

ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

11

ROČNÍK 12 (XL)
PRAHA,
LISTOPAD 1967
CENA 10 Kčs

ÚSTŘEDÍ ZEMĚDĚLSKÉHO A POTRAVINÁRSKÉHO VÝZKUMU
ÚSTAV VEDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

ZIVOČIŠNÁ VÝROBA

Řídí redakční rada

Prof. dr. ing. Vladimír Koželuha (předseda), dr. ing. Miroslav Dvořáček, CSc., ing. Ladislav Dvořák, dr. Karel Hanuš, dr. ing. Jaroslav Herzig, DrSc., ing. František Chytra, prof. dr. ing. Karel Koubek, DrSc., prof. dr. ing. Josef Kopecký, ing. Štefan Páleník, CSc., prof. dr. ing. Jan Podhradský, DrSc., prof. dr. ing. Josef Šmerha, DrSc.

Vedoucí redaktorka Helena Svobodová

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1967

■
Vědecký časopis ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA uveřejňuje studie, rozborů a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu v oboru živočišné výroby. Vydává Ústav vědeckotechnických informací. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■
Научный журнал ЖИВОЧИШНА ВÝРОБА публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области животноводства. Издает Институт научнотехнической информации. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

■
The scientific journal ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the animal production. Published by the Institute of Scientific and Technical Information. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

■
Die wissenschaftliche Zeitschrift ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der tierischen Produktion. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7.

■
Le journal scientifique ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de production animale. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7.

Současná situace a perspektiva umělé inseminace

Umělá inseminace hospodářských zvířat je dnes neoddělitelnou součástí účinných plemenářských opatření zejména v chovu skotu.

Umělá inseminace není novou metodou. Její počátky spadají daleko do minulosti a byla proto propracována natolik, že má určité výhody před přirozeným oplozováním. Aby umělá inseminace těchto předností dosáhla, bylo třeba prostudovat u samic a samic řadu fyziologických dějů, jejichž poznání dovoluje hlouběji proniknout do celé, tak složité problematiky.

Sledujeme-li výzkum v této oblasti, zjišťujeme, že jedni badatelé zdokonalovali techniku zachycování ejakulátu a techniku vlastní inseminace, tj. vpravování spermatu do pohlavních orgánů samic, druzí si všímali vlivů působících na tvorbu a zrání spermií, jiní sledovali délku života spermií v různém prostředí tepelném, fyzikálně chemickém a fyziologickém. Souhrn těchto poznatků dal pak podklad k vypracování směrnic, jak se spermiemi různých druhů hospodářských zvířat zacházet, kterými fyziologickými roztoky zředit sperma, jak je konzervovat, dopravovat apod. V zájmu zvyšování efektivnosti umělé inseminace byl dále sledován vliv délky doby sexuální přestávky, vliv výživy a pohybu plemeníků na jakost a množství ejakulátu. Je samozřejmé, že nezůstala bez povšimnutí i otázka studia vlivu nervové soustavy, jako důležitého činitele. Proto byly studovány pohlavní reflexy, temperament a jeho vliv na pohlavní aktivitu plemeníků. Rovněž existuje celá řada prací, jejichž předmětem pozorování byl vliv bakteriální flóry a vliv sekretů z různých úseků pohlavních ústrojí plemenic na vlastnosti spermií apod.

Také u samic bylo bezpodmínečně nutné prostudovat celý pohlavní cyklus, zejména tvorbu vajíčka, vlastní ovulaci a zejména vystihnout nejvhodnější dobu, v kterou mají být do pohlavního ústrojí samic vstříknuty spermie atd. Z biologického hlediska je studován vliv přesazování zygot a z praktického hlediska se věnuje pozornost etiologii, patogenezi a profylaxi intrauterinní úmrtnosti, jakož i neurohumorálnímu řízení pohlavních funkcí samic apod.

V poslední době je na tomto úseku věnována zvýšená pozornost ředění, konzervaci a expedici (transportu) semene. V této souvislosti je třeba konstatovat, že se dosud u nás používá ve větší míře metod, umožňujících krátkodobé uchování semene. S úspěchem však již byla vyzkoušena poměrně nová metoda hlubokého chlazení semene a to jak ve formě pilulek neboli „pelet“, tak i při použití dutinek z plastických hmot. Pro hluboké chlazení semene se používá buď pevného CO_2 (-79°C) nebo tekutého N (-195°C). Takto hluboce zchlazené semeno lze uchovávat téměř „neomezeně“ dlouho. Tak např. v USA se v zájmu plnění stanovených připravných plánů používá takto konzervovaného a skladovaného semene až po 8–9 letech. Na rozdíl od kapitalistických zemí, kde mrazeným semenem vynikajících býků obchodují firmy nebo organizace, budou v zemích RVHP obstarávat výměnu mezi členskými státy banky hluboce zchlazeného semene, které se zřizují v každém státě. Prostřednictvím těchto bank lze získat semeno nejvyšší kvality, jak pro účely čistokrevné plemenitby (osvěžování krve), tak i pro účely všech způsobů meziplenného křížení. Kromě jiných výhod umožňuje tento způsob dlouhodobé konzervace spermatu plnit přípravné plány a vylučuje nepříznivý vliv aklimatizace dovážených plemeníků na jejich plodnost. Není pochyby o tom, že i u nás bude mít tato metoda konzervace svoji budoucnost. Ovšem „kde je světlo, je také stín“. Myslíme to v tom smyslu, že v souvislosti se zaváděním dlouhodobé konzervace spermatu

Prof. dr. ing. Vladimír Kozel uha, Vysoká škola zemědělská, Brno, Zemědělská 1

Začtem bých chtěl říci, že máme-li hodnotit současný stav umělé inseminace hospodářských zvířat v CSSR a její další rozvoj, je především třeba zdůraznit, že tato metoda technický plemenitby není a nemůže být jediným opatřením, na němž závisí úspěchy v živočišné výrobě. Aby těchto úspěchů bylo dosaženo, musí být splněna celá řada podmínek a opatření, jež do sebe zapadají jako články řetězu a teprve pak v harmonické souhrte mohou zajistit chovatelský pokrok. I zde je třeba postupovat komplexně a pro umelou inseminaci zajišťovat všechny předpoklady, aby působila jako faktor plemenitby, zdravotní a ekonomický. Bude-li umělá inseminace budována nadále na vědeckých základech, stane se jedním z předpokladů úspěšné živočišné výroby.

Začteme práci tohoto čísla. a konstrukci aparatury pro inseminaci včelích matek, jak je uvedeno v posledním z těchto zprávek. Ve světě se však můžeme poohlédnout k inseminaci křisem a určitě v chovu ovcí, avšak dnes již této metody v je- ziskových poznatků bude použito především v chovu krůt. Měli jsme dobře zkuš- pro chov velkých hospodářských zvířat. I u nás se na její problematice pracuje a nem stává. Její podstatu se však shodují s významem umělé inseminace Inseminace dříve byla do počátku třetího desetiletí tohoto století v pokus- chovu. Ve velkochovech se však jistě stane nepostradatelnou metodou.

se jimi některé pracovníky zabývají, i když pro blízkou budoucnost se s umelou in- Pokud jde o inseminaci prasnic, je i zde řada nedotčených otázek. Také u nás činit spíše a efektivní terapeutická, preventivní a organizační opatření. Poruchy plodnosti a dědičnosti anomálií. Na základě poznání jejich příčin lze pak

na neposledním místě se nacházejí otázky související s kontrolou zdraví a jeho de- funkční poruchy pohlavní činnosti, zánětlivá onemocnění pohlavních ústrojí, přičemž v nové situaci se musíme vypořádávat s mnoha dalšími problémy, jako jsou např. s úkoly, s kterými se setkáváme při přirozeném připojení. Je samozřejmé, že Pokud jde o zdravotní poslání umělé inseminace, je problematika téměř shodná všech inseminací úkonů.

trojí dědičnosti v celém jejím rozsahu. V posledním době došlo i ke zvýšení hygieny oddělitelnou součástí plemenitby práce, neboť napomáhá také dalšímu rozvoji kon- užítkovosti, plemeně hodnoty a zdraví zvířat. Dnes se stala umělá inseminace ne- mentby. S postupem času došlo k obrátě k prospěchu celého snažení o zvyšování mizovat všem tehdy známými metodami prováděvanými plemenitkou zaražených do ple- žejní úkoly: jednak vytvořit základnu pro produkci kvalitních býků, jednak orga- sítka. V neokázalých letech bylo nutno v CSSR utvářet řadu sítí zemi maximální porodnosti. Tehdy byla u nás zcela jiná situace než v ostatních metoda stala opatřením téměř čistě výrobním a preventivním a sloužila pro dosa- vat, že pro její zavedení mluvili především znaky chovatelské. Později se však tato

Vzpomene-li si na základy umělé inseminace skotů u nás, musíme konstato- nátské a zdravotní; z obou pak vyplývají výhody ekonomické. Víme, že výhody umělé inseminace lze v podstatě rozdělit na výhody plem- do jiné míry vyžrovná patřičná a naléztli pozornost. Na řešení této otázky jsme které musí být vedována patřičná a naléztli pozornost. Na řešení této otázky jsme pevně přesvědčen, že měl již tehdy na mysli i kontrolu zdraví a jeho dědičnosti, který říkával: „Bez kontrolou užítkovosti a dědičnosti hygie každé plemeno“, jsem paměti. Při této příležitosti si uvědomuji slova svého učitele prof. dr. J. Tauffera, řídí zvelebování a chov hospodářských zvířat, měl tuto okolnost zvlášť na metody reálné rozšiřování dědičnosti vad. Proto je třeba, aby všechny složky, které dochází k intenzivnějšímu využívání plemenitby. Snižuje se tudíž jejich počet a tím samozřejmě i užité genetické základny. Může totiž nastat přes všechny výhody této

■ Je známo, že spermie některých druhů savců prodělávají konečné zrání během průchodu nadvarletem a současně získávají oplozovací schopnost. Některé ze zracích změn byly již popsány, avšak celková představa o jejich rozsahu neexistuje. Z větší části jsou kladeny do přímé závislosti s oplozovací schopností.

Jedním z nejcharakterističtějších ukazatelů pokračujícího zrání je postupné zvyšování motility spermií směrem od proximální k distální části epididymu (Redenz 1924, Yochem 1930, Blandau a Rumery 1964, Gaddum a Glover 1965). Dále změny v akrosomu již popsali Fawcett a Hollenberg (1963), Bedford (1963), Gaddum a Glover (1965), Fulka a Koefoed-Johnsen (1966). Postupné zvyšování specifické gravity spermií publikovali Lindahl a Kihlstrom (1952). Také umístění protoplazmatických kapek se s dozráváním postupně mění, a to z proximálního úseku spojovací části u spermií v hlavě nadvarlete k distálnímu úseku u buněk z kaudálních segmentů epididymu (Redenz 1926, Gresson a Zlotnik 1945, Gaddum a Glover 1965, aj.). Za zmínku stojí ještě především postupně se měnící schopnost spermií vázat vitální barviva, kompleťování antigenní výbavy (Matoušek 1964, Willson a Katsh 1965), změny ve vlastnostech povrchových membrán (Bedford 1965a) a další.

Poměrně málo údajů bylo dosud publikováno o vývoji oplozovací schopnosti. Je známo, že spermie získané z hlavy nadvarlete nejsou schopné oplodnit vůbec nebo mají oplozovací schopnost velmi nízkou. První zprávu podal Young (1931) o oplozovací schopnosti nadvarletních spermií morčat a teprve v r. 1964 Blandau a Rumery publikovali výsledky o fertilitě kryších spermií získávaných z proximální a z distální části epididymu. Fulka a Koefoed-Johnsen (1966) a Bedford (1966) publikovali výsledky o vývoji fertility králíčních spermií během průchodu nadvarletem. Vyprazdňovací pochody nadvarlete králíků při častých ejakulacích se u nás zabýval Koželuh (1940a, 1940b a 1941).

Všechny uvedené výsledky, s výjimkou prací Gadduma a Glover (1965) a Fulky a Koefoed-Johnsena (1966) vycházejí z normálních podmínek, kdy byl spermii ponechán volný průchod nadvarletem. V této práci uvádíme výsledky pokusů, při nichž byl průchod spermií zadržen ligaturou a jejichž cílem bylo zjistit, zda zrací změny a vývoj oplozovací schopnosti mohou probíhat i v podmínkách, v nichž běžně k úplnému dozrávání nedochází. Jinými slovy, zda pro zrání je rozhodující časový faktor nebo též průchod určitým segmentem nadvarlete.

MATERIÁL A METODIKA

K pokusům jsme použili králíků převážně Dánského bílého plemene. Deseti dospělým samcům se známou kvalitou ejakulátů jsme chirurgickým zákrokem, provedeným pod éterovou narkózou, podvázali vždy jedno z nadvarlat. Druhé sloužilo jako kontrola. Přístup k nadvarleti byl zjednan po řezu v *linea alba*, varle vtaženo do dutiny břišní a ligatura umístěna na dolní části těla nadvarlete (segment 7, jeho distální část — Nicander 1957). Po šesti dnech, což je zhruba doba potřebná pro průchod spermií hlavou a tělem nadvarlete, jsme varle vyjmuli, nadvarle odpreparovali, zbavili tuků a přebytečné tkáně. Po rozdělení na jednotlivé části (*caput*, *corpus*, *cauda*) jsme tkáň rozstříhali na malé kousky a macerovali asi 30 min ve fyziologickém roztoku. Ještě před macerací jsme odebírali vzorky k přípravě nátěrů na hodnocení schopnosti poutat vitální barviva a určování typů akrosomů (Papanicolaou 1942). Vzorky jsme odebírali ze segmentů 2—3, 7 a 8 (Nicander 1957). Z těchto míst jsme odebírali rovněž spermie pro hodnocení motility. Postup práce u ošetřeného i kontrolního nadvarlete byl naprosto shodný.

Po hemocytometrickém vyhodnocení koncentrace jsme přistoupili k inseminaci. Používali jsme pohlavně dospělých samic, které byly alespoň tři týdny individuálně chovány v oddělených klecích. K vyvolání ovulace jsme použili 30 m. j. choriongonadotropinu (Physex, Leo nebo Prolan, Bayer). Inseminaci jsme konali současně s intravenózní aplikací hormonů. V 0,2 ml suspenze byl obsažen počet spermií uvedený v tab. I. Za 20—24 h jsme samice zabíjeli, vajíčka vyplachovali z vejcovodů fyziologickým roztokem na hodinová sklíčka, přenášeli na podložní sklíčka opatřená pruhy vazelíny, aby nedošlo k jejich poškození po přiložení krycího sklíčka, a předběžně hodnotili pod fázově kontrastním mikroskopem. Za účelem detailního hodnocení jsme vajíčka fixovali ve směsi absolutní alkohol — kyselina octová ledová (3:1) po dobu asi 12 h a potom krátce barvili 0,5% roztokem lacmoidu v 45% kyselině octové (Chang 1952).

Za oplozená jsme považovali vajíčka buď již rýhovaná, nebo vajíčka ve stadiu prvojader s dvěma pólovými buňkami. Za neoplozená jsme považovali vajíčka, u nichž bylo jasně patrné druhé zrací vřetenko, doprovázené zpravidla výskytem jedné pólové buňky. Při hodnocení jsme věnovali pozornost počtu spermií na povrchu zóny pellucidy, v zóně pellucidé a v perivitellinním prostoru.

VÝSLEDKY

Vzhledem k tomu, že průběh změn uskutečňujících se při normálním průchodu nadvarletem byl popsán již dříve, omezíme se především, alespoň v krátkosti, na změny nastupující za podmínek uměle zadrženého postupu spermií. Zadržením postupu se značně zvýšila motilita spermií. Zatímco v hlavě kontrolních nadvarlat vykazovalo pouze 20 % buněk pohyblivost, bylo ve stejných

I. Oplozovací schopnost epididymálních spermií po intravaginální inseminaci

Spermie získané z	Počet inseminovaných samic	Průměrný počet inseminov. spermií v 10 ⁶	Počet získaných vajíček	Počet vajíček oplozených	Počet samic s oplozenými vajíčky	Procento oplození
<i>Cauda</i>	12	8,5	98	83	12	84,7
<i>Corpus K</i>	8	6,2	60	6	3	10,0
<i>Corpus L</i>	9	8,7	63	20	4	31,7
<i>Caput K</i>	8	8,2	58	0	0	0
<i>Caput L</i>	8	10,5	66	0	0	0

K = kontrolní, L = podvázané

II. Oplozovací schopnost epididymálních spermií po intrauterinní inseminaci

Spermie z	Průměrný počet inseminov. spermií v 10 ²	Počet získaných vajíček	Počet oplozených vajíček	Procento oplození
<i>Cauda</i>	0,89	37	33	89,2
<i>Corpus K</i>	0,89	40	15	37,5
<i>Corpus L</i>	1,15	38	10	26,3
<i>Caput K</i>	1,40	62	0	0
<i>Caput L</i>	1,30	30	8	26,7

K = kontrolní, L = podvázané

úsecích podvázaných nadvarlat 35 % pohyblivých spermií. Podobně se zvýšilo množství pohyblivých spermií získaných z těla nadvarlete, kde se počet pohyblivých zvýšil z 35 % na 45 %. Přesto však ani v těchto úsecích nedosáhla motilita úrovně spermií z kaudální části, kde bylo 75 % spermií pohyblivých, z toho převážná část progresivně. Naproti tomu charakter motility spermií z hlavy a těla nadvarlat nelze hodnotit jako skutečně progresivní. Převážná část spermií se pohybuje pouze na místě nebo v kruhu. Po podvázání a šestidenním zastavení postupu spermií má za cíl ilustrovat možnost dozrávání spermií v mís-spermií a kruhový pohyb zůstává převládající formou.

Také počet eozinofilních spermií se po aplikaci ligatury ve srovnání s kontrolním nadvarletem snižuje a ve stejném smyslu se mění poměr spermií s proximálními a distálními protoplazmatickými kapkami ve smyslu buněk v pokročilejším stadiu zráního procesu. Podrobnější výsledky o změnách při normálním a zadrženém postupu jsou uvedeny v práci Gadduma a Glovera (1965) a Fulkya a Koefoed-Johnsena (1966).

Stejným způsobem se projevuje zadržení průchodu na změnách typů akrosomů. Obvyklý typ 2 (Gaddum a Glover 1965) téměř obecně se vyskytující u spermií v kanálcích segmentu 2–3, se v poměrně krátké době mění převážně v typ 1. Typy 3 a 4 jsou ve všech přínadech poměrně řídké. Podrobně je popsána charakteristika jednotlivých typů akrosomů i frekvence výskytu v podvázaných i kontrolních úsecích nadvarlat v práci Fulkya a Koefoed-Johnsena. Tato krátká zmínka o změnách nastupujících v důsledku zastavení postupu spermií má za cíl ilustrovat možnost dozrávání spermií v místech, kde k němu obvykle nedochází.

Z funkčního hlediska je však mnohem důležitější vývoj oplozovací schopnosti, a to jak u nadvarlatech kontrolních, tak zejména ošetřených. Jej úroveň v jednotlivých částech při použití intravaginální inseminace uvádíme v tab. I.

Z tab. I je patrné, že oplozovací schopnost králíčích spermií se postupně zvyšuje od proximální k distální části nadvarlete. Spermie z hlavy nadvarlete neoplozily v žádném případě, i když v hlavě nadvarlete se zadrženým postupem byla značná část spermií v pokročilejším stadiu zralosti než v hlavě nadvarlete kontrolního. Spermie z těla nadvarlete, ať již kontrolního nebo ošetřeného ligaturou, vykázaly určitý stupeň oplozovací schopnosti. Při použití spermií z kontrolních těl došlo k oplození 10 % vajíček a u ošetřených 31,7 %.

Z tab. I je však patrné, že k oplození došlo jen u části samic, to znamená pouze při použití spermií některých samců. Naproti tomu po inseminaci spermiemi v *cauda epididymis* došlo k oplození všech samic, i když stupeň fertility nebyl vždy stejný úrovně.

Během hodnocení vajíček jsme pozorovali zcela odlišný počet spermií na povrchu zóny pellucidy, v zóně pellucidě a v perivitellinním prostoru v závislosti na typu použitých spermií. Důvodem mohla být skutečnost, že spermie z proximálních částí epididymu buď nejsou schopné při intravaginální aplikaci dosáhnout vejcovodu, nebo že nemají schopnost přilnout k zóně pellucidě a proniknout jí. Alespoň částečnou odpověď mohla dát inseminace blíže k úsekům, v nichž dochází k oplození. Z těchto důvodů byl proveden také intrauterinní způsob inseminace. Dosažené výsledky uvádíme v tab. II.

Avšak ani po intrauterinní inseminaci nedošlo k podstatnému zvýšení počtu oplozených vajíček. Pouze u spermií z kontrolních těl je možné pozorovat výraznější zvýšení. U spermií z ošetřených těl lze naopak pozorovat určité snížení, které lze připsat spíše jiným, těžko kontrolovatelným vlivům než samotné oplozovací schopnosti buněk. Spermie z kontrolní hlavy neoplodnily ani při tomto způsobu aplikace v žádném případě. Naproti tomu oplozovací schopnost z hlavy čtveřech nadvarlat dosáhla úrovně 26,7 %. Počet spermií na povrchových i vnitřních částech vajíček se proti předcházejícímu pozorování rovněž příliš nezměnil. I u oplozených vajíček jsme mohli pozorovat spermie jen ojediněle a ve srovnání s vajíčky oplozenými kaudálními spermiemi nebyl jejich počet vyšší než 5 %.

DISKUSE

Z uvedených výsledků je zřejmé, že spermie získávají oplozovací schopnost během průchodu nadvarletem. Spermie, které prošly pouze hlavou nadvarlete, nejsou zřejmě při použití intravaginální ani intrauterinní inseminace schopné oplodnit. Shodných výsledků dosáhl i Bedford (1966) s použitím intratubální inseminace. Ani jemu se nepodřilo detekovat na povrchu vajíček spermie. Domnívá se, že spermie z této části nadvarlete nemají ještě schopnost k vajíčku přilnout, a tím ani proniknout zónou pellucidou. Pozitivních výsledků s použitím kryších spermií z hlavy nadvarlete dosáhli pouze Blandau a Rumery (1964), a to jen v 8 % případů. Příčinu nízké oplozovací schopnosti vidí především v kvalitě pohybu spermií, jež jim nedovoluje, podle jejich názoru, proniknout z děložních rohů do vejcovodů.

Některé spermie z těla nadvarlete mají již oplozovací schopnost vyvinutou. Podle našich výsledků je oplození při použití intravaginální inseminace velmi nízké — 10 % — a zvyšuje se užitím intrauterinní aplikace spermií. Zdá se také, že fertilita není stejnoměrně vyvinuta ve všech částech těla nadvarlete, má stoupající tendenci směrem ke kaudálnímu segmentu. Nápadně je patrné toto tvrzení z výsledků Bedforda (1966), který rozdělil tělo nadvarlete na části a spermie z nich použil odděleně. Zjistil, že teprve spermie z distálního úseku jsou schopny oplození. Uvedené údaje jsou v souladu s našimi výsledky, a i když nemáme možnost rozlišovat mezi fertilitou spermií z distálních a proximálních částí, je pravděpodobné, že oplození se zúčastnily spermie z úseků přiléhajících ke kaudálnímu segmentu. Z výsledků lze také soudit, že ve stejné části těla nadvarlete nejsou všechny spermie na shodném stupni zralosti. Totéž platí zřejmě mezi jednotlivými samci, kde — jak je patrné z tab. I — došlo pouze ve třech případech z osmi použitých k oplození.

Po zastavení průchodu ligaturou dochází do určité míry ke zvýšení fertility, zejména při intravaginální inseminaci je tento rozdíl patrný. V žádném případě však zvýšení neodpovídá charakteristice spermií, získané na základě mikroskopického hodnocení. Z těchto rozdílů lze předpokládat, že spermie do určité míry dozrávají téměř ve všech segmentech nadvarlete. Plné zralosti, včetně získání normální oplozovací schopnosti, však zřejmě nedosahují. Je také možné, že doba, po kterou byl jejich postup zadržen (6 dnů), nebyla dostatečně dlouhá k uskutečnění změn způsobujících úplnou fyziologickou integritu spermií. Prozatím nelze říci, zda nízká oplozovací schopnost spermií i z ošetřených nadvarlat má svůj původ v neschopnosti proniknout do vejcovodů, jak se domnívají Blandau a Rumery (1964), nebo v nedostatku vzájemné reakce mezi samčími a samičími pohlavními buňkami. Na základě našich pozorování bychom připouštěli prvou možnost. Přímá intratubální inseminace, jak jí použil Bedford (1966), by mohla dát potřebnou odpověď. Jeho krátká zpráva předcházející (Bedford 1965b) tuto odpověď do určité míry podává.

SOUHRN

U 10 samců (králíků) byla umístěna jednostranná ligatura na distální části těla nadvarlete. Po šesti dnech byli samci zabiti, spermie z obou nadvarlat získány macerací ve fyziologickém roztoku, a to odděleně z hlavy, těla a z ocasu nadvarlete.

Aby mohly být podchyceny změny mezi kontrolními a ošetřenými nadvarlaty, byly hodnoceny tyto charakteristiky: umístění protoplazmatických kapek, tvar akrosomů, barvitelnost eozinem, motilita a oplozovací schopnost spermií. Všechny mikroskopicky hodnocené charakteristiky se podvázáním změnily a spermie z proximálních částí se do určité míry podobaly spermiím z distální části nadvarlete.

Při hodnocení oplozovací schopnosti bylo použito intravaginální a intrauterinní aplikace suspenze spermií. Intravaginálně bylo inseminováno 45 samic a vyhodnoceno 345 vajíček. Spermii z ocasu nadvarlete bylo oplozeno 84,7 % vajíček, spermii z kontrolního těla nadvarlete 10 % a z podvazaného těla nadvarlete 31,7 % vajíček. Spermie z hlavy nadvarlete, ať již kontrolní nebo podvázané, neoplozily vůbec. Při použití intrauterinní inseminace bylo hodnoceno 207 vajíček s těmito výsledky: spermii z ocasu nadvarlete bylo oplozeno 89,2 % vajíček, z kontrolního těla nadvarlete 37,5 % a z podvazaného těla nadvarlete 26,3 %. Z kontrolní hlavy nadvarlete nedošlo k oplození vůbec, kdežto spermii z podvazané hlavy nadvarlete došlo k oplození ve 26,7 % případů.

Došlo dne 3. 5. 1967

Literatura

1. BEDFORD, J. M.: Morphological changes in rabbit spermatozoa during passage through the epididymis. = „J. Reprod. Fert.“, 5, 1963: 169-177. — 2. BEDFORD, J. M.: Non-specific tail-tail agglutination of mammalian spermatozoa. = „Exp. Cell. Res.“, 38, 1965a: 654-659. — 3. BEDFORD, J. M.: Development of the fertilizing ability of spermatozoa in the rabbit epididymis. = „J. Reprod. Fert.“, 10, 1965b: 286-287. — 4. BEDFORD, J. M.: Development of the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the rabbit. = „J. Exp. Zool.“, 163, 1966: 319-330. — 5. BLANDAU, R. J. - RUMERY, R. E.: The relationship of swimming movements of epididymal spermatozoa to their fertilizing capacity. = „Fertil. Steril.“ 15, 1964: 571-579. — 6. FAWCET, D. W. - HOLLENBERG, R. D.: Changes in the acrosome

of guinea pig spermatozoa during passage through the epididymis. = „Z. Zellforsch.“, 60, 1963 : 276-292. — 7. FULKA, J. - KOEFOED-JOHNSSEN, H. H.: Epididymispassagens indvirkning på spermernes morfologi og befrugtningsevne. = „Arbejdet. Inst. f. Sterilitetsforsk.“, 1966 : 213-225. — 8. GADDUM, P. - GLOVER, T. D.: Some reactions of rabbit spermatozoa to ligation of the epididymis. = „J. Reprod. Fert.“, 9, 1965 : 119-130. — 9. GRESSON, A. R. - ZLOTNIK, I.: A comparative study of the male germ-cells of certain mammals. = „Proc. Roy. Soc. Edinb.“, B, 62, 1945 : 137-170. — 10. CHANG, M. C.: Fertilizability of rabbit ova and the effects of temperature *in vitro* on their subsequent fertilization and activation *in vivo*. = „J. Exp. Zool.“, 121, 1952 : 351-382. — 11. KOŽELUHA, V.: Jak se vyprazdňuje ovas nadvarlete při opakovaných ejakulacích a jak se znovu plní spermii. = „Sborník ČAZ“, XV, 1940a, 3 : 260-268. — 12. KOŽELUHA, V.: Über die Entleerung des Nebenhodens bei wiederholten Ejakulationen und seine Wiederanfüllung. = „Z. f. Tierzücht. u. Züchtungsbiol.“, 48, 1940b, 1 : 56-66. — 13. KOŽELUHA, V.: Jak nazíráti na časté připouštění plemeníků. = „Zemědělský archiv“, 32, 1941, 5 : 249-260. — 14. LINDAHL, P. E. - KIHLSSTROM, J. E.: Alterations in specific gravity during the ripening of bull spermatozoa. = „J. Dairy Sci.“, 35, 1952 : 393-402. — 15. MATOUŠEK, J.: Antigenic characteristics of spermatozoa from bulls, rams and boars. III. Absorption analysis, precipitins and fructolysis in relation to the antigenicity of bull spermatozoa. = „J. Reprod. Fert.“, 8, 1964 : 13-21. — 16. NICANDER, L.: On the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymidis in rabbit. = „Acta morf. Neerlando-Scandinavica“, 1, 1957 : 99-118. — 17. PAPANICOLAOU, G. N.: A new procedure for staining vaginal smears. = „Science“, 95, 1942 : 438-439. — 18. REDENZ, E.: Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens. = „Arch. f. mikroskop. Anat. und Ent. mech.“, 103, 1924 : 593-628. — 19. REDENZ, E.: Nebenhoden und Spermienbewegung. = „Wurz. Abh. Ges. Med.“, 4, 1926 : 107-150. — 20. WILLSON, J. T. - KATSH, S.: Cyto-immunological studies of guinea pig sperm antigens. I. Testicular versus epididymal spermatozoa. = „Z. Zellforsch.“, 65, 1965 : 16-26. — 21. YOCHEM, D. E.: A study of the motility and resistance of rat spermatozoa at different levels in the reproductive tract. = „Physiol. Zool.“, 3, 1930 : 319-329. — 22. YOUNG, W. C.: A study of the function of the epididymis. III. Functional changes undergone by spermatozoa during their passage through the epididymis and vas deferens in the guinea pig. = „J. Exp. Biol.“, 8, 1931 : 151-162.

Функциональные и морфологические изменения спермиев кроликов в течение нормального и задержанного прохода придатком семенника

У 10 самцов-кроликов была в дистальной части тела придатка семенника помещена односторонняя лигатура. После убоя кроликов (через 6 дней) из обоих придатков были извлечены спермии (мацерацией в физиологическом растворе) отдельно из головки, тела и хвоста придатка.

Чтобы были зарегистрированы изменения между контрольными и «опытными» придатками, исследовались следующие показатели: размещение плазматических каплей, формы акросомов, способность к окрашиванию эозином, мотилитет и оплодотворяющая способность спермиев. Все микроскопически оцениваемые показатели у подопытных самцов-кроликов в результате перевязки придатков изменились, а спермии из проксимальной части были похожи, в некоторой мере, на сперматозоиды из дистальной части придатка.

При оценке оплодотворяющей способности спермиев была использована интравагинальная и интраутеральная аппликация суспензии спермиев. Интравагинальным способом было осеменено 45 самок и оценено 345 яйцеклеток. Сперматозоиды из хвоста придатка были оплодотворены 84,7 % яйцеклеток, сперматозоиды из тела придатка семенника контрольной группы 10 % и из перевязанного (опытного) тела придатка — 31,7 % яйцеклеток. Сперматозоиды из головки придатка как контрольной, так опытной групп вообще не имели оплодотворяющей способности.

При интраутеральном осеменении (внутриматочном) было оценено 207 яйцеклеток со следующими результатами: спермии их хвоста придатка оплодотворили 89,2 % яйцеклеток, из тела контрольных самцов — 37,5 % и из тела придатка семенника опытных самцов (тело придатка перевязанное) только 26,3 % яйцеклеток. Сперматозоиды из головки придатка контрольных животных не настало вообще оплодотворения. Наоборот, сперматозоиды из головки придатка опытных самцов было оплодотворено 26,7 % яйцеклеток.

1. Оплодотворяющая способность эпидидимальных спермиев после интравагинального осеменения
2. Оплодотворяющая способность эпидидимальных спермиев после интраутерального осеменения

Functional and Morphological Changes in the Spermatozoa of Rabbits during Normal and Retarded Passage through the Epididymis

In ten male rabbits a one-sided ligation was applied to the distal part of the corpus epididymis. After 6 days the males were killed, the spermatozoa from both epididymes obtained by maceration in physiological solution, separately from the caput, the corpus and the cauda epididymis.

To discern the changes between treated and control epididymes, the following items were investigated: position of protoplasmic droplets, shape of acrosomes, affinity to eosine, motility and fertilizing capacity of spermatozoa. All microscopically evaluated characteristics showed changes due to ligation, and spermatozoa from proximal parts resembled to a certain extent those from the distal part of the epididymis.

Intravaginal and intra-uterine application of sperm suspension was used to evaluate fertilizing capacity. 45 females were inseminated intravaginally and 345 eggs were evaluated. 84.7 % of ova were fertilized by spermatozoa from the tail of the epididymis, 10 % by spermatozoa from the control corpus epididymis and 31.7 % of ova by spermatozoa from the ligated corpus epididymis. Spermatozoa from the caput epididymis, whether ligated or control, did not fertilize ova at all. Intra-uterine insemination with an evaluation of 207 ova gave the following results: 89.2 % of ova fertilized by spermatozoa from the cauda epididymis, 37.5 % by spermatozoa from the control corpus and 26.3 % by those from the corpus epididymis to which ligation had been applied. No fertilization occurred by spermatozoa from the untreated caput epididymis whereas 26.7 % of ova were fertilized by spermatozoa from the ligated caput epididymis.

