

**Mendelova univerzita v Brně**

**Agromická fakulta**

**Ústav chovu a šlechtění zvířat**

---



Agromická  
fakulta

Mendelova  
univerzita  
v Brně



Hodnocení kvalitativních parametrů ejakulátu psů

Doktorská disertační práce

*Školitel:*

Prof. Ing. Ladislav Máchal, DrSc.

*Vypracovala:*

Ing. Marie Vágenknechtová

*Školitel specialista:*

Ing. Martin Hošek, Ph.D.

---

Brno 2014

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „*Hodnocení kvalitativních parametrů ejakulátu psů*“ vypracovala samostatně a využila pouze pramenů, které cituji a uvádím v přiloženém seznamu literatury.

Souhlasím, aby práce byla uložena v knihovně Mendelovy univerzity v Brně, a zpřístupněna ke studijním účelům.

V Brně dne

Podpis .....

### **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěla poděkovat prof. Ing. Ladislavu Máchalovi, DrSc. a Ing. Martinovi Hoškovi, Ph.D. za jejich pomoc, odborné vedení a velmi cenné rady při řešení tohoto výzkumu. Dále děkuji paní Heleně Divinové za pomoc při laboratorním zpracování vzorků a v neposlední řadě bych ráda poděkovala rodičům za podporu při mém studiu.

Zpracovaná disertační práce byla finančně podpořena z prostředků specifického vysokoškolského výzkumu prostřednictvím projektu IGA AF č. IP 18/2010, TP 2/2010, IP 15/2011 a TP 8/2011.

## ANOTACE

Pes doprovází člověka od nepaměti, mnohé literární prameny pokládají psa za vůbec první domestikované zvíře. Lidé psy využívají v nejrůznějších odvětvích své činnosti a postupně bylo vyšlechtěno asi 400 psích plemen. V České republice je drženo asi 2 miliony psů. Na rozdíl od chovatelů hospodářských zvířat, kteří si velmi dobře uvědomují význam reprodukčních vlastností chovaných zvířat, chovatelé psů upřednostňují před reprodukčními ukazateli, zejména u samců, kvalitu exteriéru, či pracovní potenciál chovných jedinců. Což často vede k snížení reprodukčních ukazatelů daných jedinců, nebo celých plemen.

Do mojí studie bylo zařazeno 152 psů 33 plemen. Celkem bylo získáno 408 ejakulátů. U sledovaných psů byl zaznamenáván a následně hodnocen průběh odběru. U získaných ejakulátů byl stanoven jejich objem, zjištěna aktivita a koncentrace spermií. A v neposlední řadě bylo provedeno jejich morfologické vyšetření. Při hodnocení průběhu odběrů a kvality ejakulátů, byly zjištěny následující průměrné hodnoty: doba od počátku stimulace k počátku ejakulace –  $159,67 \pm 180,79$  s, doba ejakulace –  $413,16 \pm 168,66$  s, objem ejakulátu –  $8,49 \pm 6,51$  ml, koncentrace spermií –  $158,53 \pm 121,97 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a aktivita spermií  $71,2 \pm 16,8$  %. V hodnocených ejakulátech bylo v průměru  $69,1 \pm 15,7$  % morfologicky normálních spermií. Z výsledků vyplývá, že kvalitní ejakulát lze očekávat u středně velkých, sportovně vedených psů. Také se jeví jako vhodnější, aby byli psi krmeni kompletní krmnou směsí a ustájeni v kotci, nebo v bytě. Pro využití v chovu by pes měl být starší dvou let, a v ideálních podmínkách by neměl krýt častěji než jednou za týden. V případě inseminace čerstvým spermatem, či odběru ejakulátu pro další konzervaci, by k odběru mělo dojít v laboratoři, anebo na místě inseminace, z důvodu omezení transportu nativního ejakulátu na co nejmenší vzdálenost.

Momentální stav, kdy se neprovádí selekce na kvalitu ejakulátu, je pro budoucnost chovu psů jako takového, značně rizikový. Chovatelé by se tedy měli v dlouhodobějším horizontu zaměřit na výše uvedená hodnocení. Doporučila bych proto začlenění hodnocení parametrů ejakulátu, mezi rutinní zdravotní vyšetření prováděná před zařazením pleménka do chovu, jako je tomu například u vyšetření očních vad či onemocnění skeletu.

**Klíčová slova:** Pes domácí, kvalita psiho ejakulátu, objem ejakulátu, koncentrace spermií, aktivita spermií, morfologicky normální spermie.

## ANNOTATION

The dog has been accompanying men for eons, according to some literary sources the dog is the very first domesticated animal. People have been using dogs in very many different areas and they gradually created more than 400 breeds. In the Czech Republic, about 2 millions of dogs are kept. To compare, breeders of livestock are very well aware of the importance of reproductive functions of animals, but the dog breeders are mainly focus on appearance or work potential at the expense of reproductive indicators - especially for stud male dogs. This is often leads to degradation of reproductive level of individuals or even whole breeds.

In total, 408 semen samples from 152 male dogs of 33 breeds were in my doctoral thesis evaluated. First, the proces of each collection was analyzed. My study was focused on these parameters: ejaculate volume, sperm activity, concentration of spermatozoa and total amount of morphologically normal sperm examination. The evaluation of semen quality brought following average values. Time from the beginning of stimulation to the start of ejaculation was  $159.67 \pm 180.79$  seconds and the time of ejaculation was  $413.16 \pm 168.66$  seconds; the volume of ejaculate was  $8.49 \pm 6.51$  ml; concentration of spermatozoa was  $158.53 \pm 121.97 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  and sperm activity  $71.2 \pm 16.8$  %. Next,  $69.1 \pm 15.7$  % of morphologically normal sperm was in evaluated semen samples. As our results show, we can expect more quality ejaculate from medium sized sporting dogs. It seems appropriate that the dogs were fed with a complete food mixture and housed in kennels or homes. The dog can be used as a stud male from 2 years of age, and it should not be mate often than once a week in ideal conditions. In the case of insemination with fresh semen or semen collection for further use, the collection should be done in laboratory or in the place of insemination for decreasing the time of transport like as much as possible.

The present situation, when there is no selection for the quality of ejaculate, it's considerably risk possessing for the future of dog breeding as such. Breeders should be focused on the quality of ejaculate in the long-term perspective. I would like to recommended the evaluation of dog semen quality as a routine health check as are for stud male dogs before their mating. Like as screening for hereditary eye diseases or skeleton diseases are performed.

**Key words:** Domestic dog, quality of dog ejaculate, ejaculate volume, concentration of spermatozoa, sperm activity, morphologicaly normal semen.

# OBSAH

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>Literární přehled .....</b>	<b>11</b>
2.1	<i>Anatomie pohlavních orgánů psa .....</i>	<i>11</i>
2.1.1	Šourek .....	11
2.1.2	Varlata (testes) .....	11
2.1.3	Nadvarle (epididymis).....	13
2.1.4	Chámovod (ductus referens) .....	14
2.1.5	Přídavné pohlavní žlázy (glandulae genitales accesoriae) .....	14
2.1.5.1	Žláza předstojná (prostata) .....	14
2.1.6	Pyj (penis) .....	15
2.1.7	Předkožka (preputium).....	16
2.2	<i>Reprodukční aktivita u psa .....</i>	<i>16</i>
2.2.1	Řízení pohlavní činnosti psů .....	17
2.3	<i>Ejakulát (sperma, semeno, chám).....</i>	<i>18</i>
2.3.1	Spermie .....	19
2.3.1.1	Funkce spermie.....	19
2.3.1.2	Stavba spermie .....	20
2.3.1.3	Povrch spermie .....	23
2.3.1.4	Chemické složení spermií.....	23
2.3.2	Enzymy ejakulátu.....	24
2.3.2.1	Pohyb spermií.....	24
2.3.3	Semenná plazma .....	25
2.3.4	Sekret přídavných pohlavních žláz .....	26
2.3.5	Vlastnosti a složení ejakulátu.....	27
2.4	<i>Odběr a hodnocení psiho ejakulátu.....</i>	<i>28</i>
2.4.1	Metody získávání ejakulátu .....	28
2.4.2	Inseminace u psů.....	29
2.4.2.1	Pomůcky pro odběr spermatu u psů .....	30
2.4.3	Hodnocení psiho ejakulátu.....	31
2.4.3.1	Objem .....	31
2.4.3.2	Barva .....	31
2.4.3.3	Aktivita.....	32
2.4.3.4	Koncentrace a celkový počet spermií .....	33
2.4.3.5	Morfologické vyšetření .....	35

<b>3</b>	<b>Cíl práce .....</b>	<b>40</b>
<b>4</b>	<b>Materiál a metodika .....</b>	<b>41</b>
4.1	<i>Sledované faktory .....</i>	41
4.1.1	Věk.....	41
4.1.2	Počet psů v domácnosti.....	42
4.1.3	Hmotnost.....	42
4.1.4	Typ využití.....	42
4.1.5	Typ ustájení.....	42
4.1.6	Počet dnů mezi odběry .....	42
4.1.7	Pořadí odběru ejakulátu .....	43
4.1.8	Typ krmení.....	43
4.1.9	Chovatelská minulost.....	43
4.1.10	Místo odběru .....	43
4.1.11	Průběh odběru .....	43
4.2	<i>Sledované ukazatele průběhu odběru a kvality ejakulátu.....</i>	44
4.2.1	Objem ejakulátu .....	44
4.2.2	Aktivita spermií .....	44
4.2.3	Koncentrace spermií .....	44
4.2.4	Morfologické vyšetření spermií .....	45
4.2.4.1	Reagencie .....	45
4.2.4.2	Postup barvení .....	45
4.3	<i>Statistické hodnocení.....</i>	46
<b>5</b>	<b>Výsledky a diskuze .....</b>	<b>47</b>
5.1	<i>Průměrné hodnoty ejakulátu psů.....</i>	47
5.1.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace .....	47
5.1.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů.....	47
5.1.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů.....	49
5.1.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů – průměrné hodnoty celého sledovaného souboru.....	49
5.2	<i>Vliv věku na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů.....</i>	51
5.2.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů v různém věku.....	51
5.2.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů v různém věku .....	52
5.2.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů v různém věku .....	53
5.2.4	Zastoupení jednotlivých morfologických změn spermií v ejakulátu psů v různém věku ..	55

5.3	<i>Vliv počtu psů v domácnosti na průběh odběru a kvalitu ejakulátu</i> .....	57
5.3.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle počtu psů v domácnosti.....	57
5.3.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti .....	58
5.3.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů, dle jejich počtu v domácnosti.....	60
5.3.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti ..	61
5.4	<i>Vliv hmotnosti na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů</i> .....	63
5.4.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů o různé hmotnosti .....	63
5.4.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů o různé hmotnosti .....	64
5.4.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti.....	66
5.4.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti .....	66
5.5	<i>Vliv způsobu pracovního využití psa na průběh odběru a kvalitu ejakulátu</i> .....	68
5.5.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle jejich pracovního využití.....	68
5.5.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle jejich pracovního využití .....	69
5.5.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití.....	70
5.5.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití....	71
5.6	<i>Vliv typu ustájení na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů</i> .....	72
5.6.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu ustájení.....	72
5.6.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu ustájení.....	73
5.6.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu ustájení .....	73
5.6.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle typu ustájení.....	74
5.7	<i>Vliv počtu dnů mezi odběry na průběh a kvalitu ejakulátu u psů</i> .....	76
5.7.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů .....	76
5.7.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.....	76
5.7.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry .....	77
5.7.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.....	78
5.8	<i>Vliv pořadí odběru na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů</i> .....	80
5.8.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle pořadí odběru .....	80
5.8.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle pořadí odběru.....	80



5.8.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru.....	81
5.8.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru .....	81
5.9	<i>Vliv typu krmení na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů .....</i>	83
5.9.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu krmení .....	83
5.9.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu krmení.....	83
5.9.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu krmení .....	84
5.9.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle typu krmení .....	85
5.10	<i>Vliv potomstva z přirozené plemenitby na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů.....</i>	86
5.10.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů s potomstvem z přirozené plemenitby .....	86
5.10.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby .....	86
5.10.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby .....	87
5.10.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby .....	88
5.11	<i>Vliv místa odběru na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů .....</i>	89
5.11.1	Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle místa odběru.....	89
5.11.2	Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle místa odběru.....	89
5.11.3	Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle místa odběru.....	91
5.11.4	Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle místa odběru.....	91
5.12	<i>Vzájemné korelace mezi jednotlivými proměnnými reprodukčními ukazateli.....</i>	93
5.13	<i>Vzájemné korelace exogenních a endogenních faktorů v závislosti na reprodukčních ukazatelích .....</i>	93
<b>6</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>95</b>
<b>7</b>	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>98</b>
<b>8</b>	<b>seznam tabulek .....</b>	<b>109</b>
<b>9</b>	<b>Příloha .....</b>	<b>112</b>

## 1 ÚVOD

Pes doprovází člověka od nepaměti, mnohé literární prameny jej tak pokládají za vůbec první domestikované zvíře. Nejdříve člověk využíval psa jako pomocníka při lovu, dále pak pes našel široké uplatnění při ochraně a ovládnutí stád dobytka, obraně majetku, a v neposlední řadě jako vyhledávaný společník lidí. V dnešní době můžeme psa nejčastěji potkat jako rodinného společníka, ale také jako pomocníka v nejrůznějších odvětvích lidské činnosti, kde velmi často pomáhá zachraňovat lidské životy, majetek nebo je velmi cenným pomocníkem handicapovaných lidí. Další uplatnění našel jako týmový kolega ve psích sportech, které se staly, zejména v posledních letech, velmi oblíbené u široké veřejnosti. K těmto účelům bylo postupně vyšlechtěno asi 400 psích plemen. V České republice je drženo asi 2 miliony psů a jejich chovem se zabývá velké množství chovatelů.

Na rozdíl od chovatelů hospodářských zvířat, kteří si velmi dobře uvědomují význam reprodukčních vlastností chovaných zvířat, chovatelé psů upřednostňují před reprodukčními ukazateli, zejména u samců, kvalitu exteriéru nebo pracovní potenciál chovných jedinců. To vede často ke snížení reprodukčních ukazatelů nejen daných jedinců, ale i celých populací či plemen.

U psů samců je hlavním reprodukčním ukazatelem kvalita ejakulátu a jeho oplozovací schopnost, která zaručuje úspěšnou reprodukci druhu. V posledních letech se chovatelé psů začínají zajímat o kvalitu ejakulátu chovaných jedinců, a to zejména v souvislosti s rozvojem inseminace, především mraženým spermatem. Tato metoda se stává mezi chovateli stále více vyhledávanou alternativou, díky možnosti využití již nežijících plemenů, jako cenného zdroje genetické variability plemene.

Kvalita ejakulátu je rozhodující pro možnost konzervace spermatu, ale i pro úspěšný rozvoj plemene. Při špatné kvalitě ejakulátu se můžeme často setkat s málo početnými vrhy nebo častým nezabřezáváním fen, což vede k úpadku plemene jako takového.

Na kvalitu ejakulátu psů má vliv mnoho vnějších a vnitřních faktorů jako je genotyp, zdravotní stav, věk, hmotnost, výživa, využití a ustájení.

## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Anatomie pohlavních orgánů psa

Samčí pohlavní ústrojí se skládá z pohlavních žláz a vývodných cest. Pohlavní orgány psa tvoří varlata, nadvarlata, šourek, chámovody, přídatné pohlavní žlázy a pyj.

#### 2.1.1 Šourek

Varlata, společně s nadvarlaty, jsou uložena v šourku. Šourek je vak, který vznikl vychlípáním břišní stěny. Pod kůží se nachází svaloelastická vrstva (tunica dartos), která je s ní pevně spojena, a v mediální rovině vytváří přepážku rozdělující šourkovou dutinu na dvě poloviny (Kliment et al., 1989). Na povrchu je kůže porostlá jemnými chlupy, u berana a kozla je ochlupení husté (Komárek et al., 1964). U psa je kůže šourku tenká, pigmentovaná, vybavená potními žlázami a porostlá jemným ochlupením (Svoboda, Senior et al., 2001). Hlavní funkcí šourku je udržování vhodné teploty pro tvorbu spermií, která je o 3 – 5 °C nižší než tělesná teplota. Vhodnou teplotu udržuje díky kontraktilní schopnosti. V chladném prostředí se tunika dartos smršťuje, čímž se odpařovací plocha šourku zmenšuje. Naopak v teplém prostředí ochabuje, a tím se odpar z povrchu šourku zvětšuje (Komárek et al., 1964).

#### 2.1.2 Varlata (testes)

Varlata jsou samčí párovou pohlavní žlázou, která má dvě funkce. V točitých semenotvorných kanálcích se tvoří spermie (exkretorická činnost) a v intersticiálních buňkách Leydigových se vytvářejí androgeny (inkretorická činnost) (Gamčík, Kozumplík et al., 1992).

Varlata mají tvar rotačního elipsoidu s rozdílnou délkou (Věžník et al., 2004). Kliment et al., (1989) uvádí, že varlata mají tvar vejčitý a u psa jsou kulovitá. Svoboda, Senior et al. (2001) uvádí, že varlata psa mají oválný tvar a jsou uložena v šourku nejdelší osou dorzokaudálním směrem. Průměrná velikost varlete u dospělého psa střední velikosti je 3x 2x 1,5 cm (Svoboda, Senior et al., 2001).

Na varleti popisujeme, vzhledem k uložení nadvarlete, dva konce: a to hlavový konec – extromitas capitata a ocasní konec – extremata caudata. K hlavovému konci se přikládá hlava nadvarlete a k ocasnímu konci ocas nadvarlete. Hlavový a ocasní konec spojuje nadvarletní okraj – margo epididymalis, po němž postupuje tělo nadvarlete. Proti nadvarletnímu okraji je volný okraj – margo liber. Oba okraje přecházejí do zevní

plochy – facies lateralis a do vnitřní plochy – facies medialis (Najbrt et al., 1982). Na povrchu varlat jsou varlata kryta tenkou serózní blánou vnitřní pobřišnice, která je pevně srostlá s tuhým fibrózním obalem (tunicu albuginea) a tvoří varletní pouzdro (Komárek et al. 1964). Od varletního pouzdra vnikají do varlete paprskovitě uspořádané vazivové přepážky – septula testi, které rozdělují parenchym varlete na jednotlivé lalůčky – lobuli testi (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Tyto úseky se nazývají pyramidové lalůčky (Komárek et al., 1964). Lalůčky jsou tvořeny ze stočených semenotvorných kanálků vystlaných zárodečným epitelem a Sertoliho buňkami (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). V každém lalůčku jsou dva až tři semenotvorné kanálky (Kliment et al., 1989). Semenotvorné kanálky začínají slepě, tvoří jemnou trubičku opisující četné kličky (Komárek et al., 1964). Tloušťka jednoho kanálku se pohybuje od 140 do 240  $\mu\text{m}$ , délka je 0,5 – 0,8 m, ale až 1,5 m. Stěnu kanálku tvoří vnější blanka (bazální membrána), na kterou nasedá semenotvorný epitel. Semenotvorný epitel je tvořen vícevrstevným epitelem, který obsahuje dva typy buněk: Sertoliho a spermiogenní buňky (Kliment et al., 1989). Sertoliho podpůrné buňky jsou somatické buňky, které nasedají na bazální membránu a jsou vmezeřené mezi spermiogenetický epitel. Vytváří bariéru zabraňující rekognoskaci autoantigenů spermatocytů a spermatid (Věžník et al., 2004). Výběžky Sertoliho buněk (podpůrné buňky) zajišťují intimní kontakt mezi všemi vývojovými stádii spermií (Reece, 1998). Sekreční činností Sertoliho buněk tvořená tekutina vyplňuje lumen semenotvorných kanálků (Věžník et al., 2004). Semenotvorné kanálky dělíme na dvě části. Vnější bazální část, která umožňuje kontakt s intersticiální tekutinou a poskytuje prostor pro zárodečný epitel, tzv. bazální kompartment. A vnitřní část, ve které jsou prostory mezi Sertoliho buňkami, které komunikují centrálně s lumen kanálku, tzv. adluminální kompartment (Reece, 1998).

Vmezeřené vazivo vyplňující prostory mezi kličkami semenotvorných kanálků obsahují Leydigovy buňky. Tyto buňky produkují pohlavní hormony (Komárek et al., 1964). Kromě Leydigových buněk, které se rozmnožují mitoticky a zdržují se ve skupinách okolo krevních vlásečnic, obsahuje intersticiální vazivo také běžné vazivové buňky, nervy a krevní cévy (Kliment et al., 1989). Stočené kanálky vzájemně anastomozují a přecházejí v přímé kanálky – tubuli recti, které vytvářejí varletní síť – rete testi, z nichž vystupuje na hlavovém konci varlete asi 15 až 20 vývodních kanálků, prostupujících do hlavy nadvarlete (Gamčík, Kozumplík et al., 1992).

Varlata se v embryonálním období vyvíjí v dorzální části břišní dutiny, odkud sestupují do šourku. Sestup se uskutečňuje pomocí vazivového pásu, který se upíná na kůži v místě budoucího šourku. U přežvýkavců je sestup varlat ukončen před porodem, u hřebce a kance v době porodu, a u masožravců po porodu. Svoboda, Senior et al. (2001) uvádí, že u psa varlata mají dokončit sestup do šourku do dvou měsíců věku. U mladších štěňat se mohou varlata nacházet i v tříselném kanálu nebo v dutině břišní. Po dvou měsících stáří poukazuje absence varlat v šourku na abnormální stav. Pokud varlata zůstanou trvale v dutině břišní, mluvíme o abdominálním (břišním) kryptorchizmu, pokud varlata zůstanou v tříselném kanálu, mluvíme o inguinálním (tříselném) kryptorchizmu (Kliment et al., 1989).

### **2.1.3 Nadvarle (epididymis)**

Na povrch varlat intimně nasedají nadvarlata (Věžník et al., 2004). Nadvarle je podélně upevněno na margo epididymalis varlete a na kaudální ploše mesorchia (Najbrt et al., 1982). Nadvarle (epididymis) je tvořeno jedním stočeným kanálkem (ductus epididymis) (Věžník et al., 2004), který vzniká nahloučením vývodných kanálků varlete (Najbrt et al., 1982). Na nadvarleti lze rozeznat tři části. První část nazýváme hlava nadvarlete (caput epididymis) (Věžník et al., 2004). Hlava nadvarlete je tvořena 15-ti až 20-ti vývodnými kanálky, které vystupují z varletní sítě a opouštějí varle na jeho pólu. Vývodné kanálky se slučují do společného nadvarletního vývodu, který hustými meandrovitými kličkami vytváří tělo (corpus epididymis) a ocas (cauda epididymis) nadvarlete (Komárek et al., 1964). Proximální část hlavy nadvarlete je významně aktivní sekreční i resorpční činností, a zabezpečuje další postup spermií kinociliemi cylindrického epitelu (Věžník et al., 2004). Kinocílie se kmitavě pohybují směrem ke kanálku nadvarlete (Kliment et al., 1989). Spermie vytvořené v semenotvorných kanálcích varlete jsou z lumen kanálků vyplavovány do nadvarlete (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). V hlavě nadvarlete dochází k resorpci tekutiny ze semenotvorných kanálků a zahuštění spermií (Reece, 1998). V těle nadvarlete se setkávají spermie se sekrety, které obsahují velké množství tuků a dalších látek, které zvyšují odolnost povrchových membrán spermií (Gamčík, Kozumplík et al., 1984). Hlavní funkcí nadvarlete je však shromažďování a ukládání spermií do zásob (Reece, 1998). Věžník et al. (2004) uvádí, že zde spermie také dozrávají a získávají schopnost pohybu. V nadvarlatech je vyšší hladina oxidu uhličitého a nižší hladina kyslíku, což umožňuje delší životaschopnost a oplozovací schopnost spermií. Látkový metabolismus je zde

snížen na minimum (Komárek et al., 1964). Celým nadvarletem projdou spermie nejdříve za 8 – 11 dní (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Díky příznivým podmínkám si spermie ve vývodu nadvarlete zachovávají životnost a oplozovací schopnost po dobu 2 – 3 týdnů (Marvan et al., 1998).

#### **2.1.4 Chámovod (ductus referens)**

Z ocasu nadvarlete přechází nadvarle v chámovod (ductus referens), který je tvořen sliznicí, svalovinou a serózou. Po výstupu z ocasu nadvarlete prochází šourkovou dutinou, tříselným kanálem a břišní dutinou. Dále postupuje do pánevní dutiny, až na dorzální plochu močového měchýře (Věžník et al., 2004). Chámovod, stejně jako varle a nadvarle, v jeho průběhu potahuje, až k tříselnému kanálu, tunica vaginalis propria, která současně povléká stejným směrem probíhající cévy, které zprostředkovávají krvení varlete. Vše dohromady tvoří semenný provazec, jehož základna je u hlavy nadvarlete a vrchol v tříselném kanálu (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Po průchodu semenného provazce vnějším a vnitřním prstencem tříselního kanálu se chámovod oddělí, a vstoupí do pánevní části uretry (Reece, 1998). Ampule chámovodu, která tvoří zakončení chámovodu u přežvýkavců a koní, není u psa vytvořena. Chámovody se ve své konečné části spojují s vývodem semenného vaku příslušné strany ve vývodný kanálek, který vyúsťuje do močové roury na semenném hrbolku (Gamčík, Kozumplík et al., 1984).

#### **2.1.5 Přídavné pohlavní žlázy (glandulae genitales accesoriae)**

Přídavné pohlavní žlázy jsou uloženy v pánevní oblasti (Věžník et al., 2004). Řadíme mezi ně ampule chámovodu, měchýřkovité žlázy, prostatu a bulbouretrální žlázy (Reece, 1998). U psů je vyvinuta pouze prostata.

##### **2.1.5.1 Žláza předstojná (prostata)**

Prostata je svalově žláznatý orgán, který obepíná močovou trubici (Věžník et al., 2004). Skládá se ze dvou částí, a leží na krčku močového měchýře a začátku močové trubice, do níž vyúsťuje četnými vývody (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). U psů je předstojná žláza jedinou vyvinutou přídavnou pohlavní žlázou. Je uložena přibližně v polovině pánve okolo kraniální části uretry, asi 1 cm za krčkem močového měchýře. Je kulovitého tvaru, mediální prohlubeninou na dorzální straně rozdělena na dvě symetrické části, hladkého povrchu a tuhoelastické konzistence. Délka, šířka a tloušťka prostaty pohlavně

dospělého psa se pohybuje od 1,4 – 1,9 cm do 2,5 – 2,8 cm (Svoboda, Senior et al., 2001). Její zvětšení může být příčinou obstrukce průtoku moči uretrou (Reece, 1998). U starších psů je velmi častý výskyt benigních hyperplazií prostaty (Cochran et al., 1981).

### 2.1.6 Pyj (penis)

Pyj je orgán, který svojí anatomii zabezpečuje přenos spermatu do pohlavních cest samice (Věžník et al., 2004). Jedná se o samčí pářící orgán, táhnoucí se od oblouku sedacího, přes hráz a krajinu stydkou, až do krajiny pupeční (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Od kaudální hrany sedací kosti odstupuje pomocí dvou ramen kořen penisu, který přechází v tělo penisu zakončené žaludem (glans penis) (Reece, 1998). Utváření žaludu pyje je druhově specifické. Nejvýrazněji je vyvinut u psa a hřebce. Býk a malí přežvýkavci mají žalud nevýrazný (Věžník et al., 2004). Podkladem pyje je topořivé těleso pyje. Na hřbetu topořivého tělesa je mělký žlábek – sulcus dorsalis penis, v němž probíhají cévy a vazy pyje. Na spodině topořivého tělesa pyje je žlábek výrazně hlubší – sulcus urethralis, v něm je umístěna močová trubice (Gamčík, Kozumplík et al., 1984). Uprostřed žaludu pyje je jamka (fossa glandis), kde vyčnívá výběžek močové trubice (Věžník et al., 2004). Topořivé těleso je obaleno fibrózní blanou – tunica albuginea, z níž pronikají dovnitř topořivého tělesa trámce, které rozdělují topořivé těleso v krypty (Gamčík, Kozumplík et al., 1984). Tvar penisu psa je přibližně válcovitý. U velkých plemen je až 25 cm dlouhý a 2 – 3 cm silný. Zaoblený začátek spongiózního tělesa penisu – bulbus penis, krytý svalem m. bulbospongiosus, je při výstupu z pánve sagitálně rozdělen a dobře vyvinut. Glans penis má dva úseky a oba jsou vyztuženy pyjovou kostí – os penis (Najbrt et al., 1982). Od bulbu téměř po vrchol glans penis prochází os penis, která je zakončena vazivově chrupavčitou částí, asi 0,5 cm dlouhou (Svoboda, Senior et al., 2001). Délka kosti pyje se v závislosti na plemeni pohybuje kolem 5 – 10 cm. Os penis pomáhá při kopulaci k zavedení penisu do vagíny feny, protože ke konečné erekci a zduření penisu u psa dochází až po jeho zasunutí (Reece, 1998). Kaudálně uložený uzel žaludu – bulbus glandis při kopulaci mohutně zduří a způsobuje tzv. svázání (Najbrt et al., 1982), při kterém dochází k delšímu zadržení penisu v pochvě feny při koitu (Reece, 1998). Svoboda, Senior et al. (2001) uvádí, že kraniální úsek žaludu pyje – pars longa glandis je válcovitý a ke konci se zakrucuje. Na vrcholu hrotu je vývod močové trubice – ostium urethrae externum (Najbrt et al., 1982). Dle funkčních změn na topořivých tělesech během erekce, dělíme pyje na několik typů.

Zvětšení a prodloužení penisu při erekci je způsobeno buď, překrvením kavernočních topořivých těles, vyskytujících se u psa a hřebce, nebo je zvětšení penisu způsobeno vyrovnáním esovitého zakřivení pyje bez jeho významného zbytnění, jak je tomu u přežvýkavců. U kance nacházíme smíšený typ, kdy během erekce dochází jak k zbytnění, tak k vyrovnání zakřivení (Reece, 1998). Erekcce je způsobena zvýšením tlaku krve uvnitř krypt v topořivých tělesech penisu, a je výsledkem většího přítoku krve oproti nižšímu odtoku krve z penisu (Reece, 1998). Nervové centrum pro erekci se nachází v nejkaudálnější části spinální míchy (Věžník et al., 2004).

### **2.1.7 Předkožka (preputium)**

Kraniální konec pohlavního údu je chráněn předkožkou (Kliment et al., 1989). Jedná se o kožní pouzdro v podobě toulce, do kterého je pyj vtahován po koitu pomocí hladkosvalového zatahovače pyje (Komárek et al., 1964). V klidovém stavu je pyj psa zcela schován v předkožkovém vaku (Najbrt et al., 1982). Předkožka je vystlána sliznicí, která obsahuje velké mazové žlázy a rozvětvené klubkové tubulózní žlázy. Produkt těchto žláz, spolu s odloupenými epiteliálními buňkami předkožky, vytváří předkožkový maz (smegma) druhově specifického zápachu (Kliment et al., 1989). U psa je kůže předkožkového vaku volná, pendlující a ochlupená. Za normálních okolností ji lze snadno přehrnout přes glans penis.

## **2.2 Reprodukční aktivita u psa**

Dosažením určitého stupně aktivity neurohormonální činnosti nastupuje u psů a fen puberta. U psů samců jde zjednodušeně o dostatečnou sekreci hormonu testosteronu, který se tvoří ve varlatech na základě vlivu hormonů z podvěšku mozkového. Hormon testosteron ovlivňuje tvorbu spermií, vývoj sekundárních pohlavních znaků psa i jeho chování (Kvapil, Kvapilová, 2007).

Psi dospívají obvykle o něco málo později než feny stejného plemene. Tvorba spermií nastupuje mezi pátým až šestým měsícem a zralé spermie lze prokázat mezi devátým a desátým měsícem věku. Ve výjimečných případech se lze setkat s plodnými jedinci již ve věku šesti měsíců, ale průměrný věk pohlavní dospělosti je kolem devíti měsíců. V tomto období pes nabývá schopnosti krýt. To znamená, že s dostatečným pohlavním pudem, v přítomnosti hárající feny, je pes schopen v přirozené sekvenci realizovat plnohodnotné pohlavní reflexy (vzeskok, intromisi, ejakulaci, svázání). Jedná se však o postupný proces, mladí a pohlavně nezkušení psi tak mohou dočasně



vykazovat abnormální intenzitu i sekvenci pohlavních reflexů. Jedním z častých problémů vyskytujících se u mladých psů je urychlená a nadměrná erekce, která zabraňuje zavedení pyje do pohlavního ústrojí feny. Díky pyjové kosti není, za normálních okolností, u psa pro zavedení pyje do vulvy feny nezbytná maximální erekce. Ta nastupuje až po ejakulaci při svázání. Projevy určitého stupně pohlavní aktivity, bez schopnosti tvorby semene, jsou zjevné už od třetího až čtvrtého týdne věku (vzeskok, pánevní pohyby). Možnosti realizace této aktivity, v přítomnosti dalších štěňat, je významná pro včasné dosažení puberty. Proto předčasná izolace štěněte oddaluje nástup puberty. Plnohodnotný ejakulát lze spolehlivě očekávat od psů starších jednoho roku (Svoboda, Senior et al., 2001). Do chovu by se pes mohl použít již v době pohlavní dospělosti, která nastupuje podle velikosti plemene mezi šestým až osmým měsícem věku. V přírodě se však může uplatnit pouze jedinec fyzicky zcela vyspělý, který je schopen vyřadit potenciální konkurenty, a stát se vůdcem smečky. Jedině vůdce smečky se smí pářit s alfa samicí, a produkovat tak další generaci (Procházka, 2005).

