

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
V NITRE  
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

Evidenčné číslo

**KVANTIFIKÁCIA POHYBLIVOSTI A ŠTRUKTÚRY  
BÝČÍCH SPERMIÍ PO PRIDANÍ VYBRANÝCH  
IMPLEMENTOROV IN VITRO**

2011

Ing. Martina Rafajová

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
V NITRE  
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**KVANTIFIKÁCIA POHYBLIVOSTI A ŠTRUKTÚRY  
BÝČÍCH SPERMIÍ PO PRIDANÍ VYBRANÝCH  
IMPLEMENTOROV IN VITRO**

**Dizertačná práca**

<b>Študijný program:</b>	Biotechnológie
<b>Študijný odbor:</b>	5.2.25 Biotechnológie
<b>Školiace pracovisko:</b>	Katedra fyziológie živočíchov
<b>Školiteľ:</b>	prof. MVDr. Peter Massányi, PhD.

**Nitra, 2011**

**Ing. Martina Rafajová**

## ABSTRAKT

Jedným zo základných prejavov živej hmoty je rozmnožovanie. Napriek tomu, že orgány, ktoré zabezpečujú túto funkciu nie sú nevyhnutne potrebné pre život jedinca, sú potrebné pre zachovanie druhu. Poznanie kvality ejakulátu hospodárskych zvierat zohráva v dnešnej dobe dôležitú úlohu v intenzifikácii v živočíšnej výrobe. Vlastnosti ejakulátu sú ovplyvňované endogénnymi ako aj exogénnymi činiteľmi.

V predloženej práci sme sa zamerali na vplyv šiestich vybraných implementorov (kyselina salicylová, rezorcinol, pyrokatechol, trehalóza, kofeín a glutatión) na funkčné a štrukturálne parametre spermií býkov v podmienkach *in vitro*, ktoré by mohli odzrkadliť fertilizačnú schopnosť spermií; stanovenie výskytu morfoloicky zmenených foriem spermií po experimentálnej kultivácii a zistenie koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov.

V práci sme použili ejakuláty šiestich náhodne vybraných plemenných býkov. Ejakuláty sa po prenose do laboratória riedili riedidlom nasledovného zloženia: 250 ml Triladyl® (Minitüb; Tiefenbach Germany), 750 ml destilovanej H<sub>2</sub>O a 62,5 ml vaječného žĺtka.

Z každého zriedeného ejakulátu sme pripravili preparáty a tie sme rozdelili na dve skupiny podľa koncentrácie implementora – skupina A s koncentráciou implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup> a skupina B s koncentráciou implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>.

Pohyblivosť spermií sme hodnotili CASA analyzátorom (Sperm Vision™; Minitüb, Nemecko) pri teplote 37°C a v časových intervaloch 0, 1, 2, 3, 4 hodiny od začatia experimentu a pri teplote 5°C a v časových intervaloch 24, 48, 72 a 168 hodín od začatia experimentu. Pre analýzu výskytu morfoloicky zmenených foriem spermií sme zhotovovali preparáty farbené podľa Giemsa–Romanowski. Preparáty sme posudzovali na optickom mikroskope pri 450 násobnom zväčšení. Morfoloicky zmenené formy spermií sme zoradili do klasifikačnej tabuľky morfoloicky malformovaných foriem spermií. Stanovenie vybraných biochemických parametrov sme robili spektrofotometricky s použitím komerčných kitov.

Pohyblivosť spermií kultivovaných pri teplote 37°C a 5°C preukázala preukazný pokles v závislosti od koncentrácie a času u kyseliny salicylovej, rezorcinolu a pyrokatecholu, teda u fenolických látok. U kyseliny salicylovej sa nastal preukazný pokles už v čase 0 v oboch koncentráciách implementora a preukazný pokles sme zistili vo všetkých nasledujúcich časových intervaloch. Najnižšie preukazné hodnoty sme namerali pri vzorkách, ktoré boli kultivované pri teplote 5°C v časových intervaloch 24, 48 a 72 hodín pri koncentrácii implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>.

U ostatných implementorov – trehalóza, kofeín a glutatión sme zistili stimulačný vplyv na pohyblivosť spermií.

Podobné tendencie sme zistili aj pri sledovaní progresívnej pohyblivosti spermíí. Časovo a dávkovo závislý pokles priemernej, krivočiarovej a priamej prejdenej vzdialenosti spermíí ako aj priemernej, krivočiarovej a priamej dráhovej rýchlosti spermíí potvrdzujú negatívny efekt fenolických látok, predovšetkým kyseliny salicylovej na pohybové parametre spermíí pri kultivácii *in vitro*, ktoré sú ovplyvnené aj teplotou prostredia a koncentráciou implementora. Ostatné parametre pohyblivosti spermíí podporujú tendenciu poklesu pohybových parametrov spermíí a dokresľujú odchýlky v porovnaní s kontrolnou skupinou u kyseliny salicylovej, pyrokatecholu a rezorcinolu.

Analýzou výskytu morfológicky zmenených foriem spermíí sme nezistili vplyv sledovaných implementorov. Vyššie percento výskytu morfológicky zmenených foriem spermíí bolo v skupine s vyššou koncentráciou implementorov. Napriek tendencii vyššieho výskytu morfológicky zmenených foriem spermíí pri fenolických látkach sme preukazné rozdiely nezaznamenali. Dominantnými formami morfológicky zmenených foriem spermíí boli predovšetkým hlavička bez bičíka, kľučkovité stočenie bičíka a torzo bičíka.

Koncentrácie vybraných biochemických parametrov – albumínu a malondialdehydu neboli oproti kontrolnej skupine preukazne rozdielne.

Dosiahnuté výsledky v dizertačnej práci jasne poukazujú na negatívne účinky fenolických látok (napriek tomu, že patria do skupiny antioxidantov) na parametre pohyblivosti spermíí, ktoré sú závislé od koncentrácie, teploty kultivácie a časového intervalu kultivácie. Najvýraznejší negatívny účinok na parametre pohyblivosti bol preukazne zaznamenaný u kyseliny salicylovej. Stimulačné účinky na pohyblivosť spermíí dlhodobého charakteru sa prejavil u trehalózy a krátkodobý stimulačný účinok sme zaznamenali u kofeínu a glutatiónu.

**Kľúčové slová:** spermie, implementor, kyselina salicylová, rezorcinol, pyrokatechol, trehalóza, kofeín, glutatión, CASA, pohyblivosť, kultivácia

## ABSTRACT

One of the main manifestations of living matter is the reproduction. Although the organs providing this function are not strictly necessary for the life of the individual, they are necessary for the conservation of the species. Knowing the quality of livestock semen plays nowadays an important role in the improving the efficiency of animal production. Semen characteristics are influenced by endogenous and exogenous factors.

In the presented work, we focused on the impact of six selected implementors (salicylic acid, resorcinol, catechol, trehalose, caffeine, and glutathione) on functional and structural parameters of the bull spermatozoa *in vitro*, which might reflect the fertilization ability of spermatozoa, the incidence of morphologically altered spermatozoa forms after experimental cultivation and detection of concentrations of selected biochemical parameters in the culture medium after adding evaluated implementors.

In this work we used semen of six randomly selected breeding bulls. After transfer to the laboratory semen was diluted with diluent with the following composition: 250 ml Triladyl® (Minitüb; Tiefenbach Germany), 750 ml of distilled H<sub>2</sub>O and 62.5 ml of egg yolk.

From each diluted semen samples specimens were prepared, and were divided into two groups according to the concentration of implementor – Group A with a concentration of implementor 2 mg.ml<sup>-1</sup> and group B with a concentration of implementor 1 mg.ml<sup>-1</sup>.

Spermatozoa motility was evaluated with CASA analyzer (Sperm Vision™; Minitüb, Germany) at 37°C with the intervals 0, 1, 2, 3, 4 hours after the start of the experiment and at 5°C with intervals 24, 48, 72 and 168 hours after the start of the experiment. For the analysis of morphologically altered spermatozoa the specimens stained by Giemsa–Romanowski were prepared. Specimens were assessed on an optical microscope at 450 magnification. Morphologically changed sperm forms were sorted to the classification table of morphological malformed forms of sperm. Determination of selected biochemical parameters we have done spectrophotometrically using commercial kits.

Motility of spermatozoa cultured at 37°C and 5°C demonstrated a significant decrease in dependence on the concentration and time of salicylic acid, resorcinol and catechol, i.e. the phenolic compounds. In the salicylic acid the significant decrease occurred already at time 0 in both concentrations of implementor and the significant decrease were found in all subsequent time intervals. The lowest significant values were measured for samples that were stored at 5°C at intervals of 24, 48 and 72 hours at a concentration of implementor 2 mg.ml<sup>-1</sup>. For other implementor – trehalose, caffeine, and glutathione, we found stimulatory effect on spermatozoa motility.

Similar trends were also found in the progressive motility. Time– and dose– dependent decrease in distance average path, distance curved line and distance straight line

and also in velocity average path, velocity curved line and velocity straight line confirm the negative effect of phenolic compounds, particularly salicylic acid on spermatozoa motility parameters during *in vitro* cultivation, which are also affected by ambient temperature and the concentration of implementor. Other parameters of spermatozoa motility (straightness, linearity, amplitude of lateral head displacement and beat cross frequency) support the trend of declining the spermatozoa parameters and illustrate the difference with the control group in salicylic acid, catechol and resorcinol.

Analysis of morphologically altered forms of spermatozoa did not show effects of observed implementors. A higher percentage of morphologically altered spermatozoa was detected in the group with a higher concentration of implementors. Despite the tendency of increased incidence of morphologically altered spermatozoa in phenolic compounds the significant differences were not found. Dominant forms of morphologically altered spermatozoa were mainly head without flagellum, knob twisted flagellum and flagellum torso.

Concentrations of selected biochemical parameters – albumin and malondialdehyd compared with the control group were not significantly different.

Achievements in the doctoral thesis clearly demonstrate the negative effects of phenolic compounds (despite the fact that they belong to a group of antioxidants) on spermatozoa motility parameters, which are dependent on the concentration, cultivation temperature and time interval of cultivation. The most significant negative effect on the motility parameters was recorded for salicylic acid. Long-term incentive effects on spermatozoa motility were found for trehalose and short-term stimulatory effect was recorded for caffeine and glutathione.

**Key words:** spermatozoa, implementors, salicylic acid, resorcinol, catechol, trehalose, caffeine, glutathione, CASA, motility, culture

## ČESTNÉ VYHLÁSENIE

Podpísaná Ing. Martina Rafajová vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Kvantifikácia pohyblivosti a štruktúry býčích spermíí po pridaní vybraných implementorov *in vitro*“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 18.6.2011

Ing. Martina Rafajová

## **POĎAKOVANIE**

Touto cestou by som chcela poďakovať vedúcemu svojej dizertačnej práce prof. MVDr. Petrovi Massányimu, PhD. a personálu Katedry fyziológie živočíchov za cenné rady, pomoc a pripomienky pri riešení problémov pri zostavovaní dizertačnej práce.

V Nitre 18.06.2011

Ing. Martina Rafajová



## ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

**ALB** – albumín

**ATP** – adenzíntrifosfát

**cAMP** – cyklický adenzínmonofosfát

**CO<sub>2</sub>** – oxid uhličitý

**DNA** – deoxyribonukleová kyselina

**FITC** – fluorescenčný isothiokyanát

**FR** – free radicals

**GPX** – glutatiónperoxidáza

**GTR** – glutatiónreduktáza

**GSH** – glutatión

**H<sub>2</sub>O** – voda

**MDA** – malondialdehyd

**NaOH** – hydroxid sodný

**NADPH** – nikotínamidadenín-dinukleotidfosfát

**NaCl** – chlorid sodný

**NaHCO<sub>3</sub>** – hydrogén uhličitan sodný

**PUFA** – polynenasýtené mastné kyseliny

**PS** – fosfatidylserín

**ROS** – reactive oxygen species

**RNA** – ribonukleová kyselina

**SOD** – superoxiddizmutáza

## OBSAH

<b>ÚVOD</b>	<b>12</b>
<b>1. PREHLAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY</b>	<b>14</b>
1.1. Spermatogenéza – vývoj spermií	14
1.1.1. Rozmnožovanie	15
1.1.2. Meióza	16
1.1.3. Metamorfóza	17
1.2 Morfológia spermií	18
1.2.1. Hlavička spermie	19
1.2.2. Bičik spermie	22
1.2.2.1. Centriolový (implantačný) oddiel	22
1.2.2.2. Mitochondriálny oddiel	23
1.2.2.3. Hlavný oddiel	23
1.2.2.4. Terminálny (koncový) oddiel	24
1.3. Metabolizmus a pohyb spermií	25
1.4. Abnormálne formy spermií	28
1.4.1. Degeneratívne (teratoidné) spermie	30
1.4.2. Zmeny v tvare hlavičky	30
1.4.3. Zmeny na akrozóme	31
1.4.4. Zmeny vo vnútornej štruktúre nukleoplazmy	31
1.4.5. Diploidné spermie	32
1.4.6. Abnormality na bičíku spermie	33
1.4.7. Nezrelé spermie	36
1.5. Vplyv vonkajších faktorov na stavbu spermií	37
1.5.1. Toxické vplyvy	37
1.5.2. Infekčné vplyvy	38
1.5.3. Fyzikálne vplyvy	38
1.6. Ejakulát	39
1.7. Fenoly a fenolové kyseliny	40
1.7.1. Kyselina salicylová	41
1.7.2. Rezorcinol	43
1.7.3. Pyrokatechol	43
1.8. Trehalóza	44
1.9. Kofeín	45
1.10. Glutatión	46

1.11. Voľné radikály a oxidačný stres	47
1.11.1. Lipidová peroxidáza	50
<b>2 CIELE PRÁCE</b>	<b>52</b>
<b>3. MATERIÁL A METÓDY</b>	<b>53</b>
3.1. Hodnotenie pohyblivosti spermií	55
3.2. Hodnotenie výskytu morfológicky zmenených foriem spermií	56
3.3. Stanovenie koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov	58
3.3.1. Stanovenie albumínu (ALB)	58
3.3.2. Stanovenie MDA	58
<b>4. VÝSLEDKY</b>	<b>60</b>
4.1. Analýza pohyblivosti spermií	60
4.2. Analýza výskytu morfológicky zmenených foriem spermií	78
4.3. Stanovenie koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov	82
<b>5. DISKUSIA</b>	<b>85</b>
<b>6. NÁVRH NA VYUŽITIE VÝSLEDKOV</b>	<b>93</b>
<b>7. ZÁVER</b>	<b>95</b>
<b>8. POUŽITÁ LITERATÚRA</b>	<b>97</b>
<b>9. ZOZNAM PUBLIKOVANÝCH PRÁČ AUTORA SÚVISIACICH S RIEŠENOU PROBLEMATIKOU PRÍLOHY</b>	<b>113</b>
<b>PRÍLOHY</b>	<b>115</b>

## ÚVOD

Jedným zo základných prejavov živej hmoty je rozmnožovanie. Hoci orgány, ktoré zabezpečujú túto funkciu, nie sú nevyhnutne potrebné pre existenciu organizmu, sú nepostrádateľné pre zachovanie druhu. V cieľavedomej práci človeka má rozmnožovanie zvierat významnú úlohu z dôvodu zabezpečenia dostatku potravy živočíšneho pôvodu pre ľudskú populáciu.

Reprodukčný proces závisí na komplexnom rade biologických vzťahov zahrňujúcich mnoho orgánov, typov buniek, typov molekúl ako aj presnú časovú a priestorovú koordináciu procesov. Vlastnosti ejakulátu sú ovplyvňované tak endogénnymi ako aj exogénnymi činiteľmi. Biologická plnohodnotnosť ejakulátu zvierat závisí nielen od druhovej a plemennej príslušnosti, z dlhodobých pozorovaní ako aj chovateľských poznatkov vidieť, že nemožno zanedbať ani prejavy dedičnosti, ale o úrovni plodnosti rozhodujú predovšetkým vonkajšie vplyvy. Nie je preto prekvapujúce, že reprodukčný proces je zraniteľný rôznymi exogénnymi vplyvmi, faktormi životného prostredia, toxickými, infekčnými, fyzikálnymi ako aj chemickými vplyvmi. Vplyvy vonkajšieho prostredia môžu ohroziť zabezpečovanie kvalitného potomstva pre ďalšie využitie. Vo všeobecnosti sa pohlavné orgány jedincov považujú za veľmi citlivý barometer zmien v organizme zvierat i človeka. Znalosť fyziológie regulačných mechanizmov nám umožňuje pochopiť možný mechanizmus toxicity rozličných látok a týmto smerom je možný aj vývoj odpovedajúcej liečby.

Poznanie kvality ejakulátu hospodárskych zvierat, vzájomné vzťahy jednak v rámci funkcie pohlavných orgánov, ako aj interakcie s vonkajším prostredím a jeho faktormi, ktoré by mohli negatívne ovplyvniť ich správnu činnosť, zohráva v dnešnej dobe dôležitú úlohu v intenzifikácii v živočíšnej výrobe.

Umelá inseminácia plní na celom svete dôležitú úlohu pri zlepšovaní genofondu parametrov úžitkovosti zvierat a veterinárnej starostlivosti o reprodukčný proces, ako aj pri využívaní biotechnologických metód riadenej reprodukcie. Umelou insemináciou sa dosahuje podstatne vyšší plemenársky a ekonomický efekt. Prejavuje sa to výrazným znížením počtu plemenárskych staníc so súčasným znížením počtu plemenníkov a širším použitím kvalitného ejakulátu. Kvalitatívne hodnotenie parametrov pohyblivosti spermíí je dôležitý krok v objektivizácii selekcie ejakulátov pre umelú insemináciu. Za hlavné úlohy umelej inseminácie sú považované aspekty zvýšenia úžitkovosti zvierat, dosiahnutie značného počtu potomstva, rýchle zošľachtenie chovu zvierat, rýchle poznanie hodnoty mladých plemenníkov podľa potomstva a zníženie nákladov na chov plemenníkov. Úlohy riadenej reprodukcie sú zamerané do oblasti samičej pohlavnej sústavy. Samčia pohlavná bunka – spermia je však iniciátorom oplodnenia vajíčka.

Laboratórna kontrola ejakulátu je dôležitým opatrením na využívanie plnohodnotných ejakulátov pri zabezpečovaní plodnosti prostredníctvom umelej inseminácie. Účelom kontroly je určiť kvalitu ejakulátu a zistiť jeho vhodnosť na dlhodobú konzerváciu pre použitie v umelej inseminácii. Pojmom kvalitný ejakulát vyjadrujeme biologickú plnohodnotnosť, teda schopnosť oplodniť a dať začiatok novému životu. Táto plnohodnotnosť sa testuje laboratórnymi metódami, ktorými zisťujeme, či vlastnosti ejakulátu makroskopické, mikroskopické, fyzikálno-chemické a morfológické zodpovedajú fertilizačným požiadavkám.

## 1. PREHĽAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Rozmnožovanie, tokogónia alebo reprodukcia je vytváranie nových jedincov, potomkov, existujúcimi jedincami, rodičom alebo rodičmi, ktoré prebieha u všetkých živých organizmov. Prenosom genetickej informácie zapísanej v DNA sa zabezpečuje dedičnosť znakov a zachovanie druhu. Preto môžeme povedať že reprodukcia je základom ontogenézy budúceho jedinca a umožňuje kontinuitu života (Flade et al., 1990).