Text to the tables

- I. Fertilizing capacity of the epididymal spermatozoa after intravaginal insemination.
- II. Fertilizing capacity of the epididymal spermatozoa after intrauterine insemination.

Funktionelle und morphologische Veränderungen der Kaninchenspermien während des normalen und gehemmten Durchganges durch den Nebenhoden

Bei 10 Rammlern (Kaninchen) wurde eine einseitige Ligatur auf dem distalen Teil des Nebenhodenkörpers untergebracht. Nach sechs Tagen wurden die Rammler getötet, die Spermien aus beiden Nebenhoden wurden durch Mazeration in einer physiologischen Lösung gewonnen, u. zw. separat aus dem Kopf, Körper und aus dem Schwanz (*Cauda*) des Nebenhodens.

Um die Veränderungen zwischen den Kontroll- und behandelten Nebenhoden erfassen zu können, wurde folgende Charakteristiken bewertet: die Situierung protoplasmatischer Tropfen, die Akrosomenform, die Färbbarkeit mit Eosin, die Motilität und das Befruchtungsvermögen der Spermien. Sämtliche mikroskopisch bewertete Charakteristiken wurden durch die Unterbindung verändert und Spermien aus den proximalen Teilen ähnelten gewissermaßen den Spermien aus dem distalen Teil des Nebenhodens.

Bei der Bewertung der Befruchtungsfähigkeit wurde die intravaginale und intrauterine Applikation der Spermien suspension angewendet. Intravaginal wurden 45 Häsinnen besamt und 345 Eier ausgewertet. Durch Spermien aus dem Nebenhodenschwanz wurden 84,7 % der Eier, durch Spermien aus dem Kontroll-Nebenhodenkörper 10 % und dem unterbundenen Nebenhodenkörper 31,7 % der Eier befruchtet. Spermien aus dem Nebenhodenkopfe, seien es die Kontroll- oder die unterbundenen, befruchteten nicht. Bei der Anwendung der intrauterinen Besamung wur-

den 207 Eier bewertet, u. zw. mit folgenden Ergebnissen: durch Spermien aus dem Nebenhodenschwanz wurden 89,2 % der Eier, aus dem Kontroll-Nebenhodenkörper 37,5 % und aus dem unterbundenen Nebenhodenkörper 26,3 % der Eier befruchtet. Aus dem Kontroll-Nebenhodenkopfe kam es zu keiner Befruchtung, wogegen durch Spermien aus dem unterbundenen Nebenhodenkopfe die Befruchtung in 26,7 % der Fälle eintrat.

Text zu den Tafeln

- I. Befruchtungsfähigkeit epididymaler Spermien nach intravaginaler Besamung
- II. Befruchtungsfähigkeit epididymaler Spermien nach intrauteriner Besamung

Adresa autorů:

Josef Fulka, Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů ČSAV, Liběchov
H. H. Koefoed-Johnsen, Den Kgl. Veterinaer- og Landbohøjskole, Afd. f.
saedforskning og insemineringsteknik, Kobenhavn V, Bülowsvej 13, Denmark

■ Mezi uvolněním spermie v semenoplodném kanálku varlete a její přeměnou v samčí prvojádro v oplozeném vajíčku leží dosti dlouhé období, během něhož spermie procházejí řadou pochodů, které podmiňují její účast při oplození. V kanálcích nadvarlete spermie morfologicky i funkčně dozrávají. Délka doby pasáže nadvarletem, různé prostředí v jednotlivých úsecích nadvarlete a konečně účast přídatných pohlavních žláz na ejakulátu vytvářejí předpoklady pro značnou složitost těchto dějů. Období uchovávání *in vitro* — konzervace spermatu — je radikálním zásahem do života spermií, jehož důkladná znalost je základním předpokladem pro uchovávání nenarušené oplozovací schopnosti spermií. Při průchodu samičím pohlavním ústrojím překonávají spermie řadu bariér, u nichž se předpokládá selektivní působení. Kapacitace spermií je souhrnem změn, které přímo ovlivňují oplozovací schopnost.

V průběhu těchto letmo naznačených dějů zůstává doposud mnoho neznámého. Pozornost reprodukční fyziologie je věnována úloze nadvarlete, tj. jeho vlivu na dozrávání spermií, na pasáž spermií v něm a na osudy spermií, které nebyly ejakulovány. Další okruh otázek tvoří metabolismus spermií během konzervace, zejména jeho vliv na integritu předávané genetické informace. U geneticky odlišných spermií je předpokládána rozdílná oplozovací schopnost. Mechanismus uplatnění této selektivní fertilizace je doposud neznám. Při intenzivním studiu oplozovacího procesu se v posledních letech vynořuje řada problémů, z nichž mnohé souvisejí se sledováním spermie a jejích součástí při vzniku zygoty.

Nový přístup ke studiu těchto otázek je umožněn zavedením vhodné metodiky, která by umožňovala sledovat zvolené spermie v průběhu těchto dějů, tj. tyto zvolené spermie označit. Toto označení by mělo umožňovat sledování nejen spermií (např. ve směsi), ale i součástí spermií po jejich morfologické disintegraci — např. DNK pocházející z hlavičky spermie.

Těmto podmínkám odpovídá svými vlastnostmi velmi dobře mikrohistaautoradiografie, neobyčejně citlivá metodika moderní cytologie, která využívá možnosti detekce rozpadu radioizotopu v mikrostruktuře vznikem latentního obrazu v citlivé vrstvě fotografické emulze. V současné době je k tomuto účelu používáno především izotopů biogenních prvků, včleněných do prekursorů sledovaných organických látek, které jsou pak zaváděny do zkoumaných živých systémů.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Použití radioizotopů v reprodukční fyziologii má již svou tradici. Klasické jsou výzkumy, které tímto způsobem podstatně přispěly k objasnění průběhu spermatogenního cyklu (Thibault 1958). Edwards a Sirlin (1957, 1958), Sirlin a Edwards (1958) sledovali v obsáhlém výzkumu značení v podstatě již osamostatnělé spermie adeninem ^{14}C a využili značených spermií pro sledování epididymárního transportu a některých otázek oplození. Maximální specifičnosti značení DNK spermie a vyšší rozlišovací schopnosti ve výsledném radiogramu bylo dosaženo užitím thymidinu ^3H (Sirlin 1958, Hupp a kol. 1961, Bateman, Chandley 1962, Yassen, Foote 1963, Swierstra, Foote 1965, Orgebin-Crist 1965, Amann a kol. 1965, Reid 1965a, 1965b).

Účelem této práce bylo především ověřit kvantitativní výsledky těchto metodik vzhledem k dalšímu využití v našem studiu oplozovacího procesu u hospodářských zvířat. Při použití adeninu ^{14}C bylo Edwardsem a Sirlinem dosaženo intenzivního značení takřka všech spermií. Proto jsme v této práci sledovali opět užití adeninu, na rozdíl však značeného ^3H , jelikož tritium poskytuje mnohem vyšší rozlišovací schopnost v radiogramu než ^{14}C . Při užití thymidinu ^3H bylo uvedenými autory dosaženo opět intenzivního značení, avšak procento značení dosahovalo nejvýše 60 %. Pouze Bateman a Chandley (1962) uvádějí po modifikované aplikaci 100 % značených spermií. Na podkladě teoretických poznatků o syntéze DNK v buňce (Hill a Beneš 1966) a modifikaci téhož procesu v zárodečném epitelu varlete (Monesi 1962, Muckentahler 1963, Pilgrim a Maurer 1965) byl zvolen postup, jakého použil Bateman a Chandley (1962).

MATERIÁL A METODIKA

Pokusná zvířata: Použili jsme pohlavně dospělých samců myši kmene H čs a vzájemných F_1 hybridů kmenů H čs, C 57 BL/10 ScSn a A/Jax, ve staří 2–4 měsíců a ve váze přibližně 30 g.

Značené prekursory: Použili jsme adeninu ^3H (výrobce Institut für angewandte Isotopenforschung, Berlin, NDR), chromat. čistý o specifické aktivitě 0,027 Ci/mMol, dále thymidinu methyl ^3H (výrobce ÚVVVR, Praha), radiochemická čistota 95 %, specifická aktivita 2,0 Ci/mMol.

Způsob podávání a dávkování: Adenin jsme dokonale rozpustili v destilované vodě za horka, thymidin byl dodán výrobcem v roztoku. Roztoky byly za sterilních podmínek naředěny a v množství 0,5–1 ccm aplikovány intraperitoneálně. Adenin byl podán v jedné dávce, thymidin byl podáván v šesti dávkách po tři dny v pravidelných intervalech 12 h (tab. I).

Odběr spermatu a příprava nátěrů: Sperma jsme získávali z děloh spářených samic, u nichž byl časově vymezen kopulační reflex hormonální přípravou a úpravou světelného režimu. Po naředění na požadovanou koncentraci jsme zhotovili nátěry na sklička napřed potažená želatinou. Nátěry byly fixovány metylalkoholem a poprány v alkoholéteru k odstranění tuku.

I. Aplikace adeninu ^3H a thymidinu ^3H

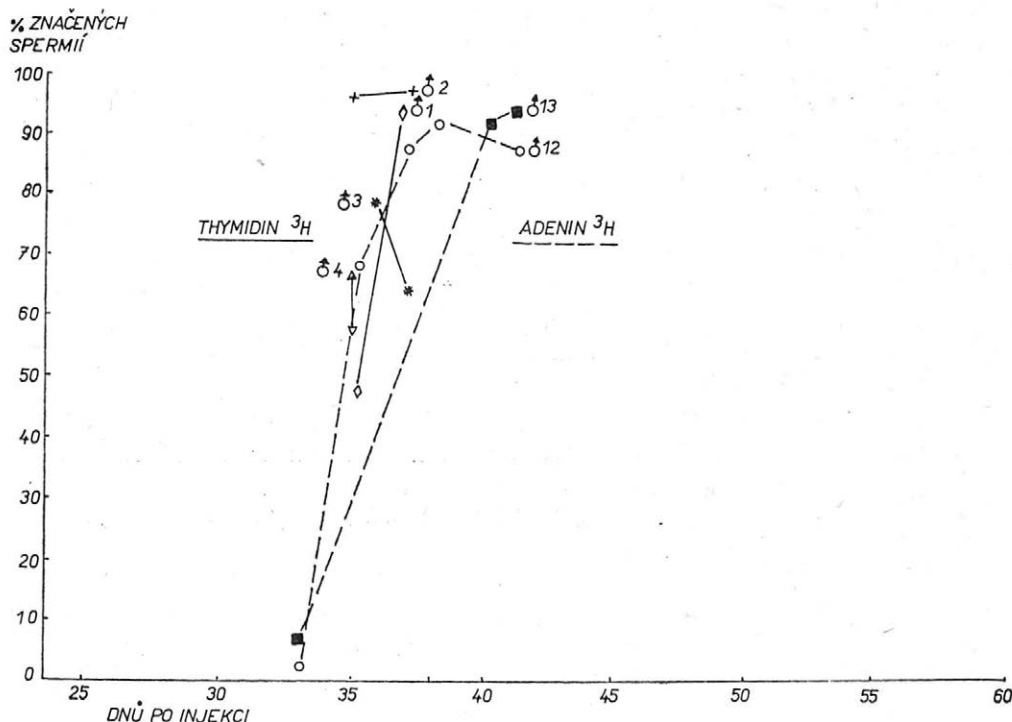
Prekursor	Počet zvířat	Celková aktivita v μCi	Specifická aktivita na g ž. v. v μCi
Adenin ^3H	7	30	1,0
	5	100	3,0
	2	300	10,0
Thymidin ^3H	4	300	10,0

Radiografie : Část preparátů jsme potáhli stripping filmem Kodak AR. 10, exponovali při 4°C po 49 dní a vyvolali vývojkou D 19 b. Zbývající část jsme potáhli tekutou emulzí Ilford K5, exponovali při 4°C v atmosféře CO₂ po 50 dní a vyvolali amidolovou vývojkou.

Vyhodnocování radiogramů : Pro počítání zrn jsme použili mikroskopu NfPK, Carl Zeiss, Jena, obj. Apo HI 90, okulár 15K v zeleném světle. Pro vyhodnocování značení jsme použili směrnice a tabulek udávaných Hillem a Beněšem (1966) s přihlédnutím k hodnocení užitému A mannem a kol. (1965). Počítali jsme zrna u 300 až 500 spermií, pozadí na 100 μm^2 jsme stanovili spočítáním 100 až 500 zrn pozadí okulárovou mřížkou. Výsledné stanovení značení jsme určili pro P=99,9 %, plochu hlavičky spermie jsme přitom vzali za rovnou 25 μm^2 (Beatty a Sharma 1960).

VÝSLEDKY

Výsledky kvantitativního hodnocení radiogramů jsou zachyceny v tabulce II a III. Zpracování stripping filmem bylo předběžné, proto v něm nebyly zachyceny všechny preparáty. Nehodnotili jsme preparáty po dávce 30 μCi vzhledem k velmi nízkému výtěžku zrn. Do zpracování tekutou emulzí jsme zahrnuli všechny preparáty získané po dávce 300 μCi u adeninu a všechny preparáty získané po aplikaci thymidinu. Graficky jsou výsledky po vyhodnocení preparátů potažených tekutou emulzí zachyceny v obr. 1. Odběry spermií byly soustředěny na dny očekávaného maxima značených spermií v ejakulátu. U pokusu s thymi-



1. Změna procentického podílu značených spermií jednotlivých ejakulátů ♂ 1, 2, 3, 4, 12 a 13 v období 33 až 41 dnů po intraperitoneální aplikaci značeného prekurzoru DNK.

Plná čára: thymidin ³H, přerušovaná čára: adenin ³H.

Ejakuláty jednoho ♂ jsou označeny vždy stejnými značkami.

Dnů po in- jekci	♂ číslo	Celková aplikovaná aktivita v μ Ci	Zrn na spermii								
			0	1	2	3	4	5	6	7	8
Stripping film Kodak AR. 10, expozice 49 dní.											
41	2	100	15,7	18,0	26,4	15,7	13,7	5,2	2,7	1,6	0,6
40	6	100	22,4	29,6	21,2	12,4	9,1	2,1	1,8	0,6	0,4
40	8	100	16,2	16,0	16,8	16,5	12,4	5,9	7,5	3,3	1,8
41	8	100	16,4	16,2	19,4	17,5	15,3	5,6	5,1	1,6	2,0
33	12	300	88,0	10,1	3,9	0,9					
35	12	300	24,0	8,9	6,9	10,3	12,1	10,4	10,8	6,4	5,8
38	12	300	2,9	6,0	9,7	16,2	23,1	11,6	10,7	7,6	6,0
41	12	300	0,8	1,0	2,9	5,8	14,9	8,1	15,4	12,2	14,1
33	13	300	69,2	21,5	3,9	2,2	0,5	0,4		0,5	0,4
41	13	300	3,5	3,1	4,7	12,0	17,7	11,4	16,2	13,4	8,1
Tekutá emulze Ilford K 5, expozice 60 dní.											
33	12	300	90,3	8,3	1,0	0,3					
35	12	300	23,6	6,6	6,0	13,3	14,0	5,0	9,3	7,0	10,0
37	12	300	3,6	7,0	0,3	15,0	20,0	12,3	10,3	7,6	7,3
38	12	300	2,0	5,6	8,6	16,6	23,0	13,0	12,3	7,3	6,0
41	12	300	2,3	9,3	12,3	17,3	18,6	10,0	10,0	8,6	5,3
33	13	300	78,3	14,4	3,3	2,0	0,6		0,3	0,3	
40	13	300	2,6	5,0	9,0	18,3	18,9	7,6	15,9	7,6	5,6
41	13	300	2,3	2,6	7,6	17,3	19,0	11,6	16,6	9,6	7,3

dlínem nezachycují křivky plynule průběh značení, protože se nezdařilo plynule získávat spermie v plánovaných intervalech.

Na obr. 2 a 3 jsou zobrazeny spermie s typickým značením pro výsledky získané v tomto pokuse.

DISKUSE

Syntéza DNK v buněčném jádře probíhá v tak zvané S-fázi, která je součástí interfáze. Zatímco u převážné většiny tělesných buněk je délka této S-fáze přibližně stejná, tj. asi 8 hodin (Koburg, Maurer 1962, Pilgrim, Maurer 1965), v zárodečném epitelu varlete myši se zvyšuje od 7 hodin u spermatogonií AI do 14 hodin u spermatogonií B a premeiotických spermatocytů I (Monesi 1962).

Vpravíme-li do těla zvířete nějakou látku, která je prekursorem DNK, tj. může být pro syntézu DNK využita a tvoří-li součást této látky radioaktivní

(procentuální zastoupení)					Počítáno		Zrn pozadí na 100 μm^2	Limit pro značení $P = 99,9\%$ (plocha sper- mie 25 μm^2)	% zna- čených sper- mií	Identické preparáty
9	10	11-20	21-30	31-∞	sper- mií	zrn pozadí				
					476	308	1,54	2	67,0	
	0,2				483	272	1,18	2	48,0	
1,2	0,8	0,8			507	308	2,46	3	59,8	
0,7	0,4				549	324	1,40	2	67,6	
					414	126	1,57	2	4,8	×
1,7	4,1	0,1			579	82	1,64	2	67,8	○
3,1	1,3	0,9			513	113	1,23	2	91,1	□
7,5	8,1	3,4			481	189	1,89	3	95,2	△
0,2	0,2	0,5			534	366	1,35	2	9,3	⊕
3,1	3,8	2,6			575	406	1,62	2	93,4	+
					299	301	0,30	2	1,3	×
0,6	2,6	1,6			300	270	0,23	2	69,4	○
3,6	2,6	0,3			300	290	0,27	2	88,3	
2,3	1,6	1,3			300	302	0,29	2	92,0	□
3,6	1,3	1,0			300	288	0,24	2	88,0	△
0,3	0,3				299	231	0,25	2	7,1	⊕
1,3	4,3	3,6			301	305	0,26	2	92,1	
4,6	0,6	0,6			300	313	0,25	2	94,8	+

izotopy, můžeme potom sledováním rozpadu tohoto izotopu zároveň sledovat i takto označenou DNK. Z hlediska specifčnosti včleňování se nyní nejčastěji pro studium DNK používá značeného thymidinu ^3H . Adenin ^{14}C nebo ^3H se včleňuje do obou nukleových kyselin současně a mimoto i nespecificky do jiných látek těla. K zabudování po podání dochází u obou precursorů velmi rychle, prakticky během jedné hodiny po aplikaci (Hill, Beneš 1966).

Do buněk zárodečného epitelu varlete jsou však tyto precursory zabudovány velmi rozdílně (Pelc, Howard 1956, Muckentahler 1964). Thymidin je inkorporován stejně jako u somatických tkání, tj. bezprostředně po aplikaci a přímo, kdežto adenin je zabudován po dobu až několika dní, pravděpodobně přes hypotetický precursor. Z těchto údajů je tedy možno odvodit základní mechanismus značení spermií po aplikaci těchto dvou precursorů DNK, zejména poměry v procentu značených spermií.

V současné době se nachází ve fázi syntézy DNK jen část buněk spermatogonií.

Dnů po in- jekci	♂ číslo	Celková aplikovaná aktivita v μ Ci	Zrn na spermii									
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Tekutá emulze Ilford K 5, expozice 60 dní												
35	1	300	41,0	10,0	3,7	2,3	0,7	0,4				1,3
37	1	300	4,3	0,9	1,6	0,9	0,7		0,3			
35	2	300	2,9	0,3				0,6	0,3			0,3
37	2	300	1,7	1,4	0,3	0,3						
36	3	300	21,0	1,0	1,0	2,0				1,0		1,0
37	3	300	24,4	9,8	8,0	2,1	1,7		0,7			
35	4 A*	300	45,0	7,6	2,0	2,0	2,3	0,6	1,2	1,2		0,6
35	4 B*	300	36,0	3,3	2,3	0,9	0,7	0,9	0,9	0,3		0,9

* A, B = 2 následné ejakuláty v témže dni.

genního epitelu varlete, ostatní jsou v některé mimosyntetické fázi generačního cyklu. Jednorázovou aplikací tymidinu dochází k pulsovému naznačení těch buněk, které jsou právě ve fázi syntézy DNK, kdežto zbývající část buněk zůstává neznačena. U adeninu je však značený materiál k dispozici po delší dobu, čímž dochází k naznačení všech buněk, které během této doby do S-fáze vstoupily (Muckentahler 1964, Annan a kol. 1965). Výsledný projev v ejakulátu je však komplikován celou řadou dalších faktorů. Při dělení buňky je dceřiným buňkám předáváno vždy poloviční množství původně naznačené DNK; tak např. ve spermii je jen zlomek DNK, která byla naznačena v některém ze stadií spermatogeneze. Velikost tohoto podílu určuje zřejmě počet generací, který leží mezi zabudováním značené látky a vytvořením spermie (Swierstra,



2. ♂ 12. radiogram spermii 41 dnů po aplikaci adeninu ^3H



3. ♂ 2. radiogram spermii 35 dnů po aplikaci thymidinu ^3H
(Foto: Emulze Ilford K5, expozice 60 dní.
Mikroskop C. Zeiss, Jena HI 90X MF
Proj. 3,2 : 1)

(procentuální zastoupení)					Počítáno		Zrn pozadí na 100 $\mu^2\text{m}$	Limit pro značení $P = 99,9\%$ (plocha sper- mie $25\mu\text{m}^2$)	% zna- čených sper- mií	
9	10	11–20	21–30	31–40	sper- mií	zrn pozadí				
0,3		3,0	5,4	32,4	300	293	0,38	2	49,2	—
		1,4	3,0	85,9	302	271	0,36	2	94,1	
		1,3	3,2	91,0	311	304	0,31	2	96,7	
		0,3	10,5	95,5	287	334	0,72	2	96,9	
		1,0		72,0	100	137	0,27	2	78,0	
		2,1	7,6	43,0	287	298	0,68	2	65,2	
		23,0	9,6	25,4	303	300	0,35	2	67,9	
1,6	0,7	6,2	0,3	44,5	305	296	0,31	2	60,2	

Foote 1965). Během pasáže nadvarletem dochází k promíšení několika generací spermií a tím i různých typů značení (Orgebin - Crist 1965).

Tato práce má za úkol rozvinout metodiku značení spermií. Především je to výhradní použití ^3H , který umožňuje mnohem lepší rozlišovací schopnost v radiogramu, asi kolem $1\mu\text{Ci}$ (Levi 1964). Dále je to ověření metodiky pro dosažení vysokého procenta značených spermií po použití thymidinu jako značeného prekursoru.

V první části práce jsme dosáhli podobného průběhu značení po aplikaci adeninu ^3H , jako dosáhli Edwards a Sirlin (1958) u adeninu ^{14}C . Naprosto odlišný byl však výtěžek zrn na radiogramu při jinak shodných hodnotách aplikované aktivity a stejné expozice. Edwards a Sirlin po aplikaci $30\mu\text{Ci}$ na myš získali výtěžek zrn na spermií až 40 zrn. Po podání stejné aktivity jsme ani v orientačním pokuse (adenin ^3H stejné provenience a podobné specifické aktivity — nepublikováno), ani v této práci nedosáhli značení nad úroveň průkaznosti. Teprve dávky $100\mu\text{Ci}/\text{myš}$ jsme mohli hodnotit, a jen dávky $300\mu\text{Ci}$ daly výsledky jen částečně se přibližující údajům Edwards a Sirlina. Experimentální chyba je velmi nepravděpodobná, protože výsledky byly shodné v orientačním i hlavním pokuse a při radiografickém vyhodnocení různými technikami a citlivými materiály. Přibližně dvojnásobný výtěžek zrn na rozpad 1 atomu ^{14}C proti rozpadu atomu ^3H ani rozdílné poměry při absorpci beta-částic o různé energii (Levi 1964) nemohou vysvětlit tuto velkou diferencí ve výsledcích. Možnou příčinou by mohla snad být velmi nízká specifická aktivita použitého adeninu ^3H , která je asi 10^2 až 10^3 krát nižší než u podobných preparátů Amersham (G. B.) nebo Schwarz (USA).

V druhé části práce jsme dosáhli opakovaným podáváním thymidinu ^3H téměř 100 % značených spermií. Podávání jsme modifikovali tak, aby byla zasažena S-fáze všech spermatogonií A IV. Int. a B, a premeiotických sperma-

tocytů I (dvakrát denně), dále jsme rozložili aplikaci na delší dobu (3 dny), aby se poněkud paralyzoval vliv promíchávání při transportu nadvarletem. Oba tyto předpoklady se asi potvrdily, i když záznamy průběhů značení jsou neúplné.

Radiotoxické účinky při použitých dávkách se uplatňují velmi odlišně v účinku na spermatogenní epitel, který je již průkazné, i když ne ve velkém rozsahu, poškozován (S a m u e l s, K i s i e l s k i 1963) a v účinku na funkční projevy spermií, které nejsou podstatně dotčeny. Edwards a Sirlin (1956) pozorovali nenarušený vznik pronukleů ze značených spermií, což bylo rovněž potvrzeno jinou naší prací (K o p e č n ý a kol. 1967). Při použití značených spermií v oplozování *in vitro* jsme nezpozorovali jejich odlišné uplatnění.

Tato práce měla sloužit jako metodický podklad pro další užití značených spermií při výzkumu fyziologie rozmnožování hospodářských zvířat v naší laboratoři. Je to zejména při studiu oplození *in vitro* a při studiu některých funkcí nadvarlete (F u l k a, K o p e č n ý 1967). Ve spolupráci s oddělením pro spermilogii a inseminaci Královské vysoké školy veterinární a zemědělské v Kodani byla za užití podobného principu studována otázka ztrát DNK při konzervaci spermií (K o e f o e d - J o h n s e n a kol. 1967). U velkých hospodářských zvířat je prozatím použití izotopů omezeno množstvím, které by bylo nutné podat při intravenózní nebo intraperitoneální aplikaci. Proto jsme se dále zaměřili na propracování přímé aplikace thymidinu ^3H do varleční tkáně (Sirlin 1958, H o c h e r a u a kol. 1964), což umožňuje podstatnou redukci apl.kované látky. Naším cílem bylo sledovat distribuci prekursoru ve varleční tkáni a průběh vylučování značených spermií (F u l k a a kol. 1967), opět se zřetelem ke kvantitativnímu využití.

S O U H R N

Studium řady problémů reprodukční fyziologie u savců je spojeno se sledováním spermií a jejich komponent během jejich cesty k vajíčku a v průběhu oplození. Slibnou metodikou v těchto výzkumech je značení spermií s pomocí radioaktivních izotopů, jejichž lokalizaci je možno sledovat mikroautoradiografií.

Předpokladem kvantitativního použití je naznačení všech spermií v ejakulátu. Po jednorázové intraperitoneální aplikaci 300 μCi adeninu ^3H u myši bylo dosaženo maxima 94,8 % značených spermií, po intraperitoneální aplikaci thymidinu ^3H v šesti dávkách po dvanáctihodinových intervalech bylo dosaženo maxima 96,9 % značených spermií. Výtěžek zrn byl velmi rozdílný. Po potažení emulzí Ilford K 5 a po šedesátidenní expozici bylo získáno do 10 zrn při použití adeninu proti nekonečnému (slitá zrna) značení při použití thymidinu. Pravděpodobným důvodem je velmi nízká (0,027 Ci/mMol/ specifická aktivita použitého adeninu).

Dále v práci diskutujeme zákonitosti inkorporace použitých prekursorů do DNK spermií, o možnosti využití této metodiky a podáváme přehled připravovaných prací s použitím značených spermií.

Došlo dne 22. 4. 1967

Při této příležitosti děkuji PhMr. L. Benešovi, CSc., za laskavé umožnění studijního pobytu v Biofyzikálním ústavu v Brně, uvedení do problematiky radiografie a mnohé cenné podněty, dále dr. H. H. Koefoed-Johnsenovi z Královské vysoké školy veterinární a zemědělské v Kodani a dr. Hilde Levi z Izotopové laboratoře Kodaňské university za laskavé umožnění práce v jejich laboratořích. Dále děkuji M. Lochové z naší laboratoře za technickou spolupráci.

1. AMANN, R. P. - KOEFOED-JOHNSSEN, H. H. - LEVI, H.: Excretion pattern of labelled spermatozoa and the timing of spermatozoa formation and epididymal transit in rabbits injected with thymidine ^3H . = „J. Reprod. Fertil.“, 10, 1965: 169-183. — 2. BATEMAN, A. J. - CHANDLEY, A. C.: Mutations induced in the mouse with tritiated thymidine. = „Nature“, 193, 1962: 705-706. — 3. BEATTY, R. A. - SHARMA, K. N.: Genetics of gametes III. = „Proc. Roy. Soc. Edinb. B“, 68, 1960: 25-53. — 4. EDWARDS, R. G. - SIRLIN, J. L.: Labelled pronuclei in mouse eggs fertilized by labelled sperm. = „Nature“, 177, 1956: 429. — 5. EDWARDS, R. G. - SIRLIN, J. L.: Studies in gametogenesis, fertilization and early development in the mouse, using radioactive tracers. = „Int. J. Fertility“, 2, 1957: 185-199. — 6. EDWARDS, R. G. - SIRLIN, J. L.: Radioactive tracers and fertilization in mammals. = „Endeavour“, 17, 1958: 42-47. — 7. FULKA, J. - KOPEČNÝ, V. - KOEFOED-JOHNSSEN, H. H.: Labelling of germ cells in the rabbit following intratesticular injection of small doses of thymidine- ^3H . = „Annual Report, The Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen, 1967. — 8. FULKA, J. - KOPEČNÝ, V.: Inkorporace thymidinu- ^3H do epitheliálních buněk epididymálního kanálku králíků po zastavení průchodu ligaturou. = IV. Dny fyziologie hospodářských zvířat, Smolenice 13-15. prosince 1967. — 9. HILL, M. - BENEŠ, L.: Autoradiografie. Praha, 1966. — 10. HOCHERAU, M. T. - COUROT, M. - ORTAVANT, R.: Marquage des cellules germinales du bélier et du taureau par injection de thymidine tritiée dans l'artère spermatique. = „Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.“, 2, 1964: 157-161. — 11. HUPP, E. W. - AUSTIN, J. W. - MURPHREE, R. L.: Radioisotope labelling of sperm in bulls and rabbits. = „J. Animal Sci.“, 20, 1961: 973. — 12. KOBURG, E. - MAURER, W.: Autoradiographische Untersuchung mit ^3H Thymidin über die Dauer der Deoxyribonukleinsäure-Synthese und ihren zeitlichen Verlauf bei den Darmepithelien und anderen Zelltypen der Maus. = „Biochim Biophys. Acta“, 61, 1962: 229-242. — 13. KOEFOED-JOHNSSEN, H. H. - FULKA, J. - KOPEČNÝ, V.: Investigations on the DNA content of rabbit spermatozoa during storage in vitro. = Annual Report, The Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen, 1967. — 14. KOPEČNÝ, V. - KOEFOED-JOHNSSEN, H. H. - FULKA, J.: Application of isotope-labelled spermatozoa in studies on fertilization of mouse and rabbit ova. Annual Report, The Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen, 1967. — 15. LEVI, H.: The interpretation of autoradiograms especially when using tritium as a tracer. = „Scand. J. Haematol.“, 1, 1964: 138-149. — 16. MONESI, V.: Autoradiographic study of DNA synthesis and the cell cycle in spermatogonia and spermatocytes of mouse testis using tritiated thymidine. = „J. Cell. Biol.“, 14, 1962, 1. — 17. MUCKENTHALER, F. A.: Autoradiographic study of nucleic acid synthesis during spermatogenesis in the grasshopper, *Melanoplus differentialis*. = „Exptl. Cell. Res.“, 35, 1964: 531-547. — 18. ORGEBIN-CRIST, M. C.: Passage of spermatozoa labelled with thymidine ^3H through the ductus epididymidis of the rabbit. = „J. Reprod. Fertil.“, 10, 1965: 241-251. — 19. PELC, S. R. - HOWARD, A.: A difference between spermatogonia and somatic tissues of mice in the incorporation of 8 - ^{14}C adenine into DNA. = „Exptl. Cell. Res.“, 11, 1956: 128-134. — 20. PILGRIM, CH. - MAURER, W.: Autoradiographische Untersuchung über die Konstanz der DNS-Verdopplungs-Dauer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit ^3H - und ^{14}C -Thymidin. = „Exptl. Cell. Res.“, 37, 1965: 183-199. — 21. REID, B. L.: The fate of isotope-labelled uterine spermatozoa in the mouse post coitum. = „Aust. J. Zool.“, 13, 1965a: 525-531. — 22. REID, B. L.: Interaction between homologous sperm and somatic cells of the uterus and peritoneum in the mouse. = „Exptl. Cell. Res.“, 40, 1965b: 679-683. — 23. SAMUELS, L. D. - KISIELSKI, W. E.: Toxicological studies of tritiated thymidine. = „Radiation Research“, 18, 1963: 620-632. — 24. SIRLIN, J. L.: The labelling of mouse spermatozoa by adenine 8- ^{14}C and thymidine H^3 . = „Exptl. Cell. Res.“, 15, 1958: 250-253. — 25. SIRLIN, J. L. - EDWARDS, R. G.: The labelling of mammalian spermatozoa with radioactive tracers. = „J. Exp. Zool.“, 137, 1958: 363-388. — 26. SWIERSTRA, R. E. - FOOTE, R. H.: Duration of spermatogenesis and spermatozoan transport in the rabbit based on cytological changes, DNA synthesis and labelling with tritiated thymidine. = „Am. J. Anat.“, 116, 1965: 401-412. — 27. THIBAUT, C.: L'utilisation des radioisotopes dans l'étude de la physiologie des mammifères domestiques et spécialement des fonctions de reproduction. = In: Application of Atomic Science in Agriculture and Food Production, Vol. II.