Kvalita ejakulátu se přirozeně snižuje po osmém (resp. devátém) roku. Libido sexualis však obvykle přetrvává do pokročilejšího věku (Svoboda, Senior et al., 2001).

### **2.2.1 Řízení pohlavní činnosti psů**

Reprodukční funkce samců jsou řízeny nervovým a endokrinním systémem jedince. Funkce obou řídicích systémů musí být v rovnováze. Jedná se o vnitřní řídicí systém, který je geneticky zafixovaný a jeho součástí jsou i regulační mechanismy. Centrální nervová soustava je nadřazeným orgánem pro řízení pohlavní činnosti. Centra vlastního řízení jsou umístěna v mezimozku a v zadních partiích míchy. Mechanismus neurohumorálního řízení začíná v oblasti mozkové kůry. Tam jsou cíleny podněty zrakové, čichové, hmatové a sluchové, které přicházejí z vnějšího prostředí, ale jsou tam situovány i podněty vnitřní. Po jejich registraci a integraci jsou předány do hypotalamu a hypofýzy (Věžník et al., 2004). Mimo orgánů řídicích pohlavní funkce, patří do reprodukčního funkčního okruhu i gonády a vývodné pohlavní cesty. Koordinace mezi jednotlivými složkami řízení pohlavní aktivity se uskutečňuje neurohumorálně v obou směrech (Jelínek, Koudela et al., 2003).

Vlastní centrum pro řízení pohlavní činnosti představuje hypotalamus s četnými nervovými buňkami. V hypotalamu se nacházejí dvě místa, která jsou klíčová pro řízení pohlavních činností, a jsou označována jako přední a zadní sexuální centra. Zadní sexuální centrum obsahuje četná jádra, ve kterých se jako odpověď na impulzy

přicházející z předního sexuálního centra vytvářejí neurosekrety - gonadotropin releasing hormon (GnRH), zvané též liberiny. Gonadotropin releasing hormon (GnRH) působí ve specializovaných buňkách adenohipofýzy na uvolňování dvou gonadotropních hormonů. Prvním hormonem je folikuly stimulující hormon (FSH), který u samců stimuluje růst semenotvorných kanálků, tvorbu spermií, činnost Sertoliho buněk a produkci hormonu inhibinu. Druhým hormonem produkovaným adenohipofýzou je luteinizační hormon (LH) u samců zvaný též intersticiální buňky stimulující hormon (ICSH) působící na intersticiální buňky (Leydigovy buňky). LH stimuluje produkci pohlavního hormonu testosteronu. Testosteron společně s dalšími androgeny řídí vznik pohlaví a sexuální diferenciaci, stimuluje tvorbu sekundárních pohlavních znaků, růst pohlavního údu, rozvoj a funkci přídatných pohlavních žláz, formování pohlavního pudu a samčího pohlavního chování. Hormon inhibin, vytvářený v podpůrných buňkách semenotvorných kanálků varlete, zpětně působí na hypofýzu a tlumí tvorbu FSH (Jelínek, Koudela et al., 2003).

Podstatou autoregulace pohlavních funkcí je mechanismus zpětných vazeb. Účinek pohlavních hormonů na výše nadřazená centra (adenohipofýzu a hypotalamus) označujeme jako zpětnou vazbu a jejím principem je pozitivní nebo negativní ovlivnění jejich činností. Stimuluje nebo brzdí produkci nadřazených hormonů v adenohipofýze nebo hypotalamu (Jelínek, Koudela et al., 2003).

### **2.3 Ejakulát (sperma, semeno, chám)**

Ejakulát je bělavá viskózní tekutina. Skládá se z buněčné části – spermií, a tekuté části – semenné plazmy (Louda et al., 2001). Z buněčných elementů obsahuje ejakulát kromě spermií ještě odloupané epitelie, leukocyty aj. Největší podíl ejakulátu tvoří voda (90 – 98 % celkové váhy), dále obsahuje anorganické látky – sodík, draslík, chlór, fosfor, vápník, síru aj. Z organických látek pak bílkoviny, tuky, cukry a některé fermenty. Chemické složení ejakulátu, jeho množství, koncentrace spermií a jejich životnost jsou závislé na mnoha činitelích, jako je stav výživy, stáří, ustájení, pohyb, pohlavní využití samce aj. (Komárek et al., 1964). Ejakulát psa je poměrně řídký a skládá se ze tří frakcí. První frakce (0,25 – 2 cm<sup>3</sup>) je průhledná vodnatá tekutina, o níž se předpokládá, že je sekremem uretrální sliznice – Littreových žláz. Druhá frakce (0,5 – 5 cm<sup>3</sup>) je bohatá na spermie. Třetí frakce (3 – 40cm<sup>3</sup>) sestává z prostatického sekretu. Objem každé z uvedených frakcí je proměnlivý, podle velikosti a plemenné příslušnosti psa. Semeno psa neobsahuje fruktózu a kyselinu citrónovou, protože mu schází

semenné vacky. Ejakulát je tedy tvořen sekretem Littreovych žláz a převážně sekretem prostaty (Gamčık, Kozumplık et al., 1984). Ejakulát má druhově specifickou barvu, pach a konzistenci. Také množství ejakulátu při ejakulaci druhově značně kolísá. Přežvýkavci mají obecně malý objem ejakulátu, avšak vysokou koncentraci spermií. Na rozdíl od nich všežravci, šelmy a lichokopytníci mají poměrně velkı objem ejakulátu s nízkou koncentraci spermií (Marvan et al., 1998). Barva závisí na hustotě a konzistenci ejakulátu a je v odstınech šedivé až bílé barvy. Koncentrace spermií v ejakulátu zdravého psa je  $300 \cdot 10^6$  až  $800 \cdot 10^6$  spermií na  $\text{cm}^3$  (Kvapil, Kvapilová, 2007). Jiní autoři uvádí jako minimální koncentraci spermií v ejakulátu zdravého psa  $200 \cdot 10^6$  spermií na  $\text{cm}^3$  (Věžník et al., 2004; Silva et al., 2006; Silva et al., 2003; Cordoso et al., 2007, Kim et al., 2010).

### **2.3.1 Spermie**

Nejdůležitější částí ejakulátu je jeho buněčná složka nazývaná spermie (Jelínek, Koudela et al., 2003). Spermie jsou samčí pohlavní buňky vytvářející se v semenotvorných kanálcích (Gamčık, Kozumplık et al., 1992).

Již v roce 1667 je známa spermie, na objevení se podílel Leeuwenhoekův žák Ham. Sám Ham je považoval za zárodky parazitující v ejakulátu. A až dosud se můžeme setkat s označením spermatozoon – semenná zvířátka. Oplozovací schopnost ejakulátu byla prokázána pomocí inseminace v roce 1780. Spallanzani však oplozovací schopnost nepřisuzoval spermiím, ale semenné plazmě. Oplozovací schopnost spermií byla prokázána teprve roku 1824 Prévostem a Dumasem (Gamčık, Kozumplık et al., 1992). Doba nutná pro kapacitaci spermií je 7 hodin (Mahi, Yanagimachi, 1976).

Pohyblivost a schopnost oplození jsou hlavními společnými znaky. Tvar a velikost spermií jsou druhově rozdílné. Velikost spermií se pohybuje v rozmezí od 50 – 80  $\mu\text{m}$ . Díky přítomnosti sexchromozomu jsou v hmotnosti nepatrné rozdíly. Spermie, které mají malý heterochromozom Y – androspermie, jsou lehčí, než spermie s větším heterochromozomem, X – gynospermie (Jelínek, Koudela et al., 2003).

#### **2.3.1.1 Funkce spermie**

Fyziologické vlastnosti spermií jsou dány jejich morfologickou strukturou a cytochemickým složením, které podmiňují tří základní funkce:

- 1) Svým aktivním pohybem, ale i za pomoci děložních stahů, se dostávají na místo oplození vajıčka do horní třetiny vejcovodu.

- 2) Aktivně pronikají do oocyty II. řádu přes obaly (zona pellucida a corona radiata)
- 3) Přenášejí otcovský dědičný materiál na potomka (Kliment et al., 1989).

### **2.3.1.2 Stavba spermie**

#### *2.3.1.2.1 Hlavička*

Hlavička spermie je dlouhá 5 – 10  $\mu\text{m}$ . Je ze strany zploštělá a má oválný, lopatovitý tvar s ostrou hranou na předním konci (Sova et al., 1981). Její pól kryje čepičkovitý obal – akrozom (Marvan et al., 1998). Akrozom je složen z mukopolysacharidů a obsahuje četné enzymy uplatňující se při pronikání spermie do vajíčka a jeho oplození. Hlavičku tvoří především jádro s kondenzovaným chromatinem obsahujícím deoxyribonukleovou kyselinu nesoucí genetické informace pro vlastnosti nového jedince (Jelínek, Koudela et al., 2003). Podle Věžníka et al. (2000) se kategorie zbobtnání akrozomu projevila, jako významný ukazatel rezistence membránového systému spermií při krátkodobých i dlouhodobých testech. Vnější a vnitřní list akrozomové čepičky tvoří při své bázi intimní spojení obou listů se sníženým obsahem akrozomální hmoty, takže se jeví při barvení jako světlejší a označuje se jako ekvatoriální segment (Věžník et al., 2004). Dlouhá osa akrozomu k dlouhé ose hlavičky je rozdílná u jednotlivých druhů zvířat. U psa pokrývá akrozom 40 % dlouhé osy hlavičky spermie. Dále Věžník et al. (2004) uvádí, že hlavička spermie je ve své posteriorní části tvořena kalíškem jádra. Tento útvar je představován tmelovým materiálem spojujícím jadernou membránu s membránou cytoplazmatickou a vytvářející tak pevnější strukturu, více odolnou než je struktura akrozomu. Membrány anteriorní části hlavičky se podílí na procesu kapacitace a aktivace akrozomálních zymogenů v enzymy především s proteolytickým účinkem funkčně podobným trypsinu, jedná se zejména o hyaluronidázu a akrozin. U různých druhů je obsah hyaluronidázy rozdílný, vysoký obsah můžeme nalézt ve spermiích býka a králíka, v menší míře ve spermiích psa, kance a muže. U ptáků se hyaluronidáza nenachází vůbec (Gamčík, Kozumplík et al., 1984). Membrána v postakrozomální oblasti, tedy především v horní části kalíšku jádra, se zúčastní fúze spermie s vajíčkem a hraje i úlohu při jeho detekci. Celá hlavička je kryta cytoplazmatickou membránou a její integrita je podmínkou rezistence buněk. Na bazální části hlavičky je konkávní vchlípení, tzv. implantační rýha, do níž je vklíněna hlavice bičíku a společně s ní tvoří kloubní spojení hlavičky a bičíku

spermie. Boční ohraničení implantační rýhy je tvořeno bazálními granuly, která představují fibrilárně uspořádaný chromatin (Věžník et al., 2004).

Hlavičky spermie kance, hřebce a psa jsou si ve svém tvaru podobné. Mají téměř pravidelný oválný tvar. Ve srovnání s hlavičkou spermie býka jsou však o něco málo užší, kratší a na bázi hrubší (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Samotný tvar hlavičky je dán tvarem kondenzované nukleoplazmy. Výjimku tvoří mírně zdvižený a zhrubnutý apikální okraj, který je podmíněn zhrubnutím akrozomu. Tento útvar, pojmenovaný apikální tělísko, byl zjištěn při vyšetření býků, beranů a králíků, u psů toto zhrubnutí chybí (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Tvar hlavičky se neliší jen druhově, ale můžeme pozorovat i plemenné a individuální rozdíly v rámci jednoho druhu. I přes toto zjištění je zřejmé, že tvar hlavičky je geneticky kódován, jak uvádí Věžník et al. (2004).

#### *2.3.1.2.2 Bičík*

Bičík je asi 50 – 70  $\mu\text{m}$  dlouhý. Bičík je pohybovým ústrojím spermie. Zprostředkovává pohyb pohlavním ústrojím samice, čímž zajišťuje transport spermie na místo oplození. Důležitou roli při tomto procesu má mitochondriální aparát, který tvoří energii (ATP – adenzin trifosfát) a komplex axiálních vláken, kde se vytvořená energie přeměňuje na energii mechanickou (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Na bičíku rozlišujeme 4 základní části – krček, spojovací, hlavní a terminální (koncovou) část.

#### *2.3.1.2.3 Krček bičíku*

Krček (Centriol – implantační oddíl) je z hlediska struktury a vývoje nejsložitější částí celého bičíku (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Krček spermie je poměrně krátký, měří jen 2 – 3  $\mu\text{m}$  a obsahuje dvě za sebou uložené centrioly, proximální a distální. Mezi centriolami je rozepjato devět příčně segmentovaných provazců neboli chord. Z distální centrioly vystupuje osová vlákna bičíku, které je tvořeno 20 mikrofibrilami. Mikrofibrily jsou uspořádány do dvojic, přičemž jedna dvojice je centrální a je obklopena devíti dvojicemi periferními, doprovázenými z vnějšku ještě devíti hladkými provazci neboli chordami (Sova et al., 1981).

#### *2.3.1.2.4 Spojovací (mitochondriální) část bičíku*

Pro spojovací oddíl spermie je charakteristický velký počet mitochondrií (Jelínek, Koudelka et al., 2003). Mitochondrie zde tvoří pravotočivou šroubovici o 70. až 80. závitěch. Jedna mitochondrie tvoří přibližně tři čtvrtiny závitů (Věžník et al., 2004).

Distální konec tohoto oddílu je ohraničen Jensenovým prstencem, který se na podélných řezech jeví jako dva rovnoměrné trojúhelníky (Saacke, Almquist, 1964). Podklad bičíku tvoří komplex osových vláken. V jeho středu jsou dvě dutá vlákna nazývaná mikrotubuly. Ostatní vlákna jsou uspořádána do dvou koncentrických kruhů (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Vnitřní kruh je tvořen z devíti dvojitých vláken – dublet. Jedno vlákno je vždy plné a druhé duté. První plné vlákno je označováno jako element A a druhé duté vlákno jako element B (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Z každého elementu A vybíhají směrem k elementu B sousední dublety, dvě vztyčná ramena. Ramena jsou tvořena peptidy (dynein) a ATPázovou aktivitou. Uvolněná energie je přeměňována na bílkoviny (tubuliny) kontaktních vláken (Věžník et al., 2004). Soubor osových vláken (dvě centrální mikrotubuly a 9 dublet) se nazývá axon. Vnější kruh tvoří taktéž devět vláken, která jsou vždy plná, a o mnoho hrubší než vlákna předchozí. Nazývají se chordy (hladké). Jejich hrubost klesá distálním směrem (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Chordy jsou tvořeny bílkovinou s nízkou molekulární hmotností a s poměrně vysokým obsahem triglyceridů. Aminokyselinové složení bílkovin je rozdílné od doposud známých kontraktálních bílkovin (Pedersen, Fawcett, 1976; Baccetti et al., 1973).

#### 2.3.1.2.4.1 Hlavní část bičíku

Hlavní část bičíku je nejdelší část bičíku a měří 40 – 50  $\mu\text{m}$ . Tato část má podobnou stavbu jako oddíl spojovací. Je kryta fibrózní pochvou, která je složena ze dvou longitudiálních elementů. Tyto elementy probíhají paralelně s osovými vlákny (Věžník et al., 2004). Z elementů oběma směry vybíhá řada ramen, které obepínají osová vlákna a hladké chordy (Věžník et al., 2004). Fibrózní pochva zabezpečuje soudržnost osových vláken, jejich pevnost a pružnost při kmitání bičíku. Pružnost zajišťuje pomocí své tvarové paměti (Věžník et al., 2004).

#### 2.3.1.2.4.2 Terminální (koncová) část bičíku

Koncový oddíl bičíku se nachází na nejdáltnější části bičíku a měří 4  $\mu\text{m}$  (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Axon má rozdílnou strukturu, osová vlákna jsou obklopena pouze cytoplazmatickou membránou. Oba elementy (A i B) jsou duté, takže axon je tvořen dvojicí mikrotubul (Gamčík, Kozumplík et al., 1992).

### **2.3.1.3 Povrch spermie**

Celá spermie je kryta cytoplazmatickou membránou (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Cytoplazmatická membrána je dvouvrstvá, nepřerušovaná, acidorezistentní, permeabilní a velmi citlivě reaguje na změnu osmotického tlaku. Je bohatá na arginin, cystein a histidin (Kliment et al., 1983). Hlavním úkolem je chránit spermie před nepříznivými vlivy vnějšího prostředí a zároveň permeabilita cytoplazmatické membrány umožňuje látkovou výměnu spermií.

Poznatek, že cytoplazmatická membrána u živých spermií nepropouští některá barviva jako je eozin a fluorochromy, dal možnost vzniku metodě vitálně letálního barvení, díky které lze rozlišovat mrtvé a živé spermie. Dalším důkazem, že je spermie mrtvá, je zvýšení permeability cytoplazmatické membrány spermie (Jelínek, Koudela et al., 2003).

### **2.3.1.4 Chemické složení spermií**

Cytoplazmatická membrána pokrývající celou spermii obsahuje bílkovinu podobnou keratinu, která je pravděpodobně vázána na lipidy. Tato bílkovina je bohatá na arginin, cystein a histidin.

Hlavička spermie je tvořena jádrem, které je vyplněno chromatinem obsahujícím převážně deoxyribonukleovou kyselinu (DNA). Množství DNA je ve zralých spermiích proti ostatním somatickým buňkám poloviční, avšak pro každý živočišný druh relativně konstantní. Změna obsahu DNA, stejně jako její poškození, vede k poruchám až ztrátě oplozovací schopnosti spermií.

Akrozom pokrývající hlavičku spermie je složen z mukopolysacharidů. Obsahuje fruktózu, manózu, galaktózu, ale i lipidy, kalium, kyselou a alkalickou fosfatázu aj. V akrozomech spermií byla zjištěna také pektináza samčího semene, která umožňuje spermiím pronikat přes zona pellucida do vajíčka.

Bičík spermií je kromě proteinů bohatý na lipoproteidy a enzymy. V cytoplazmě spojovací a hlavní části bičíku se nachází řada enzymů podmiňujících metabolickou činnost spermií. Fibrily bičíku obsahují především protein, jehož vlastnosti jsou podobné vlastnostem bílkovin epiteliálních buněk nebo bílkovinám bičíků prvoků. Lipoproteiny je tvořena spirála obepínající fibrily. Při průchodu nadvarletem se pokrývá povrch spermie tenkou vrstvičkou, která má vlastnosti podobné kreatinu.

Přibližně 1 až 2 % hmotnosti spermií tvoří minerální látky. Nejčastěji jsou zjišťovány ve formě fosforečnanů, méně jako chloridy a sírany. Železo se vyskytuje převážně jako hematin, jehož část vázaná na protein je většinou ve formě cytochromu (Gamčík, Kozumplík et al., 1984).

### **2.3.2 Enzymy ejakulátu**

Enzymem, který umožňuje spermiím pronikat, přes zona pellucida, do vajíčka je akrozin. Byly zjištěny tři druhy akrozinu, které se liší vzájemně molekulovou hmotností. Tyto enzymy se nacházejí výhradně v akrozomu spermií.

Indofenoloxidáza – se označuje také jako enzym dýchání, protože se uplatňuje v procesu látkové výměny a dýchání spermií. Z celkového množství tohoto enzymu zjišťovaného v ejakulátu se asi 71 % nachází ve spermiích.

Fosfatáza – v semenné plazmě je několik enzymů, z nichž nejaktivnější jsou kyselá a alkalická fosfatáza. Kyselá fosfatáza se vytváří převážně v prostatě, a proto jsou její vysoké hladiny zjišťovány v semeni těch živočišných druhů, kde sekret prostaty tvoří podstatnou část ejakulátu, tak jako tomu je u psa domácího.

Adenozintrifosfatázy (ATP) – jsou enzymy, které se nacházejí jak v bičíku spermií, tak v semenné plazmě. Byly zjištěny celkem tři enzymy, které se označují jako kyselá ATP, alkalická ATP a pyrofosfát tvořící adenozintrifosfatázu (Gamčík, Kozumplík et al., 1984).

#### **2.3.2.1 Pohyb spermií**

Vlastním orgánem zajišťujícím pohyb spermií je axonema. Každá z jeho devíti periferních dvojic dubletů – mikrotubulů obsahuje mikrotubul A, který je kompletní, uzavřený a jehož stěna je tvořena třinácti protofilamenty o průměru 3,5 nm. A mikrotubul B, který je neúplný a přiložen k elementu A. Element B má jen 10 protofilamentů. Protofilamenty jsou tvořeny proteinem tubulinem. Tubulin je dimer o molekulové hmotnosti 110 000 a je hlavním strukturním proteinem mikrotubulů. Tubulin je identický s mikrotubulárním proteinem interfázních somatických buněk i vřetenka dělicích se buněk. Element A v každém dubletu axonematu má dva postranní výběžky, dyneinová raménka, tvořená proteinem dyneinem, který má schopnost štěpit kyselinu adenosintrifosforečnou (Sedláček in Hrabcová, 2007). Jeho molekulová hmotnost je asi 40 000 a skládá se ze tří frakcí. Ramena podjednotky A směřují k následujícímu dubletu. Periferní mikrotubuly jsou vzájemně spojeny nexinovými



spojkami a radiálními spojkami se společnou pochvou dvojice centrálních mikrotubulů. Také každý z centrálních mikrotubulů je tvořen třinácti protofilamenty. Při pohybu nastává lokalizovaný skluz mezi sousedními dublety. Zevní hustá vlákna a fibrózní pochva s podélnými sloupci omezují pohyb bičíku do jedné roviny (Hrabcová, 2007).

### **2.3.3 Semenná plazma**

Semenná plazma je tekutá složka ejakulátu specifického množství, konzistence, barvy a rozdílného pH, které se pohybuje v rozmezí od 6,2 do 7,5 (Jelínek, Koudela et al., 2003). Spermii poskytuje ochranu před vlivy prostředí a podněcuje jejich pohyb. Pro spermie obsahuje zdroj energie. Živočišné druhy s intrauterinním typem ejakulace (pes, hřebec, kanec) tvoří velké množství semenné plazmy. Tato vlastnost slouží pro pasivní transport spermií dělohou a relativně dlouhými děložními rohy samic (Gamčík, Kozumplík et al., 1992).

Hlavní složku semenné plazmy tvoří sekrety přídatných pohlavních žláz. Další součástí semenné plazmy jsou tekutiny pocházející z varlete, nadvarlete, chámovodu a močové trubice (Marvan et al., 1998). Semenná plazma není tvořena plynule, tvoří se a uvolňuje se reflektoricky ve chvíli ejakulace. Její množství je ovlivněno produkcí testosteronu a stupněm pohlavního podráždění (Kliment et al., 1983).

Semenná plazma obsahuje také minerální látky. Například Máchal et al. (2007) uvádí, že optimální poměr minerálních látek P, Ca, Mg a Cu vede k pozitivnímu ovlivnění kvalitativních parametrů spermií v ejakulátu. Dále pak semenná plazma obsahuje bílkoviny, cukry, kyselinu citrónovou a askorbovou, a také velké množství enzymů. Mezi první enzymy patří kyselá a alkalická fosfatáza. Kyselá fosfatáza se vytváří v prostatě, proto její vysoké hladiny byly zjištěny u druhů, které vytvářejí velké množství prostatické tekutiny, jak je tomu např. u psa domácího. Kyselá fosfatáza je účinná při pH 5,5, kdy katalyzuje přeměnu fosfátu, jak z betafosfoglycerolu, tak fosfokreatinu v glukózu. Na druhou stranu, alkalická fosfatáza pochází ze semenných váčků a její optimální účinek je při pH 9,0. I když značnou aktivitu vykazuje již při hodnotě pH 7,0. Funkcí alkalické fosfatázy je vytváření fruktózy z krevní glukózy. Mezi další enzymy vyskytující se v ejakulátu psů patří – 5-nukleotidáza a pyrofosfatáza. Kataláza se vyskytuje v celém ejakulátu při kontaminaci bakteriemi, pokud je přítomen hnis, krev či epitel. Obsah katalázy je tedy podkladem pro hodnocení hygienické kvality ejakulátu (Gamčík, Kozumplík et al., 1992).

Další složkou obsaženou v semenné plazmě jsou biologicky aktivní látky, například prostaglandiny, estrogény a androgeny. Setkání spermií se semennou plazmou není nezbytné pro jejich oplozovací schopnost, ale je prokázáno, že spermie v semenné plazmě mají větší oplozovací potenciál. Tento potenciál ovlivňují zejména prostaglandiny, obsažené v semenné plazmě, které reagují s hlenem sliznice krčku děložního a upravují jej pro průchod spermií, a zároveň způsobují kontrakce hladké svaloviny dělohy (Reece, 1998).

Podíl semenné plazmy na celkovém objemu ejakulátu je druhově rozdílný (Jelínek, Koudela et al., 2003). U nižších živočichů a ptáků je tento podíl celkově malý, oproti většině savců, u kterých semenná plazma tvoří 70 – 98% ejakulátu (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Na celkovém objemu ejakulátu u býků se semenná plazma podílí 90 – 95 %, u berana a kozla, díky vysoké koncentraci spermií v ejakulátu, pouze 70 – 75 %. Vyšší podíl semenné plazmy pak mají hřebci, kanci a psi, kdy se podíl pohybuje v rozmezí 95 – 98 %. U psa při odběru ejakulátu se často nezachytává celá třetí frakce, čímž je podíl semenné plazmy nižší (Gamčík, Kozumplík et al., 1976).

#### **2.3.4 Sekret přídatných pohlavních žláz**

Jak již bylo popsáno výše, semenná plazma je tvořena sekrety přídatných pohlavních žláz a sekrety vývodných cest. Jako první sekret podílející se na složení semenné plazmy lze uvést sekret nadvarlat, který je řídký a čirý, obsahující velké množství draslíkových iontů a oxidu uhličitého. Tento sekret je však chudý na ionty sodíku a chloru, a také na fruktózu a kyselinu citronovou. Hodnota pH sekretu nadvarlete je 5,6 – 6,6. Druhým sekretem obsaženým v semenné plazmě je sekret ampulí chámovodu o hodnotě pH 6,0. U psa a kance, díky absenci ampulí chámovodu, však není znám. V případě psa se tak stává velmi významným třetí sekret, a to sekret prostaty. Jedná se o řídkou, průzračnou kapalinu (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Na celkovém objemu ejakulátu se sekret prostaty podílí různou, druhově specifickou, měrou. U býka 4 – 6 %, u berana 2 – 3 %, u hřebce 25 – 30 %, u kance kolem 30 %, u muže 13 – 32 % a u psa dokonce 85 – 90 % z celkového objemu ejakulátu. I pH sekretu prostaty je druhově rozdílné. U býka, muže a psa je mírně kyselé, kolem 6,5. U hřebce se pH sekretu prostaty pohybuje kolem 7 – 7,2 a u kance 7 – 8. Chemické složení sekretu prostaty je u psa poměrně dobře prozkoumáno. Sekret prostaty psa obsahuje 1 % bílkovin, 30 – 40 % lipidů, celkový dusík je z 50 – 60 % vázán v bílkovinách, z 20 % v polypeptidech a z 10 – 15 % v nebílkovinných sloučeninách.

Přítomnost volných AK byla zjištěna jak u psa, tak i u muže a býka, nejvíce však v sekretu krysí prostaty (Mann, 1954).

V sekretu prostaty je také znám vysoký obsah zinku, čímž se také odlišuje od ostatních tělních tekutin. U psa, králíka a morčete, byla v prostatě zjištěna i přítomnost adrenalinu (Gamčík, Kozumplík et al., 1976).

### **2.3.5 Vlastnosti a složení ejakulátu**

Během ejakulace dochází k vypuzování zralých spermií z ocasu nadvarlete a ampule chámovodu do vývodných pohlavních cest. Zde se setkávají se sekrety přídatných pohlavních žláz a při tom dochází k aktivaci pohybu spermií a naředění ejakulátu. Proces ejakulace probíhá druhově rozdílně. U přežvýkavců, hlodavců a ptáků, vrcholí ejakulační reflex jednorázovou ejakulací trvající 2 – 4 sekundy. U kance, hřebce a masožravců, dochází k ejakulaci frakcionovaně, přitom délka celé ejakulace trvá 2 – 20 minut. U přežvýkavých hospodářských zvířat můžeme hovořit o tzv. bleskové ejakulaci, při které dochází k ejakulaci relativně malého množství, ale velmi koncentrovaného ejakulátu. Samci ostatních druhů mají dobu ejakulace výrazně delší, při které dochází k ejakulaci ejakulátu s velkým objemem, ale nízkou koncentrací spermií (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Po ejakulaci se ejakulát může jevit jako tekutý nebo polotekutý. O tekutém ejakulátu mluvíme u psa, přežvýkavců a ptáků. U kance, hřebce, králíka, hlodavců a hmyzožravců obsahuje ejakulát ještě hlen či rosolová zrna, která tvoří po kopulaci v pohlavních orgánech samice zátku (bouchon vagina). Zátka má zabránit zpětnému výtoku ejakulátu (Gamčík, Kozumplík et al., 1976).

Ejakulát psa je relativně řídký a skládá se ze tří frakcí. První prespermiová frakce upravuje pH uretry (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Jedná se o průhlednou, vodnatou tekutinu. Objem této frakce je 0,25 až 2 ml (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Druhá spermiová frakce je tvořena sekrety nadvarlete, z tohoto důvodu je bohatá na spermie, objem kolísá od 0,5 do 5 ml (Gamčík, Kozumplík et al., 1992). Christiansen (1984) uvádí, že délka vypuzování této frakce může být kratší při odběru do umělé vagíny než při odběru rukou. Třetí postspermiová frakce obsahuje sekret prostaty a má objem v rozmezí 3 až 40 ml. Objem každé výše uvedené frakce se mění dle velikosti a plemenné příslušnosti psa (Gamčík, Kozumplík et al., 1976). Psi a kocouři ejakulát neobsahuje fruktózu ani kyselinu citronovou, protože tyto živočichové nemají měchýřkovité žlázy (Gamčík, Kozumplík et al., 1992).

## **2.4 Odběr a hodnocení psiho ejakulátu**

Odběr psiho spermatu lze provést manuálně, elektroejakulací nebo punkcí nadvarlete (Christensen et al., 2011).

Nelze hodnotit kvalitu psa podle výsledků vyšetření jednoho odebraného ejakulátu. Neexistují však doporučení pro načasování odběru ve vztahu k sexuální aktivitě, tak jak je běžné u lidí. U lidí je doporučován sexuální klid nejméně 2 a nejvíce 7 dní před odběrem. Pro zhodnocení kvality ejakulátu psa je doporučeno odebrat minimálně dva vzorky v rozmezí 7 – 21 dní od sebe (World Health Organization, 1999). Louda (1984) uvádí, že lze dlouhodobě získávat jeden ejakulát za 48 hodin. Je možno získat semeno tři dny po sobě, ale potom má následovat dvoudenní odpočinek. Je-li nutno odebrat ejakulát dvakrát denně, má následovat dvoudenní přestávka. Při dlouhodobém pohlavním klidu dochází k sekundárním změnám na spermiích uložených v nadvarlatech, což se upraví opakovaným odběrem ejakulátu.

### **2.4.1 Metody získávání ejakulátu**

Psi jsou sexuálně aktivní po celý rok. Možné vlivy sezóny jsou tak minimální. U většiny plemen je předpokládán nástup pohlavní dospělosti u psů až o dva měsíce dříve než u fen, často ve věku 9 – 12 měsíců (Procházka, 2005).

Nejvyužívanější metodou pro odběr ejakulátu u psů je ruční stimulace (masturbace). Za ideálních podmínek je odběr prováděn za přítomnosti háravé feny (Kutzler, 2005), nebo s použitím feromonů ve formě poševního výtoku, získaného od háravé feny, zachovaného na absorpčním materiálu. Ejakulát od psa lze získat i přesto, že háravá fena či feromony nejsou k dispozici. Takto získané ejakuláty však vykazují celkově nižší objem a nižší koncentraci spermií (Hess, 2006; Finsterle, 2009).

Odběr je vhodné provádět v klidném prostředí tak, aby přítomnost lidí (především pro psa neznámých) byla v co největší míře omezena (Svoboda, Senior et al., 2001). Je nezbytné eliminovat rozptylování a postupy vedoucí k úzkosti, či bolestivosti výkonu (Kutzler, 2005). V některých případech již přítomnost neznámého člověka u odběru zamezí vzrušení psa. U takových psů je výhodné, když odběr semene provede sám majitel (Svoboda, Senior et al., 2001). U plachých psů lze pro zlepšení kvality ejakulátu použít před odběrem hru s majitelem. Z počátku je psí penis silně masírován přes předkožku na úrovni bulbus glandis, až do okamžiku částečné erekce. Poté se provede stažení předkožky za bulbus glandis a na penis je v tomto místě stále vyvíjen pevný tlak, a to stlačením mezi ukazováčkem a palcem (Kutzler, 2005). Důležitá je při odběru

i lateralita laboranta – pravák by měl s pyjem psa manipulovat levou rukou a se sběrnou nádobou pravou rukou.

