

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů

Katedra chovu hospodářských zvířat



Česká zemědělská
univerzita v Praze

Faktory ovlivňující kvalitu inseminačních dávek u
prasat

Diplomová práce

Autor: Bc. Lenka Tučková

Živočišná produkce

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

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Faktory ovlivňující kvalitu inseminačních dávek u prasat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 25.4.2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Kateřině Zadinové, Ph.D. za vytvoření kvalitních podmínek pro zpracování diplomové práce.

Faktory ovlivňující kvalitu inseminačních dávek u prasat

Souhrn

Cílem diplomové práce je vyhodnotit míru vlivu jednotlivých faktorů na kvalitu inseminačních dávek a úroveň reprodukce ve vybraném chovu za rok 2020.

Kvalita inseminačních dávek je primárně ovlivněna kvalitou ejakulátu, proto sledujeme v práci hlavně faktory, které ovlivňují kvalitu ejakulátu.

Na základě doposud publikovaných výsledků předpokládáme, že pohlavní dospělost, výživa, vliv délky skladování a rovněž geny, které prokazatelně ovlivňují syntézu pohlavních hormonů například *HSD3B1* *CYB5A* mají signifikantní vliv na kvalitu ejakulátu.

V rámci diplomové práce bylo sledováno 10 kanců z ISK Vema, a. s. Srní. Od kterých byl v průběhu roku 2020 odebírán ejakulát a sledovány jeho parametry (objem ejakulátu v ml, aktivita spermií v %, koncentrace v 1cm^3 , patologické spermie v %, počet ID, přežitelnost po 24, 48 a 72 hod). Sledované parametry byly hodnoceny z pohledu vlivu kance, ročního období a genotypu sledovaných SNP v genech *CYB5A* (c.-8G>T) a *HSD3B1* (g.165262G>A). Zároveň byla hodnocena i reprodukce vybraného vzorku prasnic, které byly inseminovány těmito kanci, a které porodily v roce 2020 (20 prasnic na 1 kance).

Z hlediska pohlavní dospělosti jde o to začít odebírat kance až od 6. měsíce a na inseminační dávky až od 8. měsíce, kdy dochází k nárůstu koncentrace. Všichni kanci už byli plně zapojeni do reprodukčního procesu. Po statistickém hodnocení byl jednoznačně prokázán signifikantní vliv ($P < 0,0001$) kance na všechny hodnocené parametry. Patrně díky dobrému technologickému zázemí ve stanici nemá prostředí vliv na ukazatele kvality ejakulátu. Naopak sledované SNP ve dvou hodnocených genech vykazovaly signifikantní vliv především na objem a koncentraci ejakulátu. V obou případech vykazovaly dobré výsledky heterozygotní jedinci *AG* a *GT*. Při hodnocení následné reprodukční užitkovosti byl prokázán vliv kance na počty mrtvě narozených

selat a počty mumifikovaných plodů. Z tohoto důvodu by bylo dobré se dále zaměřit na hodnocení reprodukce jako jednoho ukazatelů kvality. Výsledky diplomové práce také potvrzují stanovenou hypotézu, že: vybrané faktory mohou ovlivňovat (kanec, genotyp vybraných genů, délka skladování, roční období apod.) mohou ovlivnit kvalitu inseminační dávky a úroveň zabřezávání prasnic.

Klíčová slova: kanec, inseminační dávka, reprodukce

Factors affecting the quality of insemination doses in pigs

Summary

The aim of the diploma thesis is to evaluate the degree of influence of individual factors on the quality of insemination doses and the level of reproduction in selected breeding in 2020.

The quality of insemination doses is primarily influenced by the quality of ejaculate, so we mainly monitor the factors that affect the quality of ejaculate.

Based on the results published so far, we assume that sexual maturity, nutrition, the effect of length of storage, as well as genes that have been shown to affect the synthesis of sex hormones, such as *HSD3B1* *CYB5A*, have a significant effect on the quality of ejaculate.

Within the diploma thesis, 10 boars from ISK Vema, a. s. Srní were monitored. From which ejaculate was taken during 2020 and its parameters were monitored (ejaculate volume in ml, sperm activity in%, concentration in 1 cm³, pathological sperm in%, number of IDs, survival after 24, 48 and 72 hours). The monitored parameters were evaluated from the point of view of the influence of the boar, season and genotype of the monitored SNPs in the genes *CYB5A* (c.-8G> T) and *HSD3B1* (g.165262G> A). At the same time, the reproduction of a selected sample of sows that were inseminated by these boars and gave birth in 2020 was evaluated (20 sows per 1 boar).

From the point of view of sexual maturity, it is a matter of starting to take boars only from the 6th month and for insemination doses only from the 8th month, when the concentration increases. All boars were already fully involved in the reproductive process. After statistical evaluation, a significant effect ($P < 0.0001$) of the boar on all evaluated parameters was clearly demonstrated. Probably due to the good technological background in the station, the environment does not affect the quality indicators of ejaculate. In contrast, the observed SNPs in the two evaluated genes

showed a significant effect mainly on the volume and concentration of ejaculate. In both cases, heterozygous individuals *AG* and *GT* showed good results. The evaluation of the subsequent reproductive performance showed the effect of the boar on the number of stillborn piglets and the number of mummified fetuses. For this reason, it would be good to further focus on the evaluation of reproduction as one indicator of quality. The results of the diploma thesis also confirm the established hypothesis that: selected factors may affect (boar, genotype of selected genes, length of storage, season, etc.) may affect the quality of the insemination dose and the level of conception of sows.

Keywords: boar, insemination dose, reproduction

Obsah

1	Úvod	1
2	Vědecká hypotéza a cíl práce	2
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	3
3.1	Pohlavní orgány kance	3
3.1.1	Varlata	3
3.1.2	Nadvarlata	3
3.1.3	Chámovody.....	4
3.1.4	Šourek.....	4
3.1.5	Přídavné pohlavní žlázy.....	4
3.1.6	Semenné vāčky	4
3.1.7	Předstojná žláza.....	4
3.1.8	Cowperovy žlázy	5
3.1.9	Pohlavní úd	5
3.2	Spermatogeneze a semenná plazma	6
3.2.1	Spermatogeneze.....	6
3.2.1.1	Spermie	7
3.2.1.2	Semenná plazma	9
3.3	Reprodukce prasnic	9
3.3.1	Plodnost.....	9
3.3.1.1	Vnitřní faktory ovlivňující plodnost prasnic	9
3.3.1.2	Vnější faktory ovlivňující plodnost prasnic.....	10
3.4	Odběr ejakulátu a jeho zpracování.....	11
3.4.1	Odběr a hygiena při odběru semene.....	11
3.4.2	Vizuální hodnocení semene.....	12

3.4.3	Ředění a konzervace semene	13
3.4.3.1	Ředění semene	13
3.4.3.2	Konzervace semene	14
3.5	Faktory ovlivňující plodnost kanců, kvalitu ejakulátu a následně kvalitu inseminační dávky	14
3.5.1	Vnější faktory	15
3.5.1.1	Výživa	15
3.5.1.2	Délka skladování inseminačních dávek	16
3.5.1.3	Teplota	16
3.5.1.4	Vliv ročního období	16
3.5.2	Vnitřní faktory	18
3.5.2.1	Pohlavní dospělost	18
3.5.2.2	Frekvence ejakulace	19
3.5.2.3	Období narození kance	19
3.5.2.4	Plemeno	19
3.5.2.5	Velikost a hmotnost varlat	22
3.5.2.6	Kvalita spermatu	22
3.5.2.7	Geny ovlivňující funkci steroidních hormonů - <i>CYB5A</i> a <i>HSD3B1</i> ..	23
4	Metodika	26
4.1	Inseminační stanice kanců	26
4.2	Odběr a ředění ejakulátu	26
4.3	Hodnocení ejakulátu	27
4.4	Hodnocení reprodukce ve stádě prasnic	28
4.5	Hodnocení pohlavní dospělosti	28
4.6	Hodnocení výživy kanců	28
4.7	Stanovení genotypu vybraných SNP	29

4.8	Statistická analýza	29
5	Výsledky faktorů ovlivňující kvalitu ejakulátu a ID.....	30
5.1	Výsledky hodnocení ejakulátu z pohledu kance.....	30
5.1.1	Objem ejakulátu a jeho koncentrace	30
5.1.2	Přežitelnost spermií.....	31
5.1.3	Maximální a minimální objem ejakulátu	32
5.1.4	Maximální a minimální koncentrace ejakulátu	33
5.1.5	Vliv ročního období.....	33
5.2	Vliv genů	34
5.2.1	Gen HSD3B1.....	36
6	Reprodukce prasnic v závislosti na kanci	37
6.1	Celkem narozených selat v závislosti na kanci	37
6.2	Mrtvě narozená selata v závislosti na kanci	37
6.2.1	Počet mumií v závislosti na kanci	38
6.2.2	Počet odstavených selat v závislosti na kanci	38
7	Diskuse	39
7.1	Hodnocení ejakulátu.....	39
7.2	Hodnocení reprodukce	40
8	Závěr.....	41
9	Literatura	43
10	Seznam tabulek a grafů	49

1 Úvod

Chov prasat je v nynější době celosvětově na poklesu, i když patří k nejrozšířenějšímu a nejvýznamnějšímu odvětví živočišné výroby. Výnosy nyní nestačí ani na pokrytí nákladů v podniku. Kdyby neexistovali dotace, tak by většina podniků již dávno skončila. Je proto potřeba dosáhnout, co nejvíce živě narozených selat, aby stoupla prosperita podniku. S větším množstvím živě narozených selat také souvisí věk prasniček, nástup říje po odstavu selat, doba inseminace, a právě i kvalita inseminačních dávek. A proto musí docházet k produkci kvalitních spermií.

Tato diplomová práce je zaměřena na faktory ovlivňující kvalitu inseminačních dávek, ale jelikož hlavní faktor, který ovlivňuje inseminační dávky je kvalita ejakulátu, tak jsem se v práci zaměřila hlavně na tyto faktory, následně jsem rozebrala následnou reprodukci prasnic, kde jsem došla k závěru, že spermie kanců významně ovlivňují mrtvě narozená selata a počty mumii, ale neovlivňují počet celkem narozených selat a počet odstavených selat.

V praxi dochází k výrazným poklesům kvality spermií v průběhu roku, hlavně v letních a zimních měsících. Ke zhoršení kvality spermií přispívá také výživa kanců, pokud kanci nemají dostatečnou výživu, tak dochází ke zhoršení kvality, jak objemu, tak koncentrace, ale také i aktivity a patologii spermií.

Hlavním úkolem diplomové práce je potvrdit nebo vyvrátit vliv vnitřních a vnějších faktorů na kvalitu inseminačních dávek, respektive na kvalitu ejakulátu. S tím souvisí pohlavní dospělost, délka skladování ID, roční období, možné kandidátní geny *CYB5A* a *HSD3B1*, frekvence ejakulace a další faktory.

2 Vědecká hypotéza a cíl práce

Cílem práce je vyhodnotit míru vlivu jednotlivých faktorů na kvalitu inseminačních dávek a úroveň reprodukce.

Hypotéza

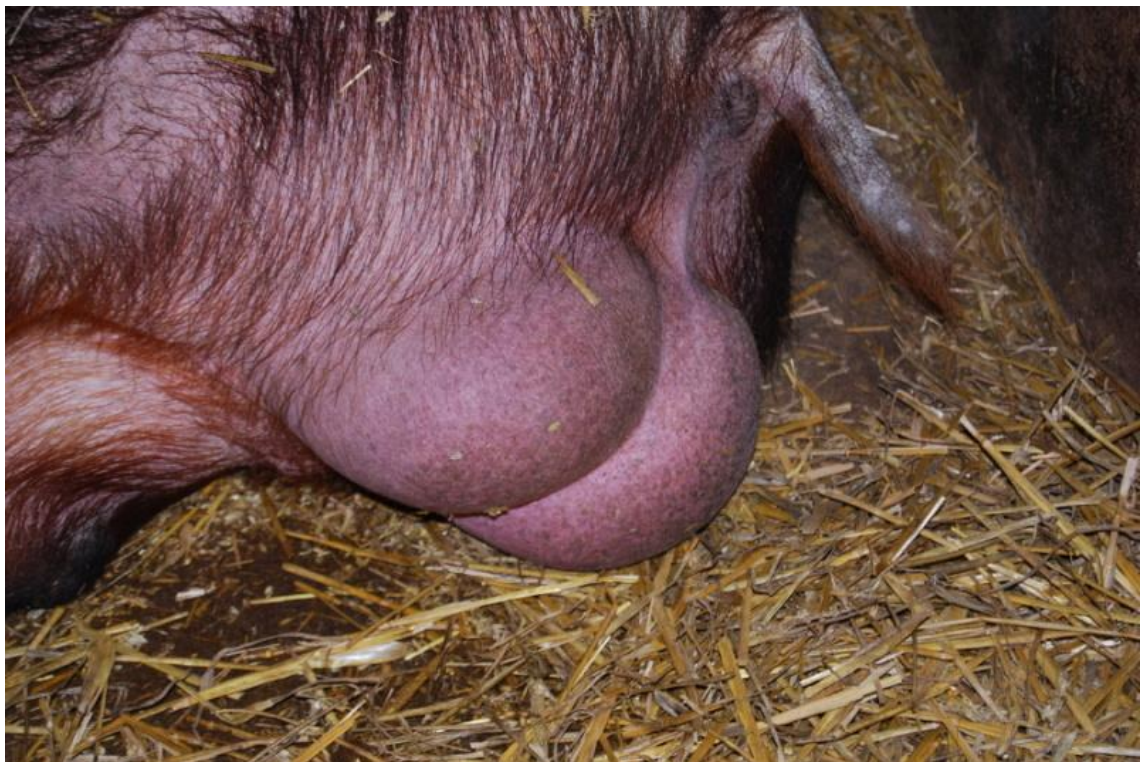
Vybrané faktory mohou ovlivňovat (kanec, genotyp vybraných genů, délka skladování, roční období apod.) kvalitu inseminační dávky a úroveň zabřezávání prasnic.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Pohlavní orgány kance

3.1.1 Varlata

Varlata (latinsky *testes*) jsou samčí párová pohlavní žláza, která je velmi citlivá na tlak. Ve varleti se tvoří pohlavní buňka zvaná spermie a hormon, který se nazývá testosteron. Každý druh má různou velikost a hmotnost varlete. Velká varlata se nachází u kanců, která jsou dlouhá 12-15 cm a jejich hmotnost dosahuje až 1200 g (Marvan et al., 2003).



Obrázek 1 - varlata kanců

(https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=17&typ=html)

3.1.2 Nadvarlata

Nadvarlata (latinsky *epididymis*) je orgán, ve kterém se shromažďují a dozrávají spermie. Vývodné kanálky varlete se spojují do jednotného vývodu, který u kance měří 50 m (Jelínek et al., 2003).

3.1.3 Chámovody

Chámovod (latinsky *ductus deferens*) vychází z ocasu nadvarlete a putuje tříselným kanálkem po stěně dutiny břišní do dutiny pánevní až na zadní plochu močového měchýře (Jelínek et al., 2003).