Существующие результаты количественного мечения спермиев аденином ^3H и тимидином ^3H

Изучение целого ряда проблем воспроизводительных функций млекопитающих связано с исследованием спермиев и их компонентов на протяжении их передвижения к яйцеклетке и в процессе оплодотворения. Надежным методом в области этих исследований является мечение спермиев при помощи радиоактивных изотопов, наблюдение которых производится с помощью микроавтордиографии. Предпосылкой количественного применения этого метода является предварительное мечение всех спермиев эякулята.

После однократной интраперитонеальной аппликации $300 \mu\text{Ci}$ аденина ^3H у мыши достигнуто максимум 94,8 % меченых спермиев, а после такой же аппликации тимидина ^3H в 6 дозах с 12-часовым интервалом достигнуто максимум 96,9 % меченых спермиев. Выход зерен очень разнообразен. После покрытия эмульсией Илфорд K5 (при 60-суточной экспозиции с применением аденина) получено до 10 зерен. В противоположность тому, при применении тимидина получено бесконечное количество зерен (слиток зерен). Вероятная причина тому — очень низкая ($0,027 \text{ Ci mMol}$) специфическая активность использованного аденина.

В работе обсуждаются закономерности инкорпорации использованных прекурсоров в ДНК спермиев и возможности использования этого метода. Далее приводится обзор подготовляемых работ с использованием меченых спермиев.

Текст к таблицам

- I. Применение аденина ^3H и тимидина ^3H
- II. Одноразовая доза аденина ^3H
- III. Повторная доза тимидина ^3H

Текст к изображениям

1. Изменение проц. доли меченых спермиев отдельных эякулятов
2. ♂ 12. радиограмма спермиев спустя 41 день после аденина ^3H
3. ♂ 2. радиограмма спермиев спустя 35 дней после тимидина ^3H

The Results obtained hitherto in the Quantitative Labelling of Spermatozoa with Adenine ^3H and Thymidine ^3H

The study of numerous problems of physiology of reproduction of mammals is connected with the investigation of spermatozoa and their components during their advance toward the ovum and during fertilization. Labelling of spermatozoa with radioisotopes, whose localization can be observed by means of microautoradiography, appears to be a promising method.

Quantitative application is subject to the condition that all the spermatozoa contained in the ejaculate should be labelled. After a single intraperitoneal application of $300 \mu\text{Ci}$ of adenine ^3H to a mouse a maximum of 94.8 per cent of labelled spermatozoa was achieved; after intraperitoneal application of thymidine ^3H in six doses in twelve hours' intervals the maximum of the labelled spermatozoa was 96.9 per cent. Considerable differences were found in the grain yield. After the coating with the Ilford K5 liquid emulsion, and after a 60 days' exposure, up to 10 grains were obtained when adenine ^3H had been used; unlike in the case of endless labelling (grains fused together) when thymidine ^3H was applied. This is probably caused by very low specific activity (0.027 Ci/mMol) of the applied adenine.

The laws of the incorporation of the applied precursors in DNA spermatozoa and the applicability of this method are being discussed, and a survey of papers now being prepared in which the labelling of spermatozoa is applied, has been added.

Text to the tables

- I. The application of adenine ^3H and thymidine ^3H
- II. Single dose of adenine ^3H
- III. Repeated doses of thymidine ^3H

Text to the figures

1. The change of the proportion of the marked spermatozoa in ejaculates
2. ♂ 12th radiogram of spermatozoa 41 days after application of adenine ^3H
3. ♂ 2nd radiogram of spermatozoa 25 days after application of thymidine ^3H

Adresa autora:

Václav Kopečný, Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů ČSAV, Liběchov

■ Poruchy spermiogeneze v souvislosti s poklesy plodnosti plemenných býků a preventivní vyšetření spermatu se stávají nevyhnutelnými otázkami, které je nutno řešit v rámci plemenářské práce. Morfologických metod je používáno v souvislosti se zjišťováním patologických změn spermií, časově náročné měření na hlavičky spermií však nepatří k těmto pozorovacím metodám.

Úkolem této práce je přispět ke studiu velikosti hlaviček spermií býků červenostrakatého plemene, z hlediska součástí úkolu při studiu parametrů dědičnosti plodnosti.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Velikost hlaviček spermií ve vztahu k plodnosti hospodářských zvířat hodnotili autoři Savage, Williams a Fowler (1927) cit. Krajnc (1964) a zjistili, že četnost v délce hlaviček spermií u zdravých býků leží v hranicích normálního dělení. Variační koeficient byl vždy co nejužší ve spojení s oplozovací schopností a dosáhl tím diagnostické hodnoty. Autoři stanovili „fyzilogické“ hranice variačního koeficientu pro délku hlaviček spermií u býků hodnotou 2,5 až 4 %. Vysoké variační koeficienty v délce hlavičky spermií a nepravidelné četnosti křivek mají podle jejich názoru signalizovat poruchy plodnosti. Lagerlöf (1934) se rovněž zabýval tímto problémem a zjistil pro „normálně plodné“ býky průměrný variační koeficient délky hlaviček spermií 3,77 % a pro „pochybně plodné nebo neplodné“ býky 4,88 až 6,15 %. Sciuchetti (1938) zjistil hodnoty variačních koeficientů pro délku spermií v rozmezí 3,8 až 5,75 %. U býků se špatnou plodností přesahoval variační koeficient 4 %, u býků s normální a dostatečnou oplozovací schopností se pohyboval mezi 3,08 až 3,69 s průměrem 3,50 %. Podstatné rozdíly byly nalezeny ve variabilitě velikosti spermií mezi býky. Při zjišťování křivek rozložení četnosti neexistovala žádná pravá odchylka od normálního dělení, dvouvrcholové rozdělení křivek nebylo prokázáno.

Bretschneider (1948) sledoval elektronovým mikroskopem velikost býčích hlaviček spermií a určil tzv. ideální tvar spermií poměrem šířky k délce hodnotou 1:2.

Leidl (1951) měřil délku hlaviček spermií a zjistil hodnoty variačních koeficientů mezi 2,82 a 3,83 %, pouze u jednoho býka byla nalezena hodnota 4,55 %. Při zjišťování vztahu mezi těmito variačními koeficienty a dobou životnosti spermií nebyla nalezena žádná závislost. Witte (1956) zjistil u pěti mladých býků délku hlaviček spermií v rozmezí 9,22 až 9,95 μm s průměrem 9,44 μm a variační koeficienty 3,05 až 3,44 %. Šířka spermií byla 4,88 až 5,09 μm s průměrem 4,99 μm . Variační koeficienty šířky byly v rozmezí 3,82 až 4,02 %. Van Duijn (1960) stanovil průměrnou délku hlaviček spermií $10,2 \pm 0,5 \mu\text{m}$ a průměrnou šířku v bodě maximálního vyklenutí $5,4 \pm 0,35 \mu\text{m}$. Bretherton a Rothschild (1961) udávají, že hlavičky spermií býků jsou ve formě tvarově stejných eliptických disků, které jsou dány délkou 8,5 až 10 μm , šířkou 4,5 μm a silou 0,7 μm . Baker a Salisbury (1963) zjistil délku hlaviček živých spermií hodnotou $8,55 \pm 0,50 \mu\text{m}$

s maximální šířkou spermie $3,98 \pm 0,32 \mu\text{m}$. Velké rozdíly v průměrných plochách a větší standardní odchylce ukazovaly na větší variabilitu DNK ve spermích interfertilních na rozdíl od fertálních býků. Krajnc (1964) měřil velikost spermí u 12 býků. Skupinový průměr pro délku hlaviček spermí byl 9,54 v rozmezí 9,13 až 10,01 μm , pro šířku spermie 4,94 μm v rozmezí 4,66 až 5,20 μm . Průměrný index šířky k délce byl 1:1,93 v rozmezí 1:1,78 až 1:2,05. Variační koeficient pro délku byl 2,54 až 3,60 %, pro šířku 3,51 až 5,38 %. U býků s nízkou plodností byly nalezeny všeobecně extrémní hodnoty v rozměrech spermí a ve větší variabilitě. Užší vztahy byly nalezeny v korelaci s plodností, pro variační koeficient délky hlaviček spermí ($r = -0,6375$) a pro šířku ($r = -0,4166$). Rozdělení četností velikosti spermí bylo vždy jednovrcholové a bylo v mezích křivek nahodilosti.

Problematikou intenzity spermiogeneze a tzv. vyčerpávacích testů se zabývalo mnoho autorů v zahraničí i u nás. Variabilitu délky hlaviček spermí ve třech po sobě jdoucích ejakulátech s odběrem za 15 min sledoval Leidl (1951), který zjistil dalekosáhlou shodu ve velikosti spermí. Krajnc (1964) opakoval u čtyř býků měření velikosti spermí a zjistil stejné nebo nepatrně odchylné hodnoty.

Stanovení velikosti koeficientu dědivosti při sledování rozměrů hlaviček spermí jsme v dostupné literatuře nenalezli. Blake (1945) udává, že zúžení hlaviček spermí a zakřivení bičíku je třeba považovat jako dědičné. Podle Lageilöfa (1949) je délka hlavičky býčí spermie ovlivňována dědičnými faktory. Gregory, Mead, Regan a Rollins (1951), cit. Young (1953) udávají, že některé morfológické změny spermí mohou být dědičného charakteru a jsou v přímé korelaci se snížením fertility.

MATERIÁL A METODIKA

Velikost rozměrů hlaviček spermí býků červenostrakatého plemene jsme prověřovali u šesti plemenů a s pomocí vyčerpávacích testů u dvou plemenů jsme sledovali velikost hlaviček spermí v ejakulátech jdoucích po sobě. Semeno býků bylo jednorázově získáváno na plemenářských stanicích Jihomoravského kraje, kde býci byli pravidelně odebíráni. Všechny získané ejakuláty byly laboratorně vyhodnoceny a kromě ejakulátů vyčerpávací zkoušky použity k inseminaci.

Velikost hlaviček spermí jsme měřili na morfologických roztěrech spermí, fixovaných fixačním roztokem po dobu 30 min (Rob 1962). Preparáty jsme barvili metodou podle Hancocka (1952), modifikovanou Robem (1962). Velikost hlaviček spermí jsme zjistili Nfpm mikroskopem se standardním deskovým mikrofotografickým zařízením při zvětšení 4000 $\times$. Vložku pro fotografické desky jsme nahradili průhledným sklem se zaměřovacím křížem. Na desku jsme pokládali pauzovací papír a tvar hlavičky jsme zakreslili ostrou tužkou. Vzdálenost preparátu od promítací plochy byla 750 mm a po dobu všech měření konstantní. Pro projekci jsme použili okulár Homal IV. Hlavičky spermí jsme měřili posuvným měřítkem s noniem pro duté míry s přesností 0,1 mm. Spermie byly zakreslovány pouze ve středu projekčního obrazu.

Velikost hlaviček jsme sledovali u 500 spermí každého ejakulátu a hodnotili s pomocí základních biometrických hodnot a t -testů průkaznosti (Snedecor 1957). Rozdělení četností velikosti hlaviček spermí jsme sledovali grafickým znázorněním.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro zjištění nejnižšího potřebného počtu měření, při výpočtu biometrických hodnot velikosti rozměrů hlaviček spermí býků jsme použili stanovení středních chyb průměrů pro jednotlivé počty případů. Po zakreslení středních chyb do grafu jsme zjistili, že křivka pro jednotlivé počty případů mírně klesá již při $n = 350$. Pro větší přesnost měření jsme sledovali hodnoty velikosti u 500 hlaviček spermí každého ejakulátu.

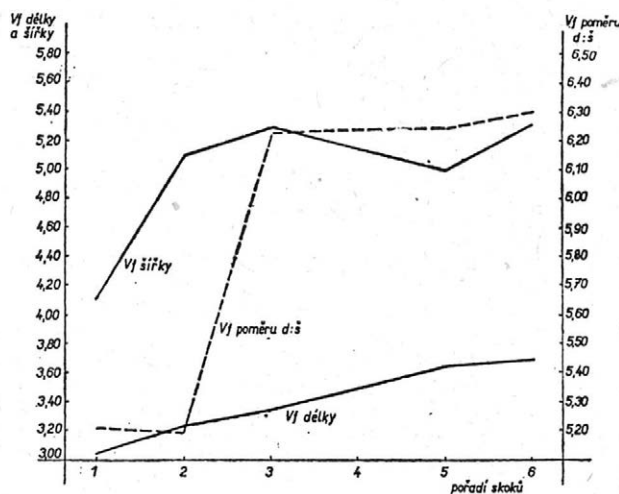
Velikost hlaviček spermí v ejakulátech jdoucích po sobě jsme sledovali u dvou býků červenostrakatého plemene. Odběr semene při vyčerpávacím testu trval 2–3 hodiny a byl ukončen, když býci již odmítali odsemeňovat na vagínu

nebo skákat vůbec. Počet odebraných ejakulátů byl menší než průměrný počet skoků při vyčerpávacích zkouškách u mladých a starších býků, který uvádějí Fulka a Pavlok (1962 a 1963).

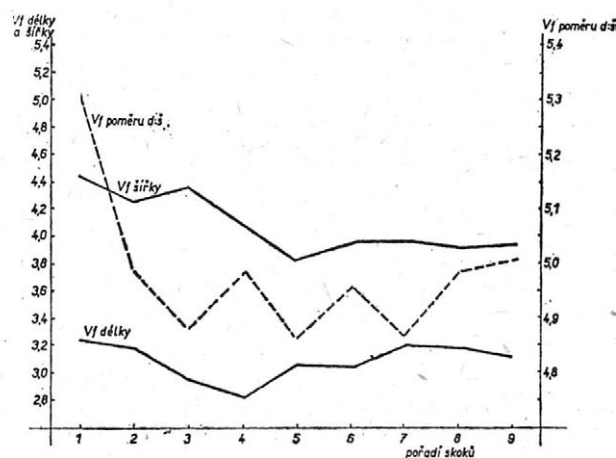
Nalezené hodnoty velikosti délky a šířky hlaviček spermií při vyčerpávacím testu u dvou býků linie Máj a jejich jednotlivých skoků jsou uvedeny v tab. I a II. Velikost hlaviček spermií u všech odebraných ejakulátů byla testována s pomocí Studentova t -testu průkaznosti vzhledem k prvnímu skoku býka. U všech sledovaných hodnot velikosti hlaviček spermií při opakované ejakulaci jsme našli neprůkazný rozdíl při zjišťování rozdílu průměrů mezi jednotlivými skoky vzhledem k prvnímu skoku. Vypočítané hodnoty t -testů byly nalezeny v rozmezí 0,01343 až 1,7706 a nikdy nedosáhly tabulkové hodnoty pro průkazný nebo vysoce průkazný rozdíl. Nalezené výsledky velikosti hlaviček bůčích spermií se shodují s údaji u opakovaných ejakulací v práci Leidla (1951). Kraince (1964). Také hodnoty vypočítaných poměrů mezi délkou a šířkou hlavičky spermií jednotlivých ejakulátů vyčerpávací zkoušky byly také testovány vzhledem k prvnímu skoku a nikdy nedosáhly tabulkové hodnoty pro průkazný nebo vysoce průkazný rozdíl.

Sledování grafického znázornění kolísání variačních koeficientů velikosti hlaviček spermií u jednotlivých skoků vyčerpávací zkoušky je možno do jisté míry podle našich nálezů vyhodnotit tím, že u mladšího býka (Máj 198 — stáří 3 roky) se širší proměnlivost zvyšovala od prvního do šestého skoku, což je nejlépe patrné u délky hlaviček (obr. 1).

Hodnoty variačních koeficientů jednotlivých skoků vyčerpávací zkoušky u staršího býka (Máj 179 — stáří 7 roků) klesaly v délce hlaviček spermií od prvního do čtvrtého skoku a postupně do sedmého skoku nabývaly počátečních hodnot. U šířky hlaviček spermií



1. Variační koeficienty délky, šířky a poměru d:š u spermií býka Máj 198 (nar. 3. 6. 1963) — vyčerpávací zkouška



2. Variační koeficienty délky, šířky a poměru d:š u spermií býka Máj 179 (nar. 1. 4. 1959) — vyčerpávací zkouška

variační koeficienty klesaly od prvního do pátého skoku a postupně se pomalu zvyšovaly (obr. 2).

U šesti býků linie Venas červenostrakatého plemene, a to u otce (Venas 29) a jeho pěti synů (polobratrů) jsme zjišťovali velikost hlaviček spermií (tab. III). Délka hlavičky se pohybovala v rozmezí 9,2440 μm až 9,6406 μm s průměrnou hodnotou 9,4316 $\pm$ 0,0447. Šířka hlaviček spermií dosahovala krajních hodnot 4,8500 μm až 5,3142 μm s průměrnou hodnotou 5,0897 $\pm$ 0,0341 μm . Největší maximální odchylka délky hlavičky spermie se vyskytovala u otce (Venas 29) a činí více než čtrnáctinásobek střední chyby průměru velikosti hlaviček všech sledovaných býků, proti šestnáctinásobku střední chyby průměru býka Venas 63 s nejkratší hlavičkou. Extrémní hodnoty šířky hlavičky obnášely asi desetinásobek pro nejširší spermie (Venas 59) a asi dvacetinásobek střední chyby průměru pro nejužší spermie (Venas 61). Násobky středních chyb průměru maximálních a minimálních hodnot délky a šířky spermií od celkového průměru všech sledovaných býků byly u linie Venas menší než násobky středních

I. Základní biometrické hodnoty a testy průkaznosti délky a šířky spermií při vyčerpávacích testech (Máj 198)

a) Délka spermií						
Skok	$\bar{x}$	s	$s\bar{x}$	v	T test mezi skoky	Hodnocení průkaznosti
1.	9,5508	0,28935	0,01294	3,0295 %		
2.	9,5544	0,30914	0,01382	3,2355 %	0,01901	neprůkazné
3.	9,5624	0,31254	0,01397	3,2685 %	0,60920	neprůkazné
4.	oligospermie					
5.	9,5524	0,34605	0,01547	3,6218 %	0,07936	neprůkazné
6.	9,5516	0,35208	0,01574	3,6860 %	0,03925	neprůkazné
b) Šířka spermií						
1.	4,9572	0,20369	0,00910	4,1089 %		
2.	4,9316	0,25106	0,01122	5,0908 %	1,77064	neprůkazné
3.	4,9372	0,26159	0,01169	5,2966 %	1,35860	neprůkazné
4.	oligospermie					
5.	4,9680	0,2469	0,01104	4,9698 %	0,72483	neprůkazné
6.	4,9574	0,2635	0,01178	5,3154 %	0,01343	neprůkazné

II. Základní biometrické hodnoty a testy průkaznosti délky a šířky spermií při vyčerpávacích testech (Máj 1979)

a) Délka spermií						
Skok	$\bar{x}$	s	$s\bar{x}$	v	T test mezi skoky	Hodnocení průkaznosti
1.	9,0858	0,29362	0,01313	3,23316 %		
2.	9,0914	0,28989	0,01296	3,18860 %	0,3035	neprůkazné
3.	9,0730	0,26921	0,01204	2,96710 %	0,7186	neprůkazné
4.	9,0824	0,25133	0,01137	2,80035 %	0,1957	neprůkazné
5.	9,0674	0,28657	0,01281	3,16040 %	1,0027	neprůkazné
6.	9,0906	0,28758	0,01286	3,16348 %	0,2601	neprůkazné
7.	9,0870	0,30760	0,01375	3,38500 %	0,0630	neprůkazné
8.	9,0618	0,30640	0,01370	3,37930 %	1,2698	neprůkazné
9.	9,0634	0,29060	0,01299	3,20630 %	1,2127	neprůkazné
b) Šířka spermií						
1.	4,8262	0,21463	0,00959	4,44718 %		
2.	4,8224	0,20563	0,00919	4,26405 %	0,2666	neprůkazné
3.	4,8224	0,20978	0,00938	4,34903 %	0,2831	neprůkazné
4.	4,8388	0,20278	0,00906	4,19071 %	0,9545	neprůkazné
5.	4,8184	0,18415	0,00823	3,82180 %	0,6170	neprůkazné
6.	4,8232	0,18925	0,00846	3,92374 %	0,2344	neprůkazné
7.	4,8278	0,19040	0,00852	3,94380 %	0,1250	neprůkazné
8.	4,8152	0,18820	0,00842	3,90845 %	0,8621	neprůkazné
9.	4,8086	0,18870	0,00843	3,92420 %	1,3771	neprůkazné

chyb, které uvádí K r a j n c (1964) u velikosti hlaviček spermií nepříbuzných býků.

Poměr šířky k délce hlavičky pro všechny sledované býky byl 1 : 1,8608 s maximálními a minimálními hodnotami 1 : 1,7712 až 1 : 1,9885. Nalezená průměrná hodnota poměru šířky k délce je poněkud nižší než hodnoty zjištěné

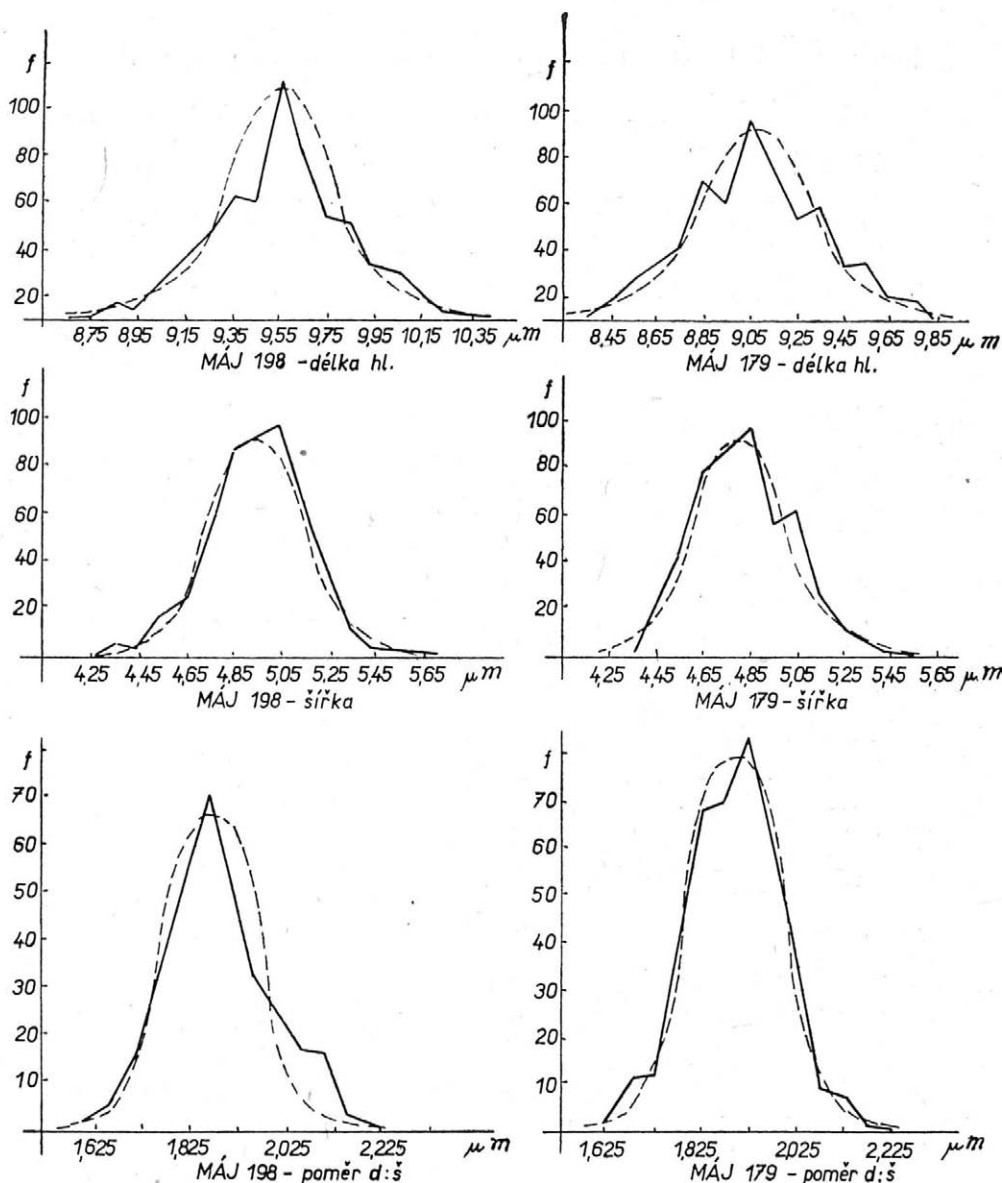
III. Délkové a šířkové rozměry a vzájemný poměr hlaviček spermií býků
linie Venas

a) Délkové a šířkové rozměry								
	Délková proměnlivost				Šířková proměnlivost			
	$\bar{x}$	s	$s\bar{x}$	v	$\bar{x}$	s	$s\bar{x}$	v
Venas 29	9,6406	0,01527	0,3416	3,5438 %	5,2068	0,10206	0,26968	5,1842 %
Venas 46	9,3998	0,01739	0,3891	4,1390 %	5,1078	0,01290	0,28853	5,6488 %
Venas 59	9,3966	0,01605	0,3589	3,8197 %	5,3142	0,01260	0,28181	5,3002 %
Venas 61	9,5974	0,01293	0,2891	0,0123 %	4,8500	0,01099	0,24576	5,0673 %
Venas 63	9,2440	0,01230	0,2752	2,9937 %	4,9580	0,00987	0,22080	4,4534 %
Venas 64	9,3116	0,01544	0,3454	3,7093 %	5,1066	0,00982	0,21982	4,3023 %
b) Poměr délkových a šířkových rozměrů								
Venas 29	1,8637	0,00602	0,1347	6,5704 %				
Venas 46	1,8396	0,00585	0,1171	6,3668 %				
Venas 59	1,7712	0,00507	0,1001	5,6538 %				
Venas 61	1,9885	0,00592	0,1185	5,9590 %				
Venas 63	1,8738	0,00495	0,0989	5,2791 %				
Venas 64	1,8283	0,00509	0,1019	5,5731 %				

Schillingem a Krajncem (1964). Pouze nejvyšší hodnoty tohoto poměru se přibližují pojmu pro „ideální býčí spermie“, který navrhl Bretschneider (1948).

Variační koeficient délky hlaviček spermií kolísal v rozmezí 2,97 % až 4,13 % s průměrem 3,53 %, pro šířku hlaviček spermií 4,30 % až 5,65 % s průměrnou hodnotou 4,992 %. Variační koeficienty pro poměr mezi šířkou a délkou hlaviček dosahovaly hodnot 5,27 % až 7,22 % s průměrem 6,009 %. Zjištěné variační koeficienty délky spermií se vyskytují ve „fyzilogické“ hranici stanovené Savagem (1927) a shodují se rovněž s údaji dalších autorů pro hodnoty variačních koeficientů plodných býků (Lagerlöf 1934, Sciuchetti 1938, Leidl 1951, Krajnc 1964).

Testováním všech sledovaných rozměrů hlavičky spermie jednotlivých býků (polobratrů) vzhledem k otci (Venas 29), jsme zjistili ve všech případech vysoce průkazné rozdíly až na délku spermií býka Venas 61, kde byl nalezen pouze průkazný rozdíl (tab. IV). Vysoce průkazné rozdíly mezi jednotlivými býky potvrzují údaje, které uvádějí Krajnc a Schilling (1964) na podkladě



3. Znázornění sledovaných rozměrů velikosti hlaviček býčích spermií do křivek četnosti

statistické prověrky metodou analýzy variance, kde byly zjištěny vysoce průkazné rozdíly mezi zvířaty.

Znázorněním všech sledovaných rozměrů hlaviček spermií do křivek četnosti (obr. 3) a zakreslením teoretických křivek normálního dělení, jsme jednoduchým způsobem zjistili, zda nedochází k tzv. dvouvrcholovému dělení křivek. Nalezené křivky četnosti neukazovaly dvouvrcholové dělení a potvrzovaly údaje Sciuchettiho (1938), Witteho (1956) a Krajnce (1964) o normální dělení rozměrů velikosti hlavičky.

IV. Testy průkaznosti rozdílu velikosti spermií u býků linie Venas
(t — test)

		Venas 46	Venas 59	Venas 61	Venas 63	Venas 64
		polobratři				
Venas 29 délka spermií	otec	++	++	+	++	++
Venas 29 šířka spermií		++	++	++	++	++
Venas 29 poměr d : š		++	++	++	++	++

Poznámka: vysoká průkaznost = ++
průkaznost rozdílu = +

SOUHRN

Byla sledována velikost hlaviček 500 spermií každého ejakulátu u šesti býků červenostrakatého plemene. Průměrná délka hlaviček všech sledovaných býků byla $9,4314 \pm 0,044 \mu\text{m}$ s rozmezím $9,2428 \pm 0,036 \mu\text{m}$ až $9,6406 \pm 0,045 \mu\text{m}$. Šířka hlavičky byla v průměru $5,0897 \pm 0,034 \mu\text{m}$ s rozmezím $4,8500 \pm 0,032 \mu\text{m}$ až $5,3142 \pm 0,037 \mu\text{m}$. Průměrný index šířky k délce byl $1 : 1,8608$ s rozmezím $1 : 1,7712$ až $1 : 1,9885$. Variační koeficienty pro délku hlavičky spermií se pohybovaly v rozmezí 2,97 až 4,13 % s průměrem 3,52 %, pro šířku hlavičky 4,302 až 5,648 % s průměrem 4,992 %. Variační koeficienty poměru šířky k délce byly v maximálních a minimálních hodnotách 5,27 až 7,22 % s průměrem 6,0095 %.

Testováním výsledků s pomocí *t*-testu bylo zjištěno, že jsou vysoce průkazné rozdíly průměru sledovaných hodnot velikosti hlaviček spermií mezi otcem a jeho pěti syny — polobratry.

U dvou býků byla provedena vyčerpávací zkouška a rozdíly průměrných hodnot velikosti hlavičky jednotlivých skoků byly testovány *t*-testem vzhledem k prvnímu skoku. Byly nalezeny neprůkazné rozdíly ve velikosti hlaviček spermií při opakované ejakulaci.

Rozdělení četnosti všech sledovaných rozměrů hlaviček spermií bylo jednovrcholové a v mezích křivek nahodilosti.

Došlo dne 20. 4. 1967

Literatura

1. BLAKE, T. A.: Inheritance of morphological characters in the sperm of cattle. = „Nature“, 155, 1945: 631. — 2. BAKER, F. N. - SALISBURY, G. W.: Nuclear size of life and dead bovine spermatozoa. = „Nature“, 197, 1963: 320. — 3. BRETHERTON, F. P., ROTSCHILD, L.: Rheotaxis of spermatozoa. = „Proc. roy. Soc.“, B. 153, 1961: 490. — 4. BRETSCHNEIDER, L. H.: Een normtafel ten gebruike bij de morphologische beordeling van Stiersperma. = „Tschr. diergenesk“, 73, 1948: 421. — 5. FISCHER, R. A. - YATES, F.: Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research. = Edinburgh, 1949. — 6. FULKA, J. - PAVLOK, A.: Množství a kvalita ejakulátů plemenných býků při odlišné výživě a různém stáří,

zjištěných ve vyčerpávacích zkouškách. = „Živočišná výroba“ 7, 1962, 7-8 : 473-480. — 7. FULKA, J. - PAVLOK, A.: Charakteristika býčích ejakulátů získaných při opakovaných vyčerpávacích zkouškách. = „Živočišná výroba“, 8, 1963, 9 : 523-530. — 8. GAMČIK, P. - SAKALA, J.: Sterilita hovädzieho dobytku. Bratislava, 1960. — 9. HANCOCK, J. L.: The morphology of bull spermatozoa. = „Jour. Exp. Biol.“, 1952, 5 : 445-453. — 10. KRAJNC, A.: Biometrische Untersuchungen an Bullenspermien und deren Beziehungen zur Fruchtbarkeit. = „Dissertation“, Hannover, 1964. — 11. LAGERLÖF, N.: Morphologische Untersuchungen über Veränderungen im Spermium und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. = „Acta path. mic. Scand.“ Suppl. Uppsala 1934. — 12. LEIDL, W.: Beitrag zur Biometrie an Bullenspermien. = „Inaug.-Diss.“, München, 1951. — 13. ROB, O.: Metody morfologického vyšetření spermatu býků při sledování patologických změn a jejich význam z hlediska dědičnosti. = „Veterinární medicína“, 7, 1962, 12 : 843-854. — 14. SAVAGE, A. - WILLIAMS, W. W. - FOWLER, N. M.: A statistical study of the head length variability of bovine spermatozoa and its application to the determination of fertility. = „Transact. Roy. Soc. Canad.“ Sect. V, 1927, 21 : 425. — 15. SCIUCHETTI, A.: Untersuchungen über die Fruchtbarkeit einiger männlicher Zuchtrinder. = „Züchtungsbiologie“, 1938, 41 : 161. — 16. SNEDECOR, G. W.: Statistical Methods. The Iowa State College Press, 1957. — 17. SCHILLING, E. - KRAJNC, A.: Messungen an Bullenspermia und deren Beziehungen zur Fruchtbarkeit. = In: V. Inter. cong. Riprod. Anim., Trento III, 1964 : 262-286. — 18. VAN DUIJN, C.: Measurement of the heads of bull spermatozoa. = „Mikroskopie“, 14, 1960, 9-10 : 256-276. — 19. WITTE, K.: Untersuchungen über die Spermamorphologie an fünf jüngeren Besamungsbullen. = Inaugural-Dissertation, Hannover, 1956. — 20. YOUNG, B.: Genetic aspects of fertility and infertility in cattle. = „Vet. rec.“ 65, 1953 : 271-276.