Najjednoduchšie organizmy sa rozmnožujú nepohlavne – priečnym delením, pučaním alebo schyzogóniou. Pre fylogenetický vyššie organizmy platí, že sa rozmnožujú pohlavne a sú oddeleného pohlavia, buď samčieho alebo samičieho. Obe pohlavia majú iba jeden druh pohlavných orgánov a jeden druh pohlavných buniek. Rozmnožovanie prebieha splynutím samčej a samičej pohlavnej bunky, ktoré majú spoločný názov – gaméty. Splynutím haploidných gamiet v procese oplodnenia vzniká diploidná zygota, ktorá je základom nového jedinca. Gaméty sú produkované pohlavnými žľazami, gonádami (Paulov, 1980).

Samčie pohlavné bunky, spermie, sa tvoria v samčích pohlavných žľazách – semenníkoch v procese, ktorý sa nazýva spermatogéza. Samičie vajíčka, vznikajú vo vaječníkoch (ováriách). U všetkých hospodárskych zvierat pohlavné orgány rozdeľujeme na vnútorné a vonkajšie. Vnútorné pohlavné orgány predstavujú pohlavné žľazy spolu s pomocnými vnútornými orgánmi, ktoré sú oplodňovacie. Vonkajšie pohlavné orgány slúžia priamo na párenie (Marvan et al., 1992).

### 1.1. Spermatogéza – vývoj spermii

Spermatogéza je proces tvorby a vývoja spermii. Samčie pohlavné bunky sa vyvíjajú v semenotvornom kanáliku semenníkov procesom, ktorý nazývame spermatogéza (Lukáč et al., 2007). Základy týchto kanálikov vznikajú už počas embryonálneho vývoja jedinca v podobe pohlavných povrazcov. V pohlavných povrazcoch možno rozlíšiť prvopohlavné bunky (gonocyty) a podporné bunky. Z gonocytov vznikajú pred narodením vlastné materské bunky – spermatogónie (Massányi et al., 2002). Proces vývoja spermii začína delením spermatogónií a končí premenou spermatíd na spermium. Spermie sa začínajú tvoriť v čase pohlavnej dospelosti, ale v tejto vývojovej etape nemá tvorba spermii cyklický charakter.

Po dosiahnutí pohlavnej dospelosti spermatogéza prebieha v pravidelných cykloch a nemožno ju urýchliť ani spomaliť. Tieto cykly nasledujú za sebou v presných časových intervaloch, pričom sa každý nový cyklus začína asi o 1/4 dĺžky cyklu neskôr než predchádzajúci. Pri zvieratách s normálne vyvinutou pohlavnou sústavou prebieha

spermatogenéza celý život a končí v senu (Toman a Massányi, 1997). Dĺžka spermatogénneho cyklu je druhovo rozdielna (Gamčík et al., 1992).

**Tabuľka č. 1:** Dĺžka spermatogénneho cyklu a celej spermatogenézy (Gamčík et al., 1992)

Druh	Dĺžka spermatogénneho cyklu (dni)	Počet cyklov	Spermatogenéz a spolu (dni)	Dĺžka pasáže v prisemenníkoch (dni)
<b>Býk</b>	<b>13,5</b>	<b>4</b>	<b>54</b>	<b>8 – 11</b>
Baran	10,4	4,5	49	11 – 14
Kanec	8,6	4	34,4	14
Žrebec	12,2	4	48,8	-
Pes	13,6	4	54,4	-
Potkan	13	4	52	-
Muž	16	4	64	-

Spermatogenéza má nasledujúce fázy – rozmnožovanie, meióza a metamorfóza (Vrzgulová et al., 1979; Zibrín et al., 1987 a, b, 1990; Cigánková et al., 1993, 1996).

### 1.1.1. Rozmnožovanie

Rozmnožovanie je spojené s mnohonásobným delením a diferenciáciou buniek prvotných pohlavných buniek – gonocytov. V tomto procese vznikajú A – spermatogónie, Im – spermatogónie a B – spermatogónie. Spermatogónie sa mitoticky delia, pričom vznikajú spermatocyty I. radu a ich počet geometricky rastie (Toman a Massányi, 1997). Sú uložené po obvode semenotvorných kanálikov a majú oválny tvar (Zibrín et al., 1990). U cicavcov možno rozlíšiť rôzne typy spermatogónií (Courot et al., 1970).

A – spermatogónie (materské bunky) sú veľké bunky guľatého tvaru s malým množstvom cytoplazmy, na povrchu s chromatínom (McDonald a Pineda, 1989). Jadro je elipsovitého tvaru s dlhou osou, v centre jadra leží veľké jadierko, ktoré sa lokalizuje na vnútornej jadrovej membráne (Johnson et al., 1983). Sú označované za materské kmeňové bunky, ktoré sa rýchlo za sebou mitoticky delia a vznikajú A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> a intermediárne (Im) spermatogónie (Zibrín et al., 1990).

Im – spermatogónie (spermatogónie intermediárneho typu) sú bunky vznikajúce delením A – spermatogónií. Okrem jednej dcérskej bunky, podobnej materskej, vzniká aj druhá bunka

intermediárneho typu. Táto je podobná A – spermatogónii, s tým rozdielom, že má menšie jadro a je bohatá na chromatín.

B – spermatogónie sú pokračovaním Im – spermatogónií, po niekoľkonásobnom rozdelení a rozmnožení (Hrudka et al., 1962). Charakterizuje ich to, že chromatín sa nachádza v blízkosti jadrovej membrány vo forme kôrovitého zhrubnutia. Tvarom chromozómov a veľkosťou, ktorá sa mení počas mitotického delenia sa odlišujú od A – spermatogónie (Lukáč et al., 2007).

Spermatocyty I. radu sú okrúhle bunky, ktoré pri hospodárskych zvieratách majú veľkosť 12 – 17 $\mu$ m s veľkým jadrom. Oproti spermatogóniám sa slabšie farbia. V semenotvornom epiteli býkov sa objavujú v 4. mesiaci po narodení a v 3. mesiaci po narodení u kancov (Massányi, 1991). Postupujú od obvodu semenotvorných kanálikov smerom do stredu a tvoria druhý rad semenotvorných buniek. V prvom rade sa nachádzajú spermatogónie (Massányi, 1991; Gamčík et al., 1992).

### **1.1.2. Meióza**

Meióza je charakterizovaná rastom a zrecím delením spermatocytov. Rozlišujeme tu dve meiotické delenia. Pri prvom meiotickom delení vznikajú zo spermatocytov I. radu spermatocyty II. radu (Johnson et al., 1981). Ich život trvá len niekoľko hodín a prechádzajú do druhého meiotického delenia pri ktorom vznikajú spermatidy, posledná najpočetnejšia generácia vo vývoji spermii (Auger, 2010).

Meióza (zrecie delenie) sa skladá z dvoch po sebe nasledujúcich a funkčne úzko spojených bunkových delení, ktoré sa vyznačujú zmenami na chromozómoch a ich delením (Jelínek a Jelínek, 2002). Cieľom meiózy je výmena materiálu medzi homologickými chromozómami a redukcia ich počtu na polovicu (z diploidného na haploidný počet). Vznikom spermatíd sa končí obdobie spermatocytogenézy. Spermatidy sú malé, okrúhle, prípadne polygonálne bunky. Jadro je menšie, obsahuje niekoľko veľkých chromatinových granúl. Spermatidy sa nachádzajú pri lumene semenotvorných kanálikov a sú uložené do zväzkov v cytoplazme (Gamčík et al., 1992). Chromozómy sa počas dvoch delení buniek len raz úplne rozštiepia (Gamčík et al., 1992).

Prvé meiotické delenie sa týka spermatocytov I. radu. Je charakteristické veľmi dlhou profázou zloženou z leptoténneho, zygoténneho, pachyténneho, diploténneho štádia a diakinézy, pokračuje metafázou, anafázou a telofázou (Toman a Massányi, 1997).

Druhé meiotické delenie je veľmi podobné normálnemu mitotickému deleniu. V spermatocytoch II. radu nenastáva pozdĺžne delenie chromatíd, ale len delenie centromér. Diády sa rozpadnú na dve skupiny monád – jednoduché chromozómy v tom istom počte sa



rozchádzajú do dcérskych buniek. Takto sa chromatídy rozdelia jedenkrát, kým bunka sa rozdelí dvakrát. Novovzniknuté dcérske bunky – spermatidy majú haploidný počet chromozómov. Vznikom spermatíd sa končí spermatocytogenéza.

Spermatidy sú malé okrúhle, prípadne polygonálne bunky. Jadro je menšie ako pri spermatocytoch II. radu. Obsahuje niekoľko veľkých chromatinových granúl. Spermatidy sa nachádzajú pri lumene semenotvorných kanálikov a sú uložené do zväzkov v cytoplazme Sertolihových buniek (Toman a Massányi, 1997).

Meiotické delenie a spermatocyty I. radu znamenajú v spermatogenéze kritické štádium. Pri porušení deliaceho procesu sa môžu vyvinúť spermie bez fertilizačných vlastností. Nepravidelnosti v meióze sa vyskytujú predovšetkým pri mladých jedincoch. Dvojica chromozómov XY určujúcich pohlavie sa delí pri meióze tak, že dlhší X chromozóm sa pohybuje k jednému a kratší Y chromozóm k druhému pólu bunky. Po rozdelení spermatocytu I. radu sa do každého spermatocytu II. radu dostáva vždy len jeden chromozóm (Hess a De Franca, 2008).

### **1.1.3. Metamorfóza**

Toto obdobie je charakteristické tým, že okrúhla spermatida sa mení na štíhlu spermium. Táto spermia obsahuje všetky vlastnosti na úspešné splnenie procesu oplodnenia. Bunka si tvorí bičík (pohybový aparát) a akrozóm (Raven a Johnson, 1996). Obdobie metamorfózy sa delí na Golgiho štádium, štádium akrozómovej čiapočky, štádium kaudálnej manžety a štádium zrenia (Martiniaková et al., 2008).

V Golgiho štádiu sa pri jadre spermatídy tvorí základ akrozómu v podobe malého mechúrka s tmavým obsahom vo vnútri – akrozomové granulum.

V štádiu akrozómovej čiapočky sa základ akrozómu zväčšuje a nakoniec ako akrozomová čiapočka pokrýva celú prednú polovicu jadra spermatídy (Courot et al., 1970). Na opačnej strane vzniká základ bičíka. Jadro sa dostáva do excentrickej polohy.

V štádiu kaudálnej manžety sa guľaté jadro spermatídy mení na plošnú hlavičku spermie. Vzniká kaudálna manžeta, ktorá sa začína a upína na rovníku jadra. Rastie smerom cez kaudálnu polovicu jadra až ponad prvý oddiel bičíka (Jelínek a Jelínek, 2002).

V štádiu zrenia sa kaudálna manžeta rozplýva pozdĺž prednej časti jadra a mizne. Vzniká bičík a akrozóm, nepotrebná cytoplazma odchádza. Najprv sa vyvíja obal hlavného oddielu bičíka, tzv. fibrózna pošva, a potom hrubá mitochondriálna pošva. Mitochondrie sa prikladajú koncami k sebe, vzniká hrubé vlákno, ktoré sa ovíja okolo osového vlákna na úrovni spojovaného oddielu bičíka (Raven a Johnson, 1996). Po odchode nepotrebných cytoplazmy a dehydratácii akrozómu je skončená premena spermatídy na spermium (Kulíšek et al., 2006).

Spermie sa uvoľňujú zo zväzku so Sertolihou bunkou a ako voľné bunky sa dostávajú zo semenotvorných kanálikov do vývodných semenných ciest a do chvosta prisemenníka (McDonald a Pineda, 1989). Postup vývodným kanálikom prisemenníkov trvá 10 – 15 dní. Až do ejakulácie sú spermie uskladnené v chvoste prisemenníka a nevykazujú vlastnosti aktívneho pohybu (Massányi, 1991).

Začiatok spermatogenézy je podmienený mnohými endogénnymi a exogénnymi faktormi. Vplyv týchto nepriaznivých činiteľov na spermatogézu sa objaví v spermioграме v rozlične dlhom období po začiatku ich pôsobenia, čo závisí aj od dĺžky spermatogénneho cyklu, ktorý trvá pri býkovi a baranovi 60 – 70 dní, pri kancovi 50 – 60 dní (Lukáč et al., 2007).

Spermatogenéza prebieha v celom semenotvornom kanáliku nepretržite. Mladé spermie pasívne transportuje prúd tekutiny a kontrakcie tunica dartos a m. cremaster do chvosta prisemenníka, ktorý pre spermie predstavuje vhodný rezervoár. Tu sú spermie uložené tesne vedľa seba a vo zvýšenej koncentrácii spermií v semenníku sa nachádza v hlave prisemenníka 0,16 miliónov, v tele 1 milión a v chvoste 3,6 milióna spermií v 1 mm<sup>3</sup>. Pri kancovi je v chvoste prisemenníka koncentrácia spermií 33-krát väčšia než v ejakuláte (Massányi, 1991).

## 1.2. Morfológia spermie

Spermie objavil v roku 1677 Holanďan Johannes Ham u človeka. Krátko potom Leeuwenhoek zistil spermie aj v ejakuláte zvierat. O svojom objave si však ešte nedokázali vytvoriť správnu predstavu. Leeuwenhoek považoval spermie za akési drobné semenné zvieratka (*spermatozoa*, *animalcula seminis*), podľa vtedajších predstáv mala hlavička tohto semenného zvieratka obsahovať miniatúru celého ľudského individua (Toman a Massányi, 1997). Názov spermatozoon, ktorým označil takéto semenné zvieratko, sa používa dodnes (Kresan et al., 1979).

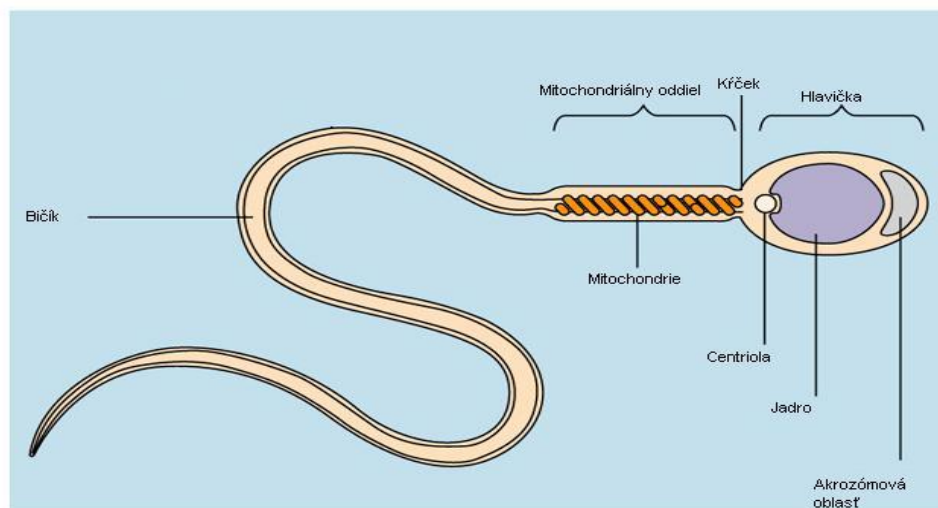
Až neskôr v roku 1780 dokázal Spallanzani pomocou umelej inseminácie oplodňovaciu schopnosť ejakulátu, ktorú však neprisudzoval spermiám, ale chemickému vplyvu semennej plazmy na vajíčko. Tento názor vyvrátili až Prevost a Dumas roku 1824, ktorí dokázali, že spermie majú fertilizačnú schopnosť (Massányi et al., 2002). Až rozvojom elektrónovej mikroskopie, na začiatku 20. storočia, sa dospelo k detailnejšiemu poznaniu štruktúry a funkcie spermie a jej jednotlivých častí. Spermia má v porovnaní s inými bunkami osobitnú stavbu, ktorá je podmienená jej špecifickým poslaním – aktívnym pohybom a fertilizáciou (Massányi et al., 2002).

Medzi spermiami hospodárskych zvierat existujú druhové rozdiely a tvarové odchýlky. Priemerná dĺžka spermie sa pohybuje v medziach 55 – 75 μm, priemerná dĺžka spermie

býka sa pohybuje od 70 – 75  $\mu\text{m}$ , dĺžka hlavičky 8,5 – 10,0  $\mu\text{m}$  a 4 – 4,25  $\mu\text{m}$  je šírka hlavičky. Na hlavičku pripadá 51% a na bičík 49% celkovej hmotnosti spermie (Lukáč et al., 2007).

Normálna spermia sa skladá z dvoch základných častí – hlavičky a bičíka. Pri oplodnení má splniť 3 základné úlohy: musí aktívne vyhľadávať vajíčko, preniknúť do neho a preniesť genetický materiál od otca. Splnenie týchto úloh umožňuje jej vhodné morfológické zloženie. Aktívny pohyb zabezpečuje bičík, na penetrácii sa zúčastňuje akrozóm a iné štruktúry. Genetické informácie sú uložené v jadrovej hmote (Lukáč et al., 2007). Priemerná dĺžka spermie býka sa pohybuje od 70 – 75  $\mu\text{m}$ , dĺžka hlavičky 8,5 – 10,0  $\mu\text{m}$  a šírka hlavičky 4 -4,5  $\mu\text{m}$  (Lukáč et al., 2007).

**Obrázok č. 1:** Schéma stavby spermie (Animal Reproduction, 1999)



### 1.2.1. Hlavička spermie (*caput spermii*)

Hlavička spermie má hlavnú úlohu najmä pri prenášaní otcovského dedičného materiálu umiestneného v nukleoplazme. Podľa Goulda et al. (1975) a Aalshetha a Saackeho (1985) je predný okraj hlavičky zhrubnutý a nazýva sa apikálny hrebeň.

Podľa Massányiho (1991) je cytoplazmatická membrána, ktorá obaľuje jadro dvojvrstvová. Jadrové póry, ktoré sú miestom výmeny materiálu medzi jadrom a cytoplazmou, sa v spermiiach nevyskytujú, okrem malého úseku v okolí tzv. bazálnych teliesok. Tieto telieska predstavujú malé množstvo fibrilárneho chromatinu uloženého na báze hlavičky. Ich význam je nejasný. Predpokladá sa, že v spermiiach cicavcov sú jediným miestom, kde je možná syntéza informačnej RNA. Bazálne telieska sa zistili v spermiiach býka, kanca, niektorých druhov opíc a niektorých hlodavcov. Nevyskytujú sa v spermiiach človeka a žrebca.

Hlavička spermie cicavcov je kompletne obklopená plazmatickou membránou a oddelená od bičíka charakteristickou zónou tzv. zadným prstencom, ktorá je miestom dotyku plazmatickej membrány s jadrovou. Hlavičku je možné rozdeliť na dve hlavné oblasti: akrozomálnu a postakrozomálnu. Akrozomálny región sa ďalej delí na dve podoblasti: prednú akrozomálnu oblasť a zadnú akrozomálnu oblasť nazývanú taktiež ekvatoriálny segment. Jadro je obklopené jadrovou membránou a akrozóm obklopujú dve membrány: vonkajšia a vnútorná akrozomálna membrána. Akrozóm kryje celú prednú časť hlavičky. Postakrozomálna oblasť je umiestnená v rozmedzí od zadného konca ekvatoriálneho segmentu až po oblasť zadného prstenca. Tento región obsahuje tzv. postakrozomálnu pošvu lokalizovanú medzi plazmatickou membránou a jadrovou membránou a býva tiež nazývaný *calyx*. Až na akrozóm sa priestor medzi jadrom a nad ním ležiacou jadrovou membránou súhrne nazýva perinukleárna téka. Molekuly tu obsiahnuté hrajú dôležitú úlohu nielen v procesoch formovania spermatickej hlavičky, ale i v priebehu oplodnenia (Toshimori a Chizuru, 2004).

