

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V Českých Budějovicích

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Zootechnických věd

Vedoucí katedry: prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vlivy působící na kvalitu spermatu hřebců

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Jan Beran, Ph.D.

Autor bakalářské práce: Kateřina Novotná

České Budějovice 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Kateřina NOVOTNÁ
Osobní číslo: Z17320
Studijní program: B4103 Zootechnika
Studijní obor: Zootechnika
Téma práce: Vlivy působící na kvalitu spermatu hřebců
Zadávající katedra: Katedra zootechnických věd

Zásady pro vypracování

Základním předpokladem úspěšné reprodukce v chovu koní je výběr kvalitních plemenných hřebců, kteří produkují dostatečné množství ejakulátu v dobré kvalitě.

Na kvalitním ejakulátu závisí úspěšnost inseminace a zabřeznutí klisny.
Jelikož plodnost patří mezi vlastnosti s nízkou dědivostí, je ve větší míře ovlivněna komplexem prostředí.
Z toho vyplývá, že na kvalitu spermatu působí velké množství vnitřních a vnějších faktorů.

Cílem práce bude shrnout a popsat, které vnější a vnitřní vlivy na kvalitu spermatu hřebců působí a ze zjištěných údajů vyvodit doporučení využitelná v chovatelské praxi.

Na základě literárních zdrojů zpracujete informace o faktorech ovlivňujících kvalitu spermatu hřebců.

Pozornost budete věnovat především plemenné příslušnosti, výživě, pracovnímu využití a věku hřebce, ale doplníte rovněž informace o vhodném zpracování a uchování spermatu.

Ze zjištění vyvodíte doporučení pro chovatelskou praxi.

Rozsah pracovní zprávy: 30 – 40 stran
Rozsah grafických prací: dle pokynů vedoucího práce
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

1. AURICH, Ch. reprint of: Seasonal Influences on Cooled-shipped and Frozen-thawed Stallion Semen. Journal of equine veterinary science, 2016, 43: S1-S5.
2. CUERVO-ARANGO, J., et al. The effect of storage temperature of stallion semen on pregnancy rates. Journal of Equine Veterinary Science, 2015, 35.7: 611-616.
3. DUŠEK, J. Chov koní. Vyd. 2., přeprac. Praha: Brázda, 2007. ISBN 80-209-0352-6.
4. HERNÁNDEZ-AVILÉS, C., et al. The effects of antibiotic type and extender storage method on sperm quality and antibacterial effectiveness in fresh and cooled-stored stallion semen. Theriogenology, 2018, 122: 23-29.
5. JANETT, F., THUN, R., NIEDERER, K., BURGER, D., HÄSSING, M. Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. Theriogenology 2003, 60: 453-461.
6. KLIMENT, J. a kol. Reprodukcia hospodárskych zvierat. Príroda Bratislava, 1989 s. 378.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Jan Beran, Ph.D.
Katedra zootechnických věd

Konzultant bakalářské práce: Ing. Jana Křížková
Katedra zootechnických věd

Datum zadání bakalářské práce: 21. března 2019
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2020

V. Z. 

prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZENIČEĎSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Průmyslová 162/1, 370 05 České Budějovice





prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.
vedoucí katedry

PROHLÁŠENÍ

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

V Českých Budějovicích dne 15. 4. 2020



Kateřina Novotná

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji touto cestou Ing. Janu Beranovi, Ph.D. a Ing. Janě Křížkové za odborné vedení a cenné rady, které vedly ke zdárnému ukončení bakalářské práce.

Dále bych ráda poděkovala svému muži za psychickou podporu během studia.

Abstrakt:

Tato bakalářská práce pojednává o problematice vlivů působících na kvalitu spermatu u hřebců. Práce je literární rešerší k dané problematice, která byla zpracována z české a zahraniční literatury. Ze získaných informací byl vytvořen závěr.

Klíčová slova:

Sperma, kvalita spermatu, reprodukce koní, plodnost...

Abstract:

This thesis aim on the issue of influences on sperm quality installions. The work is a literary research on the issue, which was prepared from Czech and foreign literature. A conclusion was drawn from collected information.

Key words:

Sperm, horse sperm, horse reproduction, fertility...

Obsah

1	ÚVOD.....	9
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
2.1	VNITŘNÍ VLIVY PŮSOBÍCÍ NA KVALITU SPERMATU	10
2.1.1	Genetika	10
2.1.2	Zdravotní stav.....	11
2.1.3	Plemeno.....	12
2.1.4	Věk.....	13
2.2	VNĚJŠÍ VLIVY PŮSOBÍCÍ NA KVALITU SPERMATU	15
2.2.1	Výživa.....	15
2.2.2	Ustájení.....	18
2.2.3	Roční období.....	19
2.2.4	Životní prostředí	20
2.2.5	Sportovní zaměření	20
2.2.6	Pracovní intenzita	21
2.2.7	Umělá inseminace	21
3	ZÁVĚR	29
4	SEZNAM LITERATURY	31

1 ÚVOD

V posledních desetiletích došlo k zásadní změně ve využití koní, kdy se těžiště uplatnění koní přesunulo z oblasti pracovní do oblasti sportovní, popřípadě kulturní. Koně se v současné době využívají hlavně pro sportovní a rekreační účely. Další uplatnění je například v oblasti hiporehabilitace a hipoterapie, v zemědělství a lesnictví nebo při práci policie. Při každé výše jmenované činnosti očekáváme od koní odpovídající výkonnost.

Čím větší jsou nároky na konstituci a využití koní, tím víc je třeba se věnovat jeho postupnému šlechtění a plnému využití genetického materiálu. Abychom získali v další generaci stejné nebo dokonce lepší vlastnosti koně pro danou disciplínu, věnujeme v případě hřebce pozornost kvalitě spermatu. Základem úspěšné reprodukce je zdravý, silný hřebec s kvalitním spermatem. Na kvalitním ejakulátu závisí úspěšnost inseminace a zabřeznutí klisny. Kvalitu spermatu ovlivňuje mnoho vnitřních a vnějších faktorů.

Cílem práce je zpracovat informace o faktorech ovlivňujících kvalitu spermatu hřebců a na jejich základě vyvodit doporučení pro chovatele.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 VNITŘNÍ VLIVY PŮSOBÍCÍ NA KVALITU SPERMATU

2.1.1 Genetika

Míra zabřezávání u řízených populací koní závisí na vrozené plodnosti zúčastněných klisen a hřebců a na kvalitě chovného managementu. Protože jediný hřebec obvykle připustí mnoho klisen, je plodnost hřebce rozhodujícím faktorem v celkovém úspěchu šlechtitelského programu (Colenbrander, 2003).

Při výběru hřebce, který je schopen předat další generaci vlastnosti pro předpoklady dobré reprodukce a využití v pohlavní dospělosti jako plemenného hřebce, věnujeme pozornost jeho morfologickým vlastnostem dle plemenného výběru a to konkrétně stavbě těla, výšce a pohlavnímu výrazu. Stavba těla se hodnotí v intencích plemenného standardu. Hřebec by měl být temperamentní, robustnější a dostatečně kostnatý (Dušek, 2007).

Plodnost hřebce se posuzuje podle počtu jím zapaštěných a březích klisen vyjádřený v %. Odhady dědivosti plodnosti (h^2) jsou zatím nižší, což je podmíněno charakterem vstupních údajů neumožňujících objektivnější odhad koeficientu dědivosti (Vejščík, 2001).

Pro získání pozitivních vlastností můžeme použít čistokrevnou příbuzenskou plemenitbu (inbríding). Příbuzenskou plemenitbou můžeme, mimo pozitivních vlastností, získat i ty negativní. Tudíž při častém připouštění koní příbuzenskou plemenitbou dojde mimo jiné ke snížení kvality spermatu u hřebců (Dušek a kol., 2007). Pro kontrolu dědičnosti je potřeba získat od jednoho hřebce 40 potomků (Vejščík, 2001).

Účinky inbrídingu na reprodukční výkonnost u koní byly prokázány Cookem (1992), který ve své studii uvádí, že inbríding souvisí s neplodností koní. Důsledkem inbrídingu dochází k častému výskytu tzv. inbrední deprese. Závažnost této deprese se může lišit mezi plemeny v důsledku recesivní genetické zátěže, kterou populace nese (Ducro et al., 2011).