3.1.4 Šourek

Šourek (latinsky *scrotum*) je kožní vak, ve kterém se ukládají varlata kvůli nižší teplotě pro spermie. Šourek je vystlán tzv. vnitřní povázkou varlete, k níž zevnitř přirůstá nástěnný list poševního obalu, který vzniká vychlípěním útrobní pobřišnice a tato pobřišnice se vchlípí do šourku při sestupu varlat (Reece, 2011).

Šourek je důležitý termoregulační orgán a jeho teplota je o 3-5 °C nižší než tělesná teplota a je důležitou podmínkou pro adekvátně probíhající spermatogenezi (Musilová, 2019).

3.1.5 Přídavné pohlavní žlázy

Přídavné pohlavní žlázy (latinsky *glandulae genitales accesoriae*) se podílejí na tvorbě semene. Jejich sekrety, které jsou vylučovány do močové trubice vytvářejí přirozené ředidlo spermií a také obsahují látky, které slouží k výživě spermií a v poslední řadě upravují spermiím prostředí v průběhu průchodu močovou trubicí a v pohlavním ústrojí samice (Marvan et al., 2003).

3.1.6 Semenné váčky

Semenné váčky (latinsky *vesiculae seminales*) jsou párovou žlázou a produkují okolo 500 ml sekretu při ejakulaci. Semenné váčky mají jehlancovitý tvar a váží kolem 800 g a jsou dlouhé 15 cm. Každá žláza ústí samostatným vývodem do močopohlavního kanálku (Říha et al., 2003).

Sekrety ze semenných váček obsahují dostatečné množství cukrů, které jsou dobré pro spermie, dodávají jim vysoký podíl energie (Věžník et al., 2004).

3.1.7 Předstojná žláza

Předstojná žláza (latinsky *prostateae*) se též nazývá prostata. Leží na krčku močového měchýře a začátku močové trubice, do níž vyústí čtyřmi vývody. Sekret předstojné žlázy je vylučován při ejakulaci těsně před spermii a též současně s nimi. Hodnota pH se liší u různých zvířat, pokud zvířata produkují malý objem ejakulátu, tak

je pH mírně kyselé, když naopak produkují velký objem ejakulátu, tak je pH mírně alkalické. Naopak od semenných váčků neobsahuje cukry (Jelínek et al., 2003).

3.1.8 Cowperovy žlázy

Cowperovy žlázy (latinsky *glandulae Cowperi*) se nazývají také bulbouretrální žlázy, které leží na močové trubici před jejím výstupem z pánve. Největší jsou u kance, u dospělého kance dosahují velikosti cca 180 mm dlouhé a 50 mm široké a stejně vysoké. Sekret má želatinózní charakter a je vylučován nejčastěji na konci ejakulace a vytváří u prasnice vaginální zátku v děložním krčku, která má zabránit zpětnému výtoku semene (Jelínek et al., 2003).

3.1.9 Pohlavní úd

Neboli pyj (latinsky *penis*) je kopulační orgán, v kterém je uložena močová trubice. Močovou trubicí prochází moč a semeno. U kance se penis stáčí v esovitém ohbí, což způsobuje, že neztopořený penis má esovitý tvar. Při erekci dochází k natažení pyje. Dále se na pyji nachází předkožka, což je vchlípená kožní duplikatura, která chrání volnou část pyje (Reece, 2011).



Obrázek 2 - Pyj

(https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=17&typ=html)

3.2 Spermatogeneze a semenná plazma

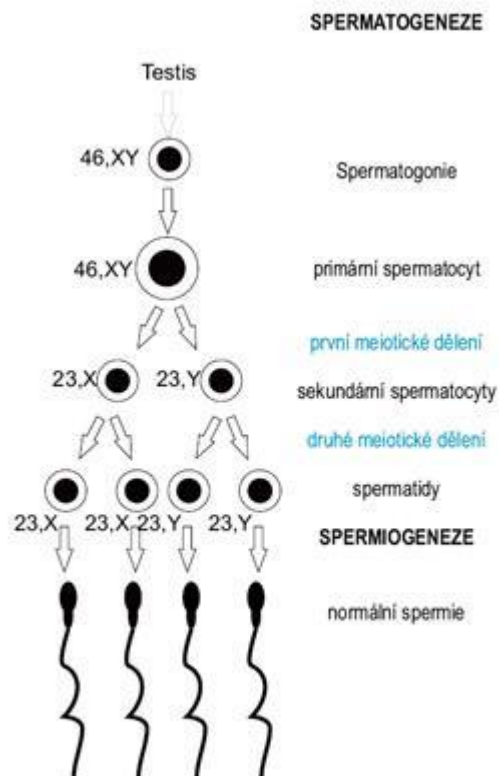
3.2.1 Spermatogeneze

V průběhu spermatogeneze se vyskytují dva typy dělení, a to mitóza a meióza. Mitóza je dělení buněk, při kterém každá nová buňka zůstává diploidní, což znamená, že má $2n$ počet chromozómů naopak meióza má poloviční počet chromozómů, tedy n počet. Což znamená, že zralá spermie má poloviční počet chromozómů (Reece, 2011).

Sperma je tvořeno spermii a semennou plazmou. Spermatogeneze probíhá kontinuálně v průběhu celého reprodukčního období života. V počáteční etapě dochází k vyššímu obsahu nezralých spermií v důsledku toho, že spermatogeneze ještě nemá pravidelný cyklický charakter. Při dosažení pohlavní dospělosti dochází už k pravidelnému cyklickému charakteru. K cyklům dochází v pravidelných časových intervalech, ale každý cyklus začíná o $\frac{1}{4}$ délky cyklu později než ten předcházející. Délka jednoho cyklu u kanců je 54 dní. Proces spermatogeneze můžeme rozdělit na období rozmnožování, růstu, zrání a metamorfózy. V období rozmnožování dochází k opakovanému mitotickému dělení původních kmenových buněk – A spermatogonií. V období růstu spermatocyt I. řádu zvětšuje svůj objem. Na to navazuje období zrání, které je charakterizováno dvěma po sobě následujícími děleními a výsledkem je redukce počtu chromozómů na polovinu a v posledním období metamorfózy dochází, že se okrouhlá a nepohyblivá spermatida mění na štíhlou, kopinatou a pohyblivou spermii (Jelínek et al., 2003).

Na obrázku č. 3 je podrobně vidět proces spermatogeneze. V první fázi je spermatogonie, což jsou malé kulovité nebo tlakem sousedních buněk lehce facetované elementy, které se mitoticky dělí. Následují primární spermatocyty I. řádu, které jsou ze všech semenných buněk nejnápadnější a nejpočetnější. Jsou to velké kulovité buňky s nápadně světlou cytoplazmou. Poté dochází už k prvnímu meiotickému dělení. Další částí spermatogeneze jsou sekundární spermatocyty II. řádu, které jsou mnohem menší než buňky primární, spermatocyty. Po krátké interfázi vstupují do druhého meiotického dělení. Následně vznikají spermatidy, které jsou ze semenných buněk nejmenší, nachází se na luminální straně zárodečného epitelu v záhybech apikální plazmalemy Sertolihových buněk, kde se mění na spermie. Před

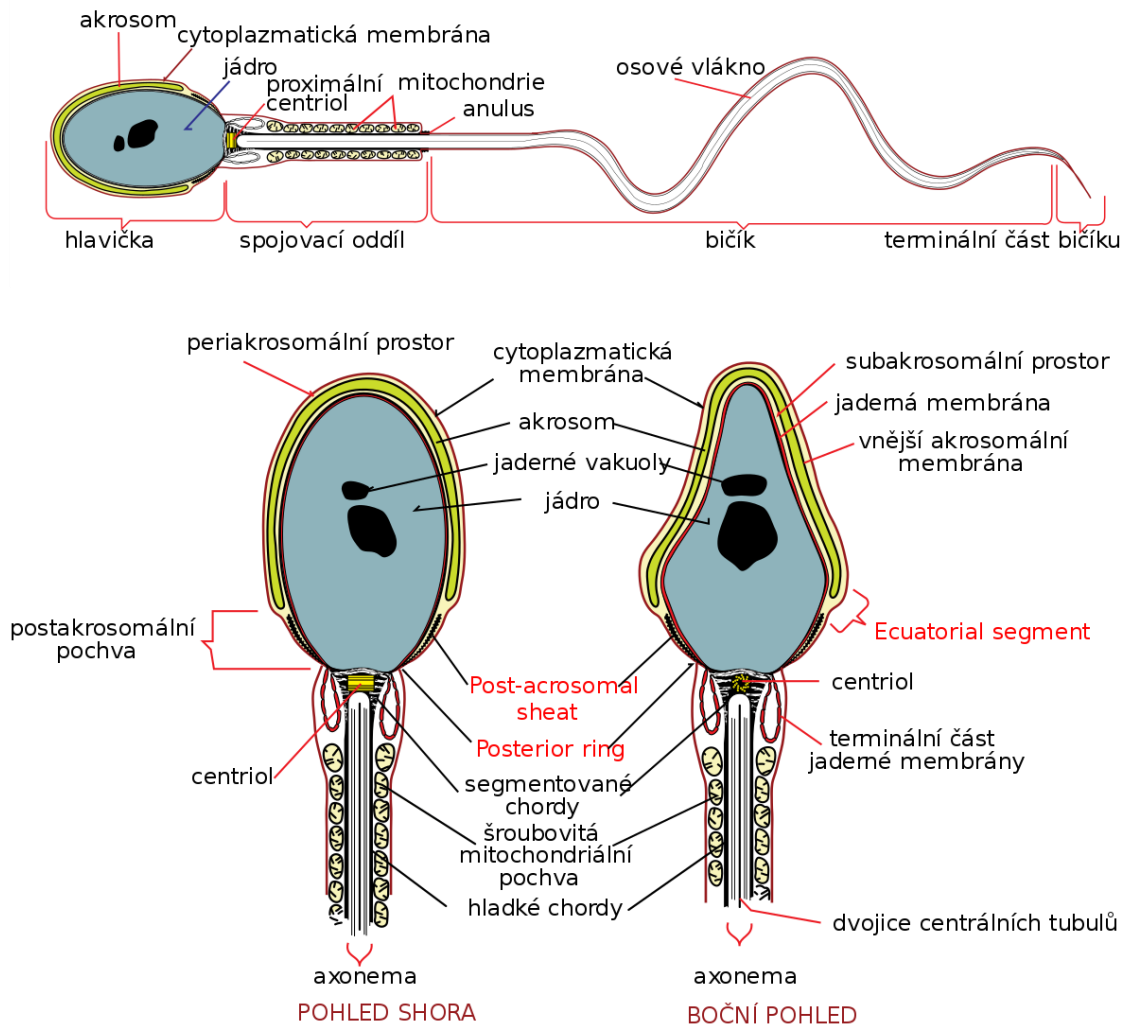
vznikem spermií ještě probíhá spermiogeneze, což je období cytodiferenciace spermatid ve zralé spermie (https://www.wikiskripta.eu/w/Zárodečné_buňky).



Obrázek 3 - Spermatogeneze (https://www.wikiskripta.eu/w/Zárodečné_buňky)

3.2.1.1 Spermie

Hlavním sledovaným znakem spermie je pohyblivost a schopnost oplození. Jejich délka je kolem 50 micrometrů. Spermie se skládá z hlavičky, spojovacího oddílu a bičíku. Hlavička je oploštělá, oválného tvaru a její přední část je krytá čepičkou tzv. akrozomem. Akrozom je složen z mukopolysacharidů a obsahuje četné enzymy, které jsou potřeba při pronikání spermie do vajíčka a jeho oplození. Bičík představuje pohybové ústrojí spermie, s hlavičkou je bičík spojený pře proximální centriol tzv. krček. Bičík se skládá ze spojovacího, hlavního a koncového oddílu. V hlavním oddílu bičíku je podkladem osové vlákno obklopené nesegmentovanými chordami a obalené fibrózní pochvou z homogenní a silně kontrastní hmoty. Celá spermie je pokrytá nepřerušovanou dvouvrstevnou cytoplazmatickou membránou (Jelínek et al., 2003).



Obrázek 4 - Spermie (<https://cs.wikipedia.org/wiki/Spermie>)

- Morfologicky abnormální spermie

- jsou to všechny spermie, na kterých se vyskytují vady odlišující hodnocenou spermii od morfologicky normálního stavu. Jedná se o vady běžné a vady fyziologické. Vady běžné jsou označovány jako patologické a vady fyziologické, které se do patologických nezapočítávají. Morfologicky abnormální spermie se sledují z důvodu, že mají významný vliv na výsledky inseminace. Některé vady také mohou odhalit špatný zdravotní stav kance, nebo jeho přetěžování. Vliv na morfologicky abnormální spermie mohou mít vysoké letní teploty nebo zkracující se fotoperioda (Lipenský et al., 2014).

3.2.1.2 Semenná plazma

Semennou plazmou se nazývají sekrety přídatných pohlavních žláz při ejakulaci, které se smísí se spermii a tekutinou nadvarlete a vznikne semeno. Semenná plazma je bohatá na elektrolyty, fruktózu, vitamín C a další vitamíny (Reece, 2011).

V inseminaci prasat se semenné plazmě nevěnuje tolik pozornosti. Dáváme pozor na přimísení krve nebo hnisu, ale ne na komponenty plazmy z pohledu její kvality. Komponenty semenné plazmy uvádí do pohybu imunitní endometriální odpovědi, mění pozitivně vývoj embryí a ovulace, vývoj žlutých tělísek a produkci hormonů vaječnicků (Čeřovský, 2007).

3.3 Reprodukce prasnic

3.3.1 Plodnost

Plodnost můžeme nazvat jako nejdůležitější vlastností chovu prasat a obecně všech hospodářských zvířat. Avšak plodnost je vlastností nízce dědivou (koeficient heritability je do 0,2), a proto na ni mají veliký vliv vnější faktory.

Plodnost se dělí na potenciální a skutečnou. Potenciální znamená, že prasnice je schopna uvolňovat vajíčka bez ohledu na jejich další vývoj. Během říje uvolní 14–25 vajíček. Naopak skutečná je vyjádřená počtem narozených selat a je ovlivněna počtem zralých a uvolněných vajíček, pohotovostí a schopností k páření, možností oplodnění, počtem oplozených vajíček, embryonálním vývojem, úmrtností a ztrátami selat během porodu (Stupka et al., 2013).

3.3.1.1 Vnitřní faktory ovlivňující plodnost prasnic

Plemeno – moderní plemena prasat jsou charakteristická rychlým růstem, díky tomu dosahují vysoké hmotnosti ve velmi raném věku. Dále je pro ně typický rychlý vývoj reprodukčních orgánů a tím dosažení nižšího věku při 1. zapuštění (Václavková et al., 2009).

Ve studii Vesseur et al. (1994) bylo zjištěno, že délka intervalu mezi odstavením a zapuštěním je výrazně delší u čistokrevných plemen než u hybridů.

Mateřská plemena prasat se vyznačují vysokou plodností, přežitelností vysoko početných vrhů. Dále se vyznačují vlastnostmi, které se nedají změřit, pouze vizuálně

vyhodnotit, jako je chování prasnic před porodem a během porodu, nebo v průběhu sání selat při stresových situacích (Wahner, 2010).

