

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4103 Zootechnika
Studijní obor: Zootechnika
Katedra: Katedra zootechnických věd
Vedoucí katedry: prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Analýza morfologických změn spermií kanců
a jejich vliv na plodnost prasnic**

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Naděžda Kernerová, Ph.D.
Autor diplomové práce: **Bc. Martin Štverák**

České Budějovice, 2018

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě, ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

29. 3. 2018

Bc. Martin Štverák

Děkuji doc. Ing. Naděždě Kernerové, Ph.D. za odborné vedení, rady, podporu a pomoc při zpracování diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat vedení ISK za poskytnutí dat a konzultací.

Abstrakt

Cílem práce bylo vyhodnotit kvalitu ejakulátu kanců z hlediska morfologie spermií a vlivu na plodnost prasnic. Data pocházela z 58 odběrů od 8 kanců jedné linie. Kanci byli ustájeni v inseminační stanici ve stejných podmínkách a byli ve věku od 11 do 21 měsíců. Při analýze ejakulátu bylo provedeno zhodnocení patologicky změněných spermií stanovením četnosti nálezu jednotlivých morfologických změn. Pro vyhodnocení vlivu spermatu na četnost vrhu byla zpracována data ze 123 úspěšných inseminací a následných porodů.

Z výsledků vyplynulo, že kanci ve většině případů produkovali ejakulát s průměrným objemem s nižší koncentrací spermií. Výskyt morfologicky abnormálních spermií byl téměř u všech kanců v normě. Nejčastější abnormalitou spermií byly nezralé spermie a defekty bičíku. Bylo potvrzeno, že při použití inseminační dávky vyrobené z ejakulátu s vyšším počtem spermií se narodilo více selat. A dále, že při použití ejakulátu s výskytem morfologicky abnormálních spermií pod 15 % se narodilo více selat než v případě, kdy byl podíl spermií 15–25 %. U nezralých spermií byl prokázán negativní korelační vztah k počtu narozených selat.

Klíčová slova: kanec; kvalita spermatu; morfologicky abnormální spermie; četnost vrhu

Abstract

The aim of the work was to evaluate the quality of boar ejaculate in terms of sperm morphology and the influence on fertility of sows. The data came from 58 sperm collections from 8 boars of one line. The boars were housed in the semen collection centre under the same conditions and were in age from 11 to 21 months. In the ejaculate analysis, the evaluation of the pathologically changed sperms was performed by determining the frequency of the finding of individual morphological changes. To evaluate the effect of semen on the litter size, data from 123 successful inseminations and subsequent births were processed.

The results showed that boars in most cases produced ejaculate with an average volume with a lower sperm concentration. The incidence of morphologically abnormal sperms was normal for almost all boars. The most common sperm abnormalities were immature sperms and defects of sperm flagella. It was confirmed that more piglets were born after using insemination doses made from sperm ejaculate with the higher sperm count. Furthermore, when using ejaculate with a morphologically abnormal sperm count below 15%, more piglets were born than when the sperm count was 15–25%. In the case of immature sperms, a negative correlation with the number of born piglets has been proven.

Key words: boar; sperm quality; morphologically abnormal sperm; litter size

Obsah

1. ÚVOD	7
2. LITERÁRNÍ REŠERŠE	8
2.1 BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI KANČÍHO SEMENE	8
2.2 MORFOLOGIE KANČÍCH SPERMÍÍ	9
2.2.1 Hlavička spermie	9
2.2.2 Bičík spermie	10
2.3 SPERMIOGENEZE KANČÍCH SPERMÍÍ	11
2.4 MORFOLOGICKÉ PATOLOGIE SPERMÍÍ	13
2.4.1 Vývojové tvarové anomálie degenerativního charakteru	14
2.4.2 Patologické vady hlavičky	15
2.4.3 Patologické vady bičíku	16
2.4.4 Nezralé spermie	17
2.4.5 Morfologické vady ve vztahu k plodnosti	18
2.5 METODY LABORATORNÍHO HODNOCENÍ	18
2.5.1 Makroskopické vyšetření	19
2.5.2 Mikroskopické vyšetření	19
3. CÍL PRÁCE	24
4. MATERIÁL A METODIKA	25
4.1 MATERIÁL	25
4.2 METODIKA	25
4.3 STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ	26
5. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	27
5.1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKY SLEDOVANÉHO SOUBORU	27
5.2 UKAZATELE SPERMATU	28
5.2.1 Objem spermatu	28
5.2.2 Koncentrace spermíí	29
5.2.3 Celkový počet spermíí	31
5.2.4 Podíl motilních spermíí	33
5.2.5 Morfologicky abnormální spermie	35
5.2.5.1 Podíl nezralých spermíí	36
5.2.5.2 Podíl spermíí s degenerací akrozómu	37
5.2.5.3 Podíl spermíí s degenerovaným bičíkem	38
5.2.5.4 Podíl spermíí s degenerovanou hlavičkou	39
5.3 KVALITA EJAKULÁTU VE VZTAHU K REPRODUKCI PRASNIC	41
5.3.1 Analýza plodnosti prasnic	41
5.3.2 Vliv celkového počtu spermíí na plodnost prasnic	43
5.3.3 Vliv morfologicky abnormálních spermíí na plodnost prasnic	44
5.4 KORELACE MEZI SLEDOVANÝMI UKAZATELI	46
6. ZÁVĚR A DOPORUČENÍ PRO PRAXI	49
7. SEZNAM LITERATURY	54
8. PŘÍLOHA.....	58

1. Úvod

Chov prasat je z pohledu výživy obyvatel a spotřeby produktů rostlinné výroby významným odvětvím živočišné výroby, které má v ČR dlouhodobou tradici.

V řadě evropských zemí je pozorován trvalý pokles stavů prasat, který je důsledkem dlouhodobě nepříznivé ekonomické situace v tomto sektoru. V ČR bylo k 31. 12. 2017 chováno celkem 1 532 tis. prasat, z toho bylo 94 tis. prasnic.

V roce 2016 byla spotřeba vepřového masa na 1 obyvatele v České republice 42,8 kg (z celkové spotřeby masa tvořila 53,3 %). Soběstačnost v produkci vepřového masa je pouze 51,9 %. Strategie chovu prasat si klade za cíl pokrýt tuzemskou poptávku po vepřovém mase domácí produkcí do roku 2030 na úrovni 80 %. Tradičním dodavatelem vepřového masa do ČR je Německo (33 %), zvyšující podíl na celkovém dovozu vepřového masa vykazuje Španělsko (21 %).

Odvětví chovu prasat v České republice vykazuje z ekonomického hlediska dlouhodobě zápornou rentabilitu. Stěžejní náklady na výkrm prasat téměř stagnují, ale výrazný pokles realizačních cen nestačí pokrýt v plné výši náklady a výkrm prasat se tak stává v posledních letech ztrátový.

Nejvyšší reprodukční užitkovost prasnic ze zemí EU je vykazována v Dánsku (31,3 ks) a Nizozemsku (29,5 ks). S odstupem za nimi následuje Francie, Belgie a Německo s 27,9–28,6 odstavenými selaty na 1 prasnici za rok. Česká republika patří od roku 2014 k zemím, ve kterých užitkovost prasnic rostla nejrychlejších tempem ze sledovaných zemí EU a řadí se tak mezi chovatelsky vyspělé země. V roce 2017 dosáhl na 1 prasnici za rok počet živě narozených selat 31,2 ks a počet dochovaných selat činil 27,9 ks (10,8 % uhynulých selat v období dochovu).

Zatímco od prasnic se očekává především vysoký počet selat a dobrá mléčnost, hlavní úlohou kanců je produkce velkého množství kvalitních spermií. Zvláštní pozornost je u kančího spermatu třeba věnovat výskytu morfologicky abnormálních spermií kvůli jejich vlivu na výsledky inseminace. Stanovení množství těchto spermií v ejakulátu napomáhá odhadnout fertilitu kanců. Výskyt některých vad také může napomoci ke stanovení špatného zdravotního stavu kance, popř. jeho přetěžování. Je třeba vzít i v úvahu, že byla prokázána spojitost mezi četností abnormálních spermií v ejakulátu a plemenem kance.

2. Literární rešerše

2.1 Biologické vlastnosti kančího semene

Ejakulát je tvořen ze spermií a semenné plazmy, která se skládá převážně z výměšků přídatných pohlavních žláz. Dohromady vzniká tekutina se specifickou barvou, konzistencí a pachem (SOVA *et al.*, 1990). KOMÁREK *et al.* (1971) popisují ejakulát jako řídkou, mléčně vodnatou tekutinu.

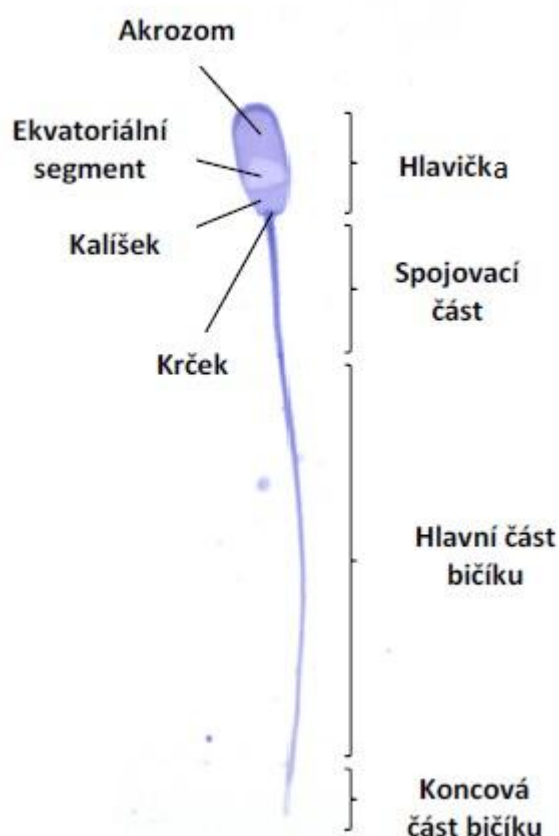
Spermie jsou samčí pohlavní buňky, vytvářené v točitých kanálcích varlete v pravidelných cyklických intervalech, odkud jsou vývodnými cestami posunovány přes nadvarletní ústrojí do ocasu nadvarlete. Zde jsou uchovány v anabiotickém stavu až do ejakulace (KLIMENT *et al.*, 1989). Spermie se skládají z hlavičky, krčku a bičíku (SOVA *et al.*, 1990). Všechny oddíly spermie jsou pokryté nepřerušovanou dvouvrstevnou cytoplazmatickou membránou, která tvoří základní ochranu spermie. Tato vrstva je vysoce propustná a umožňuje tak látkovou výměnu, ale zároveň je velmi citlivá na změny osmotického tlaku. Další důležitou funkcí této membrány je její acidorezistentní povaha (JELÍNEK *et al.*, 2003).

Fyziologické vlastnosti spermií, které jsou dány jejich morfologickou strukturou a cytochemickým složením, podmiňují základní funkce spermií. Spermie se musí pomocí aktivního pohybu a děložních stahů prasnice dostat z děložního krčku na místo oplození v horní třetině vejcovodu. Potom se musí spermie dostat přes *zonu pellucidu* a *coronu radiatu* k jádru oocytu II. řádu, což je umožněno enzymy v akrozómu. Poslední funkcí spermie je zajistit přenos otcovského dědičného materiálu na potomka (KLIMENT *et al.* 1989).

Semenná plazma se vlivem testosteronu tvoří v přídatných pohlavních žlázách, tj. v semenných váčcích, prostatě a Cowperových žlázách. Malé množství semenné plazmy je také tvořeno ve vývodných cestách a nadvarletních kanálcích (KLIMENT *et al.*, 1989). Semenná plazma je pro spermie přirozené prostředí. Umožňuje jejich transport a výživu v pohlavních orgánech samice. Také má vysokou pufrací schopnost a relativně stálý osmotický tlak. Obsahuje minerální látky, bílkoviny, sacharidy, kyseliny i enzymy a biologicky aktivní složky jako jsou prostaglandiny, estrogeny a androgeny. Podíl semenné plazmy v ejakulátu je u kance 95–97 % (JELÍNEK *et al.*, 2003). KLIMENT *et al.* (1989) uvádí až 98 %.

2.2 Morfologie kančích spermíí

Spermie kance se příliš neliší od spermíí ostatních druhů hospodářských zvířat. Morfologicky je odlišná větším akrozómem a nápadným ekvatoriálním segmentem, který je vyznačený v obrázku 1 (zadní část akrozómové části). Pro kančí spermii je také charakteristická delší spojovací část bičíku (BAŽANT, 1988). Celková délka kančí spermie je 48,15 μm (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). ŘÍHA *et al.* (2003) uvádí délku 60 μm .



Obrázek 1. Základní popis spermie (LIPENSKÝ *et al.*, 2014)

2.2.1 Hlavička spermie

Hlavní složkou hlavičky je jádro s kondenzovaným chromatinem, který obsahuje deoxyribonukleovou kyselinu nesoucí genetické informace, jež jsou klíčové pro utváření vlastností nového jedince (JELÍNEK *et al.*, 2003). Hlavička má plochý tvar a je zevně ze 2/3 pokrytá blánou (akrozómem) (ŘÍHA *et al.*, 2003). VĚŽNÍK *et al.* (2004) uvádí, že akrozóm pokrývá hlavičku spermie ze 70 %. Akrozóm obsahuje enzymy, které napomáhají spermii proniknout do vajíčka během procesu oplodnění

(ALMOND *et al.*, 1998). U kančí spermie je báze akrozómu nápadně klenuta, takže v porovnání s průměrnou délkou hlavičky 8,14 μm , je krajní délka akrozómu 5,9 μm a délka v místě maximálního klenutí 3,8 μm (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). Podle KLIMENTA *et al.* (1989) se hlavička podobá tvarem hlavě tenisové rakety a je dlouhá 8,3–9,1 μm .

2.2.2 Bičik spermie

Bičik spermie slouží jako pohybové ústrojí. Je spojen s hlavičkou krčkem (centriolovou částí) a je tvořen spojovacím oddílem, hlavním oddílem a koncovým (terminálním) oddílem. Krček je krátký a obsahuje dva za sebou uložené centrioly. Distální centriol je obklopen 9 příčně segmentovanými provazci (chordami), z tohoto centriolu dále vystupuje osová vlákna tvořena duplety mikrotubulů (JELÍNEK *et al.*, 2003). Hlavice bičíku zapadá do implantační jamky na bázi hlavičky jako kloub (KLIMENT *et al.*, 1989).

Spojovací (mitochondriální) oddíl bičíku navazuje na distální centriolu. V tomto oddílu je velké množství mitochondrií, které slouží k pohybu spermie (JELÍNEK *et al.*, 2003). VĚŽNÍK *et al.* (2004) a KLIMENT *et al.* (1989) se shodují, že délka spojovací části je 10 μm . Mitochondriální membrány tvořící součást membránového systému jsou, společně s celým bičíkem, kryty povrchovou membránou, která se však liší od membrány na hlavičce spermie svou antigenní strukturou (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). Membrána bičíku obsahuje například více polynenasycených mastných kyselin než membrána hlavičky spermie (GRIEБLOVÁ *et al.*, 2017).

Hlavní oddíl bičíku je nejdelší a jeho podkladem je stejně jako u předchozího oddílu osová vlákna obklopené nesegmentovanými chordami a obalené fibrózní pochvou z homogenní a kontrastní hmoty, která zajišťuje soudržnost osových vláken společně s jejich pružností a pevností při kmitání bičíku (JELÍNEK *et al.*, 2003). Hlavní část bičíku je dlouhá 30 μm (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

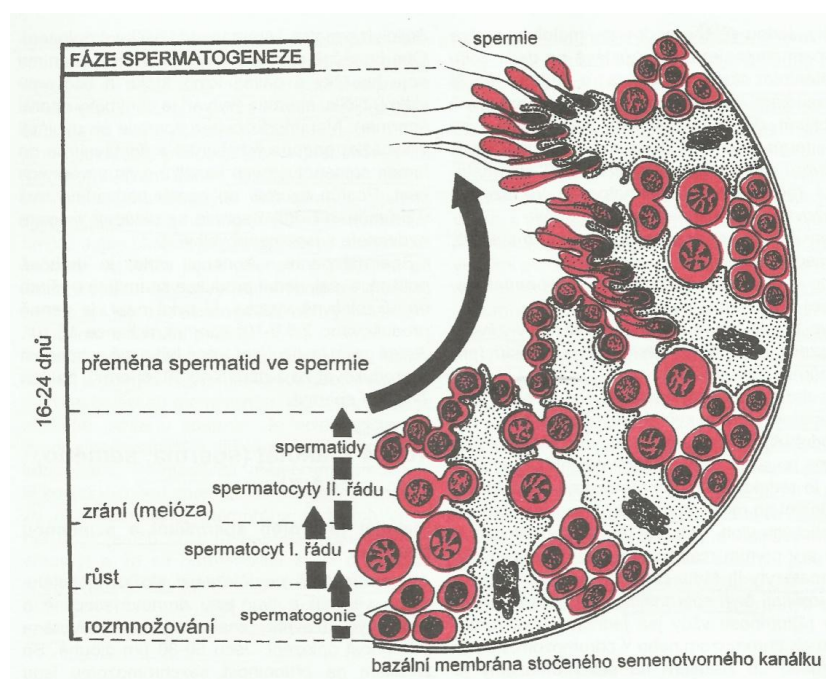
Koncový (terminální) oddíl bičíku je tvořen jen osovým vláknem a nenachází se zde již žádné chordy ani fibrózní pochva (JELÍNEK *et al.*, 2003). Tento oddíl je krytý pouze jemnou blanou a je dlouhý asi 4 μm (KLIMENT *et al.*, 1989).