Vzhledem ke kontrakcím svalů močové trubice, dochází k zabránění odtoku žilní krve z kavernózního těla penisu. Krev zůstávající v dutinách kavernózní tkáně způsobuje zduření bulbus glandis (topořivého tělesa) a zvětšení (prodlužování) penisu. Při odběru může dojít k situaci, kdy pes při úplné erekci demonstruje svázání přesunutím pravé končetiny přes pravou ruku odběratele, čímž dochází k otočení penisu o 180°. Odběrový technik by nadále měl udržovat tlak za topořivým tělesem. Penis je v této části velmi elastický a kroucení nezpůsobuje žádné potíže (Finsterle, 2009). Erekcce začíná ihned po vytvoření tlaku za bulbus glandis. Ejakulaci způsobuje stimulace sympatických nervů penisu. K vypuzení spermií a prostatické tekutiny dochází pomocí peristaltických kontrakcí svalů močové trubice (Kutzler, 2005).

#### **2.4.2 Inseminace u psů**

Získaný ejakulát lze využít k umělému oplodnění, nebo ke kryokonzervaci. V chovatelské praxi se můžeme setkat se situací, kdy máme sice obě pohlaví (psa i fenu) k dispozici, ale přirozené páření není možné z důvodů vaginální anomálie (vaginální septa, hyperplazie), nebo jiné překážky, v takovém případě přistupujeme k umělému oplodnění. Častěji se ale setkáváme se situací, kdy pes je příliš vzdálen, a není možný transport feny a její přirozené oplodnění. V této situaci se jeví jako výhodnější transport pouze ejakulátu a inseminace feny v místě jejího pobytu. Dnes již je možné psí sperma uchovávat pomocí kryokonzervace, a využívat tak geneticky cenný materiál nezávisle na životě jeho dárce (Kutzler, 2005). Je prokázáno, že u fen po inseminaci čerstvým spermatem je zabřezávání na stejné úrovni jako u přirozeného krytí. Při správném načasování dochází k zabřeznutí až 84 % fen (Linde-Forsberg, Forsberg, 1989). Při inseminaci čerstvým spermatem se celý ejakulát, nebo pouze frakce bohatá na spermie deponuje do oblasti děložního krčku, pomocí plastových inseminačních pipet a stříkaček. Poté je doporučeno nadzdvihnoutí zádě feny a ruční stimulace genitálií (Foote, 1964; Concannon et al., 1989).

Každý vzorek odebraného spermatu by měl projít základním hodnocením (aktivita, koncentrace, morfologie), před jeho použitím pro inseminaci nebo kryokonzervaci. V praxi se tak však často neděje, vzhledem k nedostatečnému vybavení pracovišť, kde se inseminace provádí. V případě starších psů, psů, kteří mají být v chovu využiti poprvé, psů s již neúspěšným krytím, nebo psů s málopočetnými vrhy,

by mělo být provedeno vyšetření kvality ejakulátu před každým plánovaným krytím, nebo odběrem pro inseminaci. U psů s abnormální předkožkou, hematurii, krví v ejakulátu nebo jinými příznaky napovídající onemocnění prostaty, by měl být odebrán vzorek ejakulátu s vyšším důrazem na třetí frakci, i když pro umělé oplodnění a kryokonzervaci je lepší využít pouze první a druhou frakci. Při hodnocení plodnosti, musíme nahlížet na ejakulát jako na celek, nestačí hodnotit pouze spermatickou frakci (Kutzler, 2005).

#### **2.4.2.1 Pomůcky pro odběr spermatu u psů**

Materiál potřebný pro odběr spermatu u psů závisí na metodě a zkušenosti laboranta. Nejčastěji se využívají dvě sterilní zkumavky o obsahu 15 ml. Jedna slouží pro zachycení první a druhé frakce, a druhá k zachycení třetí (prostatické) frakce. Pro začínající pracovníky je výhodné použít inseminační kužel, k jehož konci je připevněna 15ml sterilní zkumavka. Tato metoda eliminuje riziko ztráty části frakce bohaté na spermiie, ke které může dojít při nezkušenosti laboranta. Inseminační kužely jsou často z latexu (Freshman, 2002). Nevýhodou při použití těchto latexových kuželů je riziko špatné hygieny – při nedostatečné očištění mezi jednotlivými odběry může dojít k přenosu infekce, nebo znehodnocení získaného ejakulátu zbytky dezinfekce či vody. V roce 1991, byla prokázána snížená aktivita spermatu při kontaktu s latexem, proto se doporučuje použití raději vinylových pomůcek, u kterých snížená aktivita spermií prokázána nebyla.

Při odběru spermatu má pozitivní vliv přítomnost háravé feny. Její přítomnost při odběru, zejména u nervózních psů, či psů bez předchozí zkušenosti s odběrem, zvyšuje pravděpodobnost úspěšného odběru ejakulátu. Pokud není k dispozici háravá fena, lze do určité míry její přítomnost nahradit submisivní fenou, nebo poševním sekretem získaným od zdravé háravé feny a uchovaným v mrazu. Případně lze využít, na trhu již dostupné, syntetické analogy feromonů pachu háravé feny, které se aplikují na gázu a s ní umístí na kořen ocasu neháravé feny.

Dále je také možné použít sterilní nespermicidní lubrikační přípravek na sliznici penisu, který zabrání inverzi předkožky po odběru (England, 1992).

Odebraný ejakulát je třeba chránit před vlivy vnějšího prostředí, jako je změna teploty, kontaminace vodou, saponáty či desinfekčními prostředky. Psí sperma není tak náchylné k chladovému šoku, jako je tomu u skotu nebo koní, ale vysoké teploty

naopak poškozují spermie velice rychle. Aby nedošlo k poškození spermií, mělo by být získané sperma uchováváno v rozmezí teplot 20 až 37 °C (England, 1992).

### **2.4.3 Hodnocení psího ejakulátu**

Při hodnocení psího ejakulátu stanovujeme objem, barvu, konzistenci, koncentraci spermií, aktivitu a procento normálních spermií (Johnston, 1991).

#### **2.4.3.1 Objem**

Objem ejakulátu je variabilní a značně kolísá. Zjišťuje se měřením v kalibrovaném válci (Louda, 2001). Psí ejakulát má tři frakce. První (prespermatická) má malý objem a obsahuje málo, nebo vůbec žádné spermie (Root Kustritz, 2007). Svoboda, Senior et. al. (2001) uvádí, že prespermatická část ejakulátu má objem 0,3 – 2 ml a je vylučována po dobu 5 – 20 sekund. Druhá (spermatická) frakce pochází z nadvarlete a je bohatá na spermie (Root Kustritz, 2007). Spermatická frakce se vylučuje při maximálním zduření pyje po dobu 0,5 – 4 minut, při objemu 0,5 – 12 ml (Svoboda, Senior et al., 2001). Třetí (prostatická) frakce je složená výhradně z prostatické tekutiny a opět obsahuje málo spermií, nebo žádné spermie neobsahuje (Root Kustritz, 2007). Postspermatická frakce představuje 2 – 30 ml tekutiny pocházející z prostaty, vylučuje se po dobu 5 – 15 minut v průběhu tzv. svázání (Svoboda, Senior et al., 2001). Objem je velmi variabilní, zejména u třetí frakce. Objem nepatří mezi ukazatele kvality ejakulátu, ale je součástí vyšetření a je důležitý pro určení celkového počtu spermií v ejakulátu (Root Kustritz, 2007). Jelínek, Koudela et al. (2003) udávají, že průměrný objem celého ejakulátu u psů je 6 ml. Věžník (2004) uvádí, jako průměrný objem ejakulátu u psů hodnotu 2 ml. Gamčík, Kozumplík, et al. (1992) uvádí, že objem celého ejakulátu se pohybuje od 2 do 50 ml, přičemž průměr je 7 ml.

#### **2.4.3.2 Barva**

Louda (2001) uvádí, že barva ejakulátu se posuzuje proti světlu. Dobré sperma je barvy bělavé, v některých případech šedobílé, nebo mírně nažloutlé. Špatné sperma, nehodící se k inseminaci, bývá zbarveno silně žlutozeleně, anebo zeleně, přimísením hnisu, moči či nežádoucích mikroorganismů. Špatné je i sperma s příměsí krve.

Root Kustritz (2007) uvádí, že hodnocení barvy spermatu je subjektivní, ale může být indikátorem pro další vyšetření ejakulátu. Ejakulát, který je čirý, má často velmi

nízkou nebo nulovou koncentraci spermií v ejakulátu. Zakalený nebo mléčně zbarvený ejakulát pravděpodobně spermie obsahuje. Takovýto ejakulát by měl být vyšetřen mikroskopicky, neboť pes s azoospermií může vnést do ejakulátu nadměrné množství tukových kapének, které vytvoří zakalené zbarvení. Žluté zbarvení spermatu může být vyvolané přítomností moči. U lidí bylo toto zbarvení zaznamenáno při žloutence, nebo po požití některých vitamínů. Červené zbarvení ejakulátu svědčí o přítomnosti krve. Mezi nejčastější příčiny hemospermatu patří onemocnění prostaty, nebo traumatické poškození penisu (Leary, 1974; Phillips et al., 2012).

### **2.4.3.3 Aktivita**

Progresivní pohyb spermií vpřed za hlavičkou je jedním z nejvýznamnějších ukazatelů oplozovací – fertilizační schopnosti čerstvého ejakulátu. Hodnotí se charakter pohybu, určuje se směr a rozsah kmitů hlavičkou spermie. Přímočarý progresivní pohyb spermií je znakem jejich funkční plnohodnotnosti a vyjadřuje se v procentech. U ejakulátů určených k přímé inseminaci, nebo konzervaci, se požaduje minimální aktivita 70 % (Louda, 2001). Tuto hodnotu uvádí jako optimální také Věžník (2004) a Svoboda, Senior et al. (2001). Nicméně tito autoři poukazují na zvyšující se procento psů v populaci, kteří této požadované aktivity nedosahují. S prodlužující se dobou po odběru, dochází u ejakulátu k tzv. vitální degeneraci spermií, při které se rychlost přímočarého pohybu zpomaluje a mění se na pohyb kruhový, následuje pohyb přerušovaný, trhavý až postupně pohyb ustává (Louda, 2001). Aktivita spermií se posuzuje u každého ejakulátu. Ze sběrače se odebere kapka ejakulátu a umístí se na podložní sklíčko vyhřáté na teplotu 39 °C, přikryje se tenkým krycím sklíčkem a posuzuje při 200 – 300 násobném zvětšení. Hodnotí se minimálně 3 zorná pole a stanovuje se procentuální zastoupení spermií pohybujících se vpřed za hlavičkou. Vedle přímočarého pohybu vpřed za hlavičkou je třeba sledovat i ostatní druhy pohybu, které se hodnotí jako závadné (kolébavý, kruhový, na místě, zpětný). Nežádoucí je i shlukování spermií, tzv. aglutinace (Louda, 2001).

Je prokázáno, že pro uchování psího spermatu je výhodnější pokojová teplota, než teplota tělní (Bartlett, 1962; Threlfall, 2003). Je potřeba se vyhnout i kolísání teploty. Chatterjee et al. (1976) poukazují na zhoršenou aktivitu při hodnocení psího ejakulátu v tropických oblastech. Výrazně horší aktivita tu byla zjištěna u vzorků při poruše klimatizace. Boucher et al. (1958) a England (1999) prokázali, že četnost odběrů ejakulátu nemá vliv na procento aktivních spermií. Na aktivitu spermií, ale může mít



vliv také věk. Například, byl prokázán pokles o 0,27 % aktivních spermií v ejakulátu za rok u mužů nad 45 let (Pasqualotto, et al., 2005).

Ve veterinární praxi je požadavek na aktivitu spermií u zvířat minimálně 70 % aktivních spermií v ejakulátu. U aktivity lze posoudit rychlost a kvalitu pohybu jednotlivých spermií, přičemž psi spermie by měla zorné pole mikroskopu přejít za 2 – 3 s (Threlfall, 2003). Je prokázáno, že procento aktivních spermií má pozitivní korelaci s procentem morfologicky normálních spermií u psů (Ellington et al., 1993; Agarwal et al., 2003). Morfologicky normální spermie, které ovšem nevykazují aktivitu, mohou být ve vzorku způsobeny kontaminovaným vybavením, vystavením nevhodné teplotě (příliš rychlý pokles, nebo teplotní výkyvy), v ojedinělých případech se může jednat o abnormality na bičících. V lidské andrologii se hodnotí kvalita pohybu jednotlivých spermií čtyřmi stupni A – rychlý progresivní pohyb, B – pomalý progresivní pohyb, C – bez progresivního pohybu, D – bez pohybu (World Health Organization, 1999), přičemž se hodnotí 200 spermií z každého získaného vzorku.

Různí autoři poukazují na možnost vyhodnocení psího ejakulátu přístrojem CASA (počítačově automatizované vyšetření semene (Agarwal et al. 2003; Gunzel-Apel et al., 1993; Núñez-Martínez et al., 2006; Rigau et al., 2001; Rijsselaere et al., 2002; Rijsselaere et al., 2003; Walker et al., 1982). Tento přístroj dovoluje zhodnotit více ukazatelů motility u spermií, než jen rychlost a progresivitu pohybu. Lze hodnotit křivočarý pohyb včetně rychlosti, lineární rychlost a amplituda vychýlení hlavičky do boku. Získané výsledky lze využít pro další matematické hodnocení aktivity spermií jako je např. Skóre kvality spermatu (Agarwal et al., 2003) nebo Index pohyblivosti spermií (Rijsselaere et al., 2002). U psů však zatím nebyly tyto výsledky, ve vztahu k plodnosti, publikovány. Autoři se zabývali významem těchto výsledků na možnost kryokonzervace a další manipulace se psím spermatem v laboratorních podmínkách (Núñez-Martínez et al., 2006; Rigau et al., 2001). V klinické praxi zatím nedošlo k ověření získaných poznatků, bylo však prokázáno, že subjektivní metoda hodnocení aktivity psího ejakulátu a metoda CASA, mají pozitivní korelaci výsledků  $r=0,924$  (Gunzel-Apel et al., 1993; Walker et al., 1982).

#### ***2.4.3.4 Koncentrace a celkový počet spermií***

Koncentrace je jedním z parametrů, které se hodnotí při vyšetření ejakulátu u psů, nemá však vypovídající hodnotu o kvalitě získaných spermií. Je prokázáno, že je koncentrace v nepřímé úměře k objemu ejakulátu (Power, 1963). Koncentrace násobená

objemem nám dává celkový počet spermií v ejakulátu. Martinez (2004) uvádí, že jedním z nejdůležitějších ukazatelů kvality ejakulátu je celkový počet spermií. V normálním ejakulátu se může celkový počet spermií pohybovat mezi 300 miliony – 2 miliardami spermií v závislosti na plemeni, velikosti varlat a sexuální stimulaci během odběru. Olar et al. (1983) uvádí, že celkový počet spermií je závislý na velikosti varlat. U středně velkých psů je celkový počet spermií větší než 300 milionů v ejakulátu.

Je prokázáno, že při častém využívání plemeníka, může dojít ke snížení celkového počtu spermií v ejakulátu, jako následek vyčerpání rezerv v nadvarleti (Boucher et al., 1958; England, 1999). U lidí je prokázán vliv věku na snížení celkového počtu spermií v ejakulátu, a to o 2,1 % za rok po dovršení 45. roku věku (Pasqualotto et. al., 2005). U zdravých psů může dojít k ejakulaci azoospermického, nebo oligospermického ejakulátu v důsledku bolesti, či stresu, v průběhu odběru ejakulátu (Martinez, 2004). V humánní medicíně se za azoospermický ejakulát prohlásí vzorek, u něhož systematické vyšetření usazeniny, získané odstředěním po dobu 15 minut a následným odsátím supernatantu, prokáže nepřítomnost spermií.

Autoři (Gunzel-Apel et al., 1993; Foot, Boucher, 1964 a Eljarah et. al. 2005) uvádějí, že pro stanovení koncentrace spermií u psů je možné využít přístroj CASA, a nebo hemocytometrickou metodu. Hemocytometrická metoda byla hodnocena jako stejně přesná, nebo přesnější než metoda CASA, a je tedy považována za nejvhodnější metodu pro stanovení koncentrace spermatu u psů. Další metodou, která byla zkoušena na hodnocení spermatu u psů, je použití standardizovaných fotografií spermatokritů. Tato metoda byla vytvořena pro býka a berana, kdy vzorky se známou koncentrací 100, 200, 400, 800 a 1,5 miliardy spermií/ml, byly rozptýleny do 10mm komory a vyfotografovány pro vytvoření standardního rozložení dané koncentrace. Sperma neznámé koncentrace bylo umístěno do stejné komory a koncentrace hodnocena srovnáním se standardizovanými fotografiemi s odhadem koncentrace. Tato metoda však, ve srovnání s hemocytometrickou metodou, vykazovala vysoce průkazný rozdíl výsledných hodnot až o 15,2 % (Makler et al., 1984). Spermatokrit je stanovení koncentrace spermií pomocí vybavení pro stanovení hematokritu, tato metoda však není u psů dostatečně přesná (Root Kustritz et al., 2006).

U psů je koncentrace spermií poměrně nízká. Jelínek, Koudela et al. (2003) uvádí koncentraci u psa 120 tisíc spermií v  $\text{mm}^3$ , u býka 1 milion spermií v  $\text{mm}^3$ , u kozla a berana dokonce 3 miliony spermií v  $\text{mm}^3$ . Věžník et al. (2004) udávají koncentraci u psa nejméně 200 tisíc v  $\text{mm}^3$ , u býka uvádí minimální koncentraci 700 tisíc v  $\text{mm}^3$ .

Gamčík, Kozumplík, et al. (1992) uvádí, že koncentrace spermií u psa se pohybuje mezi 5 – 500 tisíci v mm<sup>3</sup> a je v přímé závislosti na objemu ejakulátu. Power (1963) říká, že koncentrace je nepřímo úměrná shromážděnému objemu.

Pokud koncentraci vynásobíme objemem ejakulátu, získáme celkový počet spermií v ejakulátu. Celkový počet spermií v ejakulátu se pohybuje od 300 do 2 000 milionů (Johnston, 1991). Počet spermií je velmi variabilní, je závislý na plemeni a hlavně na velikosti varlat konkrétního jedince (Olar et al., 1983). Velikost varlat, a tím i denní produkce spermií, objem ejakulátu a celkový počet spermií, závisí na velikosti těla. Při srovnání velkých (25 – 40 kg) a středních (5 – 15 kg) psů, byly rozdíly ve velikosti varlat dvou až třináásobné, 44g u velkých psů a 16g u středních psů. Rozdíly byly i v objemu ejakulátu prostého spermií (5,4 a 2,4 ml) a v celkovém počtu vyprodukovaných spermií (1,4 versus 0,5 miliardy spermií v ejakulátu) (Cupps, 1987).

Při výskytu celkově nízkého počtu spermií v ejakulátu se může jednat o nedostatečné nastimulování psa, zejména při odběru za nepřítomnosti háravé feny, jako důsledek bolestivého odběru, stresu během odběru, nebo z jiných příčin (Svoboda, Senior et al., 2001). Celkový počet spermií se také může snížit při příliš častém odběru ejakulátu (Boucher et al., 1958). Peňa (2004) udává, jako důvod získání oligospermatikéno, nebo aspermatikého ejakulátu, nešetrné či bolestivé provedení odběru.

#### **2.4.3.5 Morfologické vyšetření**

Na přípravu vzorku k mikroskopické analýze se používá ředěný i neředěný ejakulát. Základním předpokladem pro získání objektivních výsledků, při morfologickém vyšetření, je správné zhotovení nátěru vyšetřovaného ejakulátu. Nátěr má být jemný, souvislý a nepoškozený. Při zhotovení nátěru je důležité, aby byla správně připravena podložní sklíčka. Při nesprávném postupu mohou vznikat artefakty, které by mohly být pokládány za morfologické malformace spermií (Svoboda, Senior et al., 2001).

Důležitým parametrem pro hodnocení kvality spermatu je morfologie spermií. Ke vzniku morfologických abnormalit spermií vedou poruchy (Malmgren, 1997). Kuster et al. (2004) uvádí, že zjišťování počtu abnormálních spermií při morfologickém vyšetření, hraje důležitou roli pro stanovení fertility. To je dále důležité pro selekci plemeníků, k odhadu vhodnosti ejakulátu ke skladovatelnosti, popřípadě kryokonzervaci a pro účely umělé inseminace. Poruchy plodnosti mohou být

zapříčiněny právě vyšším procentem výskytu morfologicky změněných spermií (Saacke et al., 2000). Gamčík, Kozumplík et al. (1992) upřesňují, že morfologicky abnormální spermie mohou ovlivnit plodnost, a to vytvořením defektní zygoty, blokováním fertilizace normálních spermií, příp. omezením jejich pohybu.

Při zjištění nižší plodnosti daného samce se může jednat o všeobecné anomálie, které se běžně stanovují ve spermatologických laboratořích, či o rozličné defekty ve stavbě spermií, které se dají zjistit pouze elektronovými mikroskopy, cytologickými, cytochemickými a histologickými metodami (Louda et al., 2001). Při hodnocení morfologie spermií lze využít celé řady různých metod a barviv, jako jsou barvení podle Farellyho (Boersma et al., 2001), barvení podle Čerovského (Věžník et al., 2004), barvení podle Papanicolaoua (Kalahanis et al., 2002; Menkveld et al., 2003). Na obarvených preparátech se posuzují odchylky od normální stavby spermie (Věžník et al., 2004). Podle místa vzniku se změny spermií rozdělují na primární a sekundární (Louda et al., 2001; Oettle et al., 1988).

Primární změny spermií vznikají v průběhu spermatogenního cyklu. Řadíme sem degenerativní formy spermií, změny tvaru hlavičky, změny v nukleoplazmě, změny na akrozomu, tvarové změny bičíku a další vývojové anomálie (Louda et al., 2001).

Sekundární změny spermií nastávají při dlouhém pobytu spermií v ocasu nadvarlete, dále v průběhu ejakulace, špatnou manipulací odebraného spermatu, či při nesprávné přípravě preparátů. Tyto změny jsou projevem kvalitativních změn v semenné plazmě a nesprávného technologického postupu při zpracování spermatu. Patří sem změny hlavičky, změny akrozomu, torze bičíku (Louda et al., 2001).

Při posuzování morfologických změn na spermiích rozdělujeme patologické formy spermií do následujících skupin (rozdělení dle Loudy et al., 2001):

#### ***2.4.3.5.1 Vývojové tvarové anomálie degenerativního charakteru***

Počítají se všechny formy spermií, které se vyvinuly atypicky, a nemají normální diferenciaci, hlavičku s akrozomem, spojovací část bičíku či bičík samotný. Nejčastěji jde o atypické tvary hlaviček, kdy hlavička bývá často menší a abnormálně barvitelná. Řadíme sem i takové spermie, u nichž se nevytvořil normální bičík, ale místo něj pouze vakovitý nebo kyjovitý tvar. Dále spermie s dvojitým bičíkem, nebo se zdvojenou hlavičkou a jiné. V normálním ejakulátu by se nemělo vyskytovat více než 5 % těchto změn. Vyšší procento je ukazatelem vážnější poruchy spermiogeneze (Louda et al., 2001).

#### **2.4.3.5.2 Patologické formy ve tvaru hlaviček**

Změny jsou nejčastějšími odchylkami při poruchách spermiogeneze a provázejí nejčastěji vznik degenerativních, nebo zánětlivých procesů ve varlatech. Celkově by neměl výskyt těchto anomálií překročit hranici 5 %. Nejčastěji se vyskytují hlavičky zúžené, hruškovité, abnormálně veliké, abnormálně malé, asymetrické, oválné, citrónovité. Dále pak spermie s abnormální strukturou hlavičky, která může být proláklá, plošná, příliš široká, nebo s úzkým klenutím. Všechny tyto změny patří mezi změny primární (Louda et al., 2001).

#### **2.4.3.5.3 Změny na akrozomu**

Nejčastější anomálií je akrozom zbobtnalý. K této změně dochází i při manipulaci se spermatem, zejména když se dostane do sběrače se spermatem voda. Akrozom obvykle praskne a akrozomová hmota se vylije do prostředí. Mezi další změny vnitřní struktury akrozomu patří kondenzace akrozomové hmoty k přednímu okraji hlavičky, zřasení předních okrajů hlaviček, různé granulace v akrozomové substanci a jiné, které bývají obvykle sekundárního charakteru (Louda et al., 2001). Santos et al. (2006), popisuje výskyt zduření akrozomu u malých kníračů. V tomto případě se jednalo o úzce příbuzné jedince, a díky tomu se autor přiklání k názoru, že výskyt těchto vad byl dědičně podmíněn a doporučuje vyřadit takto postižené jedince z chovu.

#### **2.4.3.5.4 Změny na spojovací části**

Rozpoznání těchto změn vyžaduje již poměrně značné zkušenosti a citlivost oka, aby byly zachyceny jemné změny, mezi které patří hlavně zkrácení spojovací části, její prodloužení, ztlustění, zúžení, přerušování spojovací části v některém úseku, ve kterém probíhá pouze holé osově vlákno, nebo rozvázání mitochondriální spirály, která se při bedlivé prohlídce jeví, jako vinoucí se nitkový závit (Louda et al., 2001).

#### **2.4.3.5.5 Patologické změny na bičících**

Nejčastěji se jedná o stočení bičíku kolem protoplazmatické kapky, obvykle na konci spojovací části bičíku. Může to být stočení bičíku do tvaru houslového klíče, či zavnutí bičíku do klubka. Řadíme sem i tzv. Dag-defekt, kdy dochází k abnormálnímu vyvinutí bičíku v důsledku toho, že se bičíkové fibrily nevyvinou v uspořádání 2 + 9 + 9, ale ve vnějším kruhu obvykle skupina fibril chybí. Tato anomálie je popisována jako změna s dědičnou predispozicí. Dále sem patří abaxiální

upevnění bičíku, kdy bičík nevychází ze středu, ale z okraje hlavičky a dekapitace, tj. oddělení hlaviček od bičíků. Velmi často však může jít o arteficiální změny, které vznikají při nesprávném zhotovení roztěru (Louda et al., 2001).

#### **2.4.3.5.6 *Nezralé spermie***

Jedná se o spermie se zadrženu protoplazmatickou kapkou na krčku – proximální, nebo v průběhu spojovací části – distální. Při vyšším výskytu nezralých spermií v ejakulátu, je třeba sledovat výskyt dalších vývojových vad (Louda et al., 2001).

#### **2.4.3.5.7 *Změny v nukleoplazmě***

Tyto změny se posuzují při použití speciálního barvení, znázorňujícího jadernou substanci. Mezi nejčastější změny patří: miliární vakuoly při předním okraji hlavičky, makrovakuoly, nepravidelné uspořádání deoxyribonukleových kyselin v jádře, nebo slabá barevná reakce nukleoplazmy. V ejakulátu se nemá vyskytovat více než 15 % těchto anomálií (Louda et al., 2001).

Při hodnocení patologických spermií je nutno dodržovat zásadu, že z jednorázového vyšetření nelze vyvozovat konečné závěry, a je tedy nutné vyšetření opakovat, nejlépe v 3 – 5denních intervalech. Celkem se posuzuje, při jednom vyšetření, 300 – 500 spermií. Používá se olejové imerze a zvětšení 1000 – 1500krát (Louda et al., 2001).

Bilgili et al. (1985) a Root-Kustritz et al. (1998) se shodují, že při hodnocení morfologie spermií je velmi významný i lidský faktor, respektive zkušenosti hodnotitele. Tento faktor se jeví dokonce důležitějším, než použitá metoda barvení spermatu. Výsledky morfologického vyšetření jsou díky tomu individuální a mohou se lišit. Kliment et al. (1989) uvádí, že se nejčastěji pro morfologické vyšetření používá světelná mikroskopie. Při procesu fixace a barvení, však může dojít ke vzniku četných artefaktů, a proto by měla každá laboratoř, pro komparaci těchto artefaktů, používat dvě různé techniky. Dále bylo zjištěno, že ve střední třetině preparátu se vyskytuje nejmenší množství změn způsobených barvením (Harasymowycz et al., 1976). Jako výhodné se jeví použití automatických softwarových metod – obrazové analýzy, kdy omezujeme vliv lidského faktoru (Hidalgo et al., 2006). Byla vyvinuta automatizovaná analýza velikosti spermií. Pomocí ní jsou zaznamenávány průměrné hodnoty délky, šířky,

plochy a obvodu hlavičky. Takto získané údaje mohou být následně pomocí výpočetní techniky vyhodnocovány (Gravance et al., 1995).

U psů lze považovat výskyt 60% množství morfologicky normálních spermií v nativním ejakulátu za přípustný, ovšem snížení této hranice je pro spolehlivé zabřezávání fen již rizikové (Oettle et al., 1988). Přinosilová et al. (2006) uvádí, že pro další použití získaného ejakulátu, by mělo být požadováno minimálně 70 % morfologicky normálních spermií. Dle Johnsona et al. (2001) a Núñez – Martineze et al. (2007), by však normální ejakulát měl obsahovat minimálně 80 % morfologicky normálních a životaschopných spermií.

Abnormality spermií spojené s neplodností jsou zřejmě podobné pro všechny savce. U psů je většina primárních defektů spojena s proximální kapkou (Morton, Bruce, 1989). U neplodných psů byly často popsány hlavičky hruškovitého tvaru a celkově vysoký výskyt abnormalit ve stavbě, aktivitě a koncentraci spermií (Dahlborn et al., 1997). Na snížení fertility a výskyt patologických spermií mohou mít dále vliv chemické a fyzikální faktory, především pak stres a věk samců (Auroux, Dulioust, 1995). England (1999) prokázal, že interval odběru na procento morfologicky normálních spermií nemá vliv. Oproti tomu bylo prokázáno, že věk na výskyt morfologicky změněných spermií má výrazný vliv. Díky studiím prováděným u lidí se prokázalo, že procento morfologicky normálních spermií klesá po 45. roku věku (Pasqualotto et al., 2005).

### **3 CÍL PRÁCE**

Cílem této práce bylo definovat průběh odběru a kvalitativní ukazatele ejakulátu u psa domácího (*Canis familiaris*). Součástí studie byla analýza vybraných faktorů, ovlivňujících průběh samotného odběru a hodnocení úrovně kvalitativních a kvantitativních parametrů získaných ejakulátů. Mezi sledované faktory byly zařazeny: vliv věku, tělesné hmotnosti, počet psů v domácnosti, typ využití psa, typ ustájení, počet dnů mezi odběry, typ krmení, chovatelská minulost a místo odběru.



## **4 MATERIÁL A METODIKA**

V průběhu 28 měsíců, v období od ledna 2010 do dubna 2012, byly získávány ejakuláty od 152 psů 33 plemen a kříženců masturbační metodou.

Do experimentu byli zařazeni jedinci těchto plemen: australský ovčák, beauceron, bernský salašnický pes, bígl, border kolie, border teriér, bostonský teriér, briárd, český fousek, čínský chocholatý psík, dalmatin, foxteriér, francouzský buldoček, groenendael, havanský psík, holandský ovčák, irský setr, irský teriér, jagdteriér, jezevčík, malinois, německý ohař, německý ovčák, německý špic malý, německý špic trpasličí, pikardský ovčák, pudl, rotvajler, skotský ovčák, šeltie, šiperka, tervueren a zlatý retrívr.

U 125 psů byly provedeny tři odběry ejakulátu, u 6 psů byly provedeny dva odběry ejakulátu a v 21 případech byl proveden pouze jeden odběr ejakulátu. Pro další hodnocení bylo získáno 152 ejakulátů psů z prvních odběrů, 131 ejakulátů psů z druhých odběrů a 125 ejakulátů psů ze třetích odběrů. Celkem tedy bylo získáno 408 vzorků psiho ejakulátu.

Všechny odběry byly provedeny stejnou technikou a stejným laborantem, za konstantních podmínek v laboratoři oddělení reprodukce zvířat Ústavu chovu a šlechtění zvířat, Agronomické fakulty, Mendelovy univerzity v Brně, dále ve veterinární laboratoři Policie ČR v Hradci Králové a v domácnostech majitelů sledovaných psů.

### **4.1 Sledované faktory**

U psů byl hodnocen průběh odběru ejakulátu a jeho kvalita. Mezi sledované faktory byl zařazen věk psa, počet psů v domácnosti, hmotnost psa, využití psa, typ ustájení psa, počet dnů mezi odběry, pořadí odběru, forma krmení, chovatelská minulost testovaných psů a místo odběru.

#### **4.1.1 Věk**

Dle věku byli psi zařazeni do pěti skupin. První skupinu tvořilo 55 mladých psů od 12 do 24 měsíců. Druhou skupinu tvořilo 62 psů od 25 do 48 měsíců. Třetí skupinu tvořilo 12 psů od 49 do 60 měsíců. Čtvrtou skupinu tvořilo 12 psů od 61 do 96 měsíců a pátou skupinu tvořilo 11 starých psů ve věku od 97 do 120 měsíců.

#### **4.1.2 Počet psů v domácnosti**

Podle počtu psů v domácnosti byli sledovaní jedinci rozděleni do pěti skupin. První skupina byla tvořena 26 jedinci chovanými jednotlivě, bez přítomnosti dalšího psa v domácnosti. Druhá skupina byla tvořena 32 psy chovanými ve dvojici. Třetí skupinu tvořilo 41 odebíraných psů, kteří byli chováni ve trojici. Čtvrtou skupinu tvořilo 18 psů chovaných ve smečce čtyř jedinců a pátou skupinu tvořilo 35 psů, kteří byli chováni ve smečce pěti jedinců.

#### **4.1.3 Hmotnost**

Podle tělesné hmotnosti byli psi zařazeni do tří skupin. První skupina byla tvořena 27 malými psy od 1 do 10 kg. Druhá skupina byla tvořena 70 středně velkými psy (od 11 do 25 kg) a třetí skupina byla tvořena 55 velkými psy o hmotnosti od 25 do 50 kg.

