

INSEMINACE PRASAT

I. Odběr a konzervace spermatu kanců

Multimediální učební pomůcka pro výuku „Reprodukce hospodářských zvířat II“

Řešitel: prof. Ing. František Louda, DrSc.

Ing. Alena Ježková, CSc.

Doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D.

Ing. Jan Beran

FOND ROZVOJE VYSOKÝCH ŠKOL č.projektu 2652 /2010

© Katedra speciální zootechniky, FAPPZ, ČZU v Praze

INSEMINACE PRASAT

Do provozu zavedena v r. 1931

Organizační zajištění:

- **dodavatelský** - chovatel kupuje ins. dávky a inseminuje sám
- **podnikový** – produkuje inseminační dávky a inseminuje sám

Výsledky zabřezávání prasnic po I. inseminaci

se pohybují :

- od 91% - 93% a více u prasnic
- u prasniček nižší

Obecně se hodnotí - % zabřezávání:

- počet selat narozených na 1. vrh a to všech a živě

Dále se sleduje intenzita inseminace:

- tj. % inseminovaných prasnic v I. říji po odstavu selat do 10. dne

Počet odchovaných selat za rok:

- 18 - 24 ks a více – biol. potenciál - až 40 ks

Mezidobí:

- závisí na zabřezávání a pohybuje se od 150 do 160 dnů
- průměrná délka laktace prasnice: 26 - 32 více dnů

Cíle inseminace prasat

- zabřeznutí prasnice
- získání 12 – 14 životaschopných selat po porodu



Význam inseminace prasat

1. šlechtitelský:

- 1 kanec v přiroz. plem. - 1 000 selat za rok
- 1 kanec v AI
 - 1 500 - 2 000 ID za rok
 - 4 000 - 10 000 selat za rok
- potřeba kanců - v přiroz. plem. - 1 : 25 pras.
 - v inseminaci - 1 : 250 pras.
- do přiroz. plem se zařazuje - 15% kanců
- do inseminace se zařazuje - 1,5% kanců
- chovný cíl se AI dosáhne o 43% rychleji

2. technologický:

- uniformita potomstva

3. zdravotní:

- pohlavní choroby

Dědivost většiny reprodukčních ukazatelů – $h^2 = 0,15$

Tedy - z 15 % se na plodnosti podílí genotyp

- z 85 % komplex vnějšího prostředí =
(výživa, ustájení, lidský faktor)

<u>Dědivost</u> - mléčnosti	- $h^2 = 0,20$
denních přírůstků	- $h^2 = 0,40$
délky těla	- $h^2 = 0,45 - 0,60$
výšky špeku	- $h^2 = 0,50 - 0,70$
počtu narozených selat	- $h^2 = 0,17$

Výběr kanců do inseminace

Selekce v karanténě:

- před zařazením do plemenitby se hodnotí:

- temperament
- klinický stav pohlavních orgánů (varlata, pyj, předkožka)
- končetiny
- kvalita spermatu

- po zařazení do plemenitby se hodnotí:

- zabřezávání - plodnost inseminovaných prasnic
- dědičné anomálie u potomstva
- PH kance

Ustájení, ošetřování a krmení kanců

- **ustájení** – vždy individuální
 - teplota: 5 - 25 °C, vlhkost vzduchu: do 75 %
- **ošetřování** – denně:
 - kontrola zdravotního stavu
 - odklizení hnoje
 - kartáčování na sucho
 - mytí podle znečištění, šourek
 - sprchování v letních tropických dnech
 - pohyb ve výběhu
- **pololetně:**
 - spárky
 - vážení – kondice
- **výživa** – směs „KA“ – 2 x denně (3 kg na ks/den)
 - obsah 50 % živočišných bílkovin

Navykání kanců na odběr spermatu pomocí fantomu

- krátce po nákupu - již druhý den
- do kotce se instaluje přenosný fantom
- po vzeskoku na fantom se u pohlavně dospělého kance projeví - kopulační, erekční reflexy a frikční pohyby s vysunutím pyje
- **následuje** - odběr metodou „do ruky“
- po 2-3 odběrech v kotci se realizuje odběr v připouštědle
- kanci, od kterých se do 1. měs. nezíská ejakulát, se vyřadí
- kanci masných plemen – zpožděný nástup vzeskoku na fantom
- 5 % kanců odmítá skok na fantom