Věk – např. prasničky mají méně početné vrhy, více nevyrovnané, vyšší rozdíly v porodní hmotnosti selat a vyšší počet mrtvě narozených selat než prasnice na 3. – 5. vrhu (zootechnika.cz/clanky/Chov-prasat/reprodukce-prasat/plodnost-prasat.html).

Optimální věková struktura ovlivňuje dosahovanou užitkovost. 1. a 2. vrh bývá většinou rizikový, protože počet narozených selat schopných odchovu a ztráty selat během kojení jsou značně kolísavé. Od 6. vrhu stoupá počet mrtvě narozených selat, jelikož délka porodu u nich je delší než u mladších vrhů. Ročně by se mělo vyřazovat kolem 30-40% stáda. S dlouhověkostí také souvisí věk a vývin prasniček, prasničky by se měli zapouštět ve věku 210-230 dnů o hmotnosti 130-140 kg (Stupka et al., 2013).

Délka mezidobí – optimální doba mezidobí se pohybuje mezi 150–160 dny, což je 2,2–2,4 vrhů na prasnici a rok, pokud se délka mezidobí prodlouží, tak dochází ke zkrácení počtu vrhů na rok a tím je ovlivněna plodnost prasnic (http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=499&typ=html).

3.3.1.2 Vnější faktory ovlivňující plodnost prasnic

Výživa – Počet narozených selat lze ovlivnit výživou prasnic a prasniček před zapuštěním tzv. flushing. Je to účinnější způsob ovlivnění počtu uvolněných vajíček při ovulaci než výživou prasniček po zapuštění. Flushing je energetický náraz, což znamená, že se prasnicím dá vyšší dávka krmiva či krmné doplňky ve formě vitamínů, čímž dosáhneme lepší a výraznější říje (Čeřovský et al., 2012).

Nedostatečná výživa a příjem energie v průběhu laktace má za následek prodloužení intervalu od odstavu do říje, menší procento zabřezávání a nižší přežitelnost embryí (Malášek, 2012).

Klimatické podmínky – v České republice se setkáváme v letním období s výrazně vysokými teplotami na porodnách a jalovárnách. Vysoké teploty vedou k těžším porodům, zvýšenému zalehávání selat, více mrtvě rozených selat, nižšímu příjmu krmiva a vyšší mortalitě prasnic (Malášek, 2012).

Na porodnách se musí teplota uzpůsobovat prasnicím a selatům. Prasnicím stačí teplota okolo 16-22 °C, ale naopak selata vyžadují teplotu po narození okolo 28-32 °C (Ochodnický et al., 2003).

Chovné prostředí a intenzivní ošetrovatelská péče – tady se jedná především o kubaturu a dispoziční uspořádání stájí, ventilaci, režimy krmení a napájení, ošetřování zvířat apod (Stupka et al., 2013).

3.4 Odběr ejakulátu a jeho zpracování

3.4.1 Odběr a hygiena při odběru semene

Podle Čerovského (2007) jako velkou změnu v odběru spermatu od kanců v inseminaci je opuštění techniky odběru na umělou vagínu zachycenou ve fantómu nebo drženou v ruce technikem. Zavedení odběru fixací penisu rukou chráněnou sterilní rukavicí z nespermicidního materiálu zvýšilo kvalitu odebraného semene hlavně z důvodu minimalizace bakteriálního znečištění.

Jednou z nejstarších metod odběru semene od kance je pomocí umělé pochvy, ale nyní je nejrozšířenější odběr manuální fixací. Při manuálním odběru lze oddělit jednotlivé frakce ejakulátu. Při manuálním odběru se první frakce nezachycuje, jelikož je chudá na spermie. První frakce je mírně zakalená a obsahuje zrna hlenu. Druhá frakce je mléčně bílá a tato frakce se už zachycuje. Pospermiová frakce je zrakem rozpoznatelná, jelikož její barva je šedě bílá. Z tohoto hlediska je manuální odběr velmi vhodný, nejen k získávání jednotlivých frakcí, ale také můžeme posoudit celý proces ejakulace kance (Gamčík a Kozumplík et al., 1992).



Obrázek 5 - odběr ejakulátu (https://cs.wikipedia.org/wiki/Prase_domáci)

3.4.2 Vizuální hodnocení semene

Hodnotí se zejména, jak kvantita, tak kvalita spermatu. Při kvalitě spermatu se hodnotí koncentrace, motilita a morfologie. Měření koncentrace spermií je prováděno spektrofotometricky, její předností je rychlost stanovení. Avšak při spektrofotometrii může docházet k chybě způsobenou zákalem nebo zbarvením semenné plazmy. Pohyblivost spermií by měla být nad 60 %, i když se neprojevila ve zvýšené schopnosti pronikání spermií do vajíček. Hodnocení pohyblivosti je na technickovi v laboratoři a jeho oku. Vysoké procento morfologicky abnormálních spermií souvisí se sníženou fertilitou a negativní změnou ve složení semenné plazmy (Čeřovský, 2007).

Broekhuijse et al. (2011) ve své studii zkoumal pohyblivost semene a zjistil, že v jednotlivých měsících nedochází k výrazným změnám. Nejvyšší výsledky pohyblivosti byly zaznamenány v březnu a květnu a nejnižší naopak v červenci a srpnu, ale rozdíl nebyl významný.

Ukazatele, které by se měly hodnotit po odběru semene jsou výchozí ukazatele spermatu, ukazatele přežitelnosti spermií, souhrnné ukazatele, doplňkové ukazatele, reprodukční znaky a ostatní ukazatele (Smital, 2002d).

Výchozí ukazatele spermatu – objem spermatu (ml), koncentrace spermií (tis./mm³), aktivita spermií (%), abnormální spermie (%),

Ukazatele přežitelnosti spermií – aktivita spermií po 24 hod. (%), aktivita spermií po 48 hod. (%), aktivita spermií po 72 hod. (%),

Souhrnné ukazatele – počet všech spermií (miliarda), počet využitelných spermií (miliarda),

Doplňkové ukazatele – frekvence odběrů (den), věk kanců (měsíc),

Reprodukční znaky – procento březosti po 1. inseminaci, počet všech narozených selat, počet selat narozených živě,

Ostatní ukazatele – index vlastní užitkovosti, index výkrmnosti a jatečné hodnoty potomstva (Smital, 2002).

3.4.3 Ředění a konzervace semene

3.4.3.1 Ředění semene

Ředění kančího sperma je hlavně z důvodu zvýšení objemu a tím většího počtu inseminačních dávek a také z důvodu dodání výživných a ochranných látek spermiím. Na ředění můžeme používat tři druhy ředících roztoků, a to ředidla ze skupiny extendorů, protektorů a ředidla označována jako implementory. Extendory se používají jenom pro zvětšení objemu spermatu. Pro uchování spermatu po dobu 72 hodin a déle se používají ředidla typu protektorů a ty též poskytují i živiny pro spermie. A implementory jsou protektory, ale navíc mají v sobě přidané látky, které dobře působí na pohlavní orgány prasnic. Škála ředidel se celosvětově zmenšuje a existuje už jen několik, které mají pro inseminační průmysl smysl. Ředidla mohou plnit i další řadu funkcí jako depozitář živin a energie, ochrana spermií proti teplotnímu šoku, regulace škodlivých vlivů a kolísání pH. (Smital, 2001a).

Do ředidel byla také používaná celá řada antibiotik, aby zamezila bakteriovému nárůstu v ředidle, jelikož kančí ejakuláty mají sklon se kontaminovat bakteriemi během procesu odběru. Nyní se na trhu nenachází žádné antibiotikum, které by úspěšně působilo na všechny bakterie. Nejoblíbenější antibiotika, která se dnes používají v prasečích ředidlech jsou gentamicin, lincomycin, neomycin a spectinomycin. Tři nejoblíbenější ředidla jsou BTS (Beltsville Thaw Solution) dnes již s názvem Solution Bio +, Modena, a MR-A. (Smital, 2001b).

Ředidla se skládají z cukrů, proteinů a lipoproteinů, pufrů, kryokonzervačních přísad a činidel, každé ředidlo má různou skladbu, ale ve většině případů jsou charakterizována nízkou koncentrací glycerolu (Smital, 2002d).

3.4.3.2 Konzervace semene

Při konzervaci spermatu dochází k zastavení pohybu spermií a jejich metabolismus je omezen na nejnižší míru. V průběhu konzervace hlavně nesmí dojít k poškození povrchových membrán a akrozomálního systému spermií, aby nebyla porušena oplozovací schopnost spermií (Smital, 2001a).

Konzervaci dělíme na krátkodobou a dlouhodobou. Při **krátkodobé konzervaci** dochází ke snížení stavu teploty okolo 16 °C a velkou roli hraje vhodné složení ředidel. Krátkodobá konzervace je nejvíce používanou variantou při inseminaci prasat, ale musí být na ni použito nejkvalitnější ředidlo, která umožňuje uchovávat inseminační dávky 3 dny a déle. Při krátkodobé konzervaci mají vliv na plodnost 3 faktory, a to kvalita spermatu, počet spermií v jedné inseminační dávce a typ ředidla. Při **dlouhodobé konzervaci** dochází ke zmrazení spermatu. Nejpoužívanější metodou je metoda Beltsvillská v peletách, a nebo metoda Hulsenberg v pejetách. V obou případech jde o zmrazení spermatu v zahuštěné formě. Dlouhodobá konzervace není u kanců tolik rozšířená jako u skotu. Nevýhoda dlouhodobé konzervace je, že je daleko pracnější, nákladnější a náročnější na čas, a především je spotřeba spermií minimálně dvojnásobná v jedné inseminační dávce (Smital, 2001a).

V dalším článku Smital (2002a) uvádí, že pouze 1 % ze všech inseminací je prováděno zmrazením a následně rozmrazením spermatu. Tento způsob zmrazení spermatu se využívá především pro zušlechťování genetické základny v jednotlivých zemích či stádech importem spermatu z jiné země.

Pokud se provádí dlouhodobá konzervace, tak se začne snižovat teplota roztoku spermií a ředidla a postupně se začne tvořit led. Vnitrobuněčný obsah spermií je ještě po nějakou dobu kapalný, protože membránové systémy blokují rozšíření ledu. Při dalším poklesu teploty podchlazená buněčná voda v reakci na zvýšený diferenční osmotický tlak proniká mimo buňku a mrzne. Když inseminační dávku rozmrazujeme, tak pomalé rozmrazování způsobuje růst drobných krystalků ledu, a tudíž je vysoká rychlost zahřívání důležitá pro přežitelnost spermií po rozmrazení (Smital, 2002d).

3.5 Faktory ovlivňující plodnost kanců, kvalitu ejakulátu a následně kvalitu inseminační dávky

Hlavní důvodem chovu kanců je produkce vitálních spermií, které jsou schopné oplodnit vajíčka prasnice. Neplodní kanci mají špatný vliv na reprodukční užitkovost

stáda. Správné ošetřování a zacházení s plemennými kanci má optimální vliv na plodnost celého stáda. Velký vliv na jejich dlouhověkost a jejich libido má také manipulace a výcvik kanců na ISK (Smital, 2001b).

3.5.1 Vnější faktory

3.5.1.1 Výživa

Výživa je velice důležitá, jelikož jako hlavní faktor pro vyřazování kanců z plemenitby je nadměrná tělesná hmotnost. Při vyšší tělesné hmotnosti mají kanci problémy s končetinami a libidem. Při tělesném stresu potřebují kanci více krmiva, každý stupeň pod 20 °C znamená zvýšení krmné dávky o 99-198 g na den (Smital, 2001b).

Vědci zjistili, že existuje gen s výrazným vlivem na apetit, který byl poprvé popsán na myších. Vědci z PIC začali zkoumat, jestli tento gen existuje také u prasat a zda se také u prasat objevují různé alely tohoto genu. PIC zjistila, že gen MC4R se nachází na chromozomu 1 a genetický kód genu má dvě verze, které se liší pouze v jediné bázi. Tento gen dostal označení „PICmarqTMPT1“. Gen působí na apetit prasat a ovlivňuje libovou svalovinu, konverzi krmiva a přírůstek. Tento gen lze zjistit pomocí analýzy DNA, kdy zjistíme, zda mají prasata nízký nebo vysoký apetit (Smital, 2002b).

Ve výživě kanců hrají důležitou roli hlavně bílkoviny, při nedostatku bílkovin, hlavně esenciálních aminokyselin může dojít k poruše spermatogeneze. U mladých kanců to může mít vliv na pomalý vývin varlat (Gamčík a Kozumplík et al., 1992).

Požadavky na živiny v krmivu záleží na věku, kondici, prostředí, ve kterém je chován a na frekvenci odběru ejakulátu kance. Výživa ovlivňuje libido kance a množství a kvalitu ejakulátu. Základní složení krmné směsi pro kance je oves, pšenice, ječmen, sójový extrahovaný šrot, krmné kvasnice a sušené mléko. Lze tuto směs doplnit okopaninami nebo zelenou pící. Pro dobrý stav končetin je důležitý dostatek zinku a biotinu. Množství krmné dávky na den je 2,5 kg, při vyšší frekvenci odběru lze dávku zvýšit o 0,5 kg. Krmivo by se mělo zkrmovat 2x denně a mít neomezený přístup k nezávadné vodě. Kompletní krmná směs pro plemenné kance by měla dosahovat 12 MJ ME/kg. Obsah dusíkatých látek do 170 g a důležité aminokyseliny jsou lyzin,

methionin a cystein. Methionin a cystein hrají důležitou roli při spermiogenezi (Václavková, 2013).

3.5.1.2 Délka skladování inseminačních dávek

BTS (Beltsville Thawing Solution) udělalo experiment na vliv parametrů kance a spermatu na pohyblivost a integritu akrozomu semene skladovaného po dobu pěti dnů. Pohyblivost a integrita akrozomu byly hodnoceny po dobu skladování 6,30,54,78 a 102 hodin při skladovací teplotě 16-18 °C. Vybrali si 90 ejakulátů od 76 kanců ve věku 12-24 měsíců. Před vyšetřením byly vzorky spermatu po dobu 30 minut ve vodní lázni o teplotě 35 °C. Pohyblivost byla hodnocena pomocí mikroskopu, kde byla pohyblivost vyjádřena jako procento progresivně pohyblivých spermií. Integrita akrozomu byla hodnocena pomocí barvení dichromatic Spermac a výsledkem bylo procento spermií s normální akrozomální morfologií. Po 6 hodinách bylo procento pohyblivosti 79,8 % až do 54 hodin skladování nedošlo k výraznému poklesu, pohyblivost se držela na 79,3 %, po dobu skladování 78-102 hodin byla pohyblivost 78,3 %. Naopak integrita akrozomu po 6 hodinách skladování byla 93,9 %, po 30 hodinách 90,6 % a po 102 hodinách 78,2 %, takže tady došlo k výraznému poklesu (Kommissrud et al., 2002).