#### **4.1.4 Typ využití**

Podle způsobu využití byli psi rozřazeni do tří skupin. První skupinu „rodinní psi“ tvořilo 48 jedinců, kteří byli využíváni jako rodinní společníci. Druhou skupinu „sportovní psi“ tvořilo 69 psů, tyto psi byli využíváni ve sportech – všestranný výcvik, agility, pasení, obedience, flyball, dogtreking a záchranářský výcvik. Třetí skupinu psů „policejní psi“ tvořilo 35 služebních psů ozbrojených složek: Policie ČR, Městská policie.

#### **4.1.5 Typ ustájení**

Podle ustájení byli psi rozděleni opět do tří skupin. V první skupině „byt“ bylo 38 psů, kteří žili v bytech se svými majiteli. Do druhé skupiny „kotec“ bylo zařazeno 88 jedinců, kteří jsou trvale umístěni ve venkovním kotci. Do třetí skupiny psů „volně“ bylo zařazeno 26 jedinců, kteří byli ustájeni volně - měli trvalý přístup do velkých výběhů, jako jsou zahrady či dvory.

#### **4.1.6 Počet dnů mezi odběry**

Psi byli, dle možností a ochoty majitelů, odebíráni ve třech různých intervalech. První skupina byla odebírána tři po sobě jdoucí dny, do této skupiny bylo zařazeno 51 psů. Druhá skupina psů, celkem 56 jedinců, byla odebírána první, třetí a pátý den. Třetí skupina psů, čítající 24 psů, byla odebírána jednou týdně vždy po sedmi dnech.

#### **4.1.7 Pořadí odběru ejakulátu**

Bylo provedeno hodnocení průběhu odběru a kvality ejakulátu dle pořadí odběru ejakulátu. První ejakulát byl získán a hodnocen 152krát, druhý ejakulát byl získán a hodnocen 131krát a třetí ejakulát byl získán a hodnocen 125krát.

#### **4.1.8 Typ krmení**

Dle typu krmení byli odebíraní psi tříděni do dvou skupin. Do první skupiny „granule“ bylo zařazeno 108 psů krmených výhradně komerčně vyráběnou kompletní krmnou směsí ve formě granulí. Druhá skupina „granule + maso“ zahrnovala 44 psů krmených komerčně vyráběnou dietou ve formě granulí s přídavkem syrového masa.

#### **4.1.9 Chovatelská minulost**

Dle chovatelské minulosti odebíraných psů byli psi rozděleni do dvou skupin. Do první skupiny bylo zařazeno 38 jedinců, kteří již měli potomstvo v přirozené plemenitbě. Do druhé skupiny bylo zařazeno 114 jedinců, kteří ještě nebyli chovně využiti, tedy neměli potomstvo z přirozené plemenitby.

#### **4.1.10 Místo odběru**

Posledním sledovaným ukazatelem bylo místo odběru. Místo odběru bylo přizpůsobeno možnostem majitelů odebíraných psů. První skupinu „domácnost“ tvořilo 71 psů odebraných v domácnostech majitelů. Druhou skupinu „laboratoř“ tvořilo 81 psů odebraných v laboratoři oddělení reprodukce zvířat Ústavu chovu a šlechtění zvířat Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně či v laboratoři Policie ČR v Hradci Králové.

#### **4.1.11 Průběh odběru**

Pes byl přiveden do místnosti, kde byla již přítomna fena. Po prvotním kontaktu psa s fenou, bylo přistoupeno k samotnému odběru ejakulátu. Nejdříve byl penis psa drážděn přes předkožkový vak, v momentě nástupu erekce byl penis vybaven z předkožkového vaku a dále docházelo k stimulování penisu pomocí tlaku ruky na kořen penisu. Penis byl vsunut do odběrové nádoby, kam byl odchycen ejakulát. Pro každého psa byla použita nová odběrová nádoba, která u větších plemen plnila částečně funkci umělé vaginy. Tlak ruky byl ukončen po zklidnění psa a vizuálním posouzením

ejakulátu, kdy byla zjištěna ejakulace třetí frakce ejakulátu – prostatická tekutina. Odběr byl ukončen po odeznění erekce a skončení ejakulace třetí frakce ejakulátu.

## **4.2 Sledované ukazatele průběhu odběru a kvality ejakulátu**

Při odběru byla sledována doba od počátku stimulace psa k počátku ejakulace (první kontakt ruky laboranta s pyjem, až po první střík semene) a délka doby ejakulace od prvního stříku do ukončení ejakulace. Odebírán byl celý ejakulát (všechny tři frakce). Průběh odběru je znázorněn v příloze, obrázek 1 až 5.

Bezprostředně po odběru byl stanoven objem ejakulátu, aktivita a koncentrace spermií. Pro následné morfologické vyšetření spermií, byl zhotoven nátěr.

### **4.2.1 Objem ejakulátu**

Objem ejakulátu byl stanovován ihned po odběru, v kalibrované zkumavce temperované na teplotu  $38\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  s přesností na  $0,1\text{ cm}^3$ .

### **4.2.2 Aktivita spermií**

Aktivita spermií byla zjišťována subjektivní metodou, pozorováním vzorku ejakulátu pomocí mikroskopu. Na podložní sklíčko, vyhřáté na  $38\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ , se ihned po odběru nanasla kapka ejakulátu, která se přikryla krycím sklíčkem a posuzovala při 200 násobném zvětšení. Hodnotila se minimálně tři zorná pole. Odhadem se stanovilo procento pohybujících se spermií vřed za hlavičkou.

### **4.2.3 Koncentrace spermií**

Koncentrace spermií v ejakulátu byla stanovována pomocí hemocytometrické metody. Počítání spermií bylo prováděno v Bürkerově komůrce. Do melanžeru na červené krvinky bylo nasáto  $4975\text{ }\mu\text{l}$  3% roztoku NaCl, ke kterým bylo přidáno  $25\text{ }\mu\text{l}$  spermatu. Obsah se následně, asi 1 až 2 minuty, promíchával krouživými pohyby. Kapka takto zředěného vzorku se umístila ke hraně krycího sklíčka uchyceného svorkami. Komůrka byla položena na stolek mikroskopu a bylo zvoleno 300 až 400 násobné zvětšení. Pomůcky viz příloha obrázek 6. Počítány byly spermie, které ležely uvnitř čtverce a spermie, jejichž hlavička ležela nebo se dotýkala horní a levé strany čtverce. Spermie byly počítány v deseti náhodně vybraných čtvercích. Výsledný počet spermií byl vložen do vzorce:

$$X = \frac{PS \times \check{C} \times Z \times V}{P\check{C}}$$

PS ... počet celkově napočítaných spermií

Č ... plocha čtverce (1/25 mm<sup>2</sup>)

Z ... stupeň zředění (1)

V ... výška komůrky (1/10 mm)

PČ ... počet počítaných čtverců (10)

X ... počet spermií v mm<sup>3</sup>

#### 4.2.4 Morfologické vyšetření spermií

Barvení nátěrů bylo prováděno metodou dle Farellyho. Toto barvení je vhodnou metodou k diferenciaci patologických a nezralých spermií, k vyšetření akrozómu a střední části bičíků (Louda et al., 2001). Pomůcky a postup při barvení viz příloha, obrázek 7 až 15.

##### 4.2.4.1 Reagencie

- 10% roztok 35% formalínu ve fyziologickém roztoku NaCl
- 5% roztok anilinové modři v destilované vodě
- 0,5% roztok krystalové violeti v destilované vodě.

##### 4.2.4.2 Postup barvení

- na chemicky čisté a nemastné podložní sklíčko byl proveden nátěr naředěného ejakulátu, který se nechal zaschnout na vzduchu
- po zaschnutí byl fixován po dobu 15 vteřin v roztoku formalínu
- poté byl opláchnut slabým proudem destilované vody
- po osušení byl barven 15 – 30 vteřin v roztoku anilinové modři
- opět byl opláchnut destilovanou vodou
- barvení 6 – 15 vteřin v roztoku krystalové violeti
- znovu byl opláchnut destilovanou vodou a osušen na vzduchu
- po zaschnutí byl nátěr prohlížen pod mikroskopem při použití olejové imerze

Z celkového množství 200 hodnocených spermií, bylo stanoveno procento morfologicky normálních spermií a procentické zastoupení jednotlivých abnormalit spermií.

### 4.3 Statistické hodnocení

Statistické zhodnocení bylo provedeno pomocí počítačového programu Statistica 9.1, prostřednictvím analýzy variance. Jako pevný efekt byl vyhodnocován věk psů v době odběru, počet psů chovaných v domácnosti, tělesná hmotnost, využití psa, typ ustájení, počet dnů mezi odběry, pořadí odběru, typ krmení, chovatelská minulost a místo odběru psa.

$$Y_{ijklmnopqrs} = \mu + V_i + P_j + H_k + VP_l + U_m + FO_n + PO_o + K_p + CHM_q + MO_r + e_{ijklmnopqrs}$$

**Kde:**

V ... věk psa v měsících (12 – 24, 25 – 48, 49 – 60, 61 – 96, 97 – 120)

P ... počet psů v domácnosti (1, 2, 3, 4, 5)

H ... tělesná hmotnost (1 – 10 kg, 11 – 25 kg, 26 – 50 kg)

VP ... využití psa (rodina, sport, policie)

U ... ustájení (byt, kotec, volně)

FO ... počet dnů mezi odběry (1, 3, 7)

PO ... pořadí odběru (1, 2, 3)

K ... typ krmení (granule, granule + maso)

CHM ... chovatelská minulost (potomstvo z přirozené plemenitby – ano, ne)

MO ... místo odběru (domácnost, laboratoř)

K určení průkazností mezi jednotlivými skupinami byl použit z Post hoc testů HSD test. Vzájemný vztah mezi hodnocenými parametry byl také vyhodnocen prostřednictvím Pearsonových korelačních koeficientů. Výsledné hodnoty byly vyjádřeny váženým průměrem a směrodatnou odchylkou.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Průměrné hodnoty ejakulátu psů

#### 5.1.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace

Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace byla  $159,67 \pm 180,79$  s a průměrná doba ejakulace  $413,16 \pm 168,66$  s (Tab. 1). Doba od počátku stimulace k počátku ejakulace, ani doba ejakulace, není ve většině prací sledována. Procházka (1994) uvádí, že ejakulace u psů probíhá po celou dobu svázání, které může trvat od 10 do 30 minut. Zjištěná doba ejakulace, však byla kratší, a to  $413,16 \pm 168,66$  s. Kratší délku ejakulace než uvádí Procházka (1994), uvádí ve svých pracích i Vágenknechtová et al. (2010) a Vágenknechtová et al. (2011a), a to 396 s, respektive 386 s. Je pravděpodobné, že delší doba ejakulace při přirozeném krytí, může být z části způsobena fenou, která poševními stahy penis psa stimuluje lépe, než dokáže laborant při umělém odběru.

Zjištěná průměrná délka od počátku stimulace k počátku ejakulace byla delší, než uvádí Vágenknechtová et al. (2011a), kteří zjistili průměrnou dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace u 30 psů 13 různých plemen 95,7 s. V jiné práci Vágenknechtová et al. (2010) uvádí, jako průměrnou dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace u 10 psů 6 plemen 222 s, přičemž poukazuje na významný vliv velikosti sociální skupiny, ve které byli psi chováni.

Tab. 1: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace.

n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)			Doba ejakulace (s)		
	<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>	<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>
152	<b>159,67</b>	±	180,79	<b>413,16</b>	±	168,66

#### 5.1.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů

Jak je uvedeno v tab. 2, získaný ejakulát měl průměrný objem  $8,49 \pm 6,51$  ml. Průměrná koncentrace spermií v ejakulátu byla  $158,53 \pm 121,97 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , při průměrné aktivitě spermií  $71,2 \pm 16,8$  %.

Zjištěný průměrný objem ejakulátu  $8,49 \pm 6,51$  ml byl vyšší, než uvádí většina ostatních autorů. Například Jelínek et al. (2003) udávají, jako průměrný objem ejakulátu psa, 6 ml. Mastachio et al. (2012) uvádí, skoro o polovinu nižší hodnotu, a to 3,3 ml. Věžník et al. (2004) a England et al. (2006) shodují na 2 ml objemu, jako odpovídající průměrné hodnotě. Oproti tomu, Silva et al. (2006) předkládají hodnotu průměrného objem ejakulátu značně rozdílnou, pouze 0,8 ml. Tento fakt byl však způsoben skutečností, že pro svoji studii odebírali pouze mléčně zbarvenou část spermatické frakce ejakulátu. Většina autorů se snažila odebírat pouze spermatickou frakci ejakulátu, ve které jsou spermie, potřebné pro další výzkum, o vysoké koncentraci. Třetí, prostatickou, frakci nechávají bez povšimnutí, neboť ta pouze zvyšuje objem, který je pro další zpracování ejakulátu spíše problematický. Na druhou stranu, Nothling et al. (2007a) ve své práci prokázali, že přítomnost prostatické tekutiny v ejakulátu, nebo přidání prostatické tekutiny ke konzervovanému ejakulátu, zajišťuje lepší pohyblivost a dlouhověkost spermií, které vykazují lepší výsledky při patomorfologickém vyšetření.

Zjištěná průměrná koncentrace  $158,53 \pm 121,97 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  odpovídala koncentraci uváděné Jelínkem et al. (2003), a to  $120 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Byla však nižší, než vyžadovali ve svých pracích autoři Silva et al. (2006), Silva et al. (2003), Cordoso et al. (2007) a Kim et al. (2010), kteří požadovali koncentraci alespoň  $200 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Zjištěná koncentrace koresponduje se zjištěným vyšším objemem ejakulátu, než udávají tito autoři. Pro požadovaná vyšetření kvality ejakulátu byl odebírán celý ejakulát a docházelo tak k naředění spermatické frakce, přednostně odebírané těmito autory.

Zjištěná průměrná aktivita  $71,2 \pm 16,8$  %, odpovídala minimální hodnotě (70 %) pro kvalitní psí ejakulát, uváděné autory Núñez-Martínez et al. (2007), Věžník et al. (2004) a Kim et al. (2010). Naproti tomu Silva et al. (2003) udává, jako minimální hodnotu aktivity pro kvalitní ejakulát 80 %, což námi zjištěná průměrná hodnota nedosahovala. V experimentu šlo o zjištění kvality ejakulátu a psi tak nebyli předem nijak tříděni (např. dle počáteční kvality ejakulátu nebo dalších sledovaných faktorů). Proto můžeme průměrný výsledek považovat za uspokojivý. I když pro další zpracování ejakulátu, jako je chlazení a mrazení, je nutné důsledně vyžadovat kontrolu kvality ejakulátu před jeho zpracováním. A pro další zpracování pak vybrat pouze ty ejakuláty, které vykazují minimálně 70%, v lepším případě 80% aktivitu spermií.



Tab. 2: Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů.

n	Objem (ml)	Koncentrace ( $10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
	<b>x</b> ± $s_x$	<b>x</b> ± $s_x$	<b>x</b> ± $s_x$
152	<b>8,49</b> ± 6,51	<b>158,53</b> ± 121,97	<b>71,2</b> ± 16,8

### 5.1.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů

V tab. 3 je uvedeno zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů. Ve vyhodnocených ejakulátech bylo v průměru  $69,1 \pm 15,7$  % morfologicky normálních spermií a  $30,9 \pm 15,7$  % morfologicky abnormálních spermií.

Zjištěná hodnota morfologicky normálních spermií  $69,1 \pm 15,7$  % neodpovídá normě uváděné autory Kim et al. (2010) a Cordoso et al. (2007), kteří požadovali ve svých pracích, jako minimální hodnotu, 80 % morfologicky normálních spermií v ejakulátu. Dále tato hodnota neodpovídá ani mírnější normě uváděné Věžníkem et al. (2004), kteří požadují minimálně 70 % morfologicky normálních spermií, aby se dal ejakulát označit za kvalitní. Podobné výsledky ve svých pracích uvádí Ortega-Pacheco et al. (2006) u kříženců ve věku 3 až 5 let a Assis et al. (2010) u německých ovčáků, naproti tomu Přinosilová et al. (2006) ve své práci předkládají výrazně nižší procento morfologicky normálních spermií v ejakulátu. Průměrný výsledek nebyl tedy zcela uspokojivý, ale odpovídal výsledkům zjištěným jinými autory pro běžnou psí populaci.

Tab. 3: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů.

n	Morfologicky normální (%)	Morfologicky abnormální (%)
	<b>x</b> ± $s_x$	<b>x</b> ± $s_x$
152	<b>69,1</b> ± 15,7	<b>30,9</b> ± 15,7

### 5.1.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů – průměrné hodnoty celého sledovaného souboru

Zastoupení jednotlivých defektů spermií je uvedeno v tab. 4. Nejčastějším defektem byly změny na bičících, a to  $12,8 \pm 10,5$  %. Druhým nejčastěji se vyskytujícím defektem bylo poškození hlavičky  $9,0 \pm 6,6$  %. Nezralých spermií bylo stanoveno celkem  $4,2 \pm 3,8$  % a spojovací část byla poškozena u  $2,9 \pm 3,0$  % spermií.

Nejmenší množství bylo zjištěno v případě degenerovaných spermií, kdy jejich celkové zastoupení v ejakulátu činilo  $0,8 \pm 1,2$  %.

Zjištěná průměrná hodnota poškozených hlaviček v ejakulátu  $9,0 \pm 6,6$  %, odpovídá hodnotě zjištěné autory Ortega-Pacheco et al. (2006), a to  $9,3 \pm 2,3$  %, je však dvojnásobná oproti hodnotě zjištěné Kim et al. (2010), a to  $4,4 \pm 0,7$  %. Kustritz in Věžník et al. (2004) uvádí 12,7 % poškozených bičíků v ejakulátu, což odpovídá zjištěné průměrné hodnotě  $12,8 \pm 10,5$  %. Avšak hodnota uváděná autory Kim et al. (2010) je téměř poloviční, a to  $5,8 \pm 0,9$  %. Kim et al. (2010) uvedli podobnou hodnotu u poškození spojovacích částí, a to  $2,6 \pm 0,6$  %. Zjištěná průměrná hodnota poškozených akrozomů  $1,2 \pm 2,2$  %, je výrazně nižší, než uvádějí ve svých studiích např. Peña in Věžník et al. (2004) nebo Kim et al. (2010) ( $3,2$  %, resp.  $4,8 \pm 1,1$  %). Jak již bylo patrné na celkovém počtu morfologicky normálních spermií, i zde odpovídají zjištěné průměrné hodnoty průměrným hodnotám zjištěným ostatními autory, pro psí populaci, která neprošla selekcí dle kvality ejakulátu. Chovatelé by si však měli uvědomit, že neprovádění selekce na kvalitu ejakulátu, jak je tomu nyní, je značně rizikové pro budoucnost chovu. Již dnes jsou známa plemena, která vykazují velmi špatné spermioqramy (Lange-Consiglio et al., 2010).

Tab. 4: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů – průměrné hodnoty celého sledovaného souboru.

n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
152	<b>9,0</b> $\pm$ 6,6	<b>12,8</b> $\pm$ 10,5	<b>2,9</b> $\pm$ 3
n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
152	<b>1,2</b> $\pm$ 2,2	<b>4,2</b> $\pm$ 3,8	<b>0,8</b> $\pm$ 1,2

## 5.2 Vliv věku na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů

### 5.2.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů v různém věku

Jak uvádí tab. 5, doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace byla nejdelší u psů ve věku 61 - 96 měsíců ( $220,00 \pm 106,52$  s), následovali psi ve věku 12 – 24 měsíců ( $216,00 \pm 227,89$  s) a psi ve věku 49 – 60 měsíců ( $152,50 \pm 243,76$  s). Druhou nejkratší dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace měli psi ve věku 25 – 48 měsíců ( $115,16 \pm 122,34$  s) a nejkratší dobu potřebovali psi ve věku 97 – 120 měsíců ( $70,91 \pm 33,60$  s). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn mezi psy ve věku 12 – 24 měsíců, psy ve věku 24 – 48 a 95 – 120 měsíců. Dále mezi psy ve věku 61 – 96 měsíců a psy ve věku 97 – 120 měsíců. Vágenknechtová et al. (2011a) ve své práci uvádí, že doba od počátku stimulace k počátku ejakulace, byla u psů od 12 do 30 měsíců 83,3 s a u psů od 31 do 60 měsíců se zvýšila na 103,9 s. Zjištěné hodnoty byly vyšší u mladých psů do 24 měsíců více, než dvojnásobně. U psů ve věku 25 až 48 měsíců se zjištěná hodnota blížila hodnotě, kterou uvádí Vágenknechtová et al. (2011a) pro psy ve věku 31 až 60 měsíců. Vágenknechtová et al. (2011a) dále uvádí, že se doba od počátku stimulace k počátku ejakulace s věkem zvyšuje. Tato skutečnost však byla nejpravděpodobněji způsobena faktem, že výše uvedení autoři sledovali psy pouze ve věku od 12 do 60 měsíců, neboť podobný jev nebyl v této práci pozorován. Nejdelší doba byla zaznamenána u psů ve věku 61 až 96 měsíců a druhá nejdelší doba pak u nejmladší sledované skupiny (tj. 12 – 24 měsíců). Naopak nejkratší dobu jsme zaznamenali u nejstarší sledované skupiny psů (tj. 97 – 120 měsíců). Důvod tohoto jevu nelze jednoznačně vysvětlit a bylo by třeba podrobnějších sledování.

Doba ejakulace byla nejdelší u psů ve věku 97 – 120 měsíců ( $523,64 \pm 184,13$  s), druhá nejdelší doba ejakulace byla zjištěna u psů ve věku 61 – 96 měsíců ( $425,00 \pm 154,48$  s), následovali psi ve věku 25 – 48 měsíců ( $413,87 \pm 156,21$  s) a 12 – 24 měsíců ( $400,36 \pm 172,07$  s). Nejkratší doba ejakulace byla zjištěna u psů ve věku 49 – 60 měsíců, kteří v průměru potřebovali k ejakulaci  $355,00 \pm 195,61$  s. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) v délce ejakulace byl zjištěn mezi psy ve věku 49 – 60 měsíců a psy ve věku 97 – 120 měsíců. Vágenknechtová et al. (2011a) uvádí, že se zvyšujícím se věkem se doba ejakulace zkracuje. Ve svém sledování však hodnotili pouze psy do 60 měsíců věku. I v této studii byl zaznamenán pokles doby ejakulace mezi skupinami psů ve věku

12 až 24 měsíců a psů ve věku 49 až 60 měsíců. Dále bylo, se zvyšujícím se věkem zaznamenáno, prodloužení doby ejakulace a zvýšení objemu ejakulátu.

Tab. 5: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů v různém věku.

Věk psa (měsíce)	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)		Doba ejakulace (s)	
		<b>x</b>	$\pm s_x$	<b>x</b>	$\pm s_x$
12 – 24	55	<b>216,00<sup>AB</sup></b>	$\pm 227,89$	<b>400,36</b>	$\pm 172,07$
25 – 48	62	<b>115,16<sup>A</sup></b>	$\pm 122,34$	<b>413,87</b>	$\pm 156,21$
49 – 60	12	<b>152,50</b>	$\pm 243,76$	<b>355,00<sup>a</sup></b>	$\pm 195,61$
61 – 96	12	<b>220,00<sup>C</sup></b>	$\pm 106,52$	<b>425,00</b>	$\pm 154,48$
97 – 120	11	<b>70,91<sup>BC</sup></b>	$\pm 33,60$	<b>523,64<sup>a</sup></b>	$\pm 184,13$

ABC – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

## 5.2.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů v různém věku

V tab. 6 je uvedeno, že nejvyšší objem ejakulátu mají psi starší 97 měsíců, a to  $15,18 \pm 8,69$  ml, naproti tomu nejnižší objem je u psů ve stáří 49 až 60 měsíců, a to  $6,08 \pm 3,00$  ml. Goericke-Pesch et al. (2012) zjistili u skupiny pětiletých biglů obdobné hodnoty objemu celého ejakulátu, v tomto případě se však jednalo o psy, jimž byla experimentálně podána dávka GnRH, kdy námi zjištěný průměrný objem ejakulátu u nejstarších psů představoval jimi zjištěnou maximální hodnotu souboru. S výjimkou skupiny nejstarších psů, zjistili Peňa et al. (2007) srovnatelné, respektive nepatrně vyšší objemy celého ejakulátu. Peňa et al. (2012) v jiné práci uvádí, že objem spermatické frakce ejakulátu byl 2,4 ml, což odpovídá zjištěním dalších autorů, např. Ortega-Pacheco et al. (2006) nebo Kim et al. (2012).

Naproti tomu koncentrace spermií byla nejvyšší u psů věku 25 – 48 měsíců ( $201,77 \pm 142,97 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ) a nejnižší u psů ve stáří 97 – 120 měsíců ( $95,68 \pm 49,55 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ). Nejvyšší koncentraci, zjištěnou u psů od 25 do 48 měsíců ( $201,77 \pm 142,97 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ), výrazně převyšují koncentrace předložené některými z autorů, např. Přinosilová et al. (2012) nebo také Goericke-Pesch et al. (2012). Srovnatelnou koncentraci spermií v ejakulátu zjistili Mostachio et al. (2012), Přinosilová et al. (2006)

a Ortega-Pacheco et al. (2006). Hodnotě stanovené u skupiny nejstarších psů ( $95,68 \pm 49,55 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ), se nejvíce blíží Jelínek et al. (2003).

Tab. 6 ukazuje, že nejnižší aktivita byla zjištěna u skupiny nejmladších psů (12 – 24 měsíců), a to pouze  $64,8 \pm 18,0$  %. Shodnou hodnotu aktivity spermií uvádějí ve svých pracích Přinosilová et al. (2012), Paldusová et al. (2013) nebo Rijsselaere et al. (2007). U starších psů byla hodnota aktivity spermií vyšší, což odpovídá zjištěním publikovaným autory Assis et al. (2010) a Nothling et al. (2007a). U skupiny psů ve věku 25 – 48 měsíců byla stanovena aktivita  $75,4 \pm 18,1$  %. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána u skupiny věku 49 – 60 měsíců, a to  $77,1 \pm 5,4$  % aktivních spermií v ejakulátu. Dále došlo ke zdatelnému poklesu na  $70,0 \pm 9,5$  %, u psů věku 61 – 94 měsíců, který byl následován opětovným nárůstem, až na  $74,6 \pm 5,2$  % aktivních spermií v ejakulátu u nejstarších psů (97 – 120 měsíců). Průkazné rozdíly jsou uvedeny v tab. 6.

Tab. 6: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů v různém věku.

Věk psa (měsíce)	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
12 – 24	55	<b>7,86<sup>A</sup></b> $\pm$ 4,81	<b>124,00<sup>A</sup></b> $\pm$ 104,41	<b>64,8<sup>ABa</sup></b> $\pm$ 18,0
25 – 48	62	<b>8,51<sup>B</sup></b> $\pm$ 7,47	<b>201,77<sup>Aa</sup></b> $\pm$ 142,97	<b>75,4<sup>A</sup></b> $\pm$ 18,1
49 – 60	12	<b>6,08<sup>C</sup></b> $\pm$ 3,00	<b>138,25</b> $\pm$ 65,05	<b>77,1<sup>B</sup></b> $\pm$ 5,4
61 – 96	12	<b>7,46<sup>D</sup></b> $\pm$ 5,18	<b>171,25</b> $\pm$ 99,02	<b>70,0</b> $\pm$ 9,5
97 – 120	11	<b>15,18<sup>ABCD</sup></b> $\pm$ 8,69	<b>95,68<sup>a</sup></b> $\pm$ 49,55	<b>74,6<sup>a</sup></b> $\pm$ 5,2

ABCD – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.2.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů v různém věku

Jak ukazuje tab. 7, nejvyšší výskyt morfologických abnormalit byl zaznamenán u psů ve věku 12 – 24 měsíců ( $35,9 \pm 22,3$  %), s věkem se procento morfologických abnormalit snižuje a naopak roste procento morfologicky normálních spermií. U věkové skupiny 97 – 120 měsíců, bylo zjištěno  $74,8 \pm 8,2$  % morfologicky normálních spermií v ejakulátu. Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn u psů ve stáří 12 – 24 měsíců a 25 – 48 měsíců. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn mezi skupinou psů ve věku 12 –

24 měsíců a 61 – 96 měsíců, a 97 – 120 měsíců. Přinosilová et al. (2006) zjistili průměrně 73,0 % morfologicky normálních spermií u psů ve věku 2 – 11 let, což odpovídá hodnotám zjištěným u psů ve věku 61 – 120 měsíců. U mladších psů byly zjištěny hodnoty nepatrně nižší. Assis et al. (2010), u tří až šesti letých německých ovčáků, zjistil nepatrně nižší hodnoty. Naopak Ortega-Pacheco et al. (2006) uvádí ve své práci u tří až pěti letých psů hodnoty vyšší.

Kim et al. (2012) uvádí, u dvou až pěti letých biglů, výrazně nižší hodnotu morfologicky abnormálních spermií, než byla zjištěna u této věkové kategorie. Goericke-Pesch et al. (2012) u pěti letých biglů zjistili pouze nepatrně nižší hodnotu morfologicky abnormálních spermií, než byla zjištěna hodnota pro stejně staré psy v této studii. Naproti tomu, Věžník et al. (2003) ve své práci uvádí, u dvou až šesti letých psů, výrazně vyšší procentuální zastoupení morfologicky normálních spermií.

Výborné výsledky u nejstarších psů (97 – 120 měsíců) můžeme přisuzovat kondici vyšetřených psů. V této věkové kategorii byli zařazeni především chovní psi (po delší pohlavní pouze), pro zjištění možnosti jejich využití v další plemenitbě. Průměrné výsledky této skupiny splňovali limit 70 % morfologicky normálních spermií pro kvalitní ejakulát, který uvádí Věžník et al. (2004). Naopak horší výsledky nejmladší skupiny, psů do dvou let věku, mohly být zapříčiněny nevypěstlostí zejména jedinců do 18 měsíců věku. Takovéto jedince většina autorů vůbec do výzkumu nezařazovala a ani chovatelský řád, zejména u středních a velkých plemen, nepřipouští použití takto mladých jedinců v chovu.

Tab. 7: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů v různém věku.

Věk psa (měsíce)	N	Morfologicky normální (%)			Morfologicky abnormální (%)		
		<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>	<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>
12 – 24	55	<b>64,1<sup>Aab</sup></b>	±	22,26	<b>35,9<sup>Aab</sup></b>	±	22,3
25 – 48	62	<b>71,2<sup>A</sup></b>	±	10,07	<b>28,8<sup>A</sup></b>	±	10,1
49 – 60	12	<b>71,9</b>	±	8,44	<b>28,1</b>	±	8,4
61 – 96	12	<b>73,8<sup>a</sup></b>	±	7,17	<b>26,3<sup>a</sup></b>	±	7,2
97 – 120	11	<b>74,8<sup>b</sup></b>	±	8,18	<b>25,2<sup>b</sup></b>	±	8,2

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly (P≤0,01)

ab – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly (P≤0,05)

#### **5.2.4 Zastoupení jednotlivých morfologických změn spermií v ejakulátu psů v různém věku**

Zastoupení jednotlivých morfologických změn spermií v ejakulátu psů dle věku je uvedeno v tab. 8. Poškození hlaviček spermií bylo zjištěno nejčastěji u psů ve věku 97 – 120 měsíců ( $11,6 \pm 1,2$  %), dále u nejmladších psů ve věku 12 – 24 měsíců ( $11,5 \pm 9,5$  %), následování psy ve věku 61 – 96 měsíců ( $10,3 \pm 0,9$  %) a psy ve věku 49 – 60 měsíců ( $7,8 \pm 3,3$  %). Nejméně poškozených hlaviček bylo zjištěno u psů ve věku 25 – 48 měsíců, a to pouze  $6,4 \pm 3,5$  %. Statisticky vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn u psů ve věku 12 – 24 měsíců a psů ve věku 25 – 48 měsíců. Kim et al. (2012) ve své práci uvádí, že ejakulátu od psů věku 24 – 60 měsíců obsahovaly 7,8 % poškozených hlaviček, což odpovídá zjištěnému údaji. Naopak Ortega – Pacheco et al (2006) u tří až pěti letých psů zjistili, že procento poškozených hlaviček ( $12,1 - 9,3$  %) se může lišit i dle ročního období, neboť jimi stanovené hodnoty poškozených hlaviček byly v zimním období nejnižší. Tato hodnota je vyšší, než námi zjištěná hodnota pro tuto věkovou kategorii, a spíše odpovídá hodnotám zjištěným u nejmladší kategorie (12 – 24 měsíců) či hodnotám zjištěným u skupiny psů ve věku 61 – 120 měsíců.

Spojovací část byla nejčastěji poškozena na spermiích nejmladší sledované skupiny psů (12 – 24 měsíců), a to  $3,7 \pm 3,9$  %. Nejméně častokrát byl výskyt abnormalit spojovací části zaznamenán u nejstarších psů (97 – 120 měsíců), a to  $1,6 \pm 0,9$  %. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn ve výsledcích mezi nejstaršími a nejmladšími psy. Hodnota zjištěná u tří až pětiletých psů odpovídá hodnotám uváděným autory Kim et al (2012) a Filipčík et al. (2011). Zjištěné hodnoty jsou však výrazně nižší, než uvádějí Ortega-Pacheco et al (2006). Průkazně lepší výsledek u nejstarší skupiny psů nelze spolehlivě vysvětlit, a ani v dostupné literatuře pro tento jev nebylo nalezeno uspokojivé vysvětlení. Nejspíše se jedná o náhodné odebrání vzorků od nadprůměrného souboru populace. Tato skupina byla početně nejmenší, avšak k odběru nebyli chovateli přiváděni psi, kteří by trpěli zjevnými zdravotními problémy, které jsou u této věkové skupiny tak poměrně časté. Naopak se dá říci, že k odběrům byli přiváděni psi na svůj věk ve výborné kondici.