2.3 Spermioogeneze kančích spermíí

Spermioogeneze je komplikovaný proces, který přemění gonocyty přes několik stadií vývoje na spermie. Tento vývojový cyklus trvá asi 40 dnů (ŘÍHA *et al.*, 2003). Podle JELÍNKA *et al.* (2003) tento cyklus trvá 35 dní. ALMOND *et al.* (1998) uvádí 36 dní. Vytvořené spermie dozrávají v nadvarlatech, kde získávají svou odolnost a plnou oplozovací schopnost. Toto dozrávání trvá 10–14 dnů, takže celý proces zabere asi 50 dnů (ŘÍHA *et al.*, 2003). KLIMENT *et al.* (1989) uvádí, že celý proces tvorby spermie trvá 50–60 dnů. Zralé a nepohyblivé spermie jsou v ocasu nadvarlete připraveny k ejakulaci. Denní produkce spermíí je velmi individuální a u dospělých kanců se pohybuje v rozmezí od 8 do 35 mld. (ŘÍHA *et al.*, 2003). JELÍNEK *et al.* (2003) uvádí produkci spermíí 15 mld. spermíí denně.

Spermie se u kance začínají vyvíjet od období pohlavní dospělosti až do věku 8–10 let (BAŽANT, 1988). ŠMERHA *et al.* (1964) uvádí věk 6–8 let. První ejakuláty lze získat již od 5. měsíce věku, ale schopnost produkovat spermie ještě není plně vyvinuta (SMITAL, 2016).

Proces spermioogeneze se rozděluje na 4 stadia znázorněná na obrázku 2. Jsou to – období rozmnožování (mitotického dělení), období růstu, období zrání (meiózy) a období metamorfózy (spermatohistogeneze) (JELÍNEK *et al.*, 2003).



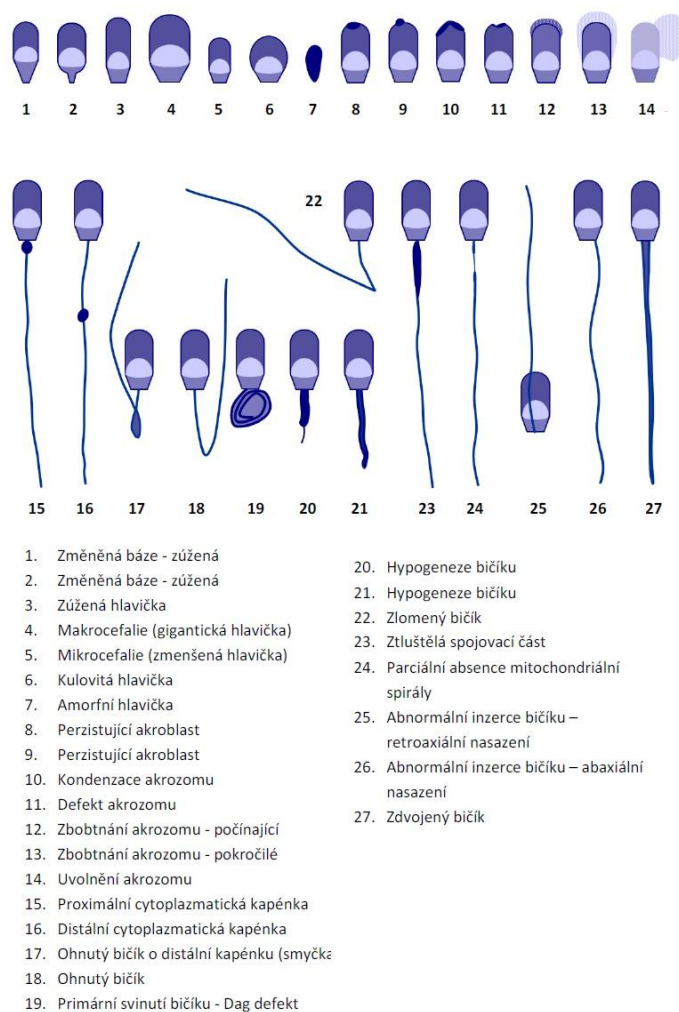
Obrázek 2. Fáze spermatogeneze (JELÍNEK *et al.*, 2003)

Období rozmnožování je charakteristické opakovaným mitotickým dělením původních kmenových buněk spermatogonií typu A (primordiálních gonocytů). Každá mateřská buňka se dělí na dvě stejně velké dceřiné buňky. Jedna z nich je větší a podobná původní buňce a zůstává nadále v latentním stadiu (interfáze). Druhá menší buňka se dále několikrát dělí a dává vzniknout buňce spermatogonií typu B (JELÍNEK *et al.*, 2003). Dalším dělením se ze spermatogonií typu B stávají mladé primární spermioocyty (spermioocyty I. řádu). Tyto primární spermioocyty se dají lehce zaměnit se spermatogoniemi typu B (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). Po období rozmnožování nastává období růstu, při kterém primární spermioocyty zvětšují svůj objem. Dále je období zrání (meiózy), které je charakterizováno dvěma po sobě následujícími děleními a ve výsledku dojde k redukci počtu chromozomů na polovinu (diploidní počet se mění na haploidní počet) a také dochází k rekombinaci genetických vloh. Během prvního dělení se ze spermatocytů I. řádu stávají dva spermioocyty II. řádu. Ve druhém dělení vznikají ze spermatocytů II. řádu 4 spermidy (JELÍNEK *et al.*, 2003). Každý spermioocyt II. řádu je nositelem X nebo Y chromozomu (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). Během posledního období metamorfózy (spermiohistogenze) se okrouhlá a nepohyblivá spermida mění ve štíhlou, kopinatou a pohyblivou spermii. Toto poslední stadium probíhá ve výběžcích podpůrných buněk (Sertoliho buňky) a dá se rozdělit na další stadia: Golgiho stadium, stadium akrozómové čepičky, stadium kaudální manžety a stadium zrání. V těchto stadiích dochází k významným změnám, během nichž se jádro spermidy prodlouží a oploští (formuje se hlavička spermie). Dále se na předním pólu jádra vytváří z Golgiho aparátu akrozóm (čepička), který nese specifické enzymy, jež mají za úkol rozpustit *zonu pellucidu* a cytoplazmatický obal vajíčka, a tím umožnit penetraci spermie do vajíčka a z toho vyplývající oplodnění. Buněčné centrioly se přesouvají k zadnímu pólu hlavičky a umožňují tak vznik krčku a osovému vláknu bičíku spermie (utváří se pohybový aparát spermie). Metamorfózované spermie se na konci tohoto procesu uvolňují z výběžků podpůrných buněk a dostávají se do lumen semenotvorných kanálků a do vývodných cest. Postup spermii do ocasu nadvarlete trvá v průměru 12 dní. Spermie se v ocasu nadvarlete ukládají a jsou nepohyblivé (JELÍNEK *et al.*, 2003). Životnost a oplodňovací schopnost takto uložených spermii se udržuje 1–2 měsíce, což je umožněno dobrou výživou, odvodem zplodin látkové výměny, nižší teplotou i změnou pH. Spermie jsou zde ve stavu anabiózy (HAJIČ *et al.*, 1995).

2.4 Morfologické patologie spermií

Ve varlatech plemeníků se denně tvoří miliardy spermií, ale rozhodně ne všechny lze označit jako normálně vyvinuté. Tato vysoká buněčná produkce je totiž doprovázena přirozenou tvorbou nedostatečně kvalitních buněk (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). Při vzniku defektních spermií je uplatněn vliv mnoha činitelů toxicko-infekčního, fyzikálně-chemického, alimentárního a genetického původu. V závislosti na intenzitě a místě účinku takovýchto mechanismů může dojít i k úplné poruše v produkci spermií (GAMČÍK *et al.*, 1984).

Jako morfologicky abnormální (patologické) spermie jsou označovány všechny spermie, na kterých se vyskytují vady odlišující hodnocenou spermii od morfologicky normálního stavu. Běžné abnormality jsou uvedeny na obrázku 3 (LIPENSKÝ *et al.*, 2014).



Obrázek 3. Schematický nákres morfologicky abnormálních spermií kance (LIPENSKÝ *et al.*, 2014)

Morfologické změny na spermiích se většinou dělí na změny vývojové (primární) a změny získané (sekundární), přičemž změny primární jsou četnější (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

Primární defekty spermií vznikají během spermiogeneze a sekundární defekty mohou vznikat již v pohlavním ústrojí samce důsledkem patologických stavů anebo vznikají jako chyby v procesu zpracování a konzervace spermatu k inseminačním účelům (LOUDA *et al.*, 1984). Mezi primární změny se zařazují: degenerativní formy spermií, změny tvaru hlavičky, změny v nukleoplazmě spermií, změny na akrozómu, změny na mitochondriálním oddílu bičíku, vývojové anomálie spermií atd. Do sekundárních změn se řadí: nabobtnání, uvolnění nebo roztrhání akrozómu, roztrhaný bičík a zkroucení bičíku (GAMČÍK *et al.*, 1984).

Výskytu morfologicky abnormálních spermií je třeba věnovat zvláštní pozornost kvůli jejich nepopiratelnému vlivu na výsledky inseminace. Stanovení množství těchto spermií v ejakulátu napomáhá odhadnout fertilitu kanců. Výskyt některých vad také může napomoci ke stanovení špatného zdravotního stavu kance, popř. jeho přetěžování (LIPENSKÝ *et al.*, 2014). Je třeba vzít v úvahu i fakt, že byla prokázána spojitost mezi četností abnormálních spermií v ejakulátu a plemenem kance (KONDRACKI *et al.*, 2012).

2.4.1 Vývojové tvarové anomálie degenerativního charakteru

Mezi takzvané teratoidní spermie jsou zahrnovány všechny formy spermií, které jsou atypicky vyvinuté, nemají normální diferenciaci hlavičky, spojovací části bičíku i bičík samotný. Většinou jde o atypický tvar hlavičky, ale jsou zde zařazeny i abnormálně malé hlavičky. Rovněž do této skupiny patří spermie, u nichž se nevytvořil normální bičík a je nahrazen kyjovitým nebo vakovitým útvarem, déle jsou zde zařazeny spermie s více bičíky nebo hlavičkami. Těchto změn by nemělo být v ejakulátu více než 5 % (LOUDA *et al.*, 1984). VĚŽNÍK *et al.* (2004) uvádí, že větší zastoupení těchto změn naznačuje vážné poškození parenchymu varlat a narušení spermiogenetické funkce epitelu semenotvorných kanálků. Veškeré změny tvaru spermie mohou posloužit i jako indikátor nevhodných podmínek chovu (ČEŘOVSKÝ *et al.*, 2005).

Tvar a rozměr spermie je klíčový, protože určuje motilitu a schopnost proniknout do vajíčka během procesu oplodnění (GORSKI *et al.*, 2016).

2.4.2 Patologické vady hlavičky

Odchytky od normálního tvaru hlaviček se hodnotí s přihlédnutím na jejich funkci jako nositelky genetické hmoty a penetračního útvaru. Změny v tvaru hlavičky se můžou projevit ve tvaru a uspořádání akrozomálního systému nebo v tvaru a velikosti celé hlavičky. Malá nebo naopak obrovská hlavička poukazuje na nerovnoměrný obsah DNA. Ve větší míře se tyto změny vyskytují při virových onemocněních. Za abnormální tvary hlavičky se považují tvary zúžené, oválné, hruškovité, citronovité atd. (GAMČÍK *et al.*, 1984).

Negativní změny na akrozómu jsou často způsobené nevhodnou manipulací se semenem, neboť akrozóm je velice citlivý na změny osmotického tlaku, např. při vniknutí vody nebo moči do semene během odběru ejakulátu, ale také při použití nevhodného konzervačního roztoku. Na tyto změny akrozóm reaguje nabobtnáním a následným oddělováním či svlékáním z jádra hlavičky. Akrozóm je rovněž citlivý k chladovému šoku při náhlých změnách teploty (BAŽANT, 1988). Pokud je akrozóm poškozený, spermie nebude schopna oplodnit vajíčko. Kromě tepelného šoku a osmotického tlaku je také významné zabránit změnám pH (ALMOND *et al.*, 1998). Mezi další změny struktury akrozómu patří i kondenzace akrozómové hmoty v přední části hlavičky, zřasení předních okrajů hlavičky a různé granulace v akrozómové substantii (LOUDA *et al.*, 1984).

Jednou ze změn na hlavičce spermií, která je dědičného charakteru a je uznávána jako znak snížené fertility, je tzv. knoflíkový defekt. Jde o reziduum složitých součástí Golgiho aparátu a je charakterizována jako výčnělek v přední části akrozómu (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

Mezi změny ve vnitřní struktuře nukleoplazmy patří spermie s granulovanou nukleoplazmou, pravé vakuoly a mikrovakuoly. Granulovaná struktura chromatinu je definována jako porucha diference nukleoplazmy. Vakuoly se nejčastěji nacházejí na předním okraji nukleoplazmy nebo v zadní akrozomální části (equatoriální segment). Oproti tomu mikrovakuoly bývají často nacházeny na bázi hlavičky. Vakuoly vyskytující se ve větším počtu jsou obvykle doprovázeny tvarovými a cytochemickými změnami (GAMČÍK *et al.*, 1984). S vakuolami jsou spojovány i tzv. krátery jádra. Mezi tyto změny je řazen i diadémový defekt jádra, při kterém lze nalézt útvary připomínající perličky v řetězcích v horní části kalíšku jádra (v oblasti dolní hranice equatoriálního segmentu). Podle elektronových analýz jsou to

vnořené mikrotubulární útvary do vchlípené jaderné membrány, jako protoplazmatické reziduum, které při barvení zvýrazňuje tyto struktury (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

Podle LOUDY *et al.* (1984) je nutné posuzovat všechny změny v nukleoplazmě při použití speciálního barvení, které znázorní jadernou substanci.

2.4.3 Patologické vady bičíku

Degenerativní změny lze nalézt na všech částech bičíku. Jako nejzávažnější diagnostický defekt jsou považovány změny v mitochondriální části. Nejčastější malformací v tomto oddíle bičíku je jeho zkrácení, prodloužení, zúžení a přerušení. Tyto vady je možno vidět jako přerušení některého úseku bičíku, dále jako holé osová vlákno nebo nitkovitě vyvinutou mitochondriální spirálu. Také je rozeznán tzv. vývrtkovitý defekt, který je dědičně podmíněn a při němž je mitochondriální oddíl nerovný (zdrsnělý) a materiál v něm je nepravidelně rozdělený. Anomálie, při které je oddělena hlavička od bičíku, se nazývá dezintegrace (dekapitace) spermie (GAMČÍK *et al.*, 1984). Také sem lze zařadit abaxiální upevnění bičíku, kdy bičík nevychází ze středu, ale z okraje hlavičky (LOUDA *et al.*, 1984).

Z funkčního hlediska jsou všechny abnormality v uložení bičíku typické změnou charakteru pohybu spermie a ovlivněním motility, čímž je narušena i efektivita v procesu fertilizace (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

Mezi tvarové změny bičíku se řadí zdvojený bičík, torze bičíku, kličkovitě otočený bičík, nalomený bičík atd. (GAMČÍK *et al.*, 1984). V případě, že je narušena blána krycí koncový oddíl bičíku, mohou se uvolnit osová vlákna bičíku v jednotlivé filamenty a konec bičíku je potom roztřepený (KLIMENT *et al.*, 1989).