Podle Eldika et al. (2006) se má za to, že šlechtění má negativní vliv na reprodukční výkon. U některých plemen je vysoká úroveň inbrídingu skutečně považována za

hlavní příčinu špatné kvality spermatu. Není však jasné, zda inbríding ovlivňuje plodnost koní. V jeho studii, zkoumající vztah mezi inbrídingem a kvalitou spermatu u shetlandských poníků, došel k názoru, že inbríding je důležitou příčinou snížené kvality spermatu. Vysoké hodnoty vypočtené pro progresivní motilitu spermií (0,46) a koncentraci (0,24) naznačovaly, že tyto vlastnosti se dají zlepšit fenotypovou selekcí.

Pomocí šlechtitelských opatření je možné získat vyšší kvalitu spermatu z hlediska jeho objemu, motility a koncentrace spermií a výskytu abnormálních akrozomů. Kvalitativní znaky spermatu vykazují nízkou míru dědičnosti a zveřejnění odhadovaných plemenných hodnot může chovatele informovat o kvalitě spermatu daného hřebce (Gottschalk et al., 2016).

Greiser et. al. (2019) však uvádí, že zlepšení kvality spermatu selektivním šlechtěním vyžaduje znalost genetických parametrů znaků jakosti spermatu, přičemž Gottschalk et. al., (2016) dodává, že geny, ovlivňující vlastnosti spermatu, nejsou dosud dostatečně objasněny.

Genetika významně ovlivňuje podíl cholesterolu v plasmatické membráně spermií. Vysoký podíl cholesterolu může zhoršit schopnost chlazení i zmrazení spermatu a tím snížit jeho kvalitu (Rodrigues et al., 2017).

Dle Crespa et.al. (2020) je spolehlivým ukazatelem kvality spermatu fragmentace DNA. Za nezávislou predikci plodnosti považuje fakt, že DNA byla spojena s plodností v několika studiích (Colenbrander, 2003; Eldik et.al., 2006; Dowsett a Knott, 1996 aj.).

2.1.2 Zdravotní stav

Plemenný výběr podle zdraví je významný pro udržení konstituce v populaci na požadované úrovni. Hřebci se v rámci výkonnostních zkoušek na konstituci testují. Zásadou je, že se do plemenitby zařazují pouze koně zdraví. Značnou pozornost při zařazování koně do chovu je nutné věnovat samozřejmě kvalitě spermatu, ale také například konstituci končetin, aby na končetinách nebyly nálevky nebo kostní exostózy. Do chovu se nezařazují koně, kteří prodělali hřebčí nákazu (Dušek a kol., 2007).

Mezi onemocnění ovlivňující kvalitu spermatu patří například zánět semenných váčků. Při takovémto onemocnění dochází k poruše ejakulace, snížení pohyblivosti spermií a při nedostatečném léčení může dojít k neplodnosti. Semenná vezikulitida, z důvodu časté opakující se frekvence po ošetření, způsobuje jisté ekonomické ztráty v chovu koní (Sancler-Silva et al., 2019).

Virová artritida koní je onemocnění respiračního a reprodukčního aparátu koňovitých. Způsobuje horečku, otok končetin a šourku. Tyto příznaky mají negativní vliv na kvalitu spermatu, a to na všechny parametry kvality (Campos et al., 2014).

Obezřetní musíme být i ve výběru léčiv. Některá antibiotika mají širší antibakteriální spektrum, to způsobuje například vyšší obsah draslíku, čímž dochází k většímu výskytu bakterií a nižší kvalitě spermatu (Hernandez-Aviles et al., 2018).

2.1.3 Plemeno

Kvalitu ejakulátu, z hlediska plemene, ovlivňuje především skutečnost, jedná-li se o koně chladnokrevného nebo teplokrevného. Pro chladnokrevné koně obecně platí, že mají klidný temperament, robustnější stavbu těla, velký tělesný rámec a ve většině případů jsou spíše využívány pro tažné práce. Naopak teplokrevníci jsou charakterizováni svým horkým temperamentem, kratším tělesným rámcem, ušlechtilou hlavou s dlouhým krkem a výrazným kohoutkem využívání především pro sport a rekreační ježdění (Vejščík, 2001).

Plemeno způsobuje rozdíly ve vlastnostech spermatu. Objem hřebčího ejakulátu kolísá od 50 do 200 cm³. Chladnokrevná plemena produkují 150 cm³, teplokrevná 60 cm³, lehká – arabská 45 cm³ (Louda, 2001). Vyšší objem ejakulátu chladnokrevných hřebců je způsoben větším obsahem přídatných pohlavních žláz.

Podle Věžníka et. al. (2004) mají teplokrevní hřebci menší objem ejakulátu, větší koncentraci spermií v mm³, vyšší procento pohyblivých spermií a vyšší procento živých spermií výchozí hodnoty než chladnokrevní hřebci. Chladnokrevníci mají oproti teplokrevníkům větší rychlost pohybu spermií, vyšší procento patologických spermií a vyšší procento živých spermií hodnoty za 120 minut.

Gottschalk et al. (2016) ve své práci navíc vyzoroval vyšší celkový počet spermií chladnokrevných hřebců oproti hřebcům teplokrevným

Greiser et al. (2019) dodává, že chladnokrevná plemena mají ve srovnání s teplokrevnými plemeny nižší pohyblivost spermií a proto se jejich sperma nedoporučuje zamrazovat.

Dle studie Kareskoski et al. (2019) mají chladnokrevná plemena mají nižší počet hříbat než plemena sedlová.

Gottschalk et al. (2016) ve své studii uvádí, že plnokrevní hřebci mají vyšší hodnoty koncentrace spermií a celkový počet spermií než teplokrevní hřebci. Naopak plemena pony vykazují nejnižší koncentraci a celkový počet spermií ve srovnání s vyššími plemeny.

2.1.4 Věk

Věk je významný jak z chovatelského, tak i výkonnostního hlediska. Každá plemenná skupina má své značné diference a rovněž uvnitř plemene je značná proměnlivost. Nyní při zintenzivnění chovu, hlavně úrovně výživy a při změně postavení koně k člověku, se rozdíly mezi plemeny snižují a tím se do určité míry zmenšují i rozdíly v dlouhověkosti. Obecně platí, že malá plemena se dožívají 25 – 30 let, chladnokrevníci 14 – 18 let a teplokrevníci 16 – 23 let. Uvedené věkové hranice jsou jen přibližné a v praxi lze doložit četné výjimky (Dušek a kol., 2007).

Pohlavní dospělosti dosahují hřebci ve věku 12 – 18 měsíců, věková hranice plodnosti hřebců je 30 – 40 let, ale v našich podmínkách se hřebci z chovu vyřazují v rozmezí 18 – 25 let (Dušek a kol., 2007). Věžník et al. (2004) ve své studii uvádí, že pohlavní dospělosti hřebci dosahují v rozmezí 15. až 24. měsíce věku v závislosti na plemeni, přičemž rozvoj spermiogeneze je zaznamenáván až od 20. měsíce věku a vývoj gonád pokračuje až do 4. roku, kdy se též stabilizuje kvalita ejakulátu. Mladí hřebci produkují nejčastěji semeno s malým obsahem přídatných frakcí, staří hřebci naopak s vysokým obsahem.

Se zvyšujícím se věkem se plodnost obecně snižuje, protože čím starší hřebec je, tím nižší je dozrávání spermií a nižší hladina libida (Marvan a kol., 2003; (Turner, 2019).

Abo El-Maaty et al. (2014) dále uvádí, že se zvyšujícím se věkem klesá hladina pohlavního hormonu testosteronu, který vzniká v Leydigových buňkách, tudíž se snižuje produkce spermií, která je spojená s progresivní degenerací varlat.

Účinky věku jsou pravděpodobně způsobeny rozdíly v denní produkci spermií a produkci spermií, která souvisí s faktory, jako je nezralá (nevyvinutá) spermatogeneze u hříbat, testikulární degenerace způsobená stárnutím a aberantní funkce nadvarlat. Subfertilita je často spojena se stárnutím hřebců a očekávaným vlivem věku na testikulární funkce (Varner et al., 2008).

Studie Dowsetta a Knotta (1996) uvádí, že hřebci mladší tří let věku vyprodukují výrazně menší množství ejakulátu oproti starším hřebcům. Hřebci této věkové skupiny mají také nižší celkový počet spermií a vyšší procento mrtvých a imobilních spermií. Naopak Abo El-Maaty et al. (2014) zjistili nejvyšší kvalitu spermatu arabských hřebců do tří let věku. Dowsett a Knott (1996) dále uvádí, že nejvyšší objem ejakulátu byl zaznamenán u hřebců ve věkovém rozmezí 5 – 9 let a že věk nemá vliv na zbarvení spermatu a pH.