3.5.1.3 Teplota

Tepelný stres způsobuje u kanců vyšší výskyt abnormálních spermií, sníženou pohyblivost spermií a nižší objem spermatu. Projevy na tepelný stres se začínají projevovat po 7-14 dnech a kvalita spermatu se vrací do normálu až po 5-8 týdnech. A trvá to tak dlouho, jelikož tvorba spermií ve varlatech trvá 35 dnů a jejich průchod nadvarlaty trvá dalších 10 dní. Normální pohyblivost spermií u kanců je do teploty 27-29 °C, pokud teplota vystoupá nad 29 °C, tak dochází ke snížení pohyblivosti spermií (Smital, 2001b).

3.5.1.4 Vliv ročního období

Někteří autoři uvádějí, že vliv ročního období nemá na plodnost kance vliv, ale naopak někteří zase uvádí, že se v horkých letních měsících snižuje pohlavní potence a zhoršuje se kvalita spermatu. Jde o to, že zvýšení teploty způsobuje projevy

v biochemickém složení krevního séra a tím to ovlivní plazmu spermatu a následně dojde ke snížení oplozovací schopnosti spermií. Byla na to vydána rada, že stačí mít dostatečný větrací systém, ale prokázalo se, že i v chovech s dobrým větracím systémem vliv ročního období měl vliv na plodnost kance (Smital, 2002c).

Ve studii provedenou Zasiadczyk et al. (2014), která byla schválena etickou komisí, vliv fotoperiody na sexuální aktivitu kance porovnávali tři plemena: švédská Landrace, Large White a Duroc. Pro analyzování sexuální aktivity byl použit index libida a intenzita ejakulace. Index libida byl zjištěn poměrem mezi dobou ejakulace a dobou přípravy na ejakulaci a intenzita ejakulace byl objem ejakulátu v ml vylučovaný v minutách. Fotoperioda byla analyzována jako účinek trvání denního světla 12 hod. a 12 hod. ve dvou intervalech, a to zvyšujícím a snižujícím. Kde zvyšující interval trval od začátku zimy do pozdního jara a snižující od začátku léta do pozdního podzimu. Libido a intenzita ejakulace se měnily pod vlivem fotoperiody a plemene kance. Ve výsledku kanci projeví lepší libido, když denní světlo trvalo déle než 12 hodin v obou intervalech, největší rozdíl byl zaznamenán mezi zimním a letním obdobím. Naopak objem ejakulátu a intenzita ejakulace byla vyšší, když bylo denní světlo kratší než 12 hodin, ale jen ve snižujícím intervalu (Savic et al., 2015).

Další studie říká, že bylo prokázáno, že reprodukční sezónnost ovlivňuje kvalitu kančího spermatu. Vzorky byly odebírány říjen až březen a duben až září. Sezónní rozdíly byly pozorovány hlavně v objemu ejakulátu. Výrazně vyšší koncentrace spermií a celkový počet spermií byl pozorován v období podzim-zima (Zasiadczyk et al., 2015).

Ve studii, kterou provedl Smital (2008) se zabývá také vlivem sezónnosti, kde uvádí, že objem spermatu má klesající tendenci až do dubna, kdy dosahuje okolo 231 ml a poté objem narůstá až do listopadu, kdy dosahuje 280 ml. Naproti tomu koncentrace je nejnižší v září a nejvyšší v průběhu března až dubna. Progresivní pohyb spermií a abnormální spermie se v průběhu roku mění jen málo. U celkového počtu spermií byly minimální hodnoty zaznamenány v srpnu a maximální v prosinci až v lednu.

Tabulka 1 – vliv sezónnosti na jednotlivé parametry (Smital, 2007)

Měsíc	Objem spermatu (ml)	Koncentrace spermií (mm^{-3})	Progresivní pohyb spermií (%)	Abnormalit a spermií (%)	Počet spermií celkem
Leden	252,69	461,16	74,91	9,85	112,54
Únor	240,99	461,00	74,95	9,97	107,63
Březen	233,57	467,81	75,23	10,00	105,83
Duben	231,37	467,13	75,43	9,99	104,73
Květen	238,61	453,3	75,4	9,98	104,04
Červen	243,71	440,26	75,3	10,37	102,67
Červenec	245,18	436,78	75,2	10,46	102,37
Srpen	249,21	425,24	75,22	10,5	101,18
Září	260,96	413,85	75,28	10,86	102,41
Říjen	274,37	423,03	75,52	10,94	109,53
Listopad	280,41	429,79	75,64	11,15	113,27
Prosinec	275,76	443,97	75,78	11,23	115,5

Z tabulky č. 1 můžeme vyčíst, že největší objem spermatu je v listopadu a nejmenší v dubnu. Takže u objemu spermatu má vliv sezónnost. Největší koncentrace spermatu je v březnu a nejmenší v září, tady nemůžeme s jistotou říct, že má na koncentraci vliv sezónnost (Smital, 2008).

Rodriguez et al. (2017) přepokládá ve své studii o klimatických podmínkách kanců, že pokud jsou kanci drženi pod přirozeným světlem a doplnění umělým světlem po dobu 15 hodin denně od 11 týdne věku do puberty (24-26 týden věku), mají rychlejší sexuální zrání a vyšší libido než kanci, kteří jsou ustájeni pouze pod přirozeným světlem. Dále zkoumal, jaký má vliv světlo a tma na objem spermatu a zjistil, že když jsou dospělí kanci vystaveni, buď 24h umělého světla nebo tmy, tak to mělo negativní vliv na objem spermatu.

3.5.2 Vnitřní faktory

3.5.2.1 Pohlavní dospělost

Doba, kdy se začínají tvořit pohlavní buňky, což znamená plnohodnotný cyklus. U kance se pohlavní dospělost pozná zařazením kance do plemnitby. První projevy dospělosti kanec vyznačuje již ve 4-6 měsíci, ale do plemnitby se zařazují až v 9-10 měsíci

(https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=17&typ=html).

Podle Smitala (2001b) šesti – až sedmiměsíční kanci vypadají jako pohlavně dospělí, ale jejich schopnost produkovat spermie se ještě vyvíjí. Od 6ti měsíců je produkce spermií nízká, ale zvyšuje se až do 3-4 let. Vliv věku kance na velikost vrhu nebyl zatím prokázán.

V publikaci Smital (2002b) uvádí, že z hlediska využívání kanců v inseminačních stanicích se k jejich věku vztahují tři základní problémy. Jedním z nich je minimální věk při zahájení pohlavního využívání kanců. Další je studium dynamiky změn plodnosti v průběhu života kanců a posledním je délka využívání kanců v inseminačních stanicích.

3.5.2.2 Frekvence ejakulace

Časté odebírání kance snižuje celkovou produkci spermií. Přetěžování kanců vede k tomu, že ztrácejí sexuální libido, ale existují i případy, kdy libido neztrácejí, ale jejich spermiová zásoba je vyčerpaná, kanci sice kopulují, ale neoplovní prasnici. Frekvence ejakulace je na chovateli a kanci, musejí si zvolit takovou frekvenci, aby bylo dosaženo maximální produkce inseminačních dávek a zároveň se přitom nesnižovala kvalita odebíraného spermatu (Smital, 2001b).

3.5.2.3 Období narození kance

Knecht et al. (2014) ve svém článku popsal vliv období narození kance na parametry spermatu. Zkoumal 72 kanců tří plemen, kde na nich za celý rok analyzoval objem spermatu, koncentraci spermií, celkový počet spermií, celkový počet pohyblivých spermií, počet inseminačních dávek, ale také reprodukční ukazatele jako březost, velikost vrhu, počet živých a mrtvých selat a průměrnou hmotnost selat. Ve výsledku došli k tomu, že kanci narození v zimních a letních měsících mají nejvyšší koncentraci spermií, celkový počet spermií, celkový počet pohyblivých spermií a počet inseminační dávky. Nižší hodnoty těchto parametrů byly vykážány na jaře a nejhorší parametry byly v období na podzim.

3.5.2.4 Plemeno

Plemeno způsobuje, že plodnost není stejná, rozdíly jsou, jak v kvalitě, tak v kvantitě kančího spermatu. Speciálně vyšlechtěná plemena masného typu mají

výrazně nižší plodnost než plemena méně ušlechtilá, která jsou spíše sádelného typu. Určení nejlepšího plemena z hlediska kvality spermatu je složité, jelikož existuje spousta dílčích ukazatelů a ani jedno plemeno nevyniká ve všech ukazatelích. Dle studie Pinarta a Puigmulé (2013) se z hlediska objemu spermatu řadí na první místo plemeno české bílé ušlechtilé a plemeno landrase, která mají v průměru objem okolo 270 ml, následuje plemeno pietrain s objemem 250 ml, dále plemeno hampshire s 220 ml a nejnižší objem spermatu je získáván od plemene duroc okolo 180 ml. Ale naopak se podle Klimenta (1986) plemena duroc a hampshire vyznačují výrazně vyšší koncentrací spermií oproti ostatním plemenům.

Podle Smitala (2001b) v jeho sedmileté studii, kde zkoumal nejlepší produkci spermatu, vyjádřenou počtem inseminačních dávek z jednoho odběru, dosáhli nejlepšího výsledku kanci plemen švédská landrase, poté následovali plemena large white, přeštické černostrakaté, landrase, bílé ušlechtilé, pietrain, české masné, Hampshire, belgická landrase a jako poslední plemeno byl duroc. Pro porovnání švédská landrase z jednoho odběru měl 53,4 inseminačních dávek naopak plemeno duroc pouze 41,6 inseminačních dávek.

Ve studii pana Smitala (2008) byla porovnávána jednotlivá plemena a jejich vliv na kvalitu a množství kančního spermatu. Byla použita plemena: české masné prase, duroc, hampshire, landrace, large white, České large white a pietrain a různí kříženci těchto plemen. Hodnotil se objem, koncentrace spermií, progresivní pohyb spermií, abnormální spermie a celkový počet spermií. Maximální rozdíl mezi plemeny v objemu ejakulátu byl 95 ml. Rozdíl v koncentraci spermií byl $109 \times 10^3 \text{ mm}^{-3}$, u progresivní pohyblivosti spermií byl rozdíl 9 %. Rozdíl pro abnormální spermie byl nízký a to 1,6 %. Nejnižší celkový počet spermií mělo plemeno Duroc a nejvyšší celkový počet spermií mělo plemeno pietrain.

Tabulka 2 - Plemena a jejich parametry ejakulátu (Smital, 2008)

	Objem spermatu (ml)	Koncentrace spermií (mm^{-3})	Progresivní pohyb spermií (%)	Abnormální spermie (%)	Počet spermií celkem
České masné prase	249,79	456,33	80,4	10,64	109,78
Duroc	185,11	502,56	71,29	10,66	92,07
Hampshire	272,16	394,29	78,61	10,67	102,21
Landrace	264,7	430,84	74,69	10,96	108,53
Large White	267,34	405,65	75,96	11,82	103,07
České Large White	280,33	426,93	74,81	11,46	115,46
Pietrain	260,34	454,31	74,46	10,15	115,86

V tabulce č. 2 vidíme, že největší objem spermatu má české bílé ušlechtilé a nejmenší duroc, koncentraci má naopak největší duroc a nejmenší hampshire, v pohyblivosti spermií je nejhorší duroc, abnormální spermie se pohybují okolo stejné hodnoty a počet spermií celkem má opět nejmenší duroc. Takže vzhledem k plemenu bychom mohli říct, že nejhorší plemeno je duroc a nejlepší české bílé ušlechtilé (Smital, 2008).

Kondracki (2003) ve svém vědeckém pokusu zkoumal rozdíly plemene v charakteristikách spermatu u kanců používaných k umělé inseminaci. Pokus proběhl na plemenech polské velké bílé, polská landrace, welsh, německá landrace, hampshire, duroc, pietrain a linie 990. Z hlediska objemu bylo nejlepší plemeno welsh a také bylo nejlepší v procentu pohyblivosti spermií. Druhý nejvyšší objem ejakulátu byl pozorován u německých landrace. Naopak plemeno duroc mělo nejvyšší koncentraci spermií, ale naopak nejnižší objem ejakulátu, což vedlo k menšímu počtu inseminačních dávek. Plemeno pietrain má příznivé vlastnosti, má velký objem ejakulátu s vysokou koncentrací spermií a nejvyšším procentem progresivně pohyblivých spermií. Nejnižší koncentrace spermií byla pozorována u linie 990 a zároveň i nejnižší procento progresivně pohyblivých spermií. Ejakuláty od polských velkých bílých a polských landrace měli relativně vysoký objem, vyšší než u plemen duroc a hampshire, ale nižší než u německých landrace a welsh. Dále se vyznačují relativně vysokou koncentrací spermií a vysokým procentem pohyblivosti.

3.5.2.5 Velikost a hmotnost varlat

Velikost varlat má vliv na produkci spermií. Jak říká Smital (2001b), že v jednom pokusu po deseti generacích selekce produkovali kanci s většími varlaty více spermií oproti kancům s menšími varlaty a nezáleželo na tom, zda odběry byly prováděny denně po dobu tří týdnů nebo třikrát týdně po stejnou dobu.

Selekční pokusy dokazují, že kanci s velkými varlaty produkují více spermií v ejakulátu (Smital, 2002c).

Pavel Mezera (2002) ve svém článku píše, že selekce na hmotnost varlat ve 150 dnech věku ukázala, že kanci produkovali více spermií a měli větší varlata a vyšší hmotnost nadvarlat.

3.5.2.6 Kvalita spermatu

Schulze et al. (2018) ve své studii zkoumá vliv na kvalitu spermatu u 26 chovných kanců. Inseminační stanice ředí ejakulát třemi způsoby: jednokrokové, dvoukrokové a tříkrokové ředění. Jednokrokové ředění probíhá tak, že se spermie zředí izotermicky do 30 minut po odběru na konečný objem. Při dvoukrokovém ředění se sperma prvně naředí na 1:1 nebo 1:2 při teplotě 32 °C během 30 minut, a poté probíhá až izotermické ředění při teplotě 32 °C nebo podchlazení při teplotě 21-24 °C do 30 minut. Tříkrokové ředění je založeno na dvoukrokovém postupu k urychlení plnění dávek spermatu. Pokus byl prováděn po dobu 2 let s výjimkou letních měsíců. Každý ejakulát byl monitorován a vyhodnocen.

Tabulka 3 - vliv různých postupů ředění (Schulze et. al, 2018)

Vlastnosti	Jednokrokové ředění	Dvoukrokové ředění	Tříkrokové ředění
Mitochondriální aktivita v %	80,3	78,2	77,5
Celková pohyblivost v %	80,3	79,4	79,2
Celková pohyblivost v TRT1 v %	71,9	64,6	47,1
Celková pohyblivost v TRT2 v %	46,9	48,5	24,3

TRT1 – test tepelné odolnosti po 30minutové inkubaci při 38 °C

TRT2 – test tepelné odolnosti po 300minutové inkubaci při 38 °C

V tabulce č. 3 můžeme vidět, že jednokrokové ředění vychází nejlépe, a naopak nejhůře tříkrokové ředění, například u celkové pohyblivosti v TRT2 je změna jednokrokového ředění a tříkrokového ředění o 22 % (Schulze et. al, 2018).