Samostatně lze posoudit i agenze (nevyvinutí) bičíku. Tato abnormalita také bývá pro svůj charakteristický tvar označována jako pahýlový defekt. Nálezy jsou však rozmanité a většinou se jedná o malá rezidua u báze hlavičky nebo již popisovaný pahýl, který dosahuje délky téměř poloviny spojovací části. Je však prokázáno, že může jít o spermii s normálním základem bičíku, ale s chaoticky uspořádanými mitochondriemi (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

2.4.4 Nezralé spermie

Do skupiny nezralých spermií jsou řazeny spermie se zadržanou protoplazmatickou kapénkou, která vzniká během vývojového stadia spermiogenetického cyklu (GAMČÍK *et al.*, 1984). ŘÍHA *et al.* (2003) uvádí, že jde o zbytek původní protoplazmy buňky. Tyto formy spermií mají protoplazmatickou kapku nejdříve uloženou proximálně na krčku a s postupným dozráváním se kapka přesouvá po bičíku distálně. Plemeník s normální plodností by neměl mít více než 2–3 % spermií s touto vadou (GAMČÍK *et al.*, 1984). LOUDA *et al.* (1984) nastavují tuto hranici na 2 %.

Distální kapénka (kapénka ve stadiu migrace) je zařazována, na rozdíl od proximální kapénky, spíše k fyziologickým než patologickým vadám. Během procesu dozrávání mají tuto kapénku všechny spermie, ta by se však měla postupně uvolnit a v ejakulátu by již neměla být přítomna. Distální kapénka je jednoznačně nežádoucí jev, ale přístup k jejímu hodnocení se různí (LIPENSKÝ *et al.*, 2014). Negativní korelace mezi procentem distálních kapének a fertilitou vyvrátila předpoklad, že distální kapénky jsou méně škodlivé než proximální kapénky (WEITZE, 2012). ČEŘOVSKÝ *et al.* (2007) uvádí, že výskyt distálních kapének v semenu je většinou vyšší než výskyt proximálních kapének, ale v letním období je oproti tomu sledován výrazný nárůst počtu proximálních kapének.

Sledováním umístění cytoplazmatické kapénky na spermii v průběhu postupu spermií jednotlivými částmi nadvarlete bylo zjištěno, že v proximální části hlavy nadvarlete se vyskytuje cca 85 % spermií s proximální kapénkou. V distální části hlavy nadvarlete bylo nalezeno už jen 50 % proximálních kapének a 32 % distálních kapének. V proximální části ocasu nadvarlete bylo nalezeno již 61 % distálních kapének, přitom přes 35 % bylo bez kapénky. A v distální části ocasu nadvarlete byly velmi podobné výsledky jako v proximální části (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

Výraznější výskyt nezralých spermií poukazuje na poškození semenotvorného epitelu a na nedostatky v transformaci spermií (GAMČÍK *et al.*, 1984). LIPENSKÝ *et al.* (2014) se domnívají, že výskyt těchto vad může být i indikátorem přetěžování kance nebo důkaz toho, že funkční úroveň jeho pohlavního systému je nízká.

2.4.5 Morfologické vady ve vztahu k plodnosti

Jakákoliv odchylka od normálního tvaru a struktury spermie je považována za abnormální. Berou se při tom v úvahu nejen rozdíly mezi druhy zvířat, ale i rozdíly v rámci jednoho druhu, variabilita mezi ejakuláty konkrétního plemene a přirozená variabilita výskytu anomálií v jednom ejakulátu. Uvedené změny mohou mít negativní vliv na plodnost a mohou být i dědičně podmíněny. Za fyziologický výskyt lze pokládat 5–10 % změn (GAMČÍK *et al.*, 1984). BACH *et al.* (1982) stanovil, že výskyt abnormálních spermií do 25 % nemusí negativně ovlivňovat plodnost prasnic. KRAJŇÁK (1995) konstatuje, že množství abnormálních spermií do 25 % nemá průkazný vliv na plodnost prasnic, zatímco vyšší výskyt těchto spermií plodnost ovlivňuje výrazně.

ČEŘOVSKÝ *et al.* (2007) a RODRÍGUEZ (2012) uvádějí, že vyšší výskyt morfologicky abnormálních spermií negativně ovlivňuje porodnost i četnost vrhu. LIPENSKÝ *et al.* (2014) toto tvrzení potvrzují.

Ve spermatu, který je charakteristický vyšším výskytem spermií s vývojovou vadou, mohou mít i spermie s normální morfologií limitovanou fertilizační schopností. Poškozené spermie nebo apoptotické (odumřelé) buňky mohou být zdrojem toxických látek v semenné plazmě a mohou ovlivňovat zbývající zdravé spermie (BANASZEWSKA *et al.*, 2011).

2.5 Metody laboratorního hodnocení

V každodenní praxi inseminačního provozu je každý ejakulát nutno před samotným zpracováním k inseminaci prověřit v laboratorních podmínkách. K inseminaci lze použít pouze semeno, které kvalitou odpovídá stanoveným parametrům (ŘÍHA *et al.*, 2003).

Účelem laboratorního hodnocení ejakulátu je však kromě určení jeho kvality ve vztahu ke zpracování také pokus o stanovení potencionálních předpokladů k oplozovací schopnosti spermií (BAŽANT, 1988).

Laboratoř, ve které je sperma posuzováno, musí dodržovat přísné hygienické normy. Místnost by měla být suchá, čistá a dobře větratelná s regulovanou teplotou 18–25 °C. Okna by měla být zabezpečena před dopadem přímého slunečního světla (GAMČÍK *et al.*, 1984).

2.5.1 Makroskopické vyšetření

Ejakulát, který se dostane do laboratoře, je obvykle již přefiltrován přes sterilní gázu během odběru. Tímto nutným úkonem se oddělí želatinózní část ejakulátu (sekret bulbouretrálních žláz) od té tekuté. Případná přítomnost částic tohoto hlenu způsobuje shlukování spermií. Dále sperma nesmí obsahovat patogenní mikroorganismy, plísňe a cizí příměsi (krev, moč, hnis, obsah předkožkového vaku) a dále nesmí být znečištěno štětinami a stelivem (BAŽANT, 1988).

Objem ejakulátu závisí na plemenu, věku a hmotnosti plemeníka, intenzitě pohlavního využívání, stupni pohlavního vydráždění, způsobu odběru semene, krmné dávce, ročním období, genetickém založení a zdravotním stavu plemeníka. Objem ejakulátu lze určit pomocí kalibrační nádoby nebo častější formou, zvážením (GAMČÍK *et al.*, 1984). Množství odebraného ejakulátu může kolísat ve velmi širokých hranicích od 80 ml do 900 ml. V průměru lze získat 250–300 ml ejakulátu (BAŽANT, 1988). ALMOND *et al.* (1998) jako průměr uvádí 150–250 ml a jako maximální rozptyl 50–500 ml ejakulátu. U zdravého kance se považuje za spodní hranici objemu ejakulátu 100 ml (VĚŽNÍK *et al.*, 2010).

Barva ejakulátu by měla být mléčně bílá nebo šedobílá. Průhlednější bílá barva může naznačovat nízkou koncentraci spermií v ejakulátu. Změny do žluté, zelené, růžové a hnědé barvy většinou poukazují na příměsi moči, krve, hnisu nebo jiné nečistoty (BAŽANT, 1988).

Pach ejakulátu má být nevýrazný a připomínající vaječný bílek nebo může být i slabě specifický. Nemá být cítit močí, hnilobou nebo příliš specifickým kančím pachem (BAŽANT, 1988). Pach ejakulátu může být také ovlivněn krmivem (GAMČÍK *et al.*, 1984). Během posuzování pachu by se na ejakulát neměl vydechnout vzduch, protože může způsobit bakteriální kontaminaci (KLIMENT *et al.*, 1989).

2.5.2 Mikroskopické vyšetření

Při základním mikroskopickém vyšetření spermatu se hodnotí koncentrace spermií, aktivita (motilita) spermií, cizí příměsi, morfologie spermií, jejich přežitelnost a rezistence (GAMČÍK *et al.*, 1984). Všechny pomůcky, které přijdou do styku s hodnoceným spermatem, by měly být předeřtáky tak, aby teplotní rozdíl mezi nimi a spermatem nebyl větší než 10 °C. Samotné sperma se obvykle vyšetřuje

při teplotě 38–39 °C nejlépe na mikroskopu vybaveném vyhřívací deskou (KLIMENT *et al.*, 1989). BAŽANT (1988) uvádí jako možnou teplotu pomůcek i 30–35 °C a dodává, že před odběrem vzorku je vhodné ejakulát šetrně promíchat, aby nedocházelo k sedimentaci spermií.

Koncentrace spermií

Jedna ze základních informací o kvalitě ejakulátu a úrovni funkce spermiogenetického epitelu je koncentrace spermií. Faktory ovlivňující koncentraci spermií v ejakulátu jsou podobně jako u objemu ejakulátu uplatněny především prostřednictvím vnitřního prostředí organismu a negativního působení na jeho řídicí mechanismy. Koncentrace se zjišťuje obvykle fotometricky, hemocytometricky nebo počítačem částic (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). Zjištění hustoty spermií je nezbytné pro určení stupně naředění a obvykle se vyjadřuje počtem spermií v 1 mm³ ejakulátu (GAMČÍK *et al.*, 1984).

Fotometrické stanovení koncentrace spermií je nenáročné a s nízkými požadavky na přístrojovou vybavenost, také je však spíše orientační. Tyto atributy vedou k širokému využití této metody především v rutinních provozních laboratořích inseminačních stanic. Podstatou fotometrické metody je nefelometrické stanovení stupně zákalu, který vzniká po naředění nativního semene s daným objemem ředidla (jeho příprava závisí na použitém spektrofotometru a kyvetách). Specificky kalibrované nefelometry mají přímé údaje o koncentraci spermií a lze je při kontrolované kalibraci považovat za objektivní (VĚŽNÍK *et al.*, 2010). Potencionálním problémem při použití fotometru je však fakt, že somatické buňky a proteiny s vysokou molární hmotností mohou zastínit paprsek světla vedený skrz vzorek a při větší koncentraci tak negativně ovlivnit přesnost měření. Z toho důvodu by se měla po určité době ověřit přesnost měření fotometru i jinou metodou zjišťování koncentrace spermií (ALMOND *et al.*, 1998).

Hemocytometrické stanovení koncentrace spermií je uskutečňováno pomocí melanžeru (mísící pipeta), který je běžně používán na červené krvinky. Semeno je naředěno obvykle Hayemovým roztokem a je nutné, aby bylo v mísící pipetě dobře homogenizováno. Suspenze je poté aplikována do Bürkerovy komůrky, kde se jednotlivé spermie počítají, a pomocí výpočtového vzorce se získá informace o koncentraci spermií v 1 mm³. Celý proces trvá několik minut a lze jej použít

u ředěného i nativního semene (VĚŽNÍK *et al.*, 2010). Obdobou hemocytometrického stanovení je pak baničková metoda počítání buněk v roztoku (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

Motilita spermií

Motilita spermií je považována za jeden z nejvýznamnějších ukazatelů kvality semene (BROEKHUIJSE, 2012). Základním způsobem kvantitativního stanovení motility je nápočet pohyblivých spermií v zorném poli mikroskopu. Hodnocený ejakulát je většinou naředěn pufrovaným fyziologickým roztokem s pH 6,8 tak, aby bylo v 1 mm³ suspenze přibližně 100 000 spermií. Kapka tohoto ejakulátu je poté nanesena na rozehřáté podložní sklíčko a posouzena při zvětšení 200 až 400×. Výpočet se vyjadřuje v procentu pohyblivých spermií nebo metodou bodového odhadu, při které jeden bod reprezentuje 20 % pohyblivých spermií. Hodnotí se minimálně 3 zorná pole. Kromě pohybu samotného se posuzuje také charakter pohybu, který zahrnuje i směr a rozsah kmitu hlavičky spermie. Přímý progresivní pohyb je ukazatelem funkční plnohodnotnosti a v dobrém ejakulátu by jej mělo vykazovat cca 70 % spermií (VĚŽNÍK *et al.*, 2010). Motilita by se měla posuzovat ihned po přiložení krycího sklíčka, protože spermie rychle ztrácejí pohyblivost a tyto změny by mohly vést k chybnému hodnocení (BAŽANT, 1988).

Součástí posuzování motility spermií může být i stanovení rychlosti pohybu spermií. Určení této rychlosti pohybu spočívá ve stanovení doby, za kterou projde 100 spermií měřeným prostorem počítačací komůrky. Za pomoci vzorce je poté vypočítána rychlost spermií v mm/min (VĚŽNÍK *et al.*, 2010).

Motilitu spermií a charakter jejich pohybu lze stanovit i systémem analýzy obrazu – LUCIA. V této metodě se mikroskopickým vyšetřením stanoví motilita spermií a procento pohyblivých spermií, které se poté porovná s procentem nepohyblivých spermií. Stanovení počtu pohyblivých spermií je uskutečněno vyhodnocením trajektorií pohybu spermií snímaných systémem obrazové analýzy LUCIA (VĚŽNÍK *et al.*, 2004).

Za nejobjektivnější metodu analýzy pohybu spermií lze považovat počítačovou analýzu CASA (Computer Assisted Semen Analysis). Jde o poloautomatickou počítačovou metodu pro hodnocení morfologie, a především motility spermií (VĚŽNÍK *et al.*, 2004). BROEKHUIJSE (2012) dokonce uvádí, že CASA systém je momentálně nejlepší prostředek pro hodnocení motility spermií.

V principu tento systém funguje tak, že kamera přenáší obraz snímku z mikroskopu do počítače s programem CASA, který zaznamená krátké videosekvence, ve kterých vyhledá spermie a určí jejich dráhu pohybu. Na základě těchto informací vypočítá ukazatele definující rychlost pohybu a jejich charakteristiku. Výsledkem je ucelená a komplexní zpráva s detailním rozbohem rychlosti a způsobu pohybu spermií. Některé programy se zaměřují i na další kvalitativní i kvantitativní ukazatele spermií v daném vzorku (LIPENSKÝ a LUSTYKOVÁ, 2013).

Morfologie spermií

Mikroskopické vyšetření morfologie spermií může posloužit jako předběžné posouzení schopnosti spermatu přenášet genetický materiál. Také poskytuje cenné informace o kvalitě spermií a umožňuje diagnostikovat mnoho forem abnormálních stavů, které mohou přispět ke snížení oplozovací schopnosti spermie. Vyšetření morfologie spermie poskytuje také objektivní informace o frekvenci spermií neschopných oplození (BANASZEWSKA *et al.*, 2011).

Pro hodnocení morfologického obrazu spermií je nutné nejprve zhotovit nátěr hodnoceného spermatu. Nejvhodnější je pořízení nátěru z nativního ejakulátu, ale je třeba vzít v úvahu, že toto výsledné hodnocení nátěru jen odráží stav vzorku v okamžiku jeho provedení. Proto je důležité, aby bylo s ejakulátem, který bude použit k tvorbě inseminační dávky, zacházeno stejně jako se vzorkem použitým k nátěru. Při nedodržení základních zásad přípravy nátěru je pravděpodobné, že dojde ke zmnožení sekundárních změn na spermiích nebo ke zhoršení čitelnosti nátěru (LIPENSKÝ *et al.*, 2014). BAŽANT (1988) a GAMČÍK *et al.* (1984) uvádějí, že nátěr by se měl zhotovit nejpozději do 30 minut od získání ejakulátu.

Mikroskopické vyhodnocení nátěru může být časově náročné a vyžaduje určité praktické zkušenosti a znalosti možných abnormalit spermií či příčin jejich vzniku. Obvykle je pro toto vyšetření nutné obarvení nátěru, ale do jisté míry lze morfologický obraz spermií hodnotit i bez něj. Vyžaduje to však velmi kvalitní mikroskopickou techniku a zkušeného hodnotitele. Existují i morfologicky abnormální spermie, které bez patřičného obarvení téměř není možné diagnostikovat, ale zároveň se může stát, že v případě obarveného nátěru bude chybné ohodnocení z důvodu neznalosti některých vad a obarvení artefaktů, které lze nalézt v prostředí nátěru, a které mohou připomínat vadu spermie (LIPENSKÝ *et al.*, 2014). Je známá celá řada barvicích metod. Pro použití v praxi se doporučuje barvení podle

Čeřovského nebo barvení dle Farellyho (BAŽANT, 1988). Rovněž se uvádí barvení dle Hancocka, metoda Wels X, barvení dle Karrase a další (KLIMENT *et al.*, 1989).