Typy fantomů pro:

- 1- manuální odběr
- 2 - klasický odběr

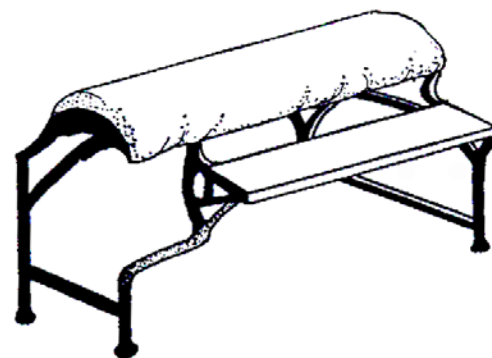
Požadavky na fantom:

- stabilita
- odraziště
- umístění

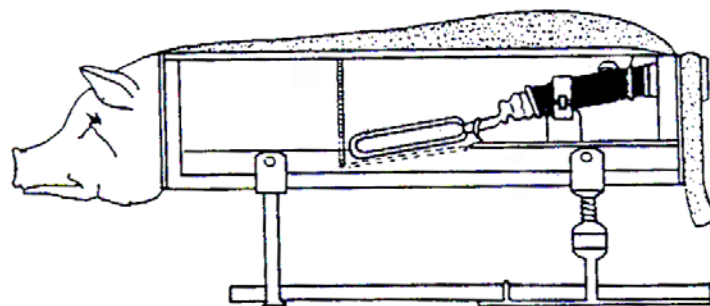
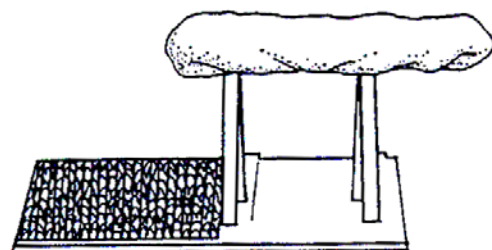
Rozměry:

-š-25,v-65,d-120 cm

1



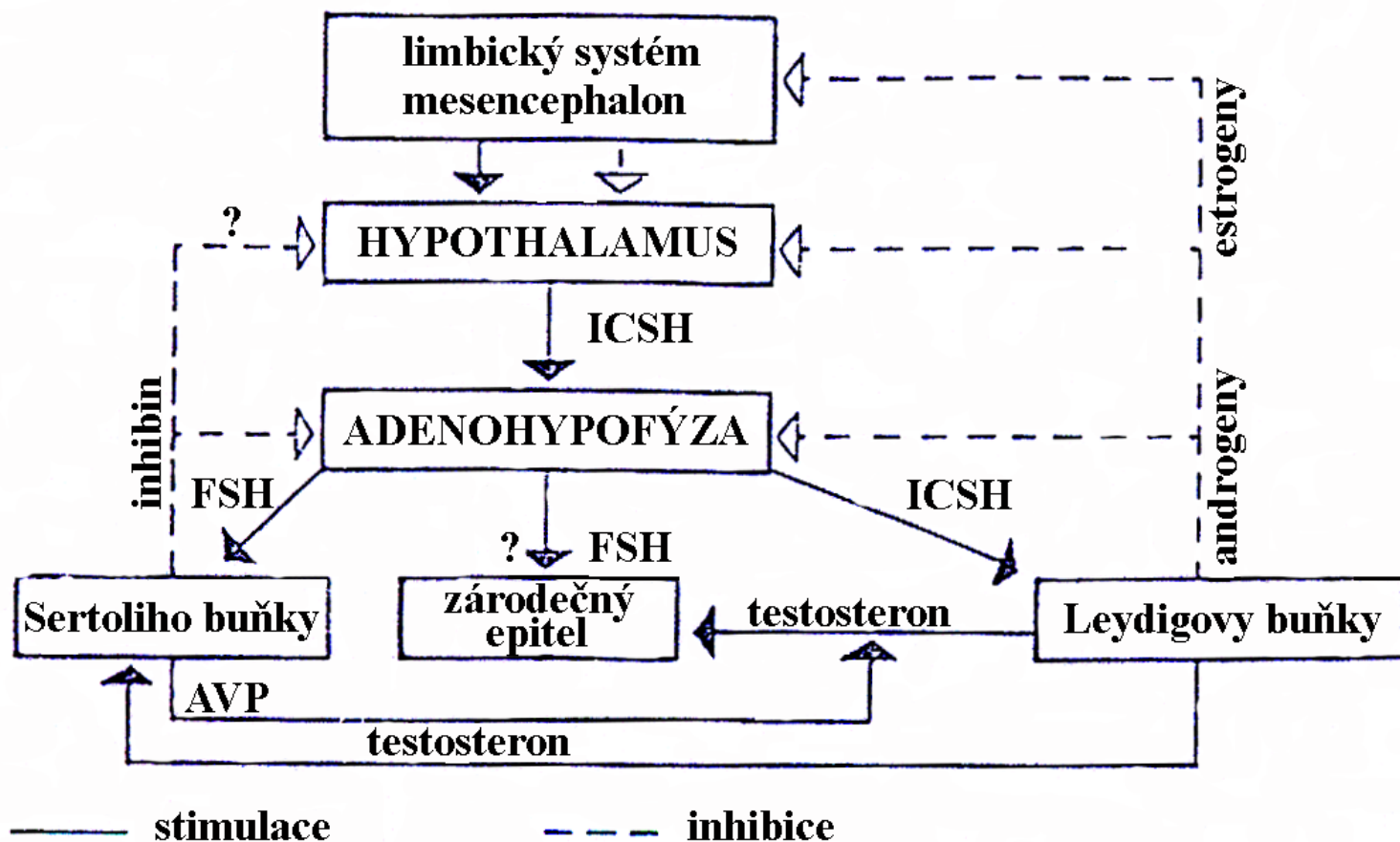
2



Produkce spermatu

- Varletní parenchym – teplota o 4 – 7 °C nižší
- Funkční varle – délka 12 cm, 300g v 1. roce
- varle tvoří 0,4 % hmotnosti kance
- 1 g varlete produkuje 20 - 30 mil. spermií
- denní produkce 10 – 39 miliard spermií
- korelace mezi hmotnostmi varlat a libidem sexualis
- délka sperm. cyklu 45 dní (10 – 12 dní průchod a zrání v nadvarleti)
- 1. ejakulát ve věku **5 měsíců**, použití kance v inseminaci **v 8. měs.**
- hybridní kanci - více spermatu o 10-20%, **větší varlata**
- kanci s genotypem RYR (ryanodinový receptor) – více **spermatu**,
u prasnic více selat

Řízení pohlavních funkcí u kanců



Nástup spermatogenních a pohlavních funkcí

Tvorba spermií a vývoj pohlavních funkcí:

- primární spermatocyty ve varleti: ve 3 měsících věku
- sekundární: v 4 – 5 měsících věku
- dozrálé spermie: v 5 - 6 měsících věku
- plnohodnotná spermatogenní činnost varlat nastupuje v 8. měsíci věku
- do 7- 8 měsíce věku probíhá intenzivní růst přídatných žláz pohlavních

Pohlavní reflexy

- pohlavní dospělost závisí na plemenné příslušnosti
- předchází plnohodnotnou tvorbu ejakulátu
- objímací reflex - ve věku 1 měsíce
- kopulační - ve věku 2 měsíce
- erekční - ve věku 3 měsíce

Fyziologická podmínka ejakulace kance:

- tlak na šroubovitě zakončení pyje - tlakové receptory

Způsoby odběru spermatu

1. do ruky:

- frakcionovaný odběr
- vizuální kontrola
- separace prespermiové frakce
- menší mikrobiální znečištění ejakulátu
- aktivní účast technika odběru po celou dobu ejakulace
- nenáročnost na pomůcky a jejich mytí

2. do umělé vagíny:

- v prepuciální tekutině až 15 milionů zárodků v 1cm³
- kontaminace získaného ejakulátu

Zachycování spermatu do sběrače:

- přes dvojitou sterilní gázu – odděluje želatinozní složku ejakulátu

Frekvence odběru: 1 – 2x za týden

Odběr spermatu



Purdue University

W. Singleton

1997



Purdue University

W. Singleton

1997



Odběr spermatu



Purdue University

W. Singleton

1997

Průběh ejakulace

Trvání ejakulace : 5 – 7 minut i déle

Změny frakcí v průběhu ejakulace:

1. Prespermiová - před a při skoku na fantom

- řídká, lepkavá – obsahuje sekrety uretrálních žláz
- tvoří 5 - 20% objemu ejakulátu
- silně mikrob. znečištěna

2. Spermiová - smetanová konzistence - nejcennější

- trvá 1- 3 min.
- tvoří 60 % objemu v ejakulátu
- je tvořena spermii a výměšky vajíček semenných

3. Postpermiová - výměšky Cowperových žláz

- výměšky vajíček semenných

Postpermiová frakce

Tvoří velký objem semen. plazmy a je tvořena:

a) sekretem váčků semenných

- je mléčně vodnatý
- obsahuje nízký počet spermií
- sekrece trvá 1- 5 min.
- tvoří 40 % ejakulátu

b) sekretem Cowperových žláz

- rosolovitá složka
- tvoří 10 - 20 % z objemu ejakulátu
- utěsňuje vchod do krčku
- **pro inseminaci nežádoucí**
- **odděluje se bezprostředně po odběru
nebo v průběhu odběru**

**Pro inseminaci nejcennější - spermiová frakce -
FRAKCIONOVANÝ ODBĚR**

Spermioogeneze

- negativně působí - vysoké teploty 30 °C - (26 - 29)
 - plísně v krmné dávce – aflatoxiny
- zjišťování množství a kvality produkce spermatu:
 - **vyčerpávací test:** 4 – 6 odběrů za den, potom 1x4
- **Frekvence odběru – pohlavní přestávka:**
 - maxim. objem již za 3 dny
 - maxim. počet spermií v ejakulátu za 7 – 9 dnů
 - v praxi pohlavní přestávka: 3 – 4 dny
 - nemá přesahovat 10 dnů
 - fertilita spermií v ocasu nadvarlete: 60 dnů

Laboratorní hodnocení spermatu

- **Kančí ejakulát** = celý vyprodukovaný objem
- **Sperma kance (čerstvé sperma)** = bez želatinózní složky
 - obsahuje: 3 – 7 % spermií
93 – 97 % semenné plazmy
 - spermie naředěny 90 – 100x semennou plazmou)
- **Norma pro kance ve 2 letech = filtrovaný ejakulát:**
 - **Objem:** 200 – 300 cm³
 - **Koncentrace:** 250 – 400 x10³ / 1mm³
 - **Aktivita – (motilita):** 60 a více % - pohyb vpřed
 - **Výskyt morfol. změněných spermií:** do 25 %
 - **Celkový počet spermií v ejakulátu:** 50 – 90 miliard

Specifické vlastnosti kančího ejakulátu

- nízký obsah enzymu hyaluronidázy
 - citlivost na chladový šok
 - labilita povrchové membrány spermie
 - citlivost akrozómu proti vnějšímu prostředí
 - oxidativní (respiratorní) způsob získávání energie mimo organismus
 - citlivost na otřesy- zvyšuje sedimentaci spermií
-
- **Zvláštnosti semenné plazmy:**
 - nízký obsah fruktózy,
 - vysoký obsah ergothioneinu, inozitolu a kys. citronové
-
- **Nizký obsah fruktózy = krátká přežitelnost v neředěném ejakulátu**

Hodnocení spermatu

Stejné nebo upravené postupy jako u ostatních druhů

1. Makroskopické:

- **Pach** - informace o kvalitě odběru a vhodnosti použití
 - pach neutrální – vaječný bílek
- **Barva** – světle sivá, bílá, lehce nažloutlá
- **Objem** - v cm³ nebo vážením v gramech