3.5.2.7 Geny ovlivňující funkci steroidních hormonů - *CYB5A* a *HSD3B1*

Geny *CYB5* a *HSD3B* ovlivňují hladinu androstenonu, což je steroidní hormon produkováný Leydigovými buňkami umístěný ve varlatech. Stejnou fyziologickou cestou vzniká rovněž další pohlavní hormon testosteron. Hladina steroidních hormonů může mít vliv nejen na kvalitu a množství spermií, respektive ejakulátu, ale rovněž může ovlivňovat sexuální projevy kanců *libido sexualis*.

Gen *CYB5A* se nachází na chromosomu 1 a hraje důležitou roli v biosyntéze 5,16-androstenon-3 β -olu. Je na počátku syntézy androstenonu a testosteronu z pregnenolonu. Polymorfismy v genu *CYB5A* mohou vést ke snížení hladiny androstenonu u prasat. Polymorfismus c.-8G>T v genu *CYB5A* souvisí s hladinami androstenonu v tukové tkáni prasat a tím i se vznikem kančího pachu. Genotyp *GT* je spojen s nízkou hladinou androstenonu v séru a také nízkou hladinou skatolu v tukových tkáních. Nižší hladina androstenonu by mohla být následně příčinnou horší kvality ejakulátu nebo nižší přežitelnosti spermií. Ve studii Peacock et. al (2008) bylo pozorováno 1242 kanců o živé hmotnosti okolo 100 kg. Jednalo se o plemena duroc, hampshire, landrace, large white, large white/duroc, pietrain, sire line a yorkshire. Nejnižší hladina androstenonu byla pozorována u plemene pietrain u genotypu *GT*, a pak následuje plemeno Yorkshire u genotypu *T*. Při celkovém hodnocení zvířat byla nejvyšší hladina androstenonu zaznamenána u genotypu *TT*, následoval genotyp *GT* a nejvyšší hladina byla pozorována u genotypu *GG*. Celkově ze všech plemen má nejmenší hodnotu androstenonu genotyp *T*, potom genotyp *GT* a největší hladinu androstenonu má genotyp *G*.

Tabulka 4 - Hladina Androstenonu a skatolu podle plemene a genotypu CYB5A c.-8G>T (Peacock et. al, 2008)

Plemeno	Genotyp	Androstenon	Skatol
Duroc	GG	1,43	48,3
	GT	1,33	19,9
	TT	-	-
Hampshire	GG	0,74	98,8
	GT	1,33	113,3
	TT	0,9	57,4
Landrace	GG	0,6	75,2
	GT	0,48	39,6
	TT	0,31	88,5
Large White	GG	0,51	76,7
	GT	0,77	51,1
	TT	-	-
Pietrain	GG	0,39	64,8
	GT	0,26	47,6
	TT	-	-
Sire Line	GG	0,89	40,3
	GT	1,4	69,2
	TT	-	-
Yorkshire	GG	0,62	23,8
	GT	0,42	25,7
	TT	0,28	28,5

HSD (hydroxysteroid dehydrogenázy) jsou skupina enzymů, které se účastní biosyntézy steroidních hormonů. *HSD3B* se nachází na chromozomu SSC4 (Zadinová et. al, 2016). Rovněž působí na začátku syntézy steroidů z pregnenolonu. Dodnes bylo publikováno několik studií, které potvrdily vliv SNP v *HSD3B1* na hladinu androstenonu jednak v tukové tkáni a rovněž i v séru a plazmě. Prasata s vysokou koncentrací androstenonu v tuku mají nízkou hladinu *HSD3B1* v játrech a varlatech. Ve studii Kim et. al., (2013) sledovali gen *HSD3B1* u plemene Duroc a identifikovali 8 SNP, ale byla pouze tři SNP hodnocena, protože měla specifická místa vhodná pro restriční enzymy. Polymorfismus označený ve studii jako SNP5 má významný vliv na hladinu androstenonu s genotypem G, který má nejnižší hodnotu a v hodnotách ppm je na hodnotě 0,14, což je mnohem méně, než jsou typické hodnoty obsahu androstenonu v tuku 0,5 – 1 ppm.

Tabulka 5 – Hladina androstenonu a skatolu u SNP2, SNP5 a SNP8 (Kim et al., 2013)

	SNP 2			SNP 5			SNP 8		
	GG	GA	AA	GG	GA	AA	GG	GA	AA
Androstenon	0,65	0,59	0,7	0,35	0,76	0,67	0,78	0,47	0,44
Skatol	0,22	0,24	0,25	0,21	0,23	0,24	0,22	0,24	0,25

4 Metodika

4.1 Inseminační stanice kanců

Výsledky práce byly získávány z inseminační stanice kanců, která je součástí zemědělského podniku Vema, a. s, která sídlí v Srní u Hlinska v Čechách.

V zemědělském podniku je chováno 2500 prasnic, z toho 1750 prasnic a 750 prasniček. V této části firmy se nachází jalovárny, březárny a porodny prasnic. Selata odstavená ve 28 dnech odchází na další část firmy do Řestok.

V inseminační stanici je momentálně chováno 16 kanců, které pokryjí potřebu týdenního připuštění prasnic. Týdně je u nás připuštěno okolo 140 prasnic a prasniček.

Provoz inseminační stanice byl na farmě zahájen v roce 2004. Kapacita stanice je 21 kanců, kteří jsou ustájeni v samostatných kotcích. Kanci jsou ustájeni na betonové podlaze se stelivovým systémem. Ventilace je zajištěna, jak přirozenou ventilací, tak pomocí mechanické ventilace od firmy Big Dutchman.

V celém areálu je použit systém černobílého provozu, což znamená, že celý objekt je oplocen, u zaměstnanců probíhá hygienická smyčka a vjezd do objektu je přes dezinfekční vanu.

Krmení kanců probíhá každý den v 9 hodin a kanci jsou krmeny pouze 1x denně, obden probíhá vyklizení kotců od mrvy, poté se provádí nastlání slámou. V době krmení je také provedena kontrola zdravotního stavu kanců. Na stanici probíhá odběr kanců 4x týdně (pondělí, úterý, středa, pátek), aby byly inseminační dávky co nejčerstvější. Odběrová místnost se umývá po každém odběru vodou a následně je vydezinfikována prostředkem Virkon.

Pravidelně je také prováděna u kanců kontrola spárků a případné jejich ošetření.

4.2 Odběr a ředění ejakulátu

Před odběrem ošetřovatel připraví odběrovou místnost, nastaví výšku kozy pro daného kance a uzavře kotec z jedné strany, poté si dojde pro kance. Kanec zepředu naskočí na kozu a ošetřovatel kance očistí a poté začne provádět odběr ejakulátu. První frakci odebere na zem a druhou a třetí frakci do odběrového kelímku, v kterém je připravený odběrový sáček a filtry. Po provedení odběru, je ejakulát dán do laboratoře. V laboratoři, se odstraní filtry a ejakulát v odběrovém sáčku je hodnocen vizuálně, jako

je pach, barva a obsah příměsí. Po provedení vizuálního hodnocení je zjištěn objem ejakulátu na kuchyňských vahách. Následně je zjištěna koncentrace spermatu fotometricky pomocí přístroje. Poté se zjišťuje motilita spermatu pod mikroskopem pomocí kapky spermatu, která se nanese na předehřáté sklíčko a přikryje se krycím sklíčkem. Zjišťuje se procentické zastoupení spermií s pohybem vpřed. Patologické spermie nejsou u nás v laboratoři zjišťovány, jednou za měsíc jsou sklíčka se stěrem ze spermatu poslána do jiné laboratoře, kde nám určí patologické spermie. Po zhodnocení spermatu se sperma rozředí ředidlem o stejné teplotě jako je ejakulát, maximální rozdíl může být $\pm 1^\circ\text{C}$, v poměru 1:1 (objem:ředidlo). Poté se vyčká 5 minut, než se sperma rozředí a mezitím se vypočítá množství mililitrů, které je potřeba ke zředění celé dávky. Po 5ti minutách se daný počet mililitrů nalije do spermatu, a pak se plní inseminační dávky na 80 ml. Následně se každá inseminační dávka označí uvedením jména kance a datumem odebrání. Poté se dají do lednice o teplotě 17°C , kde se skladují maximálně 5 dní, ale většinou jsou do třetího dne zpracovány. Od každého kance se skladuje 1 inseminační dávka zvlášť a po 24 hodinách, 48 hodinách a 72 hodinách probíhá kontrola přežitelnosti spermií. Kontrola se provádí tak, že se inseminační dávka zahřeje a následně se dá jedna kapka na předehřáté sklíčko a je přikryta krycím sklíčkem, a poté se pod mikroskopem hodnotí přežitelnost, pokud je pohyblivost už horší, tak se to oznámí inseminačním technikům a musí ten den už inseminační dávky od daného kance zpracovat. Pro roční období jsem si rozdělila následující skupiny: Zima (leden, únor, březen), Jaro (duben, květen, červen), Léto (červenec, srpen, září), Podzim (říjen, listopad, prosinec).

4.3 Hodnocení ejakulátu

Pro hodnocení kvality spermatu byli použiti kanci, kteří na ISK působili celý rok 2020. Jejich data za rok 2020 jsou zpracována ručně do formuláře, který obsahuje jméno kance, datum narození, datum přisunu na ISK, plemeno a pak dále informace o samotném skoku (pořadové číslo, datum odběru, objem, aktivita spermií v %, koncentrace v 1cm^3 , patologické spermie v %, počet ID, přežitelnost po 24, 48 a 72 hod. a kdo odebíral daného kance. Data byla zpracována ze 468 odběrů od 10 kanců různých plemen jako jsou yorkshire, duroc, Topigs a od hybridů. V následující tabulce č.

6 jsou uvedeny počty odběrů od jednotlivých plemen kanců. Kanci byli ustájeni, ošetřováni, krmeni, odebíráni a hodnoceni ve stejných podmínkách.

Kanec Felix a Amigo jsou kanci plemene yorkshire, Čestů, Přemek, Franta plemene duroc, Henry, Jan a Jakub plemene Topigs a Gustav a Gek hybridní kombinace v práci označeno jako Hybrid.

Tabulka 6 - Počet odběrů od jednotlivých plemen kanců

Plemeno	Počet odběrů
Yorkshire	91
Duroc	134
Topigs	150
Hybrid	88

4.4 Hodnocení reprodukce ve stádě prasnic

Pro reprodukci prasnic jsou použita data z programu Cloudfarms. Pro tuto práci jsem si vybrala následující ukazatele, a to, pořadí vrhu, datum zapuštění, datum porodu, počet všech narozených selat, mrtvě narozených selat, počet mumii, délka laktace, datum odstavu, počet odstavených selat a jakým kancem byla prasnice připuštěna. Do hodnocení bylo zahrnuto 200 náhodně vybraných prasnic. Tyto prasnice byly připuštěny ID od sledovaných kanců (20 prasnic na 1 kance).

4.5 Hodnocení pohlavní dospělosti

Kanci na farmu se přivázejí v 5. měsíci věku a 14 dní se nechávají stát a nepřichází se s nimi do kontaktu. Ve věku 5 a půl měsíce se začíná dávat kancům do kotce koza, aby si na ni začali zvykat. Týden poté už chodí do kotce i technik, aby si zvykali i na jinou osobu. V 6 měsíci se začíná odebírat na zem a až v 7 měsíci se začíná odebírat do kelímku a ejakulát se poté hodnotí v laboratoři, ale inseminační dávky se z něho ještě nedělají. Inseminační dávky se z nich začínají dělat až v 8 měsíci věku, kdy by měla být produkce spermií vyšší. Podle Smital (2001) je v 6 měsíci produkce spermií nízká a postupně roste do 3-4 roku.

4.6 Hodnocení výživy kanců

Výživa kanců má veliký vliv na produkci a kvalitu spermií a na vyřazování kanců z plemenitby. Důležitou složkou jsou hlavně bílkoviny, který mají vliv na poruchu

spermatogeneze. Kancům dáváme dostatek vitamínů jako je vitamín C, B, E, dále pak zinek na lepší kvalitu kostí. Kompletní krmnou směs máme dodávanou od firmy ZZN Pelhřimov, plus se k tomu dodávají dané vitamíny, zinek a doplněk krmiva Vitamix.

Kancům musí být dodávány nejkvalitnější suroviny v krmné směsi. Při každé nové navážce krmné směsi děláme rozbory na kvalitu. Jelikož poslední roky není kvalitní obilí, tak nám vychází vysoký DON, a proto se musí přidávat do krmných směsí vyvazovač mykotoxinů.

4.7 Stanovení genotypu vybraných SNP

Vzorky DNA byly získány z ejakulátu hodnocených kanců. Izolace byla provedena pomocí izolačního kitu Genomic DNA Mini Kit (Blood/Cultured Cell). Po každé izolaci byla přítomnost DNA kontrolována pomocí elektroforézy na 1% agarozovém gelu. Pro stanovení konkrétního genotypu vybraných genů pomocí metody PCR-RFLP (polymerázová řetězová reakce – polymorfismus délky restrikčních fragmentů) byly využity primery a reakční podmínky dle publikací Kim et al. (2013) a Lin et al. (2005).

Sledovanými SNP jsou v případě genu *HSD3B1* g.165262G>A a v případě genu *CYB5A* se jednalo o SNP c.-8G>T

4.8 Statistická analýza

Výsledky byly vyhodnoceny ve statistickém programu SAS verze 9.2. procedurami Means a GLM. Výsledky asociační analýzy jsou v tabulkách prezentovány průměr, a významnost – p. Hladina významnosti byla zvolena $\alpha = 0,05$.

Pro hodnocení ejakulátu byl použit model s pevným efektem kance, genotypu a ročního období. Vybrané ukazatele byly hodnoceny ve vztahu ke kanci, ročnímu období a genotypu v genech *HSD3B1* a *CYB5A*.

Pro hodnocení reprodukce ve stádě prasnic byl využit model s pevnými efekty roku porodu, pořadí vrhu a kance. Reprodukční ukazatele byly hodnoceny ve vztahu ke kanci.

5 Výsledky faktorů ovlivňující kvalitu ejakulátu a ID

5.1 Výsledky hodnocení ejakulátu z pohledu kance

Vzhledem k vysokému počtu hodnocených skoků u jednotlivých kanců bylo možné provést asociační analýzu, kde byl hodnocen vliv individuality kance na jednotlivé ukazatele. Jak je vidět v tabulce č. 7 pro všechny hodnocené ukazatele byl potvrzen statisticky průkazný vliv kance.