Hlavička spermie býka má tvar tenisovej rakety. Predstavuje silne sploštený ovál, ktorý pri plošnej projekcii je širší na apikálnom okraji než pri báze hlavičky na mieste spojenia s bičikom. Na sagitálnom priereze má hlavička tvar pretiahnutého úzkeho klinu, ktorý je pri báze hlavičky najširší a postupne sa zužuje. Tvarom sa hlavička býka veľmi podobá hlavičke spermie barana a capa (Massányi, 1991). Elekrónovomikroskopické výskumy dokazujú, že hlavička spermie býka je skoro symetrická, pričom asymetrická hlavička sa pokladá za chorobný prejav a príčinu porúch plodnosti (Kojima, 1978).

Ideálne rozmery pre hlavičku spermie býka sú:

- Dĺžka: šírka 2:1
- Báza: šírka 1:2,8
- Najmenší rádus bázy: najväčší rádus bázy 1:1,3
- Dĺžka akrozómu: dĺžka hlavičky 1:1,9
- Uhlové rozmery pozdĺžnej osi: priečnej osi 97° (Gamčík a Zibrín, 1992)

Hlavička zrelej spermie sa skladá z jadra a akrozómu (Raven-Johnson, 1996). Jadro hlavičiek spermíí sa odlišuje od jadra somatických buniek tým, že má polovičný (haploidný) obsah DNA a ďalej tým, že chromatín nemá usporiadaný vo forme vlákien, ale vo forme kompaktnej masy. Jadrová tekutina sa v nukleoplazme spermíí nenachádza. Hlavička takto pripomína tzv. pyknotické jadrá. Strata tekutých častí z jadra sa prejavuje znížením mernej hmotnosti spermíí, ktorá sa po ich dozretí mení od 1,240 do 1,334. Cytofotometrické výsledky z merania DNA dokazujú, že intenzita sfarbenia jadra Feulgenovou reakciou sa

zvyšuje od vrcholu hlavičky ku jej báze, od ukazovateľa 0,2 – vrchol do 0,4 – báza (Massányi, 1991).

Hlavička pozostáva z nukleoplazmy, štruktúr nukleárneho pôvodu akrozomálneho systému a postakrozomálnej čiapočky (Kliment et al., 1983, 1989).

Akrozómová oblasť pokrýva akrozóm. Rozlišujeme na nej suboblasti (segmenty) a to: apikálny segment – apikálny hrebeň a hlavný alebo principiálny segment, ktorý sa ešte označuje ako *pars anterior* hlavičky a ekvatoriálny segment, ktorý sa ešte označuje ako *pars intermedialis*. Akrozóm je citlivý na osmotické zmeny vonkajšieho prostredia (Massányi et al., 2004). Akrozóm pokrýva prednú časť hlavičky spermie a nachádza sa medzi cytoplazmatickou a nukleárnou membránou, zaberajúc takmer 50% plochy hlavičky. Cytochemickým rozborom obsahu akrozómu sa zistili sacharidy, chemicky identifikované ako galaktóza, manóza, fruktóza, galaktosamín, glukosamín, kyselina sialová. Medzi akrozómové enzýmy sa počítajú hyalurodináza, akrozín, proakrozín, esterázy, neuromidázy, kyslé fosfatázy, fosfolipáza A, acylsulfatáza, kyslé proteinázy, kolagenáza (Kruger, 1996; Behre et al., 2000).

Postakrozómová oblasť – *pars posterior*. Je to hladká časť hlavičky medzi postakrozómovým prstencom, ktorú nepokrýva akrozóm ale pod cytoplazmatickou membránou existujúca postakrozómová čiapočka poskytujúca väčšiu rezistentnosť voči vonkajším vplyvom (Massányi, 1991). Postakrozómová čiapočka obaľuje zadnú časť jadra od ekvatoriálneho segmentu po bázu (asi 40% dĺžky jadra). Má kalíškovitý tvar, a preto sa nazýva kalíšok. Pozostáva z jednovrstvovej palisády mikrotubulov. Pri zadnom okraji jadra sa pripája k jadrovej a k cytoplazmatickej membráne (Kliment et al., 1989). Postakrozomálna čiapočka sa zvyrazňuje po impregnácii striebrom. Táto čiapočka predstavuje tenkú vrstvičku materiálu priliehajúceho tesne k cytoplazmatickej membráne.

Jadro (*nucleus*) vyplňa nukleoplazma a je v ňom dedičný materiál samčej pohlavnej bunky v kondenzovanej forme v podobe DNA. Jadro hlavičiek spermíí má polovičný (haploidný) obsah DNA a chromatín tvorí kompaktnú hmotu (Massányi et al., 2004). Je rezistentné na pôsobenie dezoxyribonukleázy a ľahko sa rozpúšťa v NaOH. V jadre sa okrem chromatínu (asi 45%) nachádza ešte bielkovina bohatá na arginín (Harrison et al., 2005). V nukleoplazme spermíí môžeme príležitostne pozorovať menšie alebo väčšie svetlé prázdne miesta, tzv. vakuoly. Vakuoly sa najčastejšie nachádzajú na apikálnom okraji a ekvatoriálnom segmente hlavičky spermie (Gamčík et al., 1992).

### 1.2.2. Bičiek spermie (*flagelum spermii*)

Bičiek spermie ako ústroj pohybu, sprostredkúva transport spermie na miesto oplodnenia. Dôležitú úlohu má pri tom mitochondriálny aparát, ktorý vyrába energiu (ATP) a komplex axiálnych vlákien ako miesto, kde sa táto energia mení na mechanickú t.j. na pohyb spermie (Gamčík a Zibrín, 1992). Podľa rozloženia niektorých charakteristických útvarov sa bičiek spermie rozdeľuje na centriolový, mitochondriálny, hlavný a koncový oddiel bičika (Lukáč et al. 2007).

Pohyblivosť spermíí je nevyhnutná na ich distribúciu v samičej pohlavnej sústave a na penetráciu vajíčka. Aj keď to nie je jediná vlastnosť potrebná na oplodnenie, dostupnosť jej hodnotenia sa stala v praxi jedným zo základných selekčných kritérií na hodnotenie kvality ejakulátov a ich výberu na umelú insemináciu (Massányi et al., 2004).

#### 1.2.2.1. Centriolový (implantačný) oddiel

Štrukturálne a vývojovo najdôležitejšou časťou spermie je centriolový oddiel, nazývaný tiež kľčok. Dva centrioly (proximálny a distálny) a segmentové chordy tvoria morfológický základ kľčka. Zo spomínaných centriol sa zachováva len proximálny, na ktorý sa upínajú segmentované chordy, ktorý tvorí hlavicu bičika (Rocha et al., 2006). Distálny centriol je rudimentárny, vzniká z neho axonéma (Massányi et al., 2004).

Medzi hlavičkou a bičíkom vzniká spojenie v podobe kľbu. Implantačná jamka hlavičky kopíruje implantačnú hlavicu bičika. Ďalšiu časť bičika tvorí komplex osových vlákien s charakteristickým usporiadaním. V strede komplexu sú duté vlákna a zvyšok 18 vlákien je v dvoch koncentrických kruhoch okolo nich.

Vnútorňý kruh je tvorený deviatimi dvojitémi vláknami (dupletmi). Z dupletov je vždy jedno vlákno duté tzv. element A a druhé plné, ktoré označujeme element B. Z každého elementu (A) vystupujú dvojramenné výbežky k elementu B.

Aj vonkajší kruh je tvorený deviatimi vláknami. Tieto vlákna sú vždy plné a omnoho hrubšie ako vlákna vnútorného kruhu. Tieto vlákna nazývame chordy (hladké). Hrúbka chordy distálnym smerom rýchlo klesá a napokon sa slepo zakončuje. Centrálné mikrotubuly a vlákna vnútorného okruhu prebiehajú celým bičíkom od distálneho centriolu až ku koncu bičika. Chordy nedosahujú ani koniec hlavnej časti bičika (Gamčík et al., 1992).

### 1.2.2.2. Mitochondriálny oddiel

Pokračovaním centriolového oddielu je oddiel mitochondriálny, nazývaný tiež oddiel spojovací. Je charakteristický prítomnosťou mitochondrií, ktoré sú stabilné, špirálovite usporiadané okolo hladkých chord a tvoria závitnicovú pošvu. Distálne je stredný oddiel ohraničený Jensenovým prstencom (*anulus*) ktorý sa na pozdĺžnych rezoch javí ako dva rovnoramenné trojuholníky (Gamčík et al., 1992).

Na spojovacom oddiele je osovú vlákno obalené ľavotočivo špirálovite prebiehajúcim vláknom, tzv. špirálovou pošvou, mitochondriálnou membránou tvorenou z rozdielneho počtu mitochondrií. Množstvo a dĺžka mitochondrií v spojovacom oddiele je závislá od druhu zvierat. Spermia býka má túto časť približne o 50% dlhšiu ako hlavičku. Špirálu tvoria tri vlákna, ktoré majú po 24 závitov, takže na jednu špirálu pripadá 24 – 25 mitochondrií. Posledný závit špirály je pri Jensenovom prstenci, ktorý na pozdĺžnych rezoch má tvar rovnoramenných trojuholníkov (Kliment et al., 1983).

Pružnosť a pevnosť bičíka zabezpečuje fibrózna mitochondriálna pošva, ktorá končí v koncovej časti bičíku a terminálny filament je už bez pošvy. V spojovacom oddiele je vyššia koncentrácia lipoproteínov. V tomto oddiele je lokalizovaný cytochrómový systém, ktorý plný dôležitú úlohu pre respiračné funkcie spermií (Gamčík et al., 1992).

### 1.2.2.3. Hlavný oddiel

Hlavný oddiel je najdlhšia časť bičíka a najdlhšia časť celej spermie vôbec. Pri býkovi meria asi 45  $\mu\text{m}$ . Pri porovnaní hlavného oddielu s mitochondriálnym je tento oddiel bičíka tenší. Jeho podkladom, rovnako ako v spojovacom oddiele, je komplex osových vláken (2 + 9 + 9) a do  $\frac{3}{4}$  dĺžky aj hladké chordy. Chordy v tomto oddiele spermie sú tenšie, neustále sa stenčujú až na nerovnakej výške slepo končia. V dôsledku neustáleho stenčovania približne  $\frac{1}{4}$  hlavného oddielu bičíka tvorí len samotná axonéma, je to pár centrálnych vláken – mikrotubulov a deviatich dvojítych vláken, ktoré sú usporiadané do kruhu (Gamčík et al., 1992).

Veľkosť hlavného oddielu bičíka určuje prítomnosť fibróznej pošvy. Tá pokrýva komplex osových vlákien. Podľa starších názorov vlákna tvorili súvislý celok, mali špirálovitý priebeh a vytvárali pošvu na spôsob špirály (z toho pochádza aj starší názov – *helix*). Podľa elektrónovomikroskopických poznatkov ani keratinoïdná fibrózna pošva hlavného oddielu nie je pravou špirálou, podobne ako mitochondriálna pošva, ale skladá sa z dvoch častí (elementov). Prvý element, nazývaný longitudinálny tvoria dve vlákna. Tieto vlákna prebiehajú paralelne s osovými vláknami bičíka a stoja navzájom proti sebe. Z oboch pozdĺžnych vlákien vystupujú priečne výbežky (rebrá), ktoré z oboch strán obopínajú osové

vlákna a vytvárajú súvislý kruh. Súbor všetkých priečných výbežkov predstavuje cirkulárny element fibróznej pošvy. Fibrózna pošva zabezpečuje súdržnosť osových vlákien, ale aj pevnosť a pružnosť potrebnú na kmitanie bičíka (Bóznér et al., 1992).

#### **1.2.2.4. Terminálny (koncový) oddiel**

Koncový oddiel bičíka pozostáva z osových vlákien obalených len cytoplazmatickou membránou. Plné vlákna dubletov sa v tomto úseku menia na duté a pravidelné usporiadanie, axonémy majú odlišnú štruktúru. Je to najdistálnejšia časť bičíka spermie.

Terminálny oddiel bičíka (terminálny filament) je dlhý asi 4  $\mu\text{m}$ , filamenty a koniec bičíka sú kryté iba jemnou blanou, chýba proteínová špirálová pošva a tak sa osová vlákna môžu uvoľniť v jednotlivé filamenty.

Odlišné je aj ultraštruktúrne zloženie tohto terminálneho oddielu. Plné osovú vlákno A sa už nenachádza v dupletoch, obidva duplety sú rúrkovité a prázdne, nie sú tu ani ramená čo má za následok rozpad presnej organizácie axonémy. Jednotlivé tubuly nerovnako vysoko končia, v druhej polovici koncového oddielu jeden z dupletov zaniká a tak môžeme pozorovať iba jednoduché mikrotubuly a ich počet a usporiadanie nie je konštantné (Lv et al., 2010).

Hlavičku a všetky oddiely bičíka pokrýva neprerušovaná cytoplazmatická membrána. V elektrónovom mikroskope sa javí ako dvojvrstvomá membránová jednotka. Cytoplazmatická membrána je veľmi citlivá na zmenu osmózy a ľahko sa poškodzuje. Pri porušení cytoplazmatickej membrány sa odкрývajú labilné fermentové systémy (akrozóm, mitochondriálny oddiel). Odumretím spermie vzrastá permeabilita cytoplazmatickej membrány. Tento jav sa využíva na diferenciálne farbenie živých a mŕtvych spermíí. Pri živých spermíách neprepúšťa cytoplazmatická membrána farbivo. Z tohoto dôvodu nereagujú živé spermie na farbu, ale mŕtve spermie sa sfarbujú na červeno, modro alebo fialovo, a to podľa druhu použitého farbiva. Táto metóda nedáva dobre reprodukovateľné výsledky, pretože už farbivo pôsobí nepriaznivo na cytoplazmatickú membránu spermíí a môže zmeniť jej permeabilitu. Ak je farbenie o niečo kratšie, všetky mŕtve spermie sa nefarbia a naopak, ak je farbenie dlhšie, sfarbujú sa aj živé spermie. Iné štúdie ukazujú, že zmena permeability bunkovej membrány spermíí vzniká aj za fyziologických podmienok v dôsledku kapacitácie (Bedford, 1983). Živé spermie inkubované určitý čas v maternici sa sfarbujú ako mŕtve. Zmena permeability cytoplazmatickej membrány spermíí vzniká aj pri ich zmrazovaní (Gamčík et al., 1992).

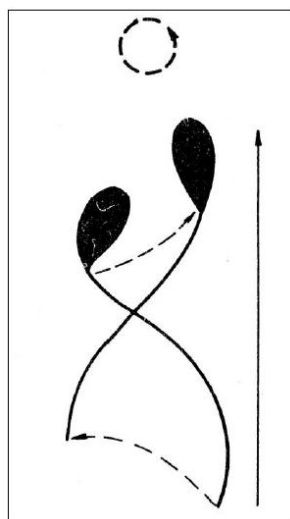


### 1.3. Metabolizmus a pohyb spermíí

Pohybovým ústrojom spermie je bičík a umožňuje penetráciu spermíí cez cervikálny hlien až na miesto oplodnenia – do hornej tretiny vajcovodu (Massányi, 1991).

Spermie sa pohybujú dopredu rotáciou. Hlavička a predná časť bičíka slúžia ako oporný bod, proti ktorému bičík vyvíja svoju hnaciu silu. Za 1 sekundu môže bičík urobiť 3 – 15 otáčok okolo pozdĺžnej osi. Súčasne sa pozdĺž bičíka šíria kontrakčné impulzy. Vlny, ktoré počas ohybových cyklov vznikajú sa zvyšujú postupne k distálnemu koncu bičíka. Hlavička rotuje okolo vlastnej pozdĺžnej osi tak, že všetky elementy bičíka nevyvíjajú presne pohyb v rovnakej rovine, ale počas všetkých kontraktálnych cyklov. Spermie s poškodeným pohybovým systémom a energeticky vyčerpané nerotujú (Massányi et al., 2002).

**Obrázok č. 2:** Schéma pohybu spermie a bičíka (Kliment et al., 1985)



Na základe súčasných poznatkov o bičíku, ako aj ďalších experimentov sa utvorila predstava o mechanizme pohyblivosti spermie. Spermie dozrievajú a sú schopné rozvinúť svoju pohyblivosť až po pobyte v prisemenníku. Tento proces sa opisuje ako epidydimálne dozrievanie. Prisemenník je dôležitý orgán s proteosyntetickou aktivitou jeho epitelu. Zmeny na povrchu cytoplazmatickej membrány v prisemenníku sú impulzom nielen na rozvinutie pohybovej aktivity, ale aj na získanie schopnosti spermíí prilnúť na povrch *zona pellucida*, čo predstavuje jeden zo základných predpokladov na uskutočnenie fertilizácie (Kasker, 1994).

Základnou štruktúrou, zodpovednou za pohyblivosť, je axonéma a je bežná vo väčšine bičíkovcov a bunkách cílií od prvokov až po človeka s relatívne malými modifikáciami. Táto revolučná stabilita indikuje, že axonemálne komponenty majú dostatočnú rozmanitosť v štruktúre a funkcii prispôsobiť sa odlišným typom pohyblivosti bičíkov a cílií. Axonéma sa skladá z deviatich periférnych mikrotubulových dupletov a z dvoch centrálnych mikrotubulov ktoré riadia celú dĺžku bičíka (Linck, 2001; Inaba, 2003;

Turner, 2003). Dyneínové ramená projektujú z mikrotubuly A smerom k mikrotubule B priľahlé dupletom ktoré sú najdôležitejšími hráčmi v aktívnom kĺzaní mikrotubúl. Susedné mikrotubulové duplety sú navzájom pripojené prostredníctvom nexínových spojok (Bozkurt a Wooley, 1993) a radiálne lúče poukazujú plášť obklopený dvomi singletovými mikrotubulami v strede axonémy (Smith a Yang, 2004).

Hoci zmeny dozrievania spermíí prebiehajú najmä v hlavičke spermie, treba zdôrazniť, že podstatne sa mení zloženie glykoproteínového obalu bičíka. Tieto prebiehajúce zmeny majú význam vo vzťahu k motilite a plnia úlohu pri nadväzovaní kontaktu vajíčka so spermiou (Massányi, 1991).

Aktivita spermíí sa vyjadruje ich pohybom. Za normálny fyziologický pohyb sa považuje postupný pohyb spermíí dopredu za hlavičkou. Medzi nefyziologické formy pohybu spermie patrí nepohyblivosť, pohyb okolo hlavičky, pohyb do kruhu, retrográdny pohyb, trhavý pohyb a kolísavý, oscilačný pohyb (kmitanie bičíka na mieste, občasné kolísanie celej spermie) (Věžník et al., 2004).