Protože se zvyšujícím se věkem hřebce dochází ke snižování fertility, doporučuje se pravidelné hodnocení ejakulátu a měření velikosti varlat za účelem včasné identifikace jemných změn kvality spermatu a počtu spermií. Odběry by se měly provádět v pravidelných intervalech, které jsou u každého hřebce individuální. (Samper et al., 2007).

2.2 VNĚJŠÍ VLIVY PŮSOBÍCÍ NA KVALITU SPERMATU

2.2.1 Výživa

Výživa patří mezi nejdůležitější faktory ovlivňující reprodukci koní. Pozornost bychom měli věnovat nejen krmivu samotnému, ale i technologii krmení. Způsob výživy určuje výživný stav koně, jeho kondice, produkční a sportovní zaměření. Výživa má zásadní vliv na funkci organismu, vývoj jedince a jeho výkon. Výživa má rozhodující význam pro udržení aktivního zdraví a tím i schopnost maximálního výkonu. Základem výživy jsou živiny, které kůň využívá pro výstavbu vlastní tělesné hmoty, k výkonu a k tvorbě potřebné energie. Voda tvoří 2/3 živé hmotnosti zvířete a jejím odparem se upravuje stav vnitřního tepla v těle. Kůň potřebuje 2 – 3 l na 1 kg přijímané sušiny, což znamená 20 – 40 l vody na den. Příjem vody je ovlivněn například teplotou prostředí nebo pracovní zátěží (Blažková, 2011).

Hlavní stavební látkou tkání jsou proteiny. Jsou součástí hormonů, enzymů a podílejí se na rovnováze těla. Po odštěpení dusíkaté složky od bílkovin zůstává tzv. bezdusíkatý zbytek, který se díky biochemickým procesům přemění na glycidy a tuk (Dušek, 2007; (Kliment a kol., 1983). Zeman et.al. (2005) ve své práci uvádí, že plemenný hřebec vyžaduje 40 gramů surového proteinu na mega joule stravitelné energie. Vyšší nebo nižší obsah bílkovin v krmné dávce, než je fyziologická potřeba hřebce, způsobuje zdravotní problémy, a tudíž snižuje kvalitu spermatu. Biologická plnohodnotnost proteinů závisí na poměru a množství esenciálních aminokyselin. Esenciální aminokyseliny si organismus neumí vytvořit a musí být dodány v krmivu. Mezi esenciální aminokyseliny řadíme například lyzin, metionin, valin, leucin, izoleucin, histidin a další. Tyto kyseliny odpovídají fyziologickým potřebám hřebců pro danou produkci. V případě nedostatku aminokyselin dojde u hřebců ke snížení objemu a kvality ejakulátu (Blažková, 2011; (Kliment a kol., 1983).

Dusíkaté látky se za pomoci žaludečních šťáv rozkládají na aminokyseliny a čpavek. Jejich rozklad závisí na rozpustnosti bílkovin v žaludeční šťávě. Aminokyseliny se v tenkém střevě vstřebávají a jsou využity v bílkovinném a energetickém metabolismu. Nevstřebatelné zbytky postupují dál do tlustého střeva. Využitelnost dusíkatých látek označujeme jako stravitelnost. Stravitelnost dusíkatých látek (SNLk) se vyjadřuje v gramech na 1 kilogram krmiva nebo krmné dávky (Kliment a kol., 1983).

Potřeba dusíkatých látek je individuální, závisí na plemeni, hmotnosti, sportovním zaměření, věku atp. Obsah dusíkatých látek v organismu při pocení klesá, jelikož pot obsahuje malé množství proteinů. Potřebu dusíkatých látek by mělo dostatečně zabezpečit zvýšení dávky jaderných krmiv. Podle tréninkového zatížení se SNLk určuje na malé – 112 g, střední – 262 g, intenzivní – 338 g a velmi intenzivní – 450 g na kus a den. Základem energie v krmivu jsou bezdusíkaté látky, ty rozdělujeme na bezdusíkaté látky výtahové, tuk a vlákninu (Dušek, 2007).

Hřebci energii pro svou potřebu a pro práci získávají štěpením škrobů a jiných rozpustných derivátů a z těžkých mastných kyselin objevujících se v tlustém střevě jako výsledek mikrobiálního trávení vlákniny. Vysoký podíl škrobu je například v zrnech obilnin, v cukrovce či zelené píce. Tuky rozdělujeme na glycerol a mastné kyseliny a jsou nejkoncentrovanějším zdrojem energie. Lipidy mají mnohonásobně větší množství energie než cukry a bílkoviny. Jejich význam ve výživě vyplývá z jejich kalorické hodnoty (1g tuku = 9,5 kalorie). Lipidy jsou nositelé vitamínů A, D a E, které mají velmi úzký vztah k plodnosti (Kliment a kol., 1983).

Důležitou složkou ve výživě je, mimo jiné, vláknina. Vláknina se skládá z hemicelulózy, celulózy a ligninu. Vláknina ovlivňuje stravitelnost živin a zároveň produkční účinnost krmné dávky, způsobuje pocit nasycení a podporuje peristaltiku trávicího traktu. Při výběru krmiva bychom měli dávat pozor na množství vlákniny, neboť stravitelnost celulózy je u koní nižší než u jiných zvířat, s tím souvisí nižší využití energie z krmiva. Potřeba množství vlákniny je pro každou kategorii koní jiná (Blažková, 2011; (Kliment a kol., 1983).

V dostatečném množství a poměru musí být obsaženy i minerální látky. Ty jsou součástí všech chemických procesů v organismu. Jsou důležité pro tvorbu buněk, tkání i orgánů. Vytvářejí vhodné prostředí pro činnost enzymů, vitamínů, hormonů a působí na osmotický tlak. Pro tvorbu ejakulátu je důležitý hlavně poměr fosforu (P), vápníku (Ca), draslíku (K), sodíku (Na), hořčíku (Mg). Neméně důležité pro organismus hřebce ke správnému fungování životních funkcí jsou vitamíny. Požadavky na vitamíny jsou závislé na věku, pracovním zatížení a stresu hřebce. Z důvodu nepatrné zásoby vitamínů v těle, musíme volit krmné dávky odpovídající potřebnému množství (Dušek a kol., 2007; (Kliment a kol., 1983).

Množství krmné dávky musí být odpovídající potřebám hřebce. Nesmí dojít k podvýživě ani k překrmování. Podvýživa potlačuje funkce gonád a při dlouhodobé podvýživě může dojít ke snížení zdravotního stavu a zhoršení kvality spermatu. Stejně jako podvýživa i překrmování vyvolá nepříznivé podmínky pro kvalitní ejakulát a celkově poruchy v reprodukci. V přípouštěcím období se za účelem získání většího objemu a kvality ejakulátu zvyšuje příjem minerálních látek a vitamínů, zvyšuje se i potřeba stravitelných dusíkatých látek. Ve dnech, kdy koně nepracují, snížíme krmnou dávku (Kliment a kol., 1983).

Správné sestavení krmné dávky ovlivňuje, jak kvalitu spermií, tak jejich fertilizační schopnost. Při sestavování krmné dávky se musí dbát na to, aby žádné živiny nebyl přebytek nebo nedostatek vůči ostatním živinám v krmné dávce. Základem krmné dávky plemenného hřebce je nepochybně kvalitní, aromatické, chutné seno. Z důvodu vyrovnaného obsahu již zmiňovaných esenciálních aminokyselin, minerálních látek a vitamínů pro správnou funkci organismu a kvalitní produkci ejakulátu, je možné do krmné dávky mimo ovsu přidat například melasu, otruby, luskoviny nebo si rovnou pořídit komerční směs pro danou kategorii. Všechna krmiva, použitá v krmné dávce, musí být nezávadná, neboť špatná kvalita krmiva, poškozená například plísní, vede ke zhoršení kvality spermatu. Krmné směsi jsou dostupné na trhu a každý výrobce je povinen uvést živinové složení a dávkování směsi (Blažková a kol., 2011).

