ejakulátů (Pérez *et al.*, 2008). Zvýšená teplota šourku způsobuje narušení spermiogeneze a vede k nižší produkci spermií, snížení jejich motility a naopak zvýšení výskytu morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu (Ahmad *et al.*, 2012). Což se potvrdilo i v případě našeho sledování, kdy byl sledován průkazný pokles motility, koncentrace spermií a nárůst počtu morfologicky abnormálních spermií. K výraznému rozdílu došlo v celkovém počtu spermií v ejakulátu mezi kanci kontrolní a zkušební skupiny, a to už 8. až 21. den po vystavení tepelnému stresu. Výskyt morfologicky abnormálních spermií nebyl zaznamenán do 12. dne experimentu, protože spermiogeneze trvá u kanců průměrně 35 dní a je zde jistá časová prodleva, než se tyto spermie do ejakulovaného semene dostanou. Signifikantní nárůst spermií s cytoplasmatickou kapénkou byl zaznamenán už mezi 15 až 27. dnem experimentu, spermie s defektní hlavičkou se v ejakulátu vyskytovaly až od 27. dne experimentu (Li *et al.*, 2015).

V předchozích výzkumech vlivu tepelného stresu na kvalitu ejakulátu, v tomto případě u myší, došlo k apoptóze zárodečných buněk již 1. den po vystavení vyšším teplotám (tepelnému stresu) a k přetrhání řetězců DNA v jádrech spermií 28. den (Paul *et al.*, 2008). Je dokázáno, že vznik pohlaví je značně ovlivněn teplotou při spermatogenezi. Při zvýšené teplotě dochází k výrazné převaze samičího pohlaví v potomstvu (Hansen *et al.*, 2009).

## 7 ZÁVĚR

Z výsledků pozorování vyplývá, že teplota prostředí měla průkazný vliv na skupinu kanců, kteří již před začátkem pokusu vykazovali dlouhodobě podprůměrné hodnoty kvality ejakulátu (pokusná skupina). Tepelný stres se u této skupiny negativně projevil poklesem motility spermií a naopak nárůstem počtu morfologicky abnormálních spermií oproti hodnotám na začátku sledovaného období. Současně došlo u této skupiny k poklesu koncentrace spermií, která byla zapříčiněna nárůstem objemu ejakulátu.

Vliv teploty prostředí v našem případě neměl výrazný vliv na kance s průměrnými hodnotami ejakulátu (kontrolní skupina). Obdobně jako u pokusné skupiny došlo ke snížení koncentrace spermií v důsledku nárůstu objemu ejakulátu. Rovněž došlo k navýšení počtu morfologicky abnormálních spermií a ke zlepšení motility spermií, nicméně žádný ze zjištěných rozdílů nebyl statisticky průkazný.

Z těchto výsledků je patrné, že kanci plemene duroc, kteří jsou po zdravotní stránce v pořádku a nevykazují žádné významné odchylky ejakulátu, se dokáží v letním období lépe adaptovat s teplotními výkyvy. Naopak u kanců, kteří mají neodpovídající kvalitu ejakulátu, tepelný stres prohlubuje jejich problémy.

## 8 POUŽITÁ LITERATURA

AHMAD, G., MOINARD, N., ESQUERRÉ-LAMARE, C., MIEUSSET, R., BUJAN, L. (2012). Mild induced testicular and epididymal hyperthermia alters sperm chromatin integrity in men. *Fertility and Sterility*. 97:546–53.

AITKEN, R. J., CLAKSON, J. S., HARGREAVE, T. B., IRVINE, D. S., WU, F. C. (1989). Analysis of the relationship between defective oxygen species in case of oligozoospermia. *Journal of Andrology*, 10 (3), 214-220.