Размер головок сперматозоидов у двух заводских линий быков-производителей красно-пестрой породы

Исследовались размеры 500 головок спермиев, взятых из отдельных эякулятов от 6 быков-производителей красно-пестрой породы. Средняя длина головок спермиев у всех подопытных быков была $9,4314 \pm 0,014 \mu\text{m}$ с колебанием $9,2428 \pm 0,036 \mu\text{m}$ — $9,6406 \pm 0,045 \mu\text{m}$. Ширина головки была в среднем $5,0897 \pm 0,034 \mu\text{m}$ с колебанием $4,8500 \pm 0,032 \mu\text{m}$ — $5,3142 \pm 0,037 \mu\text{m}$. Средние показатели индекса ширины к длине были $1:1,8608$ с колебанием $1:1,7712$ — $1:1,9885$. Коэффициент изменчивости длины головки сперматозоидов колебался в пределах $2,97$ — $4,13$ % со средним значением $3,52$ %, для ширины головки аналогично $4,302$ — $5,648$ %, в среднем $4,992$ %. Коэффициент изменчивости индекса (ширина : длина головки) находился в пределах $5,27$ — $7,22$ % со средним значением $6,0095$ %. Разница средних значений исследованных промеров головок сперматозоидов отца и его 5 сыновей-полубратьев была статистически достоверной (определено с помощью «t» критериев).

У 2 быков-производителей провели часто повторяющиеся (исчерпывающие) садки. Разница средних значений размеров головки спермиев отдельных садок была обработана статистически при помощи критериев значимости «t» (контролем служили показатели первой садки). Разница средних показателей при повторной эякуляции статистически недостоверна. Распределение частоты всех исследованных показателей головок имело нормальное распределение с 1 вершиной и находилось в пределах кривых случайности.

Текст к таблицам

- I. Основные биометрические показатели и значения вероятности длины и ширины сперматозоидов при исчерпывающих садках (Май 198)
- II. Основные биометрические показатели и значения вероятности для длины и ширины спермиев при исчерпывающих садках (Май 179)
- III. Промеры длины и ширины и взаимоотношение головок спермиев быков линии Венас
- IV. Показатели уровня значимости размеров спермиев у быков-производителей линии Венас

Текст к диаграммам

1. Коэффициенты изменчивости длины, ширины и соотношения длины : ширины у спермиев быка-производителя Май 198 (рожд. 3. 6. 1963 г.) — при исчерпывающих садках
2. Коэффициенты изменчивости длины, ширины и соотношения длина : ширина у спермиев быка-производителя Май (рожд. 1. 4. 1959 г.) — при исчерпывающих садках
3. Изображение изучаемых размеров, величины головок бычьих спермиев в кривых частоты

The Size of the Heads of Spermatozoa in Two Lines of Red-Spotted Bulls

In every ejaculate of 6 red-spotted bulls the sizes of the heads of 500 spermatozoa were measured. The average length of the heads of spermatozoa of all the tested bulls was $9.4314 \pm 0.044 \mu$ ranging from $9.2428 \pm 0.036 \mu$ to $9.6406 \pm 0.045 \mu$. The average width of the head was $5.0897 \pm 0.034 \mu$, i. e. $4.8500 \pm 0.032 \mu$ to $5.3142 \pm 0.037 \mu$. The average width to length index was 1:1.8608, i. e. within range from 1:1.7712 to 1:1.9885. As to the length of the heads of the spermatozoa, the variation coefficients ranged from 2.97 to 4.13 %, averaging 3.52 %, those of the width of the heads ranged from 4.302 % to 5.648 %, and the average was 4.992 %. Coefficients of variation of the width to length ratio were 5.27 per cent (the maximum), and 7.22 (the minimum). The average was 6.0095 per cent.

T-test of the results showed considerable differences between the investigated average sizes of the heads of spermatozoa of the sire and those of his 5 sons half-sibs.

Two bulls underwent a depletion, and the differences of the average values obtained through measuring the sizes of the heads of spermatozoa of the individual collections were T-tested in relation to the first collection. Insignificant differences were found in the size of the heads of spermatozoa in repeated ejaculations.

The distribution of the frequency of all the observed sizes of the spermatozoa heads was one-apexed and ranged within the limits of accidentality curves.

Text to the tables

- I. Basic biometrical values and the significance tests of the length and width of the spermatozoa during the depletion tests (Máj 198)
- II. Basic biometrical values and the significance tests of the length and width of the spermatozoa during the depletion tests (Máj 197)
- III. Lengths and widths of the heads of spermatozoa and their mutual ratio (bulls of the Venas line)
- IV. The significance tests of the difference in the sizes of spermatozoa. (Bulls of the Venas line)

Text to the figures

1. Coefficients of variation of the length, width, and the length to width ratio of sperms. (Bull Máj, 198. born June 3rd, 1963); depletion test
2. Coefficients of variation of the length, width, and the length to width ratio of sperms. (Bull Máj 197, born April 1st, 1959); depletion test
3. Frequency curves demonstrating the sizes of the bull spermatozoa

Adresa autora:

Ing. Jiří K u c i e l, Vysoká škola zemědělská, agronomická fakulta, katedra genetiky, Brno, Zemědělská 1—3

■ Snaha po objasnění alespoň jedné z otázek mechanismu kapacitace spermií v genitálních samice nás přivedla k pokusu, jehož cílem bylo objasnit vliv prostředí v pohlavních orgánech plemence na přeměnu některých kalorických živin obsažených ve spermatu.

Četní autoři se shodují v tom, že fruktóza je jednou z nejvíce využívaných energetických látek ve spermatu plemeníků. Již v r. 1948 byl Mannem stanoven tzv. index fruktolýzy, což je množství spotřebované fruktózy jednou miliardou pohyblivých spermií při teplotě 37 °C za hodinu. U jakostního býčího spermatu se pohybuje od 1,4 do 2 mg. Kromě cukrů může být jako substrátu využíváno solí kyseliny octové, propionové, máselné a oxalocetové, dále lipidů, glycerolu a aminokyselin. Cegielska (1958) např. zjistil po šesti hodinách uchování spermatu pokles obsahu aminokyselin ve spermatu býka, kance a psa. Burniana a kol. (1962) stanovil přímou závislost mezi glykoproteidy a kvalitou spermií. Podobně i Kravica se spolupracovníky (1964) zjišťovali hladinu volných aminokyselin v semenné plazmě kanců. Dospěli k závěru, že obsah volných aminokyselin je přímo úměrný koncentraci spermií. Podle Infantellina (1945), Tesoriere a Infantellina (1946), Manna a Leone (1953) — (cit. Mann 1954) chrání některé aminokyseliny jako ergotionein, cystein a redukovaný glutation životně důležité sulhydrikové skupiny spermií proti inhibitorům sulhydrikových skupin a proti inhibici způsobené ionty mědi a peroxidem vodíku. Cermák (1966) se zabýval přeměnou fruktózy a bílkovin v ředěném spermatu vystaveném účinkům sekretů vestibula, dělohy, vejcovodů a folikulární tekutiny po dobu pěti hodin při 38 °C. Zjistil, že přeměna fruktózy byla na stejné úrovni jak v kontrolních ejakulátech, tak i u těch ejakulátů, které byly vystaveny účinkům zmíněných sekretů, přičemž počáteční hladina fruktózy byla v průměru 360 mg %. Průměrný index fruktolýzy byl 1,37 mg. Množství odbourané fruktózy nebylo ovlivněno ani vysokým obsahem mikrobů v pokusných ejakulátech. Pokud jde o metabolismus bílkovin, byl u některých spermat zjištěn jejich úbytek (např. u spermatu obsahujícího hlen z vejcovodů a dělohy odebraný v estrální fázi cyklu a hlen z vejcovodů získaný ve fázi luteální). U ostatních ejakulátů se projevila jejich mírná syntéza. Průkazně nejvyšší byla u spermat s přídavkem folikulární tekutiny Graafova vajíčku v proestu a hlenu z dělohy získané v luteální fázi cyklu. Úbytek bílkovin je přičítán na vrub bakterií, jejichž zvýšené množství se objevilo právě ve zmíněných ejakulátech. Sledovaná spermata byla hodnocena také po stránce jejich rezistence a úbytku živých spermií. Úbytek rezistence po pětihodinové expo-

zici byl největší v kontrolní skupině, avšak průkazně nižší ve všech dalších pokusech, až na sperma s přidavkem vestibulárního hleny v metestru. Pohyblivost spermií v kontrolních pokusech se snížila o 71 %. Značně menší úbytek byl zaznamenán pouze u spermií s folikulárním mokem odebraným v proestru, s hlenem tubárním v říji a s hlenem uterinním v metestru.

Čermák však pracoval se spermatem ředěným žloutkokocitrátovým ředidlem. Lze tedy soudit, že jak metabolismus, tak i rezistence a přežitelnost spermií mohl být ovlivňován tímto médiem. Ostatně Blackshaw (1957) prokázal stimulační vliv lecitinu a vaječného žloutku na fruktolýzu. Své pokusy jsme proto sestavili tak, že jsme nechali genitální sekrety působit na sperma ředěné pouze Ringerovým roztokem a sledovali jejich účinek na několika spermiologických ukazatelích.

MATERIÁL A METODIKA

Sperma jsme získávali od dvou pokusných býků ve stáří 2,5 roku krmených běžnými statkovými krmivem a exploatací poněkud vyšší než v běžném plemenářském provozu. V čerstvě odebraném ejakulátu jsme zjistili koncentraci spermií a jejich pohyblivost. Potom bylo sperma naředěno Ringerovým roztokem tak, aby v 1 ml bylo 300 000 000 pohyblivých spermií. Dále jsme ejakulát rozdělili na několik dílů, k nimž jsme jednotlivě přidávali folikulární mok získaný z Graafových váčků v proestru a estru, dále sekret tubární, uterinní a vestibulární odebraný v estru a v metestru. Všechny sekrety, až na folikulární mok, byly ředěny fyziologickým roztokem v poměru 1 : 3 proto, že samy o sobě byly příliš husté a nesnadno se odměřovaly. Ke spermatu jsme je přidávali v množství 0,2 ml na 1 ml spermatu. Folikulární mok nebyl ředěn a byl přidáván ve stejném množství jako ostatní sekrety. Krávy a pohlavně dospělé jalovnice, od nichž jsme výměšky odebírali, byly bez patologických nálezů. Stadium pohlavního cyklu jsme určovali pitvou. Genitálie poražených plemenic byly vždy čerstvé a naředěné hleny byly uchovávány nejdéle tři dny při teplotě 0 až +1 °C. Po přidání uvedených sekretů k jednotlivým dílům ejakulátu jsme odebrali ihned vzorky a stanovili v nich % pohyblivých spermií, rezistenci, množství mikrobů, hladinu fruktózy a bílkovin. Každý ejakulát byl potom v množství 1 ml vystaven v nádobce působení vodní lázně teplé 38 °C s výkyvy $\pm 0,2$ °C po dobu pěti hodin. Po této době byly pohyblivost, rezistence, množství bakterií, fruktózy a bílkovin stanoveny znovu. Získané hodnoty byly potom přepočítány na 1 miliardu spermií (živých na začátku, avšak s velkým podílem mrtvých na konci pokusu).

Fruktózu v semeni jsme stanovili fotokolorimetricky, reakcí podle Manna, celkovou hladinu bílkovin polarograficky v amoniakálním prostředí, za přítomnosti trojmocného kobaltu. Polarogramy jsme vyhodnocovali v relativních hodnotách, tj. na základě vzdálenosti v mm, v níž protíná úsečku křivka následující po charakteristické bílkovinné dvojlině. Jako výsledek byl hodnocen úbytek či přibývání výšky po pěti hodinách na rozdíl od počátečních hodnot. V tabulkách je úbytek značen znaménkem — a přibývání +.

Množství mikrobů (celkem) jsme zjišťovali metodou podle Kazdy (Polák 1961). Živé spermie jsme počítali v nativním preparátu ředěném citrátem sodným tak, aby byly jednotlivě počítatelné. Preparát jsme prohlíželi mikroskopem s fázově kontrastním zařízením a počítali průměrné procento pohyblivých spermií z 20 zorných polí. Hustotu spermií jsme zjišťovali fotokolorimetrem, zkoušku rezistence jsme dělali na základě odolnosti spermií vůči zvyšovanému objemu 1% roztoku NaCl. Respiraci spermií, tj. spotřebu kyslíku a výdej kysličníku uhlíčitýho jsme měřili ve Warburgově přístroji při frekvenci 95—100 kyvů za minutu.

VÝSLEDKY

Hladina fruktózy v semeni pokusných plemeníků byla, jak ukazuje tab. I, velmi nízká a pohybovala se od 23 do 64 mg %. Rovněž intenzita fruktolýzy byla na nízké úrovni. V kontrolních pokusech bylo za pět hodin 1 miliardou

I. Obsah fruktózy ve spermatu v mg % na počátku expoziční doby

Počet měření		Zjištěná hladina fruktózy v mg % ($\bar{x}$)
16	ejakulát býka bez sekretů – kontrola	63,7
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v říji	44
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v proestru	52
10	ejakulát býka + sekret vejcovodu v říji	64
10	ejakulát býka + sekret vejcovodu v metestru	32
10	ejakulát býka + sekret děložní v říji	61
10	ejakulát býka + sekret děložní v metestru	45
10	ejakulát býka + sekret vestibula v říji	44
10	ejakulát býka + sekret vestibula v metestru	23

II. Úbytek fruktózy ve spermatu za 5 h

Počet měření		Úbytek obsahu fruktózy v mg ($\bar{x}$)
16	ejakulát býka bez sekretů – kontrola	1,07
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v říji	0,16
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v proestru	0,16
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v říji	1,15
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v metestru	0,40
10	ejakulát býka + sekret děložní v říji	0,98
10	ejakulát býka + sekret děložní v metestru	0,70
10	ejakulát býka + sekret vestibula v říji	0,59
10	ejakulát býka + sekret vestibula v metestru	0,23

spermií rozloženo 1,07 mg fruktózy. Spermie v prostředí folikulární tekutiny metabolizovaly 0,16 a 0,16 mg, v prostředí sekretů tubárních 1,15 a 0,40 mg, v prostředí hlenu děložního 0,98 a 0,70 mg a spermie s přídavkem sekretu vestibulárního 0,59 a 0,23 mg fruktózy. Výsledky uvádíme v tab. II. Průměrný index fruktolýzy byl 0,12 mg. Výsledné hodnoty fruktolýzy u spermií,

k nimž byly přidávány jednotlivé genitální výměšky, byly proti kontrole signifikantně nižší u folikulární tekutiny v estru ($P = 0,05$) a proestru ($P = 0,05$).

Na stejné úrovni s kontrolními pokusy se udržely hodnoty fruktolýzy v prostředí všech ostatních sekretů.

III. Hladina bílkovin v epikulátu na počátku expoziční doby (v relativních hodnotách — při napětí 1,6 V)

Počet měření		Hladina bílkovin ($\bar{x}$)
13	ejakulát býka bez sekretů — kontrola	24,3
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v říji	23,2
9	ejakulát býka + folikulární tekutina v proestru	23,2
9	ejakulát býka + sekret vejcovodů v říji	24,8
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v metestru	22,5
9	ejakulát býka + sekret děložní v říji	24,4
10	ejakulát býka + sekret děložní v metestru	23,1
10	ejakulát býka + sekret vestibula v říji	21,9
10	ejakulát býka + sekret vestibula v metestru	24,7

IV. Rozdíl hodnot v hladině bílkovin na počátku pokusu a za 5 hodin (v relativních hodnotách)

Počet měření		Zvýšení hladiny bílkovin
13	ejakulát býka bez sekretů — kontrola	+ 1,77
9	ejakulát býka + folikulární tekutina v říji	+ 2,11
9	ejakulát býka + folikulární tekutina v proestru	+ 2,89
9	ejakulát býka + sekret vejcovodů v říji	+ 0,44
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v metestru	+ 0,90
9	ejakulát býka + sekret děložní v říji	+ 2,11
9	ejakulát býka + sekret děložní v metestru	+ 2,67
10	ejakulát býka + sekret vestibula v říji	+ 0,40
10	ejakulát býka + sekret vestibula v metestru	+ 2,80

Průměrný obsah bílkovin zjištěný polarograficky na začátku každého pokusu se pohyboval od hodnoty 21,9 do 24,8 (tab. III). Během pětihodinové expozice se u všech pokusných skupin projevila jejich mírná syntéza kolísající od 0,4 do 2,9. Přitom u ejakulátů kontrolních jsme naměřili 1,8, u spermat s folikulárním mokem 2,1 a 2,9, s výměskem vejcovodů 0,4 a 0,9, se sekretem děložním 2,1 a 2,7 a se sekretem vestibulárním 0,4 a 2,8. Rozdíly proti kontrole nejsou průkazné u žádné skupiny pokusů. Metabolismus bílkovin v jednotlivých pokusných skupinách ukazuje tab. IV.

Na začátku expoziční doby bylo v jednotlivých ejakulátech zjištěno průměrně 75,6 % pohyblivých spermií (viz tabulka č. V.). Z tohoto množství ubylo během pěti hodin u kontrolní skupiny 98,5 %, u skupiny vystavené účinku folikulární tekutiny 95,6 a 96,1 %, sekretu vejcovodů 94,8 a 77,8 %, sekretu děložního 98,2 % a 84,3 %, sekretu vestibula 99 a 98,2 %. To znamená, že ztráta pohyblivosti byla ve všech případech, až na folikulární tekutinu v proestu ($P = 0,01$), sekret vejcovodů v metestru ($P = 0,01$) a sekret děložní v metestru ($P = 0,02$), stejná. Výsledky tohoto pokusu uvádíme v tab. V.

Pokud jde o zkoušku rezistence, naměřili jsme na začátku pokusu u všech skupin v průměru rezistenci 12 013. Rozdíly patrné v tab. VI nejsou statisticky významné. Za pět hodin expozice při teplotě 38 °C ubylo z této rezistence u kontrol 94,6 %, u spermií s folikulárním mokem 90,2 a 92,8 %, s výměskem z vejcovodů 91,7 a 85,8 %, se sekretem děložním 99,4 a 91 %, se sekretem vestibulárním 99,3 a 99,5 %. Jednotlivé rozdíly nejsou signifikantní, takže úbytek rezistence je ve všech skupinách stejný (tab. VI).

V. Počáteční hodnoty pohyblivých spermií v % a úbytek živých spermií za 5 h v %

Počet měření		Počáteční hodnoty živ. spermií v % ($\bar{x}$)	Úbytek živ. spermií za 5 h v % ($\bar{x}$)
16	ejakulát býka bez sekretů – kontrola	75	98,5
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v říji	76	95,6
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v proestu	80,5	96,1
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v říji	75	94,8
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v metestru	80,7	77,8
10	ejakulát býka + sekret děložní v říji	72,5	98,2
10	ejakulát býka + sekret děložní v metestru	80,2	84,3
10	ejakulát býka + sekret vestibula v říji	68,5	99
10	ejakulát býka + sekret vestibula v metestru	72,2	98,2

VI. Rezistence na začátku expoziční doby a úbytek rezistence spermií za 5 h v %

Počet měření		Rezistence na začátku expoziční doby	Úbytek rezistence za 5 h v %
16	ejakulát býka bez sekretů – kontrola	14 062	94,6
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v říji	10 500	90,2
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v proestru	16 500	92,8
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v říji	12 000	91,7
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v metestru	10 520	85,8
10	ejakulát býka + sekret děložní v říji	8 500	99,4
10	ejakulát býka + sekret děložní v metestru	10 020	91,0
10	ejakulát býka + sekret vestibula v říji	11 520	99,3
10	ejakulát býka + sekret vestibula v metestru	14 500	99,5

VII. Mikrobiální znečištění spermatu na začátku expoziční doby a za 5 h

Počet měření		Množství bakterií na začátku expoziční doby ($\bar{x}$)	Množení bakt. během 5 h expoz. doby ($\bar{x}$)
16	ejakulát býka bez sekretů – kontrola	194 062	647 500
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v říji	77 000	2 444 500
10	ejakulát býka + folikulární tekutina v proestru	70 000	2 866 000
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v říji	354 000	3 301 000
10	ejakulát býka + sekret vejcovodů v metestru	909 000	1 980 000
10	ejakulát býka + sekret děložní v říji	811 500	2 521 400
10	ejakulát býka + sekret děložní v metestru	305 000	2 300 000
10	ejakulát býka + sekret vestibula v říji	911 000	2 789 000
10	ejakulát býka + sekret vestibula v metestru	55 000	2 010 000

Mikrobiální znečištění spermatu bylo ve všech případech na stejné úrovni. Za pět hodin se však průkazně zvýšilo, a to přibližně o stejný díl ve všech ejakulátech obsahujících genitální výměšky. Výsledky jsou v tab. VII.

DISKUSE

Sledujeme-li nápadně nízký index fruktolýzy ve všech pokusných skupinách, zdá se, že jeho příčinou je základní prostředí, v němž byly spermie po celou dobu pokusu, tedy Ringerův roztok. Žádný z výměsků pohlavních orgánů samice totiž výrazně neovlivnil metabolismus fruktózy, a to ani v pokusech Čermákových (1966), v nichž ale bylo spermiím zachováno příznivé prostředí ve formě žloutkocitrátového ředidla. Námi zjištěná mírná syntéza bílkovin rovněž koresponduje s výsledky Čermáka, až na sperma v prostředí hlenu z vejcovodů a dělohy v estrální fázi cyklu a hlenu z vejcovodů ve fázi luteální. V našich pokusech však množství bakterií bylo u všech skupin stejné, zatímco v pokusech Čermákových se projevilo jejich enormní zvýšení právě u zmíněných sekretů. Naše výsledky jsou v souladu s pozorováními Cegielky (1958). Ten však ponechával ejakuláty při pokojové teplotě a syntéza se projevila až po šesti hodinách. V našich pokusech jsme sperma exponovali 5 hodin při tělesné teplotě, takže metabolická intenzita byla daleko vyšší a syntéza se tedy mohla projevit dříve. Ostatně od odběru semene do začátku pokusu uběhlo vždy ca 1,5 hodiny, takže celková doba, po níž přeměna probíhala, byla delší než 6 hodin. Stejnou ztrátu rezistence ve všech pokusných skupinách lze přičíst na vrub námi používaného ředidla, které zřejmě paralyzovalo i příznivé účinky jednotlivých výměsků samičího ústrojí zjištěné v Čermákových pokusech. Chyběl zde pravděpodobně protektivní účinek koloidů vaječného žloutku. Ztráta pohyblivosti spermií byla v našich pokusech téměř naprosto stejná (až na sekret tubární v metestru) jako v pokusech citovaného autora, konaných se spermiemi v žloutkocitrátovém prostředí. V tomto směru je tedy účinek výměsků samičích genitálií pravděpodobně specifický. Prokazatelný vliv bakteriálního znečištění se v našich pokusech neprojevil.

Jeden z účinků kapacity lze tedy spatřovat v ovlivnění metabolismu bílkovin a v získání některých protektivních složek (zřejmě aminokyselin) proti účinkům látek zvaných fertiliziny, jež působí pravděpodobně jako inhibitory životně důležitých sulphydrylových skupin spermií.

SOUHRN

V popsané práci byl sledován vliv sekretů pohlavního ústrojí samice na metabolismus fruktózy, bílkovin, rezistenci a pohyblivost býčích spermií. V uvedeném prostředí zachovávajícím tělesnou teplotu skotu (38 °C) byly spermie ředěné Ringerovým roztokem ponechány po dobu 5 hodin. Zjištěné velmi nízké hodnoty fruktolýzy a ztráty odolnosti spermií jsou přičítány na vrub poměrně nepříznivému působení používaného ředidla. Náznak syntézy bílkovin opravňuje k domněnce o autotrofní výživě spermií v určité fázi pobytu v popsaném prostředí. Neimenší ztráty na pohyblivosti byly zjištěny u spermií vystavených účinku folikulární tekutiny odebrané v proestru, sekretu vejcovodů a dělohy v metestru. Vliv bakteriálního znečištění na sledované hodnoty nebyl zaznamenán. Za jeden z možných kapacitních jevů se považuje ovlivnění metabolismu bílkovin ve směru syntézy některých důležitých aminokyselin.

Došlo dne 19. 4. 1967

1. BLACKSHAW, A. W. a kol.: Factors influencing metabolic activity of bull spermatozoa II. Cold-shock and its prevention. = „J. Dairy Sci.“ 40, 1957, 9: 1099-1105. — 2. BURNIANA, L. M. a kol.: Glucidograma spermei si inportanta ei practica. = „Lucrari stiintifice“, serie C, 1962: 439-442. — 3. CEGIELKA, M.: A qualitative study on the amino acids in the semen from ox, dog and pig. = „Nord. vet. med.“ 10, 1958, 2: 93-101. — 4. ČERMÁK, O.: Vliv sekretů pohlavních ústrojí krávy na metabolismus býčích spermií. = „Živočišná výroba“, 11, 1966, 10: 735-746. — 5. ČERMÁK, O.: Vliv sekretů samičích genitálií na látkovou přeměnu spermií. = „Veterinární medicína“, 11, 1966, 9: 559-568. — 6. KRVAVICA, C. - SIMUNIC, V. - ABRAM, K.: The change of free amino acids in the sperm of the boar. = In: Trento, 1964, 2: 446-448. — 7. MANN, T.: The Biochemistry of Semen. London 1954. — 8. POLÁK, L.: Inseminace skotu, 1961.

Влияние секретов женских половых органов на метаболизм спермиев

В работе исследовалось влияние секретов женского полового органа на метаболизм фруктозы, белков, резистенцию и подвижность спермиев. В среде, сохраняющей температуру тела скота (38 °C), спермии, разбавленные раствором Рингера, находились в течение 5 часов. Определение низкой величины фруктолиза и потери устойчивости спермиев являются, по-видимому, результатом неблагоприятного действия использованного разбавителя. Появление синтеза белков дает предположение об автотрофном питании спермиев в определенной фазе их пребывания в описанной среде.

Наименьшая потеря в подвижности была обнаружена у спермиев, находящихся под воздействием фолликулярной жидкости, отобранной в период проэструма, и секретов яйцеводов и матки в период метэструма. Влияния бактериальной загрязненности на исследованные показатели не было замечено.

Одним из основных явлений считается влияние метаболизма белков в направлении синтеза некоторых важных аминокислот.

Material Metabolism of Zoospermia in Conditions Influenced by Secretions of Female Sexual Organs

In the described work the effect of female sexual organs secretions on fructosis and protein metabolism, resistance and mobility of bull sperm were tested. In the given milieu keeping the body temperature of horned cattle (38 °C) zoospermia diluted by Ringer solution were left for five hours. The ascertained very low values of fructolysis and decrease of zoospermia resistance are attributed to rather unfavourable effect of the diluent used. The indication of protein synthesis justifies the assumption of autotrophic nutrition of zoospermia at a certain phase of stay in the described milieu. The least decrease of mobility was ascertained at zoospermia exposed to the effect of follicular liquid taken off in proester, the oviduct and uterine secretion in metester. The effect of bacterial pollution on pursued values was not noted. The influencing of protein metabolism in the direction to synthesis of some important amino acids can be regarded as one of the possible capacitation phenomena.

Adresa autorů:

Ing. Miroslav Boháček, ing. Rudolf Synek, Jan Výskala, Učiliště pro pracovníky plemenářské služby, Boskovice

NEJVHODNĚJŠÍ FREKVENCE ODBĚRU PLEMENNÝCH BÝKŮ Z HLEDISKA ZÍSKÁNÍ OPTIMÁLNÍHO OBJEMU KVALITNÍHO SPERMATU A S PŘI- HLÉDNUTÍM K POHLAVNÍ AKTIVITĚ PLEMENÍKŮ

Frekvencí připouštění plemenných býků se v minulosti i nyní zabývá mnoho výzkumných pracovníků. Otázka není stále definitivně uzavřena. Současné postupné rozšiřování dlouhodobého uchovávání semene (především jeho hlubokým chlazením) přináší s sebou z hlediska sexuálního využívání plemenných býků jeden velmi důležitý moment: je to takřka neomezená časová a prostorová nezávislost odběrů semene plemenných býků od vlastní inseminace plemenic. Tato skutečnost může mít ve svých důsledcích velmi hluboký a převratný vliv na frekvenci odběru plemenných býků, poněvadž v určitých případech nebude třeba uvažovat o jejich pravidelném a dlouhodobém sexuálnímu využívání.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Otázky, jež se vztahují na frekvenci odběru semene plemenných býků při jejich využívání v inseminaci, byly řešeny mnoha autory, takže v literárním přehledu se omezíme pouze na některé z nich. Je možno konstatovat, že v literatuře existují práce, které doporučují dodržovat relativně delší časové intervaly mezi odběry plemeníků, jiné práce uvádějí uspokojivé výsledky i při velmi častých odběrech a konečně řada autorů doporučuje určitou střední cestu mezi těmito oběma krajními názory. Tak např. Mercier, Bratton a Salisbury (1956) získali nejlepší ejakuláty, když odebírali býky jednou za šest dní. Metoda odběru spermatu dvakrát po sobě každý dvanáctý den nebo třikrát každý osmnáctý den se neukázala být dobrá. Naproti tomu Van Demark (1958) zjistil, že častý odběr semene podporuje u býka produkci spermií. Almquist, Hale, Aman (1962) nezaznamenali snížení plodnosti u býků při pokusných, šestkrát týdně se opakujících odběrech, konaných po 18 měsících. V jiném pokuse byl býk odebírán třikrát týdně po dobu čtyř roků, aniž by ztratil pohlavní pud, naopak bylo u něho zjištěno postupné zvyšování počtu spermií. Velké pohlavní zatížení býků bylo vyzkoušeno Hafsem (1959), který uvádí, že dospělí býci byli schopni ejakulace po dobu osmi měsíců každý den, což se neprojevalo nepříznivě ani na býcích ani na vlastnostech spermatu. Velký význam pro studium pohlavní aktivity plemeníků a intenzitu spermiogenézy mají tzv. „vyčerpávací testy“ plemeníků, konané a zhodnocené např. autory Almquist, Hale (1956), Wierzbowski a Bielański (1965) aj. Rovněž střední hodnoty frekvence odběru mají své zastánce. Schmidt, Strassburg, Koriath (1962) uvádějí, že vzhledem ke kvantitativním znakům ejakulátu je optimální pohlavní přestávka čtyři dny, vzhledem ke kvalitativním znakům a plodnosti sedm až osm dní. Jenichen a Baum (1962) považují za vhodnou sexuální přestávku tři až šest dní, při šestidenní přestávce považují za vhodné získávat dva ejakuláty za sebou. Frekvence odběru má být stanovena s přihlédnutím ke stáří býka a řada autorů (např. Bonadonna 1961) uvažují o přiměřené pohlavní přestávce během roku. Z našich autorů Koželuha (1941) upozorňuje na nebezpečí příliš častého připouštění plemeníků, které může vést

k předčasné pohlavní vyčerpanosti a být příčinou předčasného vyřazování. O poměrně častých odběrech plemeníků (10 až 20 ejakulátů za měsíc) se zmiňují Příbyl a Polák (1961). Podrobně se u nás zabýval otázkami frekvence odběru plemených býků Sakala (1961), který uvádí, že pro kvalitu spermogramu je optimální pohlavní zatížení pět až osm skoků za měsíc, maximální vyrovnanou fertilitu vykazovali býci s frekvencí odběru devíti až čtrnácti skoků za měsíc. Ve své další práci Sakala (1962) dává do vztahů optimální frekvenci odběru s neurokonstitučním typem býků (zpracováno též v práci Sakala, Gamčík 1960). Směrnice pro inseminaci skotu vydané Státní plemenářskou správou čj. 123/60—35 uvádějí, že za optimální je třeba považovat šest až osm odběrů za měsíc. U mladých býků se doporučuje odběr jednou týdně na jednu ejakulaci. Plemeníkům je možné poskytovat ročně pohlavní klid tři až čtyři týdny.

MATERIÁL A METODIKA

Práci jsme konali na plemenářské stanici na skupině deseti plemenných býků. Postupovali jsme takto:

1. Ze záznamů inseminační evidence jsme za celou dobu působení plemenných býků v inseminaci na plemenářské stanici zjistili tyto údaje:

a) frekvenci odběrů (tj. počet skoků doprovázených ejakulací) v jednotlivých měsících;

b) získaný průměrný objem semene v těchto měsících;

c) hustotu a pohyb semene (jako základní kvalitativní znaky) vyjádřené procentem ejakulátů hodnocených v odpovídajícím měsíci „H 5“;

d) procento plodnosti plemeníka vyjádřené jako procento plemenic zabřežlých v jeho připarovací obvodě po první inseminaci. (Za předpokladu průměrné jalovosti krav v zemědělských závodech).

2. Aby mohlo být zjištěno, ovlivňuje-li frekvence odběrů plemenných býků objem a kvalitu semene a plodnost plemeníků, vypočetli jsme korelační koeficienty pro vztahy mezi:

a) frekvencí odběru a průměrným objemem ejakulátů;

b) frekvencí odběru a procentem ejakulátů hodnocených „H 5“;

c) frekvencí odběru a plodností plemenných býků.

Tyto výpočty byly provedeny pro každého býka individuálně.

3. Abychom ověřili, jaká frekvence odběrů je optimální z hlediska objemu a kvality spermatu a z hlediska plodnosti plemeníků, zjistili jsme nejlepší hodnoty těchto ukazatelů ve vztahu k frekvenci odběrů.