Aktivita spermíí sa posudzuje u každého ejakulátu bezprostredne po odbere, najčastejšie mikroskopom s fázovým kontrastom, pri teplote  $39 \pm 1^\circ\text{C}$ , pri 200 – 300 násobnom zväčšení. Hodnotí sa percento spermíí s progresívnym pohybom a percento spermíí s abnormálnym pohybom (Věžník et al., 2004).

Gamčík et al. (1992) uvádzajú, že charakteristickým prejavom života spermíí a ich fertilizačných vlastností je látková premena a pohyb. Metabolické procesy prebiehajúce v spermíách sa využívajú hlavne na zabezpečenie pohybu spermíí. Kvalita metabolických procesov závisí od energetických zdrojov, t.j. množstva kvality substrátov a fermentov nachádzajúcich sa v spojovacej časti bičíka spermie. Energia potrebná pre pohyb sa akumuluje v mitochondriálnej pošve bičíka a získa sa štiepením ATP (Massányi et al., 2002).

Prevládal názor, že čím rýchlejší je pohyb, tým kvalitnejšia je spermia. Po poznaní procesu dekapitácie je však pre fertilizačnú schopnosť spermíí významnejší časový interval, po ktorý si spermie uchovávajú svoj progresívny pohyb. Pri veľmi rýchlom a intenzívnom pohybe spermie rýchlo strácajú svoje enzýmy a taký ejakulát musí byť po odbere čo najrýchlejšie uvedený do anabiózy (Kliment et al., 1983).

Pri pohybe sa odbúravajú glycidy (fruktolýzou, glykolýzou) a vytvárajú sa kyselina pyrohroznová, kyselina mliečna a  $\text{CO}_2$ . Proces respirácie prebieha iba za prítomnosti kyslíka. Pri tom dochádza postupne k poklesu hodnoty pH ejakulátu a k následnému zastaveniu pohybu spermíí. Energia uvoľňovaná pri odbúraní fosforylovaných cukrov sa kumuluje v makroenergetických väzbách adenozítrifosfátu (ATP). Iba 40% voľnej energie, ktorá sa môže uvoľniť pri premene glukózy na kyselinu mliečnu, môže byť spermiami využitá. Pri respirácii môžu spermie získať energetické zdroje za prítomnosti kyslíka premenou kyseliny mliečnej a kyseliny pyrohroznovej za vzniku  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  (exogénne

dýchanie). Pri nedostatku exogénnych zdrojov môžu spermie získavať energiu iba oxidáciou vnútrobunkových energetických zdrojov (endogénne dýchanie). Strata energetických zdrojov je rýchla a preto musí ejakulát využívať aj glycidy, kyselinu mliečnu a plazmalogén v uterinnom prostredí, inak by nemohli uskutočniť proces dekapitácie. Pri biochemickej neadekvátnosti (napr. nízka hladina glukózy u vysokoúžitkových kráv v popôrodnom období) sa podstatne znižuje doba prežívateľnosti spermií v samičom pohlavnom aparáte (Kliment et al., 1989).

Bielkovina dyneín je zložka, ktorá zodpovedá za premenu chemickej energie na mechanický pohyb bičíka. K vlastnému pohybu dochádza kĺzaním mikrotubulov prostredníctvom ich dyneínových ramien. Radiálne spojenia centrálnych mikrotubulov s dubletmi zodpovedajú za pohyb a kmitanie bičíka. Vonkajšie hrubé fibrily hrajú iba pasívnu úlohu pri uskutočňovaní pohyblivosti a proximálny centriol sa nepovažuje za kinetické centrum pohyblivosti (Satir, 1974; Amelar, 1980).

V minulosti sa predpokladalo, že vlastná pohyblivosť je jediným faktorom, ktorá transportuje spermie v samičej pohlavnej sústave. Skutočnosť, že vo vajcovode boli zistené pohyblivé spermie skôr, ako bolo predpokladané podľa počítanej rýchlosti pohybu, dokazuje, že sú tu ďalšie faktory mimo vlastnej pohyblivosti spermie, ktoré sú dôležité pre transport spermie. Avšak aj napriek týmto skutočnostiam sa dnes všeobecne uznáva, že pohyblivosť spermií je nevyhnutá na ich distribúciu v samičej pohlavnej sústave a na penetráciu do vajíčka. Pre dobrú dostupnosť sa stala v praxi jedným z najdôležitejších kritérií hodnotenia kvality ejakulátov (Massányi et al., 2002).

Na metabolizmus, pohyblivosť a schopnosť oplodnenia majú vplyv rôzne faktory (Gamčík et al., 1992). Už reprodukčný proces samcov ako zložitý biologický systém je zraniteľný mnohými fyzikálnymi, chemickými a environmentálnymi faktormi, ktoré priamo alebo nepriamo ovplyvňujú reprodukčné schopnosti hospodárskych zvierat. Na ich vplyve majú výrazný podiel aj ťažké kovy resp. stopové rizikové prvky, ktoré zasahujú do najcitlivejších orgánových systémov resp. pohlavného systému (Lukáč et al., 2009).

**Tabuľka č. 2:** Rýchlosť pohybu spermií (Gamčík et al., 1992)

Druh	Priemerná rýchlosť pohybu		
	$\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	$\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$	$\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$
<b>Býk</b>	<b>94 – 150</b>	<b>5,64 – 9,00</b>	<b>350 – 540</b>
Baran	77	4,60	276
Žrebec	87	5,22	312
Kanec	43	2,55	153
Králík	18 – 33	1,1 – 2,0	66 – 120
Pes	43	2,58	155
Muž	20 – 50	2,0 – 3,0	120 – 180

#### 1.4. Abnormálne formy spermií

Spermie – samčie pohlavné bunky prekonávajú počas vývoja spermií celý rad zmien. Tieto zmeny sú prirodzeným odpadom v podobe rozličných morfológicky zmenených foriem spermií. Za normálnych okolností ich frekvencia nemá presahovať pri býkoch viac ako 15 – 20% morfológicky zmenených spermií. Z celého množstva takýchto spermií nesmú prekročiť negeneratívne formy 5%, tvarové zmeny hlavičky 5% a zmeny na akrozóme 10%. Nezrelé spermie (zadržaná protoplazmatická kvapka na krčku alebo spojovacom oddieli) nesmú prekročiť 2% (Gamčík et al., 1976).

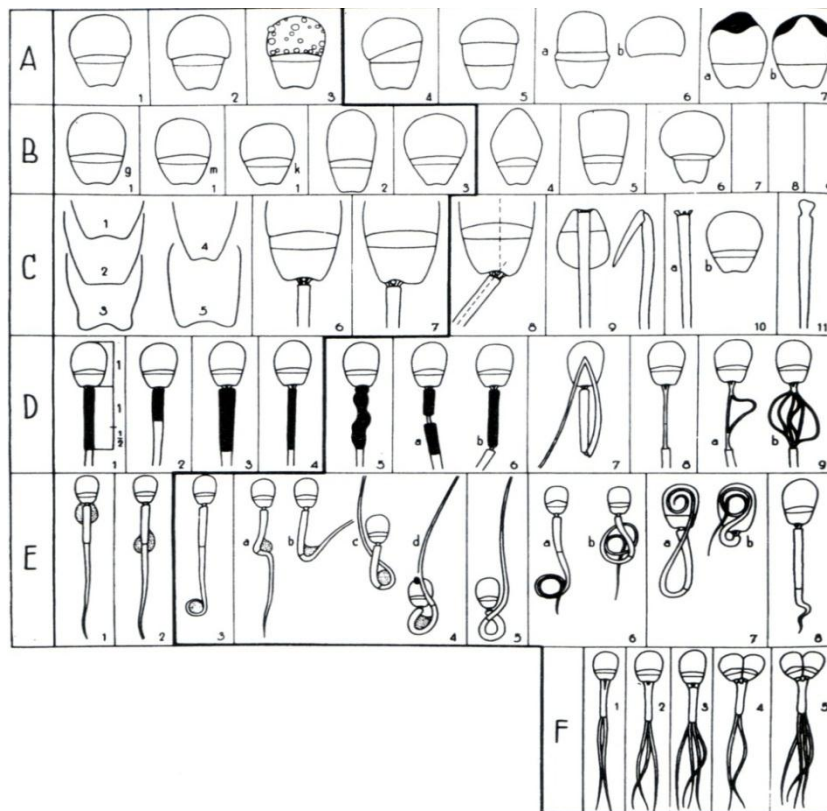
Pri vzniku defektných spermií sa uplatňuje vplyv mnohých činiteľov toxicko-infekčného pôvodu. V závislosti od intenzity mechanizmu a miesta ich účinku môže nastať úplná porucha v produkcii spermií s následnou aspermiou alebo oligospermou, prípadne zvýšené tvorenie defektných spermií. Podľa miesta tvorenia alebo pasáže spermií možno rozdeliť zmeny v morfológii na primárne a sekundárne.

Primárne zmeny vznikajú počas spermatogenetického cyklu až po príchod spermií do chvosta prisemenníka. Tieto zmeny poukazujú na poruchy semenotvorného a vývodného systému. Medzi primárne zmeny sa zaraďujú degeneratívne formy spermií, zmeny tvaru hlavičky (napr. hruškovitá, vajcovitá, citrónovitá a podobne), zmeny v nukleoplazme spermií (nerovnomerné rozdelenie DNA), zmeny na akrozóme, napr. perzistujúci akroblast, tvarové zmeny na mitochondriálnom oddiele bičika spermie, vývojové anomálie spermií a podobne.

Sekundárne zmeny vznikajú pri dlhšom pobyte spermii v chvoste prisemenníka. Sem zaraďujeme aj zmeny, ktoré vznikajú v momente ejakulačného reflexu až po posúdenie ejakulátu a artefakty vyvolané nesprávnym zhotovením preparátu. Sekundárne zmeny sú prejavom kvalitatívnych zmien v semennej plazme. Ich množstvo závisí od správnosti dodržiavania techniky prípravy preparátu, teploty prostredia (šok z chladu), ako aj od technologického postupu pri riedení a chladení semena. Medzi tieto zmeny patrí napučiavanie, uvoľnenie, roztrhanie akrozómu a hlavičky, roztrhaný bičík, torzie bičíka rozličného stupňa a nezrelé formy spermii (Gamčík et al., 1976).

**Obrázok č. 3:** Morfológická klasifikácia spermii optickým mikroskopom (Massányi, 1991)

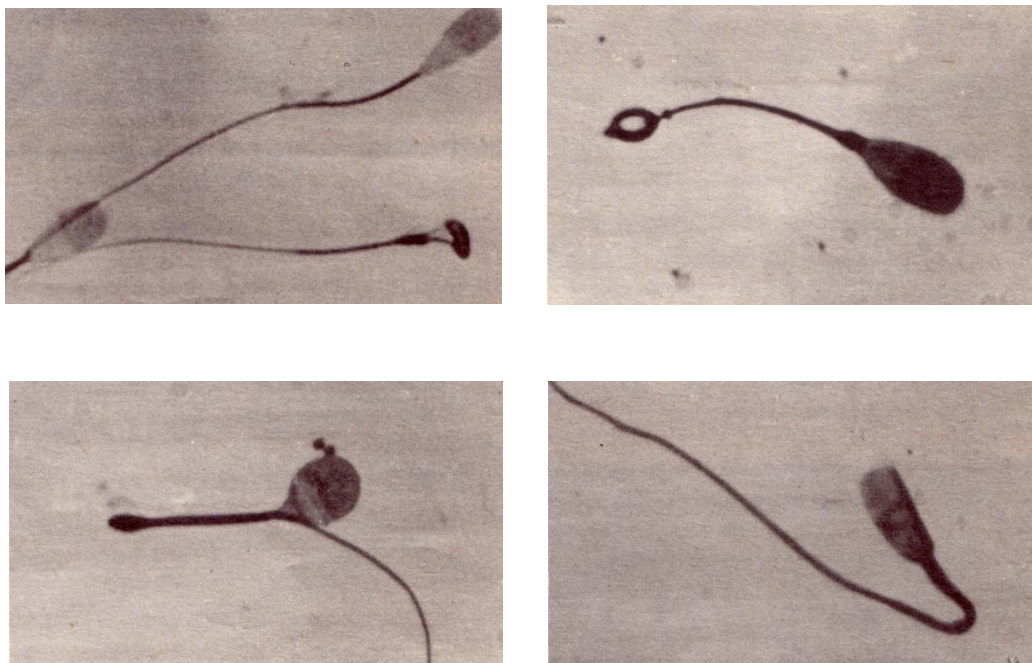
Hrubá čiara oddeľuje normálne (vľavo) od abnormálnych foriem: A – akrozómová čiapka: 1 – normálna, 2 – veľmi široká, 3 – granulózná, 4 – široká, 5 – malá, 6 – uvoľnená, 7 – deformovaná. B – tvar a veľkosť hlavičky: 1g – hlavička zväčšená, 1m – normálna, 1k – zmenšená, 2 – pretiahnutá, 3 – hruškovitá, 4 – kopijovitá, 5 – lopatkovitá, 6 – bankovitá. C – báza hlavičky a křčok: 1 – báza hlavičky normálna, 2 – lineárna, 3 – rozšírená po okrajoch, 4 – úzka, 5 – široká, 6 – křčok symetrický, 7 – excentrický, 8 – paraxiálny, 9 – retroaxiálny, 10 – 11 – ulomený (genetického pôvodu). D – mitochondriálny oddiel: 1 – normálny, 2 – krátky, 3 – široký, 4 – tenký, 5 – deformovaný, 6 – prerušený, 7 – poskladaný, 8 – axiálny typ, 9 – fibrilárny typ. E – bičík: cytoplazmatická kvapka – 1 – na křčku v proximálnej časti, 2 – na konci spojovacieho oddielu v distálnej polohe, 3 – otáčanie bičíka okolo cytoplazmatickej kvapky na konci bičíka, 4 – ohyby bičíka súvisiace s cytoplazmatickou kvapkou, 5 – špirálovite ohnutý bičík, 6 – kľučkovite otočený bičík, 7 – bičík uložený na hlave, 8 – rudimentárny bičík. F – teratómy: 1 – zdvojený bičík, 2 – trojitý bičík, 3 – štyri bičíky, 4 – zdvojená hlavička, 5 – dve hlavičky so štyrmi spoločnými bičíkmi.



### 1.4.1. Degeneratívne (teratoidné) formy spermíí

Tento druh malformácií zahrňuje spermie, ktoré nemajú vyvinutý typický tvar hlavičky, hlavička sa abnormálne silne farbí, tvarove je asymetrická, abnormálne malá a spermie s viacerými hlavičkami. Rovnako sem patria spermie, ktoré majú atypický tvar bičíka (vakovitý, kyjovitý, guľovitý) a výrazne tmavú vnútornú štruktúru, ako aj spermie s viacerými bičíkmi. Teratoidné spermie sa objavujú ako odpad (nepodarok), ktorý vzniká pri produkcii spermíí počas metamorfózy spermatídu na spermie. Ak sa vyskytuje viac ako 5% teratoidných foriem spermíí spolu s ďalšími primárnymi zmenami, ide o vážnejšiu poruchu spermatogenézy.

**Obrázok č. 4:** Teratoidné malformácie postihujúce všetky časti spermie (Gamčík a Kozumplík, 1984)



### 1.4.2. Zmeny v tvare hlavičky

Zmeny sa môžu prejaviť v tvare usporiadania akrozomálneho systému, v tvare, veľkosti hlavičky (pri nesprávnom obsahu DNA) a vo forme jej bázy. Na nerovnomerné rozdelenie DNA poukazuje malá a veľká hlavička. Soderquist et al. (1991) poukazujú na to, že zmeny na hlavičke spermíí predstavovali 3,8% zo všetkých zmien pozorovaných u 47 býkov čierostrakatých švédskych, ale predstavovali iba 1% zo všetkých spermíí. Petac a Kosec (1989) vo svojich výsledkoch poukazujú na to, že z 9,8% všetkých abnormálnych spermíí malformácie hlavičky predstavovali 4%.

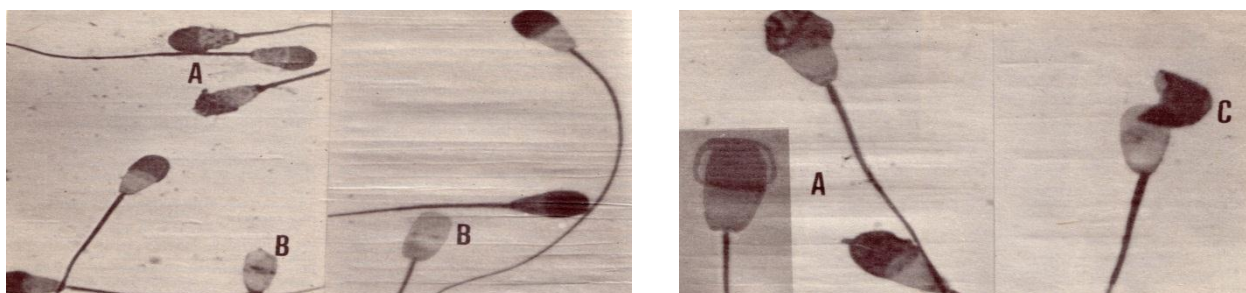
Pri niektorých vírusových pohlavných infekciách možno pozorovať vyššie % malformácií hlavičiek spermíí, napríklad zúžené, hruškovité, oválne, citrónovité hlavičky.

### 1.4.3. Zmeny na akrozóme

Vonkajšia cytoplazmatická membrána a akrozomálny systém sú veľmi citlivé na osmotické zmeny vonkajšieho prostredia. Vyšší počet malformácií spôsobuje proces hlbokého zmrazovania. Najčastejšie ide o zvlčený akrozóm, rozličný stupeň pučania akrozómu, vlnovité zriadenie okraja akrozómu a vakuoly. Pri prasknutí napučaného akrozómu sa akrozomálny obsah vyleje. Zvlčený akrozóm sa vyskytuje sekundárne pri stárnutí spermíí. Niekedy zostáva ako zvyšok po zvlčenom akrozóme polmesiačikovitý útvar označený ako perzistencia ekvatoriálneho segmentu. Medzi ďalšie zmeny na akrozóme súvisiace s nerovnomerným rozdelením akrozomálnej hmoty patria kondenzácia k prednému okraju, granulácia akrozómu, perzistujúci akroblast. Perzistujúci akroblast sa zaraďuje k hereditárnym chybám akrozómu. Ide o pretrvávajúcu vývojovú formu akroblastu (Gamčík a Kozumplík, 1984). Oettle a Soley (1988) označujú túto zmenu ako lipping. Kondenzácia akrozómovej hmoty k prednému okraju hlavičky vzniká nahromadením akrozómovej hmoty vo forme tmavo zafarbeného pásu. Väčšinou tieto anomálie vznikajú pri vírusových infekciách.

**Obrázok č. 5:** Malformácie akrozómu hlavičky spermie (Gamčík a Kozumplík, 1984)

A – rozličný stupeň napučania akrozómu, B – hlavička spermie bez akrozómu, C – uvoľnený akrozóm



### 1.4.4. Zmeny vo vnútornej štruktúre nukleoplazmy

Malformácie zadnej časti nukleoplazmy sa najčastejšie vyskytujú v podobe nerovnomerného zafarbenia a nerovnomerného rozdelenia jadrovej hmoty (diploidná spermia). Patria sem spermie, ktoré sa tvarom odlišujú od normálne formovaných spermíí, napríklad bunkové útvary s nedostatočne diferencovanou hlavičkou. Na diagnostiku týchto

zmien je najvhodnejší elektrónový mikroskop. Do skupiny zmien vo vnútornej štruktúre nukleoplazmy patria aj spermie s granulovanou nukleoplazmou, pravé vakuoly a mikrovakuoly.

