

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra veterinárních disciplín**



**Vliv věku kance na kvalitativní a kvantitativní ukazatele  
ejakulátu**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Jiří Habáň**

**Vedoucí práce: doc. MVDr. Radko Rajmon, Ph.D.**

© 2014 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv věku kance na kvalitativní a kvantitativní ukazatele ejakulátu " jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11.4.2014

.....

## **Poděkování**

Chtěl bych poděkovat vedoucímu diplomové práce doc. MVDr. Radko Rajmonovi, Ph.D. a Ing. Adéle Krejčárkové za cenné připomínky, čas a trpělivost při dohledu nad touto prací.

# SOUHRN

Produkce inseminačních dávek není možná bez znalosti faktorů, ovlivňujících kvalitu spermatu a následně i kvalitu inseminačních dávek.

Cílem této práce je zpracování a vyhodnocení dat, získaných z kontrolních odběrů ejakulátů kanců. Na shromážděném souboru dat byly testovány tyto hypotézy: kvalitativní ukazatele ejakulátu byly významně ovlivněny věkem kance, plemennou příslušností kance, ročním obdobím, měsícem odběru a individualitou kance.

Vyšetřováno bylo sperma 52 kanců, odebírané přibližně ve věku 7, 8, 11 a 15 měsíců. Hodnoceny byly základní kvalitativní parametry - objem spermatu, koncentrace a motilita spermií, celkový počet spermií a morfologické změny spermií.

Byly zjištěny základní popisné charakteristiky výběrových souborů, četnosti hodnocených odběrů podle plemen, jednotlivých věkových kategorií a ročních období. Také byly zjištěny četnosti ejakulátů, nevyhovujících normě pro kančí sperma v hodnotách základních zjišťovaných parametrů. K provedení analýzy rozptylů ANOVA byl využit Schefféův test, statisticky významné hodnoty byly zpracovány do grafů. Dále bylo provedeno testování závislosti mezi jednotlivými parametry kančího spermatu.

Byl potvrzen vliv věku kance i vliv plemenné příslušnosti na jednotlivé parametry kančího spermatu. S věkem kance se zvyšuje zejména objem spermatu, vliv plemenné příslušnosti se projevuje hlavně na koncentraci spermií. S věkem kanců se zvyšuje procento patologických abnormalit bičíku spermie, naopak se snižuje procento patologických změn hlavičky spermie. Plemenná příslušnost ovlivňuje především procento výskytu abnormalit krčku a bičíku.

Vliv ročního období byl potvrzen pouze u procenta výskytu morfologických změn. Naopak se nepodařilo potvrdit průkazný vliv měsíce odběru ani individuality kance na žádný z posuzovaných kvalitativních parametrů ejakulátu.

Nejcitlivější na sledované faktory je výskyt abnormalit bičíku spermií, naopak u motility se nepodařilo potvrdit vliv žádného ze sledovaných faktorů.

Výsledků lze využít zejména při selekci kanců. Ukazuje se, že bude vhodnější počkat s výběrem kanců do pozdějšího věku, kdy budou hodnoty jednotlivých parametrů ustálenější. Předejde se tak zbytečnému vyřazení kvalitních kanců s dosud nevyzrálým spermatem.

**Klíčová slova:** kanec - sperma - patomorfologie - motilita - objem - věk

# SUMMARY

Production insemination doses is not possible without knowledge of factors affecting sperm quality and consequently the quality of semen doses.

The aim of this work is the processing and analysis of data obtained from control samples boar ejaculates. On collecting data were tested the following hypotheses: qualitative indicators ejaculate were significantly affected by age boar pedigree boars, season, month of collection and individuality boar.

The researchers studied 52 boar semen, taken at about the age of 7, 8, 11 and 15 months. Were evaluated qualitative parameters - semen volume, sperm concentration and motility, total sperm count and sperm morphological changes.

Have been identified basic descriptive characteristics of samples, sampling frequency evaluated by breed, age categories and seasons. Were also detected frequency of sperm, non-compliant standard for boar semen collected in the values of basic parameters. The analysis of variance ANOVA was used Scheffé's test, statistically significant values were processed into graphs. Further testing was carried dependencies between parameters of boar semen.

He acknowledged the influence of boar age and pedigree influence on the parameters of boar semen. With age, the boar is especially increased volume of semen, pedigree influence manifests itself mainly on the concentration of sperm. With age, boars increases the percentage of pathological abnormalities in the sperm flagellum, while reducing the percentage of pathological changes in the sperm head. Pedigree affects mainly the percentage of abnormalities of the neck and tail.

The impact of the season was confirmed only in incidence rates of morphological changes. On the contrary, failed to confirm the significant effect of sampling month or individuality boar none of the examined semen quality parameters.

Sensitive to the monitored factors, the incidence of abnormalities of sperm flagellum, on the contrary motility failed to acknowledge the influence of any of the factors.

Results can be helpful in the selection of boars. It turns out, it would be better to just select boars to a later age, when the values of individual parameters more stable. This avoids the unnecessary disposal of high-quality boars with still immature sperm.

**Keywords:** boar - semen - pathomorphology - motility - volume - age

# OBSAH

1. ÚVOD.....	1
2. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE.....	1
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE.....	2
3.1. Funkční anatomie pohlavní soustavy kance.....	2
3.1.1. Varlata.....	2
3.1.2. Vývodné pohlavní cesty .....	3
3.1.3. Přídavné pohlavní žlázy, pyj.....	3
3.1.4. Spermatogeneze.....	4
3.1.5. Řízení reprodukčního systému.....	5
3.2. Vlastnosti kančího spermatu.....	5
3.2.1. Spermie.....	6
3.2.2. Semenná plazma.....	13
3.3. Odběr, hodnocení a zpracování kančího spermatu.....	15
3.3.1. Odběr spermatu.....	15
3.3.2. Hodnocení spermatu.....	16
3.3.2.1. Makroskopické vyšetření spermatu.....	17
3.3.2.2. Mikroskopické vyšetření spermatu.....	18
3.3.3. Zpracování spermatu.....	25
3.4. Faktory ovlivňující kvalitu spermatu .....	25
3.4.1. Dědičné vlivy.....	26
3.4.2. Věk.....	27
3.4.3. Složení semenné plazmy.....	28
3.4.4. Frekvence odběrů.....	29
3.4.5. Roční období.....	29
3.4.6. Teplota.....	30
3.4.7. Zdravotní stav.....	30
3.4.8. Výživa a prostředí.....	31
4. MATERIÁL A METODY.....	32
5. VÝSLEDKY .....	34
5.1. Vliv plemenné příslušnosti na vybrané charakteristiky kančího spermatu.....	35
5.2. Vliv věku na vybrané charakteristiky kančího spermatu.....	40

5.3. Vliv ročního období na vybrané charakteristiky kančího spermatu.....	44
5.4. Vliv měsíce odběru a individuality kance na vybrané charakteristiky kančího spermatu.....	46
5.5. Testování závislosti znaků.....	46
6. DISKUZE.....	47
7. ZÁVĚR.....	52
8. SEZNAM LITERATURY.....	53
9. PŘÍLOHY.....	57

# 1. ÚVOD

Jedním z důležitých odvětví zemědělské výroby je chov prasat, který se však od devadesátých let potýká s řadou problémů, projevujícím se dramatickým snižováním stavů zvířat. Podle údajů ústřední evidence prasat je v České republice v současné době chováno přibližně sto tisíc kusů prasnic. Pro zajištění jejich reprodukce je chováno asi 2 300 kusů plemenných kanců. Část z nich je využívána v přirozené plemenitbě, ale většina je ustájena ve střediscích pro odběr spermatu kanců (inseminačních stanicích kanců - ISK). Aktuálně působí na území naší republiky 15 inseminačních stanic kanců dodavatelským způsobem, řada menších jako inseminační stanice podnikové.

Pro úspěšnou činnost každé z těchto inseminačních stanic je nezbytné, aby produkovala dostatečné množství kvalitních inseminačních dávek v přijatelné cenové relaci. Toho je možné dosáhnout jedině zajištěním optimálních podmínek pro šlechtění a chov plemenných kanců, při co možná nejlepší znalosti všech faktorů, majících vliv na kvalitu spermatu a následně i na kvalitu inseminačních dávek.

## 2. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Cílem práce je zpracování a vyhodnocení dat z kontrolních odběrů ejakulátů mladých plemenných kanců ve věku 7 až 15 měsíců. Stanoveny budou základní charakteristiky kvality ejakulátu v závislosti na věku, plemenné příslušnosti, měsíci odběru, ročním období. Testovány budou následující hypotézy: kvalitativní ukazatele ejakulátu byly v rámci testovaného souboru významně ovlivněny:

- věkem kance
- plemennou příslušností kance
- ročním obdobím
- měsícem odběru
- individualitou kance



## **3. LITERÁRNÍ REŠERŠE**

### **3.1. Funkční anatomie pohlavní soustavy kance**

Pohlavní orgány kance tvoří pohlavní žlázy, vývodné pohlavní cesty, přídatné pohlavní žlázy a kopulační orgán (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Úlohou reprodukčních orgánů kance je plnit tři základní funkce. První je produkce spermií ve varlatech, druhou je zrání, uchování a transport spermií, a třetí funkcí je uložení spermatu v pohlavním ústrojí prasnice prostřednictvím penisu. Také kančí hormony mají tři funkce, a to řízení spermatogeneze, ovlivňování samčího chování (libido, agrese) a vývin samčích tělesných znaků (Noakes et al., 2001).

#### **3.1.1. Varlata**

Hmota varlat je tvořena dvěma hlavními druhy tkání: semenotvornými kanálky a intersticiální tkání. Lumen semenotvorných kanálků obklopují dvě řady buněk semenotvorného epitelu. Jsou to Sertoliho buňky (Noakes et al., 2001), sahající od bazální membrány po lumen semenotvorných kanálků, jejichž boční buněčné membrány tvoří tzv. krevní varletní bariéru (Pinart et al., 2000), a zárodečné buňky v různém stádiu vývoje. Od intersticiální tkáně je odděluje bazální membrána s myoidními buňkami. Intersticiální tkáň je složena z množství Leydigových buněk, krevních a drobných lymfatických cév, buněk a vláken pojivové tkáně (Noakes et al., 2001; Franca et al., 2005).

Tyto tkáně plní dvě odlišné funkce. V točitých semenotvorných kanálcích jsou vytvářeny spermie - činnost exkretorická (Gamčík a Kozumplík, 1984), přičemž Sertoliho buňky poskytují chráněné prostředí pro vyvíjející se zárodečné buňky rozdělením semenotvorných kanálků pomocí těsného bazálního spojení, vyživují je a uvolňují poslední spermatidy do lumen kanálků (Franca et al., 2005). V intersticiální tkáni, v Leydigových buňkách jsou produkovány androgeny - činnost inkretorická (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Varlata jsou uložena v šourku, což je důležitý termoregulační orgán, kterému jeho anatomická stavba umožňuje reagovat na chlad smrštěním a na teplo uvolněním stěn. Pro správnou funkci varlat tak udržuje nižší teplotu, než je teplota celého těla. Vyšší teploty však nemají vliv na inkretorickou činnost varlat, tedy na produkci samčího pohlavního hormonu (Gamčík a Kozumplík, 1984; Hafez and Hafez, 2000).

### **3.1.2. Vývodné pohlavní cesty**

Nadvarle je důležitý reprodukční orgán, ve kterém nezralé spermie po vytvoření ve varlatech prochází konečným dozráváním a získávají zde oplozovací a pohybové schopnosti (Noakes et al., 2001; Maňásková-Postlerová et al., 2011).

Tkáň nadvarlete má velmi aktivní sekreční a absorpční činnost (Maňásková - Postlerová et al., 2011). V hlavě nadvarlete dochází k odnímání tekutiny, která vyplavuje spermie z varlete, a k zahuštění spermií (Gamčík a Kozumplík, 1984). Každá část nadvarlete sekretuje jiné komponenty, nejaktivnější je hlava a tělo nadvarlete, kde se syntetizuje asi 80 % složek nadvarletní tekutiny (Gatti et al., 2004). Nadvarletní tekutina obsahuje ionty, aminokyseliny, malé organické molekuly, proteiny, glykoproteiny a velké množství enzymů. Během průchodu nadvarletem jsou spermie přímo vystaveny působení této nadvarletní tekutiny. Složky této tekutiny, zejména proteiny, mají okamžitý vliv na zrání spermií nebo se mohou vázat na povrch spermií a hrát roli v dalších krocích reprodukce jako kapacitace, rozpoznání gamety, navázání se a průnik zónou pellucidou (Maňásková-Postlerová et al., 2011). Je známo více než sto proteinů, produkovaných nadvarletem, mezi hlavní patří například laktoferrin, klusterin, manosidáza, hexosaminidáza. Mnoho z těchto proteinů, obsažených ve spermatu bylo popsáno jako esenciální pro oplození (např. fertilit, cyritestin atd.). Enzymy přítomné ve varletní tekutině jsou schopny kontrolovat změny na povrchu spermií (Gatti et al., 2004).

Dozrívání spermií probíhá v prvních dvou segmentech nadvarlat, ocas nadvarlete slouží jako zásobárna plně vyzrálých spermií, obsahuje okolo 75 % všech spermií z nadvarlat (Hafez and Hafez, 2000; Noakes et al., 2001).

Chámovod je poměrně silnostěnná trubice, jež také slouží k uložení spermií a jejich postupu z nadvarlete do penisu. Chámovod spolu s nervy, žilami a tepnami zásobujícími varlata vytváří semenný provazec (Noakes et al., 2001).

### **3.1.3. Přídavné pohlavní žlázy, pyj**

U kance nacházíme tyto přídavné pohlavní žlázy: semenné váčky, předstojnou žlázu (prostatu) a Cowperovy žlázy. Během ejakulace vyměšují do močové roury sekret, tvořící semennou plazmu, podstatnou a důležitou součást spermatu (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Pyj (penis) je samčí pářící pohlavní orgán. Podkladem pyje je topořivé těleso pyje (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Předkožka je ochranné kožní pouzdro na spodině břicha, ve kterém je v době klidu zatažen pyj (Gamčík a Kozumplík, 1984). V horní stěně předkožkové dutiny je otvor ústící do vejčitého vaku, prepuciálního divertikula. Předkožkový vak obsahuje směs rozkládající se moči a macerovaných epitelových buněk, která má charakteristický a velmi nepříjemný silný kančí pach (Gordon, 1997).

### **3.1.4. Spermatogeneze**

Spermatogeneze je základní proces v reprodukci kanců, jejímž výsledkem je produkce spermií. Probíhá v semenotvorných kanálcích dospělých varlat a zahrnuje tři hlavní procesy. Nejprve poměrně nediferencovaná spermatogonie prochází mitózou, multiplikací a dělením (Noakes et al., 2001). Tato počáteční fáze se nazývá spermatocytogeneze (Youngquist and Threlfall, 2007). Následuje meiotická redukce z diploidního na haploidní genom. Nakonec postmeotické buňky prochází morfologickou přeměnou spermioogenezí, vrcholící vytvořením hotové spermie (Noakes et al., 2001).

Spermatogonie jsou ploché buňky ležící v těsném vztahu s bazální membránou. Během diferenciací získávají oválný profil a ztrácí kontakt s bazální membránou. Spermatocyty jsou okrouhlé buňky pohybující se z bazálního kompartmentu semenotvorného epitelu do adluminálního kompartmentu. U spermatid dochází ke komplexu morfologických změn, vedoucích ke vzniku spermií (Pinart et al., 2000).

Spermie prochází fyziologickými, morfologickými a biochemickými změnami při průchodu nadvarletním kanálkem. Doba tohoto průchodu je odhadována na dva týdny. Makromolekuly důležité pro oplozovací schopnost a pro pohyb kančí spermie jsou získávány v počátečním segmentu nadvarlete. Tyto na membrány vázané molekuly jsou následně pokryty proteiny v distálnějších úsecích nadvarlete (Gordon, 1997). Tyto změny na cytoplazmatické membráně spermií pravděpodobně přispívají ke stabilizaci akrozómu během pobytu spermií v pohlavním ústrojí prasnice, redukci povrchové imunogenicity spermie a zvýšení schopnosti cytoplazmatické membrány spermie navázat se na zónu pellucidu (Noakes et al., 2001).

Blízko hlavičky spermie zůstává zpočátku umístěn zbytek protoplazmy. Ten se v průběhu cesty na konec těla nadvarlete posunuje distálně, až se nakonec v ocasu nadvarlete úplně ztrácí (Noakes et al., 2001).

Doba průběhu spermatogeneze, tj. čas mezi dělením spermatogonie a vytvořením spermie trvá u kance přibližně 35 dní (Youngquist and Threlfall, 2007). Průchod nadvarletem trvá

dalších 8 až 14 dní (Noakes et al., 2001). Proto je možné po narušení spermatogeneze očekávat 6 až 7 týdenní prodlevu před obnovením normálního spermioqramu (Youngquist and Threlfall, 2007).

Ačkoliv spermie uskladněné v ocasu nadvarlete mají kapacitu pro pohyblivost, opravdovou pohyblivost získávají až během ejakulace. Proto spermie v nadvarleti projevují nepatrnou motilitu, která je rychle aktivována po smíchání se semennou plazmou během ejakulace (Noakes et al., 2001).

### **3.1.5. Řízení reprodukčního systému**

Činnost reprodukčního systému je zahajována, koordinována a regulována dvěma samostatnými systémy – endokrinní a centrální nervovou soustavou. Nervová soustava řídí tělesné funkce pomocí rychlých elektrických impulsů, endokrinní soustava užívá chemických látek a hormonů (Hafez and Hafez, 2000).

K nejdůležitějším hormonům, ovlivňujícím reprodukční soustavu kanců patří: Gonadotropní releasing hormon reagující na negativní zpětnou vazbu z gonád. Patří k neurohormonům, stimuluje uvolňování FSH a LH. Folikulo-stimulační hormon (FSH) stimuluje spermatogenezi. Luteinizační hormon (LH) stimuluje sekreci testosteronu. Je produkován hypofýzou. Testosteron je produkován Leydigovými buňkami ve varlatech. Podporuje růst, vývoj a funkci přídatných pohlavních žláz, vývoj druhotných pohlavních znaků, sexuální chování, libido, stimuluje pozdní fáze spermatogeneze, prodlužuje životnost spermií v nadvarlatech, má anabolické účinky. Prostaglandin F<sub>2α</sub> je sekretován téměř všemi tkáněmi těla, pomáhá při transportu spermií v pohlavních cestách prasnice. Aktiviny jsou obsaženy v tekutině rete testis, stimuluji sekreci FSH. Inhibiny byly nalezeny v Sertoliho buňkách, ovlivňují hladinu FSH (Hafez and Hafez, 2000).

### **3.2. Vlastnosti kančího spermatu**

Sperma (též semeno, chám, ejakulát) je buněčná suspenze složená ze spermií, samčích pohlavních buněk, a tekuté složky, nazývané semenná plazma, tvořené sekrety přídatných pohlavních žláz samců. Její fyziologickou funkcí po ejakulaci je zajistit proces oplození samičích oocytů II. řádu ve vejcovodu a podílet se tak na vzniku nových jedinců a na udržení druhu (Kliment, 1983; Hafez and Hafez, 2000).

V kančím spermatu jsou obsažena také rosolovitá zrna, ze kterých se po kopulaci vytváří v pohlavních orgánech samice zátka, bránící zpětnému vytékání semene z vaginy. Ejakulát

kance se skládá ze tří vzájemně se lišících frakcí. První, předpermiová frakce je pravděpodobně uretrálního původu a obsahuje menší množství rosolovitých zrn z Cowperových žláz. Na celkovém objemu ejakulátu se podílí z 5 až 50 % (v průměru asi 10). Druhá frakce je bohatá na spermie a tvoří 30 až 50 % objemu ejakulátu. Třetí frakce je relativně chudá na spermie a obsahuje především sekret měchýřkovitých a Cowperových žláz. Na objemu ejakulátu se podílí 35 až 60 %. Tyto tři frakce tvoří ejakulační vlnu, která se může několikrát opakovat (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Normální sperma je mléčně neprůhledná, bílá až šedobílá tekutina (Youngquist and Threlfall, 2007), převážně mléčné konzistence, nevýrazného (po vaječném bílku) nebo slabě specifického pachu (Gamčík a Kozumplík, 1984). Celkový objem spermatu se v průměru pohybuje mezi 240 až 250 ml, z tohoto objemu tvoří asi 20 % želatina a 20 až 30 % spermie (Hafez and Hafez, 2000). Normální kančí sperma má 60 až 90 % pohyblivých spermií (Hafez and Hafez, 2000). Koncentrace ve permiové frakci se blíží 6 až  $10 \times 10^8$  spermií na ml, v konečné koncentraci je nižší vzhledem k objemu předpermiové a postpermiové frakce (Hafez and Hafez, 2000). Normální kančí sperma obecně vykazuje méně než 15 až 20 % abnormálních spermií (Youngquist and Threlfall, 2007).

### **3.2.1. Spermie**

Spermie patří mezi nejvíce specializované živočišné buňky (Haden et al., 2000), tvořené v semenotvorných kanálcích varlat (Hafez and Hafez, 2000). Jsou to zralé samčí pohlavní buňky, jež mají v porovnání s jinými buňkami zvláštní stavbu, podmíněnou jejím specifickým posláním – schopností samostatného, aktivního pohybu a oplozovací schopností (Marvan, 2007). Mají podlouhlý tvar, tvoří je zploštělá hlavička a bičík (Hafez and Hafez, 2000).

Spermie přežvýkavců se tvarem, délkou, šířkou a tloušťkou podobá miniaturní tenisové raketě. Spermie kance se v základních rysech podobá spermií sudokopytníků, od býčí spermie se liší především tím, že je kratší, má užší poměr mezi šířkou a délkou hlavičky a tím, že akrozóm zaujímá větší plochu hlavičky. Kančí spermie má průměrnou celkovou délku 50  $\mu\text{m}$ , délku hlavičky 8,5  $\mu\text{m}$ , šířku hlavičky 4,25  $\mu\text{m}$ , délku spojovacího oddílu 10  $\mu\text{m}$  a délku hlavního oddílu 30  $\mu\text{m}$ . Podíl hmotnosti v hlavičce je 51 % a v bičíku 49 % z celkové hmotnosti spermie (Kliment, 1983).

Mezi jednotlivými samci v rámci jednoho druhu existuje tvarová proměnlivost. Pro každého samce je však tvar hlavičky spermií relativně konstantní a pravděpodobně geneticky kódován (Věžník a kol., 2004).

Ukázalo se, že rozměry hlavičky spermií se mění v závislosti na sexuálním vývoji kance. Spermie kanců nad 18 měsíců mají delší hlavičku, ale šířku, plochu a obvod mají menší než mladí kanci (Quintero-Moreno et al., 2009).

Hlavička spermie kance je téměř pravidelně oválný, ze stran zploštělý útvar, který je na apikálním konci širší a v místě spojení s bičíkem se zužuje (Kliment, 1983). Základní složku hlavičky spermie tvoří jádro pohlavní buňky obalené jadernou membránou. Přední pól hlavičky kryje čepičkovitý obal – akrozóm. Povrch celé hlavičky i bičíku pokrývá dvojitá cytoplazmatická membrána (Marvan, 2007).

Hlavička se skládá z nukleoplazmy, struktur nukleárního původu, akrozomálního systému a postakrozomální čepičky. Vzhledem k lokalizaci dědičného materiálu v nukleoplazmě má hlavička v procesu oplodnění nezastupitelné místo (Kliment, 1983).

Akrozóm je membránový útvar, pokrývající u kance až 70 % jádra (Věžník a kol., 2004), který je zakončen ekvatoriálním segmentem poloměsíčitého tvaru. Akrozóm má podobu čepičky z velmi jemné dvojité blanky, jejíž vnější membrána se přikládá k cytoplazmatické membráně a vnitřní membrána přiléhá k jaderné membráně. Je to důležitý aparát, který určuje tvar hlavičky. Má významnou úlohu při oplodnění (Marvan, 2007). Uvnitř akrozómu se nachází akrozómová hmota obsahující množství mukopolysacharidů vázaných na bílkovinu, fruktózu, manózu, galaktózu a hexosamin. Dále obsahuje lipidy, draslík, alkalickou a kyselou fosfatázu aj. (Kliment, 1983) a řadu enzymů (hyaluronidáza, proakrozín, akrozín aj.), podílejících se na pronikání spermie do ovoplazmy při oplození vajíčka (Marvan, 2007). V akrozómech spermií byla zjištěna také proteináza samčího semene. V semeni kance byly zjištěny dvě formy proakrozínu a tři druhy akrozínu (alfa, beta a gama), které se od sebe liší molekulární hmotností. Nacházejí se jen v akrozómu spermií. V čerstvém ejakulátu kance se nachází převážně jen proakrozín. K aktivaci akrozínu dochází během kapacitace v samičím pohlavním ústrojí. Akrozín zjišťujeme v semenné plazmě i po porušení akrozómu v průběhu konzervace semene (Gamčík a Kozumplík, 1984). Zadní část akrozómu je identická s ekvatoriálním segmentem nebo se střední částí hlavičky spermie (Kliment, 1983). Ekvatoriální segment zahajuje fúzi s membránou oocyty při oplození (Hafez and Hafez, 2000). Je zde snížený obsah akrozomální hmoty (Věžník a kol., 2004). Na konci této části obě membrány splývají. Akrozóm nemá tak pevnou konzistenci jako ostatní části hlavičky spermie. Je citlivý na osmotické změny venkovního prostředí (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Akrozóm je penetrační orgán, který umožňuje proniknutí spermie do vajíčka působením akrozomálních enzymů, které účinkují při penetraci. Buňky zevního obalu oocyty II. řádu (corona radiata) jsou pevně k sobě tmeleny kyselinou hyaluronovou. Po prasknutí

akrozomální membrány depolarizuje akrozomální hyaluronidáza kyselinu hyaluronovou, která tmelí buňky corony radiaty, ty se od sebe oddělí a tak může spermie proniknout k zoně pellucidě. Akrozin se potom podílí na proniknutí spermie do jádra přes zonu pellucidu a vlastní cytoplazmatickou membránu. Při poškození akrozómu dochází k vážným degenerativním změnám, charakterizovaným nabobtnáním akrozómu, jeho zřasením, prasknutím, svlečením aj. V takových případech zaniká oplozovací schopnost spermie, i když si spermie uchovává svůj aktivní pohyb (Kliment, 1983).