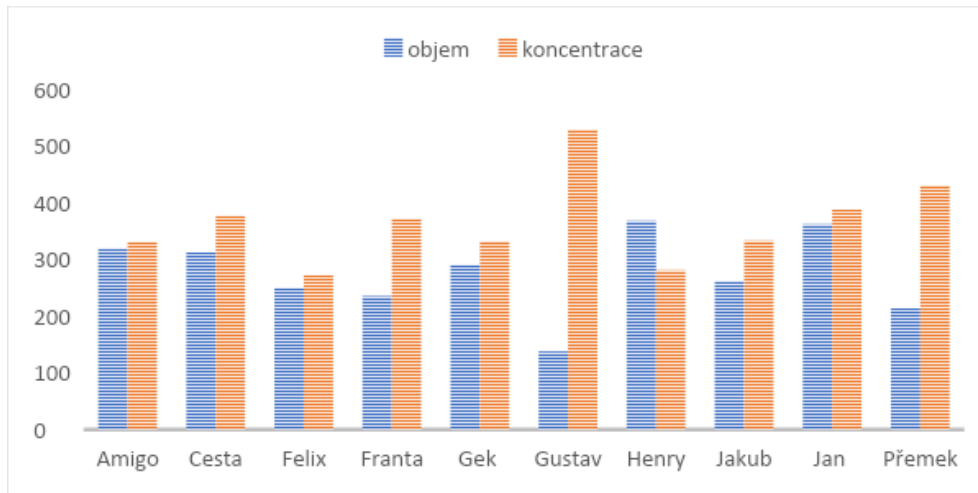
Tabulka 7 - Vliv kance na parametry ejakulátu pro tvorbu ID

	Kanec										
	Amigo	Čest'a	Felix	Franta	Gek	Gustav	Henry	Jakub	Jan	Přemek	P
Objem v ml	318.8	312.0	249.2	234.9	290.1	137.6	367.8	261.1	362.0	213.6	<.0001
Aktivita spermíí v %	82.8	83.8	76.9	83.0	82.9	83.4	84.0	84.0	82.1	83.9	<.0001
Koncentrace v 1cm ³	330.5	376.6	272.3	371.3	331.8	529.1	280.5	332.5	387.1	430.2	<.0001
Patologické spermie v %	16.5	17.1	18.4	16.3	18.2	16.6	16.1	15.9	15.0	15.7	<.0001
Počet ID	26.2	30.6	16.6	21.8	23.1	18.0	26.6	21.9	38.3	25.3	<.0001
Přežitelnost po 24 hod v %	76.4	77.3	69.3	76.3	75.6	76.4	78.0	77.5	76.1	77.4	<.0001
Přežitelnost po 48 hod. v %	69.9	70.9	63.4	69.8	68.5	69.5	72.0	70.9	70.0	70.9	<.0001
Přežitelnost po 72 hod v %	63.6	65.1	57.2	63.0	62.4	62.7	65.5	64.8	64.1	64.5	<.0001

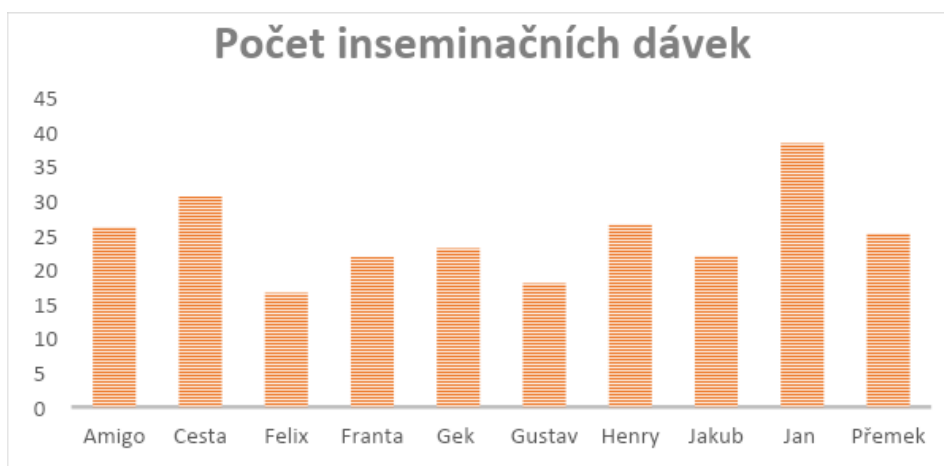
5.1.1 Objem ejakulátu a jeho koncentrace

Vliv objemu a koncentrace lze vidět na grafu č. 1. Můžete si všimnout, že když je malý objem ejakulátu, tak je vysoký objem koncentrace a naopak. Nejvíce je to znatelné u kance Gustava, objem se pohybuje něco málo přes 100 ml, a naopak koncentrace je nejvyšší ze všech kanců, a to mezi 500-600 cm³. Opačně to má například kanec Henry, ten má zase vyšší objem než koncentraci. Z tohoto hlediska můžeme říct, že i když má kanec malý objem, tak to vykompenzuje svojí koncentrací, a naopak pokud má menší koncentraci, tak to vykompenzuje objemem ejakulátu. Z tohoto pohledu je na tom nejhůře kanec Felix, který má nízký jak objem, tak koncentraci, a to

na úrovni cca 250, tím pádem ve výsledku by měl dávat nejméně inseminačních dávek. To je naznačeno hned na následujícím grafu č. 2, kde je uveden průměrný počet inseminačních dávek na kance.



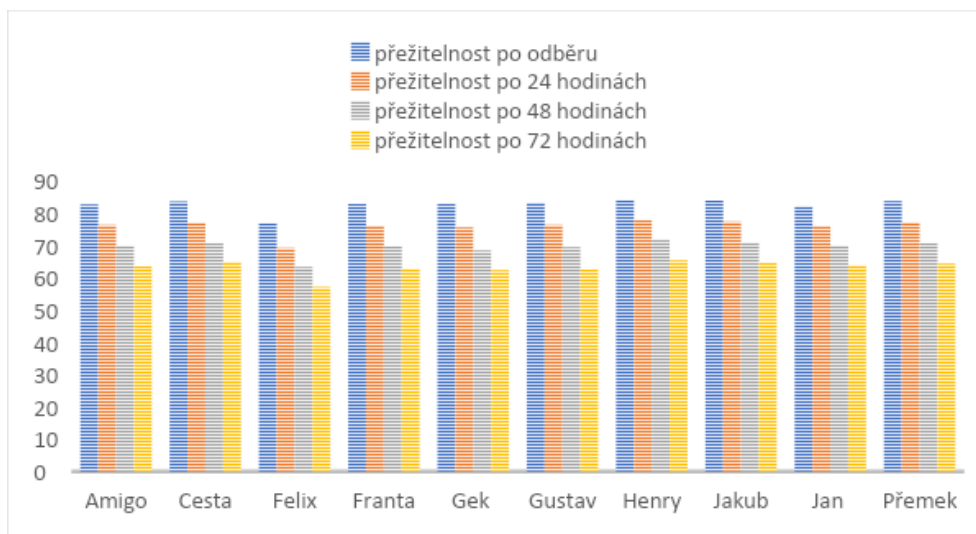
Graf 1 - Objem ejakulátu a koncentrace závislosti na kanci



Graf 2 - Počet inseminačních dávek

5.1.2 Přežitelnost spermií

Přežitelnost spermií hodnotíme ihned po odběru, a poté po 24, 48 a 72 hodinách. Podle předpokladu by měla přežitelnost spermií klesat každý den. Nyní i na grafu č. 3 můžete vidět, že opravdu přežitelnost každý den klesá. U všech kanců se přežitelnost ihned po odběru pohybuje nad hranicí 80 %. Poté opět u všech kanců je přežitelnost po 24 hodinách nad hranicí 70 %, po 48 hodinách se pohybuje okolo hranice 70 % a po 72 hodinách je lehce nad 60 %. Jediný Felix má přežitelnost ihned po odběru pod 80 % a po 72 hodinách je na nějakých 57 %.

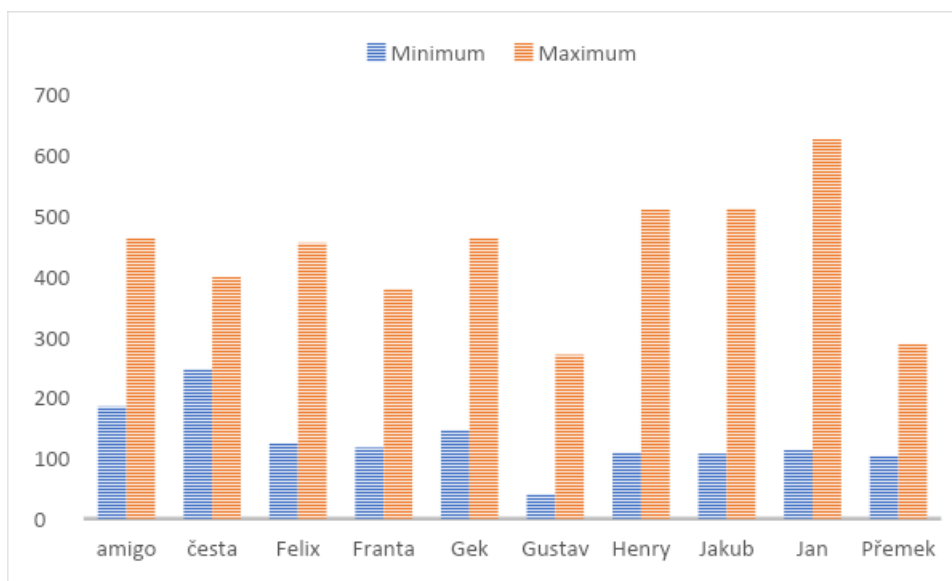


Graf 3 - přežitelnost spermií

5.1.3 Maximální a minimální objem ejakulátu

Maximální a minimální objem ejakulátu je zajímavý pro posouzení růstu v průběhu roku.

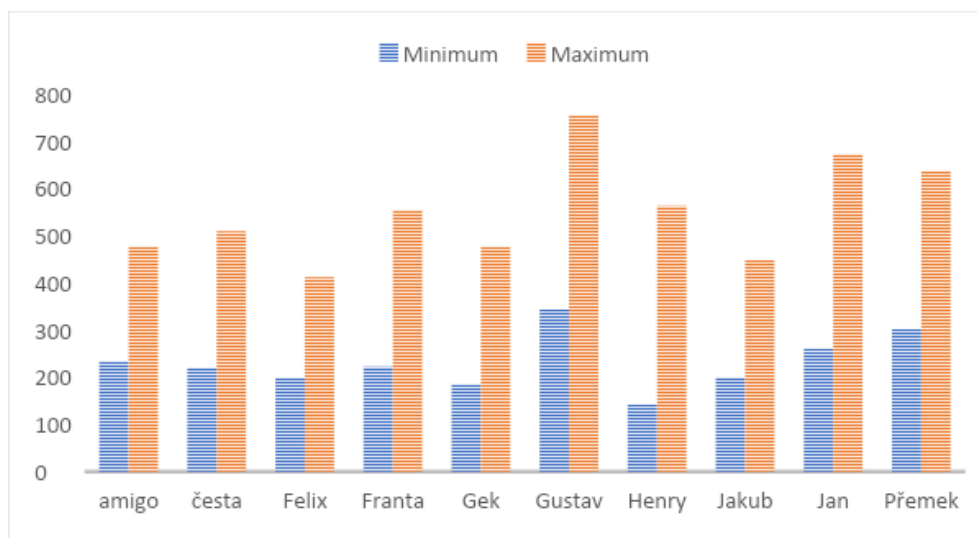
jako velmi výrazný uvádíme velký nárůst objemu u kance Jana. Jan se narodil 5. dubna 2019, tím pádem v roce 2020 se jednalo o rok až rok a půl starého kance. Na začátku roku se jeho objem pohyboval kolem 250 ml, v dubnu už kolem 400 ml, v létě objem mírně klesl v průměru na 370 ml, ale pak nastala velká tepla od 4. srpna do 15. srpna a jeho objem klesl na 120 ml, poté došlo opět k nárůstu na 350 ml a na konci roku se už objem pohyboval i za hranicí 600 ml.



Graf 4 - Maximální a minimální objem ejakulátu v závislosti na kanci

5.1.4 Maximální a minimální koncentrace ejakulátu

U koncentrace naopak došlo k největšímu skoku u kance Henry. Henry se narodil 20. prosince 2018, a tedy v roce 2020 byl roční až dvouroční. Z toho hlediska podle Kennedy et. al (1984) by měla koncentrace na konci roku být nejvyšší. Na začátku roku se pohybovala mírně pod hranicí 300 cm³, v červnu se už pohybovala nad hranicí 300 cm³ a na konci roku byla kolem 350 cm³. Nejvyšší koncentraci měl 1. října, kdy byla 563 cm³, ale zato ten den měl nejnižší objem ejakulátu za celý rok.



Graf 5 - Maximální a minimální objem a koncentrace

5.1.5 Vliv ročního období

Významný vliv ročního období na jednotlivé ukazatele nebyl prokázán, stále převažuje vliv kance.

Tabulka 8 - Objem ejakulátu v závislosti na ročním období

Roční období/ kanec	Jan	Jakub	Henry	Přemek	Čeř'a	Franta	Felix	Gustav	Gek	Amigo
Zima	305,23	159,08	334,29	193,56	314,89	190,43	154,14	92,07	223,67	297,58
Jaro	392,75	221,54	340,54	210,36	325,09	268,85	168,27	122,62	241,09	282,31
Léto	336	295,75	383,92	227,67	314,78	208,77	310,22	149,7	323,44	355,42
Podzim	426,36	381,45	418,83	221,82	294,09	278,5	401,27	193,67	366	355,25

Tabulka 9 - průměrná koncentrace spermií v závislosti na ročním období

Roční období	Koncentrace
Zima	367,8
Jaro	367,73
Léto	367,36
Podzim	363,81

Tabulka 10 - aktivita a patologie spermií v závislosti na ročním období

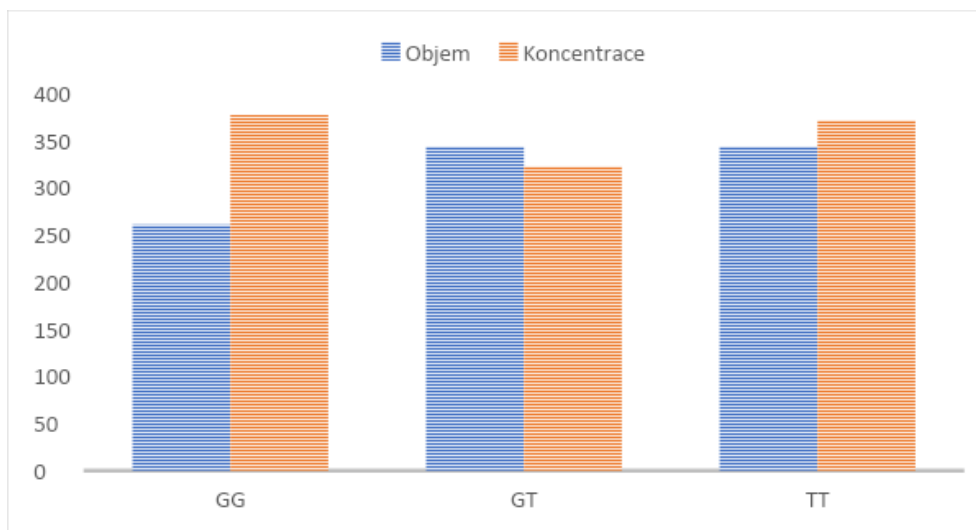
	Aktivita	Patologie
Zima	82,66	16,58
Jaro	82,66	16,57
Léto	82,64	16,63
Podzim	82,71	16,68

5.2 Vliv genů

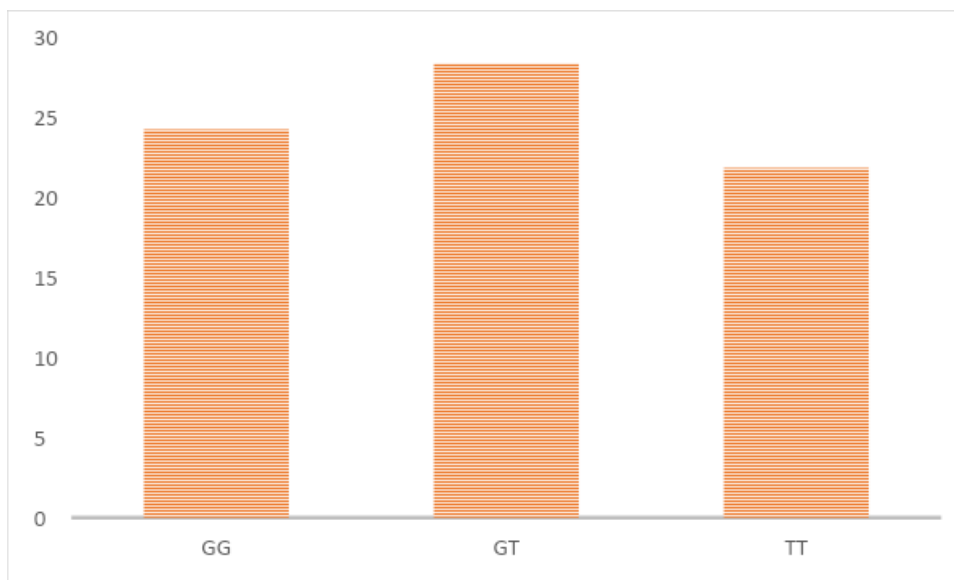
U obou sledovaných SNP, jak v *CYB5A*, tak v *HSD3B1* vychází statisticky průkazný vliv na většinu sledovaných ukazatelů kromě procenta patologických spermií.