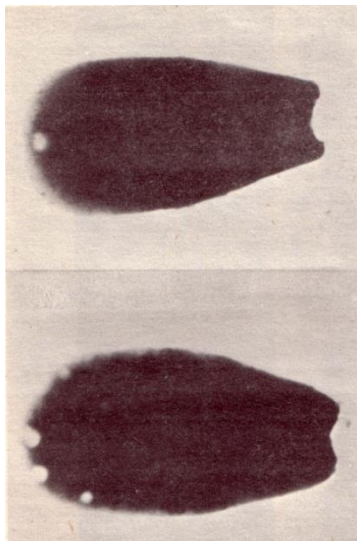
Granulovaná nukleoplazma je porucha diferenciácie nukleoplazmy na začiatku fázy kaudálnej manžety.

Vakuoly sa dajú identifikovať optickým mikroskopom. Zaraďujeme ich medzi primárne zmeny nukleoplazmy. Najčastejšie sa nachádzajú na apikálnom okraji nukleoplazmy a v ekvatoriálnom segmente hlavičky spermie. Veľké množstvo vakuol sa vyskytuje pri poruchách spermatogenézy, predovšetkým zápalového pôvodu. Z fyziologického hľadiska sa frekvencia spermií s obsahom vakuol od 3 do 15% považuje za normálnu.

Mikrovakuoly patria k ultraštruktúrnym vývojovým anomáliám jadra. Ich uloženie je náhodné, najčastejšie však pri báze hlavičky. Sú buď prázdne alebo obsahujú jemný vláknitý materiál.

Na báze hlavičky sa môžu vyskytovať tieto odchýlky: plošná hlboko vtiahnutá, široká, úzka báza a abaxiálne nasadenie bičíka. Tieto malformácie vznikajú buď pri konečnej fáze spermatogenézy alebo pri nepravidelnom nahromadení chromatinu.

**Obrázok č. 6:** Vakuoly v hlavičke býka (Gamčík a Kozumplík, 1984)



#### **1.4.5. Diploidné spermie**

Diploidné spermie sú spermie s hrubšou hlavičkou a dvoma bičíkmi. Nachádzajú sa v ejakuláte normálne fertílých býkov, priemerne 0,104%. Hlavičky majú dvojnásobný obsah



DNA. Príčinou vzniku týchto defektov nukleoplazmy je nerovnomerné rozdelenie jadrovej hmoty počas spermatogenézy.

#### **1.4.6. Abnormality na bičíku spermie**

Dôležité sú najmä anomálie na mitochondriálnom oddiele, pričom najčastejšou malformáciou je jeho skrútenie, predĺženie, zhrubnutie, zúženie a prerušenie.

Anomália, pri ktorej sa hlavičky oddelia od bičika, sa nazýva dezintegrácia spermíí (dekapitácia) a vyvoláva obyčajne úplnú neplodnosť. Môže vzniknúť ako následok zápalových procesov prisemenníkov alebo sa považuje za genetickú chybu, ktorá sa najčastejšie prejavuje pri použití príbuzenskej plemenitby. Vzniká pôsobením jednoduchého recesívneho génu viazaného na pohlavie. Tieto zmeny môžu vznikáť aj pri spracovaní ejakulátov. Proces dezintegrácie vzniká tým, že filamenty, ktoré spájajú priestor medzi kapitolom a bazálnou platňou, sú hlavné štruktúry zodpovedajúce za spojenie hlavičky s bičíkom. Predpokladá sa, že príčinou je defektná syntéza proteínu (Gamčík et al. 1992).

Malformáciu mitochondriálneho oddielu možno nájsť aj vo forme prerušenia niektorého jeho úseku, ďalej ako holé osovú vlákno alebo nitkovite vyvinutú mitochondriálnu špirálu. Všetky tieto anomálie porušujú pohybovú aktivitu spermíí a podľa percenta ich výskytu vyvolávajú aj fertilizačné poruchy. Majú väčšinou dedičnú etiológiu.

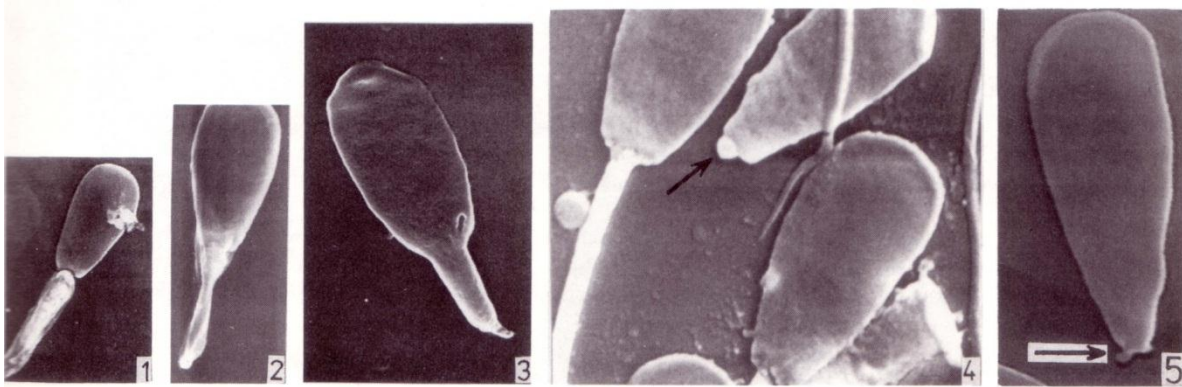
Do skupiny dedične podmienených anomálií mitochondriálnej špirály patrí vývrtkový defekt (corkscrew-sperm defect). Pri tejto malformácii je spojovací oddiel nerovný a mitochondriálny materiál je v ňom nepravidelne rozdelený. V mnohých postihnutých bunkách sa vyskytujú perzistujúce proximálne kvapky. Štúdiom ultrarezov sa zistilo, že ide o poškodenie abaxiálneho fibrilárneho súboru v dôsledku uvoľnenia mitochondriálnej špirály. Cran a Massányi (1988) vidia príčinu tejto anomálie v tom, že mitochondrie sa na niektorých častiach stredného oddielu akumulujú do chumáčov, na niektorých chýbajú, takže mitochondriálny oddiel nadobúda tvar vývrtky.

Apláziu abaxiálneho fibrilárneho súboru bičika spermie býka predstavuje anomália Dag defekt, charakterizuje otočenie bičika rôzneho stupňa.

Pri býkoch sa opísal sterilizujúci defekt pahýľa bičika (tail stump defect), ktorý sa v ultraštruktúre prejavuje ako malá stopka namiesto bičika, pyriformná kvapka, rudimentárny bičík alebo kyjakovitý bičík dĺžky 2 – 3  $\mu\text{m}$  (Vierula et al., 1983; Ariola et al., 1985).

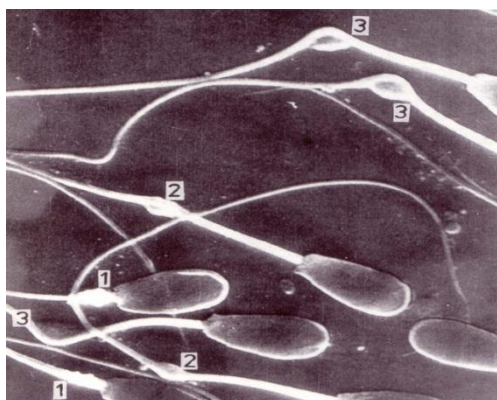
**Obrázok č. 7:** Rôzne stupne vývoja bičíkov (Massányi, 1991)

1 – neúmerne krátky (8,2  $\mu\text{m}$ ) a zhrubnutý (2,0  $\mu\text{m}$ ) bičík. Rozmery hlavičky sú normálne (dĺžka 8,4 a šírka 4,4  $\mu\text{m}$ ). REM 2150x. 2 – defektný bičík dlhý 5,67  $\mu\text{m}$ . REM 3000x. 3 – krátky pahýľ bičíka dĺžky 3,0  $\mu\text{m}$ . REM 5400x. 4 – vyvinutý je len kýpeť bičíka (šípka). Hlavička má rozmery 8,4  $\mu\text{m}$  dĺžky, najväčšiu šírku 3,8  $\mu\text{m}$ , teda je úzka. REM 4250x. 5 – vyvinul sa iba pahýľ bičíka (šípka). Rozmery hlavičky sú 9,4  $\mu\text{m}$  dĺžky, najväčšia šírka 3,7  $\mu\text{m}$ . Ide o dlhú a úzku hlavičku, veľmi zúženú v báze. Býčia spermia. REM 3600x.



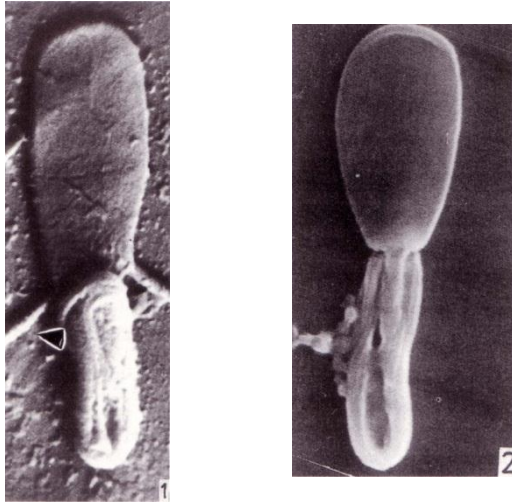
Do tvarových zmien patria zdvojené, ztrojené bičíky, kde zmena má testikulárny pôvod. Torzie, flexie rôzneho stupňa sú tiež dôležitou zmenou spermíí, kľučkovite otočený bičík, nalomený bičík. Ukázalo sa však, že k flexii dochádza najčastejšie v obsahu cytoplazmatickej kvapky v prisemenníku. Časť flexií môže prejsť do formy anteflexie (anterioflexie) bičíka spermie (Massányi, 1988). Považuje sa za prvý stupeň formovania vývrtiek bičíkov (Oettle a Soley, 1988). Takéto spermie prejavujú pohyblivosť, hoci nefyziologickú. Ide o mechanickú poruchu pohyblivosti.

**Obrázok č. 8:** Medzi tvarové anomálie patria rôzne flexie bičíkov (Massányi, 1991)



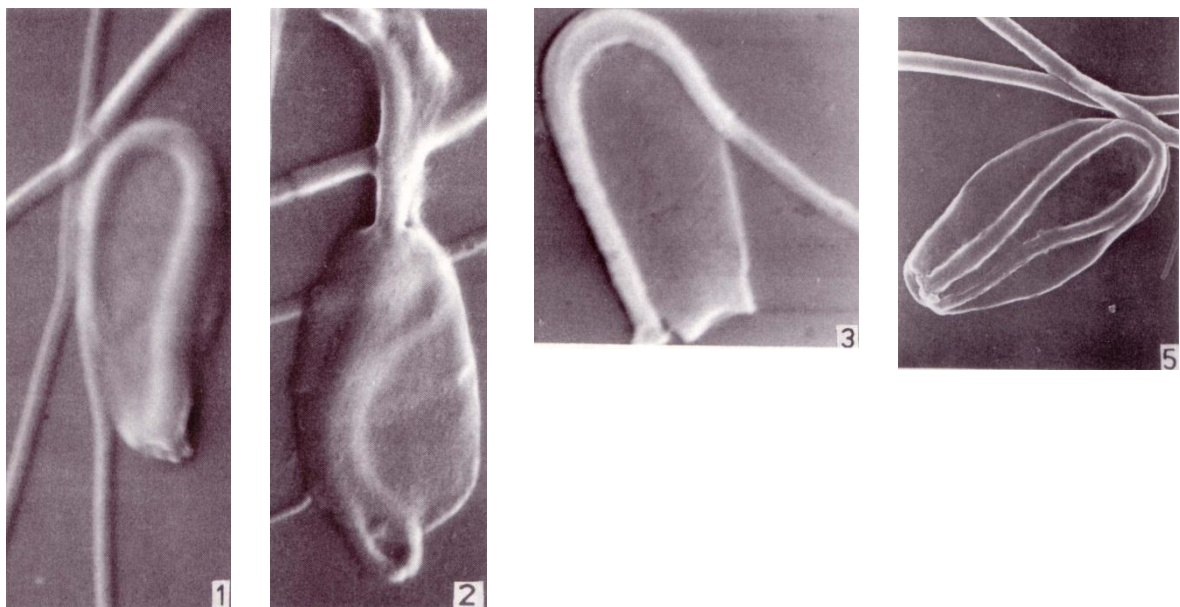
Stočenie bičíkov do kľbka za hlavičkou reprezentuje ďalšie štádium tvarových zmien bičíka. Takéto spermie strácajú pohyblivosť.

**Obrázok č. 9:** Mnohonásobne otočený bičík kančej spermie (Massányi, 1991)



Ďalšiu kategóriu zmien v tejto skupine charakterizuje prilnutie bičíka k hlavičke do tzv. juxtapozície. Pozorovania ukázali, že bičík prilne vždy iba k jednej strane hlavičky a je obalený v spoločnej cytoplazmatickej membráne s hlavičkou.

**Obrázok č. 10:** Juxtapozícia hlavičky a bičíka s rôznymi formami otočenia bičíka na jednej strane hlavičky (Massányi, 1991)



V úseku strednej časti spermie sa vyskytujú anomálie spočívajúce v abnormálnom spojení bičíka vo forme excentricky abaxiálne nasadeného bičíka. Bičík nie je umiestnený centrálnne v osi hlavičky, ale sa nachádza pri jednej strane bázy hlavičky. Táto zmena

vyvoláva neplodnosť tým, že spermie nemajú fyziologický pohyb. Tento vplyv na neplodnosť opisuje vo svojej štúdií Bartt (1989), ktorý posudzoval ejakuláty od 1 049 býkov.

#### 1.4.7. Nezrelé spermie

Do skupiny týchto malformácií patria spermie so zadržanou protoplazmatickou kvapkou, ktoré pochádzajú z vývojového štádia spermatogenetického cyklu. Predpokladom bývajú zmeny na cytoplazmatickej membráne, v obsahu alebo predčasnej aktivácii lyzozómových enzýmov. Spermie s cytoplazmatickou kvapkou v ejakuláte sa definujú ako nezrelé. Rozoznávame proximálnu polohu kvapky (na centriolovom oddiele) a distálnu polohu (distálna časť mitochondriálneho oddielu). Prítomnosť cytoplazmatickej kvapky bráni pohybu spermie. Ich zvýšené množstvo v proximálnej polohe môže negatívne ovplyvňovať fertilitu. Pri prežúvavcoch s normálnou plodnosťou sa vyskytuje v 2 – 3% prípadov. Existujú určité rozdiely podľa druhu zvierat.

Ďalším prejavom nezrelých spermií je zvýšený výskyt vývojových spermatogenetických foriem – spermatogónie, spermatocyty I. a II. radu a spermatidy. Ich väčšie množstvo poukazuje na poškodenie semenotvorného epitelu, nedostatky v exploatácii a poruchy v transformácii spermií.

Kvalitatívnym štúdiom morfológicky zmenených spermií v ejakuláte sa zaoberali mnohí autori. Terawaki et al. (1991) uvádzajú, že celkový priemer abnormálnych spermií bol 9,1% pri ejakulátoch získaných od holsteinských býkov. Najčastejšie zmeny boli pozorované na hlavičke 1,4%, krčku 3,1%, stredovej časti 4,2% a koncovej časti bičíka 3,0%. Salah (1992) uvádza, že najčastejšie zmeny sa vyskytli na bičíkoch a to zvinuté a nalomené bičíky. U kancov Vekerle (1987) zistil najčastejšiu abnormalitu spermií na proximálnej a distálnej časti bičíka, pričom výskyt týchto zmien sa pohyboval od 10 do 30%. Krajňák (1983) pri pozorovaní kancov plemien biela ušľachtilá, duroc a landras zistil percentuálny výskyt abnormálnych spermií 18,3; 13,5; 15,55 a spermií s excentricky nasadeným bičíkom 34,51; 22,4; 32,25. Na inseminačnej stanici býkov Massanyi et al. (1992) zistili priemerné percento výskytu morfológicky abnormálnych spermií 7,21%. Medzi hlavné zmeny patrili dezintegrácie hlavičky 31,02%, kľučkovité stočenie bičíka 12,39% a torzo 7,39% z celkového počtu zmien.

**Obrázok č. 11:** Spermie býka s protoplazmatickými kvapkami (nezrelé spermie) (Gamčík a Kozumplík, 1984)



### **1.5. Vplyv vonkajších spermíí na stavbu spermíí**

Pri vzniku defektných spermíí sa uplatňuje vplyv celého radu činiteľov toxicko-infekčného, fyzikálno-chemického, alimentárneho a genetického pôvodu.

#### **1.5.1. Toxické vplyvy**

Na živé organizmy pôsobí prostredie rôznymi toxickými vplyvmi. Dnes poznáme mnohé látky, ktoré ovplyvňujú reprodukčné schopnosti. Treba vedieť kvalitatívne rozlíšiť, ktoré štádiá spermatogenézy sú citlivé na špecifické látky. Najčastejšie sú postihnuté rýchlo sa deliace spermatogónie. So zvyšujúcim trendom chemizácie poľnohospodárstva sa musíme naučiť odhadnúť potencióálnu reprodukčnú toxicitu používaných chemikálií, exhalátov, aktívnych a iných látok. Príkladom môžu byť práce viacerých autorov ako Courtensa et al. (1980), ktoré dokazujú poškodenie morfogénzy spermatíd býkov po podávaní etyléndibromidu. Najviac poškodené bolo jadro, perinukleárna substancia, perinukleárny prstenec a akrozóm. K významným záverom dospel Evenson (1993a) vo svojich výskumoch, kde poukazuje na vplyvy určitých látok na spermatogézu. Napríklad u myší dochádza vplyvom ureázy k zabráneniu syntézy DNA a k zvýšenej tvorbe abnormalít hlavičiek spermíí. Metyl metánsulfát (MMS), alkylátcystém skupiny – SH v protamínoch spermíí destabilizuje chromatickú štruktúru spermíí a vedie k rozbitiu chromozómov a mutáciám. Ďalšie výskumy (Evenson et al., 1993b) poukazujú na to, že etylmetán sulfonát, indukovaný alkylát rozvíjajúcich sa spermíí, zapríčiňuje stres chromatickej štruktúry, následne dochádza k rozrušeniu DNA, čo sa vzťahuje na dominantné, latentné mutácie. Hemavathi (1993) zistil výrazné mutagénne a karcinogénne účinky bežne používaných fungicídov Ziram, Thiram a Dithane M45. Ťažkými kovmi a ich toxicitou sa

zaoberalo mnoho autorov. Dokázalo sa, že kadmium vyvoláva nekrózu parenchýmu semenníka ako dôsledok ischemie, poškodením krvného riečišťa semenníka (Massányi et al., 1991).

### **1.5.2. Infekčné látky**

Pri niektorých vírusových pohlavných chorobách možno pozorovať vyššie percento malformácií hlavičiek spermíí, ako sú zúžené, hruškovité, citrónovité hlavičky. Hruškovité hlavičky sa obyčajne vyskytujú pri bedsonióze (Rob, 1969). Kozumplík (1990) pozoroval dekapitáciu spermíí ako následok zápalového ochorenia, ktorá viedla k neplodnosti plemenníka a postihla 52 – 68% spermíí. Príčinou rôznych zmien na spermíách môže byť aj chronický zápal semenníka, prisedenníka a ich obalov, ktoré vyvoláva porušenie osmotickej rovnováhy (Massányi, 1988).