U normálních spermií je akrozom sotva vidět. Po poškození cytoplazmatické membrány přijímá vodu, nabobtnává a stává se viditelným. Může se uvolnit nebo praskat (Kliment, 1983).

Na kaudálním konci akrozómu se vytvoří substance zvaná nukleární prstenec (Marvan, 2007). Postakrozomová čepička obaluje zadní část jádra od ekvatoriálního segmentu po bázi (asi 40 % délky jádra). Má miskovitý tvar a proto se nazývá miska. Skládá se z jednovrstevné palisády mikrotubulů. U zadního okraje jádra se připojuje k jaderné a cytoplazmatické membráně. Mezi postnukleární čepičkou a jadernou membránou je nepravidelná vrstva hustého materiálu. Mezi apikálním koncem jádra a akrozómem se nachází tyčinkový útvar označený jako perforatórium (Kliment, 1983).

Celé jádro hlavičky spermie vyplňuje nukleoplazma, která je při malém zvětšení homogenní a při velkém zvětšení má zrnitě vláknitý charakter (Marvan, 2007). Je nositelem otcovského dědičného materiálu vázaného v kondenzované formě na DNA, která se váže na bazální nukleoprotein. V jádře se nachází chromozómy (haploidní počet s jedním sex-chromozómem) v chromatinové formě. V nukleoplazmě spermií můžeme příležitostně pozorovat větší či menší prázdná místa, tzv. vakuoly, nejčastěji na apikálním okraji a v ekvatoriálním segmentu hlavičky spermie (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Průměrná délka jádra kančí spermie je 8,3 až 9,1  $\mu\text{m}$  a průměrná šířka 4,2 až 5,0  $\mu\text{m}$ . Struktura jádra je homogenní, kompaktní. V jádru spermií je otcovský dědičný materiál v kondenzované formě vázán na kyselinu desoxyribonukleovou (DNA), ze které je tvořen hustě nahloučený chromatin (Kliment, 1983). DNA tvoří přibližně polovinu chromatinu, druhou polovinu tvoří proteiny (Hafez and Hafez, 2000). Jádro je uzavřeno v dvojité nukleární membráně, která je velmi elastická, a je velmi nesnadné ji poškodit fyzikálními prostředky. Jádro spermie kance obsahuje průměrně  $2,62 \times 10^{-12}$  g DNA (Kliment, 1983). Jako protiklad k DNA není kyselina ribonukleová (RNA) přítomna v nukleoplazmě vyzrálých spermií (Kliment, 1983).

Proteiny vázané na DNA v jádru spermie jsou bazického typu a jde o protamíny a histony (Kliment, 1983), důležité pro kondenzaci a stabilizaci DNA v chromatinu (Hafez and Hafez, 2000). Během spermiogeneze přetváří vysoce kondenzované jádro spermie do kompaktního hydrodynamického tvaru umožňujícího spermii pohyb a průnik do oocyту (De Jonge and Barratt, 2006). Kromě bazických proteinů obsahuje jádro vždy také nějaké nebazické nebo reziduální proteiny. Ty na rozdíl od protamínů a histonů obsahují tryptofan jako charakteristickou aminokyselinu (Kliment, 1983).

Na sagitálním řezu hlavičky jsou útvary lamelové struktury, ležící paralelně s délkou konvexní části spermie. Na jejich povrchu jsou smyčkovitá zdrsnění, která zabezpečují kompaktní vazbu membrán. Jádro obaluje hrubá elastická jaderná blána. Tvoří dvojrstevný obal, na kterém je možno vidět výrazné invaginace mezi hlavičkou a bičíkem. Na malém prostoru v okolí bazálních tělísek se nachází jaderné póry. Předpokládá se, že v tomto místě nastává syntéza informační RNA (Kliment, 1983).

Bičík spermie je orgán pohybu, který zprostředkuje transport spermie na místo oplození (Gamčík a Kozumplík, 1984). Mezi hlavičkou a bičíkem vzniká spojení v podobě kloubu (Kliment, 1983). Bazální část hlavičky je prohloubená v podobě implantační jamky hlavičky, do níž se vkládá hlavice bičíku, která slouží ke spojení bičíku s hlavičkou (Marvan, 2007). Implantační jamka hlavičky přesně kopíruje implantační hlavici bičíku (Kliment, 1983).

Skladba bičíku je uzpůsobena k pohybu spermie. Přední konec bičíku zasunutý do implantační jamky zesílené bazální ploténkou tvoří proximální a distální centriol a po jeho stranách segmentové provazce. Plně zachovalý proximální centriol se nachází v homogenní cytoplazmatické hmotě v implantační jamce hlavičky. Tato část je někdy označována jako krček nebo centriolový či implantační oddíl. Část distálního centriolu je na konci spojovací části bičíku a tvoří tzv. prstenec. Na distální centriol navazuje osově vlákno (axonema), které tvoří podklad celého bičíku a má stejný charakter jako v řasince. Osově vlákno je obklopeno útvary rozdělenými podle oddílu bičíku. Popisujeme tak spojovací, hlavní a koncovou část bičíku. Středem osového vlákna probíhá centrální dvojice mikrotubulů, obklopená vnitřním kruhem devíti dvojic filament (Marvan, 2007). Tyto dvojice jsou označovány jako dublety, složené z elementu A, který je pevné vlákno a elementu B, tvořeným dutým mikrotubulem. Z každého elementu A vystupují dvě styčná raménka k elementu B sousední dublety. Raménka obsahují bílkovinu dynein, která se účastní v procesu pohybu bičíku (Věžník a kol., 2004). Na povrchu osového vlákna probíhají téměř celým bičíkem (mimo koncovou část) hladké provazce, uspořádané na příčném řezu do vnějšího kruhu. Tyto hladké provazce mají podobu



devíti silných, plných podélných vláken, která v proximálním úseku bičíku mají segmentovaný charakter. Tvoří zde již výše uvedené segmentové provazce (Marvan, 2007).

Spojovací (mitochondriální) část bičíku se připojuje na krček spermie a na distálním konci ho ohraničuje Jensenův prstenec (Kliment, 1983).

Je nejsilnější, protože osově vlákno a hladké provazce obaluje mitochondriální pochva, mitochondriální membrána, vzniklá seskupením mitochondrií do souvislého, levotočivě spirálovitě probíhajícího vlákna. Mitochondriální pochva obsahuje ATP a enzymy, které jsou nezbytné pro pohyb spermie (Marvan, 2007). Je to respirační aparát spermie. Formuje se z různého počtu (65 až 90) mitochondrií. Mitochondrie spirály se liší od mitochondrií somatických buněk nejen tvarem, ale i ultrastrukturou. Vytváří se v nich mezimembránové prostory, okolo kterých se různě kondenzuje matrix. Poslední závit spirály je u Jensenova prstence, který má na podélných řezech tvar dvou rovnoramenných trojúhelníků (Kliment, 1983).

Hlavní část bičíku je nejdelší a je kryta fibrózní pochvou (Marvan, 2007). Jeho osu tvoří již zmíněná vlákna – fibrily (2 + 9 + 9). Tloušťka dvou centrálních vláken a 9 vláken vnitřního kruhu je přibližně pětkrát menší než tloušťka vláken vnějšího kruhu. Vlákna se postupně ztenčují a rozdíly v jejich síle se vyrovnávají (Kliment, 1983). Hladké provazce se postupně vytrácejí. Koncová (terminální) část bičíku má za základ jen osově vlákno (Marvan, 2007), neboť keratinoideální spirála - helix končí na hlavní části bičíku. Osově vlákno na konci bičíku ztrácí charakteristické uspořádání, může tu být rozpleteno na jednotlivé filamenty. Celý povrch spermie pokrývá souvislá dvouvrstevná cytoplazmatická membrána, citlivá na osmotické poměry (Kliment, 1983).

Spermie obsahují 20 až 25 % sušiny. Více než polovinu hmotnosti spermií tvoří bílkoviny. Dále obsahují volné aminokyseliny a nerozpustné proteinové složky membrány spermie. Tyto proteiny jsou rozlišitelné vysokým obsahem síry a podobají se keratinu. Minerální látky se podílejí až 2 % na hmotnosti spermie; jsou přítomny hlavně ve formě fosforečnanů, částečně i jako chloridy a sírany. Významnou složkou je fosfor, který je vázán na DNA a na plazmalogen. Síra je vázána na thioaminokyseliny. Spermie obsahuje sodík, draslík, vápník, železo, měď a zinek. Hořčík je obsažen ve formě fosfátu a sulfátů. Železo, měď a zinek jsou převážně vázány na spojovací oddíl bičíku. Železo se vyskytuje jako hematin, hlavně ve formě cytochromu, podílejíciho se na oxidačních procesech. Spermie obsahuje rovněž řadu enzymů, mezi které patří dehydrogenázy, hyaluronidáza, akrozin, adenzin trifosfatáza, hexokináza, acetylcholinesteráza, nukleáza, cytochromoxidáza a další. Hlavičku, krček a spojovací část bičíku pokrývá dvouvrstevná cytoplazmatická membrána, která je bohatá na

cystin, arginin a histidin. Je acidorezistentní a u živé spermie permeabilní. Je velmi citlivá na změny osmotického tlaku a lehce se porušuje již např. vypíráním spermií v roztoku NaCl. Tím jsou odkryty labilní enzymové systémy – akrozóm a mitochondriální spirála, s odumřením spermie vzrůstá permeabilita membrány. Tento jev je podkladem vyšetření na živé a mrtvé spermie. Zatímco živé spermie nepřijímají barvivo, mrtvé spermie se obarví např. eozinem (Kliment, 1983).

Fyziologické vlastnosti spermií jsou dány jejich morfológickou strukturou a cytochemickým složením, které podmiňují tři základní funkce spermií. Za prvé se spermie svým aktivním pohybem (ale i za pomoci děložních stahů) musí dostat na místo oplození vajíčka do horní třetiny vejcovodu. K tomu slouží pohybový orgán spermie – bičík a jeho spojovací část, která je motorem pohybu spermií. Druhým úkolem spermií je aktivně pronikat do oocytu II. řádu přes obaly – zonu pelucidu a coronu radiatu. K tomu slouží akrozóm spermií a v něm obsažené enzymy, zejména hyaluronidáza, akrozin a enzym podobný trypsinu. Třetí funkcí spermií je přenést dědičný otcovský materiál na potomka. Dědičným materiálem jsou chromozómy v rozptýlené formě, vázané na základní genetickou složku DNA a jež jsou obsaženy v jádru hlavičky spermie (Kliment, 1983).

Spermie přispívá do zygoty nejen otcovskými chromosomy, ale také centrozómem, perinukleární hmotou a pravděpodobně i messengerovou ribonukleovou kyselinou. Vyvolává aktivaci oocytu a tím i aktivaci mateřské hmoty, obsažené v ooplasmě (De Jonge and Barratt, 2006).

Pohyb spermie je umožněn bičíkem, který mu poskytuje pohybovou energii (De Jonge and Barratt, 2006). Bičík je spojen s hlavičkou krčkem. Spojovací oddíl bičíku je bohatý na proteiny, lipoproteidy a enzymy. Hlavní složku tvoří plazmalogen, obsahující molekulu mastné kyseliny, molekulu aldehydu mastné kyseliny a molekulu glycerylfosforylcholinu. Uvolněná mastná kyselina může být oxidována, a tak se stane endogenním substrátem, který umožňuje spermiím respiraci i pohyb po oddělení spermií od semenné plazmy a energetického zdroje (inositolu u kance). Spojovací oddíl bičíku obsahuje větší koncentraci lipidů a z nich velký podíl reprezentuje lipoproteid. Zde je také lokalizován cytochromatický systém, který je nejdůležitější pro respirační funkce spermií. Cytochemicky je zde možno prokazovat endogenní dehydrogenázy. Většina enzymů řídících aerobní a anaerobní metabolismus spermií je obsažena ve spojovacím oddílu a zvláštní výjimku tvoří právě hyaluronidáza, která je lokalizována v akrozómu. Osová vlákna bičíku, jejichž kontrakcemi je umožněn pohyb spermií, se skládají ze dvou druhů disulfidových polypeptidických řetězců. Řetězce o vysoké molekulární hmotnosti (42 000 až 72 000 daltonů) jsou bohaté na kyseliny

asparagovou, glutamovou a Lucin. Řetězce o nízké molekulární hmotnosti (28 až 31 000 Daltonů) jsou bohaté na cystin a prolin. Ve spojovacím oddílu je vyšší koncentrace lipidů, z nichž velký podíl reprezentuje lipoprotein. Zde je lokalizován cytochromatický systém, který je nejdůležitější pro respirační funkce spermií (Kliment, 1983). V procesu výměny látkové a dýchání spermií se uplatňuje také enzym indofenoloxidáza a cytochromoxidáza (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Pohyb spermií je vyvoláván kontrakcemi osových vláken bičíku, kinetické impulsy vycházejí z bazálních tělísek na krčku spermie a spermie ke svému pohybu potřebuje energetický zdroj (fruktózu, inositol, ergothionein apod.), který může získávat i ze svého prostředí, a dále enzymy (dehydrogenázy), které jsou lokalizovány ve spojovací části bičíku.

Spermie u domácích zvířat vykonávají rotující pohyby kolem podélné osy spermie. Za 1 s spermie provedou 3 až 15 otáček a fyziologický pohyb spermie směřuje progresivně vpřed za hlavičkou. Dříve převládal názor, že čím je pohyb rychlejší, tím kvalitnější jsou spermie. Po poznání procesu dekapacitace je však pro fertilizační schopnost spermií významnější časový interval, po který si spermie uchovávají svůj progresivní pohyb. Při velmi rychlém a intenzivním pohybu spermie rychle ztrácejí své enzymy a takové sperma musí být po odběru co nejrychleji uvedeno do anabiózy. Různými autory byla sledována rychlost pohybu spermií. Variace uvedených průměrných hodnot se pohybovaly až  $\pm 30\%$ . U kanců se uvádí schopnost spermií pohybovat se rychlostí 2,5 mm za 1 minutu. Při pohybu se odbourávají sacharidy (fruktolýzou, glykolýzou) a vytvářejí se kyselina pyrohroznová, kyselina mléčná a  $\text{CO}_2$ . Proces respirace probíhá pouze za přítomnosti kyslíku. Přitom dochází postupně k okyselení spermatu, poklesu hodnoty pH a k následnému zastavení pohybu spermií. Energie uvolňovaná při odbourávání fosforylovaných cukrů se kumuluje v makroenergetických vazbách adenzinotriposfátu (ATP). Pouze 40 % volné energie, která se může uvolnit při přeměně glukózy na kyselinu mléčnou, může být spermii využito. Při respiraci (dýchání) mohou spermie získat energetické zdroje za přítomnosti kyslíku přeměnou kyselin mléčné a pyrohroznové za vzniku  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  (exogenní dýchání). Ztráta energetických zdrojů je rychlá. Proto musí spermie využívat i sacharidy, kyselinu mléčnou a plazmalogen v uterinním prostředí, jinak by nemohly uskutečnit proces dekapacitace. Při biochemické neadekvátnosti uterinního prostředí (např. nízká hladina glukózy u vysokoužitkových plemenic v poporodním období) se podstatně snižuje doba přežitelnosti spermií v samičím pohlavním ústrojí (Kliment, 1983).

Během spermiogeneze, zrání a skladování v nadvarlatech musí spermie zůstat stabilní. Aby mohlo dojít ke spojení s oocytem, musí být v době oplození její cytoplazmatická membrána v

nestabilním stavu. Musí dojít k procesu, známému jako kapacitace spermií (Gadella and Harrison, 2002), skládajícího se z řady biochemických změn, při kterých spermie získají schopnost oplodnit oocyt. Kapacitace vyvolává změny ve struktuře cytoplazmatické membrány, vedoucí k její větší tekutosti a propustnosti (Vadnais and Althouse, 2011). Tento přípravný proces membránové destabilizace spermie musí proběhnout v pohlavních cestách prasnice před jejím setkáním s oocyt. (Gadella and Harrison, 2002).

### **3.2.2. Semenná plazma**

Semennou plazmu tvoří sekrety, produkované přídatnými pohlavními žlázami. U kance jsou to měchýřkovité žlázy, prostata a bulbouretrální (Cowperovy) žlázy. Při ejakulaci se tyto sekrety smísí se spermatem, tekutinou nadvarlete, chámovodu, močové trubice, a tak vytvoří semeno (Reece, 1998; Marvan, 2007).

Tvorba semenné plazmy v přídatných pohlavních žlázách není plynulá, tvoří se a uvolňuje reflektoricky ve chvíli odběru spermatu. Semenná plazma je za fyziologických podmínek vhodným prostředím pro život spermií, energetickým zdrojem pro aktivní pohyb spermií, má pufrovací schopnost a vyrovnává a udržuje chemickou reakci ve slabě kyselých hranicích. Semenná plazma dále ochraňuje spermie, udržuje jejich tvar, rozptýlenost a vnitřní napětí, odebírá zplodiny látkového metabolismu. Sekrety semenných váčků u kanců podporují depresivní účinek mimonadvarletních složek semenné plazmy na motilitu spermií (Kliment, 1983).

U kance se semenná plazma podílí na objemu ejakulátu až 98 %. Z chemických látek, které obsahuje semenná plazma, je v metabolismu spermatu nutno věnovat pozornost vysokému obsahu cholinu (volnému i vázanému), jenž v převážné míře tvoří u domácích zvířat glycerylfosforylcholin, který pochází většinou z nadvarletní sekrece (Kliment, 1983).

Semenná plazma obsahuje také látky, které působí i na organismus samičí a tím i na zlepšení procesu oplození (prostaglandiny aj.). Z biologicky aktivních látek se v semenné plazmě vyskytují i estrogény a androgeny. V semenné plazmě byla prokázána i řada antigenů, z nichž některé se váží na povrch spermie při styku semenné plazmy se spermii. Antigenní vlastnosti byly však zjištěny i u spermií samotných (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Bílkoviny jako koloidy přispívají k udržení osmotického tlaku v chámu, dodávají ochranu spermii proti nepříznivé činnosti elektrolytů semenné plazmy, dále se jako pufrů účastní stabilizace pH semene. Specifická hmotnost semene závisí převážně na koncentraci bílkovin semenné plazmy. Čím vyšší je tato specifická hmotnost, tím lepší je pohyblivost a

dlouhověkost spermií. Změny v bílkovinách semenné plazmy plemeníků s nízkou plodností jsou výrazem humorální reakce organismu. Zvýšená koncentrace bílkovin bývá v souvislosti funkčními poruchami a se záněty prostaty. Elektroforeticky lze rozlišit 11 frakcí, z nichž tři, které tvoří většinu, odpovídají sérovým alfa globulinům. Když dojde k vzestupu albuminu nad 3 %, dochází ke snížení schopnosti oplození. Je známo, že přítomnost albuminu v ředidlech, zejména z nepasterizovaného mléka, působí nepříznivě na vitalitu spermií (Kliment, 1983).

Sekret nadvarlat má poměrně vysokou koncentraci vodíkových iontů (pH 5,6 až 6,6), draslíku a oxidu uhličitého, ale nízkou koncentraci iontů chlóru, sodíku a dalších. Tato skutečnost a nižší teplota v nadvarletí udržují u spermií stav anabiózy, takže si spermie uchovávají oplozovací schopnost i déle než jeden měsíc. Sekret obsahuje asi 1 až 2 % převážně nízkomolekulárních bílkovin a relativně vysoký obsah nebílkovinného dusíku a volných aminokyselin (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Sekret uretrálních žláz se vyznačuje vysokým pH (až kolem 8,0). Často bývá kontaminován i sekrety Cowperových žláz, prostaty nebo sekrety jiných částí pohlavního ústrojí, což ztěžuje přesné určení jejich chemického složení. Proto se také uvádí chemické složení předpermiové frakce, kde tvoří její nejpodstatnější složky (Gamčík a Kozumplík, 1984). Glykoproteiny sekretované bulbouretrálními žlázami se účastní ochrany a lubrikace močové roury, mohou se podílet při regulaci metabolické aktivity spermií a při zachování strukturální integrity akrozomové a cytoplazmatické membrány (Badia et al., 2005). Skupina těchto glykoproteidů se váže na homologické proteiny zony pellucidy. Jsou také spojovány s hemaglutinační aktivitou kančí semenné plazmy a předpokládá se, že hrají roly v regulaci rychlosti kapacitace spermií a jejich přežívání v reprodukčních orgánech prasnice (Parry et al., 1992).

Cowperovy žlázy produkují sekret, který má  $H^+$  kolem 7,5 log molc, je hustý a mléčně zkalený, má bílkovinný charakter a ve styku se sekretem ostatních přídatných žláz vytváří želatinové hrudky, které ucpávají děložní krček prasnice a zamezují zpětnému výtoku semene. Sekret obsahuje N, Na, K, Ca a P (Kliment, 1983).

Prostata produkuje sekret, který obsahuje kyselou fosfatázu, volné aminokyseliny, mucinázu, transaminázu, fibrinogen aj. Je také zdrojem přítomnosti adrenalinu, prostaglandinu a vázogglandinu v semenu, které ovlivňují děložní kontrakce. Z iontů obsahuje Na, K, Ca a hlavně vysoký podíl Zn (Kliment, 1983). Hodnota pH sekretu prostaty je u kance 7,0 až 8,0. Obsahuje kyselinu citrónovou 1,98 nmol/l. Sekret prostaty se podílí na celkovém objemu ejakulátu asi 30 % (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Sekret měchýřkovitých žláz je bohatý na bílkoviny, kterých obsahuje asi 10 %. Obsahuje také flaviny (0,47 až 7,50 mg/l), které podmiňují i silnou fluorescenci v ultrafialovém světle. U kance tvoří 10 až 30 % celkového objemu ejakulátu. pH sekretu kolísá v rozmezí od pH 6,7 do 7,4. V poměrně velkém množství jsou v sekretu zastoupeny sacharidy, jež slouží spermii v ejakulátu jako hlavní zdroj energie. Hladina fruktózy v měchýřkovitých žlázách závisí na hormonální aktivitě varlat. Toho se využívá k nepřímému hodnocení androgenní aktivity jedinců, nejčastěji však ve spojení s jinými testy (např. hladiny kyseliny citrónové nebo kyselých fosfatázy). Úloha kyseliny askorbové (vitamínu C) není dosud jednoznačně objasněna, výše její hladiny je dávana spíše do souvislosti s potenci než s plodností. Kyselina citrónová je zastoupena v poměrně vysoké koncentraci. Vyskytuje se však také v sekretu prostaty a dalších úseků pohlavních orgánů. Uplatňuje se zejména při procesech spojených s koagulací ejakulátu některých samců a částečně je také spermii metabolizována. Její funkce je v souvislosti se schopností vazby vápníku se semennou plazmou. Má i vliv na udržení osmotické rovnováhy ve spermatu, a to ve spojení s ionty Na a K. Tvorba a sekrece kyseliny citrónové se děje hlavně pod vlivem testosteronu, avšak vztah mezi hladinou kyseliny citrónové a plodností nebyl potvrzen. Inozitol je charakteristický pro sekret měchýřkovitých žláz kance. Hladina zjištěná v tomto sekretu je nejvyšší, jaká kdy byla v přírodě na stejný objem látky stanovena. V ejakulátu kance slouží pravděpodobně k udržení osmotického tlaku, protože je zde velmi málo chloridu sodného (Gamčík a Kozumplík, 1984). Nachází se zde ve volné formě a nahrazuje fruktózu jako hlavní energetický zdroj pro aktivní pohyb spermii (Kliment, 1983). Ergotionein velmi účinně chrání spermie proti paralyzujícímu vlivu těžkých kovů. V sekretu měchýřkovitých žláz byly zjištěny i četné anorganické látky: draslík 43,49 - 63,95 nmol/l, sodík 26,10 - 34,8 nmol/l, vápník 1,99 - 3,49 nmol/l, chlor 3,39 nmol/l, hořčík 4,11 nmol/l (Gamčík a Kozumplík, 1984).

### **3.3. Odběr, hodnocení a zpracování kančího spermatu**

#### **3.3.1. Odběr spermatu**

Cílem odběru spermatu je získání čistého ejakulátu, zachyceného v jeho celém objemu, neporušení životnosti, morfologie a plodnosti spermii, zabránění škodlivého vlivu na zdravotní stav a plodnost kance a zabránění rozšiřování pohlavních nákaz (Kliment, 1983; Gamčík a Kozumplík, 1984).

Manuální odběr semene je nejobvyklejší metoda odběru kančího spermatu, kdy je odběr prováděn tlakem na penis, vyvinutý prsty ruky v rukavicích z nespermicidního materiálu (Youngquist and Threlfall, 2007).