Tabulka 11 - vliv sledovaných SNP v kandidátních genech na parametry ejakulátu pro tvorbu ID

	HSD3B1		P	CYB5A			P
	AA	AG		GG	GT	TT	
Objem v ml	301.2	255.4	<.0001	260.6	343.5	234.9	<.0001
Aktivita spermií v %	82.0	83.1	0.0031	82.3	83.9	83.0	0.0018
Koncentrace v 1cm ³	303.5	407.8	<.0001	376.3	322.3	371.3	<.0001
Patologické spermie v %	16.7	16.4	0.175	16.6	16.5	16.3	0.6741
Počet ID	22.9	26.0	0.0002	24.2	28.3	21.8	<.0001
Přežitelnost po 24 hod v %	75.4	76.5	0.0246	75.6	77.7	76.3	0.0012
Přežitelnost po 48 hod. v %	69.2	69.9	0.1839	69.0	71.5	69.8	0.0007
Přežitelnost po 72 hod v %	62.9	63.6	0.2319	62.8	65.3	63.0	0.0012



Graf 6 - objem a koncentrace ejakulátu v závislosti na genotypu genu *CYB5A*

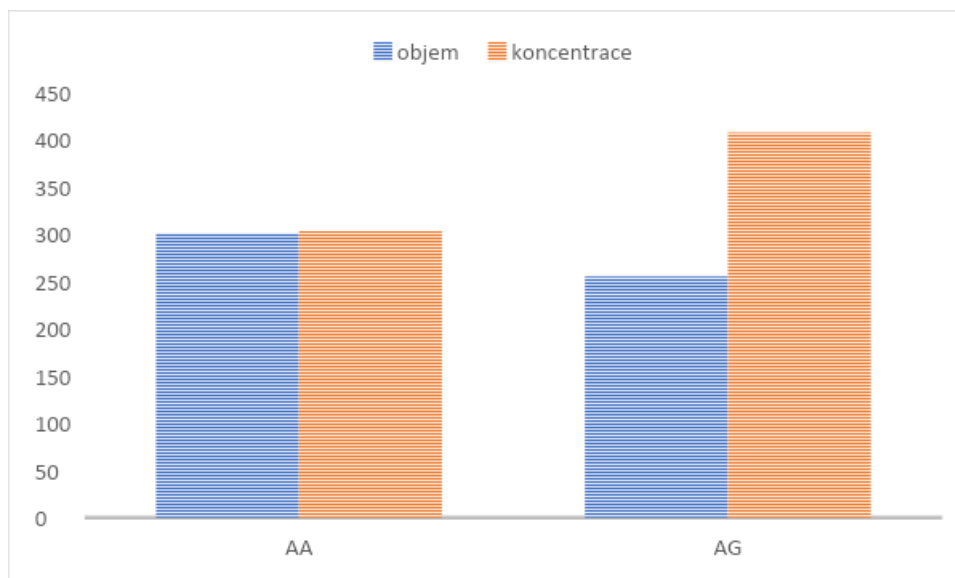


Graf 7 - Počet inseminačních dávek v závislosti na genotypu genu *CYB5A*

Na grafu č. 6 lze vidět průměrný objem a koncentraci ejakulátu v závislosti na genotypu SNP v genu *CYB5A*. Na první pohled je patrná nejvyšší hodnota koncentrace u genotypu *GG*, ale naopak nejnižší hodnota objemu. U genotypu *GT* a *TT* objem vychází stejně, jen je rozdílná koncentrace, která vychází u genotypu *TT* lépe. Ale jako nejlepší genotyp můžeme hodnotit genotyp *GT*, a to z hlediska nejvyššího počtu inseminačních dávek.

5.2.1 Gen HSD3B1

U grafu č. 8 jsou zřejmé výsledky genotypu AG, má sice nižší objem než genotyp AA, ale patrně vyšší koncentraci spermií.



Graf 8 - objem a koncentrace v závislosti na genotypu genu HSD3B1

6 Reprodukce prasnic v závislosti na kanci

6.1 Celkem narozených selat v závislosti na kanci

Statistickou analýzou bylo zjištěno, že není významný vliv kance na počet všech narozených selat ve vrhu.

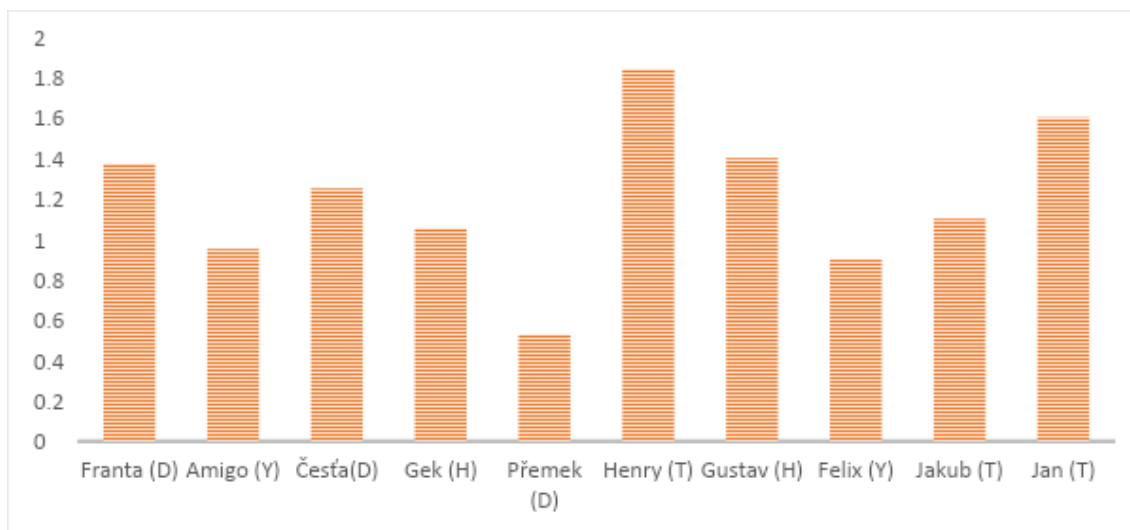
V tabulce č. 12 můžeme vidět, že nejvíce narozených selat je od kance Franta, ale z toho hlediska, že mezi kancem a selaty není závislost, tak toto číslo je jen orientační a závisí na prasnici, která selata vyprodukuje a dalších faktorech prostředí. Nemůžeme se proto dívat na kance a počet narozených selat.

Tabulka 12 - Reprodukce prasnic v závislosti na kanci, od kterého byla ID

znak /kanec	Amigo	Čest'a	Franta	Jan	Jakub	Henry	Přemek	Felix	Gustav	Gek	P
Všech	13,8	14,95	15,35	15,2	14,65	13,52	14,89	14,75	15	14,21	0,3702
Mrtve	0,95	1,25	1,38	1,6	1,1	1,84	0,53	0,9	1,4	1,05	0,0149
Mumie	0,1	1	0,56	0,65	0,4	0,53	0,5	1,15	0,55	0,58	0,0093
Odstav	13,7	13,45	14	13,05	13,2	13,21	13,75	13,05	13	13,21	0,3731

6.2 Mrtvě narozená selata v závislosti na kanci

Byl potvrzen statisticky významný vliv kance na počet mrtvě narozených selat v rámci vrhu. Druhá nejvyšší hodnota je od Jana, a to 1,6 mrtvě narozených selat na vrh, což je docela vysoká hodnota v kontextu toho, že tento kanec dává největší množství inseminačních dávek, a tedy je s ním také nejvíce připuštěných prasnic. Nejvyšší hodnotu má kanec Henry, a to 1,84 mrtvě narozených selat na vrh. Pokud hodnotíme i vliv plemene znamená to, že kanci plemen Topigs mají v průměru nejvyšší množství mrtvě narozených selat. Naopak kanci plemena yorkshire mají nejméně mrtvě narozených selat, což můžete vidět na grafu č. 9.



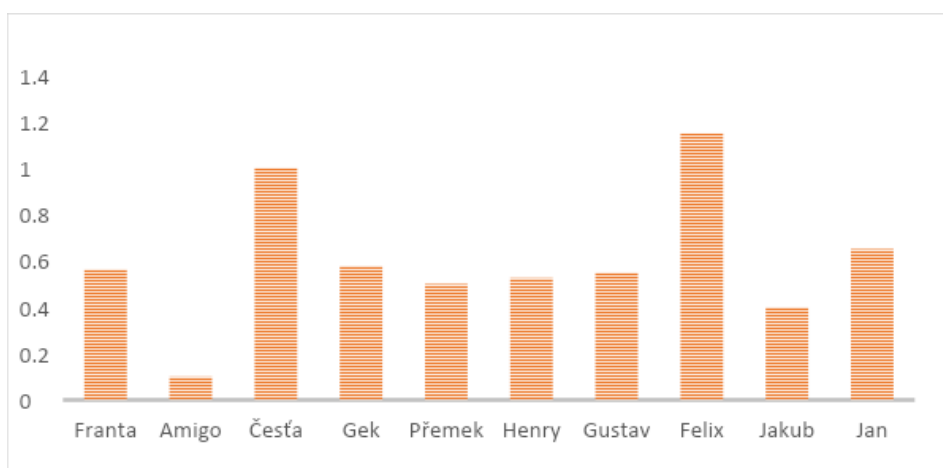
Graf 9 - Mrtvě narozená selata v závislosti na kanci, od kterého byla ID

6.2.1 Počet mumií v závislosti na kanci

Rovněž v případě mumifikovaných plodů byl pozorován statisticky průkazný vliv 0,0093, tím pádem tu existuje velká závislost mezi mumiemi a kancem.

Nejvyšší počet mumií vykazují prasnice, které byly připuštěny Felixem. Felix dává nejmenší množství inseminačních dávek, a ještě k tomu dává nejvíce mumií, a to více než jednu na vrh.

Ostatní kanci se pohybují okolo 0,5 mumie na vrh, nejméně jich má Amigo, který má v průměru 0,1 mumie na vrh.



Graf 10 - počet mumií v závislosti na kanci, od kterého byla ID

6.2.2 Počet odstavených selat v závislosti na kanci

Na počet odstavených selat nebyl prokázán statisticky významný vliv kance.

7 Diskuse

7.1 Hodnocení ejakulátu

Smital (2007) ve své studii uvádí, že by v průměru měl být objem ejakulátu kolem 250 ml a koncentrace kolem 450 cm³. Naši kanci mají v průměru objem 274 ml a koncentraci 364 cm³. A dále podle Kennedy et. al (1984) se maximální objem a koncentrace ejakulátu zvyšuje u kanců ve věku 24 až 29 měsíců. Takže z hlediska toho bychom mohli říct, že počet inseminačních dávek by se u sledovaných zvířat mohl zvednout, kdyby se zvedla koncentrace spermií na hranici 450 cm³ a objem bychom si na této hranici udrželi.

Podle Novák et al. (2002) nejnižší hodnoty objemu spermatu jsou v letních měsících a dále uvádí, že koncentrace je nejnižší v zimních měsících. V mé práci jsem došla k závěrům, že objem je nejnižší v zimním období a koncentrace je nejnižší v letním období, což nepotvrzuje tuto teorii. Publikace Smital (2002) hovoří o tom, že roční období nemá vliv na plodnost kance, naopak výsledky, se kterými Smital (2000) konfrontuje své závěry ve své publikaci uvádí, že v letních měsících se kvalita spermatu zhoršuje. Výsledky mé práce naznačují, že na naší farmě roční období u kanců nemá vliv na jejich kvalitu spermatu. Lze to přičítat dobrému technologickému vybavení, které zabezpečí kancům příjemné prostředí po celý rok.

Z hlediska skladování inseminačních dávek vycházíme z pokusu Kommisrud et al. (2002), kde udává, že aktivita s délkou skladování postupně klesá. Na naší farmě proto dochází ke zpracování ID do 3 dnů, i přes to, že naše ředidlo Solution Bio+ je doporučováno na skladování inseminačních dávek až na 7 dní při skladovací teplotě 17°C. U kance Felixe inseminační technici vědí, že ho musí spotřebovat do 3 dnů z důvodu snižující se aktivity. Protože podle Věžník et. al (2004) je přímý progresivní pohyb znakem funkční plnohodnotnosti a má při dobrém ejakulátu vykazovat 70 % spermií. U nás bereme ještě ejakulát, který vyazuje nad 60 % spermií, pokud už je pod 60 % hranicí, tak se ihned musí ten den spotřebovat.

U genu *HSD3B1* docházíme na základě výše popsaných výsledků k závěru, který naznačuje Kim et. al (2013), že genotyp AG, který má mít nejvyšší hladinu androstenonu, by mohl ovlivňovat i další funkce související s rozmnožováním, tím

pádem průkaznost nejlepší kvality spermií toto potvrzuje. Gen *CYB5A* by měl mít nejvyšší hladinu androstenonu dle Peacock et. al (2008) u genotypu *GG* proto jsme u tohoto genu rovněž předpokládali nejlepší kvalitu spermií. V rozporu s těmito zjištěními naše výsledky prokázaly nejvyšší kvalitu spermií u genotypu *GT*.

