



Nové metody hodnocení kvality spermií pro zlepšení úspěšnosti inseminace

Příspěvek informuje o výběru technik vhodných k rozšíření hodnocení kvality spermií plemenných býků. Cílem je vypracovat metodiky pro jejich rutinní využití ve šlechtitelských a inseminačních stanicích. Z posuzovaných metod se slibně jeví především analýza integrity plazmatické membrány spermií pomocí HOS testu a stanovení podílu spermií s intaktním akrozomem.

Chov skotu, ať již provozovaný v intenzivním, nebo ekologickém režimu hospodaření, je významným zdrojem základních potravin a jeho zlepšování je zásadní pro zvýšení soběstačnosti v produkci masa, mléka a mléčných výrobků. Technologie používané v současnosti v České republice pro efektivní chov skotu jsou srovnatelné se špičkou chovatelsky vyspělých zemí. Výše produkce je pak závislá nejen na podmínkách chovu, ale i na maximálním využití reprodukčního potenciálu vysoce užitkových zvířat.

Inseminační dávky

Vzhledem k intenzivnímu využívání umělé inseminace, především u mléčného skotu, je z hlediska efektivní reprodukce klíčový především výběr elitních býků s ověřeným genotypem a vysokou plemennou hodnotou. Odebrané sperma takových jedinců se po ověření kvality zpracovává do inseminačních dávek, které je mož-

no před použitím pro inseminaci samic dlouhodobě skladovat zmrazené v tekutém dusíku při teplotě -196°C . Reprodukční úspěšnost plemenných býků pak přímo závisí na kvalitě jejich ejakulátu. Svoji roli zde hraje řada vnitřních i vnějších faktorů ovlivňujících zdravotní stav býků a jejich reprodukční funkce. Jednotliví býci se mohou lišit nejen v kvalitativních a kvantitativních parametrech produkovaného nativního ejakulátu, ale i v reakci jejich spermií na laboratorní zpracování a použitá kryokonzervační média a mohou vykazovat rozdílné charakteristiky po rozmražení inseminačních dávek. To se ve výsledku projeví v úspěšnosti zabřezávání inseminovaných samic, což je hodnota spojující jak biologická, tak ekonomická kritéria.

Hodnocení kvality spermií

Při posuzování kvality ejakulátu se využívají postupy umožňující hod-



Obr. 1 – Odběr semene býka

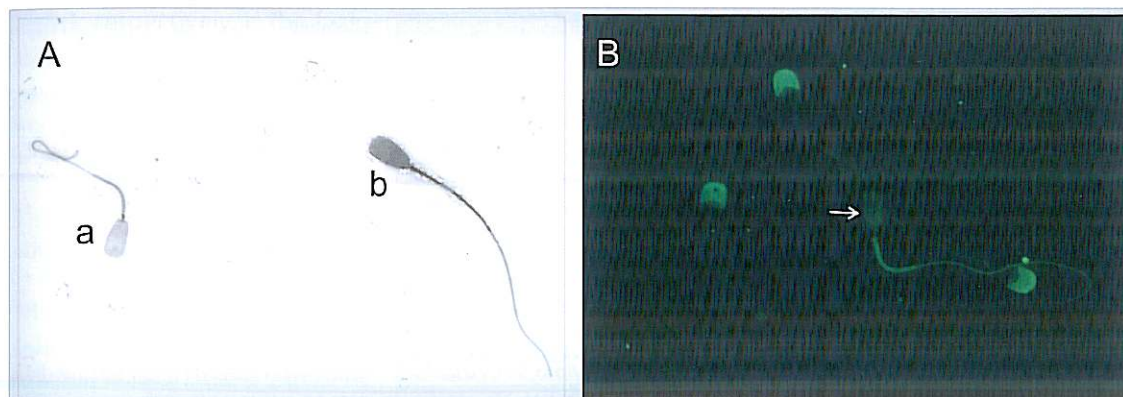
Foto Kateřina Janů

nocení základních parametrů, jako je objem a pH ejakulátu, koncentrace, motilita a vitalita spermií a jejich morfologické charakteristiky. Tyto tradiční, konvenční metody analýzy semene slouží jako rychlý, relativně jednoduchý a ekonomický standard pro odhad reprodukčních schopností býků před vstupem do plemenitby a při přípravě inseminačních dávek. Nemohou nám však poskytnout informace o možných molekulárních defektech spermií, ať již jde o funkci buněčných membrán, akrozomu, mitochondrii, které slouží jako motor pro pohyb bičíku spermie, nebo o poruchy genetického materiálu spermií. Stejně jako koncentrace nebo pohyblivost spermií, i tyto znaky určují schopnost spermií oplodnit vajíčka. K těmto účelům byla vyvinuta řada funkčních testů,

kteří rychle zaujaly důležité místo v lidské reprodukční medicíně, neboť vhodně doplňují standardní vyšetření kvality ejakulátu (WHO, 2021). V poslední době se tyto metody dostávají do popředí zájmu chovatelů v rozvinutých zemích Evropy a jinde ve světě, avšak v naší chovatelské praxi nejsou dosud běžně využívány. Kombinace standardních a doplňujících speciálních metod umožňuje získat komplexní informace o kvalitě a funkčním stavu vyšetřovaných spermií. Vzhledem k tomu, že různí jedinci mohou vykazovat nejen rozdílnou kvalitu spermií, ale i rozdílnou citlivost k jejich mražení při výrobě inseminačních dávek, testování co nejširšího spektra ukazatelů kvality spermií v nativním ejakulátu a po rozmražení kryokonzervovaných