4. U vybrané skupiny plemenných býků jsme po dobu tří a půl měsíce sledovali všechny odběry a na podkladě hodnocení průběhu řetězce pohlavních reflexů jsme odběry oklasifikovali pětistupňovou stupnicí, která vyjadřuje výši pohlavní aktivity plemenných býků, jak se projevuje při získávání semene. (Zjišťování pohlavní aktivity plemeníků a její klasifikace viz Urban 1966). To umožnilo rozdělit plemenné býky do tří skupin, podle toho, dala-li se jejich pohlavní aktivita charakterizovat jako nadprůměrná, průměrná nebo podprůměrná. Uvážili jsme, jakým způsobem reagují býci s různou pohlavní aktivitou na stupeň frekvence odběru ve smyslu objemu a kvality získaného semene a jeho oplozovací schopnosti. K zjištění závislosti a průkaznosti dosažených výsledků jsme použili matematickostatistických metod (Myslivec 1957).

VÝSLEDKY

VÝZNAM FREKVENCE ODBĚRU PRO OBJEM SEMENE, PROCENTO EJAKULÁTŮ HODNOCENÝCH „H 5“ A PLODNOST PLEMENNÝCH BÝKŮ

Objem semene, procento ejakulátů hodnocených „H 5“ a plodnost plemenných býků za jednotlivé měsíce od počátku jejich působení v inseminaci na plemenářské stanici jsme srovnali s frekvencí odběru v jednotlivých měsí-

I. Korelační koeficienty a jejich průkaznost pro závislost mezi frekvencí odběru a objemem ejakulátu, procentem ejakulátů hodnocených „H 5“ a procentem plemenic zabřezlých po první inseminaci u jednotlivých plemenných býků

Býci	Objem ejakulátu		% ejakul. hodnocených „H5“		% zabřezlých plemenic po první inseminaci	
	korelační koeficient r	tabulk. hodnota pro P = 0,05	korelační koeficient r	tabulk. hodnota pro P = 0,05	korelační koeficient r	tabulk. hodnota pro P = 0,05
Pr 70	-0,719*	1,666	-0,974*	0,666	+0,061	0,666
Al 22	-0,222	0,632	-0,472	0,632	+0,177	0,632
Al 15	-0,695*	0,576	-0,685*	0,576	-0,209	0,576
Al 34	-0,601	0,707	-0,340	0,717	+0,107	0,707
Al 35	-0,692	0,950	+0,452	0,950	-0,861	0,950
Ju 52	-0,746*	0,707	-0,437	0,707	-0,006	0,707
Ju 68	-0,217	0,778	+0,285	0,878	+0,385	0,878
Ju 60	-0,542	0,576	-0,095	0,576	-0,079	0,576
Lx 30	-0,695	0,754	+0,476	0,754	-0,736	0,754
Prg 2	-0,194	0,707	+0,043	0,707	+0,094	0,707

Pozn.: Průkazné hodnoty jsou označeny *

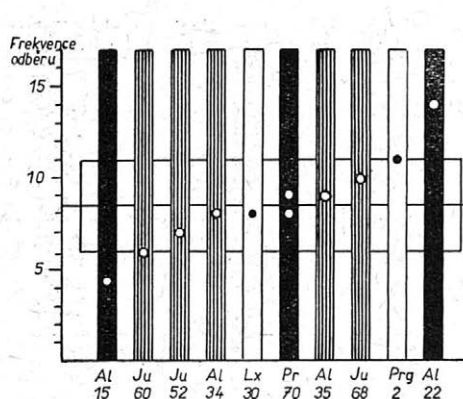
cích. Vypsáním těchto údajů z inseminační evidence byl získán soubor 1954 ejakulátů získaných za 188 měsíců u 10 plemenných býků, u nichž byly zjištěny uvedené údaje. Mezi frekvencí odběrů a objemem získaného semene, procentem ejakulátů „H 5“ a plodností plemenných býků jsme pak vypočetli korelační koeficienty. Získané údaje jsou zpracovány v tab. I. Průkazné hodnoty korelačních koeficientů jsme získali v pěti případech.

ROZDĚLENÍ PLEMENNÝCH BÝKŮ DO SKUPIN PODLE POHLAVNÍ AKTIVITY A VÝSLEDKY DOSAŽENÉ V TĚCHTO SKUPINÁCH

Rozdělení plemenných býků do skupin bylo toto:

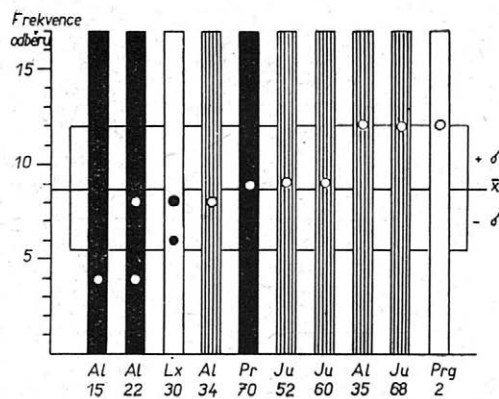
První skupina: Plemenici s nadprůměrnou pohlavní aktivitou. Do této skupiny byli zařazeni plemenici: Pr 70, Al 22 a Al 15. Průměrné hodnocení průběhu odběru klasifikační známkou bylo 1,2039.

Druhá skupina: Plemenici s průměrnou pohlavní aktivitou: Al 34, Al 35, Ju 52, Ju 68, Ju 60. Průměrná známka 1,6716.



■ plemení I. skupiny
 ▨ plemení II. skupiny
 □ plemení III. skupiny
 $\bar{x} \pm s = 8,545 \pm 2,500$

1. Optimální frekvence odběru z hlediska objemu ejakulátu



■ plemení I. skupiny
 ▨ plemení II. skupiny
 □ plemení III. skupiny
 $\bar{x} \pm s = 8,690 \pm 2,734$

2. Optimální frekvence odběru z hlediska kvality ejakulátu

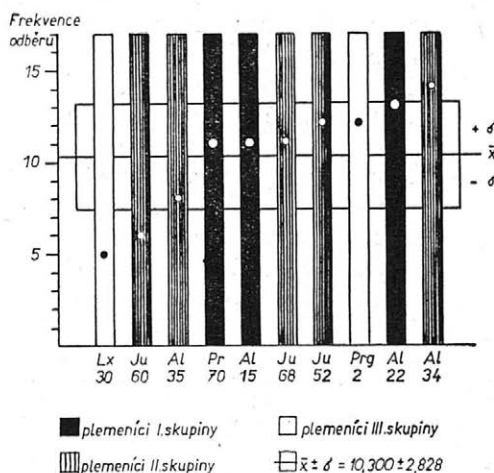
Třetí skupina: Plemení s podprůměrnou pohlavní aktivitou: Lx 30, Prg 2. Průměrná známka 2,5700.

Vypočtená hodnota „t“ ukázala, že mezi jednotlivými aritmetickými průměry optimálních frekvencí odběru podle jednotlivých skupin plemenných býků se ani v jediném případě z možných kombinací neobjevuje průkazný rozdíl. Je proto namístě hodnotit optimální frekvenci odběru střizlivě s ohledem na celý soubor sledovaných plemenných býků. Z tohoto hlediska lze s určitou pravděpodobností uvést toto:

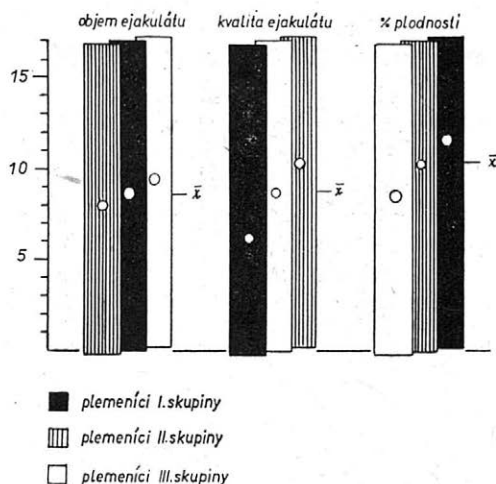
a) Optimální frekvence odběru pro objem semene získaného z jedné ejakulace byla v průměru mezi 8–9 ejakulacemi za měsíc ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}} = 8,545 \pm 0,791$). U jednotlivých skupin plemenných býků sestavených podle pohlavní aktivity se optimální frekvence odběru pohybovala v rozmezí 8–10 ejakulací za měsíc.

II. Optimální frekvence a hodnoty „t“ pro objem semene získaného z jedné ejakulace, % ejakulátů „H5“ a % plodnosti plemenných býků I., II. a III. skupiny

Optimální počet ejakulátů za měsíc pro hodnotu ukazatele	Skupina býků			I./II.		I./III.		II./III.	
	I.	II.	III.	hodnota t(vyp.)	hranice průkaz.	hodnota t(vyp.)	hranice průkaz.	hodnota t(vyp.)	hranice průkaz.
Objem semene z 1 ejakul. ccm	8,750	8,000	9,500	0,181	0,9	0,091	.	0,238	0,9
% ejakulátů „H5“	6,250	10,330	8,660	1,172	0,3	0,472	0,7	0,366	0,8
% plodnosti	11,660	10,200	8,500	0,246	0,9	0,299	0,8	0,234	0,9



3. Optimální frekvence odběru z hlediska plodnosti býků



4. Optimální frekvence odběru u I., II. a III. skupiny býků z hlediska objemu ejakulátu, kvality ejakulátu a procenta plodnosti

b) Optimální frekvence odběru pro procento ejakulátů hodnocených „H 5“ byla v průměru opět mezi 8–9 ejakulacemi za měsíc ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}} = 8,690 \pm 0,949$). U jednotlivých skupin plemenných býků se pohybovala v rozmezí 6 až 9 ejakulací za měsíc.

c) Optimální frekvence odběru z hlediska procenta plodnosti plemenných býků byla největší, v průměru 10 až 11 ejakulací za měsíc ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}} = 10,300 \pm 0,943$). U jednotlivých skupin plemenných býků se pohybovala v rozmezí 8–12 ejakulací za měsíc. Optimální hodnoty spermiogramu a fertility semene pro jednotlivé plemenné býky jsou znázorněny graficky v obr. 1, 2 a 3. Na obr. 4 jsou znázorněny optimální hodnoty frekvence odběru pro jednotlivé skupiny plemenných býků.

HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A DISKUSE

Při hodnocení výsledků vzniká velká obtížnost jejich srovnávání s dostupnou literaturou, v níž je frekvence odběrů plemníků obvykle zkoumána na podkladě napřed upraveného pravidelného pohlavního režimu. Z hlediska teoretického a metodického jsou takto dosažené výsledky pochopitelně přesnější. Ovšem v praxi na plemenářských stanicích nebývá možné konat odběry zcela pravidelně a proto se ukazuje jako účelné zodpovědět otázku, ovlivňuje-li frekvence odběru, chápána jako počet ejakulací za měsíc, spermiogram a fertilitu semene. Touto problematikou se zabývala tato práce.

Frekvence odběru plemenných býků činila v průměru takřka přesně 10 ejakulátů za měsíc. Tato frekvence odběru odpovídá přibližně průměrnému intervalu mezi odběry šest dní při odběrech na dva ejakuláty nebo tři dny při odběru na jeden ejakulát. Průměrné kolísání frekvence odběru činilo 4–15 ejakulací za měsíc. Ukázalo se, že při uvedené výši frekvence odběru a jejím kolísání nemá tato žádný vliv na plodnost plemenných býků. Průkazný vliv na objem získaného semene se objevil pouze u tří plemníků (33,3 % jejich stavu)

a průkazný vliv na kvalitu semene (danou procentem ejakulátů hodnocených „H 5“) pouze u dvou plemenů (20 % celkového počtu hodnocených plemenů). S přihlédnutím k těmto zkušenostem je tedy plně možno souhlasit s těmi autory, kteří považují za nejlepší odebírat plemenné býky v podobném intervalu, jakého bylo používáno na plemenářské stanici. Jsou to především Jenichen a Baum (1962), Schmidt, Strassburg a Koriath (1962) aj. Dosažené výsledky, které ukazují, že s přihlédnutím k fertilitě semene je výhodnější poněkud větší frekvence odběru v porovnání s hodnocením spermioqramu, souhlasí vcelku s výsledky Sakalovými (1961, 1962). Dále v porovnání s výsledky Sakalovými (1962) lze konstatovat, že zatímco Sakala zjistil u všech neurokonstitučních typů plemenných býků závislost mezi frekvencí odběru, spermioqramem a fertilitou, projevila se v této práci zmíněná skutečnost pouze tím, že z pěti získaných průkazných korelací, které byly zjištěny mezi frekvencí odběru a objemem semene a mezi frekvencí odběru a procentem ejakulátů „H5“, se vyskytly čtyři průkazné korelace u býků první skupiny a jedna u býků druhé skupiny. Na základě toho by tedy bylo možné předpokládat, že plemenníci vyznačující se větší sexuální aktivitou (a tedy zařazení do první, popř. do druhé skupiny) by mohli být na frekvenci odběru reaktivnější v porovnání s býky sexuálně pasivnějšími (zařazenými do třetí skupiny).

SOUHRN

U skupiny 10 plemenných býků umístěných na jedné plemenářské stanici byl zjišťován vztah mezi frekvencí odběru (tj. počtem ejakulací za měsíc) a objemem získaného ejakulátu, jeho kvalitou (vyjádřenou procentem ejakulátů hodnocených co do hustoty a pohyblivosti spermií „H 5“ a plodností plemenů. U sledovaných plemenů byl dále stanoven stupeň pohlavní aktivity na podkladě zhodnocení průběhu pohlavních reflexů při odběrech semene a podle pohlavní aktivity byli býci rozděleni do tří skupin. Získali jsme tyto výsledky:

- a) Průkazné záporné korelace mezi frekvencí odběru a objemem získaného semene a mezi frekvencí odběru a kvalitou semene byly zjištěny v pěti případech u tří býků zařazených do skupin s nadprůměrnou a průměrnou pohlavní aktivitou. Korelace mezi frekvencí odběru a plodností býků nebyla zjištěna.
- b) Za nejvhodnější frekvenci odběru pro získání největšího objemu semene a nejlepší kvality semene je možné považovat 8–9 ejakulací za měsíc, pro procento plodnosti plemenů 10–11 ejakulací za měsíc. Průkazné rozdíly mezi jednotlivými skupinami plemenů rozdělených podle stupně pohlavní aktivity nebyly zjištěny.

Došlo dne 5. 5. 1967

Literatura

1. ALMQUIST, J. O. - HALE, E. B.: An approach to the measurement of sexual behaviour and semen production of dairy bulls. 3. insem. kongres o biologii a patologii rozmnožování, Cambridge, sekce 3, 1956. — 2. ALMQUIST, J. O. - HALE, E. B. - AMAN, R. P.: cit. JENICHEN, W. - BAUM, W.: Die Sexualpause der Bullen und ihr Einfluß auf den Befruchtungserfolg in der künstlichen Besamung. = „Zucht-hygiene, Fortpflanzungsstörungen u. Besamung der Haustiere“, 6, 1962 : 137. — 3. BONADONNA, T.: Probleme der Fortpflanzung und der künstlichen Besamung. = „Zucht-hygiene, Fortpflanzungsstörungen u. Besamung der Haustiere“, 5, 1961 : 169-

177. — 4. HAFS, H. a s.: Libido, sperm characteristic, sperm output and fertility of mature bulls. = „J. Dairy Sci.“, 42, 1959 : 626-634. — 5. JENINCHEN, W. - BAUM, W.: Die Sexualpause der Bullen und ihr Einfluß auf den Befruchtungserfolg in der künstlichen Besamung. = „Zuchthygiene, Fortpflanzungsstörungen und Besamung der Haustiere“, 6, 1962, 134-145. — 6. KOZELUHA, V.: Jak nazíráti na časté připouštění plemeníků. = „Zemědělský archiv“, 32, 1941 : 249-261. — 7. MERCIER, H. - BRATTON, R. W. - SALISBURY, G. W.: 3. internacionální kongres o biologii a patologii rozmnožování, Cambridge, sekce 3, 1956. — 8. MYSLIVEC, V.: Statistické metody zemědělského a lesnického výzkumnictví. Praha, 1957. 554 s. — 9. PRIBYL, E. - POLÁK, L.: Die künstliche Besamung in der Tschechoslowakei. = „Zuchthygiene, Fortpflanzungsstörungen u. Besamung der Haustiere“, 5, 1961 : 186-198. — 10. SAKALA, J.: Vplyv frekvence odberu spermy od býkov na jej kvalitu a fertilitu. = „Poľnohospodárstvo“, 8, 1961 : 819-825. — 11. SAKALA, J.: Vzťah stupňa sexuálnej exploatácie býkov k ich spermogramu a fertilitu v závislosti od neurokonštitučného založenia. = „Poľnohospodárstvo“, 9, 1962 : 607-616. — 12. SAKALA, J. - GAMČÍK, P.: Sterilita hovädzieho dobytku, Bratislava, 1960. 225 s. — 13. SCHMIDT, K. - STRASSBURG, H. - KORIATH, G., cit. JENINCHEN, W. - BAUM, W.: Die Sexualpause der Bullen und ihr Einfluß auf den Befruchtungserfolg in der künstlichen Besamung. = „Zuchthygiene, Fortpflanzungsstörungen u. Besamung der Haustiere“, 6, 1962 : 136. — 14. URBAN, F.: Pohľad na aktivitu plemenných býkov vo vzťahu k jej spermogramu a fertilitu. = „Živočišná výroba“, 11, 1966 : 759-774. — 15. VAN DEMARK, N. L.: Einige kürzlich gemachte Untersuchungen über künstliche Befruchtung und Fortpflanzung bei Rindern. Kongres o technické inseminaci, Wels, 1958. — 16. WIERZBOWSKI, S. - BIELAŃSKI, W.: Belastungsversuche bei Bullen. = „Fortpflanzungsstörungen u. Besamung der Haustiere“, 2, 1965 : 89-98.

Оптимальная напряженность режима использования быков-производителей с точки зрения получения оптимального объема качественного семени при разной половой активности производителей

У группы 10 быков-производителей, содержащихся в одинаковых условиях на станции искусственного осеменения, учитывалась связь между напряженностью режима их использования (количество садок в месяц) и объемом полученного семени (его качеством, выраженным % эякулятов, оцениваемых по густоте и подвижности спермиев баллом «Н 5») и оплодотворяющей способностью быков-производителей. Определялась и степень их половой активности. На основе проявления половых рефлексов при садке и в зависимости от половой активности быков распределили на 3 группы. Результаты следующие:

а) у 3 производителей в 5 случаях определена достоверно отрицательная корреляция между напряженностью использования и полученным объемом семени и его качеством. Корреляция между напряженностью использования и оплодотворяющей способностью обнаружена не была.

б) Лучшей напряженностью можно считать 8—9 садок в месяц. Для получения высокого % оплодотворяемости предлагается 10—11 садок в месяц. Между отдельными группами производителей, распределенных по степени половой активности, не было достоверной разницы.

Текст к таблицам

- I. Коэффициенты корреляции и их достоверность для связи между количеством садок в месяц и объемом эякулятов, % по баллу «Н 5» и % оплодотворенных коров после I осеменения, по отдельным быкам-производителям
- II. Оптимальная напряженность и показатели величины «t» по объему семени, полученного от 1 садки, % эякулятов по оценке «Н 5» и % оплодотворяемости быков 1, 2 и 3 групп

Текст к графикам

1. Оптимальное количество садок в месяц с точки зрения получения наибольшего объема семени
2. Оптимальное количество садок в месяц с точки зрения получения высокого качества семени
3. Оптимальное количество садок в месяц с точки зрения оплодотворяющей способности быков-производителей
4. Оптимальное количество садок в месяц у 1, 2 и 3 групп быков

Die geeignetste Frequenz der Samenentnahme bei Zuchtbullen vom Gesichtspunkt der Gewinnung von optimalem Volumen des Qualitätsspermas und mit Rücksicht auf die Geschlechtsaktivität der Zuchtbullen

Bei einer Gruppe von 10 Zuchtbullen aus einer Zuchtstation ermittelte man die Beziehung zwischen der Entnahmefrequenz (d. h. der Anzahl der Ejakulationen im Monat) und dem Volumen des gewonnenen Ejakulates, seiner Qualität (ausgedrückt durch die Prozentzahl der seitens der Dichte und Beweglichkeit der Spermien „H 5“ bewerteten Ejakulaten) und der Fruchtbarkeit der Zuchtbullen. Bei den beobachteten Zuchtbullen bestimmte man ferner den Grad der Geschlechtsaktivität auf Grund der Bewertung des Verlaufes von Geschlechtsreflexen bei den Samenentnahmen; je nach der Geschlechtsaktivität wurden die Zuchtbullen in drei Gruppen eingeteilt. Wir gelangten zu folgenden Ergebnissen:

a) signifikant negative Korrelationen zwischen der Entnahmefrequenz und dem Volumen des gewonnenen Samens und zwischen der Entnahmefrequenz und Samenqualität wurden in fünf Fällen bei drei in Gruppen mit überdurchschnittlicher und durchschnittlicher Geschlechtsaktivität eingereihten Bullen festgestellt. Eine Korrelation zwischen der Entnahmefrequenz und Fruchtbarkeit der Bullen konnte nicht ermittelt werden.

b) Für die zweckmäßigste Entnahmefrequenz zwecks Gewinnung von größtem Samenvolumen und bester Samenqualität kann man 8—9 Ejakulationen im Monat, für das Fruchtbarkeitsprozent der Zuchtbullen 10—11 Ejakulationen im Monat halten. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Zuchtbullengruppen, die nach dem Grad der Geschlechtsaktivität eingeteilt wurden, konnten nicht festgestellt werden.

Text zu den Tafeln

- I. Korrelationskoeffizienten und ihre Signifikanz für die Abhängigkeit zwischen der Entnahmefrequenz und dem Volumen des Ejakulates, zwischen dem Prozent der mit „H, 5“ bewerteten Ejakulaten und dem Prozent der nach der ersten Besamung trächtig gewordenen Zuchtkühen, bei den einzelnen Zuchtbullen
- II. Optimale Frequenz und „t“-Werte für das von einer Ejakulation gewonnene Samenvolumen, % der mit „H 5“ bewerteten Ejakulate und % der Fruchtbarkeit der Zuchtbullen der I., II. und III. Gruppe

Text zu den Abbildungen

1. Optimale Entnahmefrequenz vom Gesichtspunkt des Ejakulatvolumens
2. Optimale Entnahmefrequenz vom Gesichtspunkt der Ejakulatqualität
3. Optimale Entnahmefrequenz vom Gesichtspunkt der Fruchtbarkeit der Bullen
4. Optimale Entnahmefrequenz bei der I., II. und III. Bullengruppe vom Gesichtspunkt des Ejakulatvolumens, der Ejakulatqualität und des Fruchtbarkeitsprozentes

Adresa autora:

Ing. František Urban, CSc., Vysoká škola zemědělská, agronomická fakulta, katedra chovu skotu, Brno, Zemědělská 1—3

Zavedením inseminace hospodářských zvířat byl dán do rukou chovatelů mnohostranně účinný nástroj k zlepšování užitkovosti zvířat. Inseminace může vyhovět plemenářským požadavkům na ni kladeným, pouze tehdy, jestliže se podaří zlepšit plodnost anebo ji udržet. Je známo, že výsledky inseminace mohou být různým způsobem zvýšeny, jejich variabilita závisí na značném počtu jak vnějších tak i vnitřních faktorů. Výsledky inseminace jsou zjišťovány podle procenta zabřezlých plemenic po první nebo po více inseminacích, nebo plemenic, které byly za zabřezlé pokládány a indexu inseminace, tj. počtu osemenění, který byl nezbytný pro dosažení březosti.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Vzhledem k malým možnostem výběru vhodných literárních pramenů, které by se vázaly k danému tématu, jsou zvláště cenné studie Almquista a spolupracovníků, publikovaných ve statích Almquist a Hale (1956) a Van Demark (1956). Z jejich výsledků je možno utvořit si představu o působení jednotlivých vlivů, jež mohou podstatně měnit výsledky zabřezávání. Rendel a Venge (1961) pozorovali značnou individuální variaci v plodnosti samčích i samičích jedinců u většiny druhů hospodářských zvířat. S výjimkou některých patogenních forem jsou příčiny této variability většinou neznámé. Šmagulov a Martynov (1966) zjistili při delším uchovávání semene snížení zabřezávání plemenic, včetně negativního vlivu na životnost mláďat. Šmerha a kol. (1964) připouští širší rozsah plodnosti podle povahy jednotlivých druhů hospodářských zvířat.

Efendijeva (1966) sledoval stupeň ředění semene a kvalitu potomstva u ovcí a neprokázal podstatné rozdíly ve váze jehňat při narození v závislosti na stupni ředění nebo počtu spermií v dávce. Avšak při vysokých stupních ředění se rodil větší počet beránků a při vyšším počtu spermií v dávce byl větší počet dvojčat. I v dalších výsledcích potvrdil, že zvýšení stupně ředění semene nemá záporný vliv na kvalitu potomstva. Raščev (1966) se zabýval zvýšením zabřezávání ovcí při využívání uchovávaného semene.

Shannon (1966) zabývající se počtem spermií k účinkům ředění u spermií skotu naznačuje, že uskladnění v koncentrovanější formě má škodlivé účinky na plodnost.

Podle Hanna (1964) nelze stanovit přesný vztah mezi jakostí spermatu a výsledky oplodnění, protože inseminace zvířat s různou koncepční kapacitou nedovoluje získat přesný poznatek o oplodňující kapacitě daného býka.

Cílem tohoto příspěvku je doplnit znalosti o zabřezávání plemenic k poměru naředěného semene býků.

METODIKA

Zpracovali jsme údaje z inseminálních záznamů od 59 plemenných býků červenostrakatého plemene z oblasti Jihomoravského kraje. V zájmu vyloučení vlivu individuality, vlivu liniové příslušnosti a vlivu stáří byli všichni býci zařazeni do jedné skupiny.

Všechny získané ejakuláty byly rozděleny do skupin podle poměru naředění a to od poměru 1:1 až do 1:17 včetně. Do každé skupiny byly zařazeny naředěné ejakuláty v rozsahu od 0,5 předcházející do 0,4 následující skupiny (např. poměr ředění 1:3 se pohyboval v rozmezí od 1:2,5 do 1:3,4).

U každého poměru ředění jsme zjistili počet prvně inseminovaných plemenic, počet plemenic zabřezlých a procento zabřezlých. Vztah mezi těmito ukazateli jsme vyhodnotili korelačními koeficienty. Všechny ejakuláty byly ředěny žloutkokocitránovým ředidlem podle platných metodik.

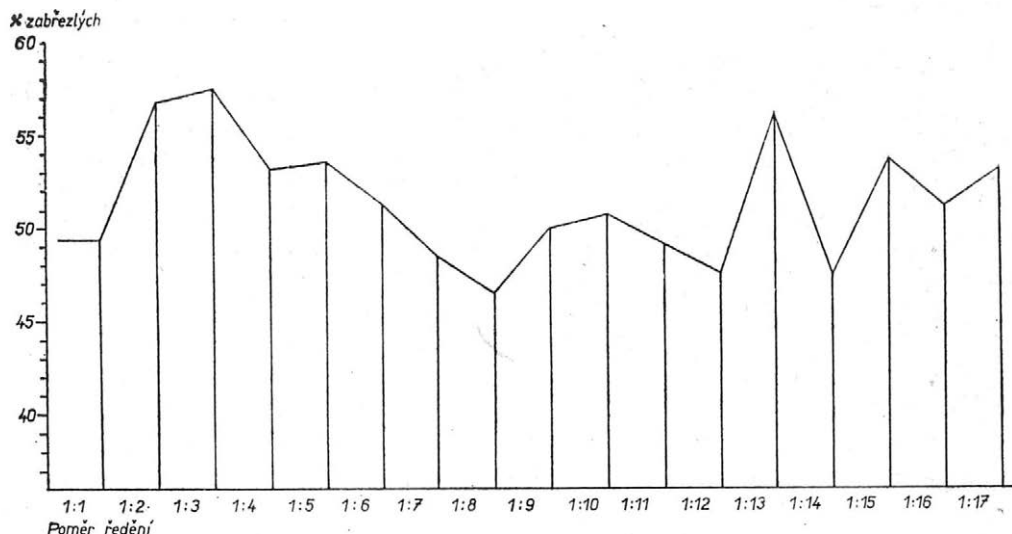
Rozbor byl proveden na počtu 139 890 případů, které byly vyhodnoceny u některých býků dosahujících stáří až 11 roků. Následující práce se budou zabývat dalšími stupni ředění, jak se již děje u nás i v zahraničí.

VÝSLEDKY

U 59 plemenných býků jsme zjišťovali vztah mezi poměrem ředění jejich ejakulátu a výší zabřezávání plemenic z počtu prvně inseminovaných. Podle tab. I bylo celkem prvně inseminováno 139 890 plemenic, ze kterých zabřezlo

I. Přehled zabřezávání plemenic: a) podle jednotlivých poměrů ředění ejakulátů býků, b) uspořádání podle výše zabřezávání

Poměr ředění	Počet I. insem.	Zabřez. plemenic	% březosti	% březosti	Poměr ředění
1 : 1	93	46	49,5	57,5	1 : 3
1 : 2	6 742	3 830	56,8	56,8	1 : 2
1 : 3	21 940	12 626	57,5	56,1	1 : 13
1 : 4	26 763	14 237	53,2	53,8	1 : 15
1 : 5	12 089	6 465	53,5	53,5	1 : 5
1 : 6	15 178	7 790	51,3	53,3	1 : 17
1 : 7	8 068	3 910	48,5	53,2	1 : 4
1 : 8	13 969	6 514	46,6	51,3	1 : 6
1 : 9	6 678	3 342	50,0	51,1	1 : 16
1 : 10	3 432	1 745	50,8	50,8	1 : 10
1 : 11	4 680	2 300	49,1	50,0	1 : 9
1 : 12	10 386	4 957	47,7	49,5	1 : 1
1 : 13	5 571	3 126	56,1	49,1	1 : 11
1 : 14	1 804	856	47,5	48,5	1 : 7
1 : 15	920	495	53,8	47,7	1 : 12
1 : 16	547	280	51,1	47,5	1 : 14
1 : 17	1 030	550	53,3	46,6	1 : 8
	139 890	73 069	52,23		



1. Vztah mezi poměrem ředění ejakulátu a procentem zabřelých plemenic

73 069 ks, tj. 52,23 %. Vyššího zabřezávání proti celkovému průměru bylo dosaženo u těchto skupin s poměrem ředění 1 : 3, 1 : 2, 1 : 13, 1 : 15, 1 : 5, 1 : 17 a 1 : 4 (obr. 1). Tento soubor představuje 75 055 prvně inseminovaných plemenic, ze kterých zabřezlo 41 329 kusů. Dosažené procento zabřelých plemenic je 55 %. Nad tento průměr lze zařadit již jen tři skupiny poměru ředění, a to: 1 : 3 s 57,5 %, 1 : 2 a 56,8 % a 1 : 13 s 56,1 % dosažené březosti.

Do druhého souboru zabřelých plemenic od 50 % celkového průměru (52,23 %) lze zařadit čtyři skupiny poměru ředění, a to: 1 : 6, 1 : 16, 1 : 10 a 1 : 9. V těchto skupinách z 25 835 prvně inseminovaných plemenic zabřezlo 13 157 kusů, tj. 50,92 %. Nad tímto průměrem jsou dvě skupiny poměru ředění, a to: 1 : 6 s 51,3 % a 1 : 16 s 51,1 % dosažené březosti.

Ve třetím souboru s březostí nižší než 50 % jsou skupiny poměru ředění 1 : 1, 1 : 11, 1 : 7, 1 : 12, 1 : 14 a 1 : 8. V těchto skupinách z 39 000 plemenic po první inseminaci zabřezlo 18 583, tj. 47,64 %. Nad tímto průměrem jsou čtyři skupiny poměru ředění, a to skupina 1 : 1 s 49,5 %, 1 : 11 s 49,1 %, 1 : 7 s 48,5 % a skupina 1 : 12 s 47,7 % dosažené březosti.

Nejnižších výsledků zabřezávání bylo dosaženo u skupiny poměru ředění 1 : 14 (47,5 %) z 1 804 po prvně inseminovaných plemenic a u skupiny poměru ředění 1 : 8 (46,6 %) z 13 969 prvně inseminovaných plemenic.

Velmi vyrovnaná je křivka zabřezávání, počínaje poměrem ředění 1 : 2 až 1 : 5. Soubor těchto poměrů představuje celkem 67 534 prvně inseminovaných plemenic, ze kterých zabřezlo 37 158 kusů, tj. 55 %. Z tak velkého počtu případů lze oprávněně usuzovat, že při poměrech ředění do 1 : 5 jsou výsledky zabřezávání nejvyrovnanější a ze všech sledovaných skupin nejvyšší. I korelační koeficienty vyznačují velmi těsnou závislost. U grafického vyjádření následujícího souboru představujícího poměry ředění 1 : 6, 1 : 7 a 1 : 8 dochází k prudkému poklesu. Stupně ředění tohoto rozsahu zasluhují pozornost, protože výsledky byly zjištěny z 37 215 prvně inseminovaných plemenic, ze kterých zabřezlo 18 214 kusů, tj. 48,94 %. Příčiny tohoto poklesu budou předmětem dalšího sledování, zvláště poměr ředění 1 : 8, kdy z 13 969 po prvně inseminovaných plemenic zabřezlo pouze 6514 kusů, tj. 46,6 %.

U souboru dalších tří poměrů ředění, a to 1 : 9 až 1 : 11 včetně, dochází opět ke zvýšení zabřezávání a určité vyrovnanosti křivky, ovšem nedosahuje úrovně zabřezávání prvního souboru. Výsledky byly ověřeny u 14 790 poprvé inseminovaných plemenic, ze kterých zabřezlo 7 387 kusů, tj. 49,9 %.