Ejakulace u kance probíhá v několika frakcích. Začíná několika odstříky předpermiové frakce, která je průsvitná a snadno rozeznatelná, obsahuje větší množství mikrobů a je chudá na spermie. Proto ji pro účely umělé inseminace neodebíráme. Následující na spermie bohaté i chudé frakce odebíráme, přičemž gelovou frakci filtrujeme přes filtr nebo gázu na odběrové nádobce. Další hustá, mléčně bělavá neprůhledná tekutina je nazývána spermiovou frakcí. Tato je následována post-spermiovou frakcí, vzhledově podobnou předpermiové frakci, ale je méně průsvitná s větší koncentrací spermií, šedě bílé barvy (Gamčík a Kozumplík, 1984; Hafez and Hafez, 2000; Youngquist and Threlfall, 2007).

### **3.3.2. Hodnocení spermatu**

Je velmi důležité dokázat předpovědět oplozovací schopnost kančího ejakulátu před jeho použitím v inseminaci (Bonet et al., 2012). Nejpřesnější hodnocení plodnosti kanců je podle procenta zabřeznutí a počtu živě narozených selat. Ačkoliv kančí sperma může splňovat několik kritérií, odpovídajících vysoké kvalitě, jeho oplozovací potenciál nemusí být optimální. Hledání jednoduchých in vitro parametrů, předpovídajících kančí plodnost stále pokračuje (Hafez and Hafez, 2000).

Dobrá kvalita kančího spermatu je základem pro uspokojujivé výsledky v reprodukci prasat. Podle nejnovějších studií se běžně posuzuje každý odebraný ejakulát (Youngquist and Threlfall, 2007). Standardní metoda hodnocení plodnosti plemenných kanců, kromě přímého posuzování jejich schopnosti oplodňovat, je vyšetřování jejich spermatu. Diagnostická analýza kančího spermatu zahrnuje získání maxima informací o fyziologickém stavu testikulárních a epididymálních funkcí vyšetřováním jednoho nebo více ejakulátů (Hafez and Hafez, 2000). Základními parametry při vyšetřování spermatu je hodnocení motility spermií, životaschopnosti a morfologie (Banas et al., 2006). Z fyziologického hlediska existuje více podmínek nutných k tomu, aby spermie oplodnila oocyt (Youngquist and Threlfall, 2007). Ejakulát kanců je přirozeně heterogenní, ne všechny spermie splňují veškeré tyto podmínky, potřebné pro oplodnění a zahájení časného vývoje embrya (Rodriguez-Martinez, 2001). K těmto podmínkám patří zejména progresivní motilita, přijatelná morfologie, schopnost projít kapacitací (např. modifikace cytoplazmatické membrány), schopnost proběhnoutí akrozomové reakce (např. vezikulace, exocytóza), schopnost penetrovat cumulus investments, schopnost

navázat se a penetrovat zonu pellucidu, fúze cytopazmatické membrány spermie a ovocytu (Youngquist and Threlfall, 2007).

Při posuzování jednotlivých rysů spermií či ejakulátu jsou ve vztahu k určité míře plodnosti pokládány za nejdůležitější vzory motility spermií, složení semenné plazmy, membránová a akrozomová integrita, stupeň stability chromatinu a množství obsažených nekapacitovaných spermií (Rodriguez-Martinez, 2001). Předpovědní hodnota jednotlivých semenných parametrů na zabřeznutí a plodnost je velmi malá. Na druhou stranu předpovědní hodnota určitých sdružení různých semenných parametrů je významná (Vyt et al., 2008). Protože tyto semenné vlastnosti působí komplexně, je jasné, že ideálně by stanovení kvality spermatu mělo obsahovat testy na všechny tyto jednotlivé atributy. Bohužel praktický a jednoduchý in vitro test, prováděný před zpracováním spermatu, který by byl schopen určit jeho kvalitu (např. oplozovací potenciál), je ještě stále ve vývoji. Několik in vitro testů je již dostupných, avšak vyšetřují pouze jednotlivé vlastnosti spermií nezbytné pro přirozené oplození. Ačkoliv jednotlivě mají tyto testy omezenou použitelnost při určení oplozovacího potenciálu, dohromady mají schopnost určit zjevně slabou kvalitu spermatu (Youngquist and Threlfall, 2007).

Standardní test hodnocení kančího semene zahrnuje zběžné vyšetření barvy a pachu, podrobnější analýzu motility spermií, morfologii spermií, koncentraci spermií, objem a celkový počet spermií (Youngquist and Threlfall, 2007). V některých případech však tyto parametry nemusí být dostatečně přesné k odhalení změněných a nefunkčních spermií v ejakulátu, které mohou přinést nižší reprodukční výkonnost. Správné posouzení funkcí kančích spermií může vyžadovat nejen jeho konvenční analýzy, ale i další, zaměřené na molekulární markery zrání v nadvarlotech (Bonet et al., 2012).

Veškeré vzorky pro hodnocení spermatu odebíráme suchými a sterilními pomůckami do 15 minut po odběru, teplota spermatu nesmí klesnout pod 30 °C. Barvu, pach a konzistenci hodnotíme smyslově, cizí příměsi smyslově i mikroskopicky (ČSN 467114, 1996).

### **3.3.2.1. Makroskopické vyšetření spermatu**

Po odběru by měla být u ejakulátu vizuálně posouzena barva (Youngquist and Threlfall, 2007). Ta musí být mléčně bílá až šedobílá (ČSN 467114, 1996). Pokud u ejakulátu pozorujeme abnormální barvu (např. hnědou, žlutou, červenou), předpokládáme jeho znečištění. Poněvadž mnohá z těchto znečištění vykazují spermicidní aktivitu, musí být tyto ejakuláty vyřazeny (Youngquist and Threlfall, 2007). Kančí sperma nesmí obsahovat cizí



příměsí jako krev, moč, hnis, tekutinu prepuciálního vaku a jiné nečistoty (ČSN 467114, 1996).

Konzistence ejakulátu závisí na koncentraci spermií. Většinou bývá konzistence mléčná, velmi husté ejakuláty mají konzistenci smetanovitou a řídké ejakuláty zcela vodnatou (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Stanovení objemu spermatu je jeho základní a nejsnadnější vyšetření (Věžník a kol., 2004). Obecně minimální objem pravděpodobně plodného kančího spermatu by měl být nejméně 60 až 75 ml (Hafez and Hafez, 2000). Objem spermatu se mění s věkem kance a u dospělého jedince nesmí být jeho filtrovaný podíl menší než 100 ml (ČSN 467114, 1996; Věžník a kol., 2004), u mladých kanců do věku 12 měsíců nesmí být menší než 80 ml (ČSN 467114, 1996). Stanovuje se pouze objem z frakcí určených k použití. Objem se měří v kalibrovaných odměrných nádobách nebo vážením netto hmotnosti ejakulátu (Věžník a kol., 2004) s přesností  $\pm 10$  ml nebo  $\pm 10$  g (ČSN 467114, 1996).

Kančí ejakulát musí být bez zápachu (ČSN 467114, 1996), případně má mít nevýrazný nebo slabě specifický pach. Ostře páchnoucí ejakulát bývá většinou znečištěn močí nebo sekretem prepuciálního váčku. Hnilobný pach ukazuje na zánětlivé procesy pohlavních orgánů (Gamčík a Kozumplík, 1984).

### **3.3.2.2. Mikroskopické vyšetření spermatu**

Na velikost vrhu a počet živě narozených selat má významný pozitivní vliv procento pohyblivých spermií. Přesné vyhodnocení motility inseminační dávky je proto důležité pro odhad plodnosti (Vyt et al., 2008). Hodnocení pohyblivosti spermií se provádí u čerstvého i naředěného spermatu. Hodnocení čerstvého spermatu je ukazatelem výkonnosti spermií ve vlastním roztoku pohlavních žláz.

Procento pohyblivých spermií obvykle zjišťujeme pomocí mikroskopické analýzy světelným mikroskopem se zabudovanou nahřívací destičkou a optikou s fázovým kontrastem (Hafez and Hafez, 2000). Přesnost tohoto subjektivního hodnocení vysoce závisí na přípravě vzorku, kvalitě mikroskopu, zkušenosti a přirozených schopnostech posuzovatele. K minimalizaci dopadů lidských omylů by měla být příprava vzorků a mikroskopické vyšetření standardizováno. Nejčastější technikou je kápnutí 7 až 10  $\mu$ l vzorku semene na mikroskopické sklíčko vyhřáté na 37 °C a překrytí krycím sklíčkem. Při prohlížení pod mikroskopem se má vzorek ukázat jako jednovrstevná vrstva buněk, ve které je snadno rozeznatelný pohyb jednotlivých spermií. V některých případech může být čisté sperma příliš koncentrované na to, aby mohlo být posouzeno bez prvotního naředění vzorku stejně velkou kapkou

izotermního ředidla před přikrytím krycím sklíčkem. Pohyblivost spermií se odhaduje na nejbližších 5 %, podle zobrazení aktivity na alespoň čtyřech různých polích na sklíčku při 200 nebo 400 násobném zvětšení. Z těchto měření se potom bere průměr pro získání konečného odhadu motility (Youngquist and Threlfall, 2007).

Parametry motility zahrnují procento pohyblivých spermií, procento spermií s progresivním pohybem, rychlost spermií (založené na libovolném měřítku od 0 (bez pohybu) do 4 (rychlé), dlouhověkost pohyblivosti spermií čerstvého spermatu (při pokojové teplotě 20 až 25 °C), a dlouhověkost pohyblivosti spermií naředěného spermatu při pokojové teplotě nebo při teplotě 4 až 6 °C. Obecně se za pravděpodobně plodné kančí sperma považuje sperma s motilitou minimálně 65 % (Hafez and Hafez, 2000). Pohyblivost a životaschopnost spermií obvykle klesá během skladování, proto má ejakulát vykazovat alespoň 70 až 80 % hrubé motility, aby byl považován za vhodný k dalšímu zpracování (Youngquist and Threlfall, 2007), podle ČSN musí obsahovat alespoň 70 % aktivních spermií (ČSN 467114, 1996). Minimální doporučené ukazatele kvality čerstvě odebraného kančího semene zpracovávaného a použitého pro umělou inseminaci jsou hrubá motilita nenaředěného spermatu  $\geq 70$  % pro použití do 48 hodin a  $\geq 80$  % pro použití nad 72 hodin (Youngquist and Threlfall, 2007).

Jsou popisovány různé typy motility. Nejběžnějším typem motility spermií v ředěném spermatu je dlouhý polooblouk. Ředidlo může lehce změnit motilitu, obvykle zvýšením rychlosti. Po prvotním naředění může vysoké procento spermií ukázat kruhový vzor pohybu, jež se obvykle rozptýlí po 5 až 10 minutách po naředění. Pokud je mezi podložním a krycím sklíčkem příliš mnoho tekutiny, objevuje se reflexní světélkování spermií jako následek jejich spirálního, převráceného pohybu vpřed. V případě malého množství tekutiny spermie předvádí pohyb ve dvourozměrném vzoru. Hyperaktivní spermie reagují tvorbou X-tvaru. Pokud spermie plavou v těsném kruhovém pohybu, znamená to, že byly vystaveny chladovému šoku. Kmitavý pohyb může být definován jako stárnoucí či vysychající spermie. U neplodných kanců nebo u kanců s malou plodností je často zjišťován vibrační pohyb, kruhový, šikmý, bez progrese, mnohdy asymetrický nebo chaotický, časté jsou aglutinace spermií, minimální či žádný pohyb. Je vyvíjeno několik postupů pro objektivní, nestranné posuzování motility spermií. Časoběrné fotomikrografy umožňující vizualizaci dráhy spermií, rámeček po rámečku přehrávané videomikrografy, průtokové cytometry, které mohou detekovat viditelné spermie založené na zaslepení fluorescenčními barvivy, spektrofotometry a počítačové analýzy (Hafez and Hafez, 2000).

Analýza CASA (Computer asisted semen analysis) je poloautomatická počítačová metoda pro hodnocení morfologie a motility spermií. Používá se zejména k rozlišení pohyblivých a nepohyblivých spermií a k analýze dráhy jednotlivých spermií. Při analýze pohyblivosti spermií jsou stanoveny tyto ukazatele: VCL (curvilinear velocity) – rychlost hlavičky na skutečné dráze, VAP (average-path velocity) – rychlost hlavičky na napřímené dráze, VSL (straight-line velocity) – rychlost hlavičky na přímé dráze mezi počátečním a konečným bodem měření, ALH (amplitude of laterál head displacemant) – maximální šířka oscilace hlavičky, LIN (linearity) – linearita skutečné dráhy, WOB (wobble) – stupeň oscilace skutečné dráhy, STR (straightness) – přímot napřímené dráhy, BCF (beat cross frequency) – kolikrát je skutečná dráha překřížena napřímenou dráhou. Je to velmi přesná metoda k určení pohybových charakteristik spermií, vyžadující správné a přesné nastavení, přípravu vzorků a vyhodnocení výsledků (Věžník a kol., 2000). Systémy pro počítačovou analýzu spermatu jsou používány v referenčních laboratořích jako objektivního způsobu hodnocení pohybu spermií. Automatické systémy jsou přesné, ale jejich relativně vysoká cena limituje jejich běžné využití v komerčních laboratořích (Hafez and Hafez, 2000).

Dalším krokem při hodnocení ejakulátu je stanovení koncentrace spermií. Nejběžnější metodou při stanovení koncentrace spermií ve filtrovaném kančím spermatu je měření stupně průhlednosti vzorku pomocí fotometru. Průsvitnost kančího spermatu závisí na počtu buněk spermií a dalších komponentů semenné plazmy, jež zasahují do průniku světla vzorkem. Běžně je kančí sperma příliš neprůhledné pro snadný průchod světla. Proto malý vzorek kančího spermatu před vlastním měřením naředíme na izotonický roztok (Youngquist and Threlfall, 2007). Roztok používaný k ředění ejakulátu je 2,9 % citrát sodný a 5 ml 10 % formalínu na litr. Standardní křivka měření koncentrace oproti 0,5 % zvýšení propustnosti světla dává potřebný rozsah pro měření koncentrace. Avšak fotometry v kontaminovaném spermatu nejsou přesné a přidání zakaleného ředidla před stanovením koncentrace může zkreslit výsledky (Hafez and Hafez, 2000). Aby bylo fotometrické měření relativně přesné, je nezbytné, aby kalibrace přístroje byla druhově specifická. Navíc kvůli vlastním rozdílům mezi fotometry by převodní tabulky neměly být vyměňovány mezi jednotlivými přístroji. K nepřesnostem při fotometrickém měření může dojít, pokud hodnoty spadají mimo pracovní rozsah přístroje, nebo vinou lidského omylu (např. nesprávné ředění, nesprávné zahřívání, chybná manipulace, opožděné čtení). Měla by být přesně dodržována doporučení výrobce (Youngquist and Threlfall, 2007).

Koncentrace spermií kančího spermatu může být stanovena také pomocí ředících přístrojů a sčítací komory, hemocytometru, ačkoliv to není příliš obvyklé (Youngquist and Threlfall, 2007). Hemocytometr je mikroskopické sklíčko s přesně narýsovanými komůrkami. Počet spermií v komůrce je manuálně počítán. Je to metoda velmi náročná na čas, ale velmi přesná (Hafez and Hafez, 2000). Část čistého spermatu je nejprve naředěna 1 : 200 pomocí spermie znehybňujícího isotonického roztoku. Touto směsí je potom naplněna každá komora hemocytometru. Po pěti minutách, kdy necháme spermie usadit na povrchu mřížky, hemocytometr umístíme pod mikroskop a při 200 až 400 násobném zvětšení počítáme spermie. Počítáme minimálně 5 velkých (80 malých) čtverců ve středu (RBC) mřížky hemocytometru. Pouze hlavičky spermií (ne bičíky) dotýkající se horního a levého okraje velkého čtverce se započítávají do součtu, hlavičky dotýkající se spodního a pravého okraje se nepočítají. Ze dvou součtů se udělá průměr, pokud jsou od sebe v rozmezí 10 %. Pokud se liší více než 10 %, výpočty se zruší a hemocytometr se připraví k dalšímu počítání na dvou stranách, dokud se výsledky neliší méně než 10 %. Toto číslo je vloženo do vzorce dodaného prodejcem hemocytometru při ředění 1 : 200 k určení počtu buněk spermií v jednom mililitru semene (Youngquist and Threlfall, 2007).

Koncentraci spermií stanovujeme u každého spermatu, v české republice se provádí fotometricky, výjimečně spenziidenzimetrem podle Karase. Správnost výpočtu fotometrem kontrolujeme pomocí Bürkerovy komůrky minimálně 1 x za půl roku, spenziidenzimetrem alespoň 1 x za čtvrt roku. Koncentrace spermií nesmí být nižší než 150 000 v 1 mm<sup>3</sup> (ČSN 467114, 1996). Obecně se za pravděpodobně plodné kančí sperma považuje sperma s koncentrací alespoň 100 miliónů spermií na 1 ml (Hafez and Hafez, 2000).

Čas potřebný pro počítání hemocytometrem v kombinaci se zdlouhavostí práce jej činí nepraktickým pro většinu laboratoří. Fotometrická analýza zůstává nejběžnější metodou pro určování koncentrace spermií v mililitru filtrovaného spermatu (Youngquist and Threlfall, 2007).

Koncentrace spermií je dále užívána k určení celkového množství spermií v ejakulátu. Celkové množství spermií se vypočítá násobením celkového objemu filtrovaného ejakulátu koncentrací spermií. Objem ejakulátu se obvykle určuje hmotností ejakulátu za předpokladu, že 1 g odpovídá 1 ml (Youngquist and Threlfall, 2007). Přesně stanovený počet spermií a objem ejakulátu určuje, kolik prasnic může být inseminováno (Hafez and Hafez, 2000).

Jakmile je určena pohyblivost spermií, měla by být vyhodnocena jejich morfologie (Youngquist and Threlfall, 2007). Varlata kanců vytváří denně až 35 miliard spermií, ze

kterých je množství spermií, které nejsou normálně vyvinuté (Věžník a kol., 2004). Každý vzorek spermatu obsahuje nějaké abnormální spermie. Morfologické abnormality spermií mají největší vztah k plodnosti hospodářských zvířat. Procento spermií s neporušenou akrozomální membránou je považováno za důležitý parametr kvality spermatu. Pravděpodobně plodné kančí sperma by mělo obsahovat méně než 20 % morfologických abnormalit (Hafez and Hafez, 2000). Podle normy musí kančí sperma obsahovat maximálně 25 % morfologicky abnormálních spermií, včetně protoplazmatických kapének (ČSN 467114, 1996).

Při vyšetřování kvality spermatu je velmi důležité určit druh a původ nefunkčních a abnormálních spermií, což nám umožní porozumět etiologii abnormálních forem a následně určit správnou terapii potřebnou k jejich uzdravení. V závislosti na původu mohou být změny primární, ke kterým dochází ve varlatech v průběhu spermatogeneze, nebo sekundární, vznikající v průběhu dozrávání v nadvarlatech, nebo terciární, ke kterým dochází během manipulace se spermatem (Bonet et al., 2012).

K primárním abnormalitám hlavičky řadíme například tvarové abnormality, velké hlavičky a krysty, teratoidní formy, perzistující akroblast, k primárním abnormalitám bičíku patří abnormality spojovací části, narušená mitochondriální spirála, primární stočení bičíku, axiální uložení bičíku, zdvojení bičíku. K sekundárním abnormalitám hlavičky počítáme zbobtnalý akrozom, svlékající se akrozom, svlečený akrozom, vakuoly, k sekundárním abnormalitám bičíku například zahnutý bičík. Někdy rozlišujeme morfologické abnormality spermií na vývojové a získané. Za získané pak považujeme takové, které mohly vzniknout až po definitivním ukončení morfologického vývoje spermií. Někdy mohou ale vzniknout také v průběhu dozrávání a uskladnění ve vývodných pohlavních cestách.

Tabulka č. 1 uvádí četnost výskytu některých vývojových a získaných abnormalit spermií u kanců (Věžník a kol., 2004).

V chovech prasat se používá dvou způsobů – mokré a suché přípravy vzorku pro objektivní kvantifikaci morfologických abnormalit spermií. Při mokré přípravě se spermie znehybní pomocí pufrovaného formaldehydu nebo roztokem glutaraldehydu. Vzorky jsou dále vyšetřovány pod mikroskopem, jenž jim poskytne jejich vlastní vnitřní kontrast (např. fázový kontrast). Různé kontrastní látky jsou používány pro suchou přípravu vzorků. Řádný kontrast zvýrazní obrys spermie, čímž umožní snadnější vizualizaci a identifikaci normálních a abnormálních spermií pod světlem mikroskopu. Na přípravu barvených kontrastních vzorků kápneme vedle sebe na podložní skličko stejné množství (např. 7 až 10  $\mu$ l) barviva a vzorku.

**Tab. č. 1: Četnosti výskytu některých vývojových (v) a získaných (z) vad spermií kanců:**

Vada		četnost v %	Vada		četnost v %
zbožtnání akrozomu	z	11,39	zdvojená hlavička	v	0,17
rezidua cytoplazmy v oblasti krčku	v	3,71	kondenzace akrozomu	v	0,16
ohnutí bičíku	z	2,02	vakuolizace akrozomu	z	0,11
změněná báze hlavičky	v	1,37	svinutí bičíku	z	0,11
hlavička zúžená, prodloužená	v	1,18	zdvojení bičíku	v	0,07
mikrocefalie	v	0,74	rozvolnění mitochondriální spirály	v	0,06
hlavička hruškovitá(piriformní)	v	0,60	nejasný ekvatoriální segment	z	0,04
makrocefalie	v	0,56	spojovací část zúžená	v	0,04
primární svinutí bičíku-Dag efekt	v	0,50	zalomení bičíku	z	0,04
bez akrozomu	z	0,44	hlavička teratoidní(amorfní)	v	0,02
abnormální postavení inzerce bičíku	v	0,36	rozvolnění vazby v implantační rýze	v	0,01
spojovací část ztlustělá	v	0,30	vývrtkovitý tvar spojovací části	v	0,01
perzistující akroblast	v	0,19	pseudokapénka	v	0,01
uvolnění akrozomu	z	0,18	ageneze bičíku-hypogeneze	v	0,01

Obě kapky jemně promícháme pomocí okraje druhého sklíčka. Po promíchání smíchaný vzorek tímto okrajem rozetřeme do tenké vrstvy, kterou necháme na vzduchu uschnout. Pod olejovým překrytím pak posuzujeme morfologii spermií. Při mokré i suché technice by mělo být morfologicky posouzeno a zařazeno minimálně 100 spermií (Youngquist and Threlfall, 2007).

Světelné mikroskopy dovolují omezené zvětšení, a proto limitují hodnocení morfologie spermií. Jemné abnormalita ve struktuře spermií mohou být detekovány snímáním nebo přenosem elektronovým mikroskopem. Ačkoliv jsou nákladné, obě tyto mikroskopické metody nabízí vysoké rozlišení detailů dovolující bližší vyšetření morfologie spermií. Trojrozměrné zobrazení celé spermie pozorované snímáním nebo přenosem elektronovým mikroskopem dovolují zobrazení průřezu spermií odhalující detailně její ultrastrukturu (Hafez and Hafez, 2000).

Nedávno byl představen počítačově automatizovaný systém semenné analýzy specifický pro chov prasat. Kromě provedení posouzení motility a koncentrace spermií, tento systém přichází se softwarem na posouzení morfologie spermií. S pomocí technika má tento počítačový systém schopnost hodnotit ejakulát, počítat celkový počet spermií a určit množství ředidla k přidání do ejakulátu k dosažení požadovaného množství spermií v jedné dávce. Díky jejich rychlosti při posuzování semene a vzrůstající přesnosti oproti stávajícím metodám již několik velkých chovů zavedlo tento systém do provozu (Youngquist and Threlfall, 2007).

Bylo vyvinuto několik dalších testů pro posuzování kvality kančího spermatu, například různé spermio-aglutinační testy, hypo-osmotický test, test osmotické rezistence, vybrané biochemické testy spermií a semenné plazmy a fluoroformní testy. Tyto testy mohou posoudit faktory spojené se spermií či ejakulátem jinak než získané při běžném posuzování motility, morfologie a koncentrace spermií. Kvůli časové zdlouhavosti a nákladům spojeným s prováděním těchto zkoušek, je jejich běžné používání v provozní praxi limitováno (Youngquist and Threlfall, 2007).

Osmotická rezistence spermií je důležitý test, který hodnotí osmotickou odolnost spermií vystavením samčích gamet osmotickému šoku s následným hodnocením jejich odolnosti k narušení plasmalemy spermií související s akrozomální integritou (Bonet et al., 2012).

Výsledky testů osmotické rezistence spermií jsou v užší korelaci s plodností a počtem narozených selat než výsledky klasických vyšetření (Yeste et al. 2010).

Test struktury chromatinu spermie (SCSA) jsou průtokové cytometrické postupy, vyvinuté pro hodnocení strukturální integrity spermiového chromatinu měřením poměrné části dvouvláknové i jednovláknové DNA v populacích spermií. SCSA může být užitečný při určení některých forem neplodnosti. SCSA značně urychluje vyšetřování, během několika minut dokáže zobrazit 5 000 až 10 000 spermií (Hafez and Hafez, 2000).

Nové fluorescenční metody byly zkoumány na hodnocení jejich spolehlivosti při funkčních testech spermií pomocí mikroskopu nebo průtočného cytometru. Tyto testy se mohou stát velmi hodnotnými doplňkovými testy kvůli jejich schopnosti poskytovat detailní informace o specifických funkcích spermií, jako je akrozomální integrita, integrita cytoplazmatické membrány a potenciál mitochondriální membrány (Hafez and Hafez, 2000).