Obr. 2 – Hodnocení kvality spermií v laboratoři VÚVEL



Obr. 3 – A) Metoda HOS indukuje charakteristické stáčení bičíku pouze u spermií s neporušenou membránou (a), ne u spermií narušených (b). B) Metoda PSA umožňuje fluorescenčně označit akrozom na hlavičce spermií, šipka ukazuje na spermií bez akrozomu

inseminačních dávek přináší důležité praktické informace. Komplexní posouzení fertility a reprodukčních schopností býků ještě během jejich testování před zařazením do plemenníky může přinést významnou redukci nákladů spojených s držním a všestranným testováním z reprodukčního hlediska nevyhovujících býků, případně býků citlivých na mrazení semene a s použitím jejich spermií k inseminaci. Nutné je však testování a optimalizace nově zaváděných metod před jejich schvá-

lením pro rutinní použití v provozu šlechtitelských plemenářských a inseminačních stanic.

Projekt NaCeBiVet testuje metody

Touto problematikou se zabývá jeden z dílčích projektů Národního Centra Biotechnologií ve Veterinární Medicíně (NaCeBiVet, reg. č. TN02000017) řešený ve spolupráci mezi Výzkumným ústavem veterinárního lékařství, v. v. i., a společností Natural, s. r. o., a spolufinancovaný se státní podpo-

rou TAČR v rámci programu Národní Centra Kompetence. Podstatou tohoto dílčího projektu je vytipovat techniky vhodné k rozšíření hodnocení kvality spermií plemenných býků a vypracovat metodiky pro jejich rutinní využití ve šlechtitelských a inseminačních stanicích.

Z posuzovaných metod se slibně jeví především analýza integrity plazmatické membrány spermií pomocí HOS testu a stanovení podílu spermií s intaktním akrozomem (obr. 3A,B), kde literární výsledky naznačují vý-

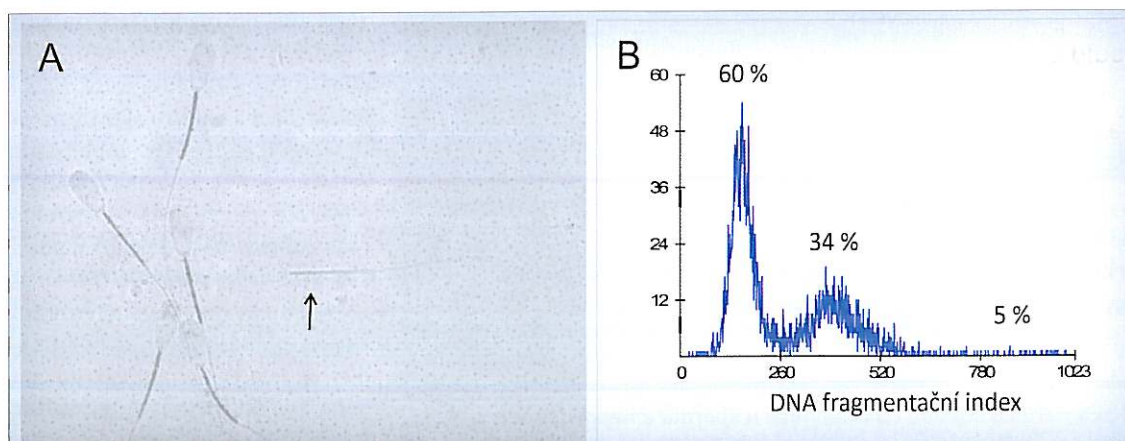
znam testů pro predikci fertilizačních schopností plemenných býků (Bacínoglu a kol. 2008, Silva a kol. 2023). Pokud jde o analýzu aktivity mitochondriální spirály (obr. 4A) a stanovení integrity genetického materiálu v hlavičce spermií, byla publikována řada různých testů a jejich modifikací využívající barvení a světelnou mikroskopii, nebo fluorescenční značky s následným vyhodnocením ve fluorescenčním mikroskopu nebo pomocí průtokové cytometrie (obr. 4B). Pro stanovení poškození chromatinu spermií u býků průtokovou cytometrií již byla v zahraničí publikována i hraniční hodnota pro signifikantní snížení fertility, která odpovídá >10–20 % spermií s fragmentací chromatinu (Evenson a Wickson 2006). Pro případné zavedení těchto technik do zemědělské praxe však bude nutno nalézt optimální varianty postupu, které by umožnily spolehlivé fungování testů a rychlé vyhodnocení výsledků při minimalizaci nutných nákladů. Významnou součástí projektu pak je analýza korelace výsledků těchto vyšetření s úspěšností reprodukce býků

pf 2024

Pevné zdraví,
spoustu radostných okamžiků
a osobních i pracovních úspěchů
Vám do nadcházejícího roku 2024
přeje