Poslední soubor skládající se z poměru ředění od 1 : 12 do 1 : 17, již není v grafickém vyjádření vyrovnaný. U jednotlivých poměrů ředění dochází k podstatným rozdílům. V každém případě zjištěný výsledek 20 258 poprvé inseminovaných plemenic, ze kterých zabřezlo 10 264 kusů, tj. 50,6 %, signalizuje k větší pozornosti v zájmu zajištění pravidelného zabřezávání plemenic.

U všech skupin byly jednotlivé vztahy vyhodnocovány korelačním koeficientem, který se pohybuje v rozsahu od $r = +0,5829$ až do $r = 0,9858$.

DISKUSE

Obsahová náplň uváděných literárních pramenů jen částečně umožňuje konfrontaci dosažených výsledků. Zjištěné výsledky nejsou ve shodě s výsledky Shannona (1965), který uvádí, že uskladnění spermatů v koncentrovanější formě má škodlivé účinky na plodnost.

I když podle Hahna (1964) nelze stanovit přesný vztah mezi jakostí ejakulátu a výsledky oplodnění, naše pozorování do určité míry vyznačily rozsahy vhodnosti ředění v zájmu dosažení vyššího zabřezávání plemenic.

Na základě získaných výsledků se lze domnívat, že ne při všech stupních ředění ejakulátů je dosahováno stejného zabřezávání. Existují určité rozsahy stupňů ředění, které jsou v zájmu vyššího zabřezávání vyhovující včetně vysoké vyrovnanosti proti rozsahům s výsledky zcela opačnými.

SOUHRN

V práci je řešen vztah mezi poměrem ředění ejakulátu býků červenostrakatého plemene a výší zabřezávání plemenic. Tento vztah byl sledován u 59 býků bez ohledu na stáří a liniovou příslušnost v zájmu omezení těchto vlivů. Práce byla vyhodnocena za období 11 roků do r. 1965.

Ze 139 890 prvně inseminovaných plemenic bylo dosaženo nejvyššího zabřezávání plemenic ředěným ejakulátem v poměru 1 : 3 — 57,5 %, 1 : 2 — 56,8 %, 1 : 13 — 56,1 %, 1 : 15 — 53,8 %, 1 : 5 — 53,5 %, 1 : 17 — 53,3 % a 1 : 4 — 53,2 %. Tento soubor představoval 75 055 poprvé inseminovaných plemenic s 41 329 zabřezlých, tj. 55,06 %.

Nad 50 % březosti plemenic bylo dosaženo z 25 835 poprvé inseminovaných plemenic u poměru ředění 1 : 6 — 51,3 %, 1 : 16 — 51,1 %, 1 : 10 — 50,8 % a 1 : 9 — 50 %.

Nižšího zabřezávání než 50 % bylo dosaženo z 39 000 prvně inseminovaných plemenic u poměru ředění 1 : 1 — 49,5 %, 1 : 11 — 49,1 %, 1 : 7 — 48,5 %, 1 : 12 — 47,7 %, 1 : 14 — 47,5 % a 1 : 8 — 46,6 %.

Velmi vyrovnané a nejvyšší zabřezávání se projevilo u poměru ředění 1 : 2 — 56,8 %, 1 : 3 — 57,5 %, 1 : 4 — 53,2 % a 1 : 5 — 53,5 % včetně velmi těsné závislosti korelačních koeficientů. Velký pokles zabřezávání byl zjištěn u poměru ředění 1 : 6 — 51,3 %, 1 : 7 — 48,5 % a 1 : 8 — 46,6 %.

Vzestupná tendence zabřezávání s určitou vyrovnaností byla zjištěna u poměrů ředění 1 : 9 — 50 %, 1 : 10 — 50,8 % a 1 : 11 — 49,1 %. Výsledky zabřezávání u těchto poměrů ředění nedosahují úrovně zabřezávání poměrů ředění od 1 : 2 do 1 : 5.

Nevyrovnanost zabřezávání byla zjištěna u poměrů ředění 1 : 12 — 47,7 %, 1 : 13 — 56,1 %, 1 : 14 — 47,5 % proti poměrům ředění 1 : 15 — 53,8 %, 1 : 16 — 51,1 % a 1 : 17 — 53,3 %.

Z výsledků lze usuzovat, že existují určité rozsahy vhodnosti poměrů ředění ejakulátů býků, jak stupňů nižšího poměru ředění, tak i stupňů vyššího poměru ředění, aniž by došlo k podstatnému ovlivnění celkového zabřezávání plemenic.

Došlo dne 12. 7. 1967

Literatura

1. ALMQUIST, J. O. - HALE, E. B.: An approach to the measurement of sexual behaviour and semen production of dairy bulls. = In: III. Int. Congr. Animal reprod., Cambridge. Plenary papers 50-59, 1956. — 2. EFENDIJEVA, J. F.: Vlijanije stepeni razbavlenija spermy na kačestvo potomstva. = „Ovcevodstvo“ 1966, 9 : 31, 1966. — 3. HAHN, H.: Über die Beziehungen zwischen Sameneigenschaften und Befruchtungsergebnissen von Besamungsbullen. = In: V. mezinárodní kongres pro rozmnožování a inseminaci zvířat v Trentu. Sv. 4, 1964 : 535-539. — 4. RABOČEV, V. K.: Kak povysit oplodotvorjajemost' ovec pri ispol'zovanii sochranennogo semeni, = „Ovcevodstvo“, 1966, 9 : 33. — 5. RENDEL, J. - VENGE, O.: A study of genetic and environmental factors influencing the fertility of bulls used in artificial insemination. = In: The VIII. International Congress of Animal Production, Final report. 1961 : 178-183. — 6. SHANNON, P.: Contribution of seminal plasma, sperm numbers and gas phase to dilution effects of bovine spermatozoa. = „Animal Breeding Abstracts“, 34, 1965, 2 : 203, = „J. Dairy Sci.“ 1965, 48 : 1357-1361. — 7. ŠMAGULOV, Š. B. - MARTYNOV, Ju. V.: O stepeni razbavlenija, drogach chranenija spermy i rezul'tatach osemenenija. = „Ovcevodstvo“ 1966, 8 : 30. — 8. ŠMERHA, J. a kol.: Biologie rozmnožování hospodářských zvířat, Praha, 1964. — 9. VAN DEMARK, N. L.: Quantitative aspect of semen production in bulls. = In: III. Int. Congr. animal reprod. Cambridge. Plenary papers. 1956 : 80-88.

Зависимость между разбавленным в разном соотношении семенем быков-производителей красно-пестрой породы и процентом оплодотворенных коров

В работе решается зависимость между разбавленным в разном отношении семенем быков красно-пестрой породы и % оплодотворенных коров. Исследование проводилось на 59 быках-производителях без учета возраста и принадлежности к какой-либо линии в интересах ослабления влияния последних факторов. В работу включены достигнутые результаты за 11 лет (до 1965 г.).

Из 139 890 впервые осемененных коров наибольшего числа зачатия было достигнуто у животных, осемененных эякулятом, разбавленным 1 : 3—57,5 % в отношении 1 : 2—56,8 %; 1 : 15—53,8 %; 1 : 13—56,1 %; 1 : 15—53,8 %; 1 : 5—53,5 %; 1 : 17—53,3 %; 1 : 4—53,2 %. Эта совокупность представляла 75 055 осемененных животных, из которых 41 329 оказалось стельными, т. е. 55,06 %.

Из 25 835 впервые осемененных животных % оплодотворения свыше 50 % достигнут при разбавлении семени 1 : 6—51,3 %; 1 : 16—51,1 %; 1 : 10—50,8 % и 1 : 9—50 %. Оплодотворимость ниже 50 % получена в 39 тыс. случаев при разбавлении 1 : 1—49,5 %; 1 : 11—49,1 %; 1 : 7—48,5 %; 1 : 12—47,7 %; 1 : 14—47,5 % и 1 : 8—46,6 %.

Выравненная и самая высокая оплодотворяемость достигнута при разбавлении семени 1 : 2—56,8 %; 1 : 3—57,5 %; 1 : 4—53,2 % и 1 : 5—53,5 %, причем определена тесная корреляционная зависимость.

Снижение оплодотворяемости наступило при разбавлении 1 : 6—51,3 %; 1 : 7—48,5 % и 1 : 8—46,6 %. Восходящая тенденция оплодотворяемости с определенной выравненностью определена при разбавлении 1 : 9—50 %; 1 : 10—50,8 % и 1 : 11—49,1 %. Результаты оплодотворения при таком разбавлении не достигли уровня оплодотворения при отношении от 1 : 2—1 : 5.

Невыравненность оплодотворения обнаружена при разбавлении 1 : 12—47,7 %; 1 : 13—56,1 %; 1 : 14—47,5 % по сравнению с разбавлением 1 : 15—53,8 %; 1 : 16—51,1 % и 1 : 17—53,3 %.

На основе полученных данных можно судить о существовании определенных пределов при разбавлении семени быков-производителей, а именно как при низшем, так и высшем отношении разбавления, причем без серьезного влияния на итоги оплодотворяемости в целом.

Текст к таблицам

I. Показатели оплодотворяемости животных: а) в зависимости от степени разбавления эякулята быков-производителей, б) упорядочено в соответствии с % оплодотворения

Текст к диаграмме

I. Связь между разбавлением эякулята и % оплодотворения

The Relation between the Dilution Ratio of the Ejaculates of Red-Spotted Bulls and the Percentage of Pregnant Cows

The paper deals with the relation between the dilution ratio of the ejaculates of red-spotted bulls and the conception rate of cows. 59 bulls underwent the investigation, irrespective of their age and the line they belonged to (in order that the age and line should not affect the test). The results of the 11-years' work were evaluated in 1965.

A total of 139 890 breeding cows inseminated for the first time were investigated. Best results — as regards the successful conceptions — were obtained with the application of the ejaculates diluted in the following ratios: 1:3 — 57,5 per cent (cows conceived); 1:2 — 56,8 per cent; 1:13 — 56,1 %; 1:15 — 53,8 per cent; 1:5 — 53,5 %; 1:17 — 53,3 per cent; and 1:4 — 53,2 %. This represents 75 055 first inseminated breeding cows of which 41 329 got in-calf (55,06 per cent).

In 25 835 first inseminated cows a conception rate higher than 50 per cent was obtained with the application of the following ratios: 1:6 — 51,3 %; 1:16 — 51,1 %; 1:10 — 50,8 %; and 1:9 — 50 %.

In 39 000 first inseminated cows a conception rate lower than 50 per cent was obtained when the following dilution ratios were applied: 1:1 — 49,5 %; 1:11 — 49,1 %; 1:7 — 48,5 %; 1:12 — 47,7 %; 1:14 — 47,5 % and 1:8 — 46,6 %.

A well-balanced and the highest conception rate resulted from these dilution ratios: 1:2 — 56,8 %; 1:3 — 57,5 %; 1:4 — 53,2 %; and 1:5 — 53,5 %. In these cases also a very close dependence of the coefficients of variation was found. The conception rate decreased remarkably with the dilution ratios of 1:6 — 51,3 %; 1:7 — 48,5 %; and 1:8 — 46,6 %.

Some balance and an increasing tendency of the conception rate were established when the ejaculates were diluted in the ratios of 1:9 — 50 %; 1:10 — 50,8 %; and 1:11 — 49,1 %. These results do not achieve the levels of conception of the dilution ratios from 1:2 to 1:5.

A weakly-balanced conception was achieved with the following dilution ratios: 1:12 — 47,7 %; 1:13 — 56,1 %; 1:14 — 47,5 %; as compared with the dilution ratios of 1:15 — 53,8 %; 1:16 — 51,1 %; and 1:17 — 53,3 %.

We can judge from the above-mentioned figures that there are certain ranges of appropriate ratios of dilution of the ejaculates of bulls; Either high or low ratios — this has an insignificant effect upon the overall conception rate of the breeding cows.

Text to the table

I. Survey of conception of breeding cows: а) as to the different dilution ratios of the ejaculates of the bulls, б) arranged according to the number of pregnant cows

Text to the figure

1. The relation between the ratio of dilution and the percentage of pregnant cows

Adresa autora:

Doc. ing. Miloslav Novák, CSc., Vysoká škola zemědělská, katedra veterinárních disciplín, Brno, Zemědělská 1

■ Ejakulace kanců probíhá podle určitého schematu (Mc Kenzie a kol. 1938). Celý ejakulační proces je rozdělen na několik fází, které tvoří dohromady ejakulační vlnu. Ejakulát lze rozdělit na tři frakce. První chudá na spermie — vodnatá frakce. Za ní následuje druhá frakce bohatá na spermie a ejakulace je zakončena třetí frakcí, rovněž chudou na spermie a bohatou na rosolovitou hmotu.

Derivaux (1959) dělí průběh ejakulace rovněž na tři frakce. První před-spermiová frakce je vylučována při frikčních pohybech a obsahuje sekret přídatných pohlavních žláz. Vlastní spermatická frakce je vylučována v druhé fázi ejakulace, odpovídající absolutnímu klidu kance. Má mléčný vzhled, je velmi bohatá na spermie. Představuje přibližně asi jednu čtvrtinu celého ejakulátu, tj. 60—80 ccm. Třetí frakce odpovídá konci ejakulace. Má opálové zabarvení, je poměrně chudá na spermie a obsahuje velký počet chuchlovitých vloček, podobajících se tapioce, které pocházejí všeobecně ze sekretu Cowperových žláz. Rosolovitou hmotu lze nalézt ve všech třech frakcích.

Amdal a kol. (1958) poukazují na to, že během ejakulace kance se vytváří věncovitá masa rosolovitého sekretu okolo špičky penisu před ejakulací frakce bohaté na spermie, pravděpodobně aby bylo zabráněno odtoku semene do vagíny prasnice během ejakulace.

Mašek (1960) zjistil rovněž vyšší obsah rosolovité hmoty v prvních minutách odběru ejakulátu kance. Ejakulát kanců svým velkým objemem poskytuje rozsáhlé možnosti pro podrobné studium jeho jednotlivých složek. Po chemické stránce byla věnována pozornost studiu hlavně anorganických, později též organických složek.

První rozborry jednotlivých frakcí ejakulátu kance konala Nesmejanova (1963). Podrobný chemický rozbor semene kanců konali Mc Kenzie, Miller a Bauques (1938) a určili obsah Na, Ca, K, Mg, P v mg ve 100 g ejakulátu. Charakteristickým znakem ejakulátu kance na rozdíl od ejakulátu jiných druhů hospodářských zvířat je nízká koncentrace fruktózy (Mann 1954), vysoká redukční schopnost, vzniklá působením thiolové zásady ergothioneinem (Mann a Leone 1953) a výskyt inositolu ve velmi vysoké koncentraci. Výsledky chemického rozboru semene kanců a býka porovnal White (1958).

Mc Kenzie a kol. (1938) konali dosti podrobný rozbor sekretu přídatných pohlavních žláz, krevního séra a krevní plazmy. Z výsledků vyplývá poměrně velká rozdílnost ve složení jednotlivých zkoumaných látek. Hlavní rozdíl je vidět v obsahu některých anorganických složek.

Glover a Mann (1954) určovali organické složky typické pro ejakulát kance. Zjistili, že obsah fruktózy, ergothioneinu a kyseliny citrónové je největší ve frakci bohaté na spermiu. Současně upozorňují na to, že maximální vylučování sekretu ze semenných váčků neprobíhá současně s maximální koncentrací sepmií. Vysoký obsah ergothioninu zjistili též Mann a Leone (1953).

Kvasnickij a kol. (1962) poukazují na to, že chemické složení ejakulátu je proměnlivé nejen u různých kanců, ale mění se i individuálně. Ejakulát kance podle jejich údajů obsahuje asi 95 % vody, 5 % sušiny, z toho zhruba 0,42–0,78 % celkového dusíku, což v přepočtu na bílkoviny činí 3,5–5 %.

V předcházející části byly stručně shrnuty výsledky prací některých autorů, zabývajících se chemickým a biochemickým hodnocením ejakulátu kanců. S rozvojem inseminace prasnic vyvstávají nové problémy, zvláště s hodnocením jednotlivých frakcí ejakulátu kanců, k čemuž má přispět i tato práce.

METODIKA

Pro odběry semene jsme používali dvou kanců plemene bílého ušlechtilého a jednoho kance plemene cornwallského. Kanci plemene BU byli stejného stáří a stejné váhy. Kanec plemene cornwallského byl starý 14 měsíců a vážil 197 kg. Ejakulát kanců byl odebírán s pomocí fantómu a umělé vagíny. Vnitřek fantómu byl zvlášť upraven pro frakční odběr. Ejakulát byl podle barvy dělen na tři frakce. Odběry byly prováděny po dvou až tří denních intervalech. Mimo první odběr byl hodnocen i druhý, popř. i třetí odběr, které následovaly po krátkých přestávkách za sebou. Po odběru bylo makroskopicky i mikroskopicky posuzováno semeno (Mašek 1966) a dále následoval chemický rozbor tekuté části semene, při kterém byl zjišťován obsah sušiny, popele, Ca, K, Na, Mg, P a Cl. Rozbory jsme dělali podle metodik Příbyla (1953), Zvoníčka (1955) a Veselého, Zeljaskové (1957). Zjištěné číselné výsledky byly zpracovány variačně statistickými metodami (Hrubý 1954, Peterka a Kubíček 1960).

VÝSLEDKY

PRVÝ ODBĚR KANCŮ BU

Obsah sušiny. V první frakci jsme zjistili v průměru 3,38 % sušiny. Nejmenší obsah sušiny byl 1,34 % a nejvyšší 6,25 %. Variační koeficient (30,31) je poměrně vysoký a variabilita obsahu sušiny v jednotlivých ejakulátech kolísá. V druhé frakci ejakulátu byl nejnižší obsah sušiny 2,97 % a nejvyšší obsah 6,41 %. V průměru obsahovala tato frakce 4,81 % sušiny. Variabilita obsahu sušiny této frakce byla proti první frakci značně nižší ($v = 5,73$). Třetí frakce obsahovala v průměru 3,74 % sušiny při kolísání od 1,34 % do 6,23 %.

Obsah popele. Obsah popele v první frakci ejakulátu se pohyboval v rozmezí od 0,52 % do 2,41 %. Průměrně činil 1,001 %. V druhé frakci byl obsah popele průměrně 1,075 %, rozmezí od 0,65 do 2,16 %. Obsah popele ve třetí frakci měl nejnižší hodnotu 0,54 a nejvyšší 1,67 %. V průměru obsahovala třetí frakce 0,98 % popele.

Obsah sodíku. Obsah sodíku jsme zjišťovali v mg na 100 ml vzorku (tekuté části). V průměru jsme zjistili, že první frakce obsahuje 466,73 mg/100ml, druhá 422,20 mg a třetí frakce 474,30 mg sodíku ve 100 ml. Obsah sodíku se u první frakce pohyboval v rozmezí od 216,6 mg do 899,3 mg, v druhé frakci od 255,6 mg do 795,5 mg a ve třetí frakci od 355,3 mg do 893,1 mg sodíku v 100 ml.

Při zjišťování závislosti mezi objemem ejakulátu první frakce a obsahem Na byl vypočítán korelační koeficient $r = -0,1967$. Těsnost závislosti je velmi nízká, korelace málo významná. Rovnice regresní přímky ($y = -1,5024x + 514,75$) ukazuje, že při zvyšování objemu dochází k pomalému poklesu obsahu Na.

Obsah draslíku. Obsah draslíku byl v průměru na 100 ml tekuté části první frakce ejakulátu 98,405 mg, druhé frakce 105,48 mg a třetí frakce 101,99 mg. Minimální obsah K v první frakci byl 71,0 mg a maximální 121,8 mg. Ve druhé frakci se obsah K pohyboval v rozmezí od 58,9 mg do 207,7 mg, ve třetí frakci od 65,2 mg do 121,8 mg.

Závislost mezi obsahem K a objemem tekuté části druhé frakce ejakulátu ($r = -0,1922 \pm 0,2141$) je velmi nízká. Regresní přímka ukazuje na velmi nepatrný pokles obsahu K při zvyšování objemu druhé frakce ejakulátu.

Obsah vápníku. V první frakci tekuté části ejakulátu se pohyboval obsah vápníku v 100 ml v rozmezí od 3,07 mg do 15,39 mg. V průměru obsahovala tato frakce 8,97 mg Ca. Ve druhé frakci bylo rozmezí od 2,56 mg do 26,67 mg, průměr byl 10,023 mg Ca v 100 ml. Ve třetí frakci byl nejmenší obsah Ca 2,05 mg, nejvyšší 32,83 mg a průměr činil 11,50 mg Ca ve 100 ml tekuté části ejakulátu.

Obsah hořčíku. První frakce, její tekutá část, obsahovala v 100 ml průměrně 4,57 mg hořčíku při kolísání od 1,21 mg do 10,58 mg. Ve druhé frakci byl průměrný obsah 5,06 mg Mg na 100 ml. Nejnížší obsah byl 1,35 mg a nejvyšší 9,72 mg. Průměrný obsah Mg ve třetí frakci byl 6,30 na 100 ml tekuté části. Minimálně bylo zjištěno 1,21 mg a maximálně bylo 10,39 mg Mg v 100 ml tekuté části.

Obsah fosforu. Obsah fosforu kolísal v první frakci tekuté části od 2,18 mg do 11,45 mg v 100 ml. Průměrně činil 6,65 mg. Druhá frakce obsahovala průměrně 7,16 mg P v 100 ml (2,61–16,30 mg). Průměrný obsah P v 100 ml tekuté části třetí frakce byl 4,84 mg (1,09–9,86 mg).

Obsah Cl⁻. Obsah Cl⁻ v 100 ml tekuté části první frakce činil 392,18 mg, druhé frakce 359,95 mg a třetí frakce 364,50 mg. Obsah Cl⁻ kolísal v první frakci od 279,15 mg do 558, mg, v druhé frakci od 191,41 mg do 584,89 mg a ve třetí frakci od 265,86 mg do 571,50 mg Cl⁻ na 100 ml tekuté části jednotlivých frakcí ejakulátu.

Obsah jednotlivých anorganických složek různých frakcí se od sebe liší. Dáleko větší rozdíly jsou patrné ve složení ejakulátu různých kanců. Při sledování závislosti objemu tekuté části a jednotlivých anorganických složek byla tato velmi nepatrná. Vyjádření této závislosti pomocí regresní přímky bylo možné jen v několika případech.

DRUHÝ ODBĚR KANCŮ BU

Jednotlivé frakce ejakulátu při druhém odběru, který následoval po krátké přestávce, nebo ihned po prvním odběru, lze všeobecně charakterizovat menším objemem a nižší koncentrací spermií. Výsledky chemického rozboru jsou uvedeny v tab. I. Uvedené výsledky v tab. I. jsme zjišťovali u 13 ejakulátů odebíraných frakčním způsobem. Variabilita jednotlivých sledovaných znaků je poměrně dosti vysoká, ale proti variabilitě těchto znaků z prvního ejakulátu je nižší. Rozdíly v obsahu různých prvků v jednotlivých frakcích jsou poměrně malé. Větší rozdíl je v obsahu Na, Mg a P.

I. Výsledky chemického rozboru tekuté části jednotlivých frakcí ejakulátu při druhém odběru

Zjišťovaný údaj	Hodnota	Frakce		
		I.	II.	III.
Obsah sušiny %	$\bar{x}$	3,47	4,29	3,36
	s	0,3092	1,0070	1,3020
	$s_{\bar{x}}$	0,0932	0,3036	0,6510
	v	8,91	23,47	38,75
Obsah popele %	$\bar{x}$	0,91	1,03	1,03
	s	0,1043	0,1878	0,0138
	$s_{\bar{x}}$	0,0314	0,0566	0,0069
	v	11,46	18,23	13,41
Obsah Na mg v 100 ml	$\bar{x}$	447,2	476,5	514,6
	s	151,5700	78,2117	118,9320
	$s_{\bar{x}}$	45,700	23,581	59,466
	v	33,89	16,41	23,11
Obsah K mg v 100 ml	$\bar{x}$	102,5	99,9	105,1
	s	15,1131	19,3641	7,8826
	$s_{\bar{x}}$	4,556	5,838	3,941
	v	14,74	19,38	7,50
Obsah Ca mg v 100 ml	$\bar{x}$	9,34	7,59	8,25
	s	4,2533	3,2971	—
	$s_{\bar{x}}$	1,345	1,042	—
	v	45,53	43,44	—
Obsah Mg v mg v 100 ml	$\bar{x}$	3,93	6,01	1,88
	s	2,5464	2,3507	—
	$s_{\bar{x}}$	0,767	0,708	—
	v	64,79	39,11	—
Obsah Cl ⁻ mg v 100 ml	$\bar{x}$	414,4	413,2	452,3
	s	66,4540	98,8220	70,3217
	$s_{\bar{x}}$	20,036	29,795	40,600
	v	16,03	23,91	15,54
Obsah P mg v 100 ml	$\bar{x}$	3,31	5,07	5,79
	s	1,9133	2,3708	1,8553
	$s_{\bar{x}}$	0,576	0,714	1,071
	v	57,80	46,76	32,04

II. Průměrné výsledky chemického rozboru tekuté části první a druhé frakce třetího odběru

Sledovaný údaj	Frakce	
	I.	II.
Obsah sušiny %	2,86	3,52
Obsah popele %	1,24	1,31
Obsah Na — mg v 100 ml	145,43	112,0
Obsah K — mg v 100 ml	21,60	22,06
Obsah Ca — mg v 100 ml	8,95	13,85
Obsah Mg — mg v 100 ml	10,00	22,50
Obsah P — mg v 100 ml	1,83	3,34
Obsah Cl ⁻ — mg v 100 ml	447,33	456,36

TŘETÍ ODBĚR KANCŮ EU

Chemické složení ejakulátu při třetím odběru je uváděno informačně. Zvláště chemické složení třetí frakce nebylo vzhledem k technickým (velmi malý, nebo žádný objem) možnostem sledováno. Pokud jde o barvu ejakulátu jednotlivých frakcí třetího odběru, byla první frakce takřka bezbarvá, druhá frakce byla nepatrně mléčného zabarvení a třetí frakce byla opět takřka bezbarvá (tab. II).

VÝSLEDKY ROZBORU EJAKULÁTU KANCE PLEMENE CORNWALLSKÉHO

Průměrné výsledky chemického rozboru ejakulátu kance plemene cornwallského ho odebíraného frakčním způsobem, uvádíme v tab. III.

Rozdíly v obsahu jednotlivých anorganických složek v různých frakcích ejakulátu jsou celkem nepatrné. Variabilita jednotlivých znaků je ve všech případech vysoká. Nejnižší variační koeficient byl při hodnocení obsahu draslíku ($v_I = 9,77$, $v_{II} = 8,07$, $v_{III} = 4,26$) a sodíku ($v_I = 4,63$, $v_{II} = 5,88$, $v_{III} = 6,34$).

III. Průměrné výsledky chemického rozboru tekuté části jednotlivých frakcí ejakulátu kance plemene cornwallského

Sledovaná hodnota	Frakce		
	I.	II.	III.
Obsah sušiny %	4,85	4,91	4,92
Obsah popele %	1,06	0,97	1,38
Obsah Na — mg v 100 ml	381,2	360,8	382,1
Obsah K — mg v 100 ml	99,5	108,9	99,3
Obsah Ca — mg v 100 ml	—	14,2	9,21
Obsah Mg — mg v 100 ml	—	7,42	15,36
Obsah P — mg v 100 ml	5,55	5,64	4,74
Obsah Cl ⁻ — mg v 100 ml	320,0	325,43	321,55

IV. Souhrn průměrných hodnot chemických rozborů jednotlivých frakcí ejakulátu prvního, druhého a třetího odběru v mg na 100 ml tekuté části

Hodnota	Kanci plemene bílého ušlechtilého									Kanec plemene cornwallského		
	odběr 1.			odběr 2.			odběr 3.			odběr 1.		
	Frakce			Frakce			Frakce			Frakce		
	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.
Obsah sušiny %	3,38	4,81	3,74	3,47	4,29	3,36	2,86	3,52	—	4,85	4,91	4,92
Obsah popele %	1,001	1,075	0,98	0,91	1,03	1,03	1,24	1,31	—	1,06	0,97	1,38
Obsah Na	465,812	421,54	476,29	447,2	476,5	514,6	145,43	112,0	—	381,2	360,8	382,1
Obsah K	98,405	105,48	101,99	102,5	99,9	105,1	21,60	22,06	—	99,5	108,9	99,3
Obsah Ca	8,37	10,02	11,50	9,34	7,59	8,25	8,95	13,85	—	—	14,2	9,21
Obsah Mg	4,57	5,06	6,30	3,93	6,01	1,88	10,00	22,50	—	—	7,42	15,36
Obsah Cl ⁻	392,18	359,95	364,43	414,4	413,2	452,3	447,33	456,36	—	320,0	325,43	321,55
Obsah P	6,65	7,16	484	3,31	5,07	5,79	1,88	3,34	—	5,55	5,64	4,74

DISKUSE

Podobné chemické rozborý konala Nesmejanova (1936) u jednotlivých frakcí ejakulátu a stanovila obsah draslíku, sodíku a vápníku. Podrobnější rozbor jednotlivých frakcí ejakulátu provedli McKenzie a kol. (1938) a určili hodnoty v mg na 100 g čisté váhy ejakulátu. Při našich rozbořech jsme zjistili nižší obsah sušiny v první a třetí frakci, dále jsme zjistili nižší obsahy všech sledovaných prvků až na vápník, kterého jsme zjistili více než udávají citovaní autoři. Tyto rozdíly v obsahu jednotlivých prvků jsou způsobeny ve značné míře výživou a dalšími jinými vlivy, jako je např. plemenná příslušnost apod. Hlavní příčina rozdílu ve výsledcích spočívá v tom, že v naší práci jsme dělali rozbor jen tekuté části ejakulátu, neboť pro potřeby inseminace se bude využívat hlavně této části. Podobné výsledky rozborů jsme v dostupné literatuře nenalezli.

Zjištěné výsledky ukazují na velkou variabilitu hodnot jednotlivých frakcí ejakulátu kanců a na velkou rozdílnost při různé intenzitě odběrů. Při srovnání se zjištěnými hodnotami ejakulátu kance plemene cornwalského lze pozorovat i rozdíly, způsobené plemennou příslušností.

SOUHRN

Účelem práce bylo přispět ke studiu chemického složení ejakulátu kanců plemene bílého ušlechtilého. Ejakulát byl ve všech případech odebírán frakčním způsobem. Jednotlivé frakce byly rozděleny na základě barevné rozdílnosti. Současně uvádíme výsledky zjištěné při druhém a třetím odběru, dále uvádíme hodnoty zjištěné v ejakulátech kance plemene cornwalského. Při chemických rozbořech byl sledován obsah sušiny, popele, Na, K, Ca, Mg, Cl⁻ a P. Rozbořby byly prováděny na tekuté části jednotlivých frakcí ejakulátu. Souhrnné výsledky jsou uvedeny v tab. IV.

Došlo dne 12. 7. 1967

Literatura

1. AAMDAL, J. - HÖGSET, L. - SVEDBERG, O. - KOPPAMG, N.: A new type of artificial vagina and a new collection technique for boar semen. = „J. Amer. Vet. Med. Assn.“, 133, 1958 : 101-106. — 2. DERIVAUX, J.: L'Insémination artificielle porcine. = „Annales de Médecine Vétérinaire“, 6, 1959, 10 : 369-393. — 3. GLOWER, T. D. - MANN, T.: On the composition of boar semen. = „J. Agric. Sci.“, 44, 1954 : 355-360. — 4. HRUBÝ, K. - KONVIČKA, O.: Polní pokusy, jejich zakládání a hodnocení. Olomouc, 1954. — 5. KVASNICKIJ, A. V. - KOŇUCHOVÁ, V. A. - KOŇUCHOVÁ, L. A.: Umělé osemeňování prasnic (Frakční metoda). Praha 1962. — 6. MANN, T. - LEONE, E.: Studies on metabolism of semen. S. Ergothionine as a normal constituent of boar seminal plasma. Purification and crystallization. Site of formation and function. = „Biochem. J.“, 53, 1953 : 140-148. — 7. MAŠEK, N.: Přispěvek k nové technice odběru ejakulátu kanců a ke studiu některých vlivů na biologii jejich spermií. = In: Kand. dis. práce VŠZ Brno, 1960. — 8. MAŠEK, N.: Kvantitativní a kvalitativní ukazatele semene kanců plemene BU odebíraného frakčním způsobem. = „Živočišná výroba“, 11, 1966, 10 : 795-806. — 9. MC KENZIE, F. - MILLER, J. C. - BAUQUES, L. C.: The reproductive org. and semen of the boar. = „Res. Bull. M. Agr. Exp. Sta.“, 1938, 279 : 122. — 10. MC KENZIE, F.: A method for the collection of boar semen. = „J. Amer. Vet. Med. Assn.“ 1958, 133 : 101-106. — 11. MYSLIVEC, V.: Statistické metody zemědělského a lesnického výzkumnictví ČSAZV, Praha, 1957. — 12. NESMEJANOVA, T. N.: O soderžaniji elektrolitov v sperme sel'skochozjajstvennyh životnyh. = „Dokl. Akad. s. ch. nauk“, 14, 1940 : 28-32. — 13. PETERKA, O. - KUBÍČEK, J.: Statistické metody v zemědělské statistice I a II. Praha, 1959/63. — 14. PŘIBYL, R.: Komplexony v chemické analýse,

Praha, 1953. — 15. VESELÝ, M. - ŽELJAZKOVÁ, O.: Analytická chemie odměrná. Praha, 1955. — 16. WHITE, I. G.: Biochemical Aspect of mammalian semen. = „Anim. Bred. Abstr.“ 26, 1958, 2:109-123. — 17. ZVONÍČEK, J. - ŠERAK, L.: Fysikální přístroje v chemické laboratoři. Praha 1955.