Jednoduchou cytochemickou metodou je možno ve spojovacím oddílu bičičku prokazovat přítomnost endogenních dehydrogenáz, které se jeví jako tmavá výrazná granula, pravidelně uspořádaná v průběhu spojovacího oddílu bičičku. S postupujícím pohybem ztrácejí spermie tyto enzymy a po jejich úplné ztrátě je spermii znemožněn její aktivní pohyb. K průkazu těchto endogenních dehydrogenáz se používá tetrazoliová sůl Nitro BT (Kliment, 1983).

Další metodou zkoumání kvality spermatu je test protilátek vytvářených proti spermiím. K tvorbě těchto protilátek může docházet při imunitní odpovědi vyvolané odchodem spermií (nebo jejich haploidních předchůdců) z adluminálního oddělení semenných tubulů, imunologicky privilegovaného místa, obcházejícího imunologické útoky, v němž je dokončováno zrání spermií. Urychlujícími faktory pro tento imunologický útok mohou být tržné rány, biopsie, nádory, poranění a degenerativní změny varlat. Protilátky proti spermiím

narušují oplozovací proces, ale specifické mechanismy jejich činnosti jsou stále nevyřešeny (Hafez and Hafez, 2000).

Byly také nalezeny další markery, které mohou pomoci s přesnějším vyhodnocením funkcí a přežitelnosti spermií. Tyto markery se vztahují ke změnám, vyvolaným vadnou spermatogenezí, zráním v nadvarleti nebo manipulací se spermatem (Bonet et al., 2012).

Biochemická analýza semenné plazmy, zahrnující například stanovení koncentrace elektrolytů, koncentrace bílkovin nebo specifického složení bílkovin semenné plazmy neposkytuje dobré informace pro předpověď motility konzervovaného spermatu (Hafez and Hafez, 2000).

### **3.3.3. Zpracování spermatu**

Zpracování spermatu začíná jeho ředěním a konzervací. Úkolem konzervace je co nejvíce prodloužit vitalitu spermií a zároveň zachovat jejich oplozovací schopnost. Uchování vitality a oplozovací schopnosti spermií je možné pouze ve stavu anabiózy. Při anabióze jsou silně utlumeny všechny životní pochody, zejména metabolismus a pohyblivost. Odstraní-li se podmínky, vyvolávající stav anabiózy, obnoví se životní pochody v plném rozsahu (Gamčík a Kozumplík, 1984).

Mezi základní důvody ředění spermatu řadíme zvětšení jeho objemu. K dalším důvodům patří pufrovací schopnost ředidla, udržování osmotického tlaku, dodávka energie pro udržení metabolismu spermií, zvýšení antimikrobiální aktivity (Noakes et al., 2001).

## **3.4. Faktory ovlivňující kvalitu spermatu**

Kvalitu kančího ejakulátu ovlivňují dvě skupiny faktorů. Na jedné straně jsou to faktory vnitřní (genetické), na straně druhé faktory vnější (chovatelské a prostředové) (Bonet et al., 2013).

Ve vztahu k vnějším faktorům jsou teplota prostředí, fotoperioda a frekvence odběrů spermatu v negativní korelaci s reprodukční výkonností kanců, zatímco potravní doplňky, sociální kontakt s ostatními prasaty a správná manipulace se spermatem pozitivně ovlivňují výsledky reprodukce. Určité rozdíly v působení těchto faktorů na jednotlivce mohou být přisuzovány zejména, ale ne výhradně, k povaze plemene (Bonet et al., 2013).

Individualita kance byl hlavní vliv mající dopad na utracení z důvodu výskytu abnormalit spermií, jejich bičíků, hlaviček, obecné patologie spermií a patologie varlat. Analýzou vlivu



různých faktorů na výskyt různých patologických abnormalit spermií byl prokázán významný vliv individuality kance, věku kance a ročního období (Serniene et al., 2005).

### 3.4.1. Dědičné vlivy

Ve vztahu k vnitřním faktorům, ukazuje zvýšená reprodukční výkonnost kříženců ve srovnání s čistými plemeny na důležitost heterozního efektu. Z parametrů hodnocení spermatu má vyšší koeficient dědičnosti například objem spermatu. Zároveň je tu slabý vztah mezi jednotlivými semennými parametry a plodností, což omezuje jejich využití pro selekci kanců. Některé studie poukázaly na možnost výběru kanců s vysokou plodností podle velikosti jejich varlat v prepubertálním období. Genetické vady ve velikosti varlat a jejich struktury, mohou vést k částečnému nebo úplnému zastavení spermatogeneze v postpubertálním věku (Bonet et al., 2013).

Mezi tyto geneticky ovlivněné vady patří například kryptorchismus. Tak se označuje situace, kdy varlata nesešoupí do šourku. Za těchto podmínek není dosaženo zvláštních termálních potřeb pro varlata a nadvarlata, přestože endokrinní funkce varlat je neporušena. Proto mívá oboustranný kryptorchid více či méně normální sexuální chování, ale bývá sterilní (Hafez and Hafez, 2000).

K dalším poruchám patří vada spermie, spočívající ve výrazném zkrácení bičíku spermie, vedoucí k úplné ztrátě pohyblivosti celé spermie. Tato vada je pravděpodobně recesivně dědičně podmíněna (Andersson et al., 2000).

K poruchám až k úplné ztrátě oplozovací schopnosti spermií může vést změna obsahu DNA, stejně jako její poškození (Gamčík a Kozumplík, 1984). U samců s poruchami plodnosti klesá hodnota DNA v jádru až na polovinu (Kliment, 1983).

Činnost nadvarlete je vysoce závislá na androgenech. Proto se snížení hladiny androgenů okamžitě projeví na přerušení jejich funkce (Noakes et al., 2001). Selektce podle produkce testosteronu ale není doporučována jako vhodná metoda pro zvýšení produkce spermií u kanců (Walker et al., 2004). Koncentrace testosteronu souvisí s libidem, objemem ejakulátu a procentem morfologicky normálních spermií (Bilskis et al., 2012).

Mezi jednotlivými kančími ejakuláty rozeznáváme dědičné odlišnosti (Youngquist and Threlfall, 2007). Výsledky ukázaly, že genetické založení má významný vliv na kvalitu spermatu (Luc et al., 2013). Také různá plemena se odlišují v jednotlivých parametrech (Smital, 2009). Například u plemene bílé ušlechtilé se uvádí průměrná koncentrace spermií v ejakulátu asi 221 000 spermií na 1 mm<sup>3</sup>, u plemene landrace 330 000 a u plemene duroc 520

000 spermií na 1 mm<sup>3</sup> (Gamčík a Kozumplík, 1984). Genetické založení plemene také ovlivňuje objem spermatu (Věžník a kol., 2004).

Byly také porovnávány výsledky pěti skupin kanců - čistokrevný pietrain, stres-negativní pietrain a kříženci pietrain × duroc s podílem 25 %, 50 % a 75 % pietraina. Mezi kříženci s různým podílem pietraina byly zjištěny rozdíly v kvalitě spermatu. Ačkoliv byla kvalita spermatu u křížence 75% nižší než u ostatních hybridních kanců, byla srovnatelná s kancem čistý pietrain. Kanci kříženci s 25 a 50% pietraina a stres-negativní pietrain vykazovali vysokou kvalitu spermatu (Luc et al., 2013).

### 3.4.2. Věk

Produkce spermií je silně ovlivněna věkem kance, kdy stoupá až do stáří 3,5 roku (Smital, 2009). V pubertě jsou všechny složky reprodukčního ústrojí natolik vyvinuté, že umožňují funkci celého systému jako celku. Věk, při kterém reprodukční ústrojí dosáhne plné sexuální zralosti a kanec je považován po sexuální stránce za dospělého, je přibližně 30 týdnů. Věk kance také ovlivňuje pohyblivost spermií (Hafez and Hafez, 2000). Plodnost kance je závislá na změnách během vývoje jedince. Příliš časně zahájení reprodukční aktivity u mladého kance bývá často příčinou snížené plodnosti v průběhu jeho celého života (Smital, 2009).

Bylo zjištěno, že věk kance souvisí s rozměry a tvarem spermií. S růstem kance dochází ke zvětšení délky, šířky a plochy hlavičky spermií. Nicméně, mladí kanci, pod 11 měsíců stáří, mají spermie o něco delší, než starší kanci, jak z hlediska celkové délky spermie, tak i délky bičíku. Kanci ve věku okolo 16 měsíců mají spermie, vyznačující se prodlouženou hlavičkou (Banaszewska et al., 2011).

Výsledky ukázaly, že mladí kanci měli vyšší procento chromatinové nestability a nižší proporce živých, morfologicky normálních spermií než dospělí a staří kanci, v tomto pořadí. Rozměry hlaviček spermií mladých a starých kanců byly vyšší než u dospělých kanců. Plodnost mladých kanců byla významně nižší než u dospělých a starých kanců. Z toho vyplývá, že věk kance je důležitým faktorem, ovlivňující kvalitu spermatu (Tsakmakidis et al., 2012).

Na kvalitě spermatu se rovněž podílí čas skladování spermií v nadvarlatech. Spermie uskladněné v nadvarlatech si uchovávají oplozovací schopnost po dobu několika týdnů (Hafez and Hafez, 2000). V ocasu nadvarlete jsou spermie udržovány ve stavu částečné anabiózy připraveny k ejakulaci a svoje fyziologické vlastnosti si zde uchovávají po dobu 3 až 4 týdnů.

Pokud nedojde k ejakulaci, spermie degenerují, odumírají a dochází k jejich resorpci (Kliment, 1983).

### 3.4.3. Složení semenné plazmy

U populace spermií uchovávaných in vitro jsou počet pohyblivých spermií a intenzita motility ovlivňovány semennou plazmou. Sekrety semenných váčků u kanců mají také vliv na motilitu a oplozovací schopnost spermií. Množství semenné plazmy z velké části závisí na produkci testosteronu a na stupni pohlavního vydráždění plemeníka (Kliment, 1983; Věžník a kol., 2004).

Velmi důležitá je znalost vztahů mezi biochemickými hodnotami semenné plazmy a parametry kvality spermatu. Byly zkoumány vybrané biochemické komponenty semenné plazmy kance a jejich spojení s různými parametry kvality spermatu. Aktivita AST a GMT měla příznivý vliv na koncentraci spermií a negativní vliv na objem ejakulátu. Stejně i koncentrace  $\gamma$ -glutamyl-transferasy (GGT) a alkalické fosfatázy (ALP) byly negativně spojeny s objemem ejakulátu a pozitivně spojené s koncentrací. Byl prokázán mírně pozitivní vztah mezi GGT a ALP s progresivní pohyblivostí. Nebyl nalezen žádný vztah mezi enzymy semenné plazmy a spermiemi s normální morfologií a membránovou integritou. Nicméně, byly pozorované trendy u sdružení GGT a ALP s abnormálními hlavičkami a distálními kapkami, v tomto pořadí. S množstvím a kvalitou spermatu byla spojena také minerální koncentrace. Obsah fosfátů, K a Se negativně koreloval s objemem ejakulátu a obsah SE a PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> - pozitivně koreloval s koncentrací spermií. Dále byla zjištěna mírná pozitivní korelace PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> - , K a Se a negativní korelace Na s progresivní pohyblivostí (Rodríguez et al., 2013).

Vyšší hladiny Na a Cl byly spojeny se snížením počtu spermií s normální morfologií. Zatímco hladina Na byla v pozitivním vztahu s počtem spermií s abnormalitami bičků, vysoká hladina Cl byla spojena se zvýšeným počtem abnormálních hlaviček a abnormálních bičků. Vyšší hladiny Mg a Se byly spojeny s menšími poškozeními membrán a proximálními kapkami. Byl tu trend k negativní asociaci mezi koncentrací Zn a počtu abnormálních bičků. Kromě toho byla zjištěna střední asociace mezi AST, ALP, K, Cl a Zn a počtem dní od předešlého odběru. Selen byl silně spojený s počtem dnů od předchozího odběru (Rodríguez et al., 2013).

Bylo zjištěno, že koncentrace spermií v ejakulátu ovlivnila morfometrické charakteristiky spermií. Ejakuláty s nízkou koncentrací spermií se vyznačují většími spermiemi ve srovnání s

ejakuláty s vysokou koncentrací spermií. Nicméně, koncentrace spermií v ejakulátu nemá velký vliv na tvar spermií (Kondracki et al., 2011).

Spermie s menší délkou hlavičky a s menší plochou hlavičky byly nalezeny v semeni s největším celkovým počtem spermií (více než  $120 \times 10^9$  spermií) než v semeni s celkovým počtem spermií  $70$  až  $90 \times 10^9$ . Výsledky této studie ukazují, že počet spermií v ejakulátu ovlivňuje morfometrické charakteristiky spermií kanců (Wysokinska et al., 2009).

#### **3.4.4. Frekvence odběrů**

Je velmi důležité udržovat při odběrech pravidelný časový řád. Jak přetěžování, tak nevytížení kanců v umělé inseminaci může mít negativní dopad na plodnost prasníc (Youngquist and Threlfall, 2007). Nadměrné sexuální využívání může vést až k narušení systému, chránícímu spermie proti poškození (Bronicka and Dembinski, 1999). Důsledkem může být také snížená pohyblivost s následnou horší oplozovací schopností spermií (Hafez and Hafez, 2000). Intenzitou pohlavního využívání může být rovněž ovlivněn objem spermatu (Věžník a kol., 2004). Naproti tomu po 2 až 3 týdenním a delším klidovém období získáme, v důsledku stárnutí spermií, ejakulát v horší kvalitě (Gamčík a Kozumplík, 1984). Doporučená frekvence odběrů u kanců při umělé inseminaci je v závislosti na libidu kanců 1 odběr týdně ve věku 6 až 8 měsíců, 1 až 2 odběry týdně ve věku 8 až 12 měsíců a více než 4 odběry za 2 týdny u kanců starších než 13 měsíců (Youngquist and Threlfall, 2007). Podle jiného schématu se od kance ve věku okolo 1 roku odebírá sperma jednou týdně. V 16 měsících je možno přejít na 5 až 6 odběrů za měsíc a ve věku 1,5 až 2 roky je možno frekvenci odběrů zvýšit na 8 až 12 měsíčně. Při snižující se koncentraci spermií je nutné počet odběrů přiměřeně snížit (Gamčík a Kozumplík, 1984). Přijatelné množství spermií se začíná ukazovat po třídní sexuální pauze, zásoba spermií se obnovuje po 5 až 7 dnech a k úplnému obnovení produkce spermií dochází po 10 až 11 denním klidovém intervalu (Smítal, 2009).

#### **3.4.5. Roční období**

Kvalita spermatu se rovněž mění v průběhu ročních období, kdy nejnižší bývá v létě (Smítal, 2009). Sezónní efekt byl pozorován u většiny parametrů kvality spermatu, včetně koncentrace spermií, motility, celkového počtu spermií a pH. Objem spermatu sezónou ovlivněn nebyl.

Byly také pozorovány účinky sezóny na většinu rysů kvality spermatu u stres-negativního pietrainina stejně jako u hybridních kanců s různým podílem pietrainina. Koncentrace a celkový počet spermií byly nižší v létě a na podzim, vyšší v zimě a na jaře (Luc et al., 2013).

Výsledky rovněž ukazují, že rysy morfologie spermií byly mírně ovlivněny systémy ustájení. Byly zjištěny sezónní variace v morfologii spermií, vysoké teploty a vysoká vlhkost vzduchu mají negativní účinky na morfologii spermií (Suriyasomboon et al., 2005).

### **3.4.6. Teplota**

Pro účinnou funkci varlat v nich musí být udržována nižší teplota, než je teplota celého těla. To může být problematické při vysokých okolních teplotách. Tepelný stres způsobuje poškození značného množství spermií. Období vysokých okolních teplot v kombinaci s vysokou vlhkostí může způsobit samčí sterilitu až na šest týdnů. Velké množství abnormálních spermií se objevuje v ejakulátech odebíraných v období rekonvalescence. Minimalizovat efekty tepelného stresu může pomoci poskytnutí odpovídajícího stínu a čisté chladné vody (Hafez and Hafez, 2000). Výsledky ukázaly, že mladí kanci ve věku okolo 1 roku dokáží lépe vydržet teplé období. Výdrž se postupně zmenšovala, jak zvířata rostla (Huang et al., 2010).

### **3.4.7. Zdravotní stav**

Rozdíly byly pozorovány v kvalitě spermatu odebraného od kanců po experimentální infekci PRRSV. Tato infekce vyvolala významné snížení pohyblivosti spermií a snížila počet spermií s normálním akrosomem (Prieto et al., 1996).

Jiní autoři studovali vliv infekce PRRS na produkci spermatu. Byly sledovány základní parametry u skupiny jedenácti kanců v období 4 týdny před infekcí až 4 týdny po infekci. Nebyly pozorovány významné rozdíly v objemu, koncentraci spermií a procentu pohyblivých spermií. Po expozici PRRSV nebyl zjištěn žádný vliv na běžnou produkci spermatu.

Porovnání procenta morfologicky neporušených spermií však ukázalo výrazné rozdíly. Byl pozorován výrazný nárůst spermií s narušeným akrozomem z 1,5 % na 4,0 %. Byl rovněž zjištěn vliv infekce PRRSV na stav plazmatické membrány při skladování spermatu. Analýza spermatu ukázala významný pokles podílu spermií s neporušenou membránou po infekci z 88,8 % na 82,0 %.

V průběhu testu termorezistence nebyl nalezen žádný významný vliv infekce PRRSV na procento progresivně vpřed pohyblivých spermií. Analýzou vzorků pohyblivosti spermií při

dlouhodobém termorezistentním testu během inkubace při 38 °C byly zjištěny významné změny po PRRSV infekci. Procento kruhově pohyblivých spermií významně vzrostlo z 1,6 % na 4,4 %, spolu s procentem nelineárně pohyblivých spermií z 17,5 % na 31,1 %.

Nelinearita progresivního pohybu spermií odráží významný vliv PRRSV infekce. Spermie zejména ukázaly zvýšený nelineární pohyb v závislosti na výrazném zvýšení amplitudy bočního posuvu hlavičky spermií z 2,4 um na 2,8 um (Schulze et al., 2013).

Při umělém naočkování konzervovaného spermatu *Clostridium perfringens* nebyl prokázán žádný vliv na morfologické změny spermií, byly však prokázány škodlivé účinky na životaschopnost a pohyblivost spermií (Sepúlveda et al., 2013).

### **3.4.8. Výživa a prostředí**

Akrozóm je velmi labilní systém, který se snadno poškodí při patologických procesech na pohlavním ústrojí, ale i při náhlých změnách osmotického tlaku, pH, při náhlých termických změnách při procesu ředění a konzervace spermatu. Spermie kance jsou citlivé na hluboké zmrazování, při kterém je poškozováno velké množství akrozómů. Akrozóm spermie však může být poškozen i při styku s neadekvátním cervikálním hlenem nebo neadekvátním děložním prostředím (Kliment, 1983).

Motilita spermií je extrémně citlivá na podmínky prostředí, proto je nezbytné chránit sperma před analýzou proti chemickému (voda, zbytky mýdla, líh), tepelnému (nadměrné teplo a chlad) a světelnému (ultrafialové záření) znečištění (Hafez and Hafez, 2000; Youngquist and Threlfall, 2007).

Na kvalitu spermatu má velký vliv výživa. Např. nedostatek zinku může způsobit poškození až degeneraci semenotvorného epitelu a morfologické změny Sertoliho a Leydigových buněk (Cigánková a kol., 2008). Po vypotřebování enzymů (dehydrogenázy) nebo jejich toxické blokáde (např. Zn) dochází k zástavě pohybu spermií (Kliment, 1983).

Přídavek lososového oleje do krmiva zlepšil pohyblivost spermií. Přídavek vitamínu E zlepšil koncentraci spermií (Moraes et al., 2010). Krmení tuňákového oleje zvyšuje podíl spermií s progresivním pohybem a s normálním akrozomem, naopak snižuje podíl spermií s abnormální morfologií (Rooke et al., 2001). Kanci krmení lněným semínkem ukazovali zlepšení morfologie spermií a lepší zachování motility a životnosti spermií při skladování (Radomil et al., 2011).

Dlouhodobá dietní suplementace selenu v organické ani v anorganické formě neovlivnila množství nebo kvalitu spermií, neměla vliv na objem, koncentraci, celkový počet spermií v ejakulátu, pohyblivost spermií, progresivní motilitu, morfologii, peroxidaci lipidů nebo aktivitu glutathion peroxidázy (Lovercamp et al., 2013).

Při přechodu z anorganického selenu na organický ve výživě kanců se zvýšila koncentrace spermií, ale snížily se některé parametry motility a odolnost vůči oxidačnímu stresu (López et al., 2010).

Krmivo může být kontaminováno mykotoxiny hub rodu *Fusarium*. Z těchto mykotoxinů je zearalenon (ZEA) jednoznačně zapleten do reprodukčních poruch prasat a jiných domácích zvířat. Experimenty *in vivo* a *in vitro* naznačují, že ZEA a jeho metabolity mohou působit estrogení účinky vedoucí k funkčním a morfologickým změnám reprodukčních orgánů (Cortinovis et al., 2013).

## **4. MATERIÁL A METODY**

Byla zpracována data, získaná z opakovaných vyšetření spermatu plemenných kanců, jež bylo prováděno po období 27 měsíců. Během celého tohoto období byli průběžně zařazováni noví kanci. Ze všech těchto kanců, kteří prošli izolační stájí a jejichž sperma bylo pravidelně odebíráno do věku 15 měsíců, byl do sledování vybrán soubor 52 kanců sedmi plemen a plemenných kombinací. Od kanců z tohoto souboru bylo vyšetřováno sperma, které bylo odebíráno jedenkrát po zařazení do izolační stáje a třikrát po přesunu do střediska odběru spermatu kanců, přibližně ve věku 7, 8, 11 a 15 měsíců.

Odběr spermatu byl prováděn manuálně, tzv. metodou do ruky. Sperma bylo zachyceno do odběrového sáčku, vloženého do termoizolační nádoby, překrytého sterilní gázou, přes kterou byly přefiltrovány gelové složky spermatu.

Při vyšetřování byly hodnoceny základní kvalitativní parametry - objem spermatu, koncentrace a motilita spermií, celkový počet spermií a dále morfologické vyšetření spermií.

Objem spermatu byl zjišťován vážením. Filtrované sperma bylo zváženo na laboratorní váze AND CF-300, zjištěná hmotnost v gramech byla považována za objem v mililitrech.

Motilita spermií byla vyšetřována pomocí světelného mikroskopu s fázovým kontrastem Olympus BX 40, vybaveného vyhřívacím stolkem N-TC. Pomocí skleněné tyčinky byl odebrán vzorek spermatu, který byl kápnutý na mikroskopické sklíčko, vyhřáté na teplotu 37 °C, a překrytý krycím sklíčkem. Pohyblivost spermií byla posouzena při 200 násobném zvětšení, byla zjišťována subjektivním odhadem procenta spermií s přímočarým pohybem vpřed za hlavičkou.

Koncentrace spermií byla hodnocena pomocí fotometru Accucell. Mikropipetou Biohit Proline byl odebrán 100 µl vzorek spermatu, který byl přidán do kyvety s 2,4 ml fyziologického roztoku. Kyveta s takto naředěným vzorkem byla vložena do kalibrovaného fotometru, ve kterém byla zjištěna koncentrace spermií.

Celkový počet spermií byl vypočítán dosazením zjištěných hodnot do vzorce: objem spermatu × koncentrace spermií × 1 000 000.

Morfologie spermií byla hodnocena pomocí programu SASMO (Strict Analysis Sperm Morphology). Byl použit program Sasmo, verze 2.0, sériové číslo 03008005 - morfologické vyhodnocení spermií použitím striktních kritérií od VÚVeL Software 2002 Brno.

Při morfologickém vyšetřování bylo z každého odběru hodnoceno 200 spermií. Z nich byl pomocí programu Sasmo spočítán počet normospermií, celkový počet spermií s výskytem patologických změn, počet volných hlaviček, volných bičků, počet spermií s proximální kapénkou. Dále byl zjištěn počet spermií s jednotlivými patologickými změnami hlavičky, krčku, spojovací části spermie i bičku. Pro statistické vyhodnocení byly vybrány jen morfologické změny s dostatečným počtem případů, což byl celkový počet patologických spermií, počet spermií s patologickými změnami hlavičky, počet spermií se zúženými a prodlouženými hlavičkami, spermií s patologickými změnami krčku a bičku celkem. Do výsledných grafů ve statistickém vyhodnocení byl počet morfologických změn přepočítán na procentický podíl.

Souhrn všech dat získaných při každém vyšetření spermatu jednotlivých kanců byl uspořádán do protokolů (viz. Příloha č. 1), které byly utříděny do celkové tabulky, ze které se vycházelo při statistickém vyhodnocení.

Získaná data byla statisticky zpracována odpovídajícími nástroji programového balíku Statistica 12 CZ.

Byly zjištěny základní popisné charakteristiky výběrových souborů, například průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient, maximální a minimální hodnota. Byly zjištěny četnosti hodnocených odběrů podle plemen, jednotlivých věkových kategorií a ročních období. Také byly zjištěny četnosti odběrů, nevyhovujících normě pro kančí sperma v



hodnotách základních zjišťovaných parametrů. Byl testován vliv některých faktorů na jednotlivé parametry kančího spermatu. Těmito faktory byly plemenná příslušnost, věk kanců, měsíc a roční období, ve kterém byl proveden odběr, individualita kance. Před analýzou variance bylo nutno provést test normality dat a test homogenity rozptylů. Poté bylo přistoupeno k vlastní analýze pomocí ANOVA, z možností post-hoc testů byl využit Schefféův test. Statisticky významné hodnoty byly zpracovány do grafů. Dále bylo provedeno testování závislosti mezi jednotlivými parametry kančího spermatu.