Obarvený i neobarvený nátěr musí být před samotným vyšetřením suchý. K hodnocení se využívá mikroskop umožňující použití olejové imerze při zvětšení v rozmezí 1000× až 1500× (obvykle ve formě objektivu 100× s příslušným okulárem). Podstatou následného hodnocení je určení počtu normálních spermií a počtu patologicky změněných spermií i s informací o charakteru změny. Všechny údaje se v průběhu vyšetření zaznamenávají. Podle podrobnosti rozboru se rozeznává hodnocení základní, podrobné a striktní, při kterém se udávají i jednotlivé vady na pozorované spermii. Pohyb objektivu nad sklíčkem se provádí meandrovým postupem posunu obrazu v zorném poli. Výsledkem hodnocení je procentuální podíl morfologicky abnormálních spermií v nátěru, jehož objektivita by měla být dostatečná při posouzení 200 spermií (LIPENSKÝ *et al.*, 2014). GAMČÍK *et al.* (1984) uvádí jako ideální počet posouzených spermií dokonce 400–500. ALMOND *et al.* (1998) oproti tomu doporučuje zhodnotit jen 100 spermií. Přesnost hodnocení může být ještě zvýšena provedením odděleného počítání pro morfologii hlaviček, kapek a bičíků spermií (ČEŘOVSKÝ *et al.*, 2007).

Jak již bylo uvedeno výše, k hodnocení morfologie spermií lze využít i počítačový program CASA. Popřípadě i program DeSMA, který nahrazuje ručně psané záznamy o vyšetřených spermiiích (LIPENSKÝ *et al.*, 2014).

3. Cíl práce

Záměrem diplomové práce bylo u plemenných kanců vyhodnotit kvalitu ejakulátu z hlediska morfologie spermií a následné posouzení vlivu kvality inseminační dávky na reprodukci prasnic. Cílem bylo při analýze ejakulátu kanců z vybrané inseminační stanice provést vyhodnocení patologicky změněných spermií u vybrané linie kanců, a to především stanovením četnosti nálezu jednotlivých morfologických změn a na základě získaných výsledků vyhodnotit vliv kvality spermatu na zabřezávání prasnic.

4. Materiál a metodika

4.1 Materiál

Pro vyhodnocení kvality spermatu byla použita data z období od 1. 11. 2016 do 20. 10. 2017. Data pocházela z 58 odběrů od 8 kanců jedné linie. Kanci byli ustájeni v inseminační stanici ve stejných podmínkách a byli ve věku od 11 do 21 měsíců. Pro vyhodnocení vlivu spermatu na velikost vrhu byla zpracována data ze 123 úspěšných inseminací a následných porodů.

4.2 Metodika

Při odběru kance se ejakulát zachycuje přes filtr do polystyrenového kelímku, který je ihned po odběru předán do laboratoře, kde se nejprve provádí makroskopické vyšetření, tj. hodnotí se pach, barva a obsah příměsí v ejakulátu.

Po makroskopickém vyšetření je proveden nátěr pro posouzení morfologie spermií (bez barvení). Hodnocení probíhá při zvětšení 10×40 na monitoru. Jednotlivé abnormality spermií se stanovují na základě metodiky „Hodnocení semene pro asistovanou reprodukci a výběr plemenů“. Zaznamenávají se defekty – nezralé spermie, změny a poškození hlavičky, akrozómu a bičíku spermie. Stanovuje se podíl abnormálních spermií (%) z celkového počtu 200 spermií.

Ejakulát je před dalším hodnocením předředený ředidlem (BTS s gentamycinem, Dilu-Cell 10, Androhep) v poměru 1 : 1 při respektování rozdílů teplot ± 1 °C. Objem se zjišťuje zvážením předředeného ejakulátu s přesností na 1 g. Koncentrace spermií je měřena fotometrem Libra S2. Motilita spermií je hodnocena při zvětšení 10×20 mikroskopem s vyhřívacím stolkem (38 °C), na který je připojena kamera a monitor. Stanovuje se podíl všech pohyblivých spermií (%). Pro inseminaci se používá ejakulát s minimálním podílem 70 % motilních spermií.

Na základě vyšetření se vypočítává objem ředidla na doředení, které má pokojovou teplotu. Naředený ejakulát je plněn do tub, které se ukládají při teplotě 16–17 °C a při stejné teplotě jsou i přepravovány.

Přežitelnost (motilita) spermií se hodnotí první 4 dny po odběru ejakulátu v laboratorních podmínkách při zahřátí na 38 °C. Zaznamenává se podíl spermií vykazujících pohyb (%).

4.3 Statistické vyhodnocení

Byly sledovány následující ukazatele spermatu:

- objem spermatu (ml),
- koncentrace spermií (tis./mm³),
- celkový počet spermií (mld.),
- podíl motilních spermií (%), a to 1., 2., 3. a 4. den,
- podíl morfologicky abnormálních spermií (%), tj. podíl nezralých spermií, spermií s degenerací akrozómu, spermií s degenerovaným bičíkem a spermií s degenerovanou hlavičkou.

Byl sledován vliv:

- celkového počtu spermií na plodnost prasnic,
- morfologicky abnormálních spermií na plodnost prasnic.

Ze získaných dat byly vypočteny charakteristiky popisující uspořádání dat (průměr) a charakteristiky popisující míru variability dat (minimální a maximální hodnota, směrodatná odchylka a variační koeficient).

Ke statistickému vyhodnocení byla použita 1faktorová ANOVA. Hodnoty F-testů a testů HSD při nestejném N byly posuzovány při $P < 0,05$ jako statisticky významný rozdíl.

Vzájemné vztahy byly vyjádřeny pomocí koeficientu korelace, jehož hodnota se pohybuje v rozmezí od +1 do -1 a určuje případnou závislost či nezávislost (podle níže uvedené tabulky). Vztahy byly považovány při $P < 0,05$ za statisticky pravděpodobně významné, při $P < 0,01$ za statisticky významné a při $P < 0,001$ za statisticky vysoce významné.

Koeficient korelace	Stupeň statistické významnosti
$< 0,3$	nízký
$\leq 0,3$ $r_{yx} < 0,5$	mírný
$\leq 0,5$ $r_{yx} < 0,7$	střední
$\leq 0,7$ $r_{yx} < 0,9$	vysoký
$\leq 0,9$ $r_{yx} < 0,1$	velmi vysoký

5. Výsledky a diskuze

5.1 Základní charakteristiky sledovaného souboru

Celkem bylo vyhodnoceno 58 ejakulátů (tabulka 1). Objem spermatu se pohyboval mezi 60 a 558 ml, přičemž průměr byl 347 ml. Průměrná koncentrace spermií byla 210 tis./mm³, nejnižší zaznamenaná koncentrace byla 123 tis./mm³ a naopak nejvyšší byla 302 tis./mm³. Celkový počet spermií tak nabýval hodnot od 17 do 115,9 mld. spermií s průměrem 71,4 mld. spermií. Z každého odběru bylo získáno v průměru 16 inseminačních dávek, minimální množství bylo 3 inseminační dávky a maximální počet byl 32 inseminačních dávek z jednoho odběru.

Tabulka 1. Základní statistické charakteristiky ukazatelů spermatu

	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
Objem spermatu (ml)	58	347	60	558	119	34
Koncentrace spermií (tis./mm ³)	58	210	123	302	40	19
Celkový počet spermií (mld.)	58	71,4	17,0	115,9	25,0	35,0
Počet inseminačních dávek/1 odběr	58	16,0	3,0	32,0	6,8	42,8

KAMANOVÁ *et al.* (2016) zaznamenali u českého bílého ušlechtilého plemene, které je ke sledované linii z tuzemských plemen geneticky nejbližší, poměrně výrazně rozdílné hodnoty. U objemu spermatu to bylo průměrně 258 ml a u koncentrace spermií 355 tis./mm³. Objem spermatu byl tedy u sledovaných kanců výrazně vyšší a koncentrace spermií naopak znatelně nižší.

SMITAL (2016) uvádí podobně rozdílné hodnoty a k celkovému počtu spermií uvádí průměr 112 mld. u plemene české bílé ušlechtilé, čímž nepřímou poukazuje na důležitost ukazatele koncentrace spermií před objemem spermatu. Ačkoliv se rozdílné genetické založení jeví jako příčina výrazných nepoměrů v uvedených výsledcích, zvláště v případě objemu spermatu, u kterého je koeficient dědivosti na reprodukční znak poměrně vysoký (0,3). Autor dále konstatuje, že variabilita těchto znaků plodnosti je ovlivněna především prostředím inseminační stanice.

5.2 Ukazatele spermatu

5.2.1 Objem spermatu

Hodnoty objemu spermatu u jednotlivých kanců jsou uvedeny v tabulce 2 a znázorněny v grafu 1.

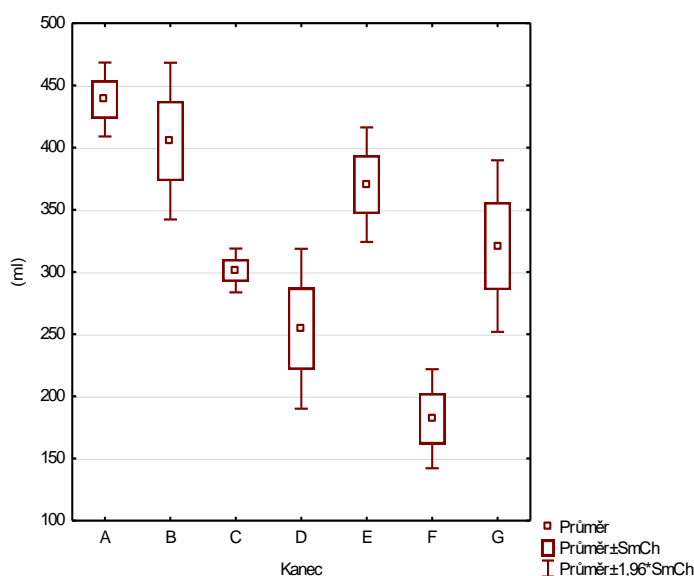
Nejvyšší průměrný objem spermatu, 439 ml, byl zaznamenán u kance A, u kterého byla rovněž naměřena nejvyšší minimální hodnota 369 ml a druhá nejvyšší maximální hodnota 506 ml. U kance A byl naměřen vyšší objem spermatu ($P < 0,05$) ve srovnání s kancem D (o 185 ml) a s kancem F (o 257 ml). Druhý největší objem spermatu měl kanec B, a to 405 ml, u kterého bylo zaznamenáno i největší variační rozpětí (min. 60 ml, max. 558 ml). U kance B byl zjištěn o 223 ml vyšší objem spermatu než u kance F ($P < 0,05$). U kance B byl proveden největší počet odběrů. U kance C byl naměřen pátý nejvyšší průměr objemu spermatu, a to 301 ml s variačním rozpětím od 281 ml do 332 ml. U kance D bylo zjištěno třetí nejširší variační rozpětí od 158 ml do 360 ml s průměrem 254 ml. Třetí nejvyšší průměr objemu spermatu, 370 ml, byl naměřen u kance E, při variačním rozpětí od 222 ml do 505 ml. Rozdíl v objemu spermatu (188 ml) mezi kancem E a kancem F byl statisticky významný ($P < 0,05$). Nejnižší průměr 182 ml byl zaznamenán u kance F společně s druhou nejnižší hodnotou pro minimální objem spermatu 124 ml a nejnižší hodnotou pro maximální objem spermatu 285 ml. U kance G byl proveden nejmenší počet odběrů, a to 4. Průměrný objem spermatu u tohoto kance byl 321 ml s rozpětím od 239 ml do 411 ml.

Tabulka 2. Objem spermatu (ml)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	439 ^b	369	506	45	10
B	17	405 ^{a,b}	60	558	132	33
C	5	301 ^{a,b,c}	281	332	20	7
D	6	254 ^{a,c}	158	360	80	32
E	10	370 ^{a,b}	222	505	74	20
F	7	182 ^c	124	285	54	30
G	4	321 ^{a,b,c}	239	411	70	22

^{a,b,c}Průměry s různými písmeny jsou statisticky významné ($P < 0,05$).

Graf 1. Objem spermatu (ml)



Objem spermatu má fyziologický základ a je přímo spojen s funkcí přídatných pohlavních žláz, které produkují semennou plazmu. Funkčnost příslušných žláz závisí na mnoha genetických i negenetických faktorech. Pro sekreci semenné plazmy je však nezbytně důležitý správný sexuální vývoj kance, který nekončí v době, kdy jsou kanci obvykle zařazováni do plemnitby, ale pokračuje mnohem déle (GÓRSKI *et al.*, 2016). Tento fakt je pravděpodobně důvodem, proč byly u kance F, který byl ze sledované skupiny nejmladší, naměřeny tak nízké hodnoty. Naopak kanci A, B a E mají hodnoty nadprůměrné, což je nejspíše způsobeno tím, že byli ze sledované skupiny nejstarší. SMITAL (2016) potvrzuje, že se objem spermatu kanců první dva roky života výrazně zvyšuje.

5.2.2 Koncentrace spermií

Hodnoty koncentrace spermií u jednotlivých kanců jsou uvedeny v tabulce 3 a znázorněny v grafu 2.

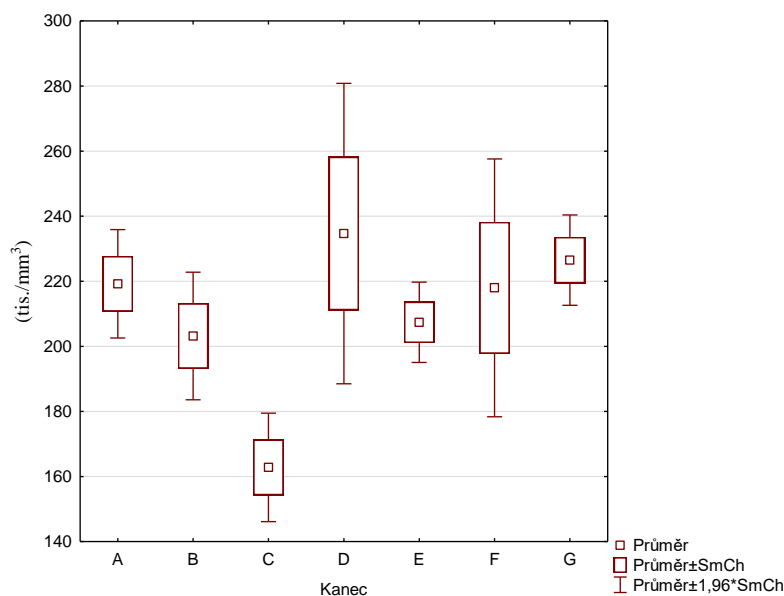
Rozdíly v koncentraci spermií u jednotlivých kanců nebyly statisticky významné. Odebrané ejakuláty kance A měly v průměru koncentraci spermií 219 tis./mm³ s tím, že zde byla zaznamenána druhá největší minimální hodnota 186 tis./mm³, maximum bylo 261 tis./mm³. U kance B byl rozsah koncentrace spermií 140 tis./mm³ až 299 tis./mm³ a průměrná koncentrace byla 203 tis./mm³. Kanec C, jehož rozmezí koncentrace spermií se pohybovalo od 138 tis./mm³ do 186 tis./mm³, což byla i nejnižší maximální hodnota, byl vyhodnocen jako kanec

s nejnižší průměrnou koncentrací 163 tis./mm³. Nejvyšší průměrná koncentrace spermií byla naměřena u kance D, a to 235 tis./mm³. Minimální hodnota pro koncentraci byla u toho kance 157 tis./mm³ a maximální koncentrace, 302 tis./mm³, byla nejvyšší ze všech hodnot. U kance E byla průměrná koncentrace 207 tis./mm³, přičemž minimum bylo 176 tis./mm³ a maximum 232 tis./mm³, které tak bylo druhé nejnižší. U kance F, jehož průměrná koncentrace byla 218 tis./mm³, byla naměřena nejnižší minimální koncentrace 123 tis./mm³, ale maximální koncentrace 280 tis./mm³ byla oproti tomu třetí nejvyšší. Průměrná koncentrace 227 tis./mm³ byla naměřena u kance G, kde bylo rovněž zaznamenáno nejnižší variační rozpětí od 215 tis./mm³ do 244 tis./mm³ s přihlédnutím k tomu, že od tohoto kance byly pro výpočet použity jen 4 odběry.