Содержание анорганических веществ в эякулятах хрюков в зависимости от частоты садок и фракции эякулированного семени

Целью работы было внести дальнейшие познания в изучение химического состава эякулята хрюков-производителей чешской белой улучшенной породы. Эякулят во всех случаях был получен фракционным способом. Отдельные фракции семени были разделены на основе разницы в окраске. Одновременно приводим результаты, полученные при второй и третьей садке, а также величины, определенные в эякуляте хрюка-производителя породы корнуэлл.

При химическом анализе исследовалось содержание сухого вещества, золы, Na, K, Ca, Mg, Cl и P.

Анализ проводился на жидких частях отдельных фракций эякулята. Обобщенные данные приводятся в таблице 4.

Текст к таблицам

- I. Результаты химического анализа жидкой части отдельных фракций эякулята при второй садке
- II. Средние показатели химического анализа жидкой части первой и второй фракций третьей садки
- III. Средние показатели химического анализа жидкой части отдельных фракций эякулята хрюка породы корнуэлл
- IV. Подытоженные средние показатели химических анализов отдельных фракций первого, второго и третьего эякулята в мг/100 мл жидкой части

The Content of Anorganic Substances in the Ejaculates of Boars in the Case of Different Intensity and Fractional Collection of their Semen

The purpose of the test was to contribute to the study of the chemical composition of the ejaculates of boars of the Large White breed. The fractional method was applied in all cases. The determination of the different fractions was based on the differences of their colouring. We present also the results of the second and of the third collections as well as the values of the ejaculates of Cornwall boars. Chemical analyses investigated the following characters: the contents of dry matters, ashes, Na, K, Ca, Mg, Cl, and P. For the analytical investigation the liquid part of the fractions of the ejaculates was used. The concluding results are shown in tab IV.

Text to the tables

- I. The results of the analysis of the liquid part of individual fractions of the ejaculate in the second collection
- II. Average results of the chemical analysis of the liquid part of the first and second fractions of the third collection.
- III. Cornwall boar. Average results of the chemical analysis of the liquid part of different fractions of the ejaculate
- IV. Survey of the average values obtained in chemical analyses of individual fractions of the ejaculates of the first, second, and third collections. In mg per 100 ml of the liquid part

Adresa autora:

Doc. ing. Norbert Mašek, CSc., Vysoká škola zemědělská, katedra obecné zootechniky, Brno, Zemědělská 1

■ Při stanovení vhodné intenzity odběru semene u plemeníků je přikládána velká důležitost údajům o spermiogenezi z kvantitativního a kvalitativního hlediska. V tomto směru učinila řada autorů všestranně zaměřená šetření, zejména u býků (Almquist 1962, Amann 1962 aj.). Pokud jde o kance, otázkami produkce se zabývali Novoselcev 1951, Singh 1962, Pitkjanen 1962, Du Mesnil du Buisson 1963, Konjuchova 1964, Kenelly, Foote 1964, Kaplan 1966 aj.

Názory na stanovení nejvhodnějšího intervalu mezi odběry kančího semene při dlouhodobém udržení pohlavní aktivity plemeníků, kvality semene a produkce spermií jsou sice do určité míry rozdílné, ale převládá názor, že u dospělých kanců je nejvhodnější odebírat semeno asi dvakrát týdně (výjimečně i častěji v kratším období s patřičným odpočinkem), u mladých kanců se však nedoporučuje odebírat semeno častěji než jedenkrát týdně (Aamdal 1957, Du Mesnil du Buisson, Dauzier 1957, Dziuk 1958, Stratman aj. 1958, Solis 1956, Holt 1959, Göting 1959, Niwa aj. 1959, Aamdal, Högset 1957, Pliško 1960, Perez 1961, Self 1961, Pitkjanen 1962 aj.). Podrobnější orientační normy pohlavního režimu kanců různého stáří uvádí Novoselcev (1954).

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu jsme zařadili tři kance bílého ušlechtilého plemene ve stáří 26—28 měsíců ve váze 274—302 kg. Kanci byli ustájeni individuálně v boudách s výběhy a úroveň jejich výživy odpovídala platným normám. Celková délka pokusného období činila 98 dnů, z toho připadalo na vlastní pokusné období 56 dnů a 42 dnů na přípravné období. Ke stanovení maximálního denního množství ejakulovaných spermií (tzv. maximální denní vydatnost spermií) u kanců jsme použili opakovaných vyčerpávacích zkoušek.

U každé vyčerpávací zkoušky jednotlivé odběry semene následovaly za sebou v kratších intervalech (1—1,5 h) až k hranici sexuální aktivity kance. Vyčerpávací zkouška byla ukončena tehdy, když kanec opakovaně (po 1/2 h) odmítl vzeskočit na fantóm anebo nebyl-li získán po vzeskoku ejakulát. V pokusném období jsme uskutečnili u každého kance celkem 11 vyčerpávacích zkoušek v intervalech 1—10 dnů (1., 2., 4., 7., 11., 16., 22., 29., 37., 46., 56. den), tj. v intervalech stále se prodlužujících o jeden den (1—10 dnů). Podrobnější údaje o odběru semene a jeho hodnocení uvádím v předchozí práci (Kaplan 1966).

VÝSLEDKY

U tří kanců (bratrů) ve stáří 26–28 měsíců bylo uskutečněno v průběhu 56 dnů pokusného období (v intervalech 1–10 dnů) po jedenácti vyčerpávacích zkouškách s celkovým počtem 110 odběrů semene. V první vyčerpávací zkoušce průměrně na kance bylo získáno 3,33 (3–4) odběrů semene. Souhrnné výsledky jsou uvedeny v tab. I. Průměrný objem odebraného ejakulátu činil 275 ml (251,25–311,33 ml), z toho připadalo na želatinózní část 56,50 ml (42,5–78,33 ml) a na tekutou část 218,5 ml (208,75–233,33 ml) s koncentrací $179,54 \times 10^3/\text{cmm}$ (148,52–208,63 $\times 10^3$) a s celkovým počtem $39,229 \times 10^9$ (31,004–45,203 $\times 10^9$) spermií.

Vlastní délka odběru ejakulátu činila průměrně 6 min 6 s a délka přípravného období 2 min 18 s, pohyblivost spermií 79,5 %, hodnota pH semene 7,43, počet spermií s protoplazmatickou kapkou 12,53 % a počet patologických spermií 7,12 %. U posledního odběru ve srovnání s prvním odběrem vyčerpávací zkoušky poklesl celkový objem ejakulátu z 371,66 ml na 160 ml (želatinózní část z 88,33 ml na 20 ml, tekutá část semene z 283,33 ml na 140 ml), koncentrace spermií z $258,24 \times 10^3$ na 65×10^3 a celkový počet spermií z $73,167 \times 10^9$ na $9,1 \times 10^9$. Z celkového počtu spermií první vyčerpávací zkoušky připadal na jednotlivé po sobě jdoucí ejakuláty následující podíl spermií: 55,95 %, 28,91 %, 12,81 % a 2,33 %.

Ve druhé vyčerpávací zkoušce (uskutečněné následující den) bylo získáno ve 2,33 (2–3) odběrech nejmenší množství ejakulátu – 571,66 ml (440 až 700 ml), (93,33 ml želatinózní část a 478,33 ml tekutá část semene). Ve třetí vyčerpávací zkoušce (interval 2 dny) bylo získáno ve třech odběrech poněkud vyšší množství ejakulátu – 650 (525–750) ml, ale s nejnižší koncentrací spermií – $44,9 \times 10^3$ (39,19–50,05 $\times 10^3$) a s nejnižším celkovým počtem – $22,673 \times 10^9$ (19,770–25,715 $\times 10^9$) spermií, tj. pouze 17,34 % (14,58 až 19,38 %) spermií první vyčerpávací zkoušky.

Od čtvrté do jedenácté vyčerpávací zkoušky došlo k postupnému zvyšování objemu semene (kromě poslední zkoušky), koncentrace spermií i celkového počtu spermií v souladu s postupně se prodlužujícím intervalem (3–10 dnů) mezi jednotlivými zkouškami, jak je patrné z tab. I. Při soustavném vzestupu uváděných hodnot získaných ejakulátů až v deváté vyčerpávací zkoušce (interval 8 dní) bylo získáno na jednoho kance v 4,33 (4–5) odběrech průměrně $130,918 \times 10^9$ (127,625–136,830 $\times 10^9$) spermií, tj. 100,12 % (94,11 až 110,33 %) celkového počtu spermií první vyčerpávací zkoušky. Přitom objem tekuté části ejakulátu byl vyšší o 33,41 % (30,00–37,72 %) a koncentrace spermií nižší o 24,95 % (19,81–28,45 %) ve srovnání s počáteční zkouškou.

V 11. vyčerpávací zkoušce (interval 10 dnů) bylo dosaženo v koncentraci spermií téměř hodnoty (snížení o 0,8 %) počáteční zkoušky při vyšším objemu ejakulátu o 11,67 % a při vyšším celkovém počtu spermií o 10,78 % (4,21 – 14,43 %). Průměrná pohyblivost spermií činila 86 %, hodnota pH semene 7,51, počet spermií s protoplazmatickou kapkou 10,49 %, počet patologických spermií 3,94 %, délka vlastního odběru semene 7 min a délka přípravného období 2 min 48 s. V posledním odběru ve srovnání s prvním odběrem vyčerpávací zkoušky poklesl celkový objem ejakulátu z 425 ml na 175 ml (želatinózní část z 80 ml na 25 ml, tekutá část semene z 360 na 150 ml), koncentrace spermií z 244×10^3 na 99×10^3 a celkový počet spermií z $70,200 \times 10^9$ na $17,820 \times 10^9$. Z celkového počtu spermií 11. vyčerpávací zkoušky připadal na jednotlivé po sobě jdoucí eja-

I. Souhrnné výsledky u tří kanců ve stáří 26—32 měs., živá váha 274—322 kg, celkem 155 odběrů (průměrné hodnoty). — Opakované vyčerpávající zkoušky v intervalech 1—56 dnů

Pořadí vyčerp. zkoušky	Mezidobí (dny)	Počet odběrů	Objem ejakulátu (ml)				Koncentrace spermií		Celkový počet spermií		
			celkem	želat. část	tekutá část	%	$\times 10^3/\text{cmm}$	%	$\times 10^9$	%	denně $\times 10^9$
1	—	3,33	916,66	188,33	728,33	100,00	179,54	100,00	130,762	100,00	—
2	1	2,33	571,66	93,33	478,33	65,68	62,72	34,93	30,003	22,94	—
3	2	3,00	650,00	145,00	505,00	69,34	44,90	25,01	22,673	17,34	11,337
4	3	2,67	716,66	178,33	538,33	73,91	71,69	39,93	38,593	29,51	12,864
5	4	2,67	713,33	148,33	565,00	77,57	79,88	44,49	45,133	34,52	11,283
6	5	3,00	793,33	145,00	648,33	89,02	77,29	43,05	50,107	38,32	10,021
7	6	4,00	1090,00	196,67	893,33	122,65	90,65	50,49	80,980	61,93	13,497
8	7	4,00	1083,33	166,66	916,67	125,86	115,76	64,48	106,117	81,15	15,160
9	8	4,33	1158,33	186,66	971,67	133,41	134,74	75,05	130,918	100,12	16,365
10	9	4,00	1150,—	193,33	956,67	131,35	147,92	82,39	141,513	108,22	15,724
11	10	3,33	970,—	156,67	813,33	111,67	178,10	99,20	144,857	110,78	14,486
1–11 průměr na vyčerp. zkoušku		3,33	892,12	163,48	728,64	—	114,99		83,787		14,091*)

*) bez 1. a 2. vyčerpávající zkoušky

kuláty tento podíl spermií: 43,42 %, 28,69 %, 23,79 % a 4,10 %. Maximální denní množství získaných spermií (tj. maximální denní vydatnost spermií) ve vyčerpávacích zkouškách (bez 1. a 2. zkoušky) činilo průměrně $14,091 \times 10^9$ ($13,891 - 14,265 \times 10^9$). V průměru všech vyčerpávacích zkoušek s celkovým počtem 110 odebraných ejakulátů byl zjištěn pokles hodnot odebraných ejakulátů v souladu se zvyšujícím se počtem odběrů ve vyčerpávací zkoušce. V posledním odběru ve srovnání s prvním odběrem v průměru všech vyčerpávacích zkoušek poklesl celkový objem ejakulátu z 358,48 ml na 170 ml (tekutá část semene z 288,48 na 150 ml a želatinózní část z 70 ml na 20 ml), koncentrace spermií ze $140,53 \times 10^3$ na 53×10^3 a celkový počet spermií z $40,540 \times 10^9$ na $7,95 \times 10^9$. Z celkového průměru počtu spermií získaných ve všech vyčerpávacích zkouškách připadal (na jednotlivé po sobě jdoucí ejakuláty) tento podíl spermií: 39,94 % ($40,54 \times 10^9$), 22,53 % ($22,863 \times 10^9$), 15,95 % ($16,185 \times 10^9$), 13,75 % ($13,954 \times 10^9$) a 7,83 % ($7,950 \times 10^9$).

V průběhu uváděných vyčerpávacích zkoušek průměrná délka odběru semene, délka přípravného období, hodnota pH semene, množství patologických spermií s protoplazmatickou kapkou, pohyblivost spermií kolísaly vcelku nepatrně, k větším poklesům docházelo v souladu se vzestupem počtu odběrů v jednotlivých vyčerpávacích zkouškách. Délka redukční zkoušky kolísala v souladu se vzestupy a poklesy koncentrace spermií v ejakulátu.

Rozbory tekuté části semene ukazují, že průměrné množství sušiny semene v první vyčerpávací zkoušce činilo 4,97 %, postupně toto množství klesalo a v třetí vyčerpávací zkoušce (interval 2 dny) dosáhlo nejnižší hodnoty — 2,07 %. V dalších zkouškách s postupným prodlužováním denního intervalu došlo k postupnému vzestupu až na 3,66 % sušiny semene u osmé vyčerpávací zkoušky. Rovněž v pořadí jednotlivých odběrů u vyčerpávacích zkoušek došlo k značným poklesům v množství sušiny semene. Stejnou tendenci jako množství sušiny (v jednotlivých vyčerpávacích zkouškách) vykazovalo množství N látek a fosforu; opačnou tendenci vykazovalo množství draslíku a sodíku.

ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ A DISKUSE

Dosažené výsledky ukazují, že postupným prodlužováním časového intervalu mezi vyčerpávacími zkouškami dochází k postupnému vzestupu celkového počtu ejakulovaných spermií, koncentrace spermií i objemu ejakulátu. Ve srovnání s první vyčerpávací zkouškou (v přípravném období odběr 1 $\times$ týdně) se dosáhlo teprve v intervalu 8 dnů (8—9 dnů) prakticky stejného množství ejakulovaných spermií (zvýšení o 0,12 %) s nižší koncentrací spermií (o 24,95 %), ale ve vyšším objemu semene (o 33,41 %). Almqvist a kol. (1958) uvádějí, že pro doplnění odčerpaných rezerv spermií u býků na původní úroveň je třeba asi sedmi dní. Stejnou délku časového intervalu (za 7 dní získáno 95,5—99,4 % původního množství spermií) udávají Fulka a Pavlok (1962).

Ve dvou po sobě následujících vyčerpávacích zkouškách v prvních dvou dnech pokusu došlo prakticky k vyčerpání zásob ejakulovaných spermií. Vycházíme-li z tohoto předpokladu, činí průměrné denní množství ejakulovaných spermií — tzv. maximální denní vydatnost spermií — $14,091 \times 10^9$ ($13,891$ až $14,265 \times 10^9$). To značí, že každým dnem odpočinku kančů se zvyšovalo množství ejakulovaných spermií v intervalu 1—10 dnů průměrně o toto množství, které v průběhu uváděných intervalů kolísalo průměrně od $10,021 \times 10^9$ do $16,365 \times 10^9$ spermií. Zjištěné denní množství spermií představuje jen část

vlastní produkce varlaty, kterou lze získat při maximální intenzitě odběrů. Další část vytvořených spermií vlivem masturbace, resorpce spermií v mimovarlatních vývodných cestách a nedokonalosti odběrů se nepodchytí. Kennelly, Foote (1964) uvádějí, že denní množství ejakulovaných spermií u kanců při každodenních odběrech semene činilo 63 % z celkového odhadu denní produkce spermií varlaty, zjištěné na podkladě histologických studií.

Uváděná maximální denní vydatnost spermií u kanců podle dalšího šetření byla poněkud vyšší — asi o $2,463 \times 10^9$ spermií, protože při odběru semene určitá část spermií ulpí na stěnách vagíny, na filtrační gáze a na želatinózní substanci ejakulátu. Při opakovaném propláchnutí (fyzilogickým roztočením) vagíny, gázy a želatinózní substance bylo získáno v průměru na jeden odběr dalších $3,643 \times 10^9$ spermií, které se nepodchytí za normálních podmínek odběru ejakulátu.

Z výsledků šetření je dále patrné, že množství sušiny, dusíkatých látek a fosforu kolísalo v souladu s poklesy a vzestupy celkového počtu spermií v jednotlivých vyčerpávacích zkouškách i v jednotlivých odběrech a množství draslíku a sodíku mělo opačnou tendenci k celkovému počtu spermií v semeni.

Pokud jde o zjištěné maximální denní ejakulované množství spermií u kanců, dosažené výsledky se prakticky shodují s údaji Singha (1962). Kennelly, Foote (1964) uvádějí, že odhad maximální denní produkce spermií u ročních kanců činil $13,4 \times 10^9$ ($9-19,7 \times 10^9$) spermií a u kanců ve stáří dvou let byl značně vyšší — $31,3 \times 10^9$ ($25,2-36,8 \times 10^9$); přitom denní množství spermií získané každodenními odběry semene (včetně ztrát spermií — $5,7 \times 10^9$ — při odběru) činilo průměrně $19,7 \times 10^9$ ($25,2-36,8 \times 10^9$). Uváděná hodnota po odečtení ztrát při odběru prakticky odpovídá dosaženým výsledkům našich pokusů. Částečně nižší hodnotu denní produkce spermií u kanců — $11,33 \times 10^9$ ($8,15 \times 10^9$) uvádí Novoselcev (1951) a vyšší hodnoty denní produkce spermií uvádějí Konjuchova (1964) — $13,32$ až $16,73 \times 10^9$, Pitkjanen (1962) — $15,3-16,6 \times 10^9$, Du Mesnil du Buisson (1963) — $14,22 \times 10^9$. Podobně ani denní produkce spermií u býků není podstatně vyšší: Almquist (1962) uvádí 13×10^9 a Amann (1962) $17,7 \times 10^9$.

Ze zjištěné maximální denní vydatnosti spermií u dospělých kanců bílého ušlechtilého plemene a z dřívějších pokusných šetření u mladších kanců je možno stanovit hrubou orientaci využití kanců pro účely inseminace i přirozenou plemenitbu. Pro inseminaci (kde je zapotřebí získat semeno s vysokou koncentrací a s velkým celkovým počtem spermií) je vhodné odebírat semeno od plemeníků ve stáří nad 15 měsíců dvakrát týdně (tj. na odběr asi sedm inseminačních dávek à 5×10^9 pohyblivých spermií), přechodně je možno zvýšit počet odběrů s přiměřeným obdobím odpočinku a mladší plemeníky neodebírat častěji než jedenkrát týdně. Uváděné intervaly se shodují s údaji řady autorů (Aamdal 1957, Aamdal, Högset 1960, Dziuk 1958, Goting 1959, Niwa a kol. 1959, Stratman a kol. 1959, Radford 1961, Solis 1958, Pliško 1960, Self 1961, Pitkjanen 1962 aj.).

V přirozené plemenitbě, kde se získá za podmínek přirozeného páření vyšší množství spermií (a bez ztrát při odběru) je možno zvýšit využití plemeníků ve stáří nad 15 měsíců minimálně na tři skoky týdně, protože ejakulované množství spermií i při kratších časových intervalech je několikanásobně vyšší ve srovnání s inseminační dávkou a plně postačuje pro dosažení normálního procenta oplození a četnosti vrhu (Konjuchova 1964, aj.). Z toho plyne, že jsou reálné předpoklady pro zvýšení počtu na 35–40 prasníc na plemenného kance.

U tří kanců (bratrů) bílého ušlechtilého plemene ve stáří 26–28 měsíců ve váze 274–302 kg bylo zjišťováno maximální denní množství ejakulovaných spermií opakovanými vyčerpávacími zkouškami v intervalech 1–10 dnů. Maximální denní množství ejakulovaných spermií u kanců činilo průměrně $14,091 \times 10^9$ ($13,891–14,265 \times 10^9$) – včetně ztrát při odběru $16,554 \times 10^9$ a každým dnem sexuální abstinence kanců se zvyšovalo denní množství ejakulovaných spermií průměrně o uvedenou hodnotu. Odčerpané množství spermií u kanců – $130,762 \times 10^9$ ($124,015$ až $135,610 \times 10^9$) s pomocí vyčerpávací zkoušky se doplnilo na původní úroveň průměrně v intervalu 8 (8–9) dnů.

Pro inseminaci (kde je zapotřebí získat objemné ejakuláty s příznivou koncentrací a s velkým celkovým počtem spermií) je vhodné odebírat semeno plemeniků ve stáří nad 15 měsíců dvakrát týdně (přechodně je možno zvýšit jejich využití s přiměřeným obdobím odpočinku) a u mladších plemeniků odběr jedenkrát týdně. V přirozené plemenitbě je možno zvýšit zatížení dospělého kance ve stáří nad 15 měsíců na 35–40 prasníc.

Došlo dne 22. 9. 1967

Literatura

1. AAMDAL, J.: Kunstig saedoverføring i svineavl. = „Landbrukstidende“, 63, 1957, 24: 455–456. — 2. AAMDAL, J. - HØGSET, I.: Artificial insemination in swine. = „J. Am. Vet. Med. Assn.“, 131, 1957, 59. — 3. ALMQUIST, J. O.: Direct and indirect measurement of daily testicular sperm production in dairy bulls. = „Zootec. Veterinaria“, 17, 1962, 5-6: 81–84. — 4. ALMQUIST, J. O. - AMANN, R. P. - O'DELL, W. T.: Sperm reserves of dairy bulls as determined by depletion trials and postslaughter sperm counts. = „J. Dairy Sci.“, 41, 1958, 773. — 5. AMANN, R. P.: Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. = „J. of Dairy Sci.“, 7, 1962: 774–781. — 6. DZIUK, P. J.: Effect of artificial insemination of gilts with semen stored for $\frac{1}{2}$ hours vs. 72 hours. = „J. Animal Sci.“ 17, 1958, 1214. — 7. FULKA, J. - PAVLOK, A.: Charakteristika býčích ejakulátů získaných při opakovaných vyčerpávacích zkouškách. = „Živočišná výroba“, 8, 1963, 9: 523–530. — 8. GOTINK, W. M.: Die Künstliche Besamung beim Schweine. Bericht von einer Studienreise nach Norwegen und Dänemark. = „Landw. Zentralblatt, Abt. III. - Tier., Tiernährer“, 4, 1959: 681. — 9. HOLT, A. T.: Observations on artificial insemination of pigs. = „Veterin. Rec.“ 71, 1959: 184–187. — 10. KAPLAN, F.: Výzkum činitelů působících na množství a kvalitu kančího semene. = In: Závěr. zpráva VÚCHP Kostelec n. Orli. 1956. — 11. KENNELLY, J. J. - FOOTE, R. H.: Sampling boar testes to study spermatogenesis quantitatively and to predict sperm production. = „J. Anim. Sci.“, 23, 1964, 1: 160–167. — 12. KONJUCHOVA, V. A.: Ispol'zovanie chrjakov pri iskusstvennom osemeneniji. = „Svinovodstvo“, 18, 1964, 1: 38–39. — 13. DU MESNIL DU BUISSON, F.: Acquisitions récentes technologiques et physiologiques dans le domaine de la reproduction du porc. = „Elevage et Insémination“, 76, 1963, 9–16. — 14. DU MESNIL DU BUISSON, F. - DAUZIER, L.: Nouvelles données sur l'insémination artificielle porcine. Résultats pratiques. = „Ann. zootechn.“ 6, 1957: 401–419. — 15. NIWA, T. - MIZUHO, A. - ITO, S.: Studies on the age of sexual maturity of the boar. = „Ann. Inst. Nat. Rech. Agron.“ D 8 1959: 161–163. — 16. NOVOSELCEV, D. V.: O zapase živčikov v pridatkach semennikov chrjakov i zakonomernostjach etogo zapasa. = „Sovetskaja zootechnija“, 7, 1951: 76–83. — 17. NOVOSELCEV, D. V.: Vlijanie raznyh polovych režimov na obmen veščestv i semjaprodukciju chrjakov. = „Trudy Vsesov. nauč. issledov. inst. korml. s. ch. životnyh“, Tom III., 1954: 144–160. — 18. PAREZ, M.: Aperçu sur les réalisations néerlandaises. = „Elevage et insémination“, 61, 1961: 24–26. — 19. PITKJANEN, I. G.: Vlijanie režima ispol'zovanija chrjakov na kačestvo spermy. = „Svinovodstvo“, 16, 1962, 5: 32–33. — 20. PLÍŠKO, N. T.: Spermatoprodukcija chrjakov i osemenenije svinomatok malymi dozami spermy. = „Svinovodstvo“, 14, 1960, 7: 30–40. — 21. RADFORD, P.: The artificial insemination of pigs in the field. = „Vet. Rec.“ 73, 1961, 985–992. — 22. SELF, H. L.: Factors affecting results in swine artificial insemination research and field

tests. = In: IV. Int. Kongr., Haag, 1961. — 23. SINGH, G.: Réserves spermatiques épididymaires chez le verrat. = Ann. Biol. Anim. Biophys. 2, 1962, 1:47-50. — 24. SOLIS, A. A.: A study of semen collection and the storage of extended boar semen. = „Philippine J. And. Ind.“ 17, 1956:1-14. — 25. STRATMAN, F. W. - SELF, H. L.: The effect of semen volume and sperm concentrations on fertility and embryonic survival in artificially inseminated gilts. = „J. Anim. Sci.“, 17, 1958: 1138.

К установлению максимального суточного количества эякулированных сперматозоидов у взрослых хряков-производителей

У 3 хряков-производителей (братьев) чешской белой улучшенной породы в возрасте 26—28 месяцев ж. в. 274—302 кг изучалось максимальное суточное количество эякулированных сперматозоидов повторными (исчерпывающими) садками в интервалах 1—10 дней. Максимальное суточное количество эякулированных спермиев составило в среднем $14,091 \times 10^9$ ($13,891 - 14,265 \times 10^9$), в т. ч. потеря при взятии семени $16,554 \times 10^9$.

При продлении отдыха на день упомянутое количество увеличивалось на величину, приведенную выше.

Отчерпанное количество живчиков $130,762 \times 10^9$ ($124 - 135,610 \times 10^9$) при часто повторяющихся садках дополнилось на исходный уровень в среднем за 8 (8—9) дней.

К искусственному осеменению (при получении эякулята большого объема, желаемой концентрации и с множеством сперматозоидов) желательно начинать с взятия семени от хряков старше 15 мес. 2 раза в неделю (временно их нагрузку можно повысить, но с определенным отдыхом). У молодых хряков взятие семени полагается проводить раз в неделю.

При естественным спариванием можно повысить нагрузку у взрослого хряка старше 15 мес. на 35—40 свиноматок.

Текст к таблице

I. Подытоженные результаты, полученные от 3 хряков в возрасте 26—32 мес., ж. в. 274—322 кг., общее количество садок 155 (средние показатели). Повторяющиеся садки в интервалах 1—56 дней.

On the Determination of the Maximum Daily Quantity of Ejaculated Spermatozoa of Adult Boars

In three boars (brothers) of the Large White breed of 26—28 months of age and 274—302 kg of weight the maximum daily quantity of ejaculated spermatozoa was investigated in depletion tests in intervals of 1—10 days. The maximum daily quantity of ejaculated spermatozoa averaged $14,091 \times 10^9$ ($13,891 - 14,265 \times 10^9$), including a loss of $16,554 \times 10^9$ during collection. Every day of sexual abstinence the average of the just mentioned amount of ejaculated spermatozoa was added again. The quantity of the collected spermatozoa ejaculated in a depletion test was replaced within the average interval of 8 (8—9) days.

For the purposes of insemination (where bulky ejaculates of appropriate concentration and with a great total number of spermatozoa are needed) it is recommended to collect the semen of the boars of over 15 months of age twice a week (temporarily this may be increased, and an appropriate time for rest should be ensured). As to young boars, the semen should be collected once a week. In natural breeding the utilization of boars of over 15 years of age can be increased up to 35 to 40 brood sows per one boar.

Text to the table

I. Total results in three boars of an age of 26 to 32 months, of a live weight of 274—322 kg, and with a total of 155 collections (average values). — Repeated depletion tests in intervals of 1—56 days.

Beitrag zur Bestimmung der maximalen täglichen Menge ejakulierter Spermien bei erwachsenen Ebern

Bei drei Ebern (Brüdern) der Rasse Weißes Edelschwein im Alter von 26—28 Monaten und im Gewicht von 274—302 kg ermittelte man die maximale tägliche Menge ejakulierter Spermien durch wiederholte erschöpfende Prüfungen in Intervallen von 1—10 Tagen. Die Maximale tägliche Menge ejakulierter Spermien be-

trug bei Ebern im Durchschnitt $14,091 \times 10^9$ ($13,891 - 14,265 \times 10^9$) — einschließlich Verluste bei der Entnahme $16,554 \times 10^9$; mit einem jeden Tag der sexualen Abstinenz der Eber erhöhte sich die tägliche Menge ejakulierter Spermien durchschnittlich um den angeführten Wert. Die abgeschöpfte Spermienmenge bei Ebern — $130,762 \times 10^9$ ($124,015$ bis $135,610 \times 10^9$) mittels der erschöpfenden Prüfung wurde durchschnittlich in einem Intervall von 8 (8—9) Tagen auf das ursprüngliche Niveau ergänzt.

Für künstliche Besamung (wo man voluminöse Ejakulate mit einer günstigen Konzentration und großer Gesamtzahl der Spermien gewinnen muß) ist es zweckmäßig, die Samenentnahme bei Zuchtebern im Alter von über 15 Monaten zweimal wöchentlich vorzunehmen (vorübergehend kann die Ausnützung des Samens, unter Voraussetzung einer angemessen erhöhten Ruhepause erhöht werden); bei jüngeren Zuchtebern geschieht die Entnahme einmal wöchentlich. Bei natürlicher Zucht kann die Belastung eines erwachsenen Ebers im Alter über 15 Monate auf 35—40 Sauen erhöht werden.

Text zur Tafel

I. Zusammenfassende Ergebnisse bei drei Ebern im Alter von 26—32 Monaten, Lebendgewicht 274—322 kg, insgesamt 155 Entnahmen (Durchschnittswerte). — Wiederholte erschöpfende Prüfungen in Intervallen von 1—56 Tagen

Adresa autora:

Ing. František Kaplan, CSc., Výzkumný ústav pro chov prasat, Kostelec n. Orli.

■ V průběhu vývoje snah o zvládnutí umělého osemeňování matek včely medonosné se ukázala úspěšnou pouze metoda instrumentální, která zavádí čisté sperma trubců přímo do pohlavního ústrojí matky. Technická úroveň nástrojů pak průběžně ovlivňovala použitou techniku i výsledky.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

První úspěchy zaznamenal Watson (1927). Použil stříkačky se skleněnou jehlou, která byla součástí mikromanipulátoru, spojeného se stolem preparačního mikroskopu. Matka byla připevněna gumovými pásky k dřevěnému špalíku; žihadlovou pochvu rozevíral pinzetou, drženu volně v ruce.

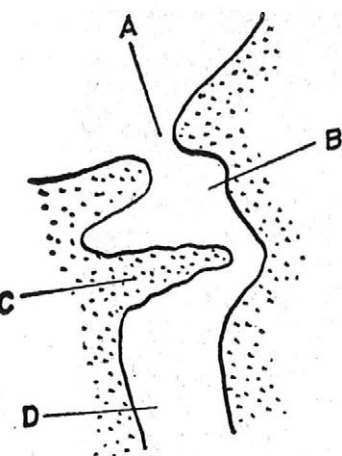
Od r. 1930 začal Laidlaw používat k znehybnění matek kysličníku uhličitýho (Laidlaw 1949), jeho stimulační účinek na začátek kladení matek docenil Mackensen (1947).

Nolan (1937) zkonstruoval již přístroj na vlastním podstavci. Matku upevnil ve skleněné trubičce a žihadlovou pochvu rozevíral dvěma háčky, upevněnými k téměř stativu jako stříkačka.

Laidlaw (1944) zhodnotil správně význam poševní chlopně objevené Bishopem v r. 1920 (obr. 1). Tato poševní chlopěň uzavírá vchod do středního vejcovodu a při inseminaci musí být ventrálně odsunuta. Sperma musí být vstříknuto až za tuto chlopěň. Tím byla objevena hlavní příčina dosavadních neúspěchů nebo částečných úspěchů a otevřela se cesta k dalšímu zlepšování výsledků.

Mackensen a Roberts (1948) dovedli techniku osemeňování na úroveň běžné laboratorní metody. Zdokonalili Nolanův přístroj, zavedli vyměnitelné jehly z umělých hmot a stříkačku s membránovým mechanismem.