Nezralé spermie byly nejčastěji pozorovány u psů ve věku 49 – 60 měsíců ( $5,4 \pm 3,9$  %), naopak nejmenší výskyt nezralých spermií byl zaznamenán u psů ve věku 61 – 96 měsíců ( $1,8 \pm 0,8$  %). Mezi výše uvedenými skupinami psů byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ). Námi zjištěná hodnota, u skupiny psů ve věku 46 –

60 měsíců, je nižší, než ve své práci uvádí Filipčík et al. (2011), kteří zjistili průkazně vyšší procento nezralých spermií pro stejně staré psy oproti mladším psům. Avšak námi provedené statistické hodnocení toto zjištění nepotvrdilo. Lepší výsledky starších psů nelze považovat za zcela relevantní, vzhledem k počtu vyšetřených jedinců, a lze pouze doporučit další podrobné sledování.

Tab. 8 : Zastoupení jednotlivých morfologických změn spermií v ejakulátu psů v různém věku.

Věk psa (měsíce)	N	Poškozená hlavička (%)			Poškozený bičík (%)			Spojovací část (%)		
		x	±	s <sub>x</sub>	x	±	s <sub>x</sub>	x	±	s <sub>x</sub>
12 – 24	55	<b>11,5<sup>A</sup></b>	±	9,5	<b>14,2</b>	±	12,9	<b>3,7<sup>a</sup></b>	±	3,9
25 – 48	62	<b>6,4<sup>A</sup></b>	±	3,5	<b>13,1</b>	±	9,5	<b>2,2</b>	±	2,2
49 – 60	12	<b>7,8</b>	±	3,3	<b>10,0</b>	±	6,4	<b>3,5</b>	±	2,8
61 – 96	12	<b>10,3</b>	±	0,9	<b>10,0</b>	±	7,4	<b>3</b>	±	1,8
97 – 120	11	<b>11,6</b>	±	1,2	<b>10,0</b>	±	8,4	<b>1,6<sup>a</sup></b>	±	0,9
Věk psa (měsíce)	N	Akrozom (%)			Nezralé (%)			Degenerované (%)		
		x	±	s <sub>x</sub>	x	±	s <sub>x</sub>	x	±	s <sub>x</sub>
12 – 24	55	<b>0,8<sup>a</sup></b>	±	1,7	<b>5,0</b>	±	4,2	<b>1,0<sup>a</sup></b>	±	1,7
25 – 48	62	<b>2,0<sup>a</sup></b>	±	2,8	<b>4,2</b>	±	3,7	<b>1,0</b>	±	0,9
49 – 60	12	<b>0,8</b>	±	9,0	<b>5,4<sup>a</sup></b>	±	3,9	<b>0,7</b>	±	0,7
61 – 96	12	<b>0,4</b>	±	0,8	<b>1,8<sup>a</sup></b>	±	0,8	<b>0,2</b>	±	0,4
97 – 120	11	<b>0,0</b>	±	0,0	<b>2,1</b>	±	1,5	<b>0,0<sup>a</sup></b>	±	0,0

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly (P≤0,01)

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly (P≤0,05)



## **5.3 Vliv počtu psů v domácnosti na průběh odběru a kvalitu ejakulátu**

### **5.3.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle počtu psů v domácnosti**

Tab. 9 uvádí dobu od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a dobu ejakulace. Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace byla nejdelší u psů, kteří byli chováni v dvojici ( $228,75 \pm 237,29$  s). Druhá nejdelší doba byla zaznamenána u psů chovaných samostatně ( $199,62 \pm 104,59$  s), následovali psi chovanými ve smečce čtyř a pěti jedinců ( $155,00 \pm 206,63$  s a  $140,57 \pm 182,69$  s). Nejkratší dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace vykazali psi chovaní ve trojici ( $98,78 \pm 131,95$  s). Vágenknechtová et al. (2011a) uvádí, jako průměrnou dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace  $95,7 \pm 108,7$  s, což odpovídá hodnotě skupiny psů o třech jedincích, u které byla tato doba nejkratší. Ve starší práci uvádí Vágenknechtová et al. (2010) u této skupiny dobu  $72,0 \pm 24,0$  s, ovšem v této studii byli sledováni pouze dva psi, a to celkem při šesti odběrech. Nicméně, i když se jednalo o menší počet psů (celkově třicet odběrů od deseti psů), výsledky jsou velmi podobné. V této studii bylo publikováno, že nejdelší doba od počátku stimulace k počátku ejakulace, byla potřeba u psů chovaných ve dvojicích či párech, což bylo sledováním potvrzeno. Psi chovaní jednotlivě, nebo ve větších skupinách, mají dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace kratší, než psi chovaní po dvou ve skupině. Zajímavým zjištěním je i fakt, že psi chovaní ve trojici, mají tuto dobu nejkratší. Stejně tak jako psi chovaní ve větší skupině čtyř nebo pěti jedinců, tak i psi chovaní jednotlivě, mají dobu potřebnou od počátku stimulace k počátku ejakulace delší, než jedinci chovaní ve trojici. Příčinu tohoto jevu lze hledat nejspíše v sociálních a hierarchických vazbách jednotlivých psů. Psi chovaní ve větší skupině, nebo individuálně, byli většinou jediní samci v dané skupině. Psi držení v páru byli buď chováni s jiným psem samcem, nebo s fenou, se kterou jim však nebylo umožněno se pářit. Psi držení ve trojici však byli velmi často chováni s jiným samcem i fenou, což mohlo vést k větší reaktivnosti na podměty z vnějšku, či od feny.

Psi chovaní samostatně vykazali nejdelší dobu ejakulace ( $519,23 \pm 200,04$  s). Následovali psi chovaní ve dvojici  $434,38 \pm 149,43$  s, psi chovaní ve trojici  $437,56 \pm 147,73$  s a psi chovaní ve smečce pěti jedinců  $334,29 \pm 146,45$  s. Nejkratší doba ejakulace byla zaznamenána u psů chovaných ve smečce čtyř jedinců, a to  $320,00 \pm$

131,78 s. Průkazné rozdíly jsou uvedeny v tab. 9. Vágenknechtová et al. (2010) uvádí, že nejdelší doba ejakulace byla zjištěna u psů chovaných jednotlivě, a to 540,0 s, u psů chovaných ve trojici 438,0 s a u psů chovaných ve skupině pěti jedinců 348,0 s, což odpovídá zjištěným hodnotám.

Tab. 9: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle počtu psů v domácnosti.

Počet psů v domácnosti	N	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)			Doba ejakulace (s)		
		<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>	<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>
1	26	<b>199,62<sup>A</sup></b>	±	104,59	<b>519,23<sup>AB</sup></b>	±	200,04
2	32	<b>228,75<sup>BC</sup></b>	±	237,29	<b>434,38<sup>a</sup></b>	±	149,43
3	41	<b>98,78<sup>AB</sup></b>	±	131,95	<b>437,56<sup>b</sup></b>	±	147,73
4	18	<b>155,00</b>	±	206,63	<b>320,00<sup>A</sup></b>	±	131,78
5	35	<b>140,57<sup>C</sup></b>	±	182,69	<b>334,29<sup>Bab</sup></b>	±	146,45

ABC – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

ab – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.3.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti

Objem ejakulátu, koncentrace a aktivita spermií jsou uvedeny v Tab. 10. Objem ejakulátu byl nejvyšší u psů chovaných ve dvojici ( $10,59 \pm 9,85$  ml), následovali psi chovaní ve trojici ( $8,70 \pm 6,23$  ml) a psi chovaní ve smečce pěti jedinců ( $8,37 \pm 4,95$  ml). Objem  $7,55 \pm 4,48$  ml byl zjištěn u psů samostatně chovaných a nejmenší objem ( $5,81 \pm 3,48$  ml), byl zjištěn u psů chovaných ve smečce čtyř jedinců. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) se v případě objemu ejakulátu mezi psy chovanými samostatně, či psy chovanými v domácnosti se dvěma, třemi, čtyřmi a pěti dalšími psy, nepodařilo prokázat. Goericke-Pesch et al. (2012) zjistili, u bíglů chovaných individuálně, objem ejakulátu 8,5 ml. Což je o 0,95 ml více, než byl touto studií zjištěný objem ejakulátu u psů chovaných jednotlivě. U psů chovaných ve dvojici byl zjištěn objem 2,4 ml, a tedy i nejmenší objem ze sledovaných skupin. Naopak, ve sledované skupině psů chovaných ve dvojici či páru, byl zaznamenán objem ejakulátu 10,59 ml. Což byl zároveň i největší zjištěný objem. Relativně velké objemy zjištěné u všech sledovaných skupin odpovídají hodnotám, které jsou uváděny autory Jelínek et al. (2003)

a Goericke-Pesch et al (2012) pro celý ejakulát. Většina autorů uvádí hodnoty výrazně nižší, těch však dosaženo z důvodu odběru pouze spermatické frakce ejakulátu (Peña et al., 2007 a Ortega-Pacheco et al., 2006).

Koncentrace spermií byla zjištěna v rozmezí  $121,76 \pm 59,00 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  až  $199,17 \pm 182,71 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Nejnižší koncentrace byla zjištěna u psů chovaných ve smečce pěti jedinců a nejvyšší pak u psů chovaných ve smečce čtyř jedinců. Psi, kteří byli v domácnosti chováni samostatně, dosahovali koncentrace  $188,85 \pm 101,55 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a psi chováni ve dvojici (pes – pes, nebo pes – fena) vykazovali průměrnou koncentraci  $193,28 \pm 151,35 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . U psů chovaných ve trojici byla zjištěna průměrná koncentrace  $125,73 \pm 101,10 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , což byla druhá nejnižší zjištěná hodnota. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn mezi psy chovanými samostatně a psy chovanými ve smečce pěti psů, dále mezi psy chovanými ve dvojici a psy chovanými ve trojici, a ve smečce pěti psů. Vágenknechtová et al. (2010) ve své práci uvádí koncentraci spermií u psů, kteří byli chováni individuálně,  $171,1 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , což je jen nepatrně nižší, než byla mnou zjištěná hodnota. Naopak Ortega-Pacheco et al. (2006) zjistili u psů chovaných individuálně koncentraci  $293,3 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , což je o polovinu vyšší hodnota, než mnou zjištěná. Avšak v této studii byl objem ejakulátu 2,2 ml, což bylo tři a půl-krát méně, než byl zjištěný objem u psů chovaných individuálně. Vágenknechtová et al. (2010) uvádí, že psi chováni ve skupině pěti psů mají koncentraci spermií  $108,2 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Touto studií zjištěná koncentrace byla nepatrně vyšší, a to o  $13,5 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , jedná se tedy o hodnotu velmi podobnou. Podobná hodnota byla zjištěna i u psů chovaných ve trojici. Tato hodnota odpovídá koncentraci udávané Jelínkem et al. (2003) pro koncentraci v celém ejakulátu. U ostatní skupin psů (psi chováni jednotlivě, ve dvojici nebo ve čtveřici) byla zaznamenána koncentrace spermií, která převyšovala tuto hodnotu. Na druhou stranu však byla nižší, než norma udávaná Věžníkem et al. (2004), kteří od ejakulátů vyžadují nižší objem, neboť je známo, že koncentrace spermií je v nepřímé úměře k objemu získaného ejakulátu.

Aktivita spermií, jak ukazuje tab. 10, byla zjištěna v rozmezí  $59,2 \pm 25,6 \%$  až  $79,1 \pm 10,7 \%$ . Nejvyšší aktivitu spermií prokázali psi chováni ve dvojici, a to  $79,1 \pm 10,7 \%$ . Druhou nejvyšší aktivitu spermií měli psi chováni samostatně, a to  $73,5 \pm 8,5 \%$ , následovali psi chováni ve smečce pěti psů  $72,5 \pm 9,6 \%$ , a psi chováni ve trojici  $68,2 \pm 21,2 \%$  aktivních spermií v ejakulátu. Psi chováni ve čtveřici vykazovali pouze  $59,2 \pm 25,6 \%$  aktivitu spermií v ejakulátu. Průkazné rozdíly mezi skupinami podle počtu psů v domácnosti jsou uvedeny v tab. 10. Ortega-Pacheco et al. (2006) ve své

práci uvádí, u psů chovaných jednotlivě, 84,4% aktivitu, což je výrazně vyšší hodnota, než byla hodnota zde zjištěná. Věžník et al. (2003) uvádí, u psů chovaných individuálně, aktivitu spermií 74,0 %, což plně odpovídá zjištěné hodnotě touto studií. Vágenknechtová et al. (2010) uvádí, jako průměrnou aktivitu spermií u psů chovaných ve trojici 80 %, což je výrazně vyšší hodnota, než bylo zjištěno v tomto sledování. Naopak u psů chovaných ve smečce pěti jedinců zjistili pouze 63,3% aktivitu spermií, což je hodnota výrazně nižší.

Tab. 10: Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti.

Počet psů v domácnosti	N	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	26	<b>7,55</b> $\pm$ 4,48	<b>188,85<sup>a</sup></b> $\pm$ 101,55	<b>73,5<sup>A</sup></b> $\pm$ 8,5
2	32	<b>10,59</b> $\pm$ 9,85	<b>193,28<sup>bc</sup></b> $\pm$ 151,35	<b>79,1<sup>BCD</sup></b> $\pm$ 10,7
3	41	<b>8,70</b> $\pm$ 6,23	<b>125,73<sup>b</sup></b> $\pm$ 101,10	<b>68,2<sup>BE</sup></b> $\pm$ 21,2
4	18	<b>5,81</b> $\pm$ 3,48	<b>199,17</b> $\pm$ 182,71	<b>59,2<sup>ACEF</sup></b> $\pm$ 25,6
5	35	<b>8,37</b> $\pm$ 4,95	<b>121,76<sup>ac</sup></b> $\pm$ 59,00	<b>72,1<sup>DF</sup></b> $\pm$ 9,6

ABCDEF – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

abc – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.3.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů, dle jejich počtu v domácnosti

Tab. 11 uvádí zastoupení morfologicky normálních a morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu psů dle počtu jedinců v domácnosti. Nejvíce morfologicky normálních spermií ( $77,0 \pm 5,6$  %), bylo zjištěno u psů chovaných ve dvojici, následovali psi chovaní samostatně ( $72,2 \pm 6,3$  %) a psi chovaní ve smečce pěti psů, kde bylo zjištěno  $71,5 \pm 12,8$  % morfologicky normálních spermií v ejakulátu. U psů chovaných ve smečce čtyř jedinců bylo zjištěno průměrně  $63,1 \pm 11,2$  % morfologicky normálních spermií v ejakulátu. Nejvíce morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu ( $38,4 \pm 11,2$  %), bylo zjištěno u psů chovaných ve trojici. Průkazné rozdíly jsou uvedeny v tab. 11. U psů chovaných ve dvojici byly zjištěny podobné výsledky těm, které uvádějí ve svých pracích Goericke-Pesch et al. (2012) a Nothling et al. (2007a). Psi chovaní individuálně, ve dvojici a ve smečce pěti psů, měli dostatečné množství morfologicky normálních spermií pro označení jejich ejakulátu za kvalitní (Věžník et al., 2004), tedy minimálně 70 %, ale nedosahovali hranice 80 %

morfoloicky normálních spermií v ejakulátu, kterou požadují Kim et al. (2010) pro další zpracování. Podobně psi chovaní ve trojici, a ve smečce čtyř jedinců, nedosahovali 70% hranice morfoloicky normálních spermií, kterou uvádí pro normální ejakulát Věžník et al. (2004).

Tab. 11: Zastoupení morfoloicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů, dle jejich počtu v domácnosti.

Počet psů v domácnosti	n	Morfoloicky normální (%)	Morfoloicky abnormální (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	26	<b>72,2<sup>Aa</sup></b> $\pm$ 6,3	<b>27,8<sup>Aa</sup></b> $\pm$ 6,3
2	32	<b>77,0<sup>BC</sup></b> $\pm$ 5,6	<b>23,0<sup>BC</sup></b> $\pm$ 5,6
3	41	<b>61,6<sup>ABD</sup></b> $\pm$ 23,6	<b>38,4<sup>ABD</sup></b> $\pm$ 23,6
4	18	<b>63,1<sup>Cab</sup></b> $\pm$ 11,2	<b>36,9<sup>CDab</sup></b> $\pm$ 11,2
5	35	<b>71,5<sup>Db</sup></b> $\pm$ 12,8	<b>28,5<sup>b</sup></b> $\pm$ 12,8

ABCD – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

ab – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.3.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti

Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu, dle počtu psů v domácnosti, jsou uvedeny v tab. 12. Poškozená hlavička byla zjištěna nejčastěji u psů chovaných ve trojici ( $10,0 \pm 5,6$  %), nejméně často pak u psů chovaných ve skupině čtyř jedinců ( $6,4 \pm 3,4$  %), což odpovídá zjištění i jiných autorů. Průkazné rozdíly však nebyly mezi sledovanými skupinami zjištěny. Filipčík et al. (2011) uvádí poškození hlaviček spermií v ejakulátu psů v rozmezí 4,0 až 11,5 %, podobné hodnoty dále ve své práci zmiňují i Ortega-Pacheco et al. (2006), kteří chovali psy jednotlivě.

Poškozený bičík byl zjištěn nejčastěji u psů chovaných ve smečce čtyř jedinců ( $19,8 \pm 12,9$  %), následovali psi chovaní ve trojici ( $17,7 \pm 14,7$  %), psi chovaní ve smečce pěti jedinců ( $9,7 \pm 4,6$  %) a psi chovaní jednotlivě ( $9,5 \pm 5,3$  %). Nejméně poškozených bičíků ( $8,4 \pm 4,5$  %) vykazovali psi chovaní ve dvojici. Průkazné rozdíly jsou uvedeny v Tab. 12. Podobné hodnoty u psů chovaných jednotlivě zjistili i Ortega-Pacheco et al. (2006) a Nothling et al. (2007a).

Spojovací část spermie vykazovala nejméně často poškození u psů chovaných ve smečce čtyř psů ( $1,2 \pm 1,2$  %), následovali psi chovaní ve dvojici ( $2,8 \pm 1,9$  %), psi chovaní samostatně ( $3,1 \pm 1,9$  %) a psi chovaní ve trojici ( $3,0 \pm 3,5$  %). Poškození

spojovací části spermie bylo nejčastěji nalezeno u psů chovaných ve smečce pěti jedinců ( $3,5 \pm 4,1$  %). Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn mezi psy chovanými ve smečce čtyř a pěti psů.

Nezralé spermie se nejčastěji vyskytovaly u psů chovaných ve smečce čtyř jedinců ( $6,7 \pm 4,7$  %), nejméně často pak u psů chovaných ve dvojici ( $2,1 \pm 1,2$  %). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn mezi psy chovanými ve dvojici a psy chovanými ve trojici, a psy chovanými ve smečce čtyř jedinců. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn mezi psy chovanými ve smečce čtyř a pěti psů.

Degenerované spermie byly nejčastěji zjištěny u psů chovaných ve trojici ( $1,4 \pm 1,9$  %), dále pak u psů chovaných ve smečce čtyř jedinců ( $0,8 \pm 0,9$  %), u psů chovaných ve dvojici ( $0,8 \pm 0,8$  %) a u psů chovaných ve smečce pěti psů ( $0,6 \pm 0,7$  %). Nejméně degenerovaných spermií v ejakulátu bylo zaznamenáno u psů chovaných jednotlivě ( $0,4 \pm 0,6$  %). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ), v podílu degenerovaných spermií v ejakulátu, byl zjištěn mezi psy chovanými ve trojici a psy chovanými jednotlivě, a ve smečce pěti psů. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ), v procentickém zastoupení degenerovaných spermií, byl zjištěn mezi psy chovanými ve trojici a psi chovanými ve dvojici. Podobné hodnoty uvádí ve své práci i Filipčík et al. (2011).

Tab. 12. Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti.

Počet psů v domácnosti	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	26	<b>9,4</b> $\pm$ 1,9	<b>9,5<sup>AB</sup></b> $\pm$ 5,3	<b>3,1</b> $\pm$ 1,9
2	32	<b>7,9</b> $\pm$ 4,3	<b>8,4<sup>CD</sup></b> $\pm$ 4,5	<b>2,8</b> $\pm$ 1,9
3	41	<b>10,0</b> $\pm$ 5,6	<b>17,7<sup>ACE</sup></b> $\pm$ 14,7	<b>3,0</b> $\pm$ 3,5
4	18	<b>6,4</b> $\pm$ 3,4	<b>19,8<sup>BDF</sup></b> $\pm$ 12,9	<b>1,2<sup>a</sup></b> $\pm$ 1,2
5	35	<b>9,9</b> $\pm$ 11,2	<b>9,7<sup>EF</sup></b> $\pm$ 4,6	<b>3,5<sup>a</sup></b> $\pm$ 4,1
Počet psů v domácnosti	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	26	<b>0,9</b> $\pm$ 1,5	<b>4,3</b> $\pm$ 3,6	<b>0,4<sup>A</sup></b> $\pm$ 0,6
2	32	<b>1,3</b> $\pm$ 2,1	<b>2,1<sup>AB</sup></b> $\pm$ 1,2	<b>0,8<sup>a</sup></b> $\pm$ 0,8
3	41	<b>0,9</b> $\pm$ 1,8	<b>5,3<sup>A</sup></b> $\pm$ 4,3	<b>1,4<sup>ABa</sup></b> $\pm$ 1,9
4	18	<b>2,0</b> $\pm$ 4,1	<b>6,7<sup>Ba</sup></b> $\pm$ 4,7	<b>0,8</b> $\pm$ 0,9
5	35	<b>1,2</b> $\pm$ 1,7	<b>3,6<sup>a</sup></b> $\pm$ 3,1	<b>0,6<sup>B</sup></b> $\pm$ 0,7

ABCDEF – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

## **5.4 Vliv hmotnosti na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů**

### **5.4.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů o různé hmotnosti**

Jak ukazuje tab. 13, doba od počátku stimulace k počátku ejakulace byla nejdelší u středně velkých psů (11 – 25 kg), a to  $228,00 \pm 201,61$  s. Poloviční doba ( $114,55 \pm 165,34$  s) byla zjištěna u velkých psů (26 – 50 kg) a nejkratší doba ( $74,44 \pm 27,64$  s) byla zaznamenána u malých psů (1 – 10 kg). Vysoce průkazný rozdíl byl zjištěn mezi středně velkými psy a velkými psy, a středně velkými a malými psy. Vágenknechtová et al. (2011a) ve své práci uvádí u malých psů hodnotu velmi podobnou, a to 71,7 s. U středních psů byla hodnota, kterou zjistili, značně odlišná, a to 97,8 s proti mnou zjištěným 228,00 s. U velkých psů zjistili opět velmi podobnou hodnotu, a to 104,0 sekund. Vágenknechtová et al. (2010) uvádí, u středně velkých psů, velmi výrazné rozdíly v době od počátku stimulace k počátku ejakulace mezi jednotlivými odebíranými psy, a to od 120 do 744 s. Přitom váhový rozdíl mezi nejlehčím odebíraným psem a nejtěžším odebíraným psem, v kategorii středně velkých, byl pouhé 3 kg. U malých psů (3 kg) i u velkých psů (30 – 31 kg) byla zaznamenána doba, od počátku stimulace k počátku ejakulace, v rozmezí 42 až 90 s, což odpovídá námi zjištěným údajům u skupin malých a velkých psů. Delší doba od počátku stimulace k počátku ejakulace, která se projevuje u středně velkých psů, může být způsobena menší náročností středních plemen. Středně velká plemena se nejvíce blíží, svojí stavbou a konstitucí, primitivním plemenům. Tito psi mají většinou dobře zachované pohlavní reflexy, ale velmi často se jedná o psy pracovní využívané, což může vést jejich majitele k zanedbávání rozvoje sexuálního chování, nebo dokonce k záměrnému potlačování jejich přirozeného pohlavního chování. Proto může dojít k prodloužení doby, kterou pes potřebuje ke stimulaci, než dojde k ejakulaci. Dá se to však cvikem velmi dobře a snadno napravit.

Doba ejakulace byla nejdelší u středně velkých psů (11 – 25 kg), naproti tomu nejkratší doba ejakulace byla u velkých psů (26 – 50 kg), kdy mezi těmito skupinami byl zjištěn statisticky vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ). Stejné výsledky uvádí ve své práci i Vágenknechtová et al. (2011a). Naproti tomu v jiné práci Vágenknechtová et al. (2010) uvádí, že nejdelší doba ejakulace byla v jejich studii zaznamenána u psů vážících 20 kg a nejkratší doba ejakulace pak u psů vážících do 19 kg. Tedy také u psů, kteří byli

v této studii zařazení do skupiny středně velkých plemen (11 – 25 kg). Velikost psa souvisí s objemem ejakulátu (čím větší pes, tím větší objem ejakulátu), dalo by se tedy předpokládat, že čím větší objem, tím delší doba ejakulace. Tuto domněnku se ovšem v naší práci nepodařilo prokázat. Daná skutečnost bude pravděpodobně závislá na morfologickém utváření vývodných pohlavních cest a tedy na možnosti rychlejší ejakulace.

Tab. 13: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů o různé hmotnosti.

Hmotnost (kg)	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)			Doba ejakulace (s)		
		<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>	<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>
1 – 10	27	<b>74,44<sup>A</sup></b>	±	27,64	<b>406,67</b>	±	118,06
11 – 25	70	<b>228,00<sup>AB</sup></b>	±	201,61	<b>450,86<sup>A</sup></b>	±	185,49
26 – 50	55	<b>114,55<sup>B</sup></b>	±	165,34	<b>368,36<sup>A</sup></b>	±	157,98

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

#### 5.4.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů o různé hmotnosti

Hodnoty objemu ejakulátu, koncentrace spermií a aktivity spermií v ejakulátu, jsou uvedeny v tab. 14. Největší objem ejakulátu ( $9,54 \pm 6,43$  ml) byl zjištěn u velkých psů (26 – 50 kg). Středně velcí psi (11 – 25 kg) měli objem ejakulátu  $8,76 \pm 7,40$  ml a malí psi (1 – 10 kg) měli průměrný objem ejakulátu  $5,61 \pm 1,92$  ml. Jak je patrné z výše uvedených hodnot, množství ejakulátu prokázalo shodnou tendenci s výší tělesné hmotnosti (tzn., že se zvyšující se tělesnou hmotností se objem ejakulátu rovněž zvyšoval). Průkazné rozdíly jsou uvedeny v tab. 14. U malých psů do 10 kg, se zjištěné hodnoty shodují s hodnotami, které uvádějí ve svých pracích Vágenknechtová et al. (2010) a Vágenknechtová et al. (2011a). U středně velkých psů (11 – 25 kg) byl zjištěný objem o 3 ml nižší, než uvádí Vágenknechtová et al. (2011a), ale výrazně vyšší než uvádějí ve svých pracích autoři Mastachio et al. (2012), Kim et al. (2012) a Peña et al. (2012), kteří ovšem odebírali pouze spermatickou frakci. U velkých psů, nad 25 kg, byl objem ejakulátu podobný, jako uvádí Vágenknechtová et al. (2011a) a Paldusová et al. (2013), ale výrazně vyšší než uvádí Peña et al. (2012), ti ovšem opět záměrně odebírali pouze frakci bohatou na spermie.



Koncentrace spermií byla nejvyšší u středně velkých psů (11 - 25 kg), a to  $175,60 \pm 125,86 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Velcí psi (26 – 50 kg) měli koncentraci spermií v ejakulátu  $161,18 \pm 135,25 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a nejnižší koncentraci vykázali malí psi, a to  $108,89 \pm 54,87 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn mezi středně velkými a malými psy. Zjištěné hodnoty však neodpovídají normě uváděné Věžníkem et al. (2004), kteří uvádí jako minimální koncentraci pro psí sperma  $200 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , ovšem za předpokladu mnohem nižšího objemu získaného ejakulátu, a to 2 ml. Zjištěná koncentrace u středně velkých a velkých psů byla oproti této hodnotě nižší, avšak stále odpovídala průměrným hodnotám uváděným Jelínkem et al. (2003), a to  $120 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Ovšem koncentrace zjištěná u malých psů do 10 kg neodpovídala ani této hodnotě, ale Vágenknechtová et al. (2010) a Paldusová et al. (2013) uvádějí hodnoty pro malé psi velmi podobné.

Nejvyšší aktivita spermií byla zjištěna u středně velkých psů (11 – 25 kg), a to  $75,9 \pm 9,4 \%$ . Nižší aktivita spermií ( $69,1 \pm 18,1 \%$ ) byla zjištěna u velkých psů (26 – 50 kg) a nejnižší aktivita spermií ( $63,3 \pm 24,4 \%$ ) byla zjištěna u malých psů (do 10 kg). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) v aktivitě spermií byl zjištěn u středně velkých psů a velkých, a středně velkých a malých psů. Dále byl zjištěn ještě průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) v aktivitě spermií, a to mezi velkými a malými psy. Pouze hodnoty získané od středně velkých psi odpovídali normě, kterou uvádí Věžník et al. (2004). Horší výsledky u velkých, a zejména pak u malých plemen psů, lze připisovat většímu přešlechtění. Neboť často jediným kritériem pro výběr jedinců do chovu, je exteriér odpovídající pokroucené představě ideálu, bez ohledu na funkční zdraví populace, čímž dochází k degeneraci a hrozí, mimo jiné, i riziko snížení plodnosti. Příkladem tomu mohou být psi plemene italský chrtík, u kterých byla v práci publikované Consigliem et al. (2010), zjištěna pouze 27,5% aktivita spermií.

Tab. 14: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů o různé hmotnosti.

Hmotnost (kg)	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1 – 10	27	<b>5,61<sup>A</sup></b> $\pm$ 1,92	<b>108,8<sup>a</sup></b> $\pm$ 54,87	<b>63,3<sup>Aa</sup></b> $\pm$ 24,4
11 – 25	70	<b>8,76<sup>a</sup></b> $\pm$ 7,40	<b>175,6<sup>a</sup></b> $\pm$ 125,86	<b>75,9<sup>AB</sup></b> $\pm$ 9,4
26 – 50	55	<b>9,54<sup>Aa</sup></b> $\pm$ 6,43	<b>161,18</b> $\pm$ 135,25	<b>69,1<sup>Ba</sup></b> $\pm$ 18,1

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.4.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti

Morfologicky normálních spermií bylo nejvíce zjištěno u středně velkých psů, a to  $74,5 \pm 6,5$  %. Druhého nejlepšího výsledku dosáhli velcí psi a nejvíce morfologicky abnormálních spermií bylo zjištěno u malých psů. Mezi sledovanými skupinami byly zjištěny vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ ), jak je patrné z následující tab. 15.

Tab. 15: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti.

Hmotnost (kg)	n	Morfologicky normální (%)	Morfologicky anormální (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1 – 10	27	<b>54,2<sup>A</sup></b> $\pm$ 25,7	<b>45,9<sup>A</sup></b> $\pm$ 25,7
11 – 25	70	<b>74,5<sup>A</sup></b> $\pm$ 6,5	<b>25,5<sup>A</sup></b> $\pm$ 6,5
26 – 50	55	<b>69,6<sup>A</sup></b> $\pm$ 13,1	<b>30,4<sup>A</sup></b> $\pm$ 13,1

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.4.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti

Spermie hodnocené v ejakulátech malých psů vykazovaly nejvíce patomorfologických vad na všech sledovaných částech spermie. Následovali velcí psi a nejméně defektů na jednotlivých sledovaných částech spermií bylo pozorováno u středně velkých psů. V tab. 16 je uvedeno zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti a mezi nimi zjištěné průkazné rozdíly.

Vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ ) mezi sledovanými skupinami byly zjištěny u poškození bičků spermií. Nejvíce poškozených bičků bylo zjištěno u malých psů, a to  $22,2 \pm 15,5$  %. Nejméně poškozených bičků spermií bylo zjištěno u středně velkých psů, kde bylo zjištěno  $8,7 \pm 4,9$  % poškozených bičků spermií, a následovali velcí psi s  $13,2 \pm 9,8$  % poškozených bičků. Další průkazné rozdíly mezi sledovanými skupinami byly zjištěny u nezralých a degenerovaných spermií, kdy vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn mezi malými psy a psy středně velkými psy, a malými psy a velkými psy.

Tab. 16: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti.