ANONYM (2016). *Rozmnožovací ústrojí kance* [online]. In: [cit. 2016-04-20]. Dostupné z: <http://www.ucd.ie/vetanat/images/image.html>

BARRANCO, I., ORTEGA M., D., MARTINEZ-ALBORCIA M., J., VAZQUEZ, J., M., MARTINEZ, E., A., ROCA, J. (2013). Season of ejaculate collection influences the freezability of boar spermatozoa. *Cryobiology* [online]. 67(3), 299-304 [cit. 2016-01-24]. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2013.09.001. ISSN 00112240. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011224013002204>

BLAIR, R., (2007). *Nutrition and feeding of organic pigs*. Cambridge, MA: CABI, 322

CLOSE, W. H., COLE D. J. A. (2000). *Nutrition of Sows and Boars*. Nottingham: University of Nottingham. ISBN 1-897676-530

ČECHOVÁ, M., HADAŠ, Z., NEVRKLA, P. (2013). *Chov prasat – E-learningová podpora* [online]. [cit. 2016-04-26]. Dostupné z: [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/stranka.php?kod=500](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=500)

GADD, J. (2011). *Modernpigproduction technology: a practicalguide to profit*. New Edition. Nottingham: Nottingham University Press. ISBN 978-190-7284-472.

HÁJEK, J., ADAM, L., CIPRA, P., ČEŘOVSKÝ, J., ČÍTEK, V., JELÍNEK, T., KRÁLÍK, Z., KRÁTKÝ, F., NOVÁK, I., PAVLÍK, J., SMOLÁK, M., STEINHAUSER, L., TOBIŠKOVÁ, J., VICENCOVÁ, M. (1992). *Prasata v drobném chovu a na farmách*. Praha: APROS. ISBN 80-901100-2-9.

HANSEN, P. J. (2009). Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online] vol. 364, issue 1534, s. 3341-3350 DOI: 10.1098/rstb.2009.0131.

HORKÝ, P., TMEJOVÁ, K., KENSOVA, R., CERNEI, N., KUDR, J., RUTTKAY-NEDVECKÝ, B., SAPAKOVA, E., ADAM, V., KIZEK, R. (2015). Effect of heat stress on the antioxidant activity of boar ejaculate revealed by spectroscopic and electrochemical methods. *International Journal of Electrochemical Science*, 10 (7), 6610-6626.

JELÍNEK, P. a KOUDELA, K. (2003). *Fyziologie hospodářských zvířat*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 409 s., [4] ISBN 80-7157-644

JÍLEK, F. (2016). *Zoohygiena a prevence chorob*. [on-line] [cit. 18.3.2016] Dostupné z: [http://etext.czu.cz/php/skripta/kapitola.php?titul\\_key=64&idkapitola=169](http://etext.czu.cz/php/skripta/kapitola.php?titul_key=64&idkapitola=169)

KNECHT, D., ŠRODOŇ, S., DUZIŇSKI, K. (2014). The influence of boar breed and season on semen parameters. *South African Journal of Animal Science*. (44). ISSN 2221-4062. Dostupné z: <http://www.ajol.info/index.php/sajas/article/view/102562/92832>

KRESAN, J., ČOLÁK, D., HAMPL, A., MARVAN, F., VERNEROVÁ, E. (1979). *Morfológia hospodárskych zvierat: vysokoškolská učebnica pre vysoké školy poľnohospodárske v ČSSR*. 1. vyd. Bratislava: Príroda. Veda na pomoc poľnohospodárskej veľkovýrobe.

LI, Y., WANG, A., TAYA, K., LI, C. (2015). Declining semen quality and steadying seminal plasma ions in heat-stressed boar model. *Reproductive Medicine and Biology*, 14(4), 171-177. DOI 10.1007/s12522-015-0205-9

LIN, H. K., CHEN, S. Y., HUANG, C. Y., KUO, Y. H., WUNG, L. C. (1990). Studies on improving semen quality of working boars fed diets with addition of vitamin C in summer. In: *Ascorbic Acid in Domestic Animals*. Pp 249-250. Edited by C. Wenk, R. Fensten and L. Volker. ETH, Zurich.