Zeman et al. (2005) uvádí, že krmná dávka plemenných hřebců v období přípouštění by měla obsahovat 1,50 % objemného a 0,40 % jaderného krmiva ze živé hmotnosti hřebce. Celkový příjem sušiny by měl být minimálně 1,90 % a maximálně 2,10 % ze živé hmotnosti hřebce. Údaje o příjmu sušiny jsou jen orientační a musí být upraveny na základě konkrétních znalostí hřebce (věk, plemeno, kondice, druh práce aj.), znalostí o krmivu (kvalita základních objemných krmiv, jaderných krmiv, minerálních látek aj.) a znalostí o podmínkách prostředí, kde se hřebec nachází.

Značný vliv na kvalitu ejakulovaných spermií z hlediska množství a pohyblivosti má leptin, což je protein tvořený v adipocytech (tukových buňkách). Hladina leptinu ovlivňuje hmotnost varlat a semenotvorných tubulů a také tloušťku buněk epitelu semenotvorných tubulů a spermií (Goumenou et al., 2003).

Důležitou roli ve spermatogenezi hraje růstový hormon, jehož účinek je zprostředkován insulinu podobnými růstovými faktory (STH a IGF-I). Dojde-li u hřebce v důsledku špatného krmení ke snížení produkce růstového hormonu a celkové poruše fyziologického růstu hřebce, sníží se produkce i životaschopnost spermatu. IGF-I je důležitý faktor pro zrání a pohyblivost spermií. Vliv energie z krmiva na hladinu IGF-I a jeho účinek na hladinu testosteronu nejsou dosud jasné (Selvaraju et al., 2012). Strava obohacená o polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) zlepšuje kvalitu spermatu. Polynenasycené mastné kyseliny zlepšují tekutost a schopnost chlazení a zmrazení odebraného spermatu (Rodrigues et al., 2017).

Studie Alberta Contriho uvádí, že na vlastnosti spermatu má vliv přidání organického selenu a vitamínu E do krmné dávky. Doplnění stravy významnými antioxidanty vedlo ke značnému zvýšení životaschopnosti spermií a celkového množství semenné plazmy. Pozitivní korelace mezi progresivní motilitou a celkovými antioxidanty v semenné plazmě naznačovala, že pohyblivost je ovlivněna oxidačně-antioxidačním stavem a že doplňování antioxidantů v krmivu by mohlo zvýšit schopnost spermií kontrastovat s reaktivními druhy kyslíku nebo schopností semenné plazmy redukovat oxidační stres. Výsledky této studie ukazují, že příjem těchto antioxidantů je v našich standardních podmínkách mírně pod dietním požadavkem (Contri et al., 2011).

2.2.2 Ustájení

Nevyhovující ustájení a nevhodné mikroklima může způsobit teplotní stres a tudíž snížení kvality spermatu. Nedostatečná ventilace zvyšuje riziko onemocnění a zdraví může být poškozeno vysokými atmosférickými koncentracemi nebezpečných plynů, zejména čpavku. Na změny teploty vzduchu musí organismus okamžitě reagovat, což může v extrémních případech ovlivnit užitkovost i zdraví zvířat (Kliment a kol., 1983).

Ustájení by mělo být v klidném prostředí, kde hřelec není vystavován zbytečnému stresu a má klid na odpočinek, z čehož vyplývá, že není vhodné mít stáj například poblíž dálnice, ale v klidném a tichém prostředí obklopeném stromy. Ustájení by nemělo být v údolí, z důvodu vniknutí vody během větších dešťů. Stáj by měla mít dostatek světla, neboť světlo také ovlivňuje pohodu zvířete. Okna by měla být postavena tak, aby hřebci nesvítilo do očí, otvíratelná dovnitř z důvodu ventilace a

k poměru podlahové plochy 1 : 10. Optimální teplota stáje v létě je 15 – 20 °C, v zimě by teplota ve stáji neměla klesnout pod 5 °C. Vzdušnost ustájení zajišťujeme větráním. Relativní vlhkost ve stáji by se měla pohybovat v rozmezí 60 – 80 % (Gotthardová, 2011).

Stáj se musí pravidelně uklízet, aby se zabránilo vysoké prašnosti, zvýšeného množství čpavku, amoniaku a dalším faktorům ohrožující zdraví hřebce. Při nedostatečné pravidelné asanaci dojde ke zhoršení zdravotního stavu a snížení kvality spermatu (Dušek a kol., 2007).

2.2.3 Roční období

Teplota je vnímána centrální nervovou soustavou, na jejímž základě produkuje hypotalamus neurosekrety RH, které ovlivňují činnost hypofýzy k produkci gonadotropních hormonů. U hřebců tato činnost vyvolá tvorbu pohlavních buněk (spermatogenezi) (Dušek a kol., 2007).

Délka dne je klíčovým faktorem v reprodukci, což se odráží i v hormonální aktivitě gonád. Mnozí chovatelé nechávají za pomoci biotechnických metod vzniknout uměle vytvořené denní světlo, aby docílili kvalitnějších spermií i mimo sezonu. O měnící se délce dne informuje tělo melatonin. Melatonin je syntetizován v epifýze a jeho zvýšená sekrece je signálem k zahájení sexuální aktivity. Dobře navržený světelný program může zpozdít nebo dokonce potlačit gonadální diferenciaci. Pro správný vývoj varlat a zrání spermií je žádoucí, aby při použití umělého světla bylo dodrženo rozdělení den/noc tak, aby noc trvala minimálně 5 hodin (LASOTA et al., 2019).

Spermie bývají nejpohyblivější a tím pádem nejkvalitnější na jaře, kdy se prodlužuje délka světelného dne, začíná být teplejší počasí, upravuje se krmná dávka a zároveň klisnám začíná pohlavní cyklus, čímž hřebce motivují k vyšší produkci pohlavního hormonu testosteronu (Dušek, 2007).

Podle Auricha (2016) je sperma nejkvalitnější na konci jara a začátkem léta. Naopak na podzim, kdy se délka světelného dne zkracuje, koně dostávají více objemného krmiva a venku začíná být zima, bývá produkce pohlavního hormonu a pohyblivost spermií nižší. Také u tohoto vlivu záleží na individualitě hřebce. Ročním obdobím se mění koncentrace lipidů a složení mastných kyselin v semenné plazmě, které

ovlivňují kvalitu spermatu. Nižší kvalitu spermatu, odebraného v zimě, způsobuje i fakt, že v zimě dochází ke sníženému uvolňování gonadotropinů.

Podle Crespa et al. (2020) existují rozdíly v kvalitě produkovaného kryokonzervovaného spermatu v různých ročních obdobích (spermie zmrazené v zimě bývají po rozmrazení pohyblivější), tyto rozdíly jsou však menší, než rozdíly v kvalitě spermatu mezi jednotlivými plemeny koní. Dále uvádí, že kvalita chlazeného spermatu je v létě oproti jiným ročním obdobím nižší. Procento spermií s fragmentovanou DNA bývá na jaře výrazně nižší než v létě. Na paměti bychom měli také mít i skutečnost, že tepelný stres zvyšuje výskyt poškození DNA během spermatogeneze a je tedy potřeba v létě, kdy jsou vysoké teploty, hřebci zajistit takové podmínky, aby k tomuto stresu nedocházelo. Vyšší rychlost fragmentace DNA způsobuje poškození spermií v chromatinové struktuře (např. produkce míst bez báze a chromozomů, posuny rámců, modifikované báze apod.). Vyšší teploty v létě mohou přispět k modifikaci tvorby disulfidových vazeb v chromatinové struktuře.

2.2.4 Životní prostředí

Vliv prostředí je možné hodnotit z pohledu dlouhodobé fylogeneze druhu, nebo z pohledu současnosti zúžené na dobu vývoje několika generací. V chovu je prosazována snaha o produkci špičkových jedinců, protože komerční hlediska budou stále rozhodující. Produkce takových jedinců je hlavním záměrem, zvláště v chovu vysoce prošlechtěných plemen. Podíl koní vysokého výkonnostního stupně dosahuje kolem 10 % populace. Při změně prostředí se výrazně uplatňuje vliv člověka (Dušek a kol., 2007).

2.2.5 Sportovní zaměření

V chovu koní rozlišujeme tři užitkové typy – tažný, dostihový a sportovní, nebo mnohostranně užitkový typ. Zaměření užitkovosti je dalším faktorem působícím na kvalitu ejakulátu. Na každý typ koně jsou kladeny jiné nároky v zátěži, k rozdílům dochází i ve fázi odpočinku či v krmné dávce. I proto dochází k rozdílům v množství ejakulátu, jeho barvě či například zápachu u jednotlivých hřebců (Vejšík, 2001).