Hmotnost (kg)	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1 – 10	27	<b>9,8</b> $\pm$ 6,6	<b>22,2<sup>A</sup></b> $\pm$ 15,5	<b>3,7</b> $\pm$ 4,1
11 – 25	70	<b>8,6</b> $\pm$ 3,4	<b>8,7<sup>A</sup></b> $\pm$ 4,9	<b>3,1</b> $\pm$ 2,1
26 – 50	55	<b>9,2</b> $\pm$ 9,3	<b>13,2<sup>A</sup></b> $\pm$ 9,8	<b>2,2</b> $\pm$ 3,3
Hmotnost (kg)	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1 – 10	27	<b>1,4</b> $\pm$ 2,1	<b>6,8<sup>AB</sup></b> $\pm$ 4,2	<b>2,0<sup>AB</sup></b> $\pm$ 2,1
11 – 25	70	<b>1,0</b> $\pm$ 1,7	<b>3,6<sup>A</sup></b> $\pm$ 3,7	<b>0,5<sup>A</sup></b> $\pm$ 0,7
26 – 50	55	<b>1,3</b> $\pm$ 2,8	<b>3,8<sup>B</sup></b> $\pm$ 3,9	<b>0,6<sup>B</sup></b> $\pm$ 0,8

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

## 5.5 Vliv způsobu pracovního využití psa na průběh odběru a kvalitu ejakulátu

### 5.5.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle jejich pracovního využití

Nejdelší doba, od počátku stimulace psů k počátku ejakulace, byla zjištěna u rodinných psů ( $235,63 \pm 235,06$  s) a nejkratší u psů sportovně využívaných ( $116,09 \pm 124,29$  s). Pro srovnání, Vágenknechtová et al. (2011a) ve své práci shodně zaznamenali nejkratší dobu ( $68,3 \pm 42,6$  s), od počátku stimulace k počátku ejakulace, u sportovních psů, ovšem nejdelší dobu ( $130,0 \pm 171,7$  s) zjistili u psů policejních. Ti, v této studii, dosáhli hodnoty  $141,43 \pm 159,84$  s. Doba od počátku stimulace k počátku ejakulace, u sportovně využívaných psů, může být ovlivněna snadnější manipulovatelností s těmito psy. Neboť jsou ze sportu lépe přivyklí na častou manipulaci, různé prostředí a velké množství lidí, bývají tak méně stresovaní v novém prostředí či neznámé situaci. Doba ejakulace byla nejdelší u sportovně využívaných psů ( $439,13 \pm 191,54$  s) a nejkratší u policejních psů ( $363,43 \pm 138,77$  s). Vágenknechtová et al. (2011a) ve své práci zjistili průkazný rozdíl mezi dobou ejakulace u rodinných, sportovních a policejních psů. Při hodnocení doby ejakulace, nebyl zjištěn žádný průkazný rozdíl mezi mnou sledovanými skupinami. Zjištěná doba ejakulace odpovídá hodnotám uváděným autory Finsterle (2009) a Vágenknechtová et al. (2011a). Průkazné rozdíly mezi sledovanými skupinami jsou uvedeny v tab. 17.

Tab. 17: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle jejich pracovního využití.

Využití	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)		Doba ejakulace (s)	
		<b>x</b>	$\pm s_x$	<b>x</b>	$\pm s_x$
rodina	48	<b>235,63<sup>AB</sup></b>	$\pm 235,06$	<b>412,08</b>	$\pm 146,78$
sport	69	<b>116,09<sup>A</sup></b>	$\pm 124,29$	<b>439,13</b>	$\pm 191,54$
policie	35	<b>141,43<sup>B</sup></b>	$\pm 159,84$	<b>363,43</b>	$\pm 138,77$

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddělech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.5.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle jejich pracovního využití

V tab. 18 jsou uvedeny zjištěné hodnoty objemu, koncentrace a aktivity spermií v ejakulátu psů, dle pracovního využití. Nejlepší výsledky vykazovali sportovně využívaní psi, tito psi měli nejvyšší objem ejakulátu ( $9,35 \pm 7,59$  ml), koncentraci ( $189,37 \pm 121,93 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ) i aktivitu spermií ( $78,33 \pm 8,90$  %). Policejní psi měli nejnižší objem ejakulátu ( $6,36 \pm 4,01$  ml) a aktivitu spermií ( $54,14 \pm 23,93$  %). Koncentrace spermií u psů využívaných policií byla  $161,71 \pm 139,22 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Rodinní psi měli objem  $8,79 \pm 6,04$  ml, koncentraci  $111,88 \pm 92,93 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a  $73,44 \pm 9,23$  % aktivitu spermií. Průkazné rozdíly jsou uvedeny v tab. 18.

Zjištěný objem u všech sledovaných skupin byl vyšší, než uvádějí následující autoři: Mastachio et al. (2012) 3,3 ml, Peña et al. (2007) 3 ml, či Silva et al. (2003) 1,54 ml. Policejní psi, kteří měli nejnižší objem ( $6,36 \pm 4,01$  ml) ze sledovaných skupin, dosáhli značně podobné hodnoty, kterou uvádí Jelínek et al. (2003), jako hodnotu průměrnou, a to 6 ml. Naproti tomu koncentrace byla u všech sledovaných skupin nižší, než uvádějí autoři Silva et al. (2003)  $775,0 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  či Přinosilová et al. (2006)  $276,3 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . U rodinných psů koncentrace nedosáhla ani minimální požadované hodnoty  $120 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , kterou uvádí Jelínek et al. (2003). U sportovních a policejních psů byla tato výše koncentrace dosažena. Aktivita u rodinných a sportovních psů byla podobná hodnotám, které zjistili Nothling et al. (2005) 77,0 %, Ortega Pacheco et al. (2006) 78,8 % a Nothling et al. (2007a), a to 76,4 %. Policejní psi vykazovali nižší aktivitu, než ostatní sledované skupiny, kdy zjištěná hodnota 54,1 % byla podobná hodnotě zjištěné autory Dorado et al. (2011) 58,6 %. Nižší objem a aktivita byla u policejních psů pravděpodobně způsobena vyšší fyzickou zátěží a zejména pak stresem, kterému jsou v každodenní službě vystaveni. Naopak psi využívaní ve sportu měli nejlepší výsledky, což ukazuje na to, že zdravý pravidelný pohyb má pozitivní vliv na kvalitu ejakulátu.

Tab. 18: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle jejich pracovního využití.

Využití	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
rodina	48	<b>8,79</b> $\pm$ 6,04	<b>111,88<sup>A</sup></b> $\pm$ 92,93	<b>73,4<sup>Aa</sup></b> $\pm$ 9,2
sport	69	<b>9,35<sup>a</sup></b> $\pm$ 7,59	<b>189,37<sup>A</sup></b> $\pm$ 121,93	<b>78,3<sup>Ba</sup></b> $\pm$ 8,9
policie	35	<b>6,36<sup>a</sup></b> $\pm$ 4,01	<b>161,71</b> $\pm$ 139,22	<b>54,1<sup>AB</sup></b> $\pm$ 23,9

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.5.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití

V tab. 19 je uvedeno zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií. Výsledky rodinných a sportovně využívaných psů, jsou si velmi podobné ( $74,0 \pm 7,6$  % a  $73,4 \pm 10,3$  % morfologicky normálních spermií v ejakulátu). U policejních psů byly zjištěny horší výsledky, a to pouze  $54,0 \pm 22,4$  %. Rozdíly ve zjištěných hodnotách byly mezi policejními psy a dalšími dvěma skupinami psů statisticky vysoce průkazné ( $P \leq 0,01$ ).

Rodinní a sportovní psi vykazovali podobné výsledky, jaké uvádí Nothing et al. (2005) 75,8 %, či Přinosilová et al. (2006) 73,0 %, a výrazně lepší výsledek, než zjistili u rodinných psů Věžník et al. (2003) 57,5%. Tomuto výsledku se blíží hodnoty, které byly zjištěny u skupiny policejních psů. Tento výrazně horší výsledek, oproti ostatním sledovaným skupinám, byl nejpravděpodobněji zapříčiněn vysokým pracovním nasazením.

Tab. 19: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití.

Využití	n	Morfologicky normální (%)	Morfologicky abnormální (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
rodina	48	<b>74,0<sup>A</sup></b> $\pm$ 7,6	<b>26,0<sup>A</sup></b> $\pm$ 7,6
sport	69	<b>73,4<sup>B</sup></b> $\pm$ 10,3	<b>26,6<sup>B</sup></b> $\pm$ 10,3
policie	35	<b>54,0<sup>AB</sup></b> $\pm$ 22,4	<b>46,0<sup>AB</sup></b> $\pm$ 22,4

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.5.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití

V tab. 20 je uvedeno zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití. Nejvíce poškozených hlaviček bylo zjištěno u policejních psů, a to  $9,9 \pm 5,3$  %. Nejméně poškozených hlaviček bylo zjištěno u sportovně využívaných psů, a to  $8,4 \pm 8,3$  %. Poškození bičíku v ejakulátu policejních psů bylo zjištěno u  $23,5 \pm 15,2$  % spermií. V ejakulátu rodinných psů bylo zjištěno poškození bičíků spermií v  $10,6 \pm 6,9$  % a u sportovních psů v  $8,8 \pm 4,0$  %. Nejméně poškození na spojovacích částech spermií v ejakulátu bylo zjištěno u rodinných psů, a to  $1,7 \pm 1,5$  %. Sportovní a policejní psi měli procento poškození na spojovací části spermií srovnatelné, a to  $3,4 \pm 3,2$  % u sportovních psů a  $3,4 \pm 3,6$  % u policejních psů. Nejvíce nezralých a degenerovaných spermií v ejakulátu bylo nalezeno v ejakulátech policejních psů, a to  $6,1 \pm 4,6$  % nezralých a  $1,5 \pm 2,0$  % degenerovaných spermií. V ejakulátech rodinných psů bylo zjištěno nejmenší zastoupení nezralých spermií ( $3,5 \pm 3,5$  %) i degenerovaných spermií ( $0,5 \pm 0,8$  %). V poškození hlavičky spermií u sledovaných skupin psů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly. Statisticky významný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) mezi psy využívanými policií, psy rodinnými a sportovními psy, byl zjištěn u vad na bičíku, nezralých a degenerovaných spermií. Vysoce průkazně nižší ( $P \leq 0,01$ ) zastoupení vad na spojovací části měli rodinní psi oproti ostatním sledovaným skupinám psů. Horší výsledky u policejních psů lze připsat náročnosti služby a značnému stresu, kterému jsou tito psi každodenně vystaveni.

Tab. 20: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití.

Využití	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		<b>x</b> ± $s_x$	<b>x</b> ± $s_x$	<b>x</b> ± $s_x$
rodina	48	<b>9,2</b> ± 4,3	<b>10,6<sup>A</sup></b> ± 6,88	<b>1,7<sup>AB</sup></b> ± 1,5
sport	69	<b>8,4</b> ± 8,3	<b>8,8<sup>B</sup></b> ± 4,02	<b>3,4<sup>A</sup></b> ± 3,2
policie	35	<b>9,9</b> ± 5,3	<b>23,5<sup>AB</sup></b> ± 15,23	<b>3,4<sup>B</sup></b> ± 3,6
Využití	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		<b>x</b> ± $s_x$	<b>x</b> ± $s_x$	<b>x</b> ± $s_x$
rodina	48	<b>0,7</b> ± 1,7	<b>3,5<sup>A</sup></b> ± 3,5	<b>0,5<sup>A</sup></b> ± 0,8
sport	69	<b>1,4</b> ± 1,9	<b>3,8<sup>B</sup></b> ± 3,1	<b>0,7<sup>B</sup></b> ± 0,8
policie	35	<b>1,3</b> ± 3,1	<b>6,1<sup>AB</sup></b> ± 4,6	<b>1,5<sup>AB</sup></b> ± 2,0

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

## 5.6 Vliv typu ustájení na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů

### 5.6.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu ustájení

Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace byla nejdelší u psů s volným výběhem ( $211,15 \pm 193,90$  s), naopak nejkratší dobu potřebovali psi chovaní v bytě ( $138,16 \pm 156,62$  s). Vágenknechtová et al. (2011a) ve své práci zjistili nejdelší dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace u psů ustájených v kotci, a to 134,4 sekund, což odpovídá hodnotě zjištěné u psů chovaných v bytě. Dále u psů chovaných v bytě a u psů chovaných volně, uvádí výrazně nižší dobu od počátku stimulace psů k počátku ejakulace, a to 84,7 s resp. 65,0 s. Nejdelší doba ejakulace byla zjištěna u psů chovaných v kotci ( $449,77 \pm 173,14$  s) a nejkratší dobu ejakulace vykazovali psi chovaní volně ( $348,46 \pm 143,02$  s). Podobné hodnoty uvádí i Vágenknechtová et al. (2011a). Zjištěné průkazné rozdíly jsou uvedeny v tab. 21.

Tab. 21. Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu ustájení.

Typ ustájení	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)		Doba ejakulace (s)	
		$\bar{x}$	$\pm s_x$	$\bar{x}$	$\pm s_x$
byt	38	<b>138,16<sup>A</sup></b>	$\pm 156,62$	<b>372,63</b>	$\pm 154,81$
kotec	88	<b>153,75</b>	$\pm 184,12$	<b>449,77<sup>a</sup></b>	$\pm 173,14$
volně	26	<b>211,15<sup>A</sup></b>	$\pm 198,90$	<b>348,46<sup>a</sup></b>	$\pm 143,02$

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )



### 5.6.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu ustájení

V tab. 22 jsou uvedeny zjištěné objemy ejakulátu, koncentrace a aktivity spermií, dle typu ustájení psů. Zjištěný objem byl nejvyšší u psů chovaných v kotcích ( $9,77 \pm 7,81$  ml), následování psy chovanými v bytě ( $7,59 \pm 3,80$  ml). Nejmenší objem měli psi chovaní volně ( $5,44 \pm 2,31$  ml). Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn mezi psy chovanými v kotci a psy chovanými volně. Koncentrace spermií byla nejvyšší u psů chovaných volně ( $204,33 \pm 182,320 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ). Psi chovaní v kotci a v bytě měli koncentraci velmi podobnou,  $146,82 \pm 57,47 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  u psů chovaných v bytě a  $150,06 \pm 118,76 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  u psů chovaných v kotcích. Mezi výsledky koncentrací u jednotlivých sledovaných skupin nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. Nejvyšší aktivita spermií byla zjištěna u psů chovaných v bytě ( $76,3 \pm 6,7$  %). U psů chovaných v kotci byla zjištěna  $71,9 \pm 16,9$  % aktivita spermií. Nejnižší aktivita spermií byla zjištěna u psů chovaných volně ( $61,5 \pm 22,6$  %). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn mezi psy chovanými volně a chovanými v bytě, dále pak mezi psy chovanými v bytě a v kotci.

Tab. 22: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu ustájení.

Typ ustájení	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
byt	38	<b>7,59</b> $\pm$ 3,80	<b>146,82</b> $\pm$ 57,47	<b>76,3<sup>A</sup></b> $\pm$ 6,7
kotec	88	<b>9,77<sup>A</sup></b> $\pm$ 7,81	<b>150,06</b> $\pm$ 118,76	<b>71,9<sup>B</sup></b> $\pm$ 16,9
volné	26	<b>5,44<sup>A</sup></b> $\pm$ 2,31	<b>204,33</b> $\pm$ 182,32	<b>61,5<sup>AB</sup></b> $\pm$ 22,6

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.6.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu ustájení

Jak ukazuje tab. 23, nejvíce morfologicky normálních spermií bylo zjištěno u psů chovaných v bytě, a to  $71,9 \pm 7,6$  %. Nejméně morfologicky normálních spermií bylo zjištěno u psů chovaných v kotci, a to  $67,7 \pm 18,8$  %. Psi chovaní volně měli  $69,7 \pm 12,5$  % morfologicky normálních spermií. Mezi sledovanými skupinami nebyl zjištěn průkazný rozdíl. Podobné výsledky těm, které byly zjištěny u rodinných psů,

předkládají i Ortega-Pacheco et al. (2006) a Assis et al. (2010), ale u psů chovaných v kotcích. Jiní autoři (Peña et al., 2007; Monteiro et al., 2009) zjistili u psů chovaných v kotcích výsledky výrazně lepší. Většina autorů však pro své výzkumy používá ověřené psy s výbornou kvalitou ejakulátu. Hodnoty, které jsme zjistili u psů chovaných v kotcích a u psů chovaných volně, jsou nepatrně nižší, než uvádí Věžník et al. (2004) pro nativní semeno psa, a to 70 % morfologicky normálních spermií. Tento parametr splňovali pouze psi chovaní v bytě.

Tab. 23: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu ustájení.

Typ ustájení	n	Morfologicky normální (%)			Morfologicky abnormální (%)		
		<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>	<b>x</b>	±	s <sub>x</sub>
byt	38	<b>71,9</b>	±	7,6	<b>28,1</b>	±	7,6
kotec	88	<b>67,8</b>	±	18,8	<b>32,3</b>	±	18,8
volné	26	<b>69,7</b>	±	12,5	<b>30,3</b>	±	12,5

#### 5.6.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle typu ustájení

V tab. 24 je uvedeno zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu dle typu ustájení. Psi chovaní v kotci měli nejvíce poškozených bičíků ( $12,8 \pm 11,3$  %) a poškozených hlaviček ( $9,9 \pm 8,2$  %), nezralé spermie byly zaznamenány u  $4,2 \pm 3,7$  %, poškozená spojovací část u  $3,3 \pm 3,4$  %, poškozený akrozom u  $1,1 \pm 1,9$  % a degenerované spermie u  $1,0 \pm 1,4$  %. Psi chovaní v bytě měli poškozený bičík u  $10,7 \pm 5,8$  % spermií. Poškozená hlavička byla zjištěna u  $7,4 \pm 3,2$  % a nezralé spermie u  $4,7 \pm 4,2$  %. Poškozenou spojovací část mělo  $2,7 \pm 2,5$  % spermií psů chovaných v bytě. Poškozený akrozom byl zaznamenán u  $1,8 \pm 3,1$  % spermií a degenerovaných spermií bylo  $0,6 \pm 0,8$  %. Psi chovaní volně měli nejvíce defektů na bičících ( $15,5 \pm 12,3$  %), následovaly defekty na hlavičkách ( $8,4 \pm 3,1$  %), nezralé spermie  $4,2 \pm 3,7$  %, defekty na spojovací části spermií  $3,3 \pm 3,4$  %, degenerované spermie  $0,5 \pm 0,9$  % a defekty na akrozomu spermií  $0,5 \pm 1,0$  %.

Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) mezi psy ustájenými v bytě a psy ustájenými volně byl zjištěn u poškození na bičíku a na akrozomu. Mezi psy ustájenými volně a psy ustájenými v kotci byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) u defektů na spojovací části.

Tab. 24: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle typu ustájení.

Typ ustájení	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		<b>x</b> ± s <sub>x</sub>	<b>x</b> ± s <sub>x</sub>	<b>x</b> ± s <sub>x</sub>
byt	38	<b>7,4</b> ± 3,2	<b>10,7<sup>a</sup></b> ± 5,8	<b>2,7</b> ± 2,5
kotec	88	<b>9,9</b> ± 8,2	<b>12,8</b> ± 11,3	<b>3,3<sup>a</sup></b> ± 3,4
volné	26	<b>8,4</b> ± 3,1	<b>15,5<sup>a</sup></b> ± 12,3	<b>1,8<sup>a</sup></b> ± 1,6
Typ ustájení	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		<b>x</b> ± s <sub>x</sub>	<b>x</b> ± s <sub>x</sub>	<b>x</b> ± s <sub>x</sub>
byt	38	<b>1,8<sup>a</sup></b> ± 3,1	<b>4,7</b> ± 4,2	<b>0,6</b> ± 0,8
kotec	88	<b>1,1</b> ± 1,9	<b>4,2</b> ± 3,7	<b>1,0</b> ± 1,4
volné	26	<b>0,5<sup>a</sup></b> ± 1	<b>3,7</b> ± 3,4	<b>0,5</b> ± 0,9

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly (P≤0,05)

## 5.7 Vliv počtu dnů mezi odběry na průběh a kvalitu ejakulátu u psů

### 5.7.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů

Doba od počátku stimulace k počátku ejakulace byla nejdelší u psů, kteří byli odebíráni tři dny za sebou ( $194,50 \pm 193,02$  s), následovali psi, kteří byli odebíráni jednou za sedm dní ( $151,11 \pm 167,34$  s) a nejkratší dobu potřebovali psi, kteří byli odebíráni jednou za tři dny ( $131,08 \pm 171,46$  s). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn mezi psy odebíranými každý den a psy odebíranými každý třetí den.

Nejdelší dobu ejakulace měli psi odebíraní jednou za sedm dní ( $546,67 \pm 139,56$  s), jak je uvedeno v tab. 25. Psi odebíraní tři dny za sebou a psi odebíraní jednou za tři dny měli délku ejakulace srovnatelnou ( $386,67 \pm 185,93$  s a  $382,15 \pm 134,82$  s). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn mezi psy odebíranými jednou za sedm dní, a psy odebíranými tři dny po sobě, a obden.

Tab. 25: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle počtu dní mezi odběry.

Počet dnů mezi odběry	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)		Doba ejakulace (s)	
		$\bar{x}$	$\pm s_x$	$\bar{x}$	$\pm s_x$
1	51	<b>194,50<sup>A</sup></b>	$\pm 193,02$	<b>386,67<sup>A</sup></b>	$\pm 185,93$
3	56	<b>131,08<sup>A</sup></b>	$\pm 171,46$	<b>382,15<sup>B</sup></b>	$\pm 134,82$
7	24	<b>151,11</b>	$\pm 167,34$	<b>546,67<sup>AB</sup></b>	$\pm 139,56$

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.7.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry

V tab. 26 je uveden objem ejakulátu, koncentrace a aktivita spermií, dle počtu dní mezi odběry. Nejvyšší objem ( $9,87 \pm 8,08$  ml) byl zjištěn u psů, kteří byli odebíráni jednou za sedm dní, druhý nejvyšší objem ( $8,40 \pm 4,69$  ml) byl zjištěn u psů odebíraných tři dny za sebou. Nejmenší objem ( $7,98 \pm 7,21$  ml) byl zjištěn u skupiny psů odebíraných jednou za tři dny. U sledovaných skupin nebyly prokázány statisticky významné rozdíly. Filipčík et al. (2012) uvádí u dvouletých až tříletých psů odebíraných

tříkrát po sobě (tři dny po sobě, nebo jednou za tři dny) objem ejakulátu v rozmezí  $7,82 \pm 2,35$  až  $11,05 \pm 4,31$  ml, což odpovídá zjištěným hodnotám.

Koncentrace spermií se pohybovala od  $137,88 \pm 109,81 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , u skupiny psů odebíraných jednou za tři dny, do  $206,67 \pm 164,21 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , u psů odebíraných jednou za sedm dní. U psů odebíraných tři dny po sobě byla zjištěna koncentrace spermií  $159,23 \pm 107,62 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Statisticky průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn u skupiny psů odebíraných jednou za sedm dní a jednou za tři dny.

Nejvyšší aktivita spermií byla zjištěna u psů odebíraných jednou za sedm dní, a to  $78,3 \pm 10,1$  %. Druhou nejvyšší aktivitu vykazovali psi odebíraní tři dny po sobě jdoucí  $73,3 \pm 9,1$  %. Velmi podobnou hodnotu uvádí u psů odebíraných tři po sobě jdoucí dny Hošek et al. (2012), a to 72,3 %. Nejnižší aktivita spermií byla zjištěna u psů odebíraných jednou za tři dny  $66,3 \pm 22,4$  %. Statisticky vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) byl zjištěn u skupiny psů odebíraných jednou za tři dny, vůči skupině psů odebíraných jednou za sedm dní a tři dny po sobě.

Tab. 26: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.

Počet dnů mezi odběry	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	51	<b>8,4</b> $\pm$ 4,7	<b>159,2</b> $\pm$ 107,6	<b>73,3<sup>A</sup></b> $\pm$ 9,1
3	56	<b>8,0</b> $\pm$ 7,2	<b>137,9<sup>a</sup></b> $\pm$ 109,8	<b>66,3<sup>AB</sup></b> $\pm$ 22,4
7	24	<b>9,9</b> $\pm$ 8,1	<b>206,7<sup>a</sup></b> $\pm$ 164,2	<b>78,3<sup>B</sup></b> $\pm$ 10,1

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddělech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.7.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry

V tab. 27 je uvedeno zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů, dle počtu dní mezi odběry. Psi odebíraní jednou za sedm dní měli  $74,9 \pm 7,3$  % morfologicky normálních spermií. Psi odebíraní tři dny po sobě měli  $71,6 \pm 10,2$  %. Psi odebíraní jednou za tři dny měli  $64,4 \pm 20,6$  %. Psi odebíraní jednou za tři dny prokázali statisticky vysoce průkazně ( $P \leq 0,01$ ) horší výsledek, než ostatní sledované skupiny. Procento morfologicky normálních spermií u psů odebíraných tři po sobě jdoucí dny, i jednou za týden, odpovídal procentu morfologicky normálních spermií, které uvádí Věžník et al. (2004) pro normální psí ejakulát. Je ovšem vyšší, než

procento normálních spermií, které zjistili Rijsselaer et al. (2007) u plodných psů ( $63,3 \pm 28,5$  %), což odpovídá zjištěnému procentu morfologicky normálních spermií u psů odebíraných jednou za tři dny. Používání plemenika jednou za tři dny je velmi často využíváno chovateli v přirozené plemenitbě, a při dvojném překrytí jednou za tři dny bývají vrhy nejpočetnější (Procházka, 1994).

Tab. 27: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.

Počet dnů mezi odběry	n	Morfologicky normální (%)			Morfologicky abnormální (%)		
		<b>x</b>	$\pm$	$s_x$	<b>x</b>	$\pm$	$s_x$
1	51	<b>71,6<sup>A</sup></b>	$\pm$	10,2	<b>28,4<sup>A</sup></b>	$\pm$	10,2
3	56	<b>64,4<sup>AB</sup></b>	$\pm$	20,6	<b>35,6<sup>AB</sup></b>	$\pm$	20,6
7	24	<b>74,9<sup>B</sup></b>	$\pm$	7,3	<b>25,1<sup>B</sup></b>	$\pm$	7,3

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

#### 5.7.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry

Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů, dle počtu dnů mezi odběry, je popsáno v Tab. 28. Psi odebíraní každý den měli  $9,7 \pm 8,8$  % poškozených hlaviček,  $10,0 \pm 4,4$  % poškozených bičků,  $4,1 \pm 3,4$  % nezralých spermií,  $3,2 \pm 3,4$  % defektů na spojovacích částích,  $1,0 \pm 1,6$  % defektních akrozomů a  $0,6 \pm 0,7$  % degenerovaných spermií. Psi odebíraní každý třetí den měli  $7,9 \pm 5,3$  % poškozených hlaviček,  $16,8 \pm 13,8$  % poškozených bičků,  $5,2 \pm 4,4$  % nezralých spermií,  $2,7 \pm 3,1$  % poškozených spojovacích částí,  $1,7 \pm 2,8$  % degenerovaných akrozomů a  $1,3 \pm 1,6$  % degenerovaných spermií. Psi odebíraní jednou za sedm dní měli  $10,3 \pm 1,8$  % poškozených hlaviček,  $9,2 \pm 7,3$  % poškozených bičků,  $2,7 \pm 1,5$  % defektních spojovacích částí,  $2,2 \pm 1,3$  % nezralých spermií,  $0,3 \pm 0,7$  % degenerovaných spermií a  $0,2 \pm 0,6$  % poškozených akrozomů.

Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) mezi sledovanými skupinami byl zjištěn u procenta poškozených bičků a procenta degenerovaných spermií. U nezralých spermií byl zjištěn vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) mezi skupinami psů odebíranými jednou za sedm dní a psy odebíranými jednou za tři dny. Průkazný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ) byl zjištěn u defektů na akrozomu mezi psy odebíranými jednou za sedm dní a jednou za tři dny.

Filipčík et al. (2012) zjistili statisticky průkazně lepší výsledky u psů odebíraných ob tři dny, což se ovšem v této studii nepotvrdilo. Jejich výsledky však mohly být ovlivněny odebíranou skupinou psů, neboť psi odebíraní každý den měli průkazně horší výsledek již při prvním odběru, což nemohlo být ovlivněno frekvencí odběru ejakulátu.

Tab. 28: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.

Počet dnů mezi odběry	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	51	<b>9,7</b> $\pm$ 8,8	<b>10,0<sup>A</sup></b> $\pm$ 4,4	<b>3,2</b> $\pm$ 3,4
3	56	<b>7,9</b> $\pm$ 5,3	<b>16,8<sup>AB</sup></b> $\pm$ 13,8	<b>2,7</b> $\pm$ 3,1
7	24	<b>10,3</b> $\pm$ 1,8	<b>9,2<sup>B</sup></b> $\pm$ 7,3	<b>2,7</b> $\pm$ 1,5
Počet dnů mezi odběry	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	51	<b>1,0</b> $\pm$ 1,6	<b>4,1</b> $\pm$ 3,4	<b>0,6<sup>A</sup></b> $\pm$ 0,7
3	56	<b>1,7<sup>a</sup></b> $\pm$ 2,8	<b>5,2<sup>A</sup></b> $\pm$ 4,4	<b>1,3<sup>AB</sup></b> $\pm$ 1,6
7	24	<b>0,2<sup>a</sup></b> $\pm$ 0,6	<b>2,2<sup>A</sup></b> $\pm$ 1,3	<b>0,3<sup>B</sup></b> $\pm$ 0,7

AB – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

## 5.8 Vliv pořadí odběru na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů

### 5.8.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle pořadí odběru

Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace byla nejdelší při druhém odběru  $176,12 \pm 191,20$  s, a nejkratší při třetím odběru  $144,04 \pm 161,50$  s. Psi při prvním odběru ejakulátu měli dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace  $158,39 \pm 188,59$  s, což je velmi podobná doba od počátku stimulace k počátku ejakulace, kterou zjistila Vágenknechtová et al. (2011b) u loveckých plemen, a to  $157,0 \pm 316,3$  s. Doba ejakulace byla nejdelší, při třetím odběru, a to  $425,11 \pm 171,01$  s. Při prvním a druhém odběru byla doba ejakulace srovnatelná ( $407,86 \pm 171,02$  s a  $407,76 \pm 166,57$ ). Jak ukazuje tab. 29, mezi výsledky nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly.

Tab. 29: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle pořadí odběru.

Pořadí odběru	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)			Doba ejakulace (s)		
		x	±	s <sub>x</sub>	x	±	s <sub>x</sub>
1	152	<b>158,39</b>	±	188,59	<b>407,86</b>	±	171,02
2	131	<b>176,12</b>	±	191,20	<b>407,76</b>	±	166,57
3	125	<b>144,04</b>	±	161,50	<b>425,11</b>	±	171,01

### 5.8.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle pořadí odběru

Tab. 30 ukazuje objem ejakulátu, koncentraci a aktivitu spermií, dle pořadí odběru ejakulátu u psů. Objem ejakulátu byl nejvyšší při prvním odběru ( $9,05 \pm 6,69$  ml) a nejnižší při druhém odběru ( $7,55 \pm 6,08$  ml). Koncentrace spermií byla nejmenší při druhém odběru ( $153,22 \pm 105,66 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ). Při prvním a třetím odběru byla koncentrace srovnatelná ( $161,88 \pm 139,60 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a  $160,06 \pm 117,63 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ). Aktivita spermií se od prvního ke třetímu odběru mírně zvyšovala, od  $70,3 \pm 16,6$  % do  $71,8 \pm 17,2$  %. Rozdíly mezi jednotlivými odběry nebyly statisticky průkazné. Odebírání psi neměli, ani při jednom odběru, aktivitu spermií požadovanou autory Cordosa et al. (2007) a Peña et al. (2007) pro ejakulát používaný ke konzervaci



mražením, a to 80 % aktivních spermií v ejakulátu. Ovšem při všech odběrech dosáhli požadované aktivity spermií, kterou uvádí Věžník et al. (2004), pro normální psí ejakulát, a to 70 %.

Tab. 30: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle pořadí odběru.

Pořadí odběru	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	152	<b>9,05</b> $\pm$ 6,69	<b>161,88</b> $\pm$ 139,60	<b>70,3</b> $\pm$ 16,6
2	131	<b>7,55</b> $\pm$ 6,08	<b>153,22</b> $\pm$ 105,66	<b>71,7</b> $\pm$ 17,1
3	125	<b>8,78</b> $\pm$ 6,74	<b>160,06</b> $\pm$ 117,63	<b>71,8</b> $\pm$ 17,2

### 5.8.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru

Výskyt morfologicky normálních spermií byl při prvním odběru  $70,0 \pm 14,7$  %, při druhém odběru mírně poklesl na  $67,4 \pm 17,2$  % a při třetím odběru stoupl na  $69,9 \pm 15,5$  %. Jak ukazuje tab. 31, rozdíly nebyly statisticky průkazné. Zjištěné procento morfologicky normálních spermií bylo nižší, než uvádí Nothling et al. (2005), ale naopak vyšší, než uvádí Vágenknechtová et al. (2011b).

Tab. 31: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru.