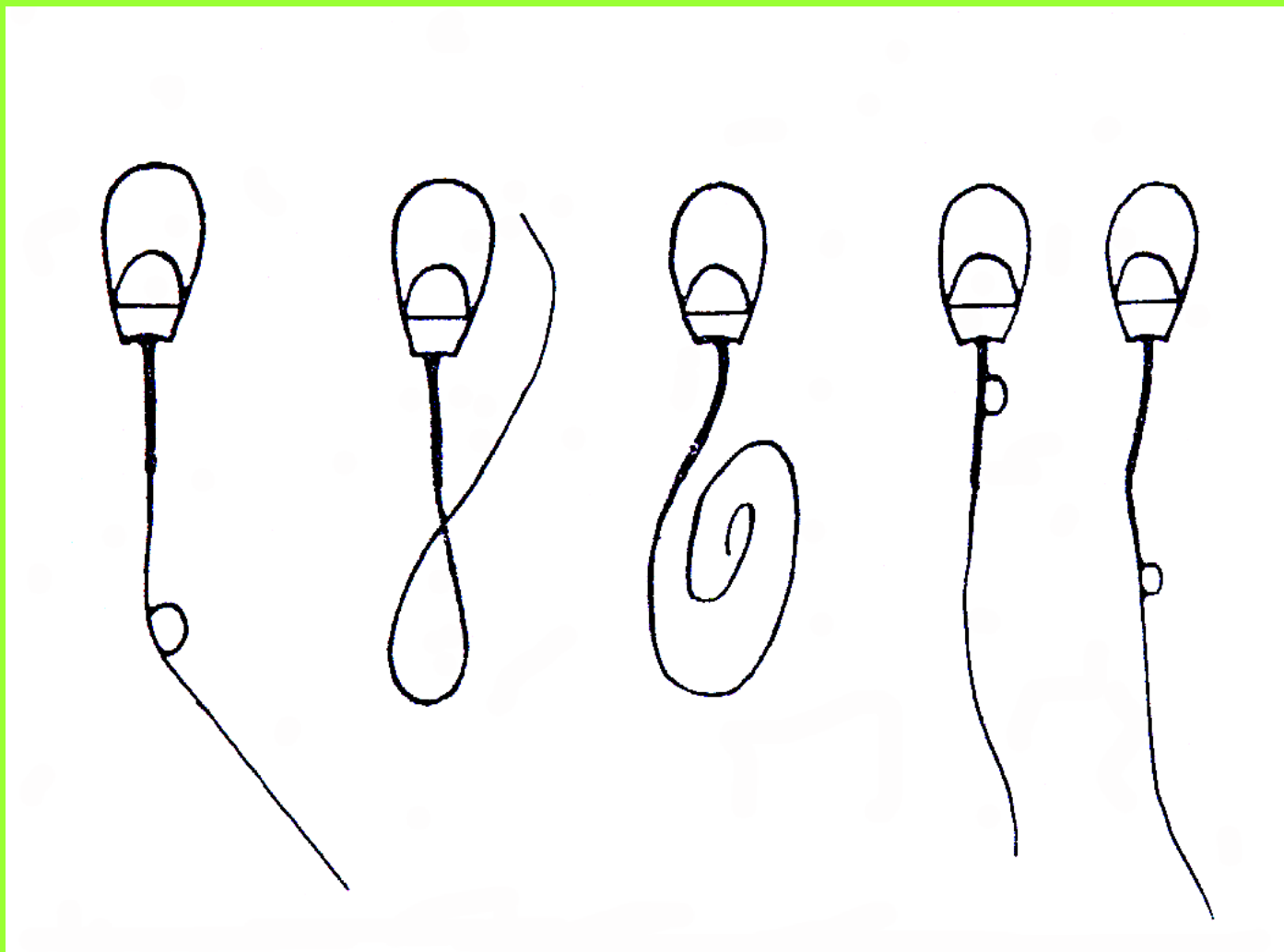
2. Mikroskopické vyšetření:

- **Aktivita** – pohyb vpřed, v % na zahřátém sklíčku na 38 - 40⁰ C
- **Koncentrace spermií** – Karrasovým klínem, Bürkerovou komůrkou, fotometrem

3. Morfologické vyšetření:

- 1x za měsíc, % patologických spermií

Nejčastější morfologické vady



Norma spermatu pro jeho použití k ředění a následné inseminaci

- **barva** – mléčně bílá až naředlá
- **konzistence** – vlastní spermatu
- **bez zápachu**
- **bez cizích přímísenin**
- **objem** – do 1. roku - více než 80 cm³
 - nad 1 rok - více než 100 cm³
- **koncentrace** – vyšší než 150 000 v mm³
- **aktivita spermií** – nejméně 70 %
- **morfol. normálních spermií** – více než 75 %
- **žádné patogeny**

Ředění a konzervace spermatu

- Pro zvýšení objemu
- Pro prodloužení oplozovací schopnosti spermií
- Pro omezení pohybu a pro zachování oplozovací schopnosti
- Pro vyvolání anabiózy – reverzibilního stavu
- **V neředěném stavu ztrácí spermie elektrický náboj**
- **Způsobuje to vysoká koncentrace elektrolytů - pro volné ionty (Ca, Fe, Mg) a pro obsah protilátek**
- **Předcházení tomuto stavu:**
 - přidávání neelektrolytických látek, které jsou také zdrojem energie - (cukry, proteiny, aminokyseliny)
 - ionty sodíku a draslíku – důležité pro osmotický tlak
 - ionty fosfátové – mají pufrovací schopnost
 - ionty bikarbonátů – pro dýchání a nastavení pH
 - vápník a hořčík – pro enzymatické procesy
 - síra – pro syntézu bílkovin

Koncentrace vodíkových iontů ovlivňuje:

- Pohyb, přežitelnost a látkovou výměnu
- Optimální pH pro „dýchání“ spermií: 7 - 7,5
- Pokles pH pod 7 – metabolismus zpomaluje
- Zvýšení pH k 8 – zrychlení pohybu – pokles přežitelnosti
- Antibiotika přidaná do ředidla – zamezují rozmnožování zárodků
- Mikrobiální infekce – EM, záněty dělohy

Požadavky na ředidla kančího ejakulátu:

- zajistit metabolismus spermií
- chránit spermie před chladovým šokem
- zajistit vhodnou osmolaritu
- zajistit vhodný poměr v zastoupení elektrolytů a neelektrolytů
- látky tlumící rozvoj mikroflóry
- vhodné pufrы
- látky minimalizující peroxidaci lipidů

Složení ředidel kančího ejakulátu

- glukóza
- citrát sodný
- EDTA = Chelaton = Trilon = Komplexon
 - zvyšuje aktivitu **glukozofosfatizomerázy**
 - vytváří komplexy s kovy
 - chrání akrozom a membránu spermie
 - snižuje aktivitu deoxyribonukleázy a tím zvyšuje přežitelnost spermií
- Dnes se používají převážně průmyslově vyráběná ředidla

Složení ředidel kančího ejakulátu

Složení	Merck	BTS	Androhep
Glukóza	53,68 g	37,0 g	26,00 g
Citronan sodný neutr. X 2H ₂ O	3,30 g	6,0 g	8,00 g
NaHCO ₃	1,20 g	1,3 g	1,20 g
EDTA	1,80 g	1,3 g	2,40 g
KCl		0,8 g	-
HEPES			9,00 g
BSA			2,50 g
Doba použitelnosti ID	72 hod.	72 hod.	5 – 7 dnů

Postup ředění

- Do 1 hod po odběru
- Stejná teplota – ředidla – ejakulátu
- Postupné přidávání ředidla do spermatu
- Poměr ředění – 1 : 10
- **v ID má být $1,5 - 2,5 \times 10^9$ aktivních spermií**
- Objem ID – 80 cm^3
- Balení ID – sáčky, tuby, ampule
- Pokles teploty po naředění: $3 - 4 ^\circ\text{C}$ za 1 hodinu
- ID se uchovávají při teplotě: $15 - 17 ^\circ\text{C}$