Využívat koně k chovu a zároveň ke sportu nemusí být vždy šťastné řešení, protože chov může negativně ovlivnit sportovní zaměření a naopak. Pokud se podíváme na

sportovní typ, konkrétně parkurové skákání, tak často dochází k tomu, že zadní čtvrt' hřebce přestává optimálně fungovat v době skoku, je-li hřebec kromě sportovního zaměření používán i pro odběr spermatu. Důkazy, že požadavky na odběr spermatu skutečně ovlivňují skokový výkon, jsou zatím pouze neoficiální. Jedná-li se o koně sexuálně zkušeného a dobře vyškoleného, je odběr spermatu považován pouze za přechodný stresor pro hřebce a s největší pravděpodobností bude jen velmi zřídka ovlivňovat fyzický výkon v soutěži. Během skoku se vyžaduje extrémní prodloužení pánve, kyčelní klouby se prodlouží, což způsobuje zvedání zadních končetin. Protože ke stejnému rozšíření zadních končetin dochází i během odběru spermatu na fantomu, je tento úkon pro nezkušené hřebce značně vyčerpávající (van Beuzekom et al., 2017).

2.2.6 Pracovní intenzita

Plodnost je závislá na pracovní intenzitě koně. Čím vyšší a fyziologicky náročnější je výkonnost, tím nižší je kvalita spermatu. Trénink je řízený proces zaměřený na zvýšení výkonnosti koně v určitém směru. Opakovanými úkony se zvyšuje koordinace částí těla, takže kůň provádí výkon lépe, rychleji a efektivněji. Trvalým opakováním náročných výcvikových prvků či různých forem zátěží dochází k trvalejším změnám ve svalstvu a v orgánech, zúčastňujících se zásobování tkání a odstraňování metabolitů. Změny činí tyto orgány výkonnější. Při tréninku je důležité ve stanovených pracovních zátěžích vyvážit poměr intenzity, objemu a frekvence. V době připouštění se pracovní zátěž koně upraví tak, aby měl dostatek odpočinku a nedošlo k únavě či vyčerpání organismu (Dušek a kol., 2007).

2.2.7 Umělá inseminace

Umělá inseminace znamená oplodnění klisny bez přítomnosti hřebce. Za pomoci inseminační soupravy se sperma aplikuje do děložního krčku (Masarikova et al., 2014). Podmínkou úspěšné inseminace je aktivní součinnost chovatele, inseminační technika, veterinárního lékaře a organizace, produkující inseminační dávky (Říha, 2003).

Odběr spermatu

Efektivní odběr vysoce kvalitního spermatu je v programech umělé inseminace velmi důležitý. Samotný proces odběru ejakulátu může být příčinou špatné plodnosti nebo

podřadné kvality ejakulátu (Samper, 2009). Odběr spermatu u hřebce se provádí převážně pomocí umělé vagíny a umělého fantomu nebo říjící se klisny (Müller a kol., 2006). Odběr spermatu pomocí umělé vagíny je nejrozšířenější způsob odběru spermatu u hřebců. K tomuto účelu je k dispozici více modelů umělých vagín

K odběru hřebčího ejakulátu se používá otevřený nebo uzavřený typ umělé vagíny. U uzavřeného typu je ejakulát získáván přímo do sběrné nádoby nebo PVC folie, která je součástí umělé vagíny. U otevřeného typu se sperma odebírá do samostatné odběrové nádoby, což umožňuje oddělit jednotlivé frakce ejakulátu a získat tak ejakulát s vyšší koncentrací spermií. Při použití tohoto typu umělé vagíny je možné nechat odtéct prespermatickou frakci ejakulátu, která může obsahovat i nežádoucí mikroorganismy, a také závěrečnou postspermatickou frakci, obsahující především hustý gel s velmi malým počtem spermií. Takto získaný ejakulát je lépe skladovatelný než celkový ejakulát obsahující všechny tři frakce (Gordon, 2004). Přednost se dává umělé vagíně otevřeného typu, umělá vagína uzavřeného typu se v ČR nepoužívá (Šmerha et.al., 1980).

Specifické vlastnosti jednotlivých typů umělých vagín se liší v celkové délce, průměru, plněním vodního pláště, manipulací, hmotností, a místem ejakulace hřebce. K odběru ejakulátu se používají umělé vagíny různého typu, konstrukce a původu. Mezi běžně používané modely patří například Missouri, Colorado a Krakovský typ (Hurtgen, 2009). Nejznámější jsou Colorado nebo Missouri, používající vnitřní vložku vagíny z polyetylenu, která neporušuje aktivitu získaných spermií (Louda a kol., 2001).

- **Missoury model** – tento typ pochvy má zúžený vchod pomocí pryžového prstence. Pryžový prstenec dráždí bázi pyje hřebce a vyvolává ejakulaci (Kozumplík and Gamčík, 1984). U tohoto typu umělé vagíny je žalud hřebce v době ejakulace mimo teplý vodní plášť, čímž je zabráněno poškození spermií tepelným šokem (Hurtgen, 2009).
- **Model Colorado** – tento model je podstatně delší, větší v průměru, a těžší než ostatní typy umělých vagín (Samper, 2009). Délka vagíny činí 54 cm a průměr 14 cm. Předností tohoto typu je udržení potřebné teploty uvnitř umělé vagíny po výrazně delší dobu. Významným nedostatkem naopak je, že většina hřebců ejakuluje přibližně v polovině délky vodního pláště a ejakulát

je tak vystaven vysokým teplotám. Je proto zapotřebí při odběru velké opatrnosti, aby se zabránilo tepelnému šoku spermií.

- **Krakovský typ** – jedná se o tzv. zkrácenou umělou vagínu. Tato umělá vagina je zkrácená tak, aby žalud pyje přečnival, a ejakulát je zachycován pod kontrolou do volného sběrače (Kozumplík and Gamčík, 1984) a je proto možné provádět frakcionovaný odběr (Louda a kol., 2001). Tato vagina je 40 cm dlouhá o průměru 14 cm. Odběrem do této vagíny je zamezeno vyšší mikrobiální kontaminaci a dosaženo vyšší hustoty ejakulátu a lepší hygieny odběru, což je užitečné zejména v programech kryokonzervace. Rovněž umožňuje použití vysokých teplot ve vodním plášti bez rizika poškození spermií tepelným šokem. Tento typ umělé vagíny nejlépe odpovídá fyziologickým potřebám hřebců (Kliment a kol., 1989; Samper, 2009).

V umělé vagíně musí být stejné tepelné a tlakové poměry jako v přirozené pochvě, proto se prostor mezi kovovým pouzdrům a gumovou vložkou naplní vodou o teplotě asi 40- 42 °C. Dále by měla být zajištěna potřebná kluzkost vagíny, které dosáhneme vymazáním vagíny pomocí skleněné tyčinky sterilní vazelínou (Louda, 2001)

Hřebci, zařazení do inseminace, se odebírají 1x denně, výjimečně 2x denně. Objem ejakulátu se s přibývajícím počtem odběrů zvětšuje a dosahuje maxima 6. až 8. den. Pak dochází k zmenšování objemu a zhoršování kvality získaného ejakulátu. V této době je třeba prodloužit sexuální pauzu (Kozumplík and Gamčík, 1984).

Hodnocení ejakulátu

Pojem kvalitní ejakulát vyjadřuje biologickou plnohodnotnost hřebčího spermatu, jeho schopnost oplodnit vajíčko a umožnit tak vznik nového života. Tuto biologickou plnohodnotnost můžeme určit pomocí laboratorních vyšetřovacích metod. Pomocí těchto metod lze zjistit, zda vlastnosti daného ejakulátu odpovídá plemenným požadavkům (Kozumplík and Gamčík, 1984).

Odebrané sperma se před použitím laboratorně hodnotí. Laboratorní metody vyšetření můžeme rozdělit do tří základních skupin: makroskopické metody, mikroskopické metody a biochemické metody. Makroskopicky lze zhodnotit objem ejakulátu, dále barvu, pach, hustotu, konzistenci, obsah hlenu a cizích přímísenin. Mikroskopickým vyšetření se hodnotí především aktivita spermií, koncentrace

spermií, posouzení morfologické stavby spermií a testy přežitelnosti a rezistence. Biochemické metody zahrnují zkoumání metabolismu spermií a tím posuzují životnost a oplozovací schopnost ejakulátu (Dušek, 2007; Kozumplík a Gamčík, 1984).