### **1.5.3. Fyzikálna vplyvy**

Z fyzikálnych vplyvov na spermatogézu a samotné spermie má vplyv aj teplota, či už je to vplyv vysokej teploty alebo nízkej teploty. Staršie akrozómy sa uvoľňujú a praskajú, najmä ak sú nesprávne konzervované alebo sú spermie hlboko zmrazené. V súvislosti s praktickým využívaním akrozómovej morfológie je dôležité, že pri skladovaní spermíí býkov pri 4°C sa akrozóm rozpína v oblasti apikálneho hrebeňa, utvárajú sa na ňom záhyby a výbežky, pričom sa však zachováva jeho integrita (Aalseth a Saacke, 1985).

Napučiavanie apikálnych hrebeňov a baraních spermíí pri 5°C opisujú Jones a Martin (1973). Akrozóm sa pri určitých podmienkach dynamicky tvaruje. Každý ejakulát s takýmito spermiami však nebýva neplodný. Opísali sa degeneratívne zmeny na mitochondriách po inkubácii spermíí pri 37°C. Prejavili sa zvýšením denzity mitochondriálnej matrix, rozpadom mitochondriálnych priehradok (Zibrín, 1976). Zistilo sa, že zmrazenie výrazne znížilo percento živých a normálnych spermíí a zvýšilo percento abnormálnych spermíí (Bhosrekar et al., 1991). Sekoni a Gustavson (1987) pozorovali ejakuláty býkov v každom ročnom období v Severnej Amerike. Dospeli k výsledkom, že výskyt abnormálnych hlavičiek bol v lete vyšší ako v ostatných obdobiach. Abnormality bičika boli častejšie v lete, ale výskyt dekapitovaných spermíí bol výrazne vyšší v zime. V horúcich afrických štátoch sa zistilo, že býky sú najplodnejšie počas chladnejšieho daždivého obdobia. Najvyšší výskyt morfológicky abnormálnych spermíí bol v horúcich obdobiach, pričom najčastejšie zmeny boli abnormality hlavičky, spojené hlavičky a zadržaná protoplazmatická kvapka (Kumi – Diaka et al., 1988). Množstvo abnormálnych spermíí v kančom ejakuláte bolo sledovaných počas piatich rokov. Najčastejšie zmeny boli

proximálna a distálna protoplazmatická kvapka, ohnutý bičiek, flexia bičika, kľbkovite stočený bičiek a zmeny na hlavičke. Zistilo sa, že najnižší počet abnormálnych spermíí bol v zimnom období (Wekerle et al., 1988). K zaujímavému poznatku dospeli Salah et al. (1992) v Saudskej Arábii pri použití studenej sprchy na desať holsteinských býkov. Sprchu aplikovali počas šiestich týždňov päťkrát denne 15 minút v období horúceho a suchého leta. Chladenie zvýšilo pohyblivosť spermíí a znížilo percento mŕtvych a morfológicky abnormálnych spermíí. Zo zmien sa najčastejšie vyskytli zvinuté a nalomené bičičky. Vplyvom sezóny na ejakulát sa zaoberali aj Bhosrekar et al. (1991). Zistili, že kvalita ejakulátu bola najvyššia počas jesene, ktorá nasledovala po daždivom lete, a v zimnom období. Belokar et al. (1990) potvrdili vo svojej práci, že sezóna výrazne ovplyvňuje reakčný čas býka, koncentráciu spermíí, ako aj percento abnormálnych a mŕtvych spermíí.

## 1.6. Ejakulát

Ejakulát je najčastejšie šedo – biela, viskózna tekutina, ktorá sa skladá z kvapalnej časti – semenná plazma a časti bunkovej – spermie. Semenná plazma je produktom prídavných pohlavných žliaz a spermie sa tvoria v semenníkoch. U niektorých druhov je bežnou zložkou aj hlien, ktorý sa tvorí v niektorých prídavných pohlavných žľazách (Gamčík a Zibrín, 1992).

Podiel semennej plazmy na celkovom objeme ejakulátu u väčšiny cicavcov tvorí podstatnú časť ejakulátu (70 – 98%), u vtákov a nižších cicavcov je podiel semennej plazmy malý. V priebehu ejakulácie podnecuje semenná plazma spermie k pohybu, poskytuje spermíám ochranu proti nepriaznivým vplyvom prostredia, obsahuje látky, ktoré spermie využívajú ako zdroj energie (Gamčík a Zibrín, 1992; Kruger, 1996; Lukáč et al. 2007).

V jednom ejakuláte býka sa nachádza 5 miliárd spermíí, človeka 200 až 500 miliónov a kráľika 200 miliónov.

Chemické zloženie semennej plazmy je u jednotlivých druhov rozdielne. U býka semenná plazma tvorí 95% z celového objemu ejakulátu. V sekréte majú spermie schopnosť prežiť asi po dobu 1 mesiaca, semenná plazma sa vyznačuje kyslým pH (5,6 – 6,6), draslíka a CO<sub>2</sub>. Naopak je tu nízka koncentrácia iónov Cl, Na a iných. Okrem toho obsahuje plazma nízkomolekulové bielkoviny, fruktózu a kyselinu citrónovú (Rob, 1989).

Spermie, ktorým hlavným biologickým znakom v ejakuláte je pohyblivosť, schopnosť prežívania a oplodnenia, sú najdôležitejšou zložkou ejakulátu (Gamčík a Zibrín, 1992).

**Tabuľka č. 3:** Základné charakteristiky ejakulátu domácich zvierat (Gamčík et al., 1992)

Druh	Objem v ml	Koncentrácia v $10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$	Celkový počet spermíí v ejakuláte v $10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$
<b>Býk</b>	<b>2,0 – 13,0</b>	<b>0,5 – 2,0</b>	<b>1,0 – 26,0</b>
Kanec	100 – 700	0,1 – 0,7	5,0 – 150,0
Žrebec	30 – 300	0,05 – 0,3	0,6 – 48,0
Baran	0,3 – 3,0	1,0 – 5,3	1,0 – 15,0
Cap	0,5 – 3,0	0,5 – 5,0	1,0 – 8,0
Kohút	0,1 – 2,0	0,5 – 6,0	0,8 – 9,0
Moriak	0,1 – 0,5	1,0 – 5,0	0,7 – 5,0
Gunár	0,2 – 1,5	0,8 – 1,5	0,16 – 3,0
Králik	0,3 – 0,6	0,1 – 1,5	0,03 – 0,9
Pes	2,0 – 6,0	0,1 – 0,2	0,2 – 1,2
Kocúr	0,06 – 0,5	0,4 – 0,6	0,8 – 10,0

Objem ejakulátu kolíše a závisí najmä od druhu, plemena, veku, hmotnosti plemenníka, intenzity pohlavného využívania, stupňa pohlavného vydráždenia, spôsobu odberu semena, kŕmenia, ošetrovania, ročného obdobia, genetického zloženia a zdravotného stavu plemenníka (Gamčík et al., 1992). Viaceré štúdie ukázali, že vek samcov ovplyvňuje kvalitu spermíí (Douard et al., 2003). Starnutie bolo sprevádzané znižovaním počtu spermíí v ejakuláte, objemu ejakulátu (Kotlowska et al., 2006) a úbytkom pohyblivosti, životaschopnosti a membránovej integrity spermíí (Rosato et al., 2006).

### 1.7. Fenoly a fenolické látky

Fenoly sú organické látky s hydroxylovou skupinou viazanom na aromatickom uhlíku. Podľa počtu hydroxylových skupín na aromatickom kruhu sa rozdeľujú na: jednosýtne (napr. o – krezol, p – krezol, xylenoly), dvojsýtne (rezorcinol, pyrokatechol, hydrochinón) a trojsýtne (pyrogallol, floroglucinol, 1, 2, 4 benzéntriol hydroxyhydrochinón) (Hrnčiar, 1997).

Na rozdiel od alkoholov, ktoré sú nestále, ak je hydroxylová skupina viazaná na uhlík, z ktorého vychádza dvojitá väzba, pri fenoloch takýto jav nenastáva. Jednoduché fenoly sú látky syntetické, s prevažne toxickými účinkami na živé organizmy. Látkami prírodného



charakteru sú zložitejšie fenologické zlúčeniny, obsahujúce aj ďalšie charakteristické zlúčeniny (Tomáš et al., 2009).

Fenoly sú súčasťou prakticky všetkých potravín. Sú veľmi heterogénnou skupinou zlúčenín, z ktorej sa niektoré uplatňujú ako vonné alebo chuťové látky, prírodné farbivá, alebo vykazujú výrazné biologické účinky, a zaraďujú sa preto medzi prírodné antioxidanty, prirodzené toxické zložky potravín alebo medzi obranné látky (fytoalexíny). Pre svoje antibakteriálne vlastnosti sú niektoré fenoly používané pri tvorbe dezinfekčných prostriedkov.

Rastlinné polyfenoly sú látky rozšírené takmer vo všetkých rastlinách, prevažne v listoch, kvetoch, semenách, plodoch, v patologických útvaroch, a tiež v produktoch rastlinného pôvodu (med, propolis, víno). Skupina polyfenolov zahŕňa rozsiahlu a rôznorodú škálu zlúčenín – od jednoduchých fenolových kyselín až po vysokopolymerizované taníny. Doteraz je známych viac ako 8 000 fenolových látok, ale len niekoľko sto je ich identifikovaných v jedlých častiach rastlín (Timoracká et al., 2008).

Rastlinné fenoly majú dôležitú úlohu v rade fyziologických procesov. Môžu vystupovať napríklad ako prenášača elektrónov, štruktúrne či impregnačné látky alebo signálne molekuly (Luštinec J. et al., 2005).

Fenolové kyseliny a ich deriváty vykazujú účinky primárnych antioxidantov. Fenolické látky vykazujú antioxidantné vlastnosti, majú antibakteriálne účinky a môžu ovplyvňovať autoimunitné systém živočíšnych organizmov (Ryan et al., 2002; Lampart – Szczapa et al., 2003).

V živých organizmoch sa nachádzajú prirodzené antioxidanty: vitamín C, vitamín E. Mnohé antioxidanty sa nachádzajú v potrave ako sú flavonoidy a fytoalexíny. Chemickou štruktúrou sú to polyfenoly, v ktorých sa radikálovo štiepi OH väzba. Aktivita závisí od počtu hydroxylových skupín v molekule. Aktívnejšie antioxidanty sú všeobecne deriváty kyseliny škoricovej a o-difenoly (napr. kyselina kávová a jej depsid kyselina chlorogénová). Aktivitu vykazuje tiež rad ďalších derivátov fenolových kyselín, napr. amidy a glykozidy (Velíšek, 2002).

Polyfenolické látky obsiahnuté v potravinách rastlinného pôvodu patria v súčasnosti k intenzívne sledovaným rastlinným komponentom. Ich vplyv na zdravie ľudí je diskutovaný na odbornej i laickej úrovni, pričom názory na ich pôsobenie nie sú celkom jednotné (Vollmannová et al., 2008).

### **1.7.1. Kyselina salicylová**

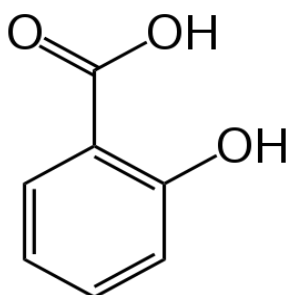
Kyselina salicylová alebo tiež kyselina 2-hydroxybenzoová, staršie tiež salicyl, je beta-hydroxyderivát kyseliny benzoovej s chemickým vzorcom  $C_6H_4(OH)COOH$ . Je to bezfarebná kryštalická látka, vo vode málo rozpustná látka ( $0,2g \cdot 100 ml^{-1}$ ), dobre sa

rozpúšťa v alkohole a étery. Jej molárna hmotnosť je  $138,12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , teplota topenia nastáva pri  $159^\circ\text{C}$  a teplota varu je  $211^\circ\text{C}$ . Hustota kyseliny salicylovej pri teplote  $20^\circ\text{C}$  je  $1,44 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . V prírode vzniká pri metabolizme salicínu a účinkuje ako rastlinný hormón.

Kyselina salicylová sa vyrába zahrievaním fenolátu sodného s oxidom uhličitým – Kolbeho – Schmittova reakcia (Tomáš et al., 2009). Soli a estery kyseliny salicylovej sú známe pod názvom salicyláty.

Názov pochádza z latinského názvu *Salix* (vĺba), z kôry vĺby je možné pripraviť kyselinu salicylovú. V roku 1826 ju izoloval nemecký chemik Johan Andreas Buchner. Väčšie množstvo kyseliny salicylovej bolo izolované v roku 1828 francúzskym lekárnikom Henrim Lerouxom (Hayat et al., 2007).

**Obrázok č. 12:** Chemický vzorec kyseliny salicylovej (McMurry, 1996)



Kyselina salicylová patrí do kategórie fenolov – fenolových kyselín, považuje sa za antioxidant, presnejšie za prírodný antioxidant.

V prírode sa nachádza voľná (v jahodách, malinách) alebo viazaná vo forme rastlinných esterov (v rastlinných siliciach). Kyselina salicylová je fenolový fytohormón. Svoju úlohu zohráva v rastlinách pri raste a vývoji, fotosyntéze, transkripcii iónov a transporte. Kyselina salicylová je endogénna signálna látka, ktorá prenáša v rastlinách informácie o ich napadnutí patogénom a vyvoláva zmeny potrebné k obrane (Bystrická, 2003).

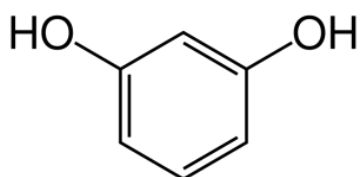
V minulosti sa používala ako konzervačná látka v potravinárstve. Pre svoje liečivé vlastnosti bola taktiež využívaná najmä u ošipáných, ktorým zmierňovala bolesti. Dnes sa využíva v organickej syntéze. Vo medicíne kyselina salicylová slúži na prípravu farmaceuticky významnej kyseliny acetylsalicylovej ktorá sa používa hlavne ako antiflogistikum – Acylpirín, Aspirín (Hayat et al., 2007).

Kyselina salicylová je taktiež prísadou mnohých produktov farmaceutického a kozmetického priemyslu. Medzi aromatickými hydroxykyselinami má najväčší technický význam.

### 1.7.2. Rezorcinol

Rezorcinol alebo tiež rezorcín je dihydroxybenzén. Jedná sa o 1,3-izomér benzendiol so vzorcom  $C_6H_4(OH)_2$ , kryštalizuje z benzénu. Je to bezfarebná kryštalická látka. Jeho molárna hmotnosť je  $110,11 \text{ g.mol}^{-1}$ , vo vode dobre rozpustná látka ( $123 \text{ g.100 ml}^{-1}$ ), dobre sa rozpúšťa v alkoholoch a éteroch. Nerozpustný je v chloroforme a v sírouhlíku. Ľahko oxiduje, predovšetkým v zásaditom prostredí. Jeho teplota topenia nastáva pri  $110^\circ\text{C}$  a teplota varu je  $281^\circ\text{C}$ .

Obrázok č.13: Chemický vzorec rezorcínu (Hrnčiar, 1997)



Možno ho pripravovať synteticky zlučovaním 3-jodofenolu, kyseliny fenol-3-sulfónovej alebo benzén-1,3-disulfonové s uhličitanom draselným, reakciou kyseliny dusičnej s 3-aminofenoly alebo účinkom 10% kyseliny chlorovodíkovej na 1,3-diaminbenzén. Veľa orto- a para- zlúčenín aromatické radu (napríklad bromofenoly, kyselina benzén-para-disulfonová) taktiež poskytuje rezorcinol pri reakcii s hydroxidom draselným (Hrnčiar, 1997).

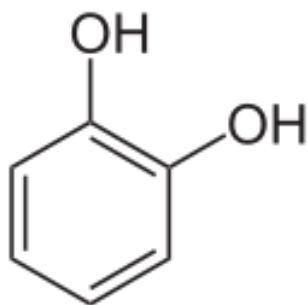
Rezorcinol sa získava zlučením mnohých živíc (napr. galbanum) s hydroxidom draselným alebo destiláciou extraktu zo sapanu ježatého. Využíva sa ako dezinfekcia. Slúži pri výrobe plastov a farbív.

### 1.7.3. Pyrokatechol

Pyrokatechol tiež pyrokatechin alebo benzén-1,2-diol. Je to organická aromatická zlúčenina zo skupiny fenolov využívaná predovšetkým k organickým syntézam. Pyrokatechol tvorí ľahučké biele kryštáliky, veľmi dobre rozpustné vo vode. Jeho molárna hmotnosť je  $110,1 \text{ g.mol}^{-1}$ , vo vode dobre rozpustná látka ( $46 \text{ g.100 ml}^{-1}$ ). Jeho teplota topenia nastáva pri  $104^\circ\text{C}$  a teplota varu je  $246^\circ\text{C}$ .

Katechol bol prvýkrát izolovaný v roku 1839 H. Reinschom destiláciou z catechu katechín, šťavou z *Acacia catechu* LF.

**Obrázok č.14:** Chemický vzorec pyrokatecholu (Hrnčiar, 1997)



Táto bezfarebná látka sa prirodzene vyskytuje v stopovom množstve. Malé množstvo katecholu sa prirodzene vyskytujú v ovocí a zelenine, spolu s enzýmom polyfenol monoaminoxidázy (tiež známy ako katecholase, alebo katechol oxidázy). Približne 50% syntetických pripraveného katecholu sa spotrebuje pri výrobe pesticídov, zvyšok je použitý ako prekursor čistých chemických látok, ako sú parfumy a farmaceutický priemysel (Fliegel et al, 2002).

V minulosti sa vo veľkej miere využívala ako súčasť fotografických vývojkov. U pyrokatecholu prevláda účinok na centrálny nervový systém, intenzívne dráždi dýchacie cesty. Chronickou expozíciou môžu byť poškodené oči. V štúdiách na zvieratách bola dokázaná schopnosť vyvolávať rakovinu. Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny (IARC) ho preto hodnotí ako karcinogén triedy 2B.

### 1.8. Trehalóza

Trehalóza je neredukujúci cukor zo skupiny disacharidov. Neredukujúce disacharidy sú pospájané glykosidickými väzbami na 1,1 a 1,2 koncoch, na tieto väzby sú spotrebované obe poloacetalové skupiny–OH a nemajú redukčné účinky. Skladá sa z dvoch molekúl glukózy, ktoré sú medzi sebou spojené 1,1–väzbou, ktorá je veľmi pevná a k jej rozloženiu dochádza až v tenkom čreve pomocou enzýmu trehaláza. Vstrebáva sa pomalšie a energiu dodáva postupne počas dlhšej doby ako napr. sacharóza. Vyskytuje sa v telách väčšiny organizmov, ako sú napríklad baktérie, kvasinky, huby, prvoky, hmyz aj hlísty.