Tabulka 3. Koncentrace spermií (tis./mm³)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	219	186	261	26	12
B	17	203	140	299	41	20
C	5	163	138	186	19	12
D	6	235	157	302	58	25
E	10	207	176	232	20	10
F	7	218	123	280	53	25
G	4	227	215	244	14	6

Graf 2. Koncentrace spermií (tis./mm³)



Jak již bylo zmíněno, koncentrace spermií u sledovaných kanců dosahovaly velmi nízkých hodnot. OH *et al.* (2006) zaznamenali koncentraci spermií v průměru 526 tis./mm³, což je více než dvojnásobek průměrných výsledků u sledovaných kanců. ŘÍHA *et al.* (2003) uvádí, že po odběru ejakulátu se objem spermatu vrací do normálu dříve než koncentrace spermií. To by mohlo vysvětlovat, proč je objem spermatu ve většině případů průměrný, resp. nadprůměrný, ale koncentrace spermií nízká. Důvodem může být přetěžování kanců v případě krátkých přestávek mezi odběry. Také se zde potvrzuje jev, který popsal GÓRSKI *et al.* (2016) a KONDRACKI *et al.* (2012), kdy při zvyšujícím se objemu spermatu klesá koncentrace spermií.

5.2.3 Celkový počet spermií

Celkové počty spermií v ejakulátu u jednotlivých kanců jsou uvedeny v tabulce 4 a znázorněny v grafu 3.

Jednoznačně nejvyšší průměr celkového počtu spermií byl získán z hodnot odběrů kance A, a to 95,9 mld. spermií. U tohoto kance bylo také naměřeno nejvyšší minimum 75,1 mld. spermií i nejvyšší maximum 115,9 mld. spermií. U kance A byl naměřen vyšší celkový počet spermií ($P < 0,05$) ve srovnání s kancem C (o 46,6 mld.), kancem D (o 39,4 mld.) a kancem F (o 57,4 mld.). Druhá nejvyšší hodnota byla zaznamenána u kance B, u kterého byl průměr 80,5 mld. spermií, ale zároveň byla u tohoto kance zjištěna nejnižší minimální hodnota za všech získaných odběrů, 17 mld. spermií, oproti tomu zde byla také získána druhá nejvyšší maximální hodnota 111,2 mld. spermií. Při srovnání s kancem F byl naměřen rozdíl 42 mld. ($P < 0,05$). U kance C, s průměrem 49,3 mld. spermií, bylo naměřeno variační rozpětí od 38,8 mld. spermií do 61,8 mld. spermií. U kance D byl s variačním rozpětím od 43,5 mld. spermií do 69,5 mld. spermií vypočítán průměr 56,5 mld. spermií. U kance E bylo zjištěno třetí nejvyšší minimum 50,4 mld. spermií a třetí nejvyšší maximum 102,5 mld. spermií. Také průměr celkového počtu, 76,7 mld. spermií, byl ve srovnání s ostatními kanci třetí nejvyšší. Rozdíl průměru při porovnání s kancem F byl o 38,2 mld. vyšší, což byl statisticky významný rozdíl ($P < 0,05$). U kance F byl zaznamenán výrazně nejnižší průměr celkového počtu spermií, a to 38,5 mld. spermií. Minimální naměřená hodnota u tohoto kance byla 24,6 mld. spermií a maximální hodnota byla v porovnání s ostatními hodnotami opět

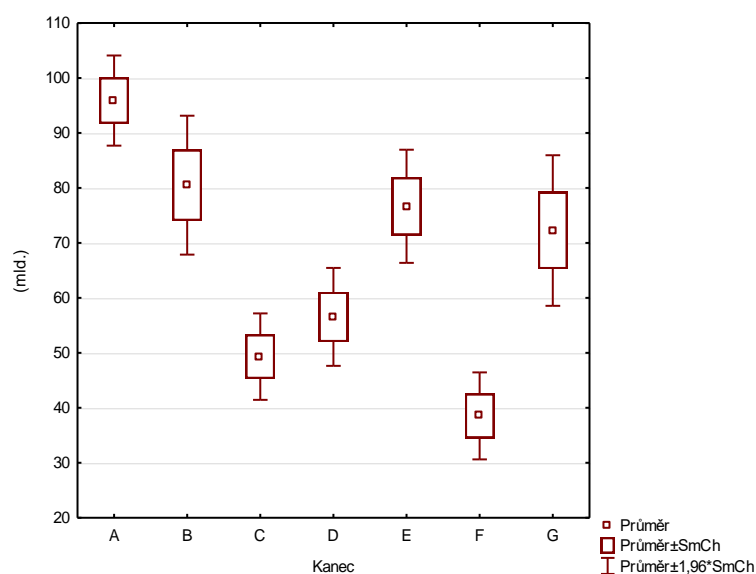
nejnižší. U kance G byl v rozmezí od 55,4 mld. spermií do 88,4 mld. spermií zjištěn průměr celkového počtu spermií 72,3 mld.

Tabulka 4. Celkový počet spermií (mld.)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	95,9 ^c	75,1	115,9	12,6	13,1
B	17	80,5 ^{a,c}	17,0	111,2	26,6	33,0
C	5	49,3 ^{a,b}	38,8	61,8	9,0	18,2
D	6	56,5 ^{a,b}	43,5	69,5	11,1	19,7
E	10	76,7 ^{a,c}	50,4	102,5	16,6	21,6
F	7	38,5 ^b	24,6	51,0	10,7	27,7
G	4	72,3 ^{a,b,c}	55,4	88,4	14,0	19,3

^{a,b,c} Průměry s různými písmeny jsou statisticky významné ($P < 0,05$).

Graf 3. Celkový počet spermií (mld.)



Celkový počet spermií byl výrazně ovlivněn hodnotami objemu spermatu, které byly poměrně variabilní, zvláště ve srovnání s výsledky koncentrace spermií. Průměry celkového počtu spermií u kanců C, D a F byly tak nízké, že byly prakticky nesrovnatelné s průměrnými výsledky dostupných autorů (OH *et al.*, 2006; KONDRACKI *et al.*, 2012; SMITAL, 2016; PARLAPAN *et al.*, 2013). Hodnoty ostatních sledovaných kanců jsou mírně podprůměrné nebo průměrné. Tyto výsledky byly patrně zapříčiněny kombinací faktorů ovlivňujících objem spermatu a koncentraci spermií, které již byly zmíněny výše.

5.2.4 Podíl motilných spermíí

Přežitelnost spermíí (podíl motilných spermíí) u jednotlivých kanců je uvedena v tabulce 5 a znázorněna v grafu 4.

Přežitelnost spermíí představuje procentuální vyjádření počtu pohyblivých (motilných) spermíí v prvních 4 dnech po odběru a zpracování ejakulátu. Posouzení pohybu spermie není standardizováno a je závislé na individuálním nastavení hodnotícího programu a jeho kalibraci nebo, jako v případě sledovaných kanců, na subjektivním posouzení hodnotícího laboranta. Z těchto důvodů slouží přežitelnost spermíí jen jako orientační ukazatel kvality spermatu.

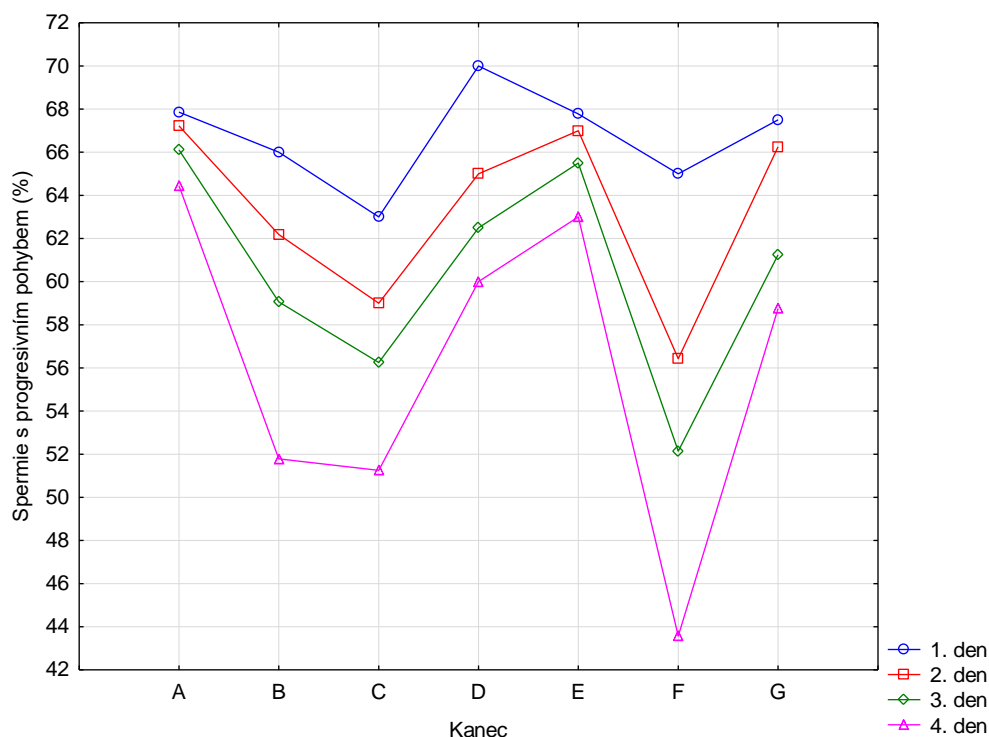
První den po odběru ejakulátu vykazoval v průměru největší podíl motilných spermíí kanec D, a to 70 %. Naopak nejnižší výsledek měl kanec C, u kterého bylo zjištěno pouze 63 % motilných spermíí. Druhý den po odběru ejakulátu byl u kance D patrný významný propad na 65 % motilných spermíí. Nejnižší průměrnou hodnotu 56,4 % motilných spermíí měl kanec F. U kance A byl naměřen průměr nejvyšší, a to 67,2 % motilných spermíí. Těsně za tímto výsledkem byl kanec E s průměrem 67 % motilných spermíí. Třetí den po odběru ejakulátu měl nejnižší podíl motilných spermíí opět kanec F, a to 52,1 %. Oproti tomu byl u kance A opět výsledek nejvyšší, a to 66,1 % motilných spermíí. Čtvrtý, tj. poslední den měření, byl zřetelný výrazný propad u kance F, jehož průměrný podíl motilných spermíí byl pouze 43,6 %. U kance A byly naměřeny opět nejvyšší průměrné hodnoty, podíl motilných spermíí bylo 64,4 %.

Přestože je přežitelnost spermíí významný ukazatel kvality spermatu, tak prakticky neexistuje všeobecně přijímaná definice pohybu spermie. Je však zřejmé, že stejně jako ostatní reprodukční ukazatele, je i přežitelnost spermíí ovlivňována celou řadou vnějších i vnitřních faktorů. Jedním z nejvýznamnějších faktorů je bezpochyby druh ředidla. Jak potvrzují FRYDRYCHOVÁ *et al.* (2015), jednotlivé druhy ředidla mají znatelný vliv na vlastnosti spermatu.

Tabulka 5. Podíl motilných spermií (%)

	Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
1. den	A	7	67,9	65,0	75,0	3,9	5,8
	B	5	66,0	60,0	75,0	5,5	8,3
	C	5	63,0	55,0	70,0	5,7	9,0
	D	3	70,0	70,0	70,0	0,0	0,0
	E	9	67,8	65,0	70,0	2,6	3,9
	F	1	65,0	65,0	65,0		
	G	4	67,5	65,0	70,0	2,9	4,3
2. den	A	9	67,2	65,0	70,0	2,6	3,9
	B	16	62,2	50,0	70,0	5,2	8,3
	C	5	59,0	50,0	65,0	6,5	11,0
	D	6	65,0	60,0	70,0	4,5	6,9
	E	10	67,0	65,0	70,0	2,6	3,9
	F	7	56,4	30,0	65,0	12,1	21,5
	G	4	66,3	65,0	70,0	2,5	3,8
3. den	A	9	66,1	65,0	70,0	2,2	3,3
	B	16	59,1	40,0	70,0	7,4	12,4
	C	4	56,3	40,0	65,0	11,1	19,7
	D	6	62,5	55,0	65,0	4,2	6,7
	E	10	65,5	60,0	70,0	3,7	5,6
	F	7	52,1	20,0	65,0	15,0	28,7
	G	4	61,3	60,0	65,0	2,5	4,1
4. den	A	9	64,4	60,0	65,0	1,7	2,6
	B	14	51,8	20,0	65,0	14,2	27,5
	C	4	51,3	30,0	65,0	15,5	30,2
	D	6	60,0	50,0	65,0	5,5	9,1
	E	10	63,0	40,0	70,0	8,6	13,6
	F	7	43,6	10,0	65,0	18,6	42,8
	G	4	58,8	50,0	65,0	6,3	10,7

Graf 4. Podíl motilných spermíí (%)



5.2.5 Morfologicky abnormální spermie

Podíl morfologicky abnormálních spermíí

Relativní vyjádření morfologicky abnormálních spermíí (MAS) u jednotlivých kanců je popsáno v tabulce 6.

U kance A byl zaznamenán průměrný podíl MAS 14,4 %, což je výsledek s druhou nejnižší hodnotou ve srovnání s ostatními kanci. Rozpětí hodnot z jednotlivých odběrů se pohybovalo od 7,5 % do 26,2 % MAS. V ejakulátu kance B bylo minimum 15,2 % a maximum 36,0 % MAS, přičemž průměr zaznamenaných hodnot byl 22,8 % MAS. U kance C byl zjištěn největší průměrný výskyt MAS, a to 28,6 %. Rovněž byla u tohoto kance zaznamenána nejvyšší minimální hodnota 25,9 % MAS, maximum bylo 35,1 % MAS. V ejakulátech kance D byl naměřen v rozmezí 17,9–31,8 % průměr 23,4 % MAS. U kance E byl zjištěn nejnižší průměr ze sledovaných kanců, a to 13,0 % MAS. Také minimální hodnota byla nejnižší ze všech zaznamenaných, pouze 5,7 % MAS. Maximální hodnota byla 24,3 % MAS. U kance F byl naměřen průměr 19,6 % MAS, minimální hodnota byla poměrně nízká, a to 8,2 %, ale maximální hodnota byla u tohoto kance 56,3 % MAS, což je

nejvíce ze všech měření. U kance G bylo rozmezí hodnot od 12,8 % do 24,1 % MAS a průměr byl 19,1 % MAS.

Tabulka 6. Podíl morfologicky abnormálních spermií (%)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	14,4	7,5	26,2	6,1	42,4
B	17	22,8	15,2	36,0	5,5	24,3
C	5	28,6	25,9	35,1	3,9	13,6
D	6	23,4	17,9	31,8	5,0	21,3
E	10	13,0	5,7	24,3	7,0	54,1
F	8	19,6	8,2	56,3	15,7	79,9
G	4	19,1	12,8	24,1	4,8	25,0

ŘÍHA *et al.* (2003) z hlediska požadavků na kvalitu spermatu a inseminační dávky uvádí, že čerstvé sperma musí obsahovat nejméně 75 % morfologicky normálních spermií. Průměrná hodnota u kance C tuto podmínku nesplňovala a u kanců B a D byla tato hodnota vzdálena jen do 1 %. Maximální naměřené hodnoty u všech kanců, s výjimkou kance G, nasvědčovaly tomu, že překročení limitu na počet morfologicky normálních spermií nebylo výjimkou. KONDRACKI *et al.* (2005) zaznamenal u plemene polská landrase 93,88 % normálních spermií, což je výrazně lepší výsledek než u sledovaných kanců, ale jak již bylo uvedeno výše, byl zde nejspíše výrazný vliv rozdílného genetického založení plemene (SMITAL, 2016). Jak uvádí ČEŘOVSKÝ *et al.* (2007), počet MAS je poměrně perzistentní ukazatel, který je ovlivněn dědičným základem kance. To může být příčinou tak nepříznivých výsledků u některých kanců.

5.2.5.1 Podíl nezralých spermií

Relativní vyjádření nezralých spermií u sledovaných kanců je uvedeno v tabulce 7 a znázorněno v grafu 5.

Počet nezralých spermií byl u sledovaných kanců poměrně variabilním ukazatelem, a to nejen mezi jednotlivými kanci, ale i mezi jednotlivými odběry konkrétních kanců. Nejvyšší průměrný počet nezralých spermií byl zaznamenán u kance B, a to 13,5 %. Nejnižší průměr 2,6 % nezralých spermií byl zjištěn u kance

G. Rozpětí výsledků u kance F bylo 2,2–45,3 % nezralých spermií, což bylo nejširší variační rozpětí mezi sledovanými kanci.