Každý čerstvě odebraný ejakulát musí být podroben analýze ihned po odběru, nejpozději však do deseti minut. V případě použití mražených inseminačních dávek by měla být časová prodleva ještě kratší (Šmerha et al., 1980).

Účelem parazitologického a bakteriologického vyšetření, kromě průkazu bezinfekčnosti ejakulátu, je kontrola jeho mikrobiální kontaminace, která vždy negativně ovlivňuje funkční úroveň spermií. Kontrola mikrobiální kontaminace ejakulátů donorů je preventivním opatřením vzniku zánětlivých onemocnění pohlavních orgánů. Stupeň kontaminace ejakulátů je ukazatelem úrovně hygienických podmínek chovu a způsobu odběru semene. Ejakulát nesmí obsahovat patogenní organismy (původci virových onemocnění, gram negativní bakterie rodu *Chlamydia*, *Staphylococcus* aj.). (Věžník et al., 2004).

Pravidelné vyšetření semene napomáhá včas rozeznat kvalitní a nekvalitní ejakuláty, které nemají správné vlastnosti a vykazují neschopnost oplození. Právě z tohoto pohledu je vyšetření spermií velmi důležitým opatřením pro získávání kvalitních inseminačních dávek (Katila, 2011).

Zpracování a konzervace ejakulátu

Důležitou otázkou rozvoje umělé inseminace je problém uchování oplozovací schopnosti a životnosti spermií mimo organismus po dlouhou dobu. Jeho účelem je především vytvořit vhodné prostředí pro spermie a zvětšit objem spermatu. Vliv vnějšího prostředí při konzervaci spermatu se projevuje zejména v tom, že proti přirozeným podmínkám musí spermie překonat teplotní změny, ochlazení a znovuzahřátí, na které nejsou připraveny. Hromaděním a působením vlastních zplodin látkové výměny dochází ke změně pH, k vyčerpání výživných látek ještě před zavedením spermatu do pohlavních orgánů samice, k delšímu nežádoucímu působení semenné plazmy na spermie, ke změně metabolických pochodů při zvyšování a snižování teplot, k rychlejší ztrátě elektrického náboje a k aglutinaci spermií. Aby konzervace splnila účel, musí zachovat charakteristické vlastnosti

spermií a při všech probíhajících změnách zajistit takovou funkci semene, jakou mělo v okamžiku odběru. Účelem konzervace je dále omezit metabolické pochody v co nejkratší době na co nejnižší stupeň, zachovat energetický potenciál spermií a jejich elektrický náboj (Klimet et al., 1989). Konzervací se snižuje aktivita intracelulárního vápníku ve spermiích a dochází k porušení buněčné homeostaze (Louda, 2001).

Nedílnou součástí konzervace spermatu je jeho ředění. Způsob ředění a způsob konzervace se vzájemně podmiňují. Při umělé inseminaci můžeme použít čerstvé sperma, krátkodobě konzervované sperma, či dlouhodobě konzervované sperma, z čehož vyplývají jednotlivé technologické postupy (Klimet et al., 1989). V České republice je velmi dobře propracovaná technika inseminace čerstvým spermatem, méně časté je využití spermatu zmrazeného (Vejščík, 2001).

Čerstvé neboli neředěné sperma se ihned použije k inseminaci klisny. Pro přepravu čerstvého spermatu je pro udržení kvality důležitá teplota prostředí. Sperma by mělo být skladováno při teplotě 5 – 10 °C, proto se ve většině případů převáží sperma v polystyrénových krabicích. Nej kvalitnější je sperma aplikované ihned bez jakékoli nutné přepravy (Kareskoski et al., 2019).

Při krátkodobé konzervaci spermatu se sperma zředí ředidlem na mléčné nebo žloutkové bázi a zchladí na teplotu 4 °C. Touto metodou je sperma vhodné k inseminaci maximálně do dvou dnů od jeho odběru, pak jeho kvalita klesá (Dušek, 2007).

Pro ochranu spermií a zachování oplozovací schopnosti se sperma ředí většinou roztokem obsahující cukernou složku, puřovací látky a specifické ochranné látky. K ředění je většinou používáno odstředěné mléko, glukóza a vaječný žloutek (Louda, 2001). Pro zpracování hřebčího spermatu byla vyvinuta celá řada ředidel. Většina z nich je založena na bázi odstředěného mléka a vaječného žloutku, přičemž existují různé modifikace těchto dvou základních ředidel (např. INRA 96, EquiPro, AndroMed aj.) (Aurich, 2005).

Kozumplík a Gamčík (1984) uvádí příklad složení ředidla pro krátkodobou konzervaci:

- glukóza 30 g
- laktóza 20 g
- vinan sodnodraselný 10 g
- redestilovaná voda 1000 g
- vaječný žloutek 200 g
- PAB 10% (kyselina paraaminobezoová) 60 g

Sperma se ředí v poměru 1:1, poměr ředění je volen tak, aby v 1 cm³ ředěného spermatu bylo obsaženo minimálně 20 milionů spermií s progresivním pohybem vpřed. Po ředění je sperma nasáto do jednorázové injekční stříkačky v množství 10 cm³ a umístěno do chladničky o teplotě 4 °C na 1 hodinu. Inseminační dávka krátkodobě konzervovaného spermatu by měla obsahovat nejméně 10 cm³ ředěného spermatu, 300x10⁶ aktivních spermií a nejméně 50 % aktivních spermií po ředění (Louda, 2001).

Neto et al. (2013) tvrdí, že odebráním semenné plazmy chlazeného spermatu za pomoci spermatického filtru zvýšíme jeho životaschopnost.

Dlouhodobě konzervované sperma znamená, že se sperma zmrazí a uchová se v kapalném dusíku. Takto uchovávané sperma má svou kvalitu stálou několik let. Pro kvalitu spermatu je důležitá rychlost poklesu teploty při zmrazování. Z tohoto důvodu se pro zmrazení spermatu používají programovatelné automatické zmrazovače, které sperma ochlazují kapalným dusíkem. Po zmrazení se uchovává inseminační dávka spermatu v kontejnerech s kapalným dusíkem při teplotě - 196 °C (Dušek a kol., 2007).

Ředidlo pro zmrazení spermatu je na rozdíl od ředidla pro krátkodobou konzervaci obohaceno o kryoprotektivní látky. Tyto látky chrání spermie v procesu zmrazení a rozmrazení. Jako kryoprotektivum se téměř výhradně využívá glycerin.

Příklad složení ředidla pro dlouhodobou konzervaci, které uvádí Louda (2001):

- Sušené odstředěné mléko 9,46 g

- Glukóza 0,5 g
- Dionizovaná sterilovaná voda 100 cm³

Ředí se v poměru 1:1, naředěné semeno se po ekvilibraci a zchlazení na 4 °C mrazí v parách tekutého dusíku. Sperma se zamrazuje většinou v pejetách o obsahu 0,5 – 4 ml nebo v hliníkových tubách o obsahu 7 – 15 ml (Müller, 2006). Sperma může být mraženo také do pelet o velikosti 0,1 cm³, 0,5 cm³ a 1 cm³ při rozdílné koncentraci glycerinu. Bylo zkoušeno i mražení odstředěného spermatu v pejetách o objemu 5 – 6 ml. Rozmrazování inseminační dávky se provádí ve vodě o teplotě 45 – 50 °C po dobu 10 – 20 sekund (Louda, 2001).

Inseminační dávka dlouhodobě konzervovaná obsahuje po rozmrazení nejméně 30 % aktivních spermií, nejméně 150 x 10⁶ aktivních spermií a neměla by obsahovat patogenní mikroorganismy a plísň. Dle Loudy (2001) by neměla obsahovat více než 10 000 nepatogenních mikroorganismů v 1 cm³.

Kvalitu spermatu může nepříznivě ovlivnit glycerol, použije-li se jako hlavní kryoprotektant při zmrazování. Glycerol poškodí během zmrazování buňky a po rozmrazení dojde ke snížené plodnosti. Citlivost spermií na škodlivé účinky glycerolu se druhově liší. Ideální kryoprotektant musí mít nízkou molekulovou hmotnost, velkou rozpustnost ve vodě a minimální toxicitu. Z toho důvodu se nejvíce používají jako kryoprotektanty amidy (Alvarenga et al., 2005).