V porovnaní s ostatnými sacharidmi je stabilnejšia chemicky, termicky a aj voči kyselinám. V prírode chráni bunky pred poškodením pri mraze a v priebehu rozmrazovania. Zostáva stabilná pri nízkych hodnotách pH a pri zahrievaní. Na rozdiel od iných disacharidov sa len ťažko hydrolyzuje a tak sa nezúčastňuje na Maillardovej reakcii s bielkovinami. Stabilita trehalózy podporuje zachovávanie charakteristických vlastností potravín ako je

aróma a farba. Kryštalická trehalóza je málo hydroskopická, je možné ju sypať aj pri vlhkosti vzduchu 94%. Je preto vhodná ako prímies do suchých zmesí proti hrudkovateniu (Suková, 2006).

Vlastnosti trehalózy:

- Inhibícia retrogradácie škrobu,
- inhibícia denaturácie škrobu,
- odolnosť voči nízkym teplotám,
- zachovávanie čerstvosti zeleniny,
- regulácia absorpcie vody,
- ochrana farby (Suková, 2010).

Už skutočnosť, že trehalóza môže byť syntetizovaná tromi rôznymi spôsobmi, naznačuje, že je táto látka v tele veľmi významná. Trehalóza do určitej miery predstavuje, podobne ako ostatné cukry, zásobáreň energie a uhlíka. Ďalej však tiež stabilizuje bunkové membrány, zúčastňuje sa na stavbe bakteriálnej bunkovej steny a dokonca môže slúžiť ako signálna molekula.

## 1.9. Kofeín

Kofeín je horký, biely kryštalický purínový alkaloid. Je to alkaloid kávovníka. Kofeín bol izolovaný z kávy v 1820 nemeckým chemikom Friedlieb Ferdinand Rungenom a v roku 1821 francúzskym lekárnikom Robiquet a Pelletier a Caventom.. Spôsobuje zvýšenie krvného tlaku; pôsobí na vylučovanie. Používa sa proti únave, ako liek pri otravách narkotikami, pri rozličných srdcových chorobách. Nachádza sa v káve (1%), v čaji (5%).

Alkaloidy sú homogénnou skupinou dusíkatých zlúčenín zásaditého charakteru, ktoré majú fyziologický efekt na ľudí a živočíchy. Vznikajú ako sekundárne metabolity niektorých húb, rastlín alebo živočíchov. Alkaloidy sú rastlinné dusíkaté heterocyklické zlúčeniny, ktoré sa voľne nevyskytujú. Majú význam v lekárstve a poľnohospodárstve.

Alkaloidy charakterizujú nasledovné vlastnosti:

- Sú to dusíkaté organické makromolekuly, väčšinou (aj keď nie výlučne) deriváty aminokyselín,
- v čistom stave sú to látky bezfarebné, tuhé, kryštalické, až na výnimky málo rozpustné vo vode,
- majú horkú chuť, najmä v pevnom skupenstve,
- sú zásadité, s kyselinami vytvárajú vo vode rozpustné soli,
- dajú sa vyvrážať z roztoku jodidmi ťažkých kovov,

- sú biologického pôvodu, najčastejšie rastlinného.

Kofeín, inhibítor fosfodiesteráz, má výrazný stimulujúci účinok na respiráciu a motilitu ejakulovaných spermií (Garbers et al., 1971; Ball and First, 1983; El-Gaafary, 1994). Je dokázané, že inhibičný efekt kofeínu na fosfodiesterázovú aktivitu, môže mať za následok zvýšenie intracelulárneho cyklického adenosínmonofosfátu (cAMP), čo vedie k zvýšeniu pohyblivosť spermií (El-Menoufy et al., 1986).

## 1.10. Glutatión

Glutathión (GSH) je tripeptid zložený z aminokyselín kyseliny glutámovej, cysteínu a glycínu, ktorý sa nachádza v bunkách živočíchov, rastlín a baktérií a chráni organizmus pred oxidačným stresom (podieľa sa na odstraňovaní peroxidu vodíka). GSH je antioxidant, ktorý zabraňuje poškodeniu dôležitých bunkových komponentov spôsobený vplyvom reaktívnych kyslíkových radikálov, ako sú voľné radikály a peroxidy (Pompella et al., 2003). Antioxidačná činnosť je zabezpečená sulhydrilovou skupinou cysteínu. GSH je mnohonásobným a pravdepodobne aj najvýznamnejším intracelulárnym atioxidantom. Jeho cysteínová podjednotka priamo vystavuje svoju sulfhydrilovú (SH) skupinu do prostredia, kde vychytáva voľné radikály. Chemicky reaguje so singletovým kyslíkom, superoxidantom aj hydroxylovým radikálom, pričom vzniká glutatióndisulfid (GSSG, Hausladen a Alscher, 1993). Glutatióndisulfid sa následne spätne regeneruje uzatvárajúc tak cyklus (Ništiar et al., 2009). Stabilizuje membránové štruktúry, odstraňovaním acylových peroxidov vytvorených počas lipidovej peroxidácie (Price et al., 1990). GSH je taktiež dôležitým redukčným agensom, ktorý „recykluje“ kyselinu askorbovú z jej oxidovanej formy na redukovanú. Rovnako je dôležitý pri regenerácii tokoferolu (Muchová et al., 2004).

### **Glutatión má niekoľko funkcií:**

- Je to prirodzený antioxidant produkovaný bunkami, ktoré sa priamo zúčastňujú na neutralizácii voľných radikálov a reaktívnych kyslíkových zlučenín, ako aj udržiavanie exogénnych antioxidantov ako sú vitamíny C a E v ich zníženej forme (Scholz et al., 1989),
- reguluje cyklus oxidu dusnatého cyklu, ktorý je rozhodujúci pre život, ale môže byť problematický, ak je neregulovaný (Clementi et al., 1999),
- prostredníctvom priamej konjugácie detoxikuje mnoho cudzorodých látok a karcinogénov, tak organických ako aj anorganických (ťažké kovy ako ortuť, olovo, arzén),

- je nevyhnutný pre imunitný systém, aby vyvinul svoj plný potenciál - modulovať antigény na lymfocyty, zvýšenie proliferácie lymfocytov, zvýšenie zabíjania a činnosti cytotoxických T buniek a NK buniek a regulácia apoptózy, čím sa udržiava kontrola imunitnej odpovede,
- zohráva zásadnú úlohu v mnohých metabolických a biochemických reakciách, ako syntéza DNA a jej opravy, syntéza proteínov, syntéza prostaglandínov, aminokyselín a metabolickej aktivácie.

Glutatión nie je základná živina (nemusí byť získavaný z potravín) pretože môže byť syntetizovaný v tele z aminokyselín L-cysteínu, L-glutámovej kyseliny a glycínu. Sulfhydryl (tiol) skupina SH cysteínu slúži ako darca protónu a je zodpovedný za biologickú aktivitu glutatiónu. Cysteín sa v potravinách nachádza pomerne vzácné a navyše ako voľná aminokyselina je toxický.

### 1.11. Voľné radikály a oxidačný stres

Voľné radikály (Free radicals – FR) sú reaktívne častice alebo molekuly, ktoré majú jeden alebo viac nespárených elektrónov a sú schopné samostatnej existencie. Sú prevažne vysoko reaktívne a spúšťajú celý rad nasledovných reakcií, ktorými sa tvoria ďalšie radikály a reaktívne molekuly. Môžu atakovať rôzne miesta v biologicky dôležitých molekulách buď priamo, alebo prostredníctvom hydroperoxidových, či hydroxylových radikálov. Sú elektroneutrálne alebo majú aniónový, resp. kationový charakter (Muchová et al. 2004). Z chemického hľadiska môžu vzniknúť hemolyticky, oxidáciou a redukciami. V biologických systémoch vznikajú radikály najmä elektrónovým prenosom (Muchová et al., 2004).

V organizmoch vznikajú voľné radikály pri rade procesov. Ich hlavnými zdrojmi sú v živých organizmoch za bežných podmienok nasledujúce procesy:

- Bežné životné pochody, pri ktorých bunka získava energiu (napr. svalová práca) alebo štiepi látky potrebné pre bunkovú výživu,
- niektoré chemické reakcie spontánne prebiehajúce vo vnútri buniek za prítomnosti cudzorodých látok (napr. ťažké kovy, z dymu cigariet alebo z rozkladu liečiv),
- ionizujúce žiarenie reprezentované najčastejšie ultrafialovým žiarením pochádzajúcim zo slnka, ale aj röntgenové a rádioaktívne žiarenie (Naďová, 2008).

Nadmernou produkciou voľných radikálov vzniká oxidačný stres, to znamená, že dochádza k porušeniu oxidačnej rovnováhy. Jeho následkom je veľa patologických procesov (Tremellen, 2008).

Už v roku 1943 bola publikovaná prvá práca, ktorá vyzdvihuje významný vplyv oxidatívneho stresu spermii na ich fertilizačné vlastnosti. Tieto informácie dali základ pre kreovanie modernej andrológie (Macleod, 1943).

Oxidatívny stres je stav bunky prejavujúci sa zvýšeným rozsahom celulárnych poškodení vyvolaných vysoko reaktívnymi kyslíkovými radikálmi (Sikka et al., 1995). Vo všeobecnosti sa používa na popísanie stavu, keď prooxidanty prevyšujú antioxidanty (Sies, 1993), keď dochádza ku zvýšenej tvorbe peroxidačných produktov (Spiteller, 1993) a keď tieto fenomény vyvolávajú patologické zmeny (Jansen et al., 1993). Nerovnováha medzi produkciou voľných radikálov a schopnosť biologického systému pohoťovo detoxikovať vznikajúce reaktívne medziprodukty alebo opravovať vznikajúce poškodenia je známy pod pojmom oxidatívny stres (Agawal et al., 2003). Je to seriózný stav, nakoľko vznikajúce voľné radikály poškodzujú všetky bunkové komponenty vrátane bielkovín, lipidov a DNA (Schafer a Buettner, 2001). Výsledný účinok oxidatívneho stresu závisí na rozsahu týchto zmien a schopnosti bunky prekonať vzniknuté alternácie a vrátiť sa do pôvodného stavu. Je potrebné uvedomiť si, že už malé oxidačné poškodenie môže vyvolať apopózu, zatiaľ čo dôsledkom výraznejšieho oxidatívneho stresu je nekroza (Lennon et al., 1991). Reaktívne formy kyslíka (ROS – reactive oxygen species) sa podieľajú na vzniku približne stovky chorôb počnúc artritídou, poruchami spojivového tkaniva, karcinogenézy, starnutím, účinkami toxínov, infekciami ako aj na syndróme získanej imunodeficiencie (AIDS) (Joyce, 1987).

Jedinečná bunková stavba spermii spôsobuje, že sa stávajú osobitne citlivými na oxidatívny stres. Plazmatická membrána spermii obsahuje obrovské množstvo polynenasýtených mastných kyselín (PUFA) a nakoľko sa v ich cytoplazme nachádzajú len veľmi nízke koncentrácie antioxidantných enzýmov, stávajú sa mimoriadne zraniteľnými voči účinkom voľných radikálov (Halliwell, 1990; Buettner, 1993). Účinky voľných radikálov sa zvyčajne premietajú do zníženej pohyblivosti spermii, a to pravdepodobne kvôli rýchlej spotrebe ATP, vzniku aberácií v oblasti axonémy a morfológickými zmenami v strednej oblasti (De Lamirande a Gagnon, 1993), zníženej celkovej životaschopnosti, absencii kapacitácie a akrozómovej reakcie. Lipoperoxidácia sa považuje za kľúčový mechanizmus vo vzniku oxidatívneho poškodenia spermii, vedúcemu k neplodnosti (Alvarez et al., 1987).

Podľa Lenziho et al., (1993) a Armstronga et al., (1999) je zvýšená koncentrácia FR v priamom vzťahu so zníženou motilitou spermii, avšak exaktný mechanizmus tohto vzťahu zatiaľ nie je plne objasnený. Jedna z hypotéz predpokladá, že  $H_2O_2$  vstupuje cez membránu priamo do cytoplazmy, kde priamo inhibuje aktivitu viacerých vitálnych enzýmov (Aitken et al., 2003). Ďalšia z teórií predpokladá sériu vzájomne súvisiacich procesov vedúcich k poklesu fosforylácie v axonéme a imobilizácii spermii, pričom deje sú v priamej korelácii s redukciami membránovej fluidity, ktorá je esenciálna pre splynutie spermie s vajíčkou (De Lamirande a Gagnon, 1993).



Je známe, že oxidatívne mechanizmy zohrávajú významnú úlohu v patofyziológii cicavčích spermii (Saleh et al., 2003; Aitken a Baker, 2004). Hlavnými zdrojmi voľných radikálov v ejakuláte sú leukocyty (prevládajú neutrofilny) a spermie. Rýchlosť produkcie voľných radikálov je u leukocytov 1000 x vyššia ako u spermii pri kapacitácii (Tremellen, 2008).

Na druhej strane produkcia malého množstva voľných radikálov spermiami je nutná pre ich správnu funkciu. Táto produkcia má pozitívne účinky pri kapacitácii spermii. Peroxid vodíku stimuluje reakciu akrozómu a aktivitu spermii a napomáha tak pri oplodnení vajíčka. Posilňuje väzbu membrány spermii na proteín ZP-3 *zona pellucida* a podporuje tým fúziu spermie s vajíčkom. Schopnosť spermii produkovať určité množstvo voľných radikálov bola zistená vďaka separačným technikám, ktoré oddelili spermie od seminálnych leukocytov (Barker et al., 2003).

Produkcia voľných radikálov spermiami nepriamo koreluje s ich zrením – spermatogenezou. V priebehu spermatogenézy strácajú spermie cytoplazmu, čo im umožňuje tvoriť ich kondenzovaný predĺžený tvar. Nezrelé teratozoospermie sú charakterizované prítomnosťou nadmerného množstva cytoplazmatických zvyškov. Tieto zvyšky obsahujú enzým glukozo-6-fosfátdehydrogenázu, ktorý kontroluje tok glukózy a intracelulárnu produkciu nikotínamidadenín-dinukleotidfosfátu (NADPH) pomocou monofosfátu hexózy. NADPH je využívané ako zdroj pri tvorbe voľných radikálov prostredníctvom NADPH oxidázy, ktorá je lokalizovaná v membráne spermii. Následkom toho produkujú teratozoospemické spermie zvýšené množstvo voľných radikálov oproti morfológicky normálnym spermiam (Tremellen, 2008).

Nakoľko sa FR vyznačujú ako fyziologickými tak aj patologickými funkciami, organizmus si vyvinul obranné mechanizmy, ktoré udržiavajú hladinu voľných radikálov v určitom rozmedzí. Antioxidanty sú vo všeobecnosti látky alebo reakcie úlohou ktorých je zníženie, odstránenie, supresie tvorby FR alebo kontrola ich účinku. Akonáhle sa hladina FR zvýši na patologickú hladinu, antioxidanty sa aktivujú a pomáhajú minimalizovať oxidatívne poškodenie, prípadne mu predchádzať (Agarwal a Allamaneni, 2006). Podľa Agarwala et al. (2004) antioxidanty poskytujú bunke ochranu proti OS na základe troch mechaizmov: prevencia, zachytenie a oprava.

Antioxidanty môžeme rozdeliť na enzymatické (superoxiddizmutáza, kataláza, glutatión peroxidáza/kataláza) a neenzymatické (vitamín C, vitamín E, glutatión, pyruvát) (Garrido et al., 2004; Valko et al., 2007).

Medzi enzymatické antioxidanty môžeme zaradiť superoxiddizmutázu (SOD) a katalázu, ktoré rozkladajú superoxidový anión a peroxid vodíka na vodu a kyslík. SOD je prítomná v seminálnej tekutine i v spermiami. Zini et al. (2000) potvrdili vzťah medzi deficitom SOD a mužskou neplodnosťou. Ďalej patrí medzi enzymatickú antioxidačnú obranu

glutatióneroxidáza (GPX). Tento enzým sa skladá zo súboru antioxidantov GPX1–5, ktoré sú využívané ako zdroj elektrónov pri redukcii hydroperoxidov. GPX sa nachádza v semenníkoch, prostate, semenných váčkoch, semenovodoch, prisemenníkoch, seminálnej tekutine a tiež v spermiiach. Aj u GPX bola preukázaná spojitosť s mužskou neplodnosťou. Aktivita GPX závisí na regenerácii glutatiónu, ktorý je redukovaný glutatiónereduktázou (GTR). Selektívna inhibícia GTR znižuje dostupnosť redukovaného glutatiónu udržiavajúceho aktivitu GPX a spermie sú tak vystavené oxidačnému stresu. Koordinovaná aktivita GPX, GTR a glutatiónu hrá nepochybne kľúčovú úlohu v ochrane spermii pred oxidačným stresom (Therond et al., 1996; Giannattasio et al., 2002; Garrido et al., 2004; Vernet et al., 2004; Williams a Ford, 2004).

Neenzymatické antioxidanty v ejakuláte zahrňujú kyselinu askorbovú (vitamín C),  $\alpha$ -tokoferol (vitamín E), aminokyseliny taurín a hypotaurín, albumín, karnitín, karotenoidy, flavonoidy, uráty a prostasomy. Veľa štúdií potvrdilo výrazne nízku aktivitu neenzymatických antioxidantov u neplodných mužov v porovnaní s plodnými mužmi (Mostafa et al., 2006; Song et al., 2006).

Významnú časť neenzymatických antioxidantov tvorí glutatión (GSH). Vychytáva voľné radikály a tým dochádza k jeho oxidácii a vzniku disulfidu, ktorý je dôležitý pre pohyblivosť spermii a ochranu ich DNA pred fyzikálnym a chemickým poškodením. Ak je koncentrácia GSH vysoká dochádza k nadmernému vychytávaniu voľných radikálov, ktorých množstvo tým klesne pod fyziologickú hranicu, ktorá je potrebná pre normálnu funkciu spermii a úspešné oplodnenie (Bedaiwy et al., 2004; Ebisch et al., 2006).

Sheweita et al. (2005) a Agarwal et al. (2006) charakterizujú význam antioxidantov v profylaxii infertility mužov. Určenie statusu oxidatívneho stresu môže výrazne pomôcť v ovplyvnení neplodnosti samcov použitím antioxidantov. Preto, množstvo antioxidantov ako vitamín C, vitamín E, glutatión a koenzým Q10 sa účinne používajú v liečbe neplodnosti mužov.

### **1.11.1. Lipidová peroxidácia**

Lipidy sa považujú za najcitlivejšie makromolekuly, pričom v spermiiach sa nachádzajú vo forme polynenasýtených mastných kyselín (PUFA), teda mastných kyselín obsahujúcich dvojité väzby. Ich hlavnou úlohou je udržanie membránovej fluidity (Agarwal a Saleh, 2002). FR útočia na PUFA, čo má za následok kaskádu chemických reakcií nazývanú lipidová peroxidácia. Peroxidácia PUFA vyúsťuje do straty membránovej fluidity, do redukcie aktivity membránových enzýmov a iónových kanálov. V dôsledku peroxidácie sa zastavujú normálne celulárne mechanizmy potrebné pre fertilizáciu (Agarwal a Allamaneni, 2006).

Lipoperoxidácia spermií je samo propagujúci dej, pokiaľ nie je zastavený semennými antioxidantmi. Akonáhle ROS začnú útočiť na membránové lipidy, vznikajú alkylové a peroxylové radikály. Tieto radikály, pokiaľ nie sú zachytené antioxidačnými mechanizmami, budú pôsobiť na ostatné membránové lipidy, pokiaľ všetky nebudú poškodené peroxidatívnymi reakciami (Agarwal a Saleh, 2002).