Tabulka 7. Podíl nezralých spermií (%)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	4,0	0,0	10,2	3,5	88,5
B	17	13,5	3,2	24,7	5,8	43,1
C	5	11,0	3,5	17,7	5,2	47,2
D	6	7,1	2,0	10,7	3,5	49,8
E	10	5,5	0,0	18,0	6,4	116,4
F	8	10,8	2,2	45,3	14,3	132,3
G	4	2,6	0,0	5,6	3,0	116,4

Nezralé spermie neboli spermie se zadrženu protoplazmatickou kapénkou byly jednou z nejčastějších abnormalit na spermiích u sledovaných kanců. Podle autorů WABERSKI *et al.* (1994) a ALTHOUSE (1998) by množství nezralých spermií v ejakulátu zpracovaném na inseminační dávky nemělo překročit 15 %. Průměrné hodnoty sledovaných kanců tuto podmínku splňovaly, ale u kanců B, C, E a F byl zaznamenán alespoň 1 případ, kdy byla tato hranice překročena. BANASZEWSKA *et al.* (2015) uvádí hodnoty, kde množství nezralých spermií nepřesahovalo 6 % a konstatuje, že je tento ukazatel ovlivněn, mimo jiné, věkem i plemenem kance. Společně s vlivem možného přetěžování kance, které uvádí LIPENSKÝ *et al.* (2014), to může být rozhodující faktor vysvětlující poměrně vysoké hodnoty u některých sledovaných kanců.

5.2.5.2 Podíl spermií s degenerací akrozómu

Relativní vyjádření spermií s degenerací akrozómu je popsáno v tabulce 8 a znázorněno v grafu 5.

Nejvyšší maximální podíl spermií s degenerací akrozómu byl zaznamenán u kance A, a to 19 %. U tohoto kance byl rovněž stanoven nejvyšší průměrný podíl 4,5 % spermií s degenerací akrozómu. U všech ostatních sledovaných kanců byl zaznamenán alespoň 1 odběr s nulovým výskytem této degenerace. U kance C nebyly zaznamenány spermie s touto vadou. Druhá a třetí nejvyšší průměrná i maximální hodnota byla zaznamenána u kanců E a G.

Tabulka 8. Podíl spermií s degenerací akrozómu (%)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	4,5	1,6	19,0	5,5	122,7
B	17	1,2	0,0	5,5	1,5	122,3
C	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
D	6	0,8	0,0	4,6	1,9	244,9
E	10	4,2	0,0	18,9	5,5	131,2
F	8	2,5	0,0	5,3	2,0	83,0
G	4	3,5	0,0	10,3	4,9	138,2

ČEŘOVSKÝ *et al.* (2007) uvádí hodnoty výskytu degenerovaného akrozómu, pohybující se od 0,14 % do 3 %. Průměrné hodnoty u sledovaných kanců byly vypočítány v rozmezí od 0 do 4,5 % spermií s degenerací akrozómu, což je poměrně srovnatelný výsledek. Degenerace akrozómu je řazena spíše do sekundárních vad (BAŽANT, 1988). ČEŘOVSKÝ *at al.* (2005) uvádí, že může být i ovlivněna zvýšenou teplotou varlat.

5.2.5.3 Podíl spermií s degenerovaným bičíkem

Relativní vyjádření spermií s degenerovaným bičíkem je uvedeno v tabulce 9 a znázorněno v grafu 5.

Degenerace bičíku spermie byla společně s nezralými spermii nejčastěji zaznamenanou vadou. Nejvyšší průměrná hodnota byla zaznamenána u kance C, a to 15,6 %, s nejvyšší minimální hodnotou 8,9 % a nejvyšší maximální hodnotou 29,8 % spermií s degenerovaným bičíkem. U kance D byly zjištěny podobné hodnoty v rozmezí 7,1–23,5 % a s průměrem 14,9 % spermií s degenerovaným bičíkem. Nulová hodnota byla zaznamenána pouze u kance E, u kterého byl i nejnižší průměr 1,2 % spermií s degenerovaným bičíkem.

Tabulka 9. Podíl spermií s degenerovaným bičíkem (%)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	5,0	1,5	9,5	2,5	50,7
B	17	7,1	0,0	12,0	4,0	56,5
C	5	15,6	8,9	29,8	8,3	53,1
D	6	14,9	7,1	23,5	7,0	47,1
E	10	1,2	0,0	3,8	1,3	115,0
F	8	5,0	2,4	10,9	3,1	61,4
G	4	9,6	5,8	11,3	2,6	26,8

Variant degenerací bičíku spermie může být celá řada. Degenerace rovněž patřila mezi nejčastější vady u sledovaných kanců. Jedná se také o poměrně variabilní ukazatel. ČEROVSKÝ *et al.* (2007) uvádí případy spermatu, kdy se vyskytovalo méně než 1 % spermií s degenerací bičíku, ale také případy, u kterých bylo téměř 19 % spermií s touto vadou. Tyto závěry do značné míry korespondují s výsledky u sledovaných kanců, u kterých se průměrné hodnoty pohybovaly v rozmezí 1,2–15,6 % spermií s degenerací bičíku.

5.2.5.4 Podíl spermií s degenerovanou hlavičkou

Relativní vyjádření spermií s degenerovanou hlavičkou je v tabulce 10 a znázorněno v grafu 5.

Průměr spermií s degenerovanou hlavičkou 3,3 % byl zjištěn u kance G, minimální hodnota u tohoto kance byla 1,9 % a maximální 5,7 %. U ostatních sledovaných kanců byl zaznamenán alespoň 1 odběr s nulovým výskytem této degenerace. Nejnižší průměrný výsledek 0,6 % a nejnižší maximální výsledek 2,3 % spermií s degenerovanou hlavičkou, byl stanoven u kance D. Druhá nejvyšší průměrná hodnota, 2,1 % spermií s degenerovanou hlavičkou, byla zaznamenána u kanců C a E, přičemž u kance E byla rovněž zjištěna nejvyšší maximální hodnota ze sledovaných kanců, a to 5,8 % spermií s degenerovanou hlavičkou.

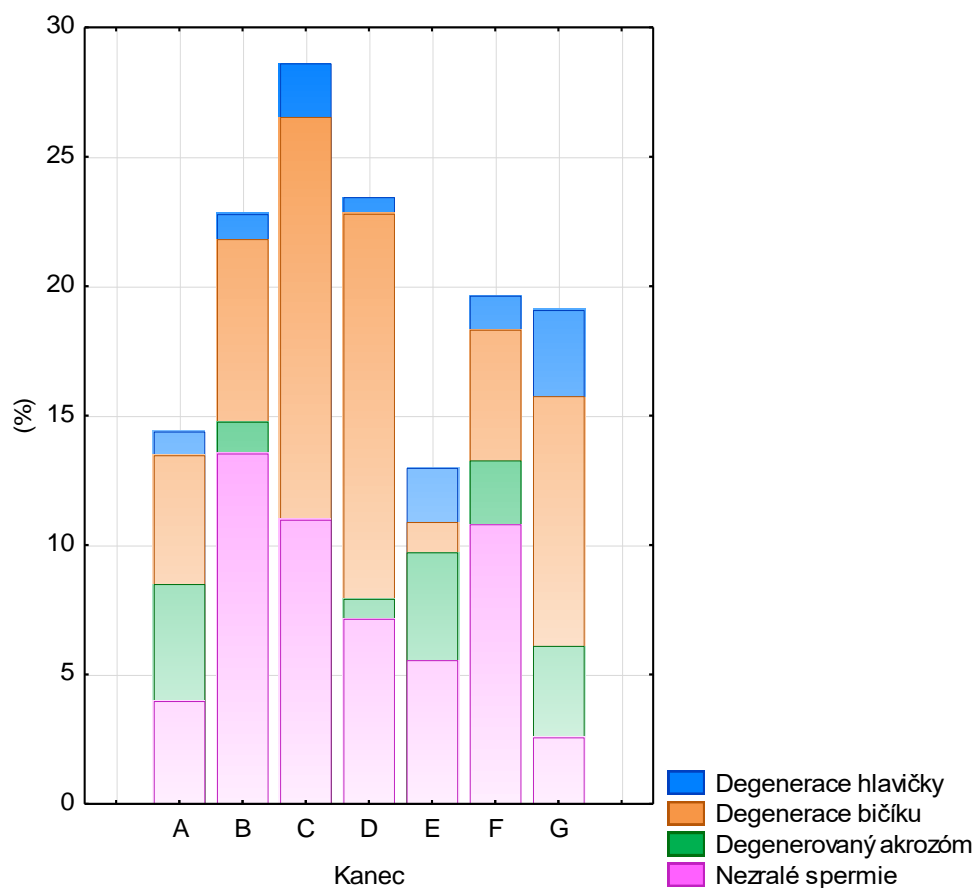
Podobně jako bičík i hlavička spermie může být postižena více druhy vad. Na rozdíl od degenerací bičíku jsou však vady hlavičky spíše ojedinělé. Celkový průměr u sledovaných kanců byl 1,6 % spermií s degenerovanou hlavičkou, přičemž

většina autorů uvádí četnost výskytu těchto spermií pod 1 % (KONDRACKI *et al.* 2005; ČEŘOVSKÝ *et al.* 2005).

Tabulka 10. Podíl spermií s degenerovanou hlavičkou (%)

Kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
A	9	0,9	0,0	3,2	1,2	129,0
B	17	1,0	0,0	3,2	1,1	109,1
C	5	2,1	0,0	4,7	1,7	81,9
D	6	0,6	0,0	2,3	1,0	159,7
E	10	2,1	0,0	5,8	2,3	107,8
F	8	1,3	0,0	4,3	1,7	128,1
G	4	3,3	1,9	5,7	1,7	51,1

Graf 5. Podíl jednotlivých abnormalit na spermiích (%)



5.3 Kvalita ejakulátu ve vztahu k reprodukci prasnic

5.3.1 Analýza plodnosti prasnic

Počty všech a živě narozených selat po sledovaných kancích jsou uvedeny v tabulce 11 a znázorněny v grafu 6.

Po kanci A byla zjištěna nejvyšší minimální (10 ks) a nejvyšší maximální (20 ks) hodnota všech narozených selat. Průměr 13,9 všech selat byl až třetí nejvyšší. U živě narozených selat měl kanec A opět nejvyšší maximální hodnotu (20 ks) a společně s kancem D i nejvyšší minimální hodnotu (9 ks). V průměrném počtu živě narozených selat dosáhl kanec A nejvyššího výsledku, a to 13,6 selat.

Po kanci B byly stanoveny nejnižší průměrné hodnoty všech narozených selat (12,3 ks) i živě narozených selat (11,9 ks). I minimální hodnoty byly v obou ukazatelích nejnižší (4 ks). Také maximální hodnoty patřily, ve srovnání s ostatními kanci, mezi nízké (18 všech narozených selat, 17 živě narozených selat).

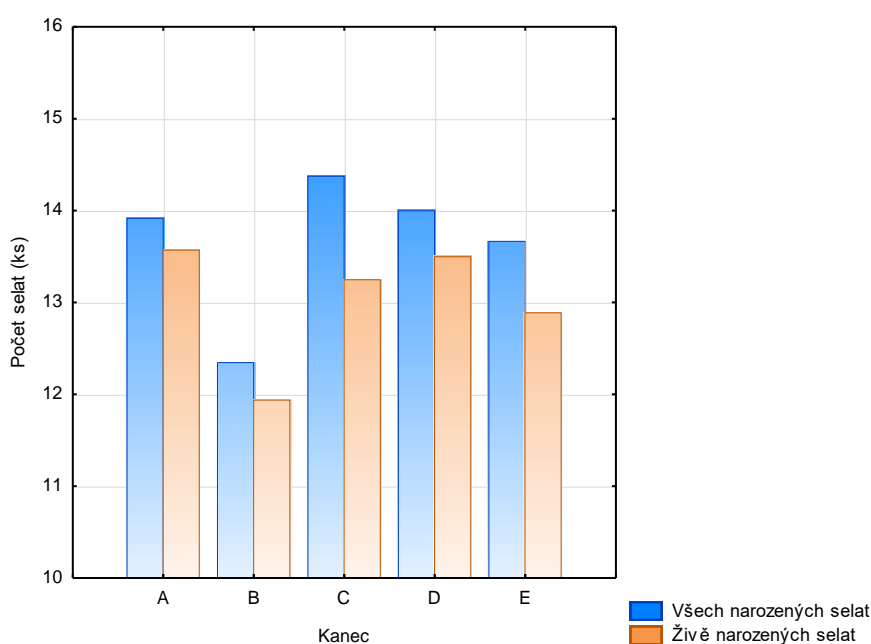
Nejvyšší průměrný počet všech narozených selat byl zaznamenán po kanci C, a to 14,4 selat. Průměrný počet živě narozených selat byl 13,3 selat, což byl až třetí nejvyšší. Mezi těmito hodnotami byl rozdíl o 1,1 selete, byl to největší rozdíl ve srovnání s ostatními kanci, u kterých tato hodnota nebyla vyšší než 0,9 selete. U kance C bylo zaznamenáno největší variační rozpětí u všech narozených selat (min. 6 ks, max. 19 ks) i u živě narozených selat (min. 3 ks, max. 19 ks).

Po kanci D byl vykázan druhý nejvyšší průměr všech narozených selat (14 ks), a druhý nejvyšší průměr živě narozených selat (13,5 ks). Minimální hodnota u obou ukazatelů byla 9 selat a maximální hodnota byla 18 všech narozených selat a 17 živě narozených selat.

Po kanci E byl zjištěn průměr 13,7 všech narozených selat v rozmezí od 8 do 19 selat. Průměrný počet živě narozených selat byl u tohoto kance 12,9 selat s rozpětím od 7 do 18 selat.

Tabulka 11. Počet narozených selat po sledovaných kancích (ks)

Narozených selat (ks)	kanec	N	\bar{x}	Min.	Max.	s	VK (%)
Všech	A	49	13,9	10	20	2,3	16,3
	B	49	12,3	4	18	3,1	25,5
	C	8	14,4	6	19	3,7	26,0
	D	8	14,0	9	18	2,5	17,9
	E	9	13,7	8	19	3,5	25,9
Živě	A	49	13,6	9	20	2,3	16,6
	B	49	11,9	4	17	3,2	26,6
	C	8	13,3	3	19	4,6	34,9
	D	8	13,5	9	17	2,5	18,6
	E	9	12,9	7	18	3,7	28,4

Graf 6. Počet narozených selat po sledovaných kancích (ks)

FEITSMA (2009) uvádí výsledky reprodukce prasnic z chovů v Nizozemsku, kdy byl dosažen v letech 2008 a 2009 průměrný počet všech narozených selat 13,9 ks a živě narozených selat 12,9 ks. Výsledky sledovaných kanců byly u obou ukazatelů srovnatelné nebo vyšší, vyjma kance B, u kterého byl průměrný počet všech narozených selat o 1,6 selat nižší a průměrný počet živě narozených selat o 1 sele nižší. S přihlédnutím k výskytu MAS u sledovaných kanců by se dalo očekávat,

že výsledky kanců C a D budou nižší či srovnatelné s kancem B. Vzhledem k tomu, že se tato očekávání nenaplnila, lze souhlasit s konstatováním výše uvedené autorky o tom, že vliv MAS v ejakulátu má, zvláště při srovnání s ostatními faktory, poměrně malý vliv na počet narozených selat.

5.3.2 Vliv celkového počtu spermií na plodnost prasnic

Počty všech a živě narozených selat v závislosti na celkovém počtu spermií v ejakulátu jsou uvedeny v tabulce 12 a znázorněny v grafu 7.

Kanci byli na základě celkového počtu spermií v ejakulátu rozděleni do 3 tříd. Třída 1 zahrnovala odběry s celkovým počtem spermií ≤ 75 mld. Do třídy 2 spadaly odběry, kdy byl zaznamenán celkový počet > 75 mld. spermií až k horní hranici 103 mld. spermií. Třída 3 zahrnovala odběry s < 103 mld. spermií.