V současnosti se za externí kryoprotektant používá žloutek. Ten snižuje poškození spermatu chladovým šokem. Vhodný, avšak zatím ne příliš používaný, kryoprotektant je kolostrum. Mlezivo odebrané hned po porodu (pochopitelně po důkladně omytí) má pozitivní vliv na životaschopnost, motilitu a pohyblivost spermií (Alvarez et al., 2019).

Spermie jsou velmi citlivé na změny vyvolané zmrazením a osmotickými změnami během procesu. Během kryokonzervačních procedur jsou spermie vystaveny fyzickým i chemickým látkám, které generují zvýšení intracelulární koncentrace reaktivních druhů kyslíků. Pokud je koncentrace těchto kyslíků velká, může vést ke stavu oxidačního stresu a tím snížit kvalitu spermatu (Treulen et al., 2019).

U zmrazeného spermatu dochází často k úniku superoxidu, to bez důkladného ošetření vede k peroxidaci lipidů a následně poškození DNA ve spermiích. Čerstvé

sperma je oproti rozmraženému považováno za rezistentní na indukovanou peroxidaci lipidů (Del Prete et al., 2019).

Podle Vejčíka (2001) výsledky inseminace mimo jiné ovlivňuje zkušenost a zručnost inseminačního technika. Nedostatečná rychlost a profesionalita technika může vést ke snížení kvality spermatu například tím, že se v rozmražené dávce, která nebyla použita ihned po rozmražení, vyskytne bakterie *Taylorella equigenitalis*. Tato bakterie způsobuje po aplikaci klisně akutní zánět dělohy (Delerue et al., 2019).

3 ZÁVĚR

Na kvalitu spermatu hřebce působí velké množství vnitřních a vnějších vlivů. Z vnitřních faktorů je to především plemeno, věk a zdravotní stav hřebce. Z vnějších vlivů má významný vliv na kvalitu spermatu výživa, roční období, ustájení apod.

Na základě zpracovaných informací lze vyvodit následující doporučení pro praxi:

- Plodnost hřebce je rozhodujícím faktorem v celkovém úspěchu šlechtitelského programu, proto při výběru hřebce do chovu věnujeme pozornost jeho morfologickým vlastnostem dle plemenného výběru, pohlavnímu výrazu a kvalitě spermatu. Dědičnost plodnosti je nízká, proto je v této oblasti významná činnost chovatele. Pomocí šlechtitelských opatření je možné získat vyšší kvalitu spermatu z hlediska jeho objemu, motility a koncentrace spermií a výskytu abnormálních akrozomů. Kvalitativní znaky spermatu vykazují nízkou míru dědičnosti a zveřejnění odhadovaných plemenných hodnot může chovatele informovat o kvalitě spermatu daného hřebce.
- Zásadou je, že se do plemenitby zařazují pouze koně zdraví.
- Plemeno způsobuje rozdíly ve vlastnostech spermatu. Pony mají nižší celkový počet spermií ve srovnání s vyššími plemeny. Teplokrevní hřebci mají menší objem ejakulátu, větší koncentraci spermií v mm^3 , vyšší procento pohyblivých spermií a vyšší procento živých spermií než chladnokrevní hřebci. Chladnokrevníci mají oproti teplokrevníkům vyšší procento patologických spermií a nižší pohyblivost spermií a jejich sperma se nedoporučuje zamrazovat.
- Při posuzování hřebce pro účely chovu je důležité zohlednit také jeho věk. Chovatel by měl s připouštěním počkat minimálně do pohlavní dospělosti hřebce. U příliš nízkého nebo naopak vysokého věku hřebce je nižší pravděpodobnost zabřeznutí klisny z důvodu snížené kvality ejakulátu. Se zvyšujícím se věkem se plodnost obecně snižuje, protože čím starší hřelec je, tím nižší je dozrávání spermií a nižší hladina libida. Z toho důvodu lze doporučit pravidelné hodnocení ejakulátu za účelem včasné identifikace jemných změn kvality spermatu a počtu spermií.
- Výživa patří mezi nejdůležitější faktory ovlivňující reprodukci koní. Množství krmné dávky musí být odpovídající potřebám hřebce. Nesmí dojít

k podvýživě ani k překrmování. Podvýživa potlačuje funkce gonád a při dlouhodobé podvýživě může dojít ke snížení zdravotního stavu a zhoršení kvality spermatu. Stejně jako podvýživa i překrmování vyvolá nepříznivé podmínky pro kvalitní ejakulát a celkově poruchy v reprodukci. Správné sestavení krmné dávky ovlivňuje, jak kvalitu spermií, tak jejich fertilizační schopnost. Při sestavování krmné dávky se musí dbát na to, aby žádné živiny nebyl přebytek nebo nedostatek vůči ostatním živinám v krmné dávce. Podmínkou je také zdravotní nezávadnost krmiv

- Ustájení by mělo být v klidném prostředí, kde hřebec není vystavován zbytečnému stresu a má klid na odpočinek
- Délka dne a teplota prostředí jsou dalšími klíčovými faktory v reprodukci. Spermie bývají nejpohyblivější a tím pádem nejkvalitnější na jaře, kdy se prodlužuje délka světelného dne, začíná být teplejší počasí, upravuje se krmná dávka a zároveň klisnám začíná pohlavní cyklus, čímž hřebce motivují k vyšší produkci pohlavního hormonu testosteronu. Pro dosažení kvalitnějších spermií i mimo sezonu můžeme použít uměle vytvořené denní světlo za pomoci biotechnických metod
- Využívat koně k chovu a zároveň ke sportu nemusí být vždy šťastné řešení, protože chov může negativně ovlivnit sportovní zaměření a naopak
- V době připouštění se pracovní zátěž koně upraví tak, aby měl dostatek odpočinku a nedošlo k únavě či vyčerpání organismu
- V programech umělé inseminace je velmi důležitý proces odběru ejakulátu, který může být příčinou špatné plodnosti nebo podřadné kvality ejakulátu. Důležité je také správné zacházení s odebraným spermatem při laboratorním hodnocení jeho kvality, které napomáhá včas rozeznat kvalitní a nekvalitní ejakuláty a je velmi důležitým opatřením pro získávání kvalitních inseminačních dávek. V neposlední řadě může výslednou kvalitu spermatu ovlivnit jeho konzervace. Účelem konzervace spermatu je vytvoření podmínek pro přežívání spermií in vitro. Způsob konzervace ovlivňují jednotlivé technologické postupy při využití čerstvého spermatu, krátkodobě nebo dlouhodobě konzervovaného spermatu.

4 SEZNAM LITERATURY

- Alvarenga, M.A., Papa, F.O., Landim-Alvarenga, F.C., L Medeiros, A.S., 2005. Amides as cryoprotectants for freezing stallion semen: A review. *Anim. Reprod. Sci.* 2005. 89; 105 - 113
- Alvarez, C., Luno, V., Gonzalez, N., Guerra, P., Gil, L., 2019. Effect of Mare Colostrum in Extenders for Freezing Stallion Semen. *J. Equine Vet. Sci.* 77; 23-27
- Aurich, C. (2005). Factors affecting the plasma membrane function of cooled-stored stallion spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, 89(1-4), 65-75
- Aurich, C., 2016. Seasonal Influences on Cooled-Shipped and Frozen-Thawed Stallion Semen. *J. Equine Vet. Sci.* 43; 51–55.
- Blažková, K., 2011. *Výživa a krmivářství*, 1. ed. Praha: Střední škola dotihového sportu a jezdeckví, Praha.
- Campos, J.R., Breheny, P., Araujo, R.R., Troedsson, M.H.T., Squires, E.L., Timoney, P.J., Balasuriya, U.B.R., 2014. The quality of stallion semen infested with the Kentucky 84 equine arteritis virus strain. *Theriogenology*. 82; 1068 - 1079
- Colenbrander, B., 2003. Predictive value of sperm analysis in the evaluation of stallion fertility. *Reprod. Domest. Anim.* 38; 305 - 311
- Contri, A., De Amicis, I., Molinari, A., Faustini, M., Gramenzi, A., Robbe, D., Carluccio, A., 2011. Influence of antioxidant supplementation in food on the quality of fresh sperm in a stallion. *Theriogenology*. 140; 180 - 187
- Crespo, F., Ortiz, I., Diaz-Jimenez, M., Consuegra, C., Pereira, B., Dorado, J., Hidalgo, M., 2020. Seasonal variations in sperm DNA fragmentation and pregnancy rates obtained after artificial insemination with cooled-stored stallion sperm throughout the breeding season (spring and summer). *Theriogenology* 148; 89–94.
- Del Prete, C., Stout, T., Montagnaro, S., Pagnini, U., Uccello, M., Florio, P., Ciani, F., Tafuri, S., Palumbo, V., Pia Pasolini, M., Cocchia, N., Henning, H., 2019. Combined addition of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase improves quality of cooled stored stallion semen. *Anim. Reprod. Sci.* 210;
- Delerue, M., Breuil, M.-F., Duquesne, F., Bayon-Auboyer, M.-H., Amenna-Bernard, N., Petry, S., 2019. Acute Endometritis due to *Taylorella equigenitalis* Transmission by Insemination of Cryopreserved Stallion Semen. *J. Equine Vet. Sci.* 2019. 78; 10 - 13
- Dowsett, K.F., Knott, L.M., 1996. THE INFLUENCE OF AGE AND BREED ON STALLION SEMEN. *Theriogenology* 46; 397–412.
- Ducro, B.J., Bovenhuis, H., Stout, T.A.E., van Arendonk, J.A.M., 2011. Genetic parameters and founder inbreeding depression on semen quality in Friesian horses. *Wagening. Inst. Anim. Sci. Wagening. Univ.* 99 - 112
- Dušek, J., 2007. *Chov koní*, 2. ed. Praha: Brázda, Praha.
- El Sisy, G.A., Abo El-Maaty, A.M., Rawash, Z.M., 2016. Comparative blood and seminal plasma oxidant/antioxidant status of Arab stallions with different ages and their relation to semen quality. *Asian Pac. J. Reprod.* 5; 428–433.