LIPENSKÝ, J., LUSTYKOVÁ A., ČEŘOVSKÝ, J. (2010). *Effect of season on boar sperm morphology*. DOI: 10.5513/JCEA01/11.4.866. ISBN 10.5513/JCEA01/11.4.866. Dostupné také z: <http://jcea.agr.hr/volumes.php?search=Article:866>

LOUDA, F., ČEŘOVSKÝ, J., JEŽKOVÁ, A., STÁDNÍK, L. (2001). *Inseminace hospodárskych zvierat se základy biotechnických metod*. Praha: ČZU. ISBN 80-213-0702-1.

MARVAN, F., HAMPL, A., HLOŽÁNKOVÁ, E., KŘESAN, J., MARVAN, F., MASSANYL, L., VERNEROVÁ, E. (1998). *Morfologie hospodárskych zvierat*, Praha, ČZU v Praze. ISBN 80-209-0273-2

MAYA-SORIANO, M., J., TABERNER, E., SABES-ALSINA, M., LOPEZ-BEJAR, M. (2013). Retinol might stabilize sperm acrosomal membrane in situations of oxidative stress because of high temperatures. *Theriogenology*. 79:367.

MIHOLOVÁ, B., LIPSKÝ, D. (1976). *Anatomie a fyziologie hospodárskych zvierat*, Státní zemědělské nakladatelství Praha,

MIŠKOVSKÝ, Z. (1990). *Technologie živočišné výroby pro 4. ročník studijního oboru 45-03-4 operátor zemědělské techniky se uaměřením pro živočišnou výrobu: učebnice pro střední odborná učiliště*. 1. vyd. Praha: SZN. Živočišná výroba (Státní zemědělské nakladatelství). ISBN 80-209-0105-1.

MOREL, D. (2003). *Equine reproductive physiology, breeding and stud management*. CABI publishing, 2. vydání, 383 s.

MOUREK, J.; NEDBALOVÁ, M.; ŠMÍDOVÁ, L.; MYDLILOVÁ, A. (2009). *Mastné kyseliny omega-3: Zdraví a vývoj*. 2. Praha: Triton. 185 s. ISBN: 978-80-7387-310-3

- PAUL, C., MURRAY, A. A., SPEARS, N., SAUNDERS, P. T. K. (2008). A single, mild, transient scrotal heat stress causes DNA damage, subfertility and impairs formation of blastocysts in mice. *Reproduction*. 136:73–84.
- PÉREZ-CRESPO, M., PINTADO, B., GUTÉRREZ-ADÁN, A. (2008). Scrotal heat stress effects on sperm viability, sperm DNA integrity, and the offspring sex ratio in mice. *Molecular Reproduction and Development*. 75:40–7.
- PRAŽÁK, Č. (2010). Plemenné standardy a chovné cíle pro plemena prasat v plemenné knize. *Centrální plemenná kniha*. Svaz chovatelů prasat v Čechách a na Moravě.
- PŘIKRYL, M. (1997). *Technologická zařízení staveb živočišné výroby*. Praha: Tempo Press II. ISBN 80-901052-0-3.
- PULKRÁBEK, J., ČEŘOVSKÝ, J., DOLEJŠ, J., DRÁBEK, J., DUBANSKÝ, V., HÁJEK, J., KERNEROVÁ, N., KVAPILÍK, J., MATOUŠEK, V., NOVÁK, P., PRAŽÁK, Č., PYTLOUN, J., ROZKOT, M., ŠPINKA, M., TOUFAR, O., VALIŠ, L., ZEMAN, L. (2005). *Chov prasat*. 1. vyd. Praha: ProfiPress, 160 s. ISBN 80-86726-11-8.
- RACEK, J.; HOLEČEK, V. (1999). Enzymy a volné radikály. *Chemické listy*. 93, s. 774-780. ISSN 1213-7103
- REECE, W. O. (1998). *Fyziologie domácích zvířat*. 1. vyd. Praha: Grada. ISBN 80-7169-547-5
- REECE, W. O. (2011). *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. 1. vyd. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3282-4
- ŘÍHA, J. (2001). *Reprodukce v procesu šlechtění prasat*. Rapotín, 2001.
- SANOČKA, D. & KURPISZ, M. (2004) Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2(12), 1-7. Dostupné z: <http://rbej.com/content/2/1/12>
- SCHPCM (2016). Svaz chovatelů prasat v Čechách a na Moravě. *Online plemenná kniha* [online]. Praha. [cit. 2016-04-15]. Dostupné z: <http://www.schpcm.cz/>
- SLATER, T. F. (1988). Free radical mechanisms in tissue injury. In *Cell Function and Disease* (pp. 209-218). Springer US.
- SMITAL, J. (2001). Chov a ošetřování pohlavně aktivních kanců. *Náš chov* (6): 36-40. ISSN 0027-8068
- SRIKANDAKUMAR, A., JOHNSON, E. H. (2004). Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian Milking Zebu cows. *Trop Anim Health Prod*. 36:685–92.
- STEYN, W. J., N. H. CASEY, C. JANSEN VAN RENSBURG (2012). Effects of different penning conditions, feeding regimens and season on growth and carcass attributes of boars of a selected genetic line. *South African Journal of Animal Sciences*, 42(2), 178-188.
- STUPKA, R., ŠPRÝSL, M., ČÍTEK, J. (2009). *Základy chovu prasat*. 1. vyd. Praha: Powerprint, 182s. ISBN 978-80-904011-2-9.