## 5. VÝSLEDKY

Celkem bylo hodnoceno a srovnáváno 195 odebraných ejakulátů. Jejich rozdělení podle plemen, jednotlivých věkových kategorií a ročních období je uvedeno v tabulce č. 2.

**Tab. č. 2: Četnosti hodnocených odběrů podle plemen, jednotlivých věkových kategorií a ročních období:**

plemeno	počet odběrů	věk				roční období			
		7 měs.	8 měs.	11 měs.	15 měs.	jaro	léto	podzim	zima
BO	16	2	6	4	4	3	4	4	5
BU	28	4	10	7	7	6	8	6	8
DC	16	2	6	4	4	4	5	2	5
H34	53	11	17	12	13	15	11	8	19
H38	36	3	15	9	9	5	13	8	10
H48	30	7	7	8	8	8	7	6	9
LA	16	3	4	4	5	4	2	5	5
celkem	195	32	65	48	50	45	50	39	61

Byl zjištěn počet ejakulátů nevyhovujících ČSN 467114 - Sperma kance. Celkem neodpovídalo normě 34 ejakulátů objemem spermatu, 4 koncentrací spermií, 30 pohyblivostí spermií a 140 ejakulátů překročilo limit procenta patologických změn spermií. Tabulka č. 3 udává četnost ejakulátů s nevyhovujícím objemem, koncentrací spermií, motilitou a procentem patologicky změněných spermií podle plemen a věkových kategorií. Poslední sloupce udávají počet ejakulátů vyhovující normě procentem patologických změn spermií.

**Tab. č. 3: Četnosti hodnocených ejakulátů nevyhovujících normě podle plemen, jednotlivých věkových kategorií a hodnocených parametrů:**

plemeno	objem				koncentrace				motilita				patolog.				v normě			
	věk - měsíce				věk - měsíce				věk - měsíce				věk - měsíce				věk - měsíce			
	7	8	11	15	7	8	11	15	7	8	11	15	7	8	11	15	7	8	11	15
BU	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	1	2	4	5	4	4	3	2	3	3
LA	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	3	3	5	0	0	1	0
DC	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	2	4	4	4	4	0	0	0	0
BO	2	2	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2	3	3	3	2	1	1	1
H34	2	1	1	0	0	0	0	0	3	2	2	3	9	12	9	6	4	3	3	7
H38	3	2	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	6	8	5	7	2	2	4	2
H48	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	2	2	5	3	5	6	3	3	3	2

## 5.1. Vliv plemenné příslušnosti na vybrané charakteristiky kancího spermatu

Nejnižších průměrných hodnot objemu spermatu dosahovali kanci syntetické linie H34, kteří ale měli nejvyšší vyrovnanost. Nejvyšší průměrné hodnoty objemu dosahovali kanci syntetických linií H38, H48 a plemene BU. Kanci plemene LA a BO měli nejvyšší koeficient proměnlivosti.

Při hodnocení pomocí analýzy rozptylů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými plemeny. Určité nevýznamné rozdíly byly zjištěny u kanců syntetické linie H34, ve vztahu ke kancům linie H38 a H48, ke kancům plemene BU a ke kancům plemene LA. Nevýznamné rozdíly byly ještě zjištěny mezi kanci plemene BO a H48 a mezi kanci plemene BO a H38.

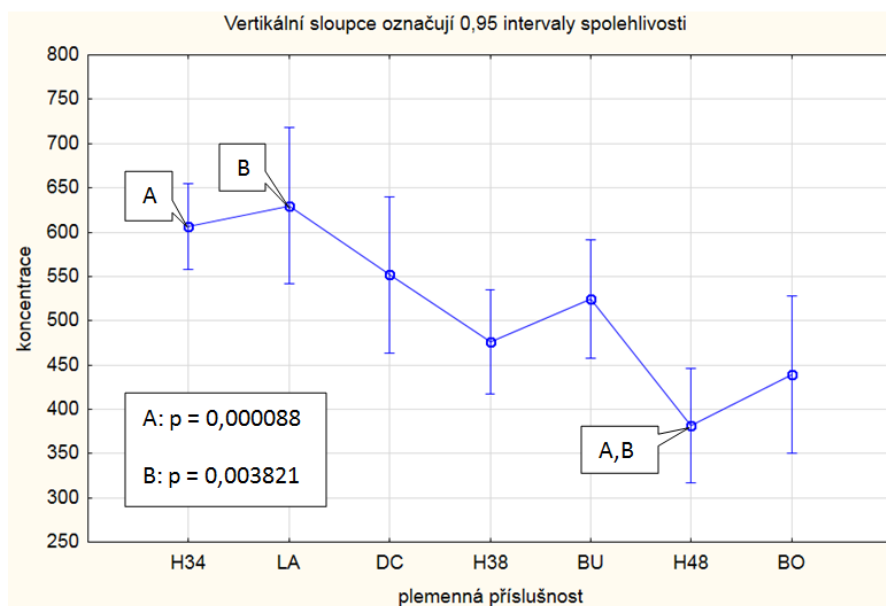
Nejnižších hodnot průměrné koncentrace spermií dosahovali kanci syntetické linie H48, s absolutním minimem 73. Nejvyšších hodnot dosahovali kanci plemene LA a syntetické linie H34. Při hodnocení koncentrace spermií byla zjištěna větší variabilita mezi jednotlivými plemeny. Nejnižší koeficient variability 27,7 měli kanci plemene DC, výrazně nejvyšší variabilitu s koeficientem proměnlivosti 49,3 vykazovali kanci plemene BO.

Byl prokázán statisticky významný rozdíl v koncentraci spermatu mezi kanci syntetické linie H48 a kanci plemen LA a H34. Kanci linie H48 vykazovali také statisticky nevýznamné rozdíly s kanci plemen DC a BU, a s kanci linie H38. Statisticky nevýznamné, leč zajímavé rozdíly byly rovněž zjištěny mezi kanci plemene BO a H34, BO a LA, H38 a H34, H38 a LA.

Průměrné hodnoty koncentrace spermií v odebraném ejakulátu v závislosti na plemenné příslušnosti kance znázorňuje graf č. 1.

**Graf č. 1: průměrná koncentrace spermií v závislosti na plemenné příslušnosti kance**

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



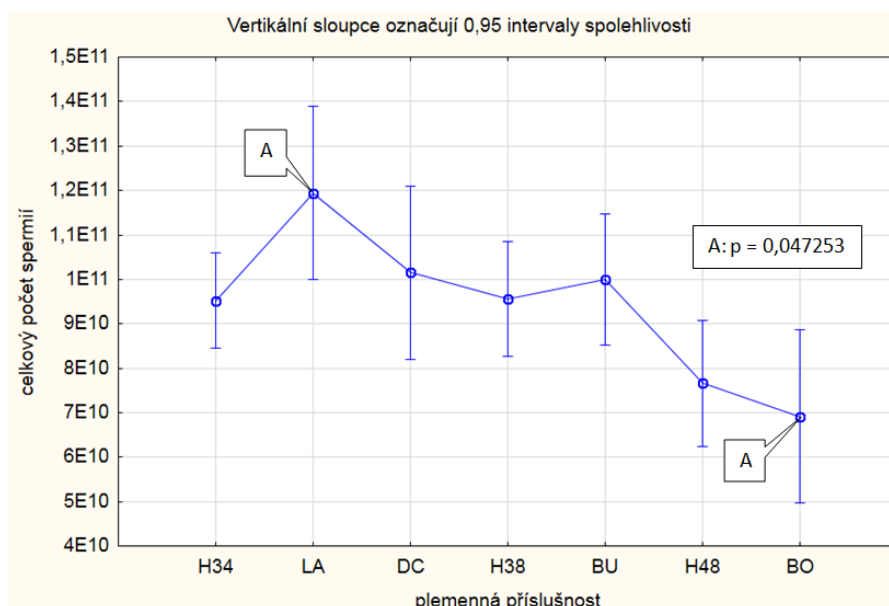
Procento pohyblivých spermií v závislosti na plemeni bylo velmi vyrovnané, kdy průměrná motilita kolísala mezi 66 a 71 %. Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v motilitě mezi jednotlivými plemeny. Za zmínku stojí pouze statisticky nevýznamný rozdíl mezi kanci plemene DC, kteří vykazovali nejnižší procento pohyblivých spermií a kanci syntetických linií H38 a H48, vykazujícími nejvyšší procento. Nejnižší koeficient proměnlivosti měli kanci plemene BU, nejvyšší vykazovali kanci plemene LA, u kterých rozdíl variability dělal pouhých 8,5 %.

Nejnižší celkový počet spermií vykazovali kanci plemene BO a kanci syntetické linie H48. Nejvyššího celkového počtu spermií dosahovali kanci plemene LA. Nejnižší koeficient variability byl zjištěn u kanců linie H34 (36,4 %) a BU (36,8 %), nejvyšší proměnlivost měli kanci plemene BO s koeficientem variability 55,9 %.

Statisticky významný rozdíl byl prokázán pouze mezi plemeny BO a LA, statisticky průkazné hodnotě se blížil rozdíl mezi kanci linie H48 a LA. Statisticky neprůkazné rozdíly byly dále zjištěny mezi kanci plemen BO a H34, BO a DC, BO a H38, BO a BU, H48 a BU, LA a H34. Vliv plemenné příslušnosti kance na průměrný celkový počet spermií odebraného ejakulátu je znázorněn v grafu č. 2.

## Graf č. 2: průměrný celkový počet spermií v závislosti na plemenné příslušnosti kance

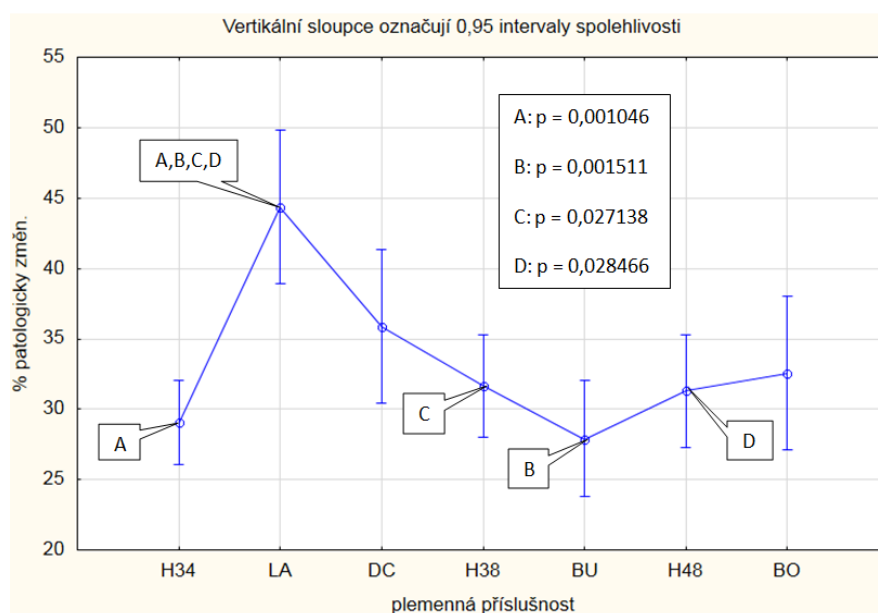
Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



Nejnižší počet patologicky změněných spermií byl zjištěn u kanců plemene BU a kanců linie H34, nejvyšší počet u kanců plemene LA. Nejnižší variabilitu 18,8 % měli kanci plemene DC, s minimem 71 a maximem 99 patologicky změněných spermií z 200 vyšetřovaných. Nejvyšší variabilitu měli kanci linie H48 s koeficientem proměnlivosti 39,6.

## Graf č. 3: průměrný podíl patologicky změněných spermií v závislosti na plemenné příslušnosti kance

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



Byly prokázány statisticky významné rozdíly mezi kanci plemene LA a kanci linií H34, H38, H48 a plemene BU. Mezi kanci plemene LA a kanci plemen BO a DC byly zjištěny statisticky nevýznamné rozdíly. Statisticky nevýznamné rozdíly byly rovněž zjištěny mezi kanci plemen BO a BU, H48 a DC, BU a DC, BU a H38, DC a H34. Závislost průměrného podílu patologicky změněných spermií v odebraném ejakulátu na plemenné příslušnosti kance je patrná z grafu č. 3.

Počet patologicky změněných hlaviček spermií byl stejně jako u počtu celkových změn nejnižší u plemen H34 a BU, nejvyšší u plemene LA. V rámci jednotlivých plemen byla zjištěna vysoká variabilita s koeficientem proměnlivosti 41,5 až 65,8 %.

Mezi plemeny však nebyly prokázány statisticky významné rozdíly. Byly pouze zjištěny statisticky nevýznamné odchylky mezi plemeny H34 a LA, H34 a H48, LA a DC, LA a H38, LA a BU, LA a H48, LA a BO, BU a H48.

Počet zúžených a prodloužených hlaviček spermií byl vyšší pouze u kanců plemene LA, u kterých byl zjištěn průměr 28,1 patologických změn, ostatní plemena byla značně vyrovnaná, pohybovala se v rozsahu 18,69 až 21,67 patologických změn z 200 vyšetřovaných spermií. V rámci jednotlivých plemen pak byla opět zjištěna vysoká variabilita s koeficientem proměnlivosti 49,2 až 89,6 %.

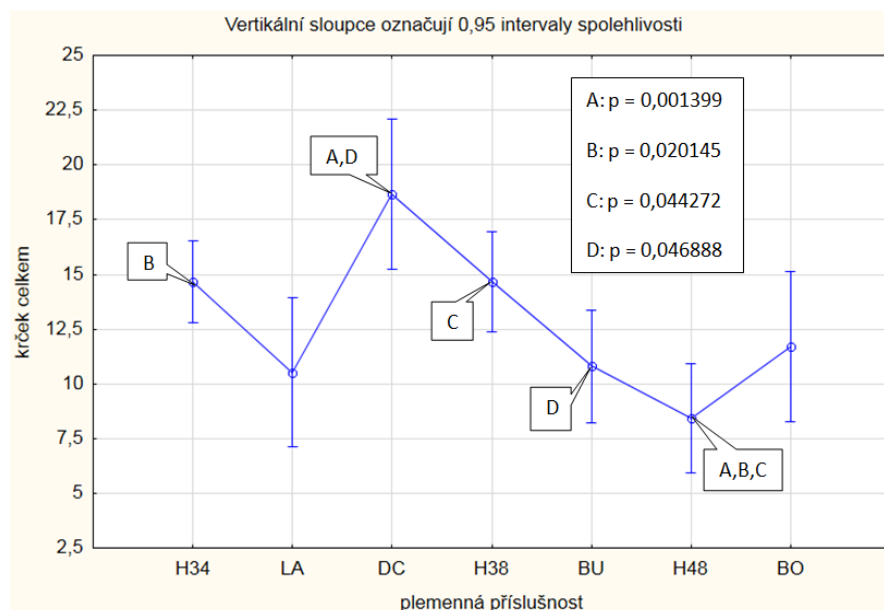
Mezi jednotlivými plemeny nebyly prokázány statisticky významné rozdíly, byly pouze zjištěny malé, statisticky nevýznamné odchylky mezi plemeny BO a LA, H48 a LA, BU a LA, H38 a LA, DC a LA, H34 a LA.

Nejnižší počet patologických změn krčku spermie byl zjištěn u kanců linie H48, nejvyšší u kanců plemene DC. Kanci plemene DC měli zároveň nejmenší proměnlivost s koeficientem variability 39,1 %, nejvyšší variabilitu měli kanci plemene BO s koeficientem proměnlivosti 73,3 %.

Graf č. 4 ukazuje vliv plemenné příslušnosti kance na průměrný podíl patologických změn krčku spermií. Byly prokázány statisticky významné rozdíly mezi kanci plemen DC a BU, DC a H48, H34 a H48, H38 a H48. Další, ale statisticky nevýznamné odchylky byly zjištěny mezi kanci plemen BO a H34, BO a Dc, BO a H38, BO a H48, BU a H34, BU a H38, H38 a LA, H38 a DC, DC a H34, DC a LA, LA a H34.

### Graf č. 4: průměrný podíl patologických změn krčku spermií v závislosti na plemenné příslušnosti kance

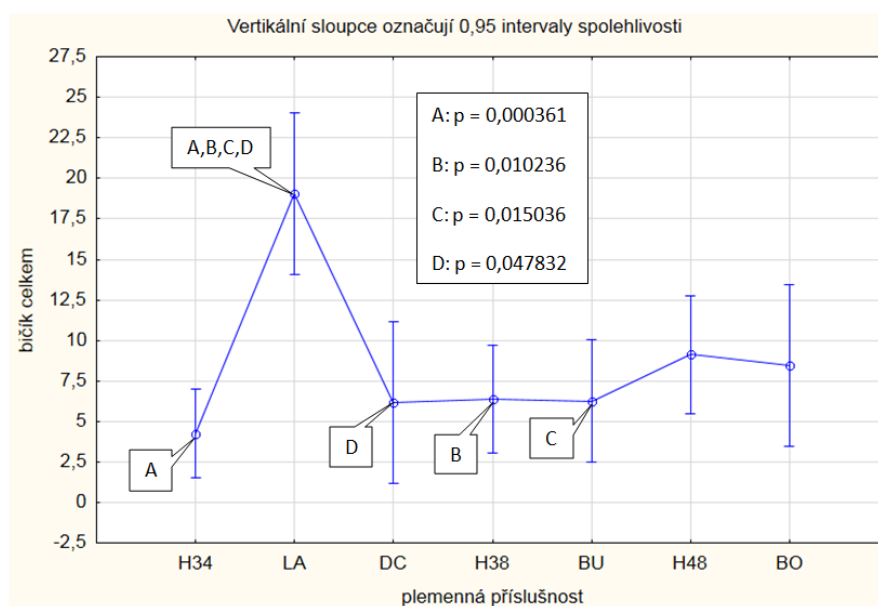
Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



Výrazně nejvyšší počet patologických změn bičíku spermií byl zjištěn u kanců plemene LA, nejnižší u kanců linie H34. V rámci jednotlivých plemen byla zjištěna vysoká proměnlivost s koeficientem 84,8 až 211,5 %.

### Graf č. 5: průměrný podíl patologických změn bičíku spermií v závislosti na plemenné příslušnosti kance

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



Vliv plemenné příslušnosti kance na průměrný podíl patologických změn bičíku spermií je znázorněn v grafu č. 5. Byly prokázány statisticky významné rozdíly mezi kancí plemene LA a kancí plemen H34, DC, H38 a BU. Statisticky nevýznamné, leč zajímavé rozdíly byly zjištěny mezi kancí plemen LA a H48, LA a BO, H34 a H48, H34 a BO.

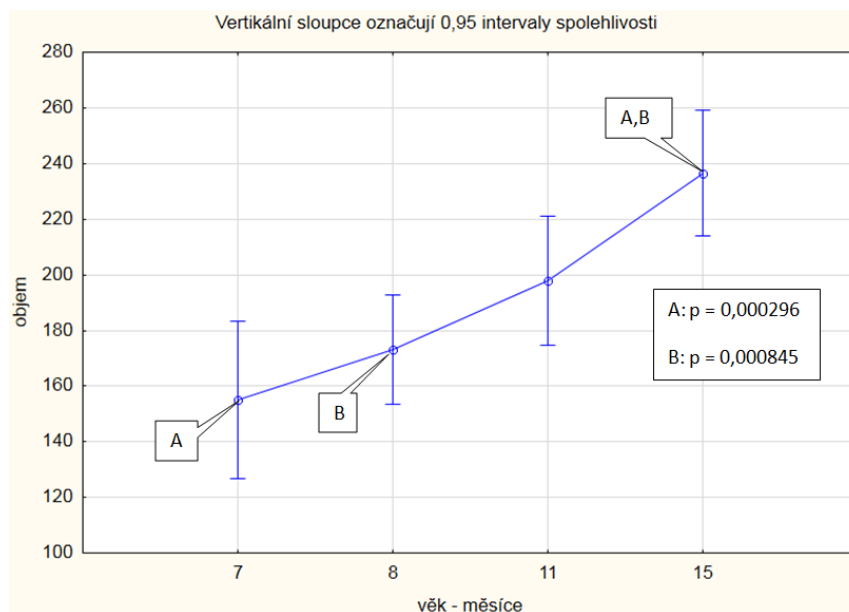
## 5.2. Vliv věku na vybrané charakteristiky kančího spermatu

Objem spermatu se s věkem plynule zvyšuje ze 155 ml v sedmi měsících až na 236 ml v patnácti měsících věku. Ve všech věkových kategoriích zůstává značně vyrovnaný koeficient proměnlivosti.

Závislost průměrného objemu odebraného ejakulátu na věku kance je patrná z grafu č. 6. Byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi kancí ve věku 15 měsíců a kancí ve věku 7 a 8 měsíců. Mezi ostatními věkovými kategoriemi byly zjištěny pouze statisticky nevýznamné difference, a to mezi kategoriemi 7 a 8 měsíců, 7 a 11 měsíců, 8 a 11 měsíců, 11 a 15 měsíců.

**Graf č. 6: průměrný objem ejakulátu v závislosti na věku kance**

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



Koncentrace spermatu se s věkem kanců příliš nelišila, nejnižší byla ve věku 15 měsíců, nejvyšší potom v 11 měsících. Po celou dobu zůstávala v poměrně úzkém rozpětí variability od 34,8 do 42 %.

Rozdíly mezi jednotlivými věkovými kategoriemi nedosahovaly statistické významnosti, byly zjištěny pouze malé difference mezi kategoriemi 7 a 11 měsíců, 8 a 15 měsíců, 11 a 15 měsíců.

Procento pohyblivých spermií se u jednotlivých věkových kategorií příliš nelišilo jak v průměrných hodnotách, které byly mezi 68,3 a 71,4 %, tak ani v rozpětí proměnlivosti, která se pohybovala mezi 8 až 13,8 %.

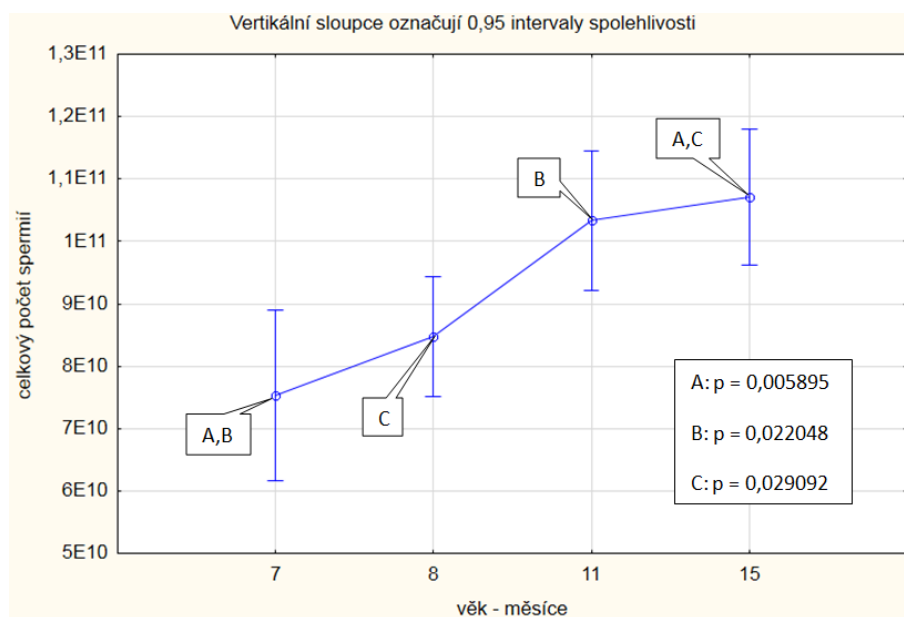
Hodnoty pravděpodobnosti shody mezi 7 a 8 měsíci, mezi 7 a 11 měsíci, mezi 8 a 11 měsíci, mezi 8 a 15 měsíci, mezi 11 a 15 měsíci nedosahovali ani v jednom případě hodnot statistické významnosti.

Celkový počet spermií byl nejnižší u sedmiměsíčních kanců, u kterých činil 75 miliard, výrazně vyšší byl u kanců ve věku 11 měsíců, nejvyšší potom v 15 měsících věku, kdy činil v průměru 107 miliard. Variabilita byla u všech věkových kategorií obdobná.

Závislost průměrného celkového počtu spermií odebraného ejakulátu na věku kance znázorňuje graf č. 7. Byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi věkovou kategorií 7 měsíců a 11 a 15 měsíců, dále mezi kategorií 8 a 15 měsíců. Statisticky nevýznamné odchylky byly zjištěny mezi kategoriemi 7 a 8 měsíců, 8 a 11 měsíců.

### Graf č. 7: průměrný celkový počet spermií v závislosti na věku kance

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$





Průměrný podíl patologicky změněných spermií byl u tří mladších věkových kategorií prakticky shodný, nepatrně se odlišovali pouze kanci ve věku 15 měsíců, kteří měli také větší rozpětí variability s koeficientem 44,1 %.