Pri peroxidácii lipidov vyvolanej tetrachlórmetánom dochádza k produkcii voľných radikálov  $\text{CCl}_3$ , ktoré atakujú molekulu triglyceridu (reťazec mastnej kyseliny). Vzniknutý radikál reaguje s kyslíkom a dochádza k reťazovej reakcii, pri ktorej sa reťazce mastných kyselín štiepia. Ako štiepne produkty sa uvoľňujú malondialdehyd, etán a pentán (Horák et al., 2004).

## 2. CIELE PRÁCE

Poznanie kvality ejakulátu hospodárskych zvierat zohráva v dnešnej dobe dôležitú úlohu v intenzifikácii v živočíšnej výrobe. Kvalitatívne hodnotenie pohyblivosti spermíí je dôležitý krok v objektivizácii selekcie ejakulátov pre umelú insemináciu. Hodnotenie nám umožňujú laboratórne a komputerové metódy, ktoré určujú biologickú plnohodnotnosť ejakulátu pomocou ktorej môžeme zistiť, či vlastnosti ejakulátu zodpovedajú do určitej miery fertilizačným požiadavkám.

Cieľom dizertačnej práce je zistiť vplyv šiestich vybraných implementorov (kyselina salicylová, rezorcinol, pyrokatechol, trehalóza, kofeín a glutatión) na funkčné a štrukturálne parametre spermíí býkov v podmienkach *in vitro*, ktoré by mohli odzrkadliť fertilizačnú schopnosť spermíí.

Detailne sme si určili nasledovné ciele:

1. analyzovať v piatich vopred určených časových intervaloch (0 hodín, 1 hodina, 2 hodiny, 3 hodiny a 4 hodiny) pohyblivosť a progresívnu pohyblivosť spermíí po pridaní šiestich vybraných implementorov a po vložení vzoriek do prostredia s inkubačnou teplotou 37°C a následne popísať vplyv teploty a času na konkrétne vzorky;
2. analyzovať v štyroch vopred určených časových intervaloch (24 hodín, 48 hodín, 72 hodín a 168 hodín) pohyblivosť a progresívnu pohyblivosť spermíí po pridaní šiestich vybraných implementorov a po vložení vzoriek do prostredia s teplotou 5°C a následne popísať vplyv teploty a času na konkrétne vzorky;
3. využiť parametre asistovanej analýzy pohyblivosti spermíí (CASA analýza) s dôrazom na dráhové a rýchlostné parametre;
4. zhodnotiť výskyt morfológicky zmenených spermíí po experimentálnej kultivácii;
5. zistiť koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov.

### 3. MATERIÁL A METODIKA

V dizertačnej práci sme využili ejakuláty šiestich náhodne vybraných plemenných býkov pochádzajúcich z inseminačnej stanice Slovenských biologických služieb v Lužiankach. Následne po získaní ejakulátu od plemenných býkov bol transportovaný do laboratória. Pre udržanie teploty, ktorú ejakulát mal po ejakulácii, sa dávka držala v termoske z polystyrénu vystlanej vatovými tampónmi.

Ejakuláty sa po prenose do laboratória riedili riedidlom nasledovného zloženia: 250 ml Triladyl® (Minitüb, Tiefenbach Germany), 750 ml destilovanej H<sub>2</sub>O a 62,5 ml vaječného žĺtka.

Z každého zriedeného ejakulátu sme pripravili preparáty, ktoré sme rozdelili na dve skupiny podľa koncentrácie implementora (schéma č. 1):

**Schéma č. 1:** Časové obdobia a teplota kultivácie

ČAS \ TEPLOTA	0h	1h	2h	3h	4h	24h	48h	72h	168h
37°C									
5°C									
CA									
CB									
SA									
SB									
RA									
RB									
PA									
PB									
TA									
TB									
KA									
KB									
GA									
GB									

C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;

A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Schéma č. 2:** Použité implementory a ich koncentrácie

Skupina	Objem ejakulátu (µl)	Použité implementory (mg)	Fyziologický roztok (µl)	Riedenie
CA	20	0,0	1 000	1:50
CB	20	0,0	1 000	1:50
		<b>Kyselina salicylová</b>		
SA	20	2,0	1 000	1:50
SB	20	1,0	1 000	1:50
		<b>Pyrokatechol</b>		
RA	20	2,0	1 000	1:50
RB	20	1,0	1 000	1:50
		<b>Rezorcinol</b>		
PA	20	2,0	1 000	1:50
PB	20	1,0	1 000	1:50
		<b>Trehalóza</b>		
TA	20	2,0	1 000	1:50
TB	20	1,0	1 000	1:50
		<b>Kofeín</b>		
KA	20	2,0	1 000	1:50
KB	20	1,0	1 000	1:50
		<b>Glutatión</b>		
GA	20	2,0	1 000	1:50
GB	20	1,0	1 000	1:50

- skupina A: preparáty s pridaním 2 mg.ml<sup>-1</sup> implementorov kyselina salicylová (S), rezorcinol (R), pyrokatechol (P), kofeín (K), trehalóza (T), glutatión (G) do pripraveného riedidla s ejakulátom:
  - kontrolná skupina CA – zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 37°C bez pridaneja implementorov,
  - kontrolná skupina CA – zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 5°C bez pridaneja implementorov,
  - skupiny SA, RA, PA, KA, TA, GA – zriedený ejakulát s pridaním 2 mg.ml<sup>-1</sup> implementora kultivovaný pri teplote 37°C,
  - skupiny SA, RA, PA, KA, TA, GA – zriedený ejakulát s pridaním 2 mg.ml<sup>-1</sup> implementora kultivovaný pri teplote 5°C,
- skupina B: preparáty s pridaním 1 mg.ml<sup>-1</sup> daných kyselina salicylová (S), rezorcinol (R), pyrokatechol (P), kofeín (K), trehalóza (T), glutatión (G) do pripraveného riedidla s ejakulátom:
  - kontrolná skupina CB – zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 37°C bez pridaneja implementorov,

- kontrolná skupina CB – zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 5°C bez pridania implementorov,
- skupiny SB, RB, PB, KB, TB, GB – zriedený ejakulát s pridaním 1 mg.ml<sup>-1</sup> implementora kultivovaný pri teplote 37°C,
- skupiny SB, RB, PB, KB, TB, GB – zriedený ejakulát s pridaním 1 mg.ml<sup>-1</sup> implementora kultivovaný pri teplote 5°C.

Merania prebiehali nasledovne:

- vzorky inkubované pri teplote 37°C v piatich časových intervaloch s jedn hodinovým odstupom,
- vzorky skladované pri teplote 5°C v štyroch časových intervaloch.

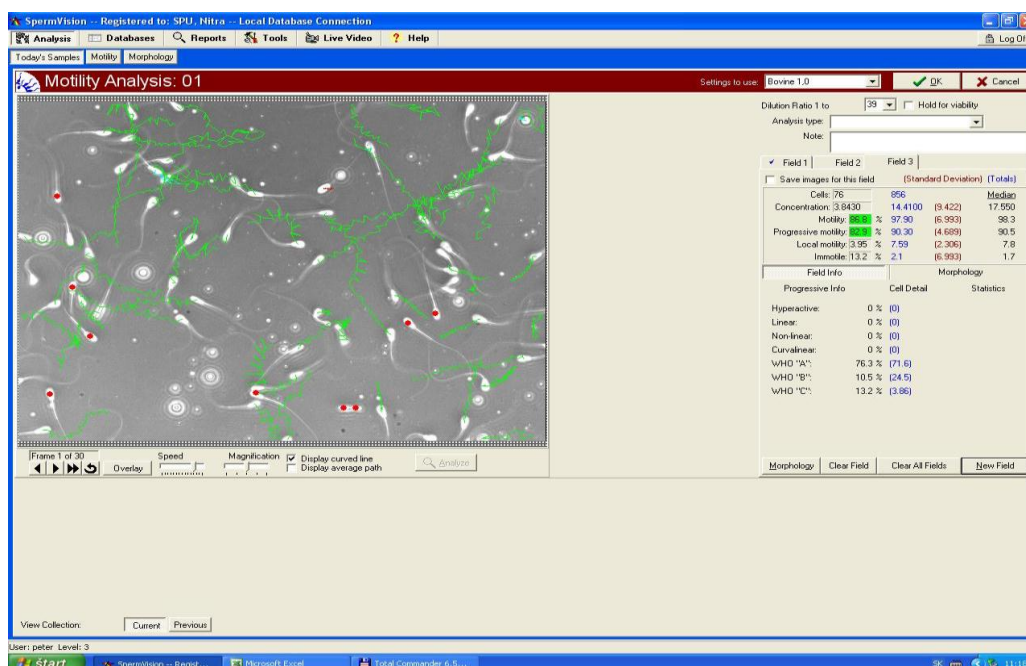
### 3.1. Hodnotenie pohyblivosti spermíí

Parametre pohyblivosti spermíí sme hodnotili CASA analyzátorom (Sperm Vision™; Minitüb - Nemecko). Ide o systém pozostávajúci z mikroskopu a počítačovej zostavy, kde sa pomocou vysokofrekvenčnej kamery a softwaru vykonáva analýza. Hlavné využitie tohto CASA zariadenia je v spracovaní a výskume ejakulátov vybraných druhov zvierat (býk, kanec, baran, žrebec, cap, jeleň). Prístroj vykonáva hodnotenie ejakulátov v dvoch hlavných úrovniach. Primárne sa hodnotia ukazovatele identifikácie rýchlosti pohybu analyzovaných spermíí a sekundárne overovanie kvality parametrov spracovaných ejakulátov. Systém vyhodnocuje koncentráciu spermíí, počet vitálnych spermíí ako aj hlavné parametre pohyblivosti (DSL, DAP, DCL, DSL, VAP, VCL, VSL, STR, LIN, WOB, ALH, BCF).

Každú vzorku sme umiestnili do počítačovej komôrky Makler Counting Chamber s hĺbkou 10 µm (Sefi–Medical Instruments, SRN) a následne umiestnili do zorného poľa (Massanyi et al., 2008). V každej vzorke sme sledovali nasledujúce parametre: percento pohyblivých spermíí (%), percento progresívne pohyblivých spermíí (%), DAP (distance average path) – priemerná prejdená vzdialenosť (µm); DCL (distance curved line) – krivočiarová prejdená vzdialenosť (µm); DSL (distance straight line) – priamočiara vzdialenosť (µm); VAP (velocity average path) – priemerná dráhová rýchlosť (µm.s<sup>-1</sup>) [časovo–závislá pohyblivosť hlavičky spermie pozdĺž jej priamej dráhy]; VCL (velocity curved line) – krivočiarová rýchlosť (µm.s<sup>-1</sup>) [časovo–závislá pohyblivosť hlavičky spermie pozdĺž aktuálnej krivočiarej dráhy ako vnímané dva rozmery pod mikroskopom]; VSL (velocity straight line) – priama rýchlosť (µm.s<sup>-1</sup>) [časovo–závislá pohyblivosť hlavičky spermie pozdĺž jej priamej línie medzi jej prvou a jej poslednou zistenou pozíciou]; STR (straightness) – priamosť pohybu; LIN (linearity) – priamočiarosť [priamočiarosť krivočiarovej dráhy,

vyjadrená ako VSL:VCL]; WOB (wobble) – kmitanie [mera pre kmitanie (osciláciu) aktuálnej dráhy okolo priemernej dráhy, vyjadrená ako VAP:VCL], ALH (amplitude of lateral head displacement) – amplitúda laterálneho (bočného) premiestnenie hlavičky ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) [stupeň laterálneho premiestnenia hlavičky spermie okolo priemernej dráhy. ALH môže byť vyjadrená ako maximálna alebo priemerná hodnota] a BCF (beat cross frequency) – frekvencia krížových úderov (Hz) [frekvencia pri ktorej VCL kríži VAP]. V rámci každého merania systémom CASA sme vyhodnotili parametre pohyblivosti z minimálne ôsmich polí komôrky Makler Counting Chamber (Massányi et al., 2008, Slivková et al. 2010).

**Obrázok č. 15:** Výstup CASA analýzy na PC



### 3.2. Hodnotenie výskytu morfoloicky zmenených foriem spermií

Morfologické zmeny na spermiách sme zisťovali pomocou morfoloickej analýzy. Táto spočívala v príprave náterov a pozorovaní mikroskopických preparátov spermií.

#### Technika prípravy náterov

Analýza morfoloicky zmenených foriem spermií sa hodnotila podľa rutinných postupov (Massányi et al. 2004; 2005). Preparáty sme zhotovili vždy na konci jednotlivých experimentov.

Označenie sklíčka: Názvom implementora a skupiny podľa použitej koncentrácie, nezmývatelnou fixou.



Zhotovenie náteru: Jednu kvapku vzorky sme rozotreli na vydenzifikovanom podložnom sklíčku (v uhle 45°) ťahom kvapky za hranou sklíčka, aby vzorka nevnikla pred hranu rozterového sklíčka (aby nedošlo k mechanickému poškodeniu spermií a tým k tvorbe artefaktov). Náter má byť jemný, súvislý a nepoškodený. Nátery sme nechali usušiť na ohrievacej doske (37°C). Keď boli nátery matné, preparáty sa fixovali.

Fixácia preparátu: Suchý preparát sa fixuje 30 minút i dlhšie, Hancockovým roztokom v zložení: Formalín 125 ml; NaCl 10 g; NaHCO<sub>3</sub> 0,5 g; Destilovaná voda 1 000 ml). Fixujeme v kyvetách 30 minút, potom premyjeme v destilovanej vode (pH 7,0 – 7,4) približne minútu.

Farbenie preparátu: Ako farbiacu metódu sme použili metódu Hancocka na znázornenie akrozómu. Ide o monochromatickú metódu, ktorá veľmi dobre zvýrazňuje akrozóm, diferencuje ho od ekvatoriálneho segmentu a *pars posterior* a zvýrazňuje bazálne granuly. Táto metóda je vhodná na sledovanie abnormalít akrozómu, ale aj ostatných anomálií spermií. Patrí medzi najlepšie a najštandardnejšie metódy, ktoré sa používajú pri morfológickom vyšetrení spermií. Farbenie sme vykonali v kyvetách Giemsovým roztokom po dobu 3 hodín. Po farbení sme preparáty dôkladne opláchli destilovanou vodou (pH 7,0 – 7,4) jednu minútu.

Príprava farbiva: Roztok Giemsa – Romanowski 8 ml; Sorensenov fosfátový pufer (pH 7,0) 4 ml; destilovaná voda (pH 7,4) 70 ml.

Akrozóm sa farbí na modrofialovo, jeho zadná časť tvorí kontrastne svetlejší polmesiačikový útvar. Na zadnej polovici hlavičky sa nachádza len svetlý farebný nádych. Je dobre pozorovateľný aj bičik.

Preparáty sme posudzovali na optickom mikroskope pri 450 násobnom zväčšení. Pri každom preparáte sme hodnotili minimálne 300 spermií.

Morfologicky zmenené spermie sme zoraďovali do klasifikačnej tabuľky morfológicky malformovaných foriem spermií bežne používanej na hodnotenie spermií. Zo škály patologických foriem spermií sme hodnotili nasledovné – hlavička bez bičika, torzo bičika, kľučkovité stočenie bičika, zlomený bičik, zvinutie (klbko) bičika, retencia cytoplazmatickej kvapky, malá hlavička, veľká hlavička a iné patologické formy spermií. Pri súčasnom výskyte primárnej i sekundárnej anomálie sme zarátali len primárnu. Pri výskyte voľných hlavičiek a voľných bičikov sme započítavali len hlavičky (Gamčík et al., 1992; Slivková et al., 2010).

### 3.3. Stanovenie koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov

#### 3.3.1. Stanovenie albumínu (ALB)

Brómkrezolová zeleň (BCG) tvorí s albumínom v mierne kyslom prostredí za prítomnosti povrchovo aktívnych látok komplex vhodný na fotometrické stanovenie.

Pri pokuse sme použili tri kyvety. V prvej kyvete sa nachádzal reagenčný blank, v druhej bola prítomná stanovovaná vzorka v množstve 10  $\mu\text{l}$  a v tretej štandard (kalibrátor), v celkovom množstve 10  $\mu\text{l}$ .

Do kyviet sa pridali nasledovné zložky: činidlo R1 v zložení - brómkrezolová zeleň (BCG) v množstve 0,21  $\text{mmol.l}^{-1}$ , sukcinátový pufo v množstve 100,0  $\text{mmol.l}^{-1}$ , azid sodný v množstve 0,5  $\text{g.l}^{-1}$ . Do každej kyvety sa pridáva činidlo R1 v množstve 1,0 ml. Destilovaná voda v množstve 0,01 ml sa napipetovala do prvej kyvety, ktorá obsahuje reagenčný blank.

	Reagenčný blank	vzorka	Štandard (kalibrátor)
Činidlo R1	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Destilovaná voda	0,01ml	-	-
Vzorka	-	0,01 ml	-
Štandard (kalibrátor)	-	-	0,01 ml

Následne sa kyvety premiešali a po 5 minútach inkubácie sa zmerala absorbancia vzoriek  $A_1$  a absorbancia štandardu proti reagenčnému blanku  $A_2$ . Absorbancia sa meria pri vlnovej dĺžke 578 nm, pri teplote 37°C, pomocou spektrofotometra Genesys 10 (Thermo Fisher Scientific Inc, USA) s použitím komerčného kitu BioLa Test (PLIVA–Lachema, Brno, Czech republic).

#### 3.3.2. Stanovenie MDA

Stanovenie peroxidácie lipidov vychádza z poznatku, že Fentonová alebo Haber-Weissova reakcia vyvoláva akumuláciu lipidových peroxidov v spermách. Tieto peroxidy sa rozkladajú pôsobením kyseliny tiobarbiturovej (TBA), ktorá stimuluje lipoperoxidatívnu reťazovú reakciu. Výsledkom reakcie je tvorba malondialdehydu. Reakcia sa zastavuje butanolom a následne sa meria excitačné a emisné spektrum vzorky pri vlnovej dĺžke 532, resp. 553 nm (Agarwal et al., 2009).

Reagenčné činidlá pri stanovení peroxidácie lipidov su 20% w/w kyselina octová (Centralchem, Bratislava, Slovak Republic, pH 3,5 a 0,78% kyselina tiobarbiturová (Sigma-Aldrich, St.Luis, USA) rozpustená v destilovanej vode.

Na analýzu pripravíme sklené skúmavky o objeme 10 ml. Do prvej skúmavky sa napipetuje 1 ml reagenčného blanku, do ďalších vzoriek o množstve 1 ml. Následne sa do každej skúmavky pridá 0,5 ml roztoku kyseliny octovej a 0,5 ml TBA roztoku. Skúmavky sa uzavrujú a varia sa 45 minút vo vodnom kúpeli pri teplote 95 °C. Následne sa obsah skúmaviek centrifuguje 5 minút pri 4500 rpm. Číry supernatant sa prenesie do kyvety o objeme 1 ml a následne sa zmeria absorbancia pri 532 nm.

Zo získaných výsledkov sme vypočítali priemer, smerodajnú odchýlku, maximálnu a minimálnu hodnotu a následne sme vypočítali preukaznosť s použitím PC programu SAS podľa predošlých prác (Massányi et al., 2004, 2009; Tvrdá et al., 2011).