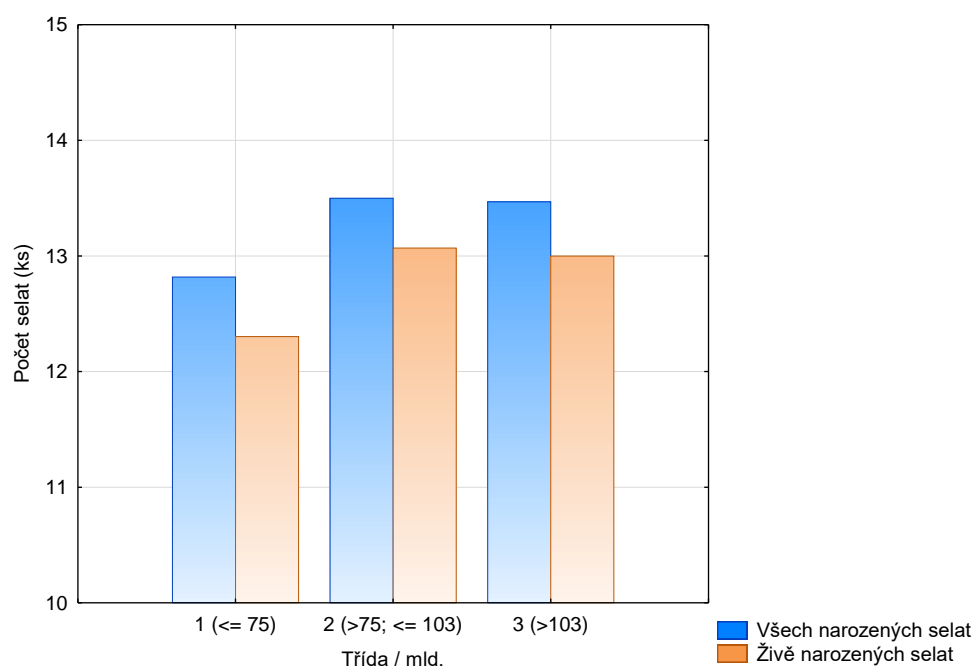
Nejnižší průměrný počet všech (12,8 ks) a živě narozených selat (12,3 ks) byl zjištěn ve třídě 1, u které také bylo zaznamenáno nejnižší minimum v obou ukazatelích (4 všech a 3 živě narozených selat), maximum bylo v obou případech stejné, 19 selat. Ve třídě 2 by průměrný počet všech narozených selat 13,5 ks a živě narozených selat 13,1 ks. U obou ukazatelů se výsledky pohybovaly v rozmezí od 5 do 20 selat. Třída 3 vykázala v průměrném počtu všech narozených selat stejnou hodnotu jako třída 2 (13,5 selat). V počtu živě narozených selat byl průměrný počet selat (13 ks) ve třídě 3 pouze o 0,1 selat nižší než ve třídě 2. Větší rozdíl byl ve variačním rozpětí třídy 3, ve které se počet všech narozených selat pohyboval v rozmezí od 8 do 18 selat a u živě narozených selat od 5 do 17 selat.

Tabulka 12. Počet selat v závislosti na celkovém počtu spermií v ejakulátu

Narozených selat (ks)	Třída	Počet spermií (mld.)	\bar{x}	N	Min.	Max.	s	VK (%)
Všech	1	≤ 75	12,8	33	4	19	3,6	28,0
	2	$>75; \leq 103$	13,5	58	5	20	2,8	21,1
	3	>103	13,5	32	8	18	2,2	16,7
Živě	1	≤ 75	12,3	33	3	19	3,7	30,0
	2	$>75; \leq 103$	13,1	58	5	20	2,8	21,3
	3	>103	13,0	32	5	17	2,6	19,7

Z uvedených výsledků vyplynulo, že z odebraných ejakulátů, ve kterých byl celkový počet spermií ≤ 75 mld. a které se po následném zpracování použily k inseminaci, se narodilo méně selat. U všech narozených selat byl tento rozdíl 0,7 selat a u živě narozených selat to bylo 0,8 selat. Oproti tomu výsledky z odběrů, při kterých se v ejakulátu naměřilo 75–103 mld. spermií a > 103 mld. spermií, byly téměř shodné.

Graf 7. Počet selat (ks) v závislosti na celkovém počtu spermií (mld.)



Autoři OH *et al.* (2006), KONDRACKI *et al.* (2012) a SMITAL (2016) zaznamenali průměr celkového počtu spermií mezi 80 a 120 mld. Ejakulát, ve kterém se vyskytuje < 75 mld. spermií lze na tomto základě považovat za podprůměrný. Ze sledovaných výsledků vyplynulo, že podprůměrný celkový počet spermií je přímo či nepřímo spojen s faktory, které negativně ovlivňují počet narozených selat.

5.3.3 Vliv morfologicky abnormálních spermií na plodnost prasnic

Počet všech a živě narozených selat v závislosti na množství degenerovaných spermií v ejakulátu je uveden v tabulce 13 a znázorněn v grafu 8.

Hodnoty sledovaných kanců byly rozděleny do 3 tříd na základě toho, jaký byl zaznamenán počet MAS v ejakulátech kanců použitých při inseminaci prasnic.

Třída 1 zahrnuje odběry, kdy byl počet MAS ≤ 15 %, třída 2 zahrnuje odběry, ve kterých bylo zaznamenáno > 15 % MAS až k hranici ≤ 25 % MAS a třída 3 zahrnuje odběry, ve kterých bylo zaznamenáno > 25 % MAS.

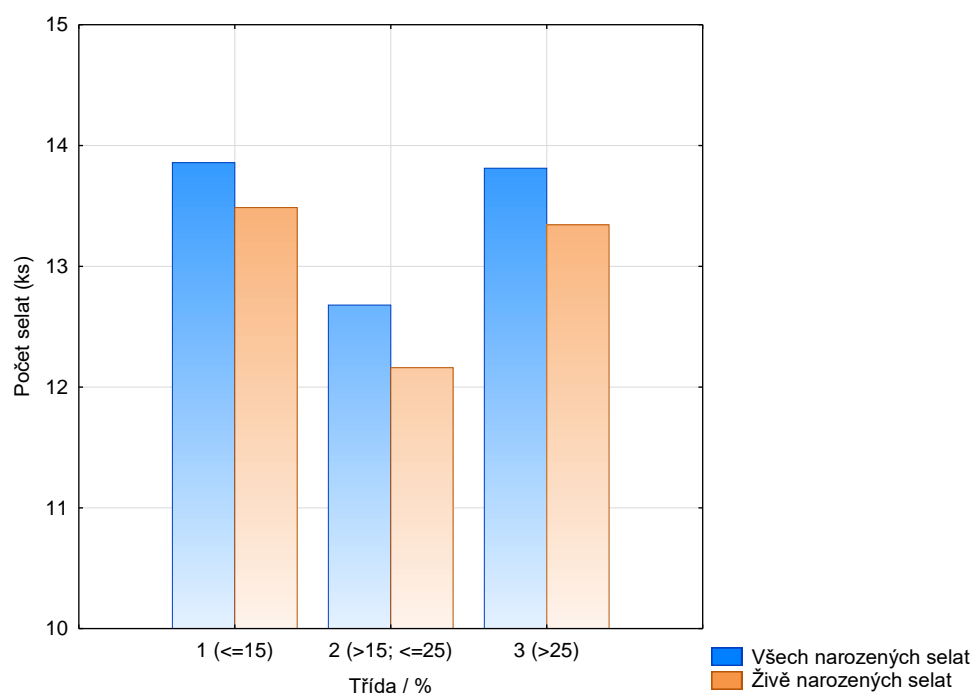
U třídy 1 byl zaznamenán nejvyšší průměrný počet všech narozených (13,9 ks) i živě narozených selat (13,5 ks). U této třídy byly rovněž zaznamenány nejvyšší minimální hodnoty (8 všech narozených selat, 7 živě narozených selat) i maximální hodnoty (20 selat u obou ukazatelů). U třídy 2 byly v obou ukazatelích zaznamenány nejnižší průměrné hodnoty (12,7 všech narozených selat, 12,2 živě narozených selat). Minimální hodnoty (4 všechna narozená selata a 3 živě narozená selata) i maximální hodnoty (18 všech narozených selat a 17 živě narozených selat) byly také nejnižší. Podobné hodnoty jako u třídy 1 byly naměřeny i u třídy 3. Všech narozených selat bylo průměrně 13,8 ks v rozmezí od 5 do 19 selat a živě narozených selat bylo 13,3 se stejným rozmezím.

Třída 1, zahrnující výsledky ejakulátů s výskytem MAS ≤ 15 %, měla dle očekávání nejvyšší počet všech i živě narozených selat. U třídy 2 (výskyt MAS 15–25 %) byl však zaznamenán výrazný pokles u všech narozených selat o 1,2 selat a u živě narozených selat o 1,3 selat. Ve třídě 3 (výskyt MAS > 25 %) byly oproti předpokladu výsledky opět vyšší, a dokonce srovnatelné se třídou 1.

Tabulka 13. Počet narozených selat v závislosti na počtu morfologicky abnormálních spermií (ks)

Narozených selat	Třída	Podíl MAS (%)	\bar{x}	N	Min.	Max.	s	VK (%)
Všech	1	≤ 15	13,9	35	8	20	2,7	19,4
	2	$>15; \leq 25$	12,7	56	4	18	3,2	24,9
	3	>25	13,8	32	5	19	2,6	18,6
Živě	1	≤ 15	13,5	35	7	20	2,7	20,0
	2	$>15; \leq 25$	12,2	56	3	17	3,3	27,3
	3	>25	13,3	32	5	19	2,5	18,9

Graf 8. Počet selat v závislosti na počtu morfologicky abnormálních spermií (%)



KRAJŇÁK (1995) uvádí, že výskyt MAS do 25 % nemusí negativně ovlivňovat plodnost prasnic, ale uvedené výsledky třídy 2 a 3 tuto hypotézu nepotvrdily. Rovněž se nepotvrdily závěry autorů ČEŘOVSKÝ *et al.* (2005) a BANASZEWSKA *et al.* (2015) zaznamenávající snižování plodnosti prasnic při zvyšujícím se výskytu MAS v ejakulátech kanců.

5.4 Korelace mezi sledovanými ukazateli

Součástí statistického vyhodnocení bylo i stanovení korelačních vztahů mezi sledovanými ukazateli. Tyto vztahy jsou zaznamenány v tabulce 14.

Na základě uvedených údajů byl prokázán poměrně překvapující vztah mezi objemem spermatu a přežitelností 3. den ($r = 0,35$; $P < 0,01$) i přežitelností 4. den ($r = 0,44$; $P \leq 0,001$).

Podíl nezralých spermií byl v negativní korelaci s počtem všech narozených selat ($r = -0,28$; $P < 0,05$), s počtem živě narozených selat ($r = -0,28$; $P < 0,05$), s objemem spermatu ($r = -0,27$; $P < 0,05$), s koncentrací spermatu ($r = -0,40$; $P < 0,01$) a také s celkovým počtem spermií ($r = -0,46$; $P < 0,001$), který vyplývá z předchozích dvou ukazatelů.

Byl prokázán pozitivní vztah mezi podílem spermií s degenerovaným akrozómem a objemem spermatu ($r = -0,53$; $P < 0,001$), ale rovněž byl zjištěn negativní vztah mezi podílem spermií s degenerovaným akrozómem a podílem spermií s protoplazmatickou kapénkou neboli nezralými spermii ($r = -0,41$; $P \leq 0,001$). U podílu spermií s degenerovaným bičíkem byla prokázána negativní korelace s následujícími ukazateli: objemem spermatu ($r = -0,34$; $P < 0,01$), s celkovým počtem spermií ($r = -0,28$; $P < 0,05$), s přežitelností 2. den ($r = -0,36$; $P < 0,01$), s přežitelností 3. den ($r = -0,48$; $P < 0,001$), s přežitelností 4. den ($r = -0,47$; $P < 0,001$) a s podílem spermií s degenerovaným akrozómem ($r = -0,44$; $P < 0,01$). Podíl spermií s degenerovanou hlavičkou byl v pozitivní korelaci s přežitelností 1. den ($r = 0,51$; $P < 0,001$) a s přežitelností 3. den ($r = 0,29$; $P < 0,05$).

Nezanedbatelný vliv byl prokázán u negativního korelačního vztahu mezi výskytem MAS a celkovým počtem spermií ($r = -0,48$; $P < 0,001$) a stejně tak s ukazateli, ze kterých tento počet vychází (objem spermatu a koncentrace spermií).

GORSKI *et al.* (2016) uvádí, že ejakuláty s větším objemem spermatu mají vyšší podíl motilních spermií, což vysvětluje pozitivní korelace u přežitelností 3. a 4. den. Autor rovněž uvádí spojitost mezi objemem spermatu a výskytem spermií s protoplazmatickou kapénkou. Tato spojitost se potvrdila v negativní korelaci s podílem nezralých spermií.

KONDRACKI *et al.* (2014) také zmiňuje vztah objemu spermatu s výskytem vad na bičíku spermie, což bylo potvrzeno v negativní korelaci. WABERSKI *et al.* (1993) a KRAJŇÁK (1995) zaznamenali negativní korelaci mezi počtem narozených selat a výskytem spermií s protoplazmatickou kapénkou. Tato negativní korelace byla potvrzena v případě všech i živě narozených selat. WEITZE (2012) konstatuje, že počet narozených selat je také ovlivněn celkovým počtem MAS, toto tvrzení však v uvedených korelacích potvrzeno nebylo.

Tabulka 14. Korelační koeficienty mezi sledovanými ukazateli

	Všechna narozená selata (ks)	Živě narozená selata (ks)	Objem spermatu (ml)	Koncentrace spermií (tis./mm ³)	Celkový počet spermií (mld.)	Přežitelnost 1. den (%)	Přežitelnost 2. den (%)	Přežitelnost 3. den (%)	Přežitelnost 4. den (%)	Nezralé spermie (%)	Degenerovaný akrozóm (%)	Degenerovaný bičík (%)	Degenerovaná hlavička (%)
Živě narozená selata (ks)	0,97 p=0,00												
Objem spermatu (ml)	-0,04 p=,762	0,01 p=,953											
Koncentrace spermií (tis./mm ³)	0,04 p=,746	0,09 p=,499	-0,03 p=,826										
Celkový počet spermií (mld.)	0,00 p=,980	0,06 p=,677	0,79 p=,000	0,57 p=,000									
Přežitelnost 1. den (%)	0,00 p=,998	0,01 p=,955	0,17 p=,211	-0,03 p=,816	0,09 p=,493								
Přežitelnost 2. den (%)	-0,18 p=,187	-0,15 p=,279	0,09 p=,506	0,21 p=,109	0,19 p=,154	0,45 p=,000							
Přežitelnost 3. den (%)	-0,04 p=,786	0,02 p=,875	0,35 p=,007	0,18 p=,173	0,37 p=,004	0,66 p=,000	0,76 p=,000						
Přežitelnost 4. den (%)	0,03 p=,818	0,08 p=,566	0,44 p=,001	0,18 p=,172	0,44 p=,001	0,36 p=,005	0,60 p=,000	0,82 p=,000					
Nezralé spermie (%)	-0,28 p=,034	-0,28 p=,037	-0,27 p=,040	-0,40 p=,002	-0,46 p=,000	-0,19 p=,157	0,09 p=,505	-0,12 p=,367	-0,06 p=,681				
Degenerovaný akrozóm (%)	-0,01 p=,956	0,04 p=,743	0,53 p=,000	0,15 p=,272	0,52 p=,000	0,23 p=,090	0,13 p=,325	0,22 p=,101	0,14 p=,282	-0,41 p=,001			
Degenerovaný bičík (%)	0,17 p=,219	0,13 p=,351	-0,34 p=,009	0,00 p=,995	-0,28 p=,036	-0,07 p=,615	-0,36 p=,006	-0,48 p=,000	-0,47 p=,000	0,02 p=,870	-0,44 p=,001		
Degenerovaná hlavička (%)	0,12 p=,375	0,09 p=,493	0,04 p=,775	-0,23 p=,082	-0,11 p=,397	0,51 p=,000	0,16 p=,236	0,29 p=,030	0,03 p=,846	0,06 p=,634	-0,08 p=,545	0,01 p=,964	
MAS celkem (%)	-0,05 p=,708	-0,07 p=,625	-0,40 p=,002	-0,27 p=,043	-0,48 p=,000	-0,06 p=,671	-0,12 p=,393	-0,35 p=,007	-0,37 p=,005	0,70 p=,000	-0,50 p=,000	0,68 p=,000	0,23 p=,081

6. Závěr a doporučení pro praxi

Cílem práce bylo vyhodnocení ejakulátu kanců z vybrané inseminační stanice z hlediska výskytu morfologických změn na spermiích a dalších kvalitativních ukazatelů. Následně byl posouzen vliv vybraných ukazatelů na reprodukci prasnic. Celkem bylo hodnoceno 58 ejakulátů kanců vybrané linie.

Objem spermatu

- Objem spermatu se pohyboval mezi 60 ml a 558 ml, přičemž průměrná hodnota byla 347 ml. Nejvyšší průměrný objem spermatu (439 ml; $P < 0,05$) byl naměřen u kance A. Ve srovnání s kancem F byl vyšší o 257 ml a v porovnání s kancem D byl vyšší o 185 ml.

Koncentrace spermií

- Průměrná koncentrace spermií byla 210 tis./mm³, nejnižší koncentrace byla 123 tis./mm³ a naopak nejvyšší koncentrace byla 302 tis./mm³. Nejvyšší průměrná koncentrace spermií byla zjištěna u kance D, a to 235 tis./mm³. Rozdíly v koncentraci spermií nebyly mezi kanci statisticky významné.