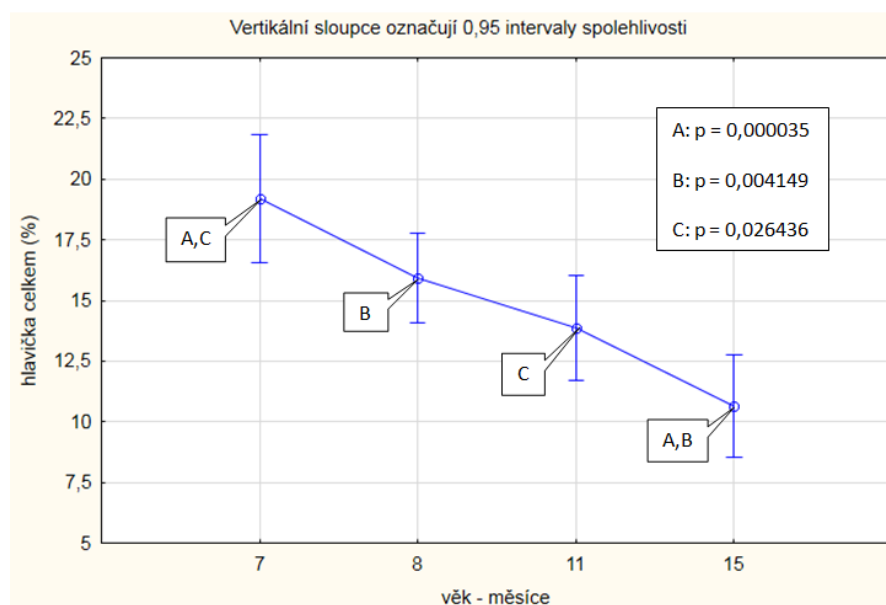
Hodnoty pravděpodobnosti shody však byly mnohem vyšší než 0,05. Rozdíly proto nebyly statisticky významné.

Byl prokázán statisticky vysoce významný rozdíl ve výskytu patologických změn hlaviček spermií mezi kanci ve věku 15 měsíců a kanci 7 a 8 měsíců věku, statisticky významný rozdíl mezi kanci 11 a 7 měsíců. Statisticky nevýznamné rozdíly byly zjištěny mezi kanci 7 a 8 měsíců, 8 a 11 měsíců, 11 a 15 měsíců. Vliv věku kance na průměrný podíl patologických změn hlavičky spermií v odebraném ejakulátu je patrný z grafu č. 8.

Koeficient variability byl nejnižší u sedmiměsíčních kanců, nejvyšší byl u kanců jedenáctiměsíčních.

**Graf č. 8: průměrný podíl patologických změn hlavičky spermií v závislosti na věku kance**

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$

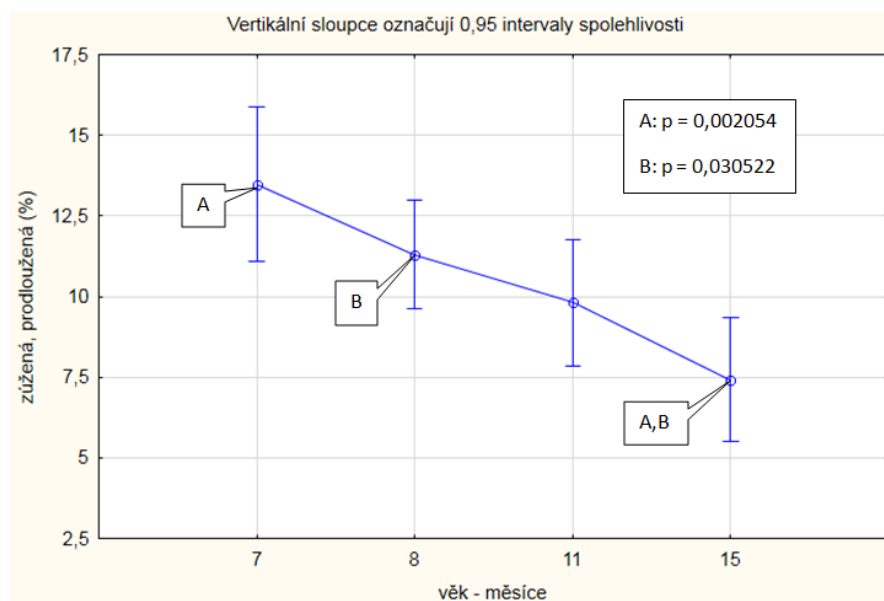


Také průměrný počet zúžených a prodloužených hlaviček spermií se postupně snižoval z 27 u sedmiměsíčních kanců na 14,8 u kanců patnáctiměsíčních. Koeficient proměnlivosti byl nejnižší u kanců ve věku 8 měsíců, nejvyšší ve věku 15 měsíců.

Byl prokázán statisticky vysoce významný rozdíl mezi kanci ve věku 15 a 7 měsíců, statisticky významný rozdíl mezi kanci ve věku 15 a 8 měsíců. Rozdíly u ostatních kategorií nebyly statisticky významné. Vliv věku kance na průměrný podíl zúžených a prodloužených hlaviček spermií v odebraném ejakulátu je patrný z grafu č. 9.

**Graf č. 9: průměrný podíl zúžených a prodloužených hlaviček spermií v závislosti na věku kance**

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



Počet patologických změn krčku spermií byl nejnižší ve věkové kategorii 7 měsíců, postupně se zvyšoval a nejvyšší byl ve věku 15 měsíců. Pohyboval se v rozpětí 22,7 až 29,3 z 200 vyšetřovaných spermií, s variačním koeficientem 51,4 v 11 až 60,3 v 15 měsících věku.

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými věkovými kategoriemi, za zmínku stojí pouze statisticky nevýznamná diference mezi věkovou kategorií 7 a 15 měsíců.

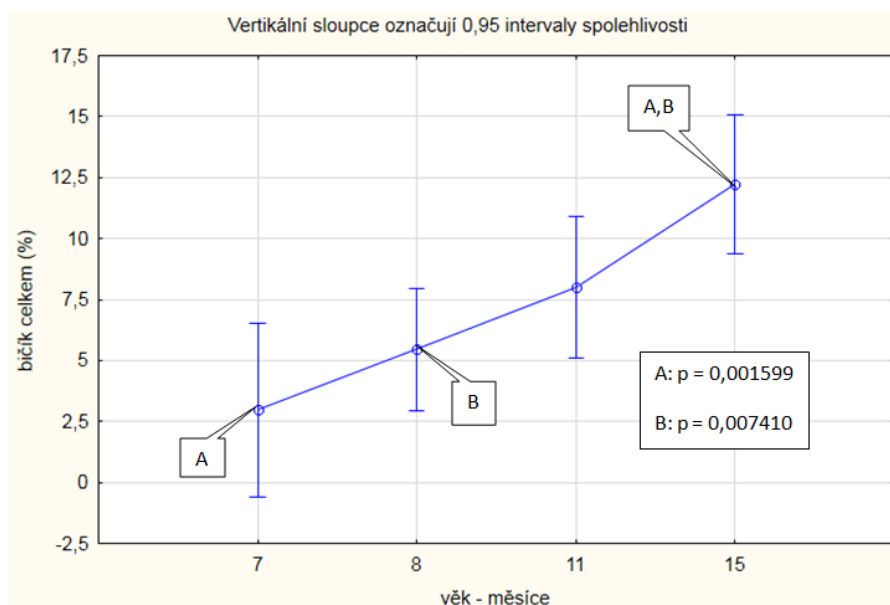
Počet patologických změn bičíku spermie s věkem plynule stoupal. U jednotlivých věkových kategorií byla zjištěna vysoká proměnlivost, s koeficientem variability 116,2 až 130,3 %.

Byl prokázán statisticky vysoce průkazný rozdíl mezi kanci ve věku 15 měsíců a kanci ve věku 7 a 8 měsíců. Rozdíly mezi ostatními věkovými kategoriemi byly statisticky nevýznamné,

pozornost zaslouží pouze rozdíly mezi kategoriemi 7 a 11 měsíců, a 11 a 15 měsíců. Vliv věku kanců na průměrný podíl patologických změn bičíku v odebraném ejakulátu je znázorněn v grafu č. 10.

**Graf č. 10: průměrný podíl patologických změn bičíku spermii v závislosti na věku kance**

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



### 5.3. Vliv ročního období na vybrané charakteristiky kancího spermatu

Nebyly prokázány žádné statisticky významné rozdíly v objemu spermatu v závislosti na ročním období.

Nejnižší koncentrace spermii byla zjištěna v průběhu jarního období, nejvyšší během podzimu. Během celého roku byla vyrovnaná proměnlivost s koeficientem variability v rozmezí 35,8 až 39 %.

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly koncentrace spermii mezi ročními obdobími. Statisticky nevýznamné odchylky byly zjištěny mezi jarem a létem, jarem a podzimem, jarem a zimou, létem a podzimem, létem a zimou.

Procento pohyblivých spermií se po celý rok pohybovalo v nepatrném rozmezí hodnot 68,5 až 70,9 % při vyrovnaném, nízkém koeficientu proměnlivosti 8,1 až 13,9 %.

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými ročními obdobími. Statisticky nevýznamné difference byly zjištěny mezi jarem a zimou, a mezi zimou a létem.

Nejvyšší celkový počet spermií byl zjištěn v jarních měsících, nejvyšší v průběhu podzimu. Proměnlivost jednotlivých ročních období se pohybovala v rozmezí 39,2 až 49,9 %.

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi ročními obdobími.

Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly v počtu patologicky změněných spermií u kanců v různých ročních obdobích. Lehce zvýšený počet patologických změn byl zjištěn v podzimním období. Odchytky v počtu těchto změn jsou však statisticky nevýznamné. Variabilita v průběhu jednotlivých ročních období kolísala v rozmezí 12,4 %.

Nejmenší počet patologických změn hlavičky byl zjištěn v létě, na podzim a v zimě se mírně zvyšoval a nejvyšší byl na jaře. Tyto rozdíly však byly statisticky nevýznamné.

Počet zúžených a prodloužených hlaviček spermií byl nejvyšší v zimě a na jaře, o něco nižší na podzim a nejnižší byl v létě. Variační koeficient v jednotlivých ročních obdobích se pohyboval v rozmezí 65,4 až 74,5 %.

Zjištěné difference mezi ročními obdobími jsou však také statisticky nevýznamné.

Nebyla prokázána žádná statisticky významná závislost v počtu patologických změn krčku spermií na jednotlivých ročních obdobích. Ani difference mezi podzimem a zimou nebyla statisticky významná.

Rovněž variabilita mezi ročními obdobími se pohybovala v úzkém rozpětí 65,4 až 74,5.

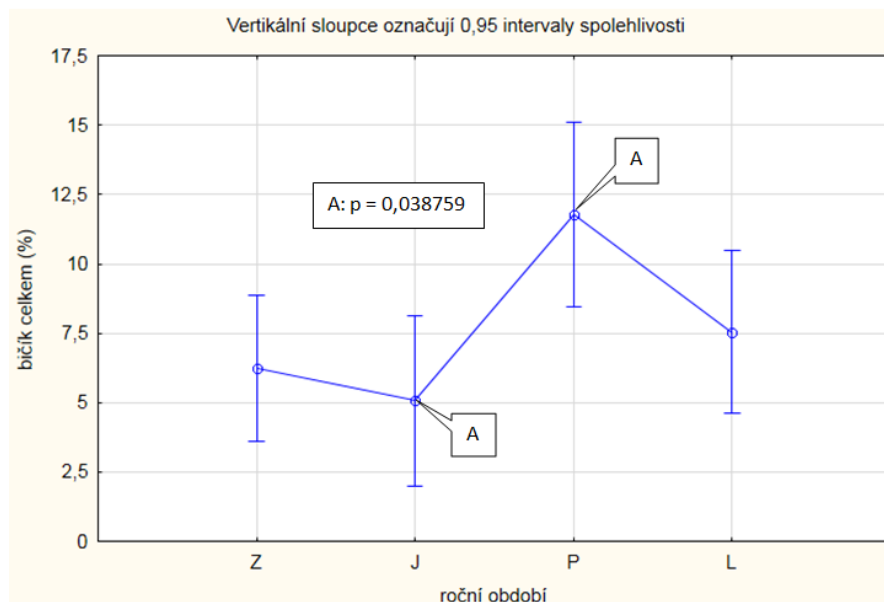
Nejnižší četnost výskytu patologických změn na bičíku spermií byla zjištěna v jarním období, nejvyšší byla na podzim. V průběhu všech ročních období byla zjištěna vysoká variabilita počtu těchto změn, koeficient proměnlivosti se pohyboval v rozmezí 119,9 až 157,6.

Byl zjištěn statisticky významný rozdíl v četnosti změn bičíku mezi jarním a podzimním obdobím. Rozdíly mezi ostatními obdobími roku byly statisticky nevýznamné, jde zejména o

zanedbatelný rozdíl mezi podzimem a létem. Vliv ročního období na průměrný podíl patologicky změněných bičků spermií v odebraném ejakulátu je vidět v grafu č. 11.

**Graf č. 11: průměrný podíl patologicky změněných bičků spermií v závislosti na ročním období**

Hodnoty označené stejnými indexy se liší na hladině významnosti  $p = 0,05$



#### 5.4. Vliv měsíce odběru a individuality kance na vybrané charakteristiky kančího spermatu

Nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly sledovaných parametrů kančího spermatu v závislosti na měsíci odběru.

Také u sledovaných parametrů kančího spermatu v závislosti na individualitě kance nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly.

#### 5.5. Testování závislosti znaků

Mezi jednotlivými parametry kančího spermatu byly zjištěny některé závislosti, jejichž síla byla vyjádřena pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Byla prokázána kladná korelace mezi objemem spermatu a celkovým počtem spermií (0,579), záporná korelace mezi objemem a koncentrací spermií (-0,394) a kladná korelace mezi koncentrací a celkovým počtem spermií (0,445).

Dále byly prokázány některé slabé korelace mezi základními parametry spermatu a počtem některých patologických změn. Kladné korelace byly zjištěny mezi objemem a počtem patologických změn bičíku (0,160) a koncentrací a celkovým počtem patologicky změněných spermíí (0,165), koncentrací a počtem patologických změn krčku spermíí (0,145), celkovým počtem spermíí a změnami bičíku (0,259). Záporné korelace byly prokázány mezi objemem a změnami hlaviček spermíí (-0,185), mezi objemem a počtem zúžených a prodloužených hlaviček (-0,206) a mezi motilitou a celkovým počtem patologických změn spermíí (-0,162).

Další korelace byly zjištěny mezi počtem jednotlivých patologických změn. Kladné mezi celkovým počtem patologických změn a změnami hlavičky (0,487), zúženými a prodlouženými hlavičkami (0,493), krčkem (0,474), bičíkem (0,389), změnami hlaviček a zúženými a prodlouženými hlavičkami (0,874), zúženými a prodlouženými hlavičkami a změnami krčku (0,176). Záporné korelace potom mezi změnami hlaviček a bičíků (-0,193), zúženými a prodlouženými hlavičkami a bičíky (-0,203) a mezi patologickými změnami krčků a bičíků (-0,197).

## 6. DISKUZE

Podle literatury, která uvádí významný vliv dědičného založení na kvalitu kančího spermatu (Youngquist and Threlfall, 2007; Luc et al., 2013), se daly předpokládat značné rozdíly v hodnotách parametrů spermatu mezi jednotlivými plemeny.

Porovnáním průměrných hodnot objemu spermatu jednotlivých plemen byly zjištěny velké rozdíly. Kanci syntetických linií H38, H48, plemene BU a LA měli průměrné hodnoty objemu spermatu značně vyšší, než byly průměrné hodnoty kanců ostatních plemen. Hodnocením analýzy rozptýlů však mezi nimi nebyly prokázány statisticky významné rozdíly. Průkaznost předpokládaných rozdílů jednotlivých plemen byla tedy zřejmě setřena velkou mírou variability. Variabilita mohla být zvětšena jednak zařazením kanců různého věku, jednak i nedostatečně obsáhlým počtem případů. Nepotvrzení vlivu plemene na objem spermatu je v rozporu s literaturou, která udává vliv genetického založení plemene na objem spermatu (Věžník a kol., 2004) a pro objem spermatu také uvádí vyšší koeficient dědičnosti (Bonet et al., 2013).

Byl však prokázán vliv plemenné příslušnosti na koncentraci spermíí v ejakulátu, což odpovídá tvrzením, které udávali již Gamčík a Kozumplík, (1984). Zjištěné rozdíly u

jednotlivých plemen se však poněkud lišily. To mohlo být velkou mírou způsobeno značným genetickým pokrokem, dosaženým ve šlechtění plemen prasat. Statisticky vysoce významný rozdíl byl prokázán mezi hodnotami koncentrace spermií kanců syntetické linie H48 a kanců plemene LA a linie H34. Nadějně vyhlížející rozdíl mezi koncentrací spermií kanců plemen BO, H38 a kanců plemen LA a H34 se však ukázal jako statisticky nevýznamný, i když rozdíl mezi plemeny H34 a H38 (pravděpodobnost shody 0,087) a podobně mezi plemeny BO a H34 (pravděpodobnost shody 0,107) se statistické významnosti blížil.

Naopak podle očekávání se neukázal žádný vliv plemenné příslušnosti na pohyblivost spermií.

Z grafu závislosti celkového počtu spermií na plemenné příslušnosti se očekával rozdíl mezi kanci plemene LA a kanci plemen BO a H48. Statisticky významný rozdíl byl však potvrzen pouze mezi kanci plemen LA a BO, rozdíl mezi kanci LA a H48 byl už těsně za hranicí statistické významnosti (pravděpodobnost shody 0,060).

Graf, zobrazující vliv plemenné příslušnosti na celkový počet spermií se značně podobal grafu vlivu plemene na koncentraci spermií v ejakulátu, z čehož by se dalo vyvodit, že celkový počet spermií u kanců jednotlivých plemen je v úzké závislosti na koncentraci spermií v ejakulátu.

Zajímavější výsledky, než při sledování vlivu plemene na základní parametry spermatu, byly zjištěny při sledování vlivu plemenné příslušnosti na počet morfologických abnormalit spermií.

Byly prokázány statisticky významné rozdíly v procentickém podílu patologicky změněných spermií mezi kanci plemene LA a mezi kanci plemen H34, BU, H38 a H48. Očekávaný rozdíl mezi kanci plemen LA a BO se ukázal být statisticky nevýznamným.

Předpokládalo se rozdíl mezi plemeny LA a H34 v počtu patologických změn hlaviček spermií. Tento rozdíl byl ale zjištěn jako statisticky nevýznamný. Vliv plemenné příslušnosti na celkový počet patologicky změněných hlaviček spermií se tak nepodařilo prokázat.

Rovněž nebyl prokázán vliv plemenné příslušnosti na počet zúžených a prodloužených hlaviček spermií. Tento vliv však ani nebyl očekáván, vzhledem k vysoké vyrovnanosti počtu těchto změn u všech plemen.

Předpokládán byl však vliv plemenné příslušnosti na procento patologických změn krčku spermií. Podařilo se prokázat statisticky významný rozdíl v procentu těchto změn mezi kanci plemen DC a H48, H34 a H48, H38 a H48, DC a BU. Rozdíl mezi kanci plemen DC a LA (pravděpodobnost shody 0,095) a kanci DC a BO (pravděpodobnost shody 0,243) se ukázal být za hranicí statistické významnosti.

Podle předpokladu, na základě morfologického vyšetření, byl prokázán statisticky významný rozdíl v procentu patologických změn bičíku spermií mezi kanci plemene LA a kanci plemen H34, H38, BU a DC.

Přesto, že hodnocením vlivu plemenné příslušnosti na kvalitu spermatu kanců nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi všemi sledovanými plemeny, lze porovnáním grafů a průměrných hodnot vyhodnotit jako nejvýkonnější kance plemene landrase. Nejvýkonnější především z důvodu nejvyššího celkového počtu spermií v ejakulátu, což je jeden z rozhodujících ukazatelů, určujících, kolik inseminačních dávek je z daného ejakulátu možno vyrobit. Na druhou stranu však tito kanci dosáhli nejvyššího počtu patologicky změněných spermií, zejména počtu patologických abnormalit bičíku, který výrazně převyšoval počty, zjištěné u ostatních plemen. Tento ukazatel zase možnou výrobu inseminačních dávek snižuje. Zajímavé je, že nebyl zjištěn výrazný rozdíl v kvalitě spermatu mezi kanci mateřských a otcovských plemen. Stálo by za to, zaměřit se na možnosti ovlivnit zvýšení celkového počtu spermií u kanců plemene BO a H48, zejména prostřednictvím zvýšení koncentrace spermií v ejakulátu. Dále by bylo potřebné důkladně prozkoumat všechny vlivy, zvyšující počet patologických změn u kanců plemene LA.

Ze získaných výsledků bylo předpokládáno, že se podaří prokázat vliv věku kance na objem spermatu. Byl potvrzen statisticky významný rozdíl mezi objemem spermatu u kanců ve věku sedmi a patnácti měsíců, a mezi objemem spermatu kanců ve věku osmi a patnácti měsíců. Rozdíly v objemech ve věku 11 a 15, a ve věku 7 a 11 byly za statisticky významnou hranici. Ze zjištěných výsledků lze vyvodit, že věk kance se výrazně podílí na postupném zvyšování objemu spermatu.

Koncentrace spermií ve spermatu kanců se s měnícím věkem příliš nelišila, proto nebylo překvapením, že se nepodařilo prokázat vliv věku kance na koncentraci spermií v ejakulátu.

Stejně tak se nepodařilo prokázat vliv věku kance na procento pohyblivých spermií, neboť hodnoty motility byly značně vyrovnané u všech věkových kategorií. Tyto výsledky ale neodpovídají výsledkům udávaným literaturou (Hafez and Hafez, 2000).

Celkový počet spermií v ejakulátu kanců se s rostoucím věkem postupně zvyšoval. K velmi podobným závěrům došel například Smital (2009). Podařilo se prokázat statisticky významný rozdíl v celkovém počtu spermií mezi kanci ve věku 7 a 15, 7 a 11, 8 a 15 měsíců.

Graf, ukazující vliv věku kance na celkový počet spermií v podstatě kopíruje graf vlivu věku kance na objem spermatu. Z toho vyplývá, že celkový počet spermií u kanců



jednotlivých věkových kategorií je v úzké závislosti na objemu spermatu. Toto bylo také prokázáno výpočtem korelačního koeficientu.

Celkový počet patologických změn spermií se v jednotlivých věkových kategoriích výrazně nelišil. Proto se nepodařilo prokázat vliv věku kance na procento patologicky změněných spermií.

Počet patologických změn hlaviček spermií se postupně snižoval se vzrůstajícím věkem. Podařilo se prokázat statisticky významný rozdíl těchto změn mezi kanci ve věku 7 a 15, 8 a 15, 7 a 11 měsíců. Rozdíly mezi ostatními věkovými kategoriemi už nedosahovaly statisticky významných hodnot, přesto se podařil prokázat vliv věku kance na celkový počet patologických abnormalit hlaviček spermií.

Velmi podobný grafu vlivu věku kance na procento patologických změn hlavičky spermie byl také průběh grafu podílu zúžených a prodloužených hlaviček spermií v závislosti na věku. Také zde se počet abnormalit postupně snižoval se vzrůstajícím věkem. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn mezi věkovými kategoriemi 7 a 15 a také 8 a 15 měsíců. Výpočtem korelace pomocí Spearmanova korelačního koeficientu se podařilo prokázat závislost procenta zúžených a prodloužených hlaviček spermií na procentu patologicky změněných hlaviček.

Vliv věku kance na procentický podíl patologických abnormalit krčku spermií nebyl prokázán.

Prokázán však byl vliv věku kance na procento výskytu patologických změn bičíku spermií. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl ve výskytu těchto změn mezi kanci ve věku 7 a 15 a také ve věku 8 a 15 měsíců.

Zajímavým zjištěním bylo, že se podařilo prokázat výrazný vliv věku kance na zvyšování procenta patologických abnormalit bičíku spermie a zároveň prokázat vliv věku kance na procento patologických změn hlavičky spermie, které se naopak s rostoucím věkem snižovalo. Tento jev přisuzují vlivu fyziologických změn, probíhajícím v organismu dospívajícího kance, stálo by ale za to, tenhle rozpor důkladněji vyšetřit.

Průměrné hodnoty základních parametrů spermatu dosahovaly v průběhu jednotlivých ročních období malých rozdílů, větší rozdíly byly kompenzovány širším rozptylem jednotlivých hodnot. Proto mezi nimi nebyly zjištěny žádné statisticky významné odlišnosti.

Na rozdíl od Věžníka (2004) se nepodařilo prokázat vliv ročního období na objem kančího spermatu. Nebyl prokázán ani vliv ročního období na koncentraci spermií v ejakulátu, dosažené výsledky byly taktéž v rozporu se zjištěními, publikovanými Lucem et al. (2013). Také vliv ročního období na motilitu a celkový počet spermií se nepodařilo prokázat. Rovněž

rozdíly v parametrech morfologických abnormalit nedosahovaly statistické významnosti. Byl zjištěn pouze statisticky významný rozdíl mezi procentem výskytu patologických změn bičíku spermií v jarním a podzimním období.

Nebyla prokázána závislost sledovaných parametrů spermatu na měsíci odběru.

Rovněž nebyla prokázána závislost sledovaných parametrů spermatu na individualitě kance.

Co se týká jednotlivých sledovaných parametrů spermatu, prováděným šetřením bylo prokázáno, že objem spermatu je ovlivňován zejména věkem kance. Naproti tomu u koncentrace spermií v ejakulátu byl zjištěn větší vliv plemenné příslušnosti. Na celkový počet spermií v ejakulátu má vliv jak věk kance, tak i plemenná příslušnost, v závislosti na objemu spermatu a koncentraci spermií. Toto se také podařilo potvrdit pomocí výpočtu korelačního koeficientu. Procento pohyblivých spermií byl nejvyrovnanější parametr spermatu, u něhož se nepodařilo potvrdit vliv žádného ze sledovaných faktorů. Příčinou byla absolutně nejnížší variabilita ze všech hodnocených semenných ukazatelů.