SVOBODA, M. (2011). Význam selenu a vitamínu E pro zdraví prasat. *Náš chov* (7): 31-33.

VÁCLAVKOVÁ, E., LUSTYKOVÁ A. (2011). Výživa plemenných kanců. *Náš chov* (5): 74-75.

VEČEREK, V. (2001). *Ochrana zvířat v právních předpisech Evropské unie*. 1. vyd. Praha: Ústřední komise pro ochranu zvířat. ISBN 80-7305-400-0.

ZEMAN, L. (2006). *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Profi Press. 360 s. ISBN 80-86726-17-7.

## **9 SEZNAM ZKRATEK**

KV – kohoutková výška

ROS – reactive oxygen species (reaktivní formy kyslíku)

RNS – reactive nitrogen species (reaktivní formy dusíku)

KD – krmná dávka

KS – krmná směs

OKA – Š – krmná směs pro odchov kanečků ve šlechtitelských chovech

KA – kompletní krmná směs pro plemenné kance

KPB – kompletní krmná směs pro březí prasnice

IU – mezinárodní jednotka

MEp – metabolizovatelná energie pro prasata

DNA – deoxyribonukleová kyselina

## 10 SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1:</b> Plemenný kanec (Čechová et al., 2013).....	10
<b>Obrázek 2:</b> Rozmnožovací ústrojí kance (Anonym, 2016).....	14
<b>Obrázek 3:</b> Popis spermie (Morel, 2003, upraveno).....	17
<b>Obrázek 4:</b> Fotografie abnormálních a zdravých spermií (vlastní zdroj).....	42

## 11 SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1:</b> Doporučené mikroklima ve stáji pro prasata.....	27
<b>Tabulka 2:</b> Složení krmné směsi.....	32

## 12 SEZNAM GRAFŮ

<b>Graf 1:</b> Naměřené průměrné a maximální hodnoty teploty (°C) v průběhu sledovaného období.....	35
<b>Graf 2:</b> Naměřené průměrné a maximální hodnoty relativní vlhkosti (%) v průběhu sledovaného období.....	35
<b>Graf 3:</b> Vliv tepelného stresu na objem ejakulátu.....	38
<b>Graf 4:</b> Vliv tepelného stresu na koncentraci spermií v ejakulátu.....	39
<b>Graf 5:</b> Vliv tepelného stresu na celkový počet spermií v ejakulátu.....	40
<b>Graf 6:</b> Vliv tepelného stresu na motilitu spermií v ejakulátu.....	41
<b>Graf 7:</b> Vliv tepelného stresu na počet morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu.....	42