Celkový počet spermií

- Celkový počet spermií nabýval hodnot od 17 mld. do 115,9 mld. spermií, s průměrem 71,4 mld. spermií.
- Objem spermatu byl ve většině případů odběrů průměrný a nadprůměrný, avšak koncentrace spermií byla nízká. Jedením z důvodů mohlo být přetěžování kanců v případě krátkých přestávek mezi odběry.
- Nejvyšší celkový počet spermií byl shledán u kance A (95,9 mld., $P < 0,05$). Byl vyšší ve srovnání s kancem F o 57,4 mld., s kancem C o 46,6 mld. a ve srovnání s kancem D o 39,4 mld.

Podíl motilních spermií

- První den po odběru ejakulátu vykázal nejvyšší průměrný podíl motilních spermií kanec D (70 %), naopak nejnižší hodnotu měl kanec C (63 %).

- Druhý den po odběru ejakulátu byl u kance D patrný významný propad na 65 % motilních spermií. Nejnížší průměrnou hodnotu motilních spermií měl kanec F (56,4 %). Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u kance A (67,2 %) a kance E (67 %).
- Třetí den po odběru ejakulátu měl nejnížší průměrný podíl motilních spermií opět kanec F (52,1 %). U kance A byla opět hodnota nejvyšší (66,1 %).
- Čtvrtý, tj. poslední den měření, došlo k výraznému propadu u kance F, u něhož byl průměrný podíl motilních spermií pouze 43,6 %. U kance A byla opět naměřena nejvyšší průměrná hodnota (64,4 %).

Morfologicky abnormální spermie

- U kance C byl zjištěn největší průměrný podíl MAS (28,6 %). U kance E byl shledán nejnížší podíl MAS (13 %). Podíl MAS je poměrně perzistentní ukazatel, který je ovlivněn dědičným základem kance.
- Počet nezralých spermií byl variabilním ukazatelem, a to nejen mezi jednotlivými kanci, ale i mezi jednotlivými odběry. Nejvyšší podíl nezralých spermií (13,5 %) byl zaznamenán u kance B. Nejnížší podíl byl zjištěn u kance G (2,6 %). Nezralé spermie neboli spermie se zadržanou protoplazmatickou kapénkou byly jednou z nejčastějších abnormalit.
- Nejvyšší podíl spermií s degenerací akrozómu byl zaznamenán u kance A (4,5 %). U ostatních kanců byl zaznamenán alespoň jeden odběr s nulovým výskytem. U kance C nebyly zaznamenány spermie s touto vadou.
- Degenerace bičíku spermie byla společně s nezralými spermii nejčastěji zaznamenanou vadou. Největší podíly byly zaznamenány u kance C (15,6 %) a u kance D (14,9 %). Nulová hodnota byla naměřena u kance B a E. Variant degenerací bičíku spermie může být celá řada. Jedná se také o poměrně variabilní ukazatel.
- Nejvyšší podíl spermií s degenerovanou hlavičkou byl zjištěn u kance G (3,3 %). U ostatních kanců byl zaznamenán alespoň jeden odběr s nulovým výskytem. Nejnížší podíl byl stanoven u kance D (0,6 %). Podobně jako bičík, také hlavička spermie může být postižena více druhy vad. Na rozdíl od degenerací bičíku jsou však vady hlavičky spíše ojedinělé. Celkový průměrný podíl u sledovaných kanců byl 1,6 % spermií s degenerovanou hlavičkou.

Vliv celkového počtu spermií na plodnost prasnic

- Po kanci A byla zjištěna třetí nejvyšší hodnota všech narozených selat (13,9 ks) a nejvyšší hodnota živě narozených selat (13,6 ks). Po kanci B se narodilo nejméně všech narozených selat (12,3 ks) i živě narozených selat (11,9 ks). Nejvyšší počet všech narozených selat (14,4 ks) byl po kanci C, počet živě narozených selat (13,3 ks) byl však až třetí nejvyšší. Po kanci D byl zaznamenán druhý nejvyšší počet všech narozených selat (14 ks) i živě narozených selat (13,5 ks).
- Z ejakulátů s celkovým počtem spermií ≤ 75 mld. se narodilo nejméně selat ve srovnání se skupinami s vyšším počtem spermií (75–103 mld., resp. ≥ 103 mld.). U všech narozených selat byl rozdíl vždy 0,7 selat a u živě narozených byl rozdíl 0,7 selat, resp. 0,8 selat.
- Z odběrů, při kterých bylo v ejakulátu naměřeno 75–103 mld. spermií a ≥ 103 mld. spermií, byly výsledky téměř shodné. U všech narozených selat to vždy bylo 13,5 ks, a u živě narozených selat 13,1, resp. 13,0 selat.
- Ejakulát, ve kterém se vyskytovalo < 75 mld. spermií lze na tomto základě považovat za podprůměrný. Takový ejakulát je přímo či nepřímo spojen s faktory, které negativně ovlivňují počet narozených selat. Proto je mu potřeba při laboratorním posuzování věnovat zvýšenou pozornost.

Vliv podílu morfologicky abnormálních spermií na plodnost prasnic

- Po kancích, v jejichž ejakulátu se vyskytoval MAS < 15 %, se narodilo nejvíce všech (13,9 ks) i živě narozených selat (13,5 ks).
- U ejakulátů s výskytem MAS 15–25 % byl zaznamenán výrazný pokles, jak všech narozených selat (o 1,2 ks), tak i živě narozených selat (o 1,3 ks).
- U ejakulátů s výskytem MAS > 25 % byl, oproti předpokladu a výsledkům jiných autorů, počet narozených selat vyšší. To mohlo být způsobeno vlivem nízkého počtu pozorování nebo vnějšími vlivy, resp. oběma vlivy.

Korelace mezi sledovanými ukazateli

- Byl prokázán vztah mezi objemem spermatu a přežitelností spermií 3. den ($r = 0,35$; $P < 0,01$) i přežitelností 4. den ($r = 0,44$; $P \leq 0,001$).
- Podíl nezralých spermií byl v negativní korelaci s počtem všech narozených selat ($r = -0,28$; $P < 0,05$), počtem živě narozených selat ($r = -0,28$; $P < 0,05$), objemem spermatu ($r = -0,27$; $P < 0,05$), koncentrací spermatu ($r = -0,40$; $P < 0,01$) i s celkovým počtem spermií ($r = -0,46$; $P < 0,001$).
- Byl prokázán pozitivní vztah mezi podílem spermií s degenerovaným akrozómem a objemem spermatu ($r = 0,53$; $P < 0,001$), a zároveň byl zjištěn negativní vztah s podílem nezralých spermií ($r = -0,41$; $P \leq 0,001$).
- U podílu spermií s degenerovaným bičkem byla prokázána negativní korelace s objemem spermatu ($r = -0,34$; $P < 0,01$), celkovým počtem spermií ($r = -0,28$; $P < 0,05$), přežitelností 2. den ($r = -0,36$; $P < 0,01$), přežitelností 3. den ($r = -0,48$; $P < 0,001$), přežitelností 4. den ($r = -0,47$; $P < 0,001$) a s podílem spermií s degenerovaným akrozómem ($r = -0,44$; $P < 0,01$).
- Podíl spermií s degenerovanou hlavičkou byl v pozitivní korelaci s přežitelností 1. den ($r = 0,51$; $P < 0,001$) a s přežitelností 3. den ($r = 0,29$; $P < 0,05$).
- Byl prokázán negativní korelační vztah mezi podílem MAS a celkovým počtem spermií ($r = -0,48$; $P < 0,001$), objemem spermatu ($r = -0,40$; $P < 0,01$) a koncentrací spermií ($r = -0,27$; $P < 0,05$).

Doporučení pro praxi

- Nejlepší výsledky byly dosaženy u kance A. Byly u něj zjištěny nejvyšší objem spermatu, nejvyšší celkový počet spermií, nejlepší životnost spermií a především dosažen nejvyšší počet živě narozených selat. Jediný problém byl, že byl u něj zjištěn nejvyšší podíl spermií s degenerací akrozómu. Avšak v celkovém podílu morfologicky abnormálních spermií, stejně jako ve zbývajících jednotlivých abnormalitách (nezralé spermie, spermie s degenerovaným bičkem, spermie s degenerovanou hlavičkou) byl vždy 2. nejlepší. U zbývajících kanců už závěr nebyl tak jednoznačný.

- Na základě zjištěných výsledků lze z hlediska dosažení dostatečné četnosti vrhu doporučit sledování výskytu morfologických abnormalit spermií, především výskyt nezralých spermií. Nezralé spermie nejenže patřily k nejčastějším vadám, ale byla u nich také prokázána spojitost s počtem narozených selat. Proto je nezbytné dodržovat maximální hranici 15 % nezralých spermií v ejakulátu.
- Dále by mělo docházet k pravidelné kontrole MAS v ejakulátu a případné selekci kanců s vyšším výskytem MAS nebo s většími výkyvy kvality spermatu.

7. Seznam literatury

- ALMOND, G., J. BRITT, B. FLOWERS, CH. GLOSSOP, D. LEVIS, M. MORROW and T. SEE. *The Swine AI Book*. 2nd Edit.. Raleigh NC: Morgan Morrow, 1998. ISBN 0-9640737-1-4.
- BANASZEWSKA, D., B. BIESIADA-DRZAZGA and K. ANDRASZEK. Frequency of cytoplasmic droplets depends on the breed and age of insemination boars. *Folia Biologica*. 2015, 63(1), 9-18. ISSN 00155497.
- BANASZEWSKA, D., S. KONDRACKI and A. WYSOKINSKA. Effect of age on the dimensions and shape of spermatozoa of Large White Polish boars. *Archiv Fur Tierzucht-Archives of Animal Breeding*. 2011, 54(5), 504-514. ISSN 0003-9438.
- BAŽANT, JAN. *Inseminace prasat*. Praha: Státní plemenářské podniky, 1988.
- BROEKHUIJSE, M., H. FEITSMA and B. M. GADELLA. Artificial insemination in pigs: predicting male fertility. *Veterinary Quarterly*. 2012, 32(3-4), 151-157. ISSN 0165-2176.
- ČEŘOVSKÝ, JOSEF, A. LUSTYKOVÁ, S. FRYDRYCHOVÁ and M. ROZKOT. Morphologically abnormal spermatozoa changes as a tool for semen quality assessment of the boars. *Research in Pig Breeding*. 2007, 1(1), 21-24. ISSN 1802-7547.
- ČEŘOVSKÝ, J., S. FRYDRYCHOVÁ, A. LUSTYKOVÁ and M. ROZKOT. Changes in boar semen with a high and low level of morphologically abnormal spermatozoa. *Czech Journal of Animal Science*. 2005, 50(7), 289-299. ISSN 1212-1819.
- FEITSMA HANNEKE. Artificial insemination in pigs, research and developments in The Netherlands, a review. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2009, 37(1), 61-71. ISSN 1679-9216.
- FRYDRYCHOVÁ, S., A. LUSTYKOVÁ, E. VÁCLACKOVÁ, J. LIPENSKÝ and M. ROZKOT. Effect of different extenders on quality of frozen-thawed boar semen. *Indian Journal of Animal Research*. 2015, 49(6), 851-854. ISSN 0976-0555.
- GADEA, JOAQUIN. Sperm under the microscope. *Pig International*. 2002, 32, 24-27. ISSN 0191-883.

- GAMČÍK, PAVOL a JAROSLAV KOZUMPLÍK. *Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat*. Bratislava: Príroda, 1984.
- GÓRSKI, K, S. KONDRACKI, A. WYSOKIŃSKA and A. NAZARUK. The importance of ejaculate volume for the physical parameters of ejaculates and sperm morphology of Hypor boars. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 2016, 22(4), 493-501. ISSN 1300-6045.
- GRIEBLOVA, A., E. PINTUS and J. L.ROS-SANTAELLA. Integrity of head and tail plasmalemma is associated with different kinetic variables in boar sperm. *Animal Reproduction Science*. 2017, 184, 218-227. ISSN 0378-4320.
- JELÍNEK, PAVEL a KAREL KOUDELA. *Fyziologie hospodářských zvířat*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-7157-644-1.
- KAMANOVÁ, V., Z. HADAŠ and P. NEVRKLA. Influence of genotype on production and quality of boar semen. *Research in Pig Breeding*. 2016, 10(2), 14-17. ISSN 1802-7547.
- KLIMENT, JOZEF. *Reprodukcia hospodárskych zvierat*. 2. preprac. vyd. Bratislava: Príroda, 1989. ISBN 80-07-00027-5.
- KONDRACKI, S., D. BANASZEWSKA, A. WYSOKIŃSKA and J. CHOMICZ. Sperm morphology of cattle and domestic pigs. *Reproductive Biology*. 2006, 6(2), 99-104. ISSN 1642-431X.
- KONDRACKI S., K. GORSKI, A. WYSOKIŃSKA and I. JOŻWIK. Correlation of ejaculate parameters and sperm morphology with the ejaculate volume of Pietrain boars. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2014, 20(3), 703-709. ISSN 2534-983X.
- KONDRACKI, S., M. IWANINA, A. WYSOKINSKA and M. HUSZNO. Comparative analysis of Duroc and Pietrain boar sperm morphology. *Acta Veterinaria Brno*. 2012, 81(2), 195-199. ISSN 1801-7576.
- KOMÁREK, VLADIMÍR a ZDENĚK SOVA. *Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat*. 2. preprac. vyd. Praha: SZN, 1971.

- LIPENSKÝ, J., A. LUSTIKOVÁ, M. ROZKOT, E. VÁCLAVKOVÁ, P. PŘINOSILOVÁ, J. ŠÍPEK, M. KUNETKOVÁ a V. KOPECKÁ. *Základy hodnocení morfologického obrazu spermií kance*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2014. ISBN 978-80-7403-122-9.
- LIPENSKÝ JAN a ALENA LUSTYKOVÁ. Analýza obrazu nejen v inseminaci prasat. *Náš Chov*. 2013, 73(11), 37-38. ISSN 0027-8068.
- LOUDA, FRANTIŠEK. *Cvičení z reprodukce hospodářských zvířat*. Praha: VŠZ (Praha), 1984.
- PARLAPAN, L., I. PARRILLA, T.A. TARANTINI, E. PALL, M. CENARIU, I. M. BALACI, S. CIUPE and I. Ş. GROZA. Assessment of boar semen parameters. *Porcine Research*. 2013, 3(1), 14-18. ISSN 2248-311X.
- OH, S. H., M.T. SEE, T.E. LONG and J.M. GALVIN. Estimates of genetic correlations between production and semen traits in boar. *Asian Australian Journal of Animal Science*. 2006, 19(2), 160-164. ISSN 1011-2367.
- RODRIGUEZ, A.L. Fresh boar semen: quality control and production. Ghent University. Faculty of Veterinary Medicine, Merelbeke, Belgium. 2012. ISBN 978-90-5864-286-8.
- ŘÍHA, JAN, J. PETELÍKOVÁ, J. ČEŘOVSKÝ, J. BAŽANT, M. BOCHENEK a J. PYTLOUN. *Plemenitba hospodářských zvířat*. Rapotín: Asociace chovatelů masných plemen, 2003. ISBN 80-903143-4-1.
- SMITAL, JAROSLAV. Genetické hodnocení kanců podle znaků spermatu. *Slovenský Chov*. 2016, 21(10), 33-35. ISSN 1336-9121.
- SMITAL, JAROSLAV. Chov plemenných kanců. *Farmář*. 2016, 22(10), 41-43. ISSN 1210-9789.
- SOVA, ZDENĚK. *Fyziologie hospodářských zvířat*. 2. přeprac. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. ISBN 80-209-0092-6.
- VĚŽNÍK, Z., J. RUBEŠ a M. MACHATKOVÁ. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 2004. ISBN 80-86895-01-7.

VĚŽNÍK, Z., D. ŠVEC OVÁ, A. ZAJÍCOVÁ, D. ZUDOVÁ, P. PŘINOSILOVÁ
a M. KUNETKOVÁ. *Spermatoanalytický metodický kurz*. Brno: Výzkumný ústav
veterinárního lékařství, 2010.

WEITZE, KARL FRITZ. The importance of boar sperm motility and morphology for
fertility. *International Pig Topics*. 2012, 27(5), 13-15. ISSN 0963-5866.

8. Příloha

Fotografie 1. Odběr kance



Foto: autor práce

Fotografie 2. Místnost na ředění spermatu a výrobu inseminačních dávek



Foto: autor práce