Na celkový počet patologických změn spermií měla prokazatelně vliv plemenná příslušnost, na četnost patologicky změněných hlaviček spermií měl naopak vliv věk kance, stejně jako na četnost zúžených a prodloužených hlaviček spermií. Procento patologických změn krčku spermie bylo prokazatelně ovlivněno plemennou příslušností kance. Nejcitlivější na sledované faktory je zřejmě výskyt abnormalit bičíku spermií, neboť ten byl prokazatelně ovlivněn jak plemennou příslušností, tak věkem kance, a jako jediný ze sledovaných parametrů také ročním obdobím. Podíl těchto faktorů na četnost výskytu různých druhů patologických abnormalit vyšel souhlasně s tvrzením literatury (Serniene et al., 2005), na rozdíl od ní se však nepodařilo prokázat vliv individuality kance.

Překvapující byl také vysoký výskyt patologických abnormalit spermií, který značně převyšoval četnost vad udávanou Věžníkem a kol. (2004). Vysoký byl také podíl ejakulátů, nevyhovujících normě procentem patologických spermií, který byl extrémní zejména u plemen LA a DC, u kterých se jednalo téměř o všechny vyšetřované ejakuláty.

## 7. ZÁVĚR

Byl potvrzen vliv věku kance i vliv plemenné příslušnosti na jednotlivé parametry kančího spermatu. S věkem kance se zvyšuje zejména objem spermatu, vliv plemenné příslušnosti se projevuje hlavně na koncentraci spermií. S věkem kanců se zvyšuje procento patologických abnormalit bičíku spermie, naopak se snižuje procento patologických změn hlavičky spermie. Plemenná příslušnost ovlivňuje především procento výskytu abnormalit krčku a bičíku. S věkem se snížil podíl ejakulátů, nevyhovujícím normě z důvodu malého objemu. Ejakuláty, nevyhovující nízkou koncentrací spermií, se téměř nevyskytovaly, podíl ejakulátů s nevyhovující motilitou se s věkem lehce zvýšil, podíl ejakulátů nevyhovujícím počtem morfologických abnormalit byl poměrně vyrovnaný, ale dosti vysoký.

Vliv ročního období byl potvrzen pouze na procento výskytu morfologických změn. Naopak se nepodařilo potvrdit průkazný vliv měsíce odběru ani individuality kance na žádný z posuzovaných kvalitativních parametrů ejakulátu.

Nejvýkonnějšími byli zjištěni kanci plemene LA, z důvodu nejvyššího celkového počtu spermií v ejakulátu. Na druhou stranu však tito kanci dosáhli nejvyššího počtu patologicky změněných spermií. Spolu s kanci plemene DC měli také nejvyšší podíl spermatu nevyhovujícího normě procentem patologických spermií.

Nejcitlivější na sledované faktory je zřejmě výskyt abnormalit bičíku spermií, neboť ten byl prokazatelně ovlivněn jak plemennou příslušností, tak věkem kance, a jako jediný ze sledovaných parametrů také ročním obdobím. Naopak motilita má nejnížší variabilitu ze všech hodnocených ukazatelů, nepodařilo se u ní potvrdit vliv žádného ze sledovaných faktorů.

Výsledků lze využít zejména při selekci kanců. Pravděpodobně bude vhodnější počkat s výběrem kanců do pozdějšího věku, kdy budou hodnoty jednotlivých parametrů ustálenější. Předejde se tak zbytečnému vyřazení kvalitních kanců s dosud nezrálým spermatem.

## 8. SEZNAM LITERATURY

- Andersson, M., Peltoniemi, O., Makinen, A., Sukura, A., Rodriguez-Martinez, H. 2000. The Hereditary 'Short Tail' Sperm Defect - A New Reproductive Problem in Yorkshire Boars. *Reproduction in Domestic Animals*, 35(2). 59-63.
- Badia, E., Pinart, E., Briz, M. 2005. Lectin histochemistry of the boar bulbourethral flanda. *European Journal of Histochemistry*. 49 (2). 131-138.
- Banas, K., Banasik, T., Szczesniak-Fabianczyk, B. 2006. Evaluation of boar spermatozoa motility by pulsed field gradient NMR. *Polish Journal of Chemistry*. 80 (7). 1075-1082.
- Banaszewska, D., Kondracki, S., Wysokinska, A. 2011. Effect of age on the dimensions and shape of spermatozoa of Large White Polish boars. *Archiv fur tierzucht-archives of animal breeding*. 54 (5). 504-514.
- Bilskis, R., Sutkeviciene, N., Riskeviciene, V., Januskauskas, A., Zilinskas, H. 2012. Effect of active immunization against GnRH on testosterone concentration, libido and sperm quality in mature AI boars. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 54. 18.
- Bonet, S., Briz, M., Yeste, M. 2012. A Proper Assessment of Boar Sperm Function May Not Only Require Conventional Analyses but Also Others Focused on Molecular Markers of Epididymal Maturation. *Reproduction in Domestic Animals*. 47 (3). 52-64.
- Bonet, S., Garcia, E., Sepúlveda, L. 2013. *Boar Reproduction*. Springer. Berlin. ISBN: 978-3-642-35048-1.
- Bronicka, A., Dembinski, Z. 1999. Current criteria and conditions influencing the quality of boar semen. *Medycyna Weterynaryjna*. 55 (7). 436-439.
- Cigánková, V., Mesároš, P., Almášiová, V., Bíreš, J. 2008. Morphological changes of testes in zinc deficient boars. *Acta Veterinaria*. 58 (1). 89-97.
- Cortinovis, C., Pizzo, F., Spicer, L. J., Caloni, F. 2013. Fusarium mycotoxins: Effects on reproductive function in domestic animals. *Theriogenology*. 80 (6). 557-564.
- De Jonge, C., Barratt, C. L. R. 2006. Gamete donation: a question of anonymity. *Fertility and Sterility*. 85 (2). 500-501.
- Franca, L. R., Avelar, G. F., Almeida, F. F. L. 2005. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology*. 63 (2). 300-318.
- Gadella, B. M., Harrison, R. A. P. 2002. Capacitation Induces Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate-Dependent, but Apoptosis-Unrelated, Exposure of Aminophospholipids at

the Apical Head Plasma Membrane of Boar Sperm Cells. *Biology of Reproduction*. 67 (1). 340-350.

Gamčík, P., Kozumplík, J. 1984. *Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat*. Príroda. Bratislava. 344 s.

Gatti, J. L., Castella, S., Dacheux, F., Ecroyd, H., Métayer, S. 2004. Post-testicular sperm environment and fertility. *Animal Reproduction Science*. 82-83. 321-339.

Gordon, I. 1997. *Controlled reproduction in pigs*. CAB International. Oxon. p. 239. ISBN: 0851991165.

Haden, N. P., Hickox, J. R., Whisnant, C. S. 2000. Systematic characterization of sperm-specific membrane proteins in swine. *Biology of Reproduction*. 63 (6). 1839-1847.

Hafez, B., Hafez, E. S. E. 2000. *Reproduction in farm animals*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. p. 509. ISBN: 0683305778.

Huang, Y. H., Lo, L. L., Liu, S. H., Yang, T. S. 2010. Age-related changes in semen quality characteristics and expectations of reproductive longevity in Duroc boars. *Animal Science Journal*. 81 (4). 432-437.

Kliment, J., Hintnaus, J., Novák, M., Rob, O., Šťastný, P. 1983. *Reprodukcia hospodárskych zvierat*. Príroda. Bratislava. 376 s.

Kondracki, S., Wysokinska, A., Iwanina, M., Banaszewska, D., Sitarz, D. 2011. Effect of sperm concentration in an ejaculate on morphometric traits of spermatozoa in Duroc boars. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 14 (1). 35-40.

López, A., Rijsselaere, T., Van Soom, A., Leroy, J., De Clercq, J., Bols, P., Maes, D. 2010. Effect of Organic Selenium in the Diet on Sperm Quality of Boars. *Reproduction in Domestic Animals*. 45 (6). 297-305.

Lovercamp, K. W., Stewart, K. R., Lin, X., Flowers, W. L. 2013. Effect of dietary selenium on boar sperm quality. *Animal Reproduction Science*. 138 (3). 268-275.

Luc, D. D., Bo, H. X., Frédéric, F., Leroy, P., Binh, D. V. 2013. Growth performance and sperm quality of stress negative piétrain boars and their hybrids with duroc. *J. Sci. & Devel*. 11 (2). 217-222.

Maňásková-Postlerová, P., Davidová, N., Jonáková, V. 2011. Biochemical and binding characteristics of boar epididymal fluid proteins. *Journal of Chromatography B*. 879 (1). 100-106.

Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, L., Vernerová, E. 2007. *Morfologie hospodárskych zvierat*. Brázda. Praha. 304 s. ISBN: 9788021316584

- Moraes, E. A., Torres, C. A. A., Guimaraes, J. D., Murgas, L. D. S. 2010. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 62 (3).
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. 2001. Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. Harcourt Publishers Limited. London. p. 868. ISBN: 0702025569.
- Parry, R. V., Barker, P. J., Jones, R. 1992. Characterization of Low Mr Zona-Pellucida Binding-Proteins from Boar Spermatozoa and Seminal Plasma. Molecular Reproduction and Development. 33 (1). 108-115.
- Pinart, E., Sancho, S., Briz, M. D. 2000. Ultrastructural study of the boar seminiferous epithelium: Changes in cryptorchidism. Journal of Morphology. 244 (3). 190-202.
- Prieto, C., Suarez, P., Bautista, J. M. 1996. Semen changes in boars after experimental infection with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. Theriogenology. 45 (2). 383-395.
- Quintero-Moreno, A., Carvalho, J., González, D., Morales, B., Mejía, W., Osorio, C., Rubio, J. 2009. Biometria De La Cabeza Del Espermatozoide Del Cerdo Domestico. Jornadas sobre Producción Animal. 13 (2). 726-728.
- Radomil, L., Pettitt, M., Merkies, K., Hickey, K., Buhr, M. 2011. Stress and Dietary Factors Modify Boar Sperm for Processing. Reproduction in Domestic Animals. 46 (2). 39-44.
- Reece, W. O., 1998. Fyziologie domácích zvířat. Grada. Praha. 456 s. ISBN: 8071695475.
- Rodríguez, A. L., Rijsselaere T., Beek, J., Vyt, P., Soom, A. V., Maes, D. 2013. Boar seminal plasma components and their relation with semen quality. Systems Biology in Reproductive Medicine. 59 (1). 5-12.
- Rodriguez-Martinez, H. 2001. Sperm function in cattle and pigs: morphological and functional aspects. Archiv fur Tierzucht. 44. 102-113.
- Rooke, J. A., Shao, C. C., Speake, B. K. 2001. Effects of feeding tuna oil on the lipid composition of pig spermatozoa and in vitro characteristics of semen. Reproduction. 121 (2). 315-322.
- Schulze, M., Revilla-Fernández, S., Schmoll, F., Rudolf Grossfeld, R., Griessler, A. 2013. Effects on boar semen quality after infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a case report. Acta Veterinaria Scandinavica. 55(1). 16.
- Sepúlveda, L., Bussalleu, E., Yeste, M., Torner, E., Bonet, S. 2013. How do different concentrations of *Clostridium perfringens* affect the quality of extended boar spermatozoa? Animal Reproduction Science 140 (1). 83-91.

- Serniene, L., Riskeviciene, V., Banys, A. 2005. Assessment of factors influencing the culling rate of boars with reproductive disorders in Lithuanian AI Centres. *Medycyna Weterynaryjna*. 61 (9). 986-990.
- Smital, J. 2009. Effects influencing boar semen. *Animal Reproduction Science*. 110 (3-4). 335-346.
- Suriyasomboon, A., Lundeheim, N., Kunavongkrit, A., Einarsson S. 2005. Effect of Temperature and Humidity on Sperm Morphology in Duroc Boars Under Different Housing Systems in Thailand. *Journal of Veterinary Medical Science*. 67 (8). 777-785.
- Tsakmakidis, Ioannis A., Khalifa, Tarek A. A., Boscov, Costas M. 2012. Age-related changes in quality and fertility of porcine semen. *Biological research*. 45 (4). 381-386.
- Vadnais, M. L., Althouse, G. C. 2011. Characterization of capacitation, cryoinjury, and the role of seminal plasma in porcine sperm. *Theriogenology*. 76 (8). 1508-1516.
- Věžník, Z. (eds.). 2000. Hodnocení semene pro asistovanou reprodukci a výběr plemeniků. Striktní analýza spermatické morfologie SASMO. VÚVL. Brno, 141 s.
- Věžník, Z., Švecová, D., Zajícová, A., Přinosilová, P. 2004. Repetitorium spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy. VÚVL. Brno. 198 s. ISBN: 8086895017.
- Vyt, P., Maes, D., Quinten, C. 2008. Detailed motility evaluation of boar semen and its predictive value for reproductive performance in sows. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 77 (5). 291-298.
- Walker, S., Robison, O. W., Whisnant, C. S. Effect of divergent selection for testosterone production on testicular morphology and daily sperm production in boars. 2004. *Journal of animal science*. 82 (8). 2259-2263.
- Wysokinska, A., Kondracki, S., Banaszewska, D. 2009. Morphometrical characteristics of spermatozoa in Polish Landrace boars with regard to the number of spermatozoa in an ejaculate. *Reproductive Biology*. 9 (3). 271-282.
- Yeste, M., Briz, M., Pinart, E. 2010. The osmotic tolerance of boar spermatozoa and its usefulness as sperm quality parameter. *Animal Reproduction Science*. 119 (3-4). 265-274.
- Youngquist, R. S., Threlfall, W. R. 2007. Current therapy in large animal theriogenology. Saunders Elsevier. St. Louis. p. 1061. ISBN: 0721693237.
- ČSN 467114. Sperma kance. 1996. Český normalizační institut. Praha. 8 s.

## 9. PŘÍLOHY

### Seznam příloh:

- Příloha. č. 1: Vzorový protokol vyšetření spermatu kance
- Příloha. č. 2: Závislost objemu spermatu na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 3: Závislost koncentrace spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 4: Závislost motility spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 5: Závislost celkového počtu spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 6: Závislost % patologických spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 7: Závislost % patologických hlaviček spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 8: Závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 9: Závislost % patologických krčků spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 10: Závislost % patologických bičků spermií na plemenné příslušnosti
- Příloha. č. 11: Popisné statistiky - závislost objemu spermatu na plemeni
- Příloha. č. 12: Popisné statistiky - závislost koncentrace spermií na plemeni
- Příloha. č. 13: Popisné statistiky - závislost motility spermií na plemeni
- Příloha. č. 14: Popisné statistiky - závislost celkového počtu spermií na plemeni
- Příloha. č. 15: Popisné statistiky - závislost % patologických spermií na plemeni
- Příloha. č. 16: Popisné statistiky - závislost % patologických hlaviček spermií na plemeni
- Příloha. č. 17: Popisné statistiky - závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na plemeni
- Příloha. č. 18: Popisné statistiky - závislost % patologických krčků spermií na plemeni
- Příloha. č. 19: Popisné statistiky - závislost % patologických bičků spermií na plemeni
- Příloha. č. 20: Popisné statistiky - závislost objemu spermatu na věku
- Příloha. č. 21: Popisné statistiky - závislost koncentrace spermií na věku
- Příloha. č. 22: Popisné statistiky - závislost motility spermií na věku
- Příloha. č. 23: Popisné statistiky - závislost celkového počtu spermií na věku
- Příloha. č. 24: Popisné statistiky - závislost % patologických spermií na věku
- Příloha. č. 25: Popisné statistiky - závislost % patologických hlaviček spermií na věku
- Příloha. č. 26: Popisné statistiky - závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na věku



Příloha. č. 27: Popisné statistiky - závislost % patologických krčků spermií na věku  
Příloha. č. 28: Popisné statistiky - závislost % patologických bičků spermií na věku  
Příloha. č. 29: Závislost objemu spermatu na věku  
Příloha. č. 30: Závislost koncentrace spermií na věku  
Příloha. č. 31: Závislost motility spermií na věku  
Příloha. č. 32: Závislost celkového počtu spermií na věku  
Příloha. č. 33: Závislost % patologických spermií na věku  
Příloha. č. 34: Závislost % patologických hlaviček spermií na věku  
Příloha. č. 35: Závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na věku  
Příloha. č. 36: Závislost % patologických krčků spermií na věku  
Příloha. č. 37: Závislost % patologických bičků spermií na věku  
Příloha. č. 38: Závislost objemu spermatu na ročním období  
Příloha. č. 39: Závislost koncentrace spermií na ročním období  
Příloha. č. 40: Závislost motility spermií na ročním období  
Příloha. č. 41: Závislost celkového počtu spermií na ročním období  
Příloha. č. 42: Závislost % patologických spermií na ročním období  
Příloha. č. 43: Závislost % patologických hlaviček spermií na ročním období  
Příloha. č. 44: Závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na ročním období  
Příloha. č. 45: Závislost % patologických krčků spermií na ročním období  
Příloha. č. 46: Závislost % patologických bičků spermií na ročním období  
Příloha. č. 47: Popisné statistiky - závislost objemu spermatu na ročním období  
Příloha. č. 48: Popisné statistiky - závislost koncentrace spermií na ročním období  
Příloha. č. 49: Popisné statistiky - závislost motility spermií na ročním období  
Příloha. č. 50: Popisné statistiky - závislost celkového počtu spermií na ročním období  
Příloha. č. 51: Popisné statistiky - závislost % patologických spermií na ročním období  
Příloha. č. 52: Popisné statistiky - závislost % patologických hlaviček spermií na ročním období  
Příloha. č. 53: Popisné statistiky - závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na ročním období  
Příloha. č. 54: Popisné statistiky - závislost % patologických krčků spermií na ročním období  
Příloha. č. 55: Popisné statistiky - závislost % patologických bičků spermií na ročním období  
Příloha. č. 56: Popisné statistiky testovaných parametrů kančího spermatu  
Příloha. č. 57: Závislosti testovaných parametrů kančího spermatu

## Příloha. č. 1: Vzorový protokol vyšetření spermatu kance

kanec	DMK 77	DMK 77	DMK 77	DMK 77
<b>plemenná příslušnost</b>	DC	DC	DC	DC
<b>datum narození</b>	29.10.2009	29.10.2009	29.10.2009	29.10.2009
<b>datum odběru</b>	29.5.2010	3.7.2010	26.9.2010	24.1.2011
<b>roční období</b>	J	L	P	Z
<b>věk - dny</b>	212	247	332	452
<b>věk - měsíce</b>	7,1	8,2	11,1	15,1
<b>objem</b>	265	195	174	258
<b>koncentrace</b>	513	558	542	560
<b>motilita</b>	70	70	75	60
<b>celkový počet spermií</b>	135 945 000 000	108 810 000 000	94 308 000 000	144 480 000 000
vyšetřeno spermií	200	200	200	200
normospermie	126	140	129	117
patologicky změn.	74	59	70	81
volné hlavičky	0	0	0	0
volné bičíky	0	0	0	0
proximální kapénka	0	1	1	2
<b>hlavička celkem</b>	<b>55</b>	<b>22</b>	<b>17</b>	<b>27</b>
makrocefalie	1	0	1	1
mikrocefalie	2	1	0	2
zúžená, prodloužená	19	18	14	14
hruškovitá (pyriformní)	0	0	0	1
teratoidní	1	2	0	2
abortivní (pyktonická)	1	0	0	0
diadém defekt	0	0	0	0
hřebenovitá hlavička (krista)	0	0	0	0
zdvojená hlavička	0	0	1	1
perzistující akroblast	1	0	0	2
kondenzace akrozomu	0	0	0	0
zbobtnání akrozomu	28	0	0	1
uvolnění akrozomu	0	0	0	0
bez akrozomu	0	1	1	3
vakuolizace v akrozomu	0	0	0	0
mramorování	0	0	0	0
nejasný ekvatoriální segment	0	0	0	0
změněná báze hlavičky	2	0	0	0
<b>krček celkem</b>	<b>27</b>	<b>38</b>	<b>38</b>	<b>51</b>
abnormální postavení inserce bičíku	27	38	36	47
rozvolnění vazby v implantační rýze	0	0	0	0
rezidua cytoplazmatu v oblasti krčku	0	0	2	4
<b>spojovací část celkem</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
ztluštělá	0	0	1	1
zúžená, prodloužená	0	0	0	0
změněná délka	0	0	0	0
rozvolnění mitochondriální spirály	0	0	0	0
parciální absence mitochond. spirály	0	0	0	0
vývrtkovitý tvar	0	0	0	0
pseudokapénka	0	0	0	0
zdvojení	0	0	0	0
<b>bičík celkem</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>19</b>	<b>12</b>
ohnutí bičíku	0	5	18	11
stočení bičíku	0	0	0	0
svinutí bičíku	0	0	0	0
primární svinutí bičíku - Dag efekt	2	0	1	1
zalomení bičíku	0	0	0	0
ageneze bičíku - hypogeneze	0	0	0	0
zdvojení bičíku	0	0	0	0

## Příloha. č. 2: Závislost objemu spermatu na plemenné příslušnosti

Scheffeho test; proměnná objem (TABULKA 16.2.14)							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 7139,0, sv = 188,00							
plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
H34	165,06	205,50	186,56	210,25	206,61	213,07	173,75
LA	0,830525		0,998804	0,999999	1,000000	0,999988	0,979827
DC	0,991994	0,998804		0,989824	0,996752	0,984257	0,999875
H38	0,412159	0,999999	0,989824		0,999999	1,000000	0,912422
BU	0,619288	1,000000	0,996752	0,999999		0,999987	0,956124
H48	0,406611	0,999988	0,984257	1,000000	0,999987		0,893293
BO	0,999955	0,979827	0,999875	0,912422	0,956124	0,893293	

## Příloha. č. 3: Závislost koncentrace spermií na plemenné příslušnosti

Scheffeho test; proměnná koncentrace (TABULKA 16.2.14)							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 32261,, sv = 188,00							
plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
H34	606,09	629,94	551,63	475,89	524,96	381,23	439,00
LA	0,999799		0,957428	0,233692	0,746301	0,003821	0,177951
DC	0,979800	0,957428		0,921533	0,999777	0,159452	0,789488
H38	0,086641	0,233692	0,921533		0,977641	0,604276	0,998167
BU	0,711755	0,746301	0,999777	0,977641		0,165416	0,885664
H48	0,000088	0,003821	0,159452	0,604276	0,165416		0,982070
BO	0,106737	0,177951	0,789488	0,998167	0,885664	0,982070	

## Příloha. č. 4: Závislost motility spermií na plemenné příslušnosti

Scheffeho test; proměnná motilita (TABULKA 16.2.14)							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 60,797, sv = 188,00							
plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
H34	69,434	69,062	66,250	71,528	69,286	71,167	70,000
LA	1,000000		0,983687	0,980841	1,000000	0,992944	0,999968
DC	0,914119	0,983687		0,536049	0,955873	0,656749	0,932038
H38	0,955695	0,980841	0,536049		0,971019	0,999999	0,998596
BU	1,000000	1,000000	0,955873	0,971019		0,990671	0,999987
H48	0,987310	0,992944	0,656749	0,999999	0,990671		0,999749
BO	0,999994	0,999968	0,932038	0,998596	0,999987	0,999749	

### Příloha. č. 5: Závislost celkového počtu spermií na plemenné příslušnosti

Scheffeho test; proměnná celkový počet spermií (TABULKA 16.2.14)  
 Pravděpodobnosti pro post-hoc testy  
 Chyba: meziskup. PČ = 155E19, sv = 188,00

plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
	9523E7	1194E8	1014E8	9566E7	9998E7	7663E7	6919E7
H34		0,590005	0,999435	1,000000	0,999635	0,640057	0,498451
LA	0,590005		0,946750	0,670114	0,868087	0,060144	0,047253
DC	0,999435	0,946750		0,999721	1,000000	0,655964	0,498082
H38	1,000000	0,670114	0,999721		0,999864	0,700918	0,544491
BU	0,999635	0,868087	1,000000	0,999864		0,534200	0,402021
H48	0,640057	0,060144	0,655964	0,700918	0,534200		0,999027
BO	0,498451	0,047253	0,498082	0,544491	0,402021	0,999027	

### Příloha. č. 6: Závislost % patologických spermií na plemenné příslušnosti

Scheffeho test; proměnná patologicky změn. (TABULKA 16.2.14)  
 Pravděpodobnosti pro post-hoc testy  
 Chyba: meziskup. PČ = 490,06, sv = 188,00

plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
	58,094	88,688	71,750	63,250	55,786	62,600	65,125
H34		0,001046	0,587021	0,978269	0,999842	0,992066	0,974414
LA	0,001046		0,586157	0,027138	0,001511	0,028466	0,176694
DC	0,587021	0,586157		0,949418	0,508791	0,937711	0,993988
H38	0,978269	0,027138	0,949418		0,937057	1,000000	0,999990
BU	0,999842	0,001511	0,508791	0,937057		0,966957	0,935269
H48	0,992066	0,028466	0,937711	1,000000	0,966957		0,999949
BO	0,974414	0,176694	0,993988	0,999990	0,935269	0,999949	