Alltech®





Obr. 4 – A) Aktivitu mitochondrií je možné detekovat metodou NBT, šipka ukazuje na spermii s nízkou aktivitou. B) Příklad hodnocení poškození genetického materiálu spermií na průtokovém cytometru – vzorek s nadlimitním množstvím (asi 40%) narušených spermií

působících v chovu pomoci dat v plemennářské databázi (<https://www.cm-sch.cz/plemdat>). To umožní posouzení významu nově zaváděných metod pro predikci reprodukčních schopností plemeníků v systému umělé inseminace a nastavení hraničních hodnot pro využití býka k produkci inseminačních dávek. Rozšíření možností komplexního posouzení kvality spermií umožní zlepšit výběr plemenných býků a předejít tak ekonomickým ztrátám u jed-

notlivých chovatelů snížením počtu inseminací nutných na zabřeznutí.

Rozšíření služeb VÚVeL chovatelům

Metody ověřené u plemenných býků mohou být v budoucnu optimalizovány a využity i v chovu prasat, kde se chovatelé potýkají především s problémy dlouhodobého uchování a mražení inseminačních dávek. Zavádění nových metod pro zefektivnění reprodukce

je součástí inovací v chovu hospodářských zvířat zaměřených na zvýšení genetického potenciálu, zlepšení zdraví a zvýšení výkonnosti hospodářských zvířat. Akreditovaná laboratoř spermatologie a andrologie Výzkumného ústavu veterinárního lékařství, v. v. i., v současnosti nabízí všechna základní vyšetření spermií hospodářských zvířat a testované doplňující metody budou významným rozšířením služeb pro české chovatele.

Literatura

Bacinoglu S a kol.: The potential fertility estimation capacity of the hypoosmotic swelling test, the thermal stress test and a modified cervical mucus penetration test in the bovine. *Anim Reprod Sci.* 2008;104(1):38-46.
Evenson DP a Wixon R: Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. *Theriogenology.* 2006;65(5):979-91.
Silva CS a kol.: Semen quality of Nellore and Angus bulls classified by fertility indices and relations with field fertility in fixed-time artificial insemination. *Theriogenology.* 2023;212:148-156.
WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition. Geneva: World Health Organization; 2021. ISBN 978-92-4-003078-7

Mgr. Miluše Vozdová, Ph.D.¹,
RNDr. Věra Kopecká, Ph.D.¹,
Ing. Jiří Hojer²

¹Oddělení genetiky
a reprodukčních
biotechnologií,

Výzkumný ústav veterinárního
lékařství, v. v. i., Brno

²Natural, s. r. o.,

Hradištko pod Medníkem

Kontakt: miluse.vozdova@vri.cz

Možnost včasného odhadu negativní energetické bilance u dojnic

M. Štolcová, L. Bartoň, J. Syrůček, Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha

Souhrn

Negativní energetická bilance (NEB) je problém, který se objevuje u vysokoprodukčních dojnic v rané fázi laktace a vede k dalším zdravotním poruchám, které ve svém důsledku způsobují produkční a ekonomické ztráty. Snahou výzkumníků je nalézt indikátory, pomocí kterých by chovatel mohl včas dojnici v NEB léčit či preventivně zasáhnout. Na základě experimentálního sledování v konkrétním chovu dojeného skotu bylo zjištěno, že pro včasný odhad NEB lze efektivně využít obsah mononenasycených mastných (MUFA) kyselin a kyseliny oktadecenové (C18:1) v mléce. Hraniční hodnoty, které by chovatel použil pro 80% záchyt krav v NEB, jsou v případě MUFA $\geq 1,35$ g/100 g a pro C18:1 $\geq 1,28$ g/100 g mléka. Pokud by chovatel v uvedeném podniku aplikoval tato doporučení a dojnici s podezřením na NEB včas řešil, lze očekávat celkový ekonomický přínos (po odečtení dodatečných nákladů) ve výši 243 tis. Kč za rok, resp. 607 Kč na krávu a rok.

Klíčová slova: dojený skot; negativní energetická bilance; mastné kyseliny mléčného tuku; ROC křivky

Summary

Negative energy balance (NEB) is a problem that occurs in high-producing dairy cows in early lactation and leads to other health disorders that result in production and economic losses. The researchers aim to find indicators that can be used by the farmer to treat or prevent NEB in dairy cows. Based on experimental observation in a specific dairy cattle farm, it was found that monounsaturated fatty acid (MUFA) and octadecenoic acid (C18:1) contents of milk can be effectively used for early estimation of NEB. The cut-off values that could be used for an 80% capture of cows in the NEB were ≥ 1.35 and 1.28 g/100 g milk for MUFA and