Pořadí odběru	n	Morfologicky normální (%)	Morfologicky abnormální (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	152	<b>70,0</b> $\pm$ 14,7	<b>30,0</b> $\pm$ 14,7
2	131	<b>67,4</b> $\pm$ 17,2	<b>32,6</b> $\pm$ 17,2
3	125	<b>69,9</b> $\pm$ 15,5	<b>30,2</b> $\pm$ 15,5

### 5.8.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru

V tab. 32 je znázorněno zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů, dle pořadí odběru. Skupiny nevykazovaly statisticky průkazné rozdíly. Nejvíce defektů bylo sledováno na bičících, a to od  $12,2 \pm 10,6$  % do  $13,7 \pm 10,6$  %, následovaly defekty na hlavičkách spermií s výskytem od  $8,2 \pm 4,0$  % do  $10,4 \pm 9,4$  %. Filipčík et al (2012)

uvádí u psů ve věku 18 až 30 měsíců nižší hodnoty pro všechny tři odběry, a to  $10,3 \pm 3,6$  % při prvním odběru,  $10,3 \pm 3,5$  % při druhém odběru a  $8,9 \pm 3,5$  % při třetím odběru. U psů ve věku 30 – 60 měsíců zjistili naopak výrazně vyšší hodnoty, a to  $20,1 \pm 11,8$  % při prvním odběru,  $16,5 \pm 6,6$  % při druhém odběru a  $22,3 \pm 6,3$  % při třetím odběru ejakulátu. Poškozené hlavičky uvádí Filipčík et al. (2012) v rozmezí  $6,7 \pm 3,0$  % až  $10,7 \pm 5,9$  %, což odpovídá zjištěným hodnotám. Nezralé spermie jsme pozorovali v rozmezí  $3,6 \pm 3,1$  až  $4,9 \pm 3,7$  % hodnocených spermií v ejakulátu. Filipčík et al. (2012) uvádí hodnoty v rozmezí  $3,6 \pm 1,2$  % až  $7,6 \pm 4,5$  %. Vady na akrozomu spermií, vady na spojovací části spermií a degenerované spermie, zjistili v podobných hodnotách. Defekty na spojovací části jsme pozorovali u  $2,6 \pm 2,8$  % až  $3,4 \pm 3,8$  % spermií. Vady akrozomu spermií byly zjištěny u  $1,1 \pm 2,0$  % až  $1,3 \pm 2,7$  % spermií. Nejméně ze sledovaných defektů bylo zjištěno degenerovaných spermií, a to od  $0,7 \pm 1,0$  % do  $1,0 \pm 1,3$  % spermií v ejakulátu. Filipčík et al. (2012) uvádí, že nebyly pozorovány statisticky průkazné rozdíly v závislosti na pořadí odběru, což plně odpovídá zjištěným výsledkům.

*Tab. 32: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru.*

Pořadí odběru	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	152	<b>8,6</b> $\pm$ 5,2	<b>12,2</b> $\pm$ 10,6	<b>2,7</b> $\pm$ 2,2
2	131	<b>10,4</b> $\pm$ 9,4	<b>13,7</b> $\pm$ 10,6	<b>3,4</b> $\pm$ 3,8
3	125	<b>8,2</b> $\pm$ 4,0	<b>12,5</b> $\pm$ 10,4	<b>2,6</b> $\pm$ 2,8
Pořadí odběru	n	Arozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
1	152	<b>1,3</b> $\pm$ 2,7	<b>4,2</b> $\pm$ 4,3	<b>1,0</b> $\pm$ 1,3
2	131	<b>1,1</b> $\pm$ 2,0	<b>3,6</b> $\pm$ 3,1	<b>0,7</b> $\pm$ 1,0
3	125	<b>1,1</b> $\pm$ 1,8	<b>4,9</b> $\pm$ 3,7	<b>0,7</b> $\pm$ 1,4

## 5.9 Vliv typu krmení na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů

### 5.9.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu krmení

Psi krmení granulemi s masem, měli vysoce průkazně ( $P \leq 0,01$ ) delší dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace ( $199,77 \pm 213,08$  s), oproti ( $143,33 \pm 164,16$  s) psům krmeným pouze granulemi. Naproti tomu autoři Vágenknechtová et al. (2010) a Vágenknechtová et al. (2011a) uvádějí, že psi krmení granulemi měli dobu od počátku stimulace psů k počátku ejakulace delší. V obou studiích však nebyli výsledky statisticky průkazné. Rozdíl v době ejakulace nebyl taktéž statisticky průkazný. Psi krmení granulemi měli dobu ejakulace delší, a to  $418,70 \pm 183,43$  s. Psi krmení granulemi s masem ejakulovali průměrně  $399,55 \pm 126,09$  s. Podobné výsledky uvádí i Vágenknechtová et al. (2011a), kdy u psů krmených granulemi byla zjištěná délka ejakulace  $416,0 \pm 192,5$  s a u psů krmených směsí granulí s masem  $376,0 \pm 154,2$  s. Naproti tomu Vágenknechtová et al. (2010) uvádějí výsledky zcela opačné, tedy že delší dobu ejakulace vykazují psi krmení granulemi s přidavkem masa.

Tab. 33: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu krmení.

Typ krmení	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)			Doba ejakulace (s)		
		<b>x</b>	$\pm$	$s_x$	<b>x</b>	$\pm$	$s_x$
Granule	108	<b>143,33<sup>A</sup></b>	$\pm$	164,16	<b>418,70</b>	$\pm$	183,43
Granule+maso	44	<b>199,77<sup>A</sup></b>	$\pm$	213,08	<b>399,55</b>	$\pm$	126,09

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.9.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu krmení

V tab. 34 je uveden objem ejakulátu, koncentrace a aktivita spermií v závislosti na typu krmení. Objem ejakulátu byl statisticky průkazně ( $P \leq 0,05$ ) vyšší u psů krmených pouze granulemi, a to  $9,18 \pm 7,38$  ml. Psi krmení granulemi a masem měli objem ejakulátu  $6,78 \pm 3,02$  ml. Podobné výsledky uvádějí ve svých pracích i autoři Vágenknechtová et al. (2011a) a Vágenknechtová et al. (2010). Koncentrace spermií

byla u psů krmených granulemi  $175,87 \pm 136,00 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Psi krmení granulemi a masem měli koncentraci spermií  $115,97 \pm 60,06 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Rozdíl mezi těmito výsledky byl statisticky vysoce průkazný ( $P \leq 0,01$ ). Vyšší koncentraci u psů krmených granulemi, než-li u psů krmených granulemi s masem, zjistili i Vágenknechtová et al. (2011a) a Vágenknechtová et al. (2010). Zjištěná koncentrace odpovídala koncentraci uváděné Jelinkem et al. (2003)  $120 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ , ale nedosahovala koncentrace požadované Věžníkem et al. (2004)  $200 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Aktivita spermií zjištěná u psů krmených granulemi byla pouhých  $72,7 \pm 15,2$  %. U psů krmených granulemi s masem byla zjištěna statisticky vysoce průkazně ( $P \leq 0,01$ ) nižší aktivita spermií, a to  $67,5 \pm 20,0$  %. Opačné výsledky uvádějí ve svých pracích autoři Vágenknechtová et al. (2011a) a Vágenknechtová et al. (2010), a to vyšší aktivitu spermií u psů krmených granulemi s přídavkem masa. Zjištěná aktivita spermií u psů krmených granulemi odpovídala požadavkům uváděným autory Kim et al. (2012) a Věžník et al. (2004), jako hodnoty potřebné pro další zpracování ejakulátů.

Tab. 34: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu krmení.

Typ krmení	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
Granule	108	<b>9,18<sup>a</sup></b> $\pm$ 7,38	<b>175,87<sup>A</sup></b> $\pm$ 136,00	<b>72,7<sup>A</sup></b> $\pm$ 15,2
Granule+maso	44	<b>6,78<sup>a</sup></b> $\pm$ 3,02	<b>115,97<sup>A</sup></b> $\pm$ 60,06	<b>67,5<sup>A</sup></b> $\pm$ 20

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.9.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu krmení

V tab. 35 je zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu krmení. Psi krmení granulemi měli nižší výskyt morfologicky abnormálních spermií v ejakulátu, a to  $28,1 \pm 10,7$  %. Psi krmení granulemi s masem vykázali v ejakulátu  $37,7 \pm 22,8$  % morfologicky abnormálních spermií. Výsledky jsou statisticky vysoce průkazné ( $P \leq 0,01$ ). Výsledné hodnoty psů krmených granulemi odpovídají hodnotě uváděné Věžníkem et al. (2004), pro normální psí ejakulát. Naopak psi krmení granulemi s přídavkem masa, těchto hodnot nedosahovali, a jimi dosažené

hodnoty jsou vyšší, než ve svých pracích uvádí Vágenknechtová et al. (2011b), Věžník et al. (2003) a Rijsselaer et al. (2007).

Tab. 35: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu krmení.

Typ krmení	n	Morfologicky normální (%)		Morfologicky abnormální (%)	
		<b>x</b>	$\pm s_x$	<b>x</b>	$\pm s_x$
Granule	108	<b>71,9<sup>A</sup></b>	$\pm 10,7$	<b>28,1<sup>A</sup></b>	$\pm 10,7$
Granule+maso	44	<b>62,4<sup>A</sup></b>	$\pm 22,8$	<b>37,7<sup>A</sup></b>	$\pm 22,8$

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

#### 5.9.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle typu krmení

Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů, dle typu krmení, je uvedeno v tab. 36. Psi krmení granulemi s masem měli výrazně horší výsledky morfologického vyšetření spermií. Průkazně ( $P \leq 0,05$ ) horší výsledek měli ve výskytu nezralých spermií, a vysoce průkazně ( $P \leq 0,01$ ) horší výsledek byl zaznamenán u defektů bičků a degenerovaných spermií. Neprůkazný rozdíl byl zaznamenán u defektů hlavičky, spojovací části a akrozomu spermií. Dále ještě Vágenknechtová et al. (2011b) ve své studii zaznamenali výrazně vyšší procento nezralých spermií.

Tab. 36: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle typu krmení.

Typ krmení	n	Poškoz. hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)			
		<b>x</b>	$\pm s_x$	<b>x</b>	$\pm s_x$	<b>x</b>	$\pm s_x$
Granule	108	<b>8,5</b>	$\pm 7,0$	<b>11,0<sup>A</sup></b>	$\pm 8,2$	<b>2,8</b>	$\pm 2,9$
Granule+maso	44	<b>10,3</b>	$\pm 5,5$	<b>17,1<sup>A</sup></b>	$\pm 13,9$	<b>3,1</b>	$\pm 3,3$
Typ krmení	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)			
		<b>x</b>	$\pm s_x$	<b>x</b>	$\pm s_x$	<b>x</b>	$\pm s_x$
Granule	108	<b>1,3</b>	$\pm 2,4$	<b>3,8<sup>a</sup></b>	$\pm 3,5$	<b>0,6<sup>A</sup></b>	$\pm 0,8$
Granule+maso	44	<b>0,9</b>	$\pm 1,8$	<b>5,3<sup>a</sup></b>	$\pm 4,3$	<b>1,4<sup>A</sup></b>	$\pm 1,9$

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

## 5.10 Vliv potomstva z přirozené plemenitby na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů

### 5.10.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů s potomstvem z přirozené plemenitby

Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a doba ejakulace, dle závislosti na chovatelské minulosti, je uvedena v tab. 37. Psi s potomstvem z přirozené plemenitby měli kratší dobu od počátku stimulace do počátku ejakulace ( $105,79 \pm 84,97$  s) i kratší dobu ejakulace ( $363,16 \pm 162,65$  s). Psi bez potomstva z přirozené plemenitby měli delší, jak dobu od počátku stimulace psů do počátku ejakulace ( $177,63 \pm 200,03$  s), tak dobu ejakulace ( $429,83 \pm 168,01$  s). Vysoce průkazný rozdíl ( $P \leq 0,01$ ) mezi sledovanými skupinami byl zjištěn u doby od počátku stimulace do počátku ejakulace. Podobné výsledky byly publikovány i autory Vágenknechtová et al. (2010), kde byli psi rozděleni do tří skupin, první dvě skupiny byly shodné se zde sledovanými skupinami s velmi podobnými výsledky, avšak statisticky neprůkaznými.

Tab. 37: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů s potomstvem z přirozené plemenitby.

Potomstvo z přirozené plemenitby	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)		Doba ejakulace (s)	
		$\bar{x}$	$\pm s_x$	$\bar{x}$	$\pm s_x$
ano	38	<b>105,79<sup>A</sup></b>	$\pm 84,97$	<b>363,16</b>	$\pm 162,65$
ne	114	<b>177,63<sup>A</sup></b>	$\pm 200,03$	<b>429,83</b>	$\pm 168,01$

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.10.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby

Objem ejakulátu, koncentraci a aktivitu psů s potomstvem z přirozené plemenitby uvádí tab. 38. Objem ejakulátu byl u psů s potomstvem v přirozené plemenitbě  $8,76 \pm 4,60$  ml a psi bez potomstva v přirozené plemenitbě měli objem  $8,39 \pm 7,04$  ml. Vágenknechtová et al. (2010) uvádí objem u psů s potomstvem z přirozené plemenitby 4,3 ml a u psů bez potomstva z přirozené plemenitby 7,3 ml. Zjištěné hodnoty touto studií překládané, jsou pro obě sledované skupiny vyšší a od sebe se tak výrazně neliší. Z toho vyplývá, že objem ejakulátu nebude mít vypovídající hodnotu pro jednoznačné stanovení plodnosti jedince. Koncentraci spermií měli psi bez potomstva v přirozené

plemenitbě  $164,52 \pm 135,36 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a psi s potomstvem v přirozené plemenitbě  $140,57 \pm 65,68 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Podobný výsledek byl publikován v práci Vágenknechtová et al. (2010), kdy vyšší koncentraci spermií prokázali v ejakulátech psů bez štěňat z přirozené plemenitby. Rijsselaer et al. (2007) zjistili u plodných psů koncentraci spermií  $292,5 \pm 208,3 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a u neplodných psů průkazně nižší koncentraci spermií, a to  $167,2 \pm 268,2 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ . Aktivitu spermií měli psi s potomstvem v přirozené plemenitbě  $74,1 \pm 9,4 \%$  a psi bez potomstva z přirozené plemenitby  $70,3 \pm 18,6 \%$ . Dosažené výsledky potvrzují i autoři Rijsselaer et al. (2007) a Vágenknechtová et al. (2010), a to vyšší aktivitou spermií v ejakulátu u psů s potomstvem z přirozené plemenitby. Rozdíly mezi objemem ejakulátu, koncentrací a aktivitou spermií, nebyly statisticky průkazné.

Tab. 38: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby.

Potomstvo z přirozené plemenitby	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
ano	38	<b>8,76</b> $\pm$ 4,60	<b>140,57</b> $\pm$ 65,68	<b>74,1</b> $\pm$ 9,4
ne	114	<b>8,39</b> $\pm$ 7,04	<b>164,52</b> $\pm$ 135,36	<b>70,3</b> $\pm$ 18,6

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddělech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.10.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby

Jak uvádí tab. 39, psi s potomstvem z přirozené plemenitby dosáhli lepších výsledků morfologického vyšetření ( $71,1 \pm 12,3 \%$ ) než psi bez potomstva z přirozené plemenitby, jejichž ejakuláty obsahovaly  $68,5 \pm 16,7 \%$  morfologicky normálních spermií. Průkazný rozdíl mezi plodnými a neplodnými psy, v procentu morfologicky normálních spermií, zjistili Rijsselaer et al. (2007)  $63,3 \%$  vs.  $29,4\%$ , či Přinosilová et al. (2012)  $69,5 \%$  vs.  $41,2\%$ . Výrazně méně morfologicky abnormálních spermií u plodných psů uvádí Monteiro et al. (2009), a to  $13,9 \pm 5,3 \%$ . Statisticky průkazné rozdíly mezi výše uvedenými skupinami, v případě zastoupení morfologicky normálních spermií, nebyly v této studii zaznamenány.

Tab. 39: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby.

Potomstvo z přirozené plemenitby	n	Morfologicky normální	Morfologicky abnormální
		(%)	(%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
ano	38	<b>71,1</b> $\pm$ 12,3	<b>28,9</b> $\pm$ 12,3
ne	114	<b>68,5</b> $\pm$ 16,7	<b>31,5</b> $\pm$ 16,7

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

#### 5.10.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby

Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby, je uvedeno v tab. 40. Nejvíce defektů bylo zjištěno na bičících, a to  $9,7 \pm 4,4$  % u psů s potomstvem v přirozené plemenitbě a  $13,8 \pm 11,7$  % u psů bez potomstva v přirozené plemenitbě. Rozdíl mezi sledovanými skupinami byl vysoce statisticky průkazný ( $P \leq 0,01$ ). Výrazně lepší výsledky zjistili Rijsselaer et al. (2002) u psů bez potomstva z přirozené plemenitby, a to 6,4 %. Množství defektů, na hlavičkách, spojovací části či akrozomu spermií, nezralých a degenerovaných spermií, bylo u obou sledovaných skupin značně podobné. Statisticky průkazné rozdíly nebyly v tomto případě nalezeny.

Tab. 40: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby.

Potomstvo z přirozené plemenitby	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
ano	38	<b>9,5</b> $\pm$ 10,9	<b>9,7<sup>A</sup></b> $\pm$ 4,4	<b>3,6</b> $\pm$ 4,0
ne	114	<b>8,9</b> $\pm$ 4,5	<b>13,8<sup>A</sup></b> $\pm$ 11,7	<b>2,6</b> $\pm$ 2,6
Potomstvo z přirozené plemenitby	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
ano	38	<b>1,1</b> $\pm$ 1,6	<b>4,3</b> $\pm$ 3,3	<b>0,7</b> $\pm$ 0,8
ne	114	<b>1,2</b> $\pm$ 2,4	<b>4,2</b> $\pm$ 3,9	<b>0,9</b> $\pm$ 1,4

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )



## 5.11 Vliv místa odběru na průběh odběru a kvalitu ejakulátu u psů

### 5.11.1 Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle místa odběru

Doba od počátku stimulace k počátku ejakulace byla, u psů odebíraných v domácnosti ( $137,61 \pm 166,34$  s), statisticky průkazně ( $P \leq 0,05$ ) kratší, než u psů odebíraných v laboratoři ( $179,01 \pm 191,50$  s). Ovšem délka ejakulace byla, u obou sledovaných skupin, téměř totožná ( $413,24 \pm 157,30$  s a  $413,09 \pm 179,00$  s). Ke stejným závěrům došli ve své práci i Vágenknechtová et al. (2011). Z výsledků je tedy zřejmé, že známé prostředí vede ke zkrácení doby od počátku stimulace psa k počátku ejakulace, ale nemá žádný vliv na délku ejakulace samotnou. Tento fakt využívají i chovatelé, kteří vodí feny za psy, neboť jsou popsány případy, kdy pes v neznámém prostředí feny vůbec nenakryl a přitom ve známém prostředí s krytím problém neměl (Procházka, 1994).

Tab. 41: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle místa odběru.

Místo odběru	n	Doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace (s)			Doba ejakulace (s)		
		$\bar{x}$	$\pm$	$s_x$	$\bar{x}$	$\pm$	$s_x$
Domácnost	71	<b>137,61<sup>a</sup></b>	$\pm$	166,34	<b>413,24</b>	$\pm$	157,30
Laboratoř	81	<b>179,01<sup>a</sup></b>	$\pm$	191,50	<b>413,09</b>	$\pm$	179,00

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

### 5.11.2 Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle místa odběru

V tab. 42 je uveden objem, koncentrace a aktivita spermií, dle místa odběru. Objem byl u psů odebíraných v domácnosti nižší ( $8,23 \pm 5,60$  ml), než u psů odebíraných v laboratoři ( $8,70 \pm 7,24$  ml). Rozdíly ve výsledcích sledovaných skupin nebyly statisticky průkazné. Zjištěné hodnoty odpovídají objemu, který uvádí Jelínek et al. (2003) pro psí ejakulát, výrazně však převyšují hodnoty, které uvádějí ve svých pracích Kim et al. (2012), Mastachio et al. (2012) a Peña et al. (2012). Koncentrace spermií byla statisticky průkazně ( $P \leq 0,01$ ) vyšší u psů odebíraných v laboratoři ( $187,32$

$\pm 147,12 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ), oproti psům odebíraným v domácím prostředí ( $125,63 \pm 72,82 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ ). Obdobně i aktivita spermií byla vyšší u psů odebíraných v laboratoři ( $72,2 \pm 16,6 \%$ ), než u psů odebíraných v domácnosti chovatele ( $70,1 \pm 17,2 \%$ ). Rozdíly v aktivitě ovšem nebyly statisticky průkazné. Obě sledované skupiny dosáhly aktivity požadované Věžníkem et al. (2004), a to 70 %.

Tab. 42: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle místa odběru.

Místo odběru	n	Objem (ml)	Koncentrace ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Aktivita (%)
		<b>x</b> $\pm$ $s_x$	<b>x</b> $\pm$ $s_x$	<b>x</b> $\pm$ $s_x$
Domácnost	71	<b>8,23</b> $\pm$ 5,60	<b>125,63<sup>A</sup></b> $\pm$ 72,82	<b>70,1</b> $\pm$ 17,2
Laboratoř	81	<b>8,70</b> $\pm$ 7,24	<b>187,32<sup>A</sup></b> $\pm$ 147,12	<b>72,2</b> $\pm$ 16,6

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddělech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.11.3 Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle místa odběru

Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle místa odběru je uvedeno v tab. 43. Lepší výsledky morfologického vyšetření byly pozorovány u psů odebíraných v laboratoři, kteří ve svých ejakulátech vykázali  $72,3 \pm 8,9$  % morfologicky normálních spermií. Tento výsledek odpovídá hodnotě uváděné Věžníkem et al. (2004) pro normální psí sperma. Autoři Cardoso et al. (2007) a Mastachio et al. (2012), však uvádějí u psů odebraných v laboratoři výrazně lepší výsledky, což bylo pravděpodobně ovlivněno výběrem kvalitních jedinců do daných pokusů. U psů odebíraných v domácnosti bylo zaznamenáno  $34,5 \pm 20,5$  % morfologicky abnormálních spermií. Tato hodnota neodpovídá hodnotě, kterou uvádí Věžník et al. (2004) pro normální psí sperma. Horší výsledek, oproti výsledkům psů odebíraných v laboratoři, mohl být způsoben nutností transportu vzorků z domácností do laboratoře ke zpracování, při kterém mohlo dojít, i přes veškerou opatrnost, k jejich poškození. Rozdíly mezi sledovanými skupinami byly vysoce statisticky průkazné ( $P \leq 0,01$ ).

Tab. 43: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle místa odběru.

Místo odběru	n	Morfologicky normální (%)			Morfologicky abnormální (%)		
		<b>x</b>	±	$s_x$	<b>x</b>	±	$s_x$
Domácnost	71	<b>65,6<sup>A</sup></b>	±	20,5	<b>34,5<sup>A</sup></b>	±	20,5
Laboratoř	81	<b>72,3<sup>A</sup></b>	±	8,9	<b>27,7<sup>A</sup></b>	±	8,9

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

### 5.11.4 Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle místa odběru

Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů, dle místa odběru, je uvedeno v tab. 44. Nejvíce defektů bylo zjištěno na bičících spermiích. Kdy u psů odebíraných v domácnosti bylo zaznamenáno  $14,1 \pm 12,2$  % a u psů odebíraných v laboratoři  $11,6 \pm 8,6$  % defektních bičičků. Rozdíl mezi skupinami byl statisticky průkazný ( $P \leq 0,05$ ). Filipčík et al. (2011) zjistili poškození bičičků u psů ve variačním rozpětí od  $9,8 \pm 3,5$  % do  $20,3 \pm 6,0$  %, což odpovídá hodnotě zjištěné hodnotě u psů

odebíraných v domácnosti chovatelů. Druhým nejčastěji zjištěným defektem bylo poškození hlavičky spermií. U psů odebíraných v domácím prostředí bylo poškozeno tímto defektem  $10,6 \pm 8,7$  % spermií a u psů odebíraných v laboratoři pak  $7,7 \pm 3,6$  %. Rozdíl mezi psy odebíranými v laboratoři a doma byl v tomto případě vysoce průkazný ( $P \leq 0,01$ ). Filipčík et al. (2012) ve své práci uvádí poškození hlavičky v rozmezí  $6,7 \pm 3,0$  % až  $10,7 \pm 5,9$  %, což odpovídá zjištěným hodnotám. Přitom, psi odebíraní v laboratoři byli na spodní hranici a psi odebíraní v domácnostech chovatelů se blížili horní hranici uváděných hodnot v této práci. Nezralých spermií bylo nalezeno u psů odebíraných v domácnosti  $4,5 \pm 3,9$  % a u psů odebíraných v laboratoři  $4,0 \pm 3,6$  %, výsledek nebyl statisticky průkazný. Vada na spojovací část byla zjištěna u  $2,4 \pm 1,9$  % spermií psů odebíraných v laboratoři a u  $3,4 \pm 3,8$  % spermií psů odebíraných v domácnosti. Rozdíl ve výsledcích sledovaných skupin byl vysoce statisticky průkazný ( $P \leq 0,01$ ). Psi odebíraní v domácnosti měli statisticky průkazně ( $P \leq 0,01$ ) vyšší výskyt degenerovaných spermií ( $1,1 \pm 1,6$  %), oproti psům odebíraným v laboratoři ( $0,6 \pm 0,8$  %).

Tab. 44: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle místa odběru.

Místo odběru	n	Poškozená hlavička (%)	Poškozený bičík (%)	Spojovací část (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
Domácnost	71	<b>10,6<sup>A</sup></b> $\pm 8,7$	<b>14,1<sup>a</sup></b> $\pm 12,2$	<b>3,4<sup>A</sup></b> $\pm 3,8$
Laboratoř	81	<b>7,7<sup>A</sup></b> $\pm 3,6$	<b>11,6<sup>a</sup></b> $\pm 8,6$	<b>2,4<sup>A</sup></b> $\pm 1,9$
Místo odběru	n	Akrozom (%)	Nezralé (%)	Degenerované (%)
		$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$	$\bar{x} \pm s_x$
Domácnost	71	<b>0,9</b> $\pm 1,6$	<b>4,5</b> $\pm 4,0$	<b>1,1<sup>A</sup></b> $\pm 1,6$
Laboratoř	81	<b>1,4</b> $\pm 2,6$	<b>4</b> $\pm 3,6$	<b>0,6<sup>A</sup></b> $\pm 0,8$

A – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ )

a – mezi hodnotami se stejnými písmeny ve sloupci v jednotlivých oddílech byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,05$ )

## 5.12 Vzájemné korelace mezi jednotlivými proměnnými reprodukčními ukazateli

V tab. 45 jsou uvedeny vzájemné vztahy mezi jednotlivými reprodukčními ukazateli. Byly zjištěny statisticky průkazné a vysoce průkazné kladné korelace mezi dobou ejakulace a objemem ejakulátu, aktivitou spermií a morfologicky normálními spermii. Dále byly zjištěny kladné korelace mezi aktivitou spermií a koncentrací spermií, a morfologicky normálními spermii. Statisticky průkazně kladnou korelaci mezi aktivitou spermií a morfologicky normálními spermii, uvádí také Věžník et al. (2003). Naopak negativní statisticky vysoce průkazná korelace byla zjištěna např. mezi objemem ejakulátu a koncentrací spermií v ejakulátu.

Tab. 45: Vzájemné korelace mezi jednotlivými proměnnými reprodukčními ukazateli

	Doba ejakulace (s)	Objem ejakulátu (ml)	Aktivita spermií (%)	Koncentrace spermií v ejakulátu ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Morfologicky normální spermie v ejakulátu (%)	Poškozená hlavička (%)	Poškozený arozoem (%)	Poškozená spojovací část (%)	Poškozený bičík (%)	Nezralé spermie (%)	Degenerované spermie (%)	Morfologicky abnormální spermie (%)
Doba od počátku stimulace k počátku ejakulace (s)	-0,19 <sup>*</sup>	-0,08	0,08	-0,06	0,21 <sup>**</sup>	0,08	-0,22 <sup>**</sup>	-0,09	-0,20 <sup>*</sup>	-0,15	-0,23 <sup>**</sup>	-0,21 <sup>**</sup>
Doba ejakulace (s)		0,39 <sup>**</sup>	0,20 <sup>*</sup>	-0,07	0,17 <sup>*</sup>	0,01	0,06	-0,02	-0,30 <sup>**</sup>	0,08	-0,04	-0,17
Objem ejakulátu (ml)			0,14	-0,34 <sup>**</sup>	0,19 <sup>*</sup>	-0,04	0,21 <sup>**</sup>	0,04	-0,27 <sup>**</sup>	-0,14	-0,05	-0,19 <sup>*</sup>
Aktivita spermií (%)				0,28 <sup>**</sup>	0,66 <sup>**</sup>	-0,23 <sup>**</sup>	0,07	-0,24 <sup>**</sup>	-0,70 <sup>**</sup>	-0,16	-0,38 <sup>**</sup>	-0,66 <sup>**</sup>
Koncentrace spermií v ejakulátu ( $\cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$ )					0,09	-0,07	-0,08	-0,01	-0,04	-0,10	0,07	-0,09
Morfologicky normální spermie v ejakulátu (%)						-0,49 <sup>**</sup>	-0,03	-0,48 <sup>**</sup>	-0,85 <sup>**</sup>	-0,35 <sup>**</sup>	-0,63 <sup>**</sup>	-1,00 <sup>**</sup>
Poškozená hlavička (%)							-0,15	0,25 <sup>**</sup>	0,10	-0,12	0,18 <sup>*</sup>	0,49 <sup>**</sup>
Poškozený arozoem (%)								-0,07	-0,03	-0,11	0,18 <sup>*</sup>	0,03
Poškozená spojovací část (%)									0,24 <sup>**</sup>	0,03	0,36 <sup>**</sup>	0,48 <sup>**</sup>
Poškozený bičík (%)										0,24 <sup>**</sup>	0,50 <sup>**</sup>	0,85 <sup>**</sup>
Nezralé spermie (%)											0,20 <sup>*</sup>	0,35 <sup>**</sup>
Degenerované spermie (%)												0,63 <sup>**</sup>

\* $P \leq 0,05$  \*\* $P \leq 0,01$

## 5.13 Vzájemné korelace exogenních a endogenních faktorů v závislosti na reprodukčních ukazatelích

V tab. 46 jsou uvedeny korelace exogenních a endogenních faktorů v závislosti na reprodukčních ukazatelích.

U věku psa byla zjištěna statisticky průkazná kladná korelace ve vztahu k objemu ejakulátu a aktivitě spermií. Naopak statisticky vysoce průkazná negativní korelace byla zjištěna u výskytu morfologicky abnormálních spermií, nezralých a degenerovaných spermií. Rijsselaer et al. (2007) zjistili naopak negativní, statisticky průkaznou, korelaci mezi věkem a morfologicky normálními spermiemi. Hmotnost psa průkazně kladně korelovala s objemem ejakulátu. Statisticky vysoce průkazně záporná korelace byla zjištěna u morfologických abnormalit, poškození spojovací části, bičíku, nezralých a degenerovaných spermií. Rijsselaer et al. (2007) uvádí, že hmotnost nemá statisticky průkaznou korelaci s koncentrací spermií, ale má statisticky kladnou korelaci s celkovým počtem spermií, což odpovídá dále uvedeným zjištěním. Počet psů v domácnosti měl průkazně negativní vliv na koncentraci spermií a dále ještě vysoce průkazně záporně koreloval s dobou ejakulace. Kladná statisticky vysoce průkazná korelace byla zjištěna také pro počet dnů mezi odběry a dobu ejakulace. Pro pořadí odběru nebyly zjištěny žádné významné korelace, pořadí odběru ejakulátu tedy nehraje, v hodnocení jeho kvality, významnou roli.

Tab. 46: *Vzájemné korelace exogenních a endogenních faktorů v závislosti na reprodukčních ukazatelích.*

	Doba od počátku stimulace k počátku ejakulace (s)	Doba ejakulace (s)	Objem ejakulátu (ml)	Aktivita spermií (%)	Koncentrace spermií v ejakulátu ( $\cdot 10^6 \cdot \text{mm}^{-3}$ )	Morfologicky normální spermie v ejakulátu (%)	Poškození hlavička (%)	Poškozený akrozóm (%)	Poškozená spojovací část (%)	Poškozený bičík (%)	Nezralé spermie (%)	Degenerované spermie (%)	Morfologicky abnormální spermie (%)
Věk psa (měsíce)	-0,14	0,13	<b>0,17*</b>	<b>0,17*</b>	-0,01	<b>0,22**</b>	-0,03	-0,11	-0,14	-0,14	<b>-0,23**</b>	<b>-0,25**</b>	<b>-0,22**</b>
Hmotnost (kg)	-0,01	-0,13	<b>0,19*</b>	0,05	0,11	<b>0,25**</b>	-0,01	0,00	<b>-0,18*</b>	<b>-0,20*</b>	<b>-0,22**</b>	<b>-0,35**</b>	<b>-0,25**</b>
Počet psů v domácnosti	-0,15	<b>-0,38**</b>	-0,05	-0,15	<b>-0,18*</b>	-0,11	0,02	0,06	0,01	0,10	0,08	0,03	0,11
Využití	<b>-0,21**</b>	-0,09	-0,12	<b>-0,38**</b>	<b>0,17*</b>	<b>-0,44**</b>	0,03	0,11	<b>0,22**</b>	<b>0,41**</b>	<b>0,25**</b>	<b>0,29**</b>	<b>0,44**</b>
Typ krmení	0,14	-0,05	-0,17	-0,14	<b>-0,22**</b>	<b>-0,28**</b>	0,12	-0,09	0,04	<b>0,26**</b>	<b>0,18*</b>	<b>0,28**</b>	<b>0,28**</b>
Potomstvo z přírozně plemenníky	<b>0,17*</b>	<b>0,17*</b>	-0,02	-0,10	0,09	-0,07	-0,04	0,02	-0,14	0,17*	0,00	0,05	0,07
Typ ustájení	0,12	-0,01	-0,07	<b>-0,27**</b>	0,14	-0,06	0,07	<b>-0,20*</b>	-0,07	0,14	-0,09	0,00	0,06
Místo odběru	0,11	0,00	0,04	0,06	<b>0,25**</b>	<b>0,21**</b>	<b>-0,22**</b>	0,13	<b>-0,17*</b>	-0,12	-0,06	<b>-0,18*</b>	<b>-0,21**</b>
Počet dnů mezi odběry	-0,09	<b>0,33**</b>	0,08	0,10	0,13	0,07	0,03	-0,13	-0,06	-0,02	<b>-0,17*</b>	-0,06	-0,07
Pořadí odběru	-0,03	0,04	-0,02	0,04	-0,01	-0,01	-0,02	-0,03	-0,02	0,01	0,08	-0,08	0,01

\* $P \leq 0,05$  \*\* $P \leq 0,01$

## 6 ZÁVĚR

Závěrem lze říci, že při hodnocení průběhu odběru a kvality ejakulátů u 152 psů 33 plemen byly zjištěny průměrné následující hodnoty: čas od počátku stimulace psů k počátku ejakulace  $159,67 \pm 180,79$  s, průměrný čas ejakulace  $413,16 \pm 168,66$  s, objem ejakulátu  $8,49 \pm 6,51$  ml, koncentrace spermií v ejakulátu  $158,53 \pm 121,97 \cdot 10^3 \cdot \text{mm}^{-3}$  a aktivita spermií  $71,2 \pm 16,8$  %. V hodnocených ejakulátech bylo v průměru  $69,1 \pm 15,7$  % morfologicky normálních spermií. Nejčastějším zjištěným defektem byly změny na bičících, a to  $12,8 \pm 10,5$  %. K dalším zjištěným defektům patřily poškozené hlavičky spermií ( $9,0 \pm 6,6$  %), spojovací části bičíku ( $2,9 \pm 3,0$  %), nezralé spermie ( $4,2 \pm 3,8$  %) a degenerované spermie ( $0,8 \pm 1,2$  %).