7.2 Hodnocení reprodukce

Nejlepší zhodnocení, jestli je inseminační dávka kvalitní nebo není je následnou reprodukcí, a proto jsem v práci hodnotila i výsledky následné reprodukce prasnic. Na základě asociační analýzy docházíme k závěrům, že průkazný je vliv kance na počet mrtvě narozených selat a počet mumifikovaných plodů. Kanec Česťa dává druhý největší podíl inseminačních dávek, jeho přežitelnost v řádku dní tolik neklesá, ale vykazuje průměrně 1 mumii na vrh, což je poměrně dost. V případě vlivu kance na tyto ukazatele bych zjišťovala, co to může způsobovat a jelikož se tímto vztahem nezabývá mnoho prací, tak bych toto téma navrhla pro případný další výzkum.

Už dříve bylo zmíněno, že kanci nemají vliv na počet všech narozených selat a na počty selat odstavených. V případě mrtvě narozených selat můžeme říct, že značný vliv může mít plemeno kanců, jelikož od plemene Topigs je nejvíce mrtvě narozených selat. Vloni se nám objevil na farmě PCV3, což způsobuje chřadnutí selat po narození, ale také to může mít vliv na ještě nenarozená selata. Dále by na to mohl mít vliv PRRS, ale u nás na chovu dochází k vakcinaci proti PRRS vakcínou Porcilis. I přes tuto informaci, bych doporučila další hodnocení vlivu kance na mrtvě rozená a slabá selata ve vrzích. Jelikož u hodnoceného souboru nebyl průkazný vliv ani pořadí vrhu ani období porodu, mohou z hlediska kance působit vlivy, na které bychom se měli zaměřit.

8 Závěr

Cílem práce bylo vyhodnotit míru vlivu jednotlivých faktorů na kvalitu inseminačních dávek a úroveň reprodukce za rok 2020.

Ze studia odborné literatury a vlastní praxí na ISK jsem došla k závěrům, že vliv na kvalitu inseminačních dávek má především kvalita ejakulátu, a proto jsem se hlavně zaměřila na faktory, které ovlivňují kvalitu ejakulátu kanců.

Vliv jednotlivých kanců byl prokázán na všechny sledované ukazatele. Výrazné rozdíly byly i mezi jednotlivými parametry kvality, kdy spolu negativně koreloval objem ejakulátu a koncentrace spermií. Rovněž byl potvrzen nepříznivý vliv skladování ejakulátu na pokles spermií, zde hrála roli doba skladování 24h, 48h a 72h, ale také významný byl vliv kance. Z hodnocených záznamů nebyl prokázán významný vliv ročního období, a to z důvodu, že používáme ventilační systém v letních měsících, a naopak vyhřívání v zimních měsících.

Byl rovněž hodnocen vliv SNP u dvou vybraných genů, které jsou asociovány s hladinou steroidních hormonů. Pro vybrané SNP sledovaných genů byl rovněž prokázán statisticky významný vliv na sledované parametry. V případě genu *CYB5A* vyšel nejlépe genotyp *GT* a v případě genu *HSD3B1* to byl genotyp *AG*.

Na vybraném vzorku prasnic byla hodnocena reprodukce po inseminaci dávkami vybraných kanců. Z výsledků vyplývá, že kanec sám má vliv na počet mrtvě narozených selat a mumifikovaných plodů, což může souviset i s kvalitou dávky, protože nejhorších výsledků dosahoval kanec Felix, který má špatné výsledky i v kvalitě ejakulátu.

Na základě zjištěných výsledků přijímáme stanovenou hypotézu, že vybrané faktory mohou ovlivňovat (kanec, genotyp vybraných genů, délka skladování, roční období apod.) mohou ovlivnit kvalitu inseminační dávky a úroveň zabřezávání prasnic.

Doporučovala bych zařazovat do ISK kance s dobrým sexuálním libidem a zdravotním stavem, hlavně co se týká končetin. V případě pozdějších zhoršených ukazatelů jako je objem, koncentrace, aktivita atd. a ukazatelů týkajících se reprodukce (mrtvě rozená selata a počty mumií) bych doporučovala kance z plemenitby vyřadit. Dále bych doporučovala pravidelnou kontrolu teploty v inseminačním boxu na uchování dávek. Příčinou špatné teploty může být zhoršená kvalita inseminačních

dávek. Rovněž se domnívám že hodnocení genetického založení kanců by mělo být do budoucna sledováno.

9 Literatura

Animal Genetics, 44(5), 592-595. [cit. 2014-04-16]. Dostupné z:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/age.12041>

BROEKHUIJSE M.L.W.J., ŠOŠTARIC E., FEITSMA H., GADELLA B.M., The value of microscopic semen motility assessment at collection for a commercial artificial insemination center, a retrospective study on factors explaining variation in pig fertility, Theriogenology, Volume 77, Issue 7, 2012, Pages 1466-1479.e3, ISSN 0093-691X, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X11006157>

ČEŘOVSKÝ, J., J. LIPENSKÝ a M. ROZKOT. Sezónní pokles v reprodukční užitkovosti prasat. *Náš chov*. 2012, roč. 72, č. 8, s. 78-79. ISSN 0027-8068.

ČEŘOVSKÝ J., 2007: O kvalitě spermatu kanců k inseminaci. *Náš chov*, 67 (12): 39–41. ISSN 0027-8068.

Chov prasat [online]. 2012 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z:
doi:http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=499&typ=html

IIIMANNOVÁ, Gudrun a Helena CHALOUPKOVÁ. Skupinové ustájení březích prasnic z pohledu chování a welfare. *Veterinářství*. 2012, roč. 62, č. 7, s. 420-422. ISSN 0506-8231.

JELÍNEK, Pavel a Karel KOUDELA. *Fyziologie hospodářských zvířat*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-7157-644-1.

KALUŽA, Michal a Jarmila KONVALINOVÁ. *Nemoci hospodářských a potravinových zvířat* [online]. 2019 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z:
doi:<https://cit.vfu.cz/nz/NHZ/NZ.html>

Kennedy, B. W., Wilkins, J. N.: Kanec, plemeno a environmentální faktory ovlivňující vlastnosti spermií kanců používaných v umělé inseminaci. *Canadian Journal of Animal Science*, 8/1984, s 833-843

KIM J.M., AHN J.H., LIM K. S., LEE E.A., CHUN T., HONG K. C., 2013: Effects of hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 1 polymorphisms on fat androstenone level and gene expression in Duroc pigs [online].

KLIMENT J., 1986: *Meziplmenné rozdíly kvality spermatu kanců působících v inseminaci*. In: Zbor., VŠP Nitra, *Acta zootechnica Universitatis Agriculturae Nitra*, 41, 57-65

KOMMISRUDE E., PAULENZ H., SEHESTED E., GREVLE I. S., 2002: Influence of boar and semen parameters on motility and acrosome integrity in liquid boar semen stored for five days [online]. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43, 49–55. [cit. 2021-02- 22]. Dostupné z: <http://actavetscand.biomedcentral.com/articles/10.1186/1751-0147-43-49>

KONDRACKI S. 2003. Breed differences in semen characteristics of boars used in artificial insemination in Poland. *Pig News Inf.* 24: 119-22

LIPENSKÝ J., LUSTYKOVÁ A., ROZKOT M., VÁCLAVKOVÁ E., PŘINOSILOVÁ P., ŠÍPEK J., KUNETKOVÁ M., KOPECKÁ V., 2014: *Základy hodnocení morfologického obrazu spermií kance*. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 33 s. ISBN 978-80-7403-122-9.

LOPEZ RODRIGUEZ A., VAN SOOM A., ARSENKIS I., MAES D., 2017. Boar management and semen handling factors affect the quality of boar extended semen. *Porcine Health Management*. 3:15

MALÁŠEK, Jiří. Poruchy reprodukce prasnic neinfekční povahy. *Veterinářství*. 2012, roč. 62, č. 9, s. 570-574. ISSN 0506-823.

MARVAN, František. *Morfologie hospodářských zvířat*. Vyd. 3. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze v nakl. Brázda, 2003, 303 s. ISBN 80-213-1172-X.

MUSILOVÁ, Darja. *Anatomie a fyziologie I*. [online]. 2019 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: doi:<https://www.vovcr.cz/odz/tech/347/page03.html>

OCHODNICKÝ, Dušan a Ján POLTÁRSKY. *Ovce, kozy a prasata*. Bratislava: Príroda s. r.o., 2003. ISBN 80-07-11219-7.

PEACOCK J., LOU Y., LUNDSTROM K., SQUIRES E.J., 2008: The effect of a c.-8G>T polymorphism on the expression of cytochrome b5A and boar taint in pigs [online]. *Animal Genetics* 39(1), 15-21. [cit. 2021-04-16]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/5687598_The_effect_of_a_c-8G_T_polymorphism_on_the_expression_of_cytochrome_b5A_and_boar_taint_in_pigs

PINART E., PUIGMULÉ M., 2013: Factors affecting boar reproduction testis function, and sperm quality, s. 109–111. In: BONET S. et al. (eds): *Boar Reproduction: Fundamentals and New Biotechnological Trends* [online]. New York: Springer, 633 s. ISBN 9783642350481. [cit. 2021-02-18]. Dostupné z: <http://site.ebrary.com/lib/mendelu/reader.action?docID=10655556>

REECE, William O. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. 2. rozš. vyd. Přeložil Jiří CIBULKA. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3282-4.

ROB, O., STEHLÍK, I.: *Reprodukce hospodářských zvířat*. 1. vyd. VŠZ Praha, 1982, 176-179 s.

ŘÍHA, Jan. *Plemenitba hospodářských zvířat*. Rapotín: Asociace chovatelů masných plemen, 2003, 151 s. ISBN 80-903143-4-1.

SAVIĆ R., PETROVIĆ M., 2015: Effect of photoperiod on sexual activity of boar [online]. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 44 (8): 276–282. [cit. 2021-03-16]. Dostupné z:
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S151635982015000800276&script=sci_arttext&tIng=pt

SMITAL J., 2001a: Ředění a konzervace kančího spermatu pro účely inseminace. *Náš chov*, 61 (3): 31–34. ISSN 0027-8068.

SMITAL J., 2001b: Chov a ošetřování pohlavně aktivních kanců. *Náš chov*, 61 (6): 36–40. ISSN 0027-8068.

SMITAL J., 2002a: Faktory působící na úspěšnost skladování kančího spermatu v mraženém stavu. *Náš chov*, 62 (1): 36–37. ISSN 0027-8068.

SMITAL J., 2002b: Meziplenné rozdíly v kvalitě a kvantitě kančího spermatu. *Náš chov*, 62 (6): 48–50. ISSN 002

SMITAL J., 2002c: Genetické zlepšování kvality a kvantity kančího spermatu. *Náš chov*, 62 (8): 43–44. ISSN 002.

SMITAL J., 2002d: Faktory působící na kvalitu a kvantitu kančího spermatu. *Náš chov*, 62 (7): 50–53. ISSN 002.

SMITAL J., 2008: Effects influencing boar semen [online]. *Animal Reproduction Science*, 110 (34): 335–346. [cit. 2021-03-16]. Dostupné z: <http://www.science-direct.com/science/article/pii/S0378432008000389>

STUPKA, Roman, Michal ŠPRYSL a Jaroslav ČÍTEK. *Základy chovu prasat*. 2013. Praha: PowerPrint, 2013. ISBN 978-80-904011-2-9.

VÁCLAVKOVÁ, Eva a Růžena BEČKOVÁ. Morfologické faktory ovlivňující reprodukci prasniček. *Náš chov*. 2009, roč. 69, č. 5, s. 41-43. ISSN 0027-8068

VÁCLAVKOVÁ, Eva. O optimální výživě plemenných kanců. *Zemědělec* [online]. 2013 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: doi:<https://www.zemedelec.cz/o-optimalni-vyzive-plemennych-kancu/>

VESSEUR P.C., B. KEMP and L.A. DEN HARTOG. Factors affecting the weaning-toestrus interval in the sow. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition*. 1994, vol. 72, no. 4-5, p. 225-233. ISSN 0931-2439.

VĚŽNÍK, Zdeněk. *Repetitorium: spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy*. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 2004. ISBN 80-86895-01-7.

WÄHNER, Martin. Vliv vysoké reprodukce prasnic na produkci, odchov a výkrm selat. *Náš chov*. 2010, roč. 70, č. 10, s. 28-29. ISSN 0027-8068. (překlad Eva Václavková)

ZADINOVÁ K., STRATIL A., ČÍTEK J., VEHOVSKY K., URBANOVÁ D. STUPKA R., 2016: Boar taint – the effects of selected candidate genes associated with androstenone and skatole levels – a review * [online]. *Animal Science Papers and Reports*, 34, 107-122. [cit. 2021-4-16]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/301655070_Boar_taint-_The_effects_of_selected_candidate_genes_associated_with_androstenone_and_skatole_levels-_A_review

ZASIADCZYK L., FRASER L, KORDAN W., WASILEWSKA K., 2015: Individual and seasonal variations in the quality of fractionated boar ejaculates [online]. *Theriogenology*, 83 (8): 1287–1303. [cit. 2021-03-16]. Dostupné z: <http://www.science-direct.com/science/article/pii/S0093691X15000308>

Zootechnika [online]. Staněk, 2021 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z:
zootechnika.cz/clanky/Chov-prasat/reprodukce-prasat/plodnost-prasat.html

Internetové zdroje – obrázky:

https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=17&typ=html
15.3.2021

<https://www.vovcr.cz/odz/tech/347/page03.html> 2.4.2021

<https://cs.wikipedia.org/wiki/Spermie> 10.4.2021

https://cs.wikipedia.org/wiki/Prase_domáci 10.4.2021

https://www.wikiskripta.eu/w/Zárodečné_buňky 10.4.2021

10 Seznam tabulek a grafů

Tabulka 1 – vliv sezónnosti na jednotlivé parametry

Tabulka 2 - Plemena a jejich parametry ejakulátu

Tabulka 3 - vliv různých postupů ředění

Tabulka 4 - Hladina Androstenonu a skatolu podle plemene a genotypu CYB5A c.-

8G>T

Tabulka 5 – Hladina androstenonu a skatolu u SNP2, SNP5 a SNP8

Tabulka 6 - Počet odběrů od jednotlivých plemen kanců

Tabulka 7 - Vliv kance na parametry ejakulátu pro tvorbu ID

Tabulka 8 - Objem ejakulátu v závislosti na ročním období

Tabulka 9 - průměrná koncentrace spermií v závislosti na ročním období

Tabulka 10 - aktivita a patologie spermií v závislosti na ročním období

Tabulka 11 - vliv sledovaných SNP v kandidátních genech na parametry ejakulátu

pro tvorbu ID

Tabulka 12 - Reprodukce prasnic v závislosti na kanci, od kterého byla ID

Graf 1 - Objem ejakulátu a koncentrace závislosti na kanci

Graf 2 - Počet inseminačních dávek

Graf 3 - přežitelnost spermií

Graf 4 - Maximální a minimální objem ejakulátu v závislosti na kanci

Graf 5 - Maximální a minimální objem a koncentrace

Graf 6 - objem a koncentrace ejakulátu v závislosti na genotypu genu CYB5A

Graf 7 - Počet inseminačních dávek v závislosti na genotypu genu CYB5A

Graf 8 - objem a koncentrace v závislosti na genotypu genu HSD3B1

Graf 9 - Mrtvě narozená selata v závislosti na kanci, od kterého byla ID

Graf 10 - počet mumií v závislosti na kanci, od kterého byla ID