Matka je při tomto pracovním postupu upevněna v trubičce s kuželovitým zakončením o nejmenším průměru 4,9 mm pomocí provrtané zátky, kterou prochází kysličník uhličitý, vedený z vysokotlaké láhve přes redukční ventil. Z držáku vyčnívají poslední tři viditelné články zadečku matky. Žihadlová pochva matky je rozevřena a fixována dvěma háčky, ventrálním a žihadlovým. Ventrální háček má tvar pohrabáčku a odtahuje ventrálně břišní šupinu. Žihadlový háček je trojúhelníková lopatička na tenké stopce. Podchycuje žihadlo za oblouky žihadlových bodel a odtahuje je dorzálně. Háčky jsou připevněny k držadlům, která se pohybují v provrtaných plechovitého vybraní jehly, vyplněného vodou. Jehla je vyrobena také z umělé hmoty. Její hrot je kuželovitý, od vnějšího průměru 0,27 mm se rovnoměrně rozšiřuje. Vnitřní průměr hrotu je 0,17 mm. Stříkačka je ovládána stejně jako háčky ručně. Veškeré zařízení je připevněno pohyblivě na dvou sloupcích a vodorovně liště společného podstavce. K odsunutí poševní chlopně po dobu než projde hrot jehly do středního vejcovodu slouží plochý drát, ohnutý v pravém



1. Schéma podélného řezu pochvou a středním vejcovodem (podle Ruttnera 1966)

- A — poševní otvor,
- B — poševní průchod,
- C — poševní chlopeň,
- D — střední vejcovod.

úhlu, s rozměry zakončení $0,13 \times 0,19$ mm, tzv. sonda. Je připevněna k tyčince, která se drží volně v ruce.

Laidlaw (1949) zkonstruoval podstatně složitější a nákladnější přístroj, u kterého je pohyb stříkačky i háčků zajišťován mechanicky posunem na sáňkách s ozubenými hřebeny s pomocí ručně ovládaných ozubených pastorků, podobně jako u běžných mikromanipulátorů. Držák matky je umístěn na samostatném podstavci, stejně jako stříkačka. Fixace matky je odlišná. Napřed narkotizovaná matka kyslíčnickem uhlíčitým se sevře za hrud mezi dva kovové plátky, vyložené penovou gumou. Jehla, stříkačka, háčky i sonda jsou shodné jako u přístroje Mackensen-Robertsova. Také způsob odsunutí chlopně je stejný. Oba přístroje vyžadují dobře vyvinuté, velké matky.

Veselý (1961) upravil Mackensen-Robertsův přístroj pro menší matky. Podstatné rozdíly jsou tyto: Jehla z umělé hmoty má válcovité zakončení v délce 1,5 mm, jehož vnější průměr činí 0,27–0,29 mm. Hrot jehly je zaoblen až na 0,26 mm. Vnitřní průměr hrotu je 0,18 mm. Stříkačka je ovládána v posunu a sklonu mechanicky ozubeným hřebem s pastorkem a oboustranně výkyvným šroubem s maticí. Přístroj má sadu držáků matek s průměry od 4,2 do 4,8 mm.

Světová pracoviště studující genetiku včel jsou dnes vybavena popsánými třemi typy přístrojů. Další úpravy spočívají jen v detailech. Ruttner (1964) upravil držák matky Mackensen-Robertsova přístroje, takže narkóza a fixace matky je rychlejší a pohodlnější. Van Laere (1966) rozpracoval technologii výroby skleněných jehel v kombinaci s epoxidovými pryskyřicemi.

Současný stav je možné charakterizovat snahami o rozšíření použitelnosti metody inseminace, o zlepšování výsledků a hlavně o usnadnění pracovního postupu.

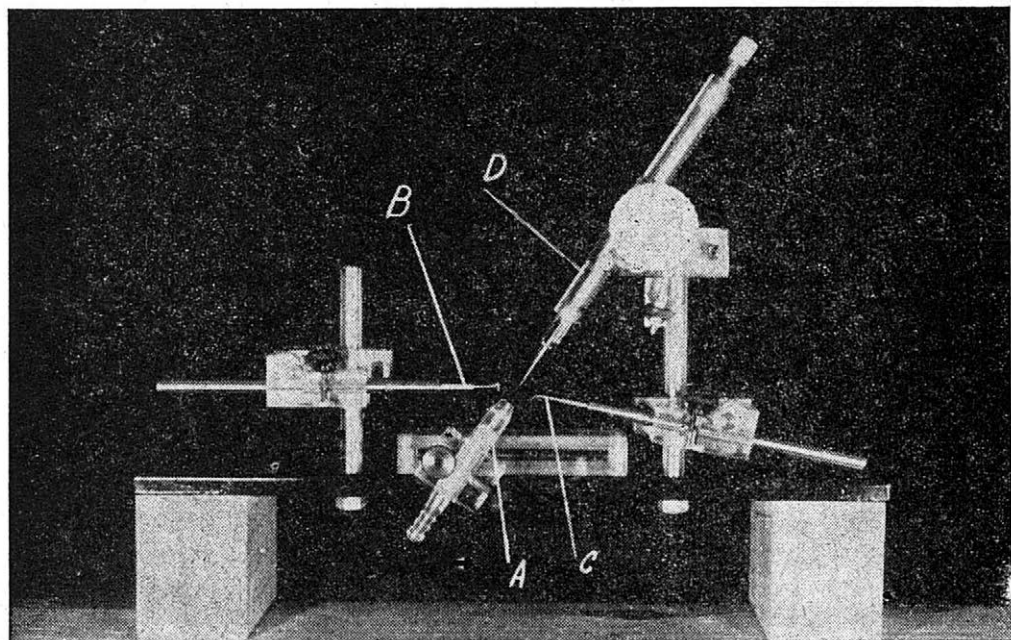
Z hlediska techniky osemenování je nejobtížnější současné zasunutí hrotu jehly vedle již zavedené sondy, která odtlačila poševní chlopeň. V této fázi dochází nejčastěji k poškození matek a porušení polohy žihadlového háčku. Tento náročný úkon je značnou překážkou při zaučování začátečníků.

Cílem této práce je nahradit obtížnou fází odsunutí chlopně jednodušší technikou a ověřit ji.

MATERIÁL A METODIKA

Pracovní metodiku Mackensena a Robertse (1948) jsme modifikovali ve způsobu odsunování poševní chlopně tak, aby při zasouvání jehly do středního vejcovodu nemuselo být použito současně sondy.

Do poševního průchodu narkotizované matky (po předchozím roztažení žihadlové pochvy) se zasune přímo válcovité zakončení jehly. Jehla se zavádí rovnoběžně s podélnou osou matky až narazí na odpor poševní chlopně. Poté se pokračuje ve střídavém posouvání a vysouvání jehly, až se podaří překonat odpor poševní chlopně. Je-li odpor příliš velký, odsune se chlopeň nepatrnou změnou sklonu již



2. Inseminací přístroj (Veselý 1961) v základní poloze

A — držák matky s narkotizační zátkou, B — ventrální háček, C — žihadlový háček, D — stříkačka s jehlou.

zasunutého hrotu jehly v poševním průchodu ventrálně. Pak se zasune jehla do středního vejcovodu.

Matky byly osemeňovány přístrojem československé výroby (Veselý 1961) s tímto základním nastavením: držák matky svírá s vodorovnou lištou úhel asi 55° , ventrální háček pracuje ve vodorovné poloze, žihadlový háček svírá s podélnou osou držáku matky úhel asi 110° (obr. 2). Žihadlová pochva matek byla rozevřena tak, aby zřasené stěny pochvy vytvořily obraz znázorněný na obr. 5.

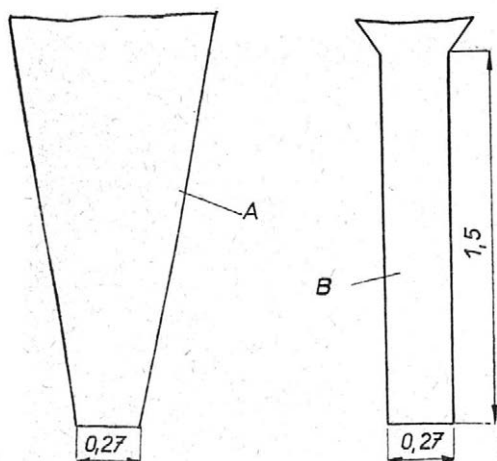
Použitou techniku jsme hodnotili podle uložení aplikované látky v pohlavních orgánech matky, podle přežívání matek, podle kladení osemeněných matek a podle počtu spermií v semenných vácích osemeněných matek.

Plnění párových vejcovodů jsme posuzovali pitvou matek, a to do 24 h po intraovidukální aplikaci 6–8 cmm zbarvených roztoků. Použili jsme: olivového oleje barveného Sudanem III, 10% želatiny barvené metylenovou modří a čerstvého vaječného bílku barveného eozinem. Za optimální stav jsme považovali přibližně stejné naplnění obou párových vejcovodů. Rozlitá aplikovaná látka v tělní dutině svědčila o poranění matky při inseminacím zákroku.

Přežívání matek jsme hodnotili 24 h po zákroku.

U kladoucích matek byla vyžadována souvislá plocha dělníčního plodu. Osemeněny byly neoplozené nekladoucí matky v období předpokládané říjnosti (7–10 dní po vylíhnutí). Přirozenému spáření bylo zabráněno materií mřížkou na česnech chovných úlků. Mimo to byl matkám znemožněn let zastřížením pravého předního křídla o $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ délky. Sperma bylo odebíráno s evertovaných penisů trubic bezprostředně před osemeněním. Celkové množství spermatu (8–10 cmm) bylo aplikováno ve dvou přibližně stejných dávkách ve dvou po sobě jdoucích dnech.

Spermie jsme počítali nejdříve 24 h po osemenění a nejdéle při začátku kladení matek. Vypreparovaný semenný váček byl rozetřen na podložním sklíčku ve 0,2 ml fyziologického roztoku, odkud byl spláchnut do kádinky s 4,8 ml vody. Po dokonalém promíšení byly spermie spočítány ve dvaceti polích Bürkerovy komůrky. Výsledky jsme porovnali s údaji jiných autorů (Mackensen 1964, Woyke 1960).



3. Vnější rozměry konce inseminační jehly

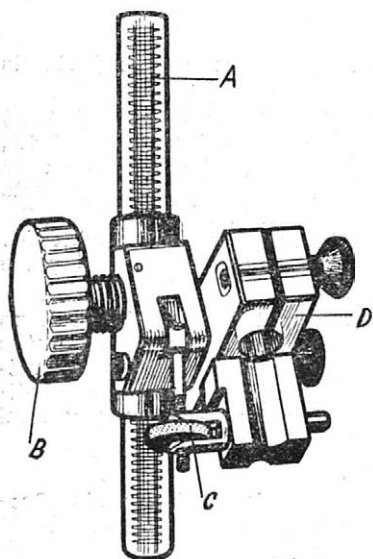
A — Mackensen-Roberts (1948),

B — Veselý (1961).

VÝSLEDKY

ZHODNOCENÍ KONSTRUKCE PŘÍSTROJE

Konstrukce přístroje umožňuje použití ověřované techniky válcovitým zakončením jehly (obr. 3) a způsobem ovládání stříkačky (obr. 4). Do ozubeného pláště stříkačky zapadá ozubený pastorek s dvanácti zuby o modulu 0,5, jenž je připevněn k ose ovládacího kolečka. Mrtvý chod je vyloučen vrstvou husté vazelíny, nanesené na hřeben stříkačky. Posun je dostatečně citlivý pro postupné překonání poševní chlopně a přitom dostatečně rychlý, takže pracovní postup není zdržován pomalým vysouváním jehly ze zorného pole. Naopak jehla se rychle přesune do bezpečné polohy a při opětovném spuštění se dostává na totéž místo. Ve sklonu je stříkačka řízena otáčecím vroubkované matice. Změna sklonu již zasunuté jehly probíhá bez nebezpečí poškození matky.



4. Mechanické ovládání posunu a sklonu stříkačky

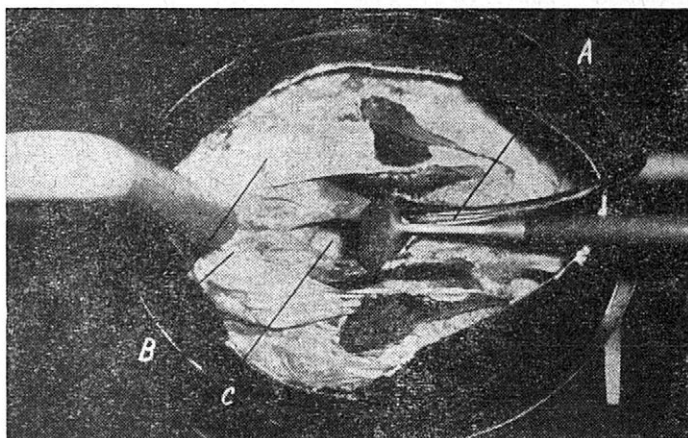
A — stříkačka s ozubeným hřebenem, B — ovládací kolečko posunu, C — ovládací matice sklonu, D — objímka k připojení na sloupek podstavce.

ZHODNOCENÍ TECHNIKY ODSUNUTÍ POŠEVNÍ CHLOPNĚ VÁLCOVITÝM ZAKONČENÍM JEHLY

U větších matek, zejména v období jejich říjnosti, překonávala jehla odpor poševní chlopně obvykle pouhým posunem. Okamžik překonání poševní chlopně je dobře patrný změnou napětí blan žihadlové pochvy a okolí, takže nehrozí nebezpečí příliš hlubokého zasunutí jehly a poškození stěn středního vejcovodu. Posun může být přerušen přesně v okamžiku překonání odporu chlopně.

U některých matek, zejména mimo období jejich říjnosti, bylo nutné odsunovat poševní chlopě změnou sklonu jehly zasunuté do poševního průchodu. Po změně sklonu se pokračuje v posunu. Překonání chlopně je stejně patrné jako u první alternativy. Celková hloubka zasunutí se pohybuje od 1,0 do 1,5 mm.

5. Rozevřená a fixovaná žihadlová pochva, připravená k zavedení jehly (funkční model v padesátinásobném zvětšení)
A — žihadlo, B — stěny žihadlové pochvy, C — poševní otvor.



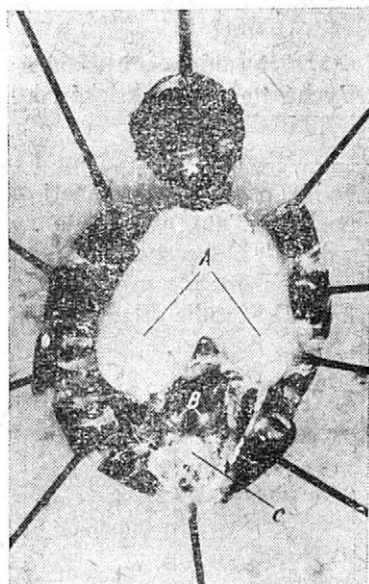
Technika odsunutí chlopně hrotem jehly byla náplní Mezinárodního kursu umělého osemenování, který pořádal pro mezinárodní organizaci Apimondia Výzkumný ústav včelařský v Dole. Pro tento účel byl zkonstruován a vyroben funkční model žihadlové pochvy matky (obr. 5), zhotovený z gumy a laminátu v padesátinásobném zvětšení. Na obrázku je rozevřena žihadlová pochva připravená k zavedení jehly. Zřetelně je vyznačen poševní otvor; poševní chlopeň je na modelu viditelná, pohledem do poševního otvoru po zapnutí vnitřního osvětlení. Na modelu je možné také poševní chlopeň vyhmátnout prstem. U živého materiálu je poševní chlopeň skryta nebo jen málo zřetelná.

Popsanou zjednodušenou technikou bylo od r. 1962 úspěšně osemněno pro nejrůznější účely více než 300 matek. Bezprostředně pro ověření nové techniky jsme založili tyto pokusy:

a) Aplikace barevných roztoků:

V r. 1963 byly aplikovány zbarvené roztoky olivového oleje nebo želatiny u 21 matek, z nichž 5 bylo neoplozených nekladoucích (ročník 1963), 11 neoplozených kladoucích (ročník 1963) a 5 matek oplozených kladoucích (ročník 1961). Těsně před a během pokusu byly matky umístěny ve školkovacích klíčkách bez doprovodu včel v termostatu.

Okamžitě po aplikaci bylo pitváno sedm matek. U šesti z nich byly naplněny oba vejcovody (obr. 6), u jedné matky byl naplněn jen pravý vejcovod. 24 hodin po zákroku bylo pitváno dvanáct živých matek, z nichž u jedenácti byly zjištěny stopy barviva v obou vejcovodech, u jedné matky jen v pravém vejcovodu. Dvě z oplozených kladoucích matek byly vráceny do



6. Pohlavní orgány kladoucí matky okamžitě po intraovidukální aplikaci barevného roztoku.

A — vaječníky, B — naplněné párové vejcovody, C — semený váček.

včelstev, kde během 48 hodin obnovily kladení vajíček. Žádný z případů nelze hodnotit jako neúspěšný zákrok.

U příležitosti Mezinárodního kursu umělého osemenování byl u 60 matek aplikován intraovidukálně vaječný bílek. Matky byly okamžitě po inseminaci pitvány a dále zužitkovány zalitím do pryskyřice "ChS Polyester 100" na suvenýry pro účastníky kursu. Z uvedeného počtu matek byla injektovaná tekutina rozlita v tělní dutině u jediné matky. U pěti matek byl naplněn jen jeden z vejcovodů, u ostatních byly naplněny oba vejcovody.

b) Kladení osemeněných matek:

V r. 1964 bylo osemeněno ve dnech 19. a 20. června deset matek rasy *Apis mellifera caucasica*. Při kontrole dne 9. 7. jsme u devíti matek zjistili souvislou plochu zavíčkovaného dělníčího plodu, jedna matka uhynula.

c) Počet spermií v semenných váčcích matek:

V r. 1965 a 1966 jsme u sedmnácti matek spočítali spermie v semenných váčcích. Výsledky shrnujeme v tab. I.

DISKUSE

Rozhodující kontrolou pro zhodnocení výsledků použité techniky je obraz pohlavních orgánů matek bezprostředně po osemenění. Použití barevných roztoků o vyrovnaných fyzikálních vlastnostech bylo záměrné, protože poranění matky a rozliti aplikované látky v tělní dutině je mnohem výraznější než při použití spermatu. Mimoto získání většího množství spermatu činí obtíže. Naplnění jednoho vejcovodu není negativním výsledkem, protože se vyskytuje i u přirozeného osemenění (Woyke 1960).

Při hodnocení přežívání matek je rozhodující období 24 h po osemenění. Vycházíme z praktické zkušenosti, že matky zjevně poškozené při inseminaci hynou do 24 h.

Uhynutí po delším časovém období je obvykle způsobeno ucpáním vejcovodů, popř. neschopností matek vytlačit přebytek spermatu zpět do žihadlové pochvy. Tato příčina je zvláště patrná při osemenění viskóznějším spermatem příměsí hlenu nebo spermatem ze spermiových konzerv. Ucpání vejcovodů je časté u matek osemenovaných v období mimo svoji říjnost. Proto posouzení techniky podle kladení matek je jen doplňující.

I. Počet spermií v semenných váčcích pokusných matek

Počet matek	Inseminované množství	Termín počítání spermií	Průměrný počet spermií $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	Průměrné množství spermií podle	
				Mackensena	Woykeho
13	5,5 cmm v jedné dávce	24 h po osemenění	3,478000 $\pm$ 401000	3,280000	4,000000
4	12 cmm ve dvou dávkách	při začátku kladení	5,560000 $\pm$ 244000	4,100000	6,400000

Otázky ucpávání vejcovodů se týkají fyziologie pronikání spermií z párových vejcovodů do semenného vaku a jsou předmětem samostatného studia.

Použitá technika je méně náročná na cvik pracovníka. Při odtážení chlopně je zapojena pouze pravá ruka (ovládá točítka stříkačky) a operátor se může plně soustředit na pronikání jehly do středního vejcovodu, přehlednost není narušována současným pohybem sondy v zorném poli a klesá nebezpečí poškození matky.

Došlo dne 3. 4. 1967

Literatura

1. LAIDLAW, H. H.: Artificial Insemination of the Queen Bee (*Apis mellifera* L.) Morphological basis and results. = „Journal of Morphology“, 74, 1944, 3:429-465. — 2. LAIDLAW, H. H.: Development of Precision Instruments for Artificial Insemination of Queen Bees. = „Journal of Economic Entomology“, 42, 1949, 2:254-261. — 3. MACKENSEN, O.: Effect of Carbon Dioxide on Initial Oviposition of Artificially Inseminated and Virgin Queen Bees. = „Journal of Economic Entomology“, 40, 1947, 3:344-349. — 4. MACKENSEN, O.: Relation of Semen Volume to Success in Artificial Insemination of Queen Honey Bees. = „Journal of Economic Entomology“, 57, 1964, 4:581-583. — 5. MACKENSEN, O. - ROBERTS, W. C.: A Manual for the Artificial Insemination of Queen Bees. U.S.D.A. Bureau of Entomology and Plant Quarantine ET - 250. — 6. NOLAN, W. J.: Improved Apparatus for Inseminating Queen Bees by the Watson Method. = „Journal of Economic Entomology“, 30, 1937:700-705. — 7. RUTTNER, F.: Zur Technik und Anwendung der künstlichen Besamung der Bienenkönigin. = „Zeitschrift für Bienenforschung“, 7, 1964, 2:25-34. — 8. RUTTNER, F.: Rozmnožovací orgány trubců a matek včely medonosné. Příručka umělého osemenování včelích matek. Výzkumný ústav včelařský, Dol, 1966. — 9. VAN LEARE, O.: Some Remarks about the Design of Apparatus for Artificial Insemination of Queen Bees. = In: Mezinárodní symposium o včelí genetice a umělém osemenování včelích matek. Zvíkovské Podhradí. 1966. (VÚVČ, Dol u Libčic n. Vlt.) — 10. VESELY, V.: Příspěvek k otázce umělého osemenování včelích matek. = „Zoologické listy“, 10, 1961, 3:203-210. — 11. WATSON, L. R.: Controlled Mating of the Honeybee. = „American Bee Journal“, 67, 1927:235-236, 300-302, 364-365. — 12. WOYKE, J.: Naturalne i sztuczne unasienianie matek pszczelich. = „Pszczelnictwo Zeszyty Naukowe“, 4, 1960, 3-4:183-275.

Упрощенная техника искусственного осеменения пчелиных маток

Одна из трудностей этой техники состоит во введении наконечника шприца в средний яйцевод, с одновременным отодвижением влагалищного зубца зондом.

Предлагаемое описание техники не требует отодвижения зубца зондом и проводится непосредственно концом наконечника. Цилиндрический конец наконечника вводится через заранее раскрытую и фиксированную камеру жала во влагалищный проход до той меры, пока не столкнется с сопротивлением зубца. Затем переменным передвижением наконечника вперед и назад мы стремимся преодолеть сопротивление зубца; когда оно слишком велико, зубец отодвигается незначительным изменением склона уже введенного конца наконечника в вентральном направлении, и закончится введение наконечника в средний яйцевод. Описанная техника обусловлена конструкцией инструмента.

Новая техника менее требовательна к навыкам работника. При отодвижении зубца занята лишь правая рука (владеет вращательным приспособлением шприца), и работник может полностью сосредоточиться над прониканием наконечника в средний яйцевод; обзор не нарушается одновременным движением зонда в поле зрения и кроме того снижается опасность повреждения пчелиной матки.

Из 79 вскрытых маток после интраовидуктальной аппликации цветных растворов использованное вещество было разлито в полости тела лишь у 1 матки.

У 72 маток вещество находилось в обоих яйцеводах, а у 6 маток — в одном. Интраовидуктальная аппликация удалась как у не откладывающих, так и у откладывающих яйца маток. Из 10 подопытных маток, осемененной свежей спермой, яйца откладывали 9 (1 погибла до начала кладки).

Количество сперматозоидов, обнаруженных в семяприемниках маток после 1 и повторного иск. осеменения, совпадает с результатами остальных авторов (Макензен 1964, Войке 1960).

Текст к таблице

1. Количество сперматозоидов в семяприемнике подопытных маток

Текст к фотографиям

1. Схема продольного сечения камерой жала и среднего яйцевода (по Руттнеру 1966)
2. [Прибор для искусственного осеменения (Веселы 1961) в основном положении]
3. Наружные промеры конца наконечника
4. Механическая регуляция введения и наклона шприца
5. Раскрытая и фиксированная камера жала, подготовленная к введению наконечника (модель в 50-ти кратном увеличении)
6. Половые органы матки, откладывающей яйца, сразу после интраовидуктальной аппликации цветного раствора

A Simplified Method of Artificial Insemination of Queen Bees

One of the troubles of artificial insemination of queen bees used up to now is connected with putting of the tip into the median oviduct while shifting aside the valve-fold with an extra tool: the probe.

We present a description of a technique which does not presuppose that the valve-fold should be shifted aside with the probe. It is done directly with the tip.

Open and fix the sting chamber and put the cylindrical end of the tip into the vaginal passage until the resistance of the valve-fold is felt. Push and pull the tip until the resistance is overcome. If the resistance is too strong, shift the valve-fold by a slight ventral inclination of the already put-inside tip, and finish the procedure by putting the tip as far as the median oviduct. The method is contingent on the construction of the apparatus.

The new technique is not so pretentious as far as the skill of the operator is concerned. The act of drawing aside the fold employs the operator's right hand only (handling of the knobs of the syringe), which allows the operator to concentrate fully on how the tip penetrates into the median oviduct; the attention of the operator is not affected by the simultaneous motion of the probe in his viewing field, and the threat that the queen bee would be injured is lower.

Of 79 queen bees dissected after the intraoviductal application of staining solutions the applied solution was spilled inside the body cavity of only one queen. The applied substance was placed in both oviducts of 72 queens, and in one oviduct of six queens. The intraoviductal application proved successful both in the laying and not laying queen bees.

Out of 10 control queen bees inseminated with fresh sperm nine began to lay; one queen died without having begun laying.

The number of spermatozoa in the queens' spermathecas after both single and repeated insemination corresponds to the results obtained by other authors (Mac-kensen, 1964; Woyke, 1960).

Text to the table

1. The number of spermatozoa in the spermathecas of the test queen bees

Text to the figures

1. Schematic longitudinal section of the valve-fold and median oviduct. (After Ruttner 1966)
2. Inseminating instrument (Vesely, 1961) in basic position
3. Outside dimensions of the end of the tip
4. Mechanical control of the shift and incline of the syringe
5. Opened and fixed sting chamber ready for the tip to be inserted (Functional model, enlarged 50 times)
6. Sexual organs of the laying queen bee immediately after the intraoviductal application of the staining solution

Adresa autora:

Ing. Vladimír Veselý, CSc. Výzkumný ústav včelařský, Dol u Libčic n. Vlt.

Podepsáno k tisku 30. 11. 1967.

ОБСАН

Koželuha V.: Současná situace a perspektiva umělé inseminace	803
Fulka J., Koefoed-Johnsen H. H.: Funkční a morfologické změny spermií králíků během normálního a zadržného průchodu nadvarletem	805
Kopečný V.: Dosavadní výsledky kvantitativního značení spermií adeninem ^3H a thymidinem ^3H	813
Kuciel J.: Velikost hlaviček spermií u dvou linií býků červenostrakatého plemene	823
Boháček M., Synek R., Výskala J.: Látkový metabolismus spermií v podmínkách ovlivněných sekrety samičích pohlavních orgánů	833
Urban F.: Nejvhodnější frekvence odběru plemenných býků z hlediska získání optimálního objemu kvalitního spermatu a s přihlédnutím k pohlavní aktivitě plemeníků	841
Novák M.: Vztah mezi poměrem ředění ejakulátu býků červenostrakatého plemene a procentem zabřezlých plemenic	849
Mašek N.: Obsah anorganických látek v ejakulátech kančů při různé intenzitě a frakčním odběru jejich semene	855
Kaplan F.: Příspěvek ke stanovení maximálního denního množství ejakulovaných spermií u dospělých kančů	863
Veselý V.: Zjednodušená technika umělého osemenování včelích matek	871

СОДЕРЖАНИЕ

Кожелуг В.: Настоящее положение и перспектива искусственного осеменения (ч/803). — Фулка Й., Кэфод - Йонсен Г. Г.: Функциональные и морфологические изменения спермиев кроликов в течение нормального и задержанного прохода придатком семенника (810). — Копечни В.: Существующие результаты количественного мечения спермиев аденином ^3H и тимидином ^3H (822). — Куциел Я.: Размер головок сперматозоидов у двух заводских линий быков-производителей красно-пестрой породы (831). — Богачек М., Сынек Р., Вускала Я.: Влияние секретов женских половых органов на метаболизм спермиев (840). — Урбан Ф.: Оптимальная напряженность режима использования быков-производителей с точки зрения получения оптимального объема качественного семени при разной половой активности производителей (847). — Новак М.: Зависимость между разбавленным в разном соотношении семенем быков-производителей красно-пестрой породы и процентом оплодотворенных коров (853). — Машек Н.: Содержание анорганических веществ в эякулятах хряков в зависимости от частоты садок и фракции эякулированного семени (862). — Каплан Ф.: К установлению максимального суточного количества эякулированных сперматозоидов у взрослых хряков-производителей (869). — Веселы В.: Упрощенная техника искусственного осеменения пчелиных маток (877).
--

CONTENT

Koželuha V.: The Present Situation and Prospect of Artificial Insemination (Cz/803). — Fulka J., Koefoed-Johnsen H. H.: Functional and Morphological Changes in the Spermatozoa of Rabbits during Normal and Retarded Passage through the Epididymis (811). — Kopečný V.: The Results obtained hitherto in the Quantitative Labelling of Spermatozoa with Adenine ^3H and Thymidine ^3H (822). — Kuciel J.: The Size of the Heads of Spermatozoa in Two Lines of Red-Spotted Bulls (832). — Boháček M., Synek R., Výskala J.: Material Metabolism of Zoospermia in Conditions Influenced by Secretions of Female Sexual Organs (840). — Urban F.: The Most Suitable Frequency of the Taking of Ejaculate from Breeding Bulls with regard to the Obtaining of an Optimum Volume of Good-Quality Sperm and with regard to the Sexual Activity of the Breeders (res. G/848). — Novák M.: The Relation between the Dilution Ratio of the Ejaculates of Red-Spotted Bulls and the Percentage of Pregnant Cows (854). — Mašek N.: The Content of Anorganic Substances in the Ejaculates of Boars in the Case of Different Intensity and Fractional Collection of their Semen (862). — Kaplan F.: On the Determination of the Maximum Daily Quantity of Ejaculated Spermatozoa of Adult Boars (869). — Veselý V.: A Simplified Method of Artificial Insemination of Queen Bees (878).
--

Koželuha V.: Gegenwärtige Situation und Perspektive der künstlichen Besamung (Tch/803). — Fulka J., Koefoed-Johnsen H. H.: Funktionelle und morphologische Veränderungen der Kaninchenspermien während des normalen und gehemmten Durchganges durch den Nebenhoden (811). — Kopečný V.: Bisherige Ergebnisse der quantitativen Markierung von Spermien mit Adenin ^3H und Thymidin ^3H (res. E/822). — Kuciel J.: Studium der Größe der Spermienköpfe bei zwei Linien der Bullen der rotbunten Viehrasse (res. E/832). — Boháček M., Synek R., Výskala J.: Stoffmetabolismus der Spermien bei den durch Sekrete der weiblichen Geschlechtsorgane beeinflussten Bedingungen (res. E/840). — Urban F.: Die geeignetste Frequenz der Samenentnahme bei Zuchtbullen vom Gesichtspunkt der Gewinnung von optimalem Volumen des Qualitätsspermas und mit Rücksicht auf die Geschlechtsaktivität der Zuchtbullen (848). — Novák M.: Die Beziehung zwischen dem Verhältnis der Verdünnung von Ejakulat der Bullen der rotbunten Rindviehrasse und der Prozentzahl der trächtig gewordenen Kühe (res. E/854). — Mašek N.: Der Gehalt an anorganischen Stoffen in den Ejakulaten der Eber bei verschiedener Entnahmointensität und fraktionellen Entnahme des Samens (res. E/862). — Kaplan F.: Beitrag zur Bestimmung der maximalen täglichen Menge der ejakulierten Spermien bei erwachsenen Ebern (869). — Veselý V.: Vereinfachte Technik der künstlichen Besamung der Bienenköniginnen (res. E/878).

TABLE DES MATIÈRES

Koželuha V.: Situation actuelle et perspective de l'insémination artificielle (Tch/803). — Fulka J., Koefoed-Johnsen H. H.: Modifications fonctionnelles et morphologiques des spermatozoïdes de lapins au cours du passage normal et retenu par l'épididyme (res. An/811, Al/811). — Kopečný V.: Résultats actuels du marquage quantitatif des spermatozoïdes par l'adénine ^3H et la thymidine ^3H (res. An/822). — Kuciel J.: Etude de la grosseur des têtes de spermatozoïdes de deux lignées de taureaux de la race tachetée rouge (res. An/832). — Boháček M., Synek R., Výskala J.: Métabolisme des substances de spermatozoïdes dans des conditions influencées par les sécrétions des organes sexuels femelles (res. An/840). — Urban F.: Fréquence optima du prélèvement de la semence des taureaux de reproduction du point de vue de l'obtention du volume optimum de sperme de qualité, tenant compte aussi de l'activité sexuelle des reproducteurs (res. Al/848). — Novák M.: Rapport entre le délayage de l'éjaculat des taureaux de la race tachetée rouge et le pourcentage des reproductrices fécondées (res. An/854). — Mašek N.: Teneur en substances inorganiques dans les éjaculats des verrats, lorsque le prélèvement de leur semence a une intensité variée et se fait par fractions (res. An/862). — Kaplan F.: Contribution à la détermination du volume quotidien maximum des spermatozoïdes éjaculés des verrats adultes (res. An/869, Al/869). — Veselý V.: Technique simplifiée de l'insémination artificielle des mères d'abeilles (res. An/878).