- Eldik, P. van, der Waaij, E. van, Ducro, B., Kooper, A., Stout, T., Colenbrander, B., 2006. Possible negative effects of inbreeding on sperm quality in Shetland stallions. *Theriogenology*. 65; 1159 - 1170
- Gordon, 2004. *Reproductive Technologies in Farm Animals*.
- Gotthrdová, L., 2011. *Abeceda mladého jezdce*, 1. ed. Praha: Střední škola dotihového sportu a jezdeckví, Praha.
- Gottschalk, M., Sieme, H., Martinsson, G., Distl, O., 2016. Heritability of semen traits in German Warmblood stallions. *Anim. Reprod. Sci.* 1170; 10 - 14
- Gottschalk, M., Sieme, H., Martinsson, G., Distl, O., 2016b. Analysis of breed effects on semen traits in light horse, warmblood and draught horse breeds. *Theriogenology* 85; 1375–1381.
- Goumenou, A.G., Matalliotakis, I.M., Koumantakis, G.E., Panidis, D.K., 2003. The role of leptin in fertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2003. 106; 118 - 124
- Hernandez-Aviles, C., Serafini, R., Love, C.C., Teague, S.R., LaCaze, K.A., Lawhon, S.D., Wu, J., Blanchard, T.L., Varner, D.D., 2018. The effects of antibiotic type and extender storage method on sperm quality and antibacterial effectiveness in fresh and cooled-stored stallion semen. *Theriogenology*. 122; 23 - 29
- Hurtgen, 2009. Semen collection in stallions. In: *Equine breeding management and artificial insemination*.
- Kareskoski, M., Venhoranta, H., Virtala, A.-M., Katila, T., 2019. Analysis of factors affecting the pregnancy rate of mares after inseminations with cooled transported stallion semen. *Theriogenology*. 127; 7 - 14
- Katila, T., 2011. Vyšetření zdravotního stavu plemenného hřebce z pohledu reprodukce.
- Kliment a kol., J., 1983. *Reprodukcia hospodárskych zvierat*, 1. ed. *Príroda Bratislava*, Bratislava.
- Kozumplík, J., Gamčík, P., 1984. *Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat*. Bratislava: *Príroda*.
- LASOTA, B., FELSKA-BŁASZCZYK, L., MASŁOWSKA, A., SEREMAK, B., STANKIEWICZ, T., 2019. Effect of photoperiod modulation in American mink males on their testosterone concentrations and mating performance. *J. Cent. Eur. Agric.* 20; 119 - 129
- Louda, F., 2001. *Inseminace hospodárskych zvierat se základy biotechnických metod*. ČZU v Praze. ISBN 80-213-0702-1.
- Marvan a kol., F., 2003. *Morfolgie hospodárskych zvierat*, 3. ed. Brázda, Praha.
- Masarikova, M., Mrackova, M., Sedlinska, M., 2014. Application of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry in Identification of Stallion Semen Bacterial Contamination. *J. Equine Vet. Sci.* 34; 833 - 836
- muller, n.d. *Nové reprodukční metody v plemenitbě koní*.
- Müller, Z., 2006. *Nové reprodukční metody v plemenitbě koní*. In: *Chov a šlechtění koní v současných ekonomických podmínkách*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita.
- Neto, C.R., Monteiro MSc, G.A., Soares, R.F., Pedrazzi DVMc, C., Dell'aqua Jr. PhD, J.A., Papa PhD, F.O., Alvarenga PhD, M.A., 2013. Effect of Removing Seminal Plasma Using a Sperm Filter on the Viability of Refrigerated Stallion Semen. *J. Equine Vet. Sci.* 33; 40 - 43

- Říha, J., 2003. Plemenitba hospodářských zvířat. Rapotín. ISBN 90-903143-4-1.
- Rodrigues, P.G., de Moura, R.S., Rocha, L.G.P., Bottino, M.P., Nichi, M., Maculan, R., Bertechini, A.G., Souza, J.C., 2017. Dietary Polyunsaturated Fatty Acid Supplementation Improves the Quality of Stallion Cryopreserved Semen. *J. Equine Vet. Sci.* 54; 18 - 23
- Samper, n.d. Equine breeding management and artificial insemination.
- Samper, J.C., Pycock, J.F., McKinnon, A.O., 2007. Current therapy in equine reproduction. Saunders.
- Sancler-Silva, Y.F.R., Monteiro, G.A., Ramires-Neto, C., Freitas-Dell'aqua, C.P., Crespilho, A.M., Franco, M.M.J., Scheeren, V.F.C., 2019. Does semen quality change after local treatment of seminal vesiculitis in stallions? *Theriogenology.* 144; 139 - 145
- Selvaraju, S., Sivasubramani, T., Raghavendra, B.S., Raju, P., Rao, S.B.N., Dineshkumar, D., Ravindra, J.P., 2012. Effect of dietary energy on seminal plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I), serum IGF-I and testosterone levels, semen quality and fertility in adult rams. *Theriogenology.* 78; 646 - 655
- Šmerha, J., Majerčíak, P., Koníček, R., Novák, M., Koubík, M., Čechovský, J., Louda, F., Frelich, J., Pivko, J., Sýkorová, A., 1980. Reprodukce hospodářských zvířat, 1. ed. Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- Treulen, F., Aguila, L., Arias, M.E., Jofré, I., Felmer, R., 2019. Impact of post-thaw supplementation of semen extender with antioxidants on the quality and function variables of stallion spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 201; 71 - 83
- Turner, R.M., 2019. Declining testicular function in the aging stallion: Management options and future therapies. *Anim. Reprod. Sci.* 207; 171 - 179
- van Beuzekom, E.L., Hoogendoorn, A.C., Colenbrander, B., Stout, T.A.E., Back, W., 2017. Hindquarter Movement of Sporthorse Stallions During Semen Collection. *J. Equine Vet. Sci.* 5; 100 - 104
- Varner, D.D., Love, C.C., Brinsko, S.P., Blanchard, T.L., Hartman, D.L., Bliss, S.B., Carroll, B.S., Eslick, M.C., 2008. Semen processing for the subfertile stallion. *J. Equine Vet. Sci.* 28; 677-685.
- Vejčík, A., 2001. Chov hospodářských zvířat, 1. ed. Jhočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice.
- Věžník, Z., Švecová, D., Kozdera, A., Šišák, M., Zajícová, A., Bendová, J., 1994. Závěrečná zpráva - Rozvoj spermatologických analýz pro funkční hodnocení ejakulátů samců hospodářských zvířat. Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno.
- Věžník, Z., Švecová, D., Zajícová, A., Přínosilová, P., Rubeš, J., Rybář, R., Vozdová, M., Machatková, M., Horáková, J., 2004. Spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy. Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno. ISBN 80-86895-01-7.