Při hodnocení vlivů působících na průběh odběrů a kvalitu ejakulátu jsme došli k těmto závěrům:

- Věk psa má průkazný vliv na objem ejakulátu, aktivitu spermií a procento morfologicky normálních spermií. Zejména mladí psi do dvou let věku mají horší kvalitu ejakulátu, pravděpodobně v důsledku nedokončeného tělesného vývoje a celkové nevypěstlosti. Naopak psi starší 8 let mohou mít velmi kvalitní ejakulát a mohou být plně plodní za předpokladu výborné kondice a dobrého zdraví.

- Počet psů v domácnosti měl průkazný vliv na dobu ejakulace a koncentraci spermií v ejakulátu. Kdy v čím větší smečce byli psi chováni, tím nižší koncentrace spermií v jejich ejakulátu byla stanovena, a kratší dobu ejakulovali.

- Hmotnost psů měla průkazný vliv na objem ejakulátu a na procento morfologicky normálních spermií v ejakulátu. Větší psi měli lepší výsledky těchto sledovaných znaků. Nejvyšší aktivita spermií byla zjištěna u středně velkých psů a nejnižší u malých psů. Morfologicky normálních spermií bylo nejvíce zjištěno u středně velkých psů, druhý nejlepší výsledek měli velcí psi a nejvíce morfologicky abnormálních spermií bylo zjištěno u psů malých plemen. Mezi sledovanými skupinami byly vysoce průkazné rozdíly ( $P \leq 0,01$ ). Malí psi měli nejvíce zjištěných defektů na všech sledovaných částech spermie, následování psi velkými. Nejméně defektů na jednotlivých sledovaných částech spermií bylo zjištěno u středně velkých psů. Horší výsledek aktivity spermií a morfologického vyšetření spermií u velkých, a zejména u malých plemen psů, lze připisovat většímu přešlechtění. Kdy často jediným kritériem u těchto plemen při výběru jedinců do chovu je jejich exteriér, odpovídající pokroucené

představě ideálu plemene, bez ohledu na funkční zdraví populace. Čímž dochází k degeneraci těchto plemen a hrozí, mimo jiné, i riziko snížené plodnosti.

- Vliv pracovního využití byl patrný zejména u policejních psů, kteří měli obecně nejhorší výsledky při vyšetření kvality ejakulátu, naopak nejlepší výsledky vykazovali sportovně využívaní psi. Tito psi měli nejvyšší objem ejakulátu, koncentraci i aktivitu spermií. Horší výsledky vyšetření policejních psů, lze připsat náročnosti služby a značnému stresu, kterému jsou tito psi každodenně vystaveni. Nejlepší průběh odběru byl zaznamenán u sportovních psů, kteří měli nejkratší dobu od počátku stimulace k počátku ejakulace, ale nejdelší dobu ejakulace. Dobrý průběh odběru u skupiny sportovních psů může být způsoben snadnější manipulovatelností s těmito psy. Neboť jsou ze sportu zvyklí na časté manipulování, různá prostředí a velké množství lidí, a proto bývají méně stresováni v novém prostředí či v nových situacích

- Vliv způsobu ustájení byl patrný v případě aktivity spermií a objemu ejakulátu. Psi chovaní volně měli výrazně nižší objem a aktivitu spermií, oproti psům chovaným v bytě nebo v kotci.

- Psi krmení komerčním krmivem ve formě granulí, měli průkazně vyšší objem, lepší kvalitu ejakulátu i výsledky morfologického vyšetření spermií, než psi krmení směsí granulí s masem.

- Vliv počtu dní mezi odběry, byl patrný na objemu ejakulátu. Největší objem měli psi odebíráni jednou za týden, následovali psi odebíráni jednou za tři dny a nejmenší objem byl zjištěn u psů odebíraných tři dny po sobě jdoucích. Psi odebíráni jednou za tři dny měli nejnižší koncentraci spermií, aktivitu spermií i nejméně morfologicky normálních spermií. Nejlepší výsledky byly zjištěny u psů odebíraných jednou za týden.

- Pořadí odběru nemělo vliv na kvalitu ejakulátu u psů.

- Vliv místa odběru se odrážel zejména ve výsledcích morfologického vyšetření spermatu, kdy se nejednalo o výsledky konkrétních jedinců, ale pravděpodobně o poškození preparátů při transportu do laboratoře.

Výše uvedené závěry jsou potvrzeny i zjištěnými statisticky průkaznými a vysoce průkaznými korelacemi, kdy např. mezi dobou ejakulace a objemem ejakulátu, nebo mezi aktivitou, koncentrací a morfologickou kvalitou spermií. Pro hodnocené faktory byly zjištěny statisticky průkazné a vysoce průkazné korelace např. mezi věkem psa a morfologicky normálními spermiemi, nebo počtem dnů mezi odběry a dobou ejakulace.



Jak z dříve předložených výsledků vyplývá, kvalitní ejakulát lze očekávat u středně velkých, sportovně vedených psů. Psi by měli být krmeni kompletní krmnou směsí a ustájení by měli být buď v kotci, nebo v bytě. Pro využití v chovu by pes měl být starší dvou let a v ideálních podmínkách by neměl plemeník krýt častěji, než jednou za týden. V případě inseminace čerstvým spermatem, nebo odběru ejakulátu pro další konzervaci, by k odběru mělo dojít v laboratoři, nebo na místě inseminace, neboť transport nativního ejakulátu je nutné omezit na co nejmenší vzdálenosti.

Nicméně, bylo by vhodné, kdyby se chovatelé zaměřili na kvalitu ejakulátu u psů i v dlouhodobějším horizontu, neboť momentální stav, kdy se neprovádí selekce na kvalitu ejakulátu, je značně rizikový pro budoucnost chovu psů jako takového. Doporučila bych tedy začlenění vyšetření ejakulátu mezi rutinní zdravotní vyšetření nezbytná pro zařazením plemeníka do chovu, jako je tomu například u vyšetření očních vad či onemocnění skeletu. Protože pouze v případě zařazení jedinců s kvalitním ejakulátem, můžeme očekávat kvalitní a početné vrhy, a tím produkovat dostatečné množství psů využitelných ve všech kynologických odvětvích.

## 7 SEZNAM LITERATURY

Agarwal A., Sharma R. K., Nelson D. R. (2003): Now semen duality scores developed by principál komponent analysis of semen characteristics. *Journal of Andrology*, 24

Assis V. P., Ribeiro V. M., Alvarenga Rachid M., Santana Castro A. C., Ribeiro Valle G. (2010): Dogs with *Leishmania chagasi* infection have semen abnormalities that partially revert during 150 days of Allopurinol and Amphotericin B therapy, *Animal Reproduction Science* 117, 183-186

Auroux M., Dulioust E. (1995): Environment, Spermatozoon and Progeny. *MS. Médecine Sciences* 11, 571-577

Baccetti, B., Paixini V., Burrini A. G. (1973): The accessory fibers of the sperm tail. I. Structure and chemical composition of the bull "coarse fibers". 7. submic. *Cytology* 5, 237-256

Bartlett D. J. (1962): Studies on dog semen. *International Morphological characteristics. Journal of Reproduction Fertility*; 3; 173-189

Bilgili S. F., Renden J. A., Sexton K. J. (1985): The influence of staining techniques and examiners on evaluation of the morphology of fowl spermatozoa. *Poultry Science* 64, 2358-2361

Boucher J. H., Foote R. H., Kirk R. W. (1958): The evaluation of semen duality in the dog and the effects of frequency of ejaculation upon semen duality, libidy and depletion of sperm reserves. *Cornall Veterinary*, 48, 67-86

Cochran, R. C., Swing L. L., Niswenden G. D. (1981): Serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin, testosterone, 5 aplha – dihydrotestosterone, 5 alpha-androstane-3 alpha, 17 beta- diol, 5 aplha androstene – 3 beta, 17 beta – diol, and 17 beta estradiol from male Beatles with spontaneous or induced benign prostatic hyperplasia. *Incest Urology*, 19 (3), 142-147

Concannon P. W., McCann J. P., Temple M. (1989): Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of Reproduction Fertility Supply*; 39:3-25

- Cardoso R. C. S., Silva A. R., Silva L. D. M., Chirine'a V. H., Souza F. F., Lopes M. D., (2007): Evaluation of Fertilizing Potential of Frozen-thawed dog Spermatozoa Diluted in ACP-106 using an In Vitro Sperm–Oocyte Interaction Assay; *Reproduction of Domestic Animals* 42, 11-16; doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00703.x, ISSN 0936-6768
- Cupps P. T. (1987): *Reproduction in Domestic Animals*. Academic Press, Inc. London. ISBN 0-12-196575-9, 670
- Dahlbom, M., et al. (1997): Propable spermatozoal diploidy in the semen of golden retriever: a case report. *Andrologia*, 29, 49-55
- Dorado J., Gálvez M. J., Murabito M. R., Muñoz-Serrano A., Hidalgo M. (2011): Identification of sperm subpopulations in canine ejaculates: Effects of cold storage and egg yolk concentration, *Animal Reproduction Science* 127, 106-113
- Eljarah A. H., Chander J. E., Chenevert J., et. al. (2005): Determining bull semen concentration: a novel design for CASA, *Theriogenology*, 64, 799
- Ellington J., Scarlett J., Mezera-Wallen V., et. al.(1993): Computerassisted sperm analysis of Canine spermatozoa motility measurements, *Theriogenology*, 40, 725-733
- England G. C. W., Allen W. E. (1992): Factors affecting the viability of canine spermatozoa. II. Effects of seminal plasma and blood. *Theriogenology* 37, 373-381
- England G. C. W. (1999): Semen duality in dogs and the influence of a short- interval second ejaculation. *Theriogenology* 52, 981-986
- England G. C. W., Burgess C. M., Freeman S. L., Smith S. C., Pacey A. A. (2006): Relationship between the fertile period and sperm transport in the bitch, *Theriogenology* 66, 1410-1418
- Filipčík R., Vágenknechtová M., Hošek M., Jarinkovičová L. (2011): The effect of the age of dogs on their ejaculate, *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 59, 3, 46-50, ISSN 1211-8516
- Filipčík R., Vágenknechtová M., Hošek M., Hanuláková Š. (2012): Patomorfologické vyšetření psiho ejakulátu, In *Animal Breeding*, 166-173, ISBN 978-80-7157-224-4

- Finsterle R. (2009): Přirozené krytí a inseminace, *Psí sporty* 3, 94-96, ISSN 1802-1867
- Foot R. H., Boucher J. H. (1964): A comparison of several photoelectric procedures for estimating sperm concentration in dog semen. *Animal Journal of Veterinary Research*, 25, 558-560
- Gamčík, P., Kozumplík J. (1976): *Umelá inseminácia a andrológia hospodárskych zvierat*. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 574
- Gamčík P., Kozumplík J. et al. (1984): *Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat*. Nakladateľství Príroda, Bratislava, 344
- Gamčík P., Kozumplík J. et al. (1992): *Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat*. Nakladateľství Príroda, Bratislava, 299, ISBN 80-07-00540-4
- Goericke-Pesch S., Ludwig C., Hoffmann B. (2012): Development of Semen Quality Following Reversible Downregulation of Testicular Function in Male Dogs with a GnRH Agonist Implant, *Reproduction of Domestic Animals*, 47, 625-628; doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01933.x, ISSN 0936-6768
- Gravance C. G., Champion Z., Liu I. K., Casey P. J. (1995): Sperm head morphometry analysis of ejaculate and dismount stallion semen samples. *Theriogenology* 43, 955-967
- Gunzel-Apel A. R., Gunther C., Terhaer P., Bader H. (1993): Computer assisted analysis of motility, velocity and linearity of dog spermatozoa. *Journal of Repris Fertility* 1993, 47 (Suppl.), 271-8
- Harasymowycz, J., Ball, L., Seidel, G. E. (1976): Evaluation of bovine spermatozoal morphologic features after staining or fixation. *American Journal of Veterinary Research*, 1976, 37, 1053-1057
- Hess M., (2006): Documented and anecdotal effects of certain pharmaceutical agents used to enhance semen quality in the dog, *Theriogenology* 66, 613-617
- Hidalgo M., Rodríguez I., Dorado J. (2006): Influence of staining and sampling procedures on goat sperm morphometry using the Sperm Class Analyzer. *Theriogenology* 66, 996-1003

- Hošek M., Vágenknechtová M. (2012): Možnosti krátkodobého uchování psiho ejakulátu, In *Animal Breeding*, 44-49, ISBN 978-80-7157-224-4
- Hrabcová L. (2007): Vztah morfologie spermií k jejich oplozovací schopnosti, Diplomová práce, Masarykova Univerzita, Brno, 66
- Chatterjee S. N; Sharma R. N., Kar A. B. (1976): Semen characteristics of normal and vasectomized dogs. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1976, 14, 411-414
- Christiansen I. J. (1984): *Reproduction in the dog and cat*. Bailliere Tindall. London, 99-100.
- Christensen B. W., Cheryl S., Asa Ch. S., Wang Ch., Vansandt L., Bauman K., Callahan M., Jens J. K., Matthew Ellinwood N. (2011): Effect of semen collection method on sperm motility of gray wolves (*Canis lupus*) and domestic dogs (*C. l. familiaris*), *Theriogenology* 76, 975-980
- Jelínek P., Koudela F. *et al.* (2003): *Fyziologie hospodářských zvířat*. MZLU v Brně, Brno, 414, ISBN 80-7157-644-1
- Johnston, S. D.; Kustritz, M. V.; Olson, P. N. S. (2001): Canine and feline . *Theriogenology*, 47, 287-306
- Kalahanis J., Rouso D., Kourtis A., Mavromatidis G., Makedos G., Panidis D. (2002): Round-headed spermatozoa in semen specimens from fertile and Subfertile men. *Journal of Reproductive Medicine*, 47, 489-493
- Kim S. H., Yu D. H., Kim Y. J. (2010): Effects of cryopreservation on phosphatidylserine translocation, intracellular hydrogen peroxide, and DNA integrity in canine sperm, *Theriogenology*, 73, 282-292
- Kim S., Lee Y., Yang H., Kim Y. J. (2012): Rapid freezing without cooling equilibration in canine sperm, *Animal Reproduction Science*, 130, 111-118
- Kliment J. *et al.* (1989): *Reprodukcia hospodárskych zvierat*. Príroda Bratislava, 2. vyd., 378, ISBN 80-070-0027-5

- Komárek V. *et al.* (1964): Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat. 1. Vyd., Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 387
- Kuster C. E., Singer R. S., Althouse G. C. (2004): Determining sample size for the morphological assessment of sperm. *Theriogenology*, 61, 691-703
- Kutzler, M. (2005): Semen collection in the dog. *Theriogenology*, 64, 747-754
- Kvapil, R., Kvapilová, R., (2007): Průvodce psí reprodukci. Praha: J. Špičák – Tok, 78, ISBN 978-80-86177-21-2
- Lange-Consiglio A., Antonicci N., Manes S., Corradetti B., Cremonesi F., Bizzaro D. (2010): Morphometric characteristics and chromatin integrity of spermatozoa in three Italian dog breeds, *Journal of Small Animal Practise*, 51, 624-627
- Leary F. J. (1974): Clinical significance of hematospermia. *Mayo Clinic Proceedings*, 49, 815-817
- Linde-Forsberg G. C., Forsberg G. M. (1989): Fertility in dogs in relation to semen quality and the time and site of insemination with fresh and frozen semen. *Journal of Reproduction Fertility*, 39 (Suppl): 299-310
- Louda, F., et al. (1984): Cvičení z reprodukce hospodářských zvířat I., Praha: Vysoká škola zemědělská Praha, 185
- Louda F., et al. (2001): Inseminace hospodářských zvířat se základy biotechnických metod. ČZU v Praze, 225, ISBN 80-213-0702-1
- Mahi C. A., Yanagimachi R. (1976): Maturation and sperm penetration of canine ovarian oocytes in vitro. *The Journal of Experimental Zoology*, 196, 2, 189-96
- Máchal L., Hošek M., Rečková Z., Křivánek I. (2007): Semen Quality Parameters and Content of Selected Minerals in Boar Blood and Seminal Plasma. *Polish Journal of Natural Sciences*, 608 -619, PL ISSN 1643-9953
- Makler A., Fisher M., Lissak A., (1984): A new method for rapid determination of sperm concentration in bull and ram semen. *Theriogenology*, 21, 543-54

- Malmgren L. (1997): Assessing the quality of raw semen; a review. *Theriogenology*, 48, 523–530
- Mann, T. (1954): *The Biochemistry of Semen*. London. Methuen and Co. Ltd.
- Martinez A., L., P. (2004): Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. *Animal Reproduction Sciences*, 82-83, 209-24
- Marvan F. et al. (1998): *Morfologie hospodářských zvířat. ČZU v Praze a MZLU v Brně, nakladatelství Brázda, s.r.o., Praha, 304, ISBN 80-209-0273-2*
- Menkveld R., El-Garem Y., Schill W. B., Henkel R. (2003): Relationship between human sperm morphology and acrosomal function. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 20, 432–438
- Monteiro J. C., Goncalves J. S. A., Rodrigues J. A., Lúcio C. F., Silva L. C. G., Assumpcao M. E. O. A., Vannucchi C. I., (2009): Influence of Ascorbic Acid and Glutathione Antioxidants on Frozen-Thawed Canine Semen, *Reproduction of Domestic Animals*, 44, 359–362; doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01434.x, ISSN 0936-6768
- Morton, D. B., Bruce, S. G. (1989): Semen evaluation, cryopreservation and factors relevant to use of frozen semen in dog. *Journal of Reproduction Fertility*, 1989, 39, 311-316
- Mostachio G. Q., Apparício M., Motheo T. F., Alves, A. E., Vicente W. R. R., (2012): Intra-prostatic injection of botulinum toxin type A in treatment of dogs with spontaneous benign prostatic hyperplasia. *Animal Reproduction Science*, 133, 224– 228
- Najbrt, R., et al., (1982): *Veterinární anatomie 2. 1. vyd. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 594*
- Nothling J. O., Shuttleworth R. (2005): The effect of straw size, freezing rate and thawing rate upon post-thaw quality of dog semen, *Theriogenology*, 63, 1469–1480
- Nothling J. O., Gerber D., Colenbrander B., Dijkstra M., Bakker T., De Cramer K., (2007a): The effect of homologous prostatic fluid on motility and morphology of dog epididymal spermatozoa extended and frozen in Biladyl with Equex STM paste or Andromed, *Theriogenology*, 67, 264–275

- Nothling J. O, Dolieslager S. M. J., Fillekes R., Colenbrander B. (2007b): Thawing dog spermatozoa in just-boiled water: Submersion time and effect on sperm quality compared to thawing in water at 70°C, *Theriogenology*, 68, 530–537
- Nunez-Martinez I., Moran J. M., Peña F. J. (2006): A three-step statistical procedure to identify sperm kinematic subpopulations in Danině ejaculates, changes after cryopreservation. *Reproduction of Domestic Animals*, 41, 408-15
- Nunez-Martinez I., Moran J. M., Peña F. J. (2007): Identification of sperm morphometric subpopulations in the canine ejaculate: do they reflect different subpopulations in sperm chromatin integrity?, *Zygote*, 15 (August), 257–266
- Oettlé E. E.; Soley, J. T. (1988): Sperm abnormalities in the dog a light and electron microscopic study. *Veterinary Medicine Review*, 1988, 59, 28 - 70
- Olar I. T., Amann R. P. Rickett B. W. (1983): Relationship among testicular size, daily production and output of spermatozoa, and extragonadal spermatozoal reserva of the dog. *Biology of Reproduction*, 29, 1114-20
- Ortega-Pacheco A., Segura-Correa J. C., Bolio-Gonzalez M. E., Jimenez-Coello M., Linde Forsberg C. (2006): Reproductive patterns of stray male dogs in the tropics, *Theriogenology*, 66, 2084–2090
- Paldusová M., Hošek M., Vágenknechtová, M., Máchal, M. (2013): The evaluation of quality and ejaculates conservation ability of different dog breeds, *In Animal Breeding 2013*, Mendelova univerzita v Brně. 166 – 172, ISBN: 978-80-7375-666-6
- Pasqualotto F. F., Sobreiro B. P.; Hallak J. (2005): Sperm concentration and normal sperm morphology decrease and follicle-stimulating hormone level increases with age. *BJU International*, 96, 1087 – 1091
- Peña A., I. (2004): Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 209-224
- Peña A. I., Barrio M., Becerra J. J., Quintela L. A., Herradón P. G. (2007): Infertility in a Dog due to Proximal Cytoplasmic Droplets in the Ejaculate: Investigation of the



Significance for Sperm Functionality In Vitro, *Reproduction of Domestic Animals*, 42, 471-478, doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00809.x, ISSN 0936-6768

Peña A. I., Barrio M., Becerra J. J., Quintela L. A., Herradón P. G. (2012): Motile sperm subpopulations in frozen-thawed dog semen: Changes after incubation in capacitating conditions and relationship with sperm survival after osmotic stress, *Animal Reproduction Science*, 133, 214-223

Pedersen H., Fawcett, D. W. (1976): Functional anatomy of the human spermatozoon. In Hafez, E. S. E. (ed.) *Human semen and fertility regulation in men*. Mosby, St Louis.

Phillips T. C., Dhaliwal G. K., Verstegen-Onclin K. M., Verstegen J. P. (2012): Efficacy of four density gradient separation media to remove erythrocytes and nonviable sperm from canine semen, *Theriogenology*, 77, 39-45

Power J. H. (1962): A study of canine semen: physical factors which may effect the electrolyte concentration in the ejaculate. *Irish Veterinary Journal*, 1963, 17, 226-231

Procházka Z. (1994): *Chov psů, vlastním nákladem*, 279, ISBN 80-209-0015-2

Procházka Z. (2005): *Chov psů*, 3 vyd. Praha – Litomyšl, Paseka, 320, ISBN 80-7185-768-8

Přinosilova P., Rybar R., Zajicova A., Hlavicova J. (2012): DNA integrity in fresh, chilled and frozen-thawed canine spermatozoa, *Veterinarni Medicina*, 57, 3, 133-142

Přinosilová P., Vinkler A., Věžník Z., (2006): Morphological Image of Fresh and Cryopreserved Dog Semen Evaluted by the Strict Analysis of Sperm Morphology Method, Using Sperm Quality Analyzer (SQA IIc) Evaluation, *Acta Veterinaria Brno*, 75, 393-401, doi:10.2754/avb200675030393

Reece W. O., (1998): *Fyziologie domácích zvířat*, Grada Publishing., spol. s. r. o., Praha 7, 456, ISN 80-7169-547-5

Rigau T., Fane M., Ballester J. et al. (2001): Effects of glukose and fruktose on motility patterns of dog spermatozoa from fresh ejaculates. *Theriogenology*, 56, 801-815

- Rijsselaere T., Van Soom A., Maes O., De Kruif A. (2002): Use of the sperm duality analyzer (SQA) for the assesment of dog sperm duality. *Reproduction of Domestic Animals*, 37, 158-163
- Rijsselaere T., Van Soom A., Maes O., de Kruif A., (2003): Effect of technical settings on canine semen motility parameters measured by the Hamilton-Thome analyzer. *Theriogenology*, 60, 1553-68
- Rijsselaere T., Maes D., Hoflack G., de Kruif A., Van Soom A. (2007): Effect of Body Weight, Age and Breeding History on Canine Sperm Quality Parameters Measured by the Hamilton-Thorne Analyser, *Reproduction of Domestic Animals*, 42, 143-148, doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00743.x, ISSN 0936-6768
- Root Kustritz M. V., Olson P. N., Johnston S. D., Root T. K. (1998): The effects of stains and investigators on assessment of morphology of canine spermatozoa. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 34, 348-352
- Root Kustritz M. V., Kilty C., Vollmer M. (2006): Spermatocrit as a measure of concetration of canine spermatozoa. *Theriogenology*, 670
- Root Kustritz M. V. (2007): The value of canine semen evaluation for practitoners, *Theriogenology*, 68, 329-337
- Saacke R. G., Almquist J. O. (1964): Ultrastructure of bovine spermatozoa. I. The head of normal, ejaculated sperm 1, 2, 3. *The American journal of anatomy*, 115, 143-161
- Saacke R. G., Dalton J. C., Nadir S., Nebel R. L., Bame J. H. (2000): Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Animal Reproduction Science*, 60, 663-667
- Silva A. R., Cordoso R. C. S., Uchoa D. C., Silva L. D. M. (2003): Quality of canine semen submitted to single or fractionated glycerol addition during the freeezing precess, *Theriogenology*, 59, 821-829
- Santos, N. R., et al.(2006): The knobbed acrosome defect in four closely related dogs. *Theriogenology*, 66, 1626-1628

Silva A. R., Cardoso R. C. S., Silva L. D. M. (2006): Influence of Temperature during Glycerol Addition and Post-thaw Dilution on the Quality of Canine Frozen Semen. *Reproduction of Domestic Animals*, 41, 74-78, ISSN 0936-6768

Sova Z., Koudela K., Vernerová E. (1981): *Fyziologie hospodářských zvířat*, 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství, 512

Svoboda M., Senior F. D., Doubek J., Klimeš J. (2001): *Nemoci psa a kočky*, II. díl., 1. vyd. Brno, Novico, 1010

Threlfall W. R., (2003): Semen collection and evaluation In: Root Kustritz M. V. editor. *The practical veterinarian: small animal theriogenology*. St. Louis: Butterworth-Heinemann, 2003, 97-123

Vágenknechtová M., Hošek M., Máchal L., Chládek G. (2011a): The influence of external and internal factors on the quality of semen collection and qualitative indicators of semen in the dog (*Canis familiaris*). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 59, 6, 373-380, ISSN 1211-8516

Vágenknechtová M., Hošek M., Filipčík R., Máchal L. (2011b): The evaluation of semen collection and ejaculate quality of hunting dogs. *Animal Welfare, Ethology and Housing Systems*. [online]. In *Animal Welfare, Ethology and Housing Systems*, 7, 3, 69-74, URL: <http://www.animalwelfare.szie.hu>

Vágenknechtová M., Máchal L., Hošek M., Jarinkovičová L. (2010): Vliv vybraných faktorů na odběr semene a kvalitu ejakulátu psů. In *Animal Physiology 2010 - Proceedings of International Conference*, 449-453, ISBN 978-80-7375-403-7

Věžník Z., Švecová D., Zajícová A., Bendová J., Faldíková L., Zralý Z., Netolická S., Pospíšil L., Diblíková I., Zudová D., Matoušková O. (2000): Hodnocení semene pro asistovanou reprodukci a výběr plemenů. *Striktní analýza spermatické morfologie SASMO*. Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, 141

Věžník Z., Švecová D., Zajícová A., Přinosilová P. (2003): Functional evaluation of dog ejaculates with priority given to the aspect of acrosome integrity, *Veterinary Medicine*, 48, 8, 221-228

Věžník Z., Švecová D., Zajícová A., Přinosilová P., Rubeš J., Rybář R., Vozdová M., Machatková M., Horáková J. (2004): Repetitorium spermatologie a andrologie a metodiky spermatolýzy. Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně, 266, ISBN 80-86895-01-7

Walker J. S., Winet H., Freund M. (1982): A comparison of subjective and objective sperm motility evaluation. *Journal of Andrology*, 3, 184-192

World Health Organization (WHO) (1999): WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm – cervical mucus interaction. New York: Cambridge University Press

## 8 SEZNAM TABULEK

*Tab. 1: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace.*

*Tab. 2: Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů.*

*Tab. 3: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů.*

*Tab. 4: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů – průměrné hodnoty celého sledovaného souboru*

*Tab. 5: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů v různém věku.*

*Tab. 6: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů v různém věku.*

*Tab. 7: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů v různém věku.*

*Tab. 8 : Zastoupení jednotlivých morfologických změn spermií v ejakulátu psů v různém věku.*

*Tab. 9: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle počtu psů v domácnosti.*

*Tab. 10: Objem, koncentrace a aktivita spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti.*

*Tab. 11: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů, dle jejich počtu v domácnosti.*

*Tab. 12. Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich počtu v domácnosti.*

*Tab. 13: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů o různé hmotnosti*

*Tab. 14: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů o různé hmotnosti.*

*Tab. 15: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti.*

*Tab. 16: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů o různé hmotnosti.*

*Tab. 17: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle jejich pracovního využití.*

*Tab. 18: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle jejich pracovního využití.*

*Tab. 19: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití*

*Tab. 20: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle jejich pracovního využití.*

*Tab. 21. Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu ustájení.*

*Tab. 22: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu ustájení.*

*Tab. 23: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu ustájení.*

*Tab. 25: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle počtu dní mezi odběry.*

*Tab. 26: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.*

*Tab. 27: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.*

*Tab. 28: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle počtu dnů mezi odběry.*

*Tab. 29: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle pořadí odběru.*

*Tab. 30: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle pořadí odběru.*

*Tab. 31: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru.*

*Tab. 32: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle pořadí odběru.*

*Tab. 33: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle typu krmení.*

- Tab. 34: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle typu krmení.*
- Tab. 35: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle typu krmení.*
- Tab. 36: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle typu krmení.*
- Tab. 37: Průměrná doba od počátku stimulace*
- Tab. 38: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby.*
- Tab. 39: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby.*
- Tab. 40: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů s potomstvem z přirozené plemenitby.*
- Tab. 41: Průměrná doba od počátku stimulace psů k počátku ejakulace a průměrná doba ejakulace u psů dle místa odběru.*
- Tab. 42: Objem, koncentrace a aktivita spermií u ejakulátu psů dle místa odběru.*
- Tab. 43: Zastoupení morfologicky normálních a abnormálních spermií v ejakulátu psů dle místa odběru.*
- Tab. 44: Zastoupení jednotlivých defektů spermií v ejakulátu psů dle místa odběru.*
- Tab. 45: Vzájemné korelace mezi jednotlivými proměnnými reprodukčními ukazateli*
- Tab. 46: Vzájemné korelace exogenních a endogenních faktorů v závislosti na reprodukčních ukazatelích.*

## 9 PŘÍLOHA



## I. Průběh odběru ejakulátu u psů



Obrázek 1: Stimulace psa pomocí feny

Obrázek 2: Dráždění penisu po vybavení z předkožkového vaku

Obrázek 3: Penis psa po zasunutí do odběrové nádoby

## II. Penis psa v plné erekci, odběrová nádoba se získaným ejakulátem a pomůcky na stanovení koncentrace



Obrázek 4: Penis psa v plné erekci

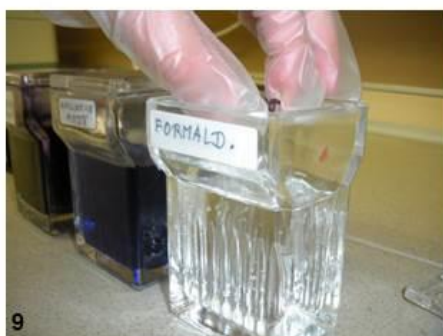
Obrázek 5: Odběrová nádoba se získaným ejakulátem



Obrázek 6: Pomůcky pro stanovení koncentrace spermií hemocytometrickou metodou.



### III. Barvení nátěrů metodou dle Farellyho



Obrázek 7: Pomůcky pro barvení preparátů pro morfoložické vyšetření spermii.

Obrázek 8: Reagencie pro barvení spermii metodou dle Farellyho

Obrázek 9: Fixace preparátu v 10% roztoku 35% formalínu ve fyziologickém roztoku NaCl

#### IV. Barvení nátěrů metodou dle Farellyho – pokračování 1



Obrázek 10: Opláchnutí preparátu proudem destilované vody

Obrázek 11: Barvení v anilinové modři

Obrázek 12: Opláchnutí preparátu proudem destilované vody

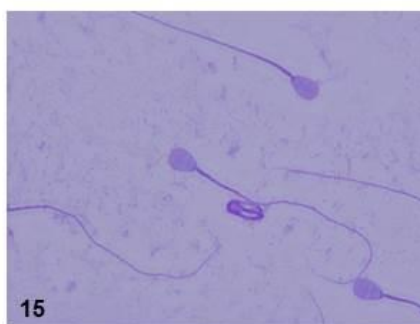


## V. Barvení nátěrů metodou dle Farellyho – pokračování 2



Obrázek 13: Barvení preparátu krystalové violeti.

Obrázek 14: Konečné opláchnutí barveného preparátu proudem destilované vody



Obrázek 15: Hotový preparát byl hodnocen pod mikroskopem při použití olejové imerze.