### Příloha. č. 7: Závislost % patologických hlaviček spermií na plemenné příslušnosti

Scheffeho test; proměnná hlavička celkem (TABULKA 16.2.14)  
 Pravděpodobnosti pro post-hoc testy  
 Chyba: meziskup. PČ = 250,85, sv = 188,00

plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
	25,321	39,813	29,375	29,028	26,679	32,567	29,812
H34		0,119572	0,991746	0,977709	0,999950	0,675423	0,985752
LA	0,119572		0,746764	0,528444	0,325781	0,900986	0,783897
DC	0,991746	0,746764		1,000000	0,999507	0,998610	1,000000
H38	0,977709	0,528444	1,000000		0,999217	0,991420	1,000000
BU	0,999950	0,325781	0,999507	0,999217		0,918581	0,998831
H48	0,675423	0,900986	0,998610	0,991420	0,918581		0,999402
BO	0,985752	0,783897	1,000000	1,000000	0,998831	0,999402	

**Příloha. č. 8: Závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na plemenné příslušnosti**

Scheffeho test; proměnná zúžená, prodloužená (TABULKA 16.2.14)							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 201,54, sv = 188,00							
plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
	18,755	28,125	21,312	20,806	19,071	21,667	18,688
H34		0,501583	0,998829	0,998378	1,000000	0,991726	1,000000
LA	0,501583		0,932733	0,814760	0,657807	0,903415	0,738673
DC	0,998829	0,932733		1,000000	0,999681	1,000000	0,999604
H38	0,998378	0,814760	1,000000		0,999745	0,999995	0,999707
BU	1,000000	0,657807	0,999681	0,999745		0,997976	1,000000
H48	0,991726	0,903415	1,000000	0,999995	0,997976		0,998251
BO	1,000000	0,738673	0,999604	0,999707	1,000000	0,998251	

**Příloha. č. 9: Závislost % patologických krčků spermií na plemenné příslušnosti**

Scheffeho test; proměnná krček celkem (TABULKA 16.2.14)							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 192,18, sv = 188,00							
plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
	29,321	21,063	37,313	29,333	21,607	16,867	23,437
H34		0,628475	0,665399	1,000000	0,463818	0,020145	0,898004
LA	0,628475		0,094903	0,684344	1,000000	0,986955	0,999746
DC	0,665399	0,094903		0,720861	0,046888	0,001399	0,243222
H38	1,000000	0,684344	0,720861		0,559205	0,044272	0,918402
BU	0,463818	1,000000	0,046888	0,559205		0,944829	0,999888
H48	0,020145	0,986955	0,001399	0,044272	0,944829		0,884385
BO	0,898004	0,999746	0,243222	0,918402	0,999888	0,884385	

**Příloha. č. 10: Závislost % patologických bičků spermií na plemenné příslušnosti**

Scheffeho test; proměnná bičik celkem (TABULKA 16.2.14)							
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy							
Chyba: meziskup. PČ = 407,71, sv = 188,00							
plemenná příslušnost	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}
	8,5283	38,063	12,313	12,806	12,536	18,267	16,938
H34		0,000361	0,998535	0,986735	0,993869	0,615940	0,906180
LA	0,000361		0,047832	0,010236	0,015036	0,130045	0,194291
DC	0,998535	0,047832		1,000000	1,000000	0,988638	0,998647
H38	0,986735	0,010236	1,000000		1,000000	0,976595	0,998204
BU	0,993869	0,015036	1,000000	1,000000		0,978082	0,997977
H48	0,615940	0,130045	0,988638	0,976595	0,978082		0,999998
BO	0,906180	0,194291	0,998647	0,998204	0,997977	0,999998	

**Příloha. č. 11: Popisné statistiky - závislost objemu spermatu na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (objem - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	173,7500	37,00000	321,0000	84,8202	48,81738
BU	206,6071	31,00000	395,0000	81,6380	39,51365
DC	186,5625	85,00000	326,0000	71,9907	38,58799
H34	165,0566	59,00000	307,0000	61,0461	36,98497
H38	210,2500	47,00000	544,0000	101,3879	48,22255
H48	213,0667	65,00000	418,0000	89,4288	41,97222
LA	205,5000	45,00000	541,0000	112,8498	54,91472

**Příloha. č. 12: Popisné statistiky - závislost koncentrace spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (koncentrace - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	439,0000	190,0000	975,000	216,5022	49,31713
BU	524,9643	224,0000	930,000	195,7696	37,29199
DC	551,6250	300,0000	882,000	152,7512	27,69112
H34	606,0943	216,0000	1109,000	185,7809	30,65214
H38	475,8889	111,0000	944,000	179,9873	37,82128
H48	381,2333	73,00000	685,000	133,5736	35,03723
LA	629,9375	380,0000	929,000	188,1884	29,87413

**Příloha. č. 13: Popisné statistiky - závislost motility spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (motilita - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	70,00000	50,00000	80,00000	6,83130	9,75900
BU	69,28571	50,00000	75,00000	5,39449	7,78586
DC	66,25000	50,00000	75,00000	7,41620	11,19426
H34	69,43396	40,00000	85,00000	9,02243	12,99426
H38	71,52778	40,00000	80,00000	7,54221	10,54445
H48	71,16667	60,00000	80,00000	5,82553	8,18575
LA	69,06250	30,00000	80,00000	11,28698	16,34313

**Příloha. č. 14: Popisné statistiky - závislost celkového počtu spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (cps - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	6,918038E+10	2,063600E+10	1,400560E+11	3,868880E+10	55,92454
BU	9,997771E+10	1,853800E+10	1,663360E+11	3,684139E+10	36,84960
DC	1,014815E+11	3,367000E+10	1,975560E+11	4,229867E+10	41,68117
H34	9,523389E+10	2,665600E+10	2,082800E+11	3,469871E+10	36,43525
H38	9,565711E+10	8,547000E+09	2,203200E+11	4,811415E+10	50,29856
H48	7,663413E+10	1,095000E+10	1,644000E+11	3,213242E+10	41,92964
LA	1,194645E+11	2,128500E+10	2,055800E+11	4,618253E+10	38,65795

**Příloha. č. 15: Popisné statistiky - závislost % patologických spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (pat.změn - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	65,12500	29,00000	117,0000	24,38271	37,43987
BU	55,78571	22,00000	109,0000	20,44932	36,65691
DC	71,75000	51,00000	99,0000	13,52282	18,84714
H34	58,09434	25,00000	162,0000	21,22794	36,54047
H38	63,25000	28,00000	112,0000	20,34611	32,16777
H48	62,60000	27,00000	119,0000	24,77290	39,57332
LA	88,68750	40,00000	148,0000	29,95712	33,77829

**Příloha. č. 16: Popisné statistiky - závislost % patologických hlaviček spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (hlav. - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	29,81250	4,00000	83,00000	19,63065	65,84705
BU	26,67857	9,00000	56,00000	12,74553	47,77439
DC	29,37500	11,00000	55,00000	12,18127	41,46815
H34	25,32075	6,00000	58,00000	11,86101	46,84304
H38	29,02778	9,00000	70,00000	15,84115	54,57239
H48	32,56667	9,00000	78,00000	17,55913	53,91749
LA	39,81250	15,00000	97,00000	25,46689	63,96707

**Příloha. č. 17: Popisné statistiky - závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (zůž.,prodl. - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	18,68750	1,000000	65,00000	16,74801	89,62146
BU	19,07143	2,000000	48,00000	12,12872	63,59628
DC	21,31250	9,000000	48,00000	10,47994	49,17274
H34	18,75472	2,000000	51,00000	11,57236	61,70371
H38	20,80556	4,000000	68,00000	14,60493	70,19726
H48	21,66667	4,000000	76,00000	16,48894	76,10279
LA	28,12500	3,000000	67,00000	19,57507	69,60025

**Příloha. č. 18: Popisné statistiky - závislost % patologických krčků spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (krček - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	23,43750	5,00000	56,00000	17,18126	73,30673
BU	21,60714	4,00000	61,00000	13,70952	63,44904
DC	37,31250	13,00000	74,00000	14,57266	39,05571
H34	29,32075	5,00000	63,00000	13,33413	45,47676
H38	29,33333	6,00000	78,00000	16,61497	56,64193
H48	16,86667	3,00000	46,00000	9,89160	58,64583
LA	21,06250	5,00000	43,00000	10,63622	50,49837

**Příloha. č. 19: Popisné statistiky - závislost % patologických bičků spermií na plemeni**

Proměnná	Popisné statistiky (bičků - vliv plemene 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
BO	16,93750	0,000000	84,0000	22,27246	131,4979
BU	12,53571	0,000000	81,0000	15,53367	123,9153
DC	12,31250	0,000000	33,0000	10,44170	84,8057
H34	8,52830	0,000000	126,0000	18,03693	211,4950
H38	12,80556	0,000000	71,0000	16,49731	128,8293
H48	18,26667	2,000000	112,0000	25,22305	138,0824
LA	38,06250	0,000000	127,0000	32,82777	86,2470

**Příloha. č. 20: Popisné statistiky - závislost objemu spermatu na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (objem - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	155,0938	59,00000	299,0000	66,56084	42,91652
9	173,1538	31,00000	372,0000	70,33785	40,62159
11	197,9375	45,00000	541,0000	82,25606	41,55658
15	236,5600	85,00000	544,0000	99,07473	41,88144

**Příloha. č. 21: Popisné statistiky - závislost koncentrace spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (koncentrace - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	510,9375	258,0000	1109,000	208,7854	40,86320
9	524,5231	111,0000	975,000	182,6703	34,82598
11	546,7292	73,0000	954,000	193,6759	35,42448
15	492,6600	155,0000	930,000	206,7843	41,97302

**Příloha. č. 22: Popisné statistiky - závislost motility spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (motilita - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	68,43750	40,00000	80,00000	8,273305	12,08885
9	71,38462	50,00000	85,00000	5,694549	7,97728
11	70,20833	40,00000	80,00000	7,852248	11,18421
15	68,30000	30,00000	80,00000	9,455049	13,84341

**Příloha. č. 23: Popisné statistiky - závislost celkového počtu spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (cps - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	7,527666E+10	2,096000E+10	1,359450E+11	3,351074E+10	44,51678
9	8,473198E+10	8,547000E+09	1,616460E+11	3,239770E+10	38,23550
11	1,033361E+11	1,095000E+10	2,055800E+11	4,161657E+10	40,27302
15	1,070982E+11	2,665600E+10	2,203200E+11	4,736013E+10	44,22122



**Příloha. č. 24: Popisné statistiky - závislost % patologických spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (pat.změn - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	61,56250	28,00000	111,0000	20,96070	34,04783
9	61,76923	22,00000	110,0000	17,93980	29,04327
11	62,77083	27,00000	129,0000	23,84011	37,97959
15	68,14000	25,00000	162,0000	30,07067	44,13072

**Příloha. č. 25: Popisné statistiky - závislost % patologických hlaviček spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (hlavičky - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	38,37500	11,00000	78,00000	16,12402	42,01698
9	31,84615	4,00000	82,00000	15,54151	48,80184
11	27,75000	7,00000	97,00000	17,21763	62,04552
15	21,30000	6,00000	70,00000	11,48602	53,92496

**Příloha. č. 26: Popisné statistiky - závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (zúžené,prodloužené - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	26,96875	6,000000	76,00000	16,51878	61,25154
9	22,61538	1,000000	67,00000	13,30612	58,83659
11	19,62500	2,000000	65,00000	14,11597	71,92851
15	14,84000	2,000000	68,00000	11,71143	78,91798

**Příloha. č. 27: Popisné statistiky - závislost % patologických krčků spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (krček - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	22,75000	5,000000	63,00000	13,14191	57,76662
9	24,92308	3,000000	74,00000	14,29959	57,37491
11	25,35417	5,000000	56,00000	13,02941	51,38962
15	29,30000	3,000000	78,00000	17,67190	60,31364

**Příloha. č. 28: Popisné statistiky - závislost % patologických bičků spermií na věku**

Proměnná	Popisné statistiky (bičků - vliv věku 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
7	5,96875	0,00	25,0000	6,93511	116,1903
9	10,89231	0,00	71,0000	13,79778	126,6746
11	16,02083	0,00	85,0000	18,86288	117,7397
15	24,42000	0,00	127,0000	31,82419	130,3202

**Příloha. č. 29: Závislost objemu spermatu na věku**

Scheffeho test; proměnná objem (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 6560,0, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		155,09	173,15	197,94	236,56
1	7		0,785290	0,150319	0,000296
2	8	0,785290		0,461956	0,000845
3	11	0,150319	0,461956		0,138430
4	15	0,000296	0,000845	0,138430	

**Příloha. č. 30: Závislost koncentrace spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná koncentrace (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 38456,, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		510,94	524,52	546,73	492,66
1	7		0,991456	0,887174	0,982300
2	8	0,991456		0,949445	0,862195
3	11	0,887174	0,949445		0,602490
4	15	0,982300	0,862195	0,602490	

**Příloha. č. 31: Závislost motility spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná motilita (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 60,082, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		68,438	71,385	70,208	68,300
1	7		0,379006	0,800746	0,999872
2	8	0,379006		0,888039	0,218124
3	11	0,800746	0,888039		0,686312
4	15	0,999872	0,218124	0,686312	

**Příloha. č. 32: Závislost celkového počtu spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná celkový počet spermií (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 154E19, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		7528E7	8473E7	1033E8	1070E8
1	7		0,741601	0,022048	0,005895
2	8	0,741601		0,104992	0,029092
3	11	0,022048	0,104992		0,973256
4	15	0,005895	0,029092	0,973256	

**Příloha. č. 33: Závislost % patologických spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná patologicky změn. (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 550,98, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		61,563	61,769	62,771	68,140
1	7		0,999982	0,996983	0,675369
2	8	0,999982		0,997036	0,556804
3	11	0,996983	0,997036		0,733797
4	15	0,675369	0,556804	0,733797	

**Příloha. č. 34: Závislost % patologických hlaviček spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná hlavička celkem (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 229,92, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		38,375	31,846	27,750	21,300
1	7		0,267481	0,026436	0,000035
2	8	0,267481		0,570430	0,004149
3	11	0,026436	0,570430		0,222129
4	15	0,000035	0,004149	0,222129	

**Příloha. č. 35: Závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná zúžená, prodloužená (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 187,83, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		26,969	22,615	19,625	14,840
1	7		0,540467	0,141734	0,002054
2	8	0,540467		0,725953	0,030522
3	11	0,141734	0,725953		0,396298
4	15	0,002054	0,030522	0,396298	

**Příloha. č. 36: Závislost % patologických krčků spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná krček celkem (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 218,44, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		22,750	24,923	25,354	29,300
1	7		0,926681	0,897186	0,283395
2	8	0,926681		0,999046	0,480921
3	11	0,897186	0,999046		0,627604
4	15	0,283395	0,480921	0,627604	

**Příloha. č. 37: Závislost % patologických bičků spermií na věku**

Scheffeho test; proměnná bičík celkem (TABULKA 16.2.14) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 418,98, sv = 191,00					
Č. buňky	věk - měsíce	{1}	{2}	{3}	{4}
		5,9688	10,892	16,021	24,420
1	7		0,743452	0,204647	0,001599
2	8	0,743452		0,630289	0,007410
3	11	0,204647	0,630289		0,251879
4	15	0,001599	0,007410	0,251879	

**Příloha. č. 38: Závislost objemu spermatu na ročním období**

Scheffeho test; proměnná objem (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 7419,2, sv = 191,00					
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		188,43	199,73	192,62	191,06
1	Z		0,930393	0,996496	0,998909
2	J	0,930393		0,986220	0,970780
3	P	0,996496	0,986220		0,999839
4	L	0,998909	0,970780	0,999839	

**Příloha. č. 39: Závislost koncentrace spermií na ročním období**

Scheffeho test; proměnná koncentrace (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 37848,, sv = 191,00					
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		537,48	473,13	561,15	507,16
1	Z		0,420362	0,949769	0,880754
2	J	0,420362		0,236621	0,867298
3	P	0,949769	0,236621		0,640352
4	L	0,880754	0,867298	0,640352	

**Příloha. č. 40: Závislost motility spermií na ročním období**

Scheffeho test; proměnná motilita (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 60,905, sv = 191,00					
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		68,525	70,889	69,615	70,600
1	Z		0,499569	0,926423	0,585272
2	J	0,499569		0,906205	0,998454
3	P	0,926423	0,906205		0,950495
4	L	0,585272	0,998454	0,950495	

**Příloha. č. 41: Závislost celkového počtu spermií na ročním období**

		Scheffeho test; proměnná celkový počet spermií (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 166E19, sv = 191,00			
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		9440E7	8828E7	1030E8	8966E7
1	Z		0,899909	0,784757	0,946091
2	J	0,899909		0,435633	0,998797
3	P	0,784757	0,435633		0,503014
4	L	0,946091	0,998797	0,503014	

**Příloha. č. 42: Závislost % patologických spermií na ročním období**

		Scheffeho test; proměnná patologicky změn. (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 552,75, sv = 191,00			
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		63,852	61,333	67,897	62,040
1	Z		0,960432	0,872088	0,983231
2	J	0,960432		0,653520	0,999170
3	P	0,872088	0,653520		0,715245
4	L	0,983231	0,999170	0,715245	

**Příloha. č. 43: Závislost % patologických hlaviček spermií na ročním období**

		Scheffeho test; proměnná hlavička celkem (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 257,05, sv = 191,00			
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		30,803	32,178	27,308	26,060
1	Z		0,979072	0,769724	0,494344
2	J	0,979072		0,588526	0,330409
3	P	0,769724	0,588526		0,987604
4	L	0,494344	0,330409	0,987604	

**Příloha. č. 44: Závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na ročním období**

		Scheffeho test; proměnná zúžená, prodloužená (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 200,69, sv = 191,00			
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		22,311	22,222	20,128	17,420
1	Z		0,999991	0,904240	0,353725
2	J	0,999991		0,928201	0,438627
3	P	0,904240	0,928201		0,849194
4	L	0,353725	0,438627	0,849194	

**Příloha. č. 45: Závislost % patologických krčků spermií na ročním období**

Scheffeho test; proměnná krček celkem (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 222,77, sv = 191,00					
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		26,689	25,533	24,308	26,100
1	Z		0,984436	0,895068	0,997673
2	J	0,984436		0,986471	0,998333
3	P	0,895068	0,986471		0,956894
4	L	0,997673	0,998333	0,956894	

**Příloha. č. 46: Závislost % patologických bičků spermií na ročním období**

Scheffeho test; proměnná bičik celkem (TABULKA 16.2) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 439,37, sv = 191,00					
Č. buňky	roční období	{1}	{2}	{3}	{4}
		12,475	10,133	23,538	15,080
1	Z		0,955478	0,088427	0,935054
2	J	0,955478		0,038759	0,724881
3	P	0,088427	0,038759		0,315091
4	L	0,935054	0,724881	0,315091	

**Příloha. č. 47: Popisné statistiky - závislost objemu spermatu na ročním období**

Popisné statistiky (objem - roč.obd. 18.2.)					
Proměnná	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	199,7333	31,00000	544,0000	108,0901	54,11721
léto	191,0600	45,00000	395,0000	82,3803	43,11748
podzim	192,6154	77,00000	316,0000	70,9687	36,84478
zima	188,4262	37,00000	428,0000	79,4847	42,18345

**Příloha. č. 48: Popisné statistiky - závislost koncentrace spermií na ročním období**

Popisné statistiky (konc. - roč.obd. 18.2.)					
Proměnná	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	473,1333	73,0000	931,000	184,5277	39,00121
léto	507,1600	169,0000	882,000	181,5244	35,79234
podzim	561,1538	216,0000	954,000	211,3374	37,66123
zima	537,4754	252,0000	1109,000	200,7879	37,35760

**Příloha. č. 49: Popisné statistiky - závislost motility spermií na ročním období**

Popisné statistiky (mot. - roč.obd. 18.2.)					
Proměnná	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	70,88889	50,00000	80,00000	5,769127	8,13827
léto	70,60000	50,00000	80,00000	6,673126	9,45202
podzim	69,61538	30,00000	80,00000	9,691601	13,92164
zima	68,52459	40,00000	85,00000	8,580223	12,52138

**Příloha. č. 50: Popisné statistiky - závislost celkového počtu spermií na ročním období**

Proměnná	Popisné statistiky (cps- roč.obd. 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	8,827278E+10	8,547000E+09	2,203200E+11	4,404386E+10	49,89518
léto	8,965966E+10	2,128500E+10	1,663360E+11	3,671134E+10	40,94521
podzim	1,030306E+11	2,063600E+10	1,899960E+11	4,040651E+10	39,21797
zima	9,439382E+10	2,860000E+10	2,195640E+11	4,159632E+10	44,06679

**Příloha. č. 51: Popisné statistiky - závislost % patologických spermií na ročním období**

Proměnná	Popisné statistiky (pat.- roč.obd. 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	61,33333	28,00000	129,0000	22,99901	37,49839
léto	62,04000	25,00000	119,0000	22,22883	35,82983
podzim	67,89744	28,00000	162,0000	29,81416	43,91058
zima	63,85246	22,00000	111,0000	20,12944	31,52493

**Příloha. č. 52: Popisné statistiky - závislost % patologických hlaviček spermií na ročním období**

Proměnná	Popisné statistiky (hlav.- r.obd. 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	32,17778	7,000000	83,00000	16,86617	52,41558
léto	26,06000	9,000000	97,00000	15,81837	60,69981
podzim	27,30769	4,000000	78,00000	14,95635	54,76972
zima	30,80328	6,000000	82,00000	16,23763	52,71397

**Příloha. č. 53: Popisné statistiky - závislost % zúžených a prodloužených hlaviček spermií na ročním období**

Proměnná	Popisné statistiky (zůž.,prodl. - r.obd. 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	22,22222	3,000000	68,00000	15,27310	68,72896
léto	17,42000	3,000000	58,00000	11,73011	67,33703
podzim	20,12821	1,000000	76,00000	15,00031	74,52386
zima	22,31148	2,000000	67,00000	14,59171	65,40003

**Příloha. č. 54: Popisné statistiky - závislost % patologických krčků spermií na ročním období**

Proměnná	Popisné statistiky (krč.- r.obd. 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	25,53333	5,000000	78,00000	15,01000	58,78589
léto	26,10000	6,000000	53,00000	12,88449	49,36588
podzim	24,30769	3,000000	61,00000	16,11007	66,27561
zima	26,68852	4,000000	74,00000	15,62001	58,52706

**Příloha. č. 55: Popisné statistiky - závislost % patologických bičků spermií na ročním období**

Proměnná	Popisné statistiky (bič. - r.obd. 18.2.)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
jaro	10,13333	0,000000	85,0000	14,72259	145,2887
léto	15,08000	0,000000	112,0000	23,77088	157,6318
podzim	23,53846	1,000000	127,0000	29,59183	125,7169
zima	12,47541	0,000000	84,0000	14,95505	119,8762

**Příloha. č. 56: Popisné statistiky testovaných parametrů kančího spermatu**

Proměnná	Popisné statistiky (TABULKA 16.2)				
	Průměr	Minimum	Maximum	Sm.odch.	Var.koef.
objem	1,925487E+02	3,100000E+01	5,440000E+02	8,557086E+01	44,4411
koncentrace	5,195897E+02	7,300000E+01	1,109000E+03	1,955790E+02	37,6410
motilita	6,982051E+01	3,000000E+01	8,500000E+01	7,805205E+00	11,1790
celkový počet spermií	9,349474E+10	8,547000E+09	2,203200E+11	4,079164E+10	43,6299
patologicky změn.	6,361538E+01	2,200000E+01	1,620000E+02	2,344682E+01	36,8572
hlavička celkem	2,920513E+01	4,000000E+00	9,700000E+01	1,609985E+01	55,1268
zúžená, prodloužená	2,060000E+01	1,000000E+00	7,600000E+01	1,420447E+01	68,9537
krček celkem	2,579487E+01	3,000000E+00	7,800000E+01	1,483445E+01	57,5093
bičků celkem	1,481538E+01	0,000000E-01	1,270000E+02	2,132364E+01	143,9290

**Příloha. č. 57: Závislosti testovaných parametrů kančího spermatu**

Proměnná	Spearmanovy korelace (TABULKA 16.2.14-2)									
	věk - měsíce	objem	koncentrace	motilita	celkový počet spermií	patologicky změn.	hlavička celkem	zúžená, prodloužená	krček celkem	bičků celkem
věk - měsíce	1,000000	0,308767	-0,058338	0,029660	0,237157	0,064887	-0,394721	-0,313586	0,105767	0,316448
objem	0,308767	1,000000	-0,394206	-0,077141	0,579391	-0,011972	-0,184605	-0,205704	0,004292	0,160263
koncentrace	-0,058338	-0,394206	1,000000	0,005724	0,445294	0,164819	0,036031	0,128955	0,144990	0,119535
motilita	0,029660	-0,077141	0,005724	1,000000	-0,084349	-0,161952	-0,042092	-0,110015	-0,017808	-0,097962
celkový počet spermií	0,237157	0,579391	0,445294	-0,084349	1,000000	0,102775	-0,135957	-0,086419	0,103293	0,259363
patologicky změn.	0,064887	-0,011972	0,164819	-0,161952	0,102775	1,000000	0,486884	0,492972	0,474091	0,388934
hlavička celkem	-0,394721	-0,184605	0,036031	-0,042092	-0,135957	0,486884	1,000000	0,874356	0,101016	-0,193404
zúžená, prodloužená	-0,313586	-0,205704	0,128955	-0,110015	-0,086419	0,492972	0,874356	1,000000	0,176351	-0,202967
krček celkem	0,105767	0,004292	0,144990	-0,017808	0,103293	0,474091	0,101016	0,176351	1,000000	-0,197485
bičků celkem	0,316448	0,160263	0,119535	-0,097962	0,259363	0,388934	-0,193404	-0,202967	-0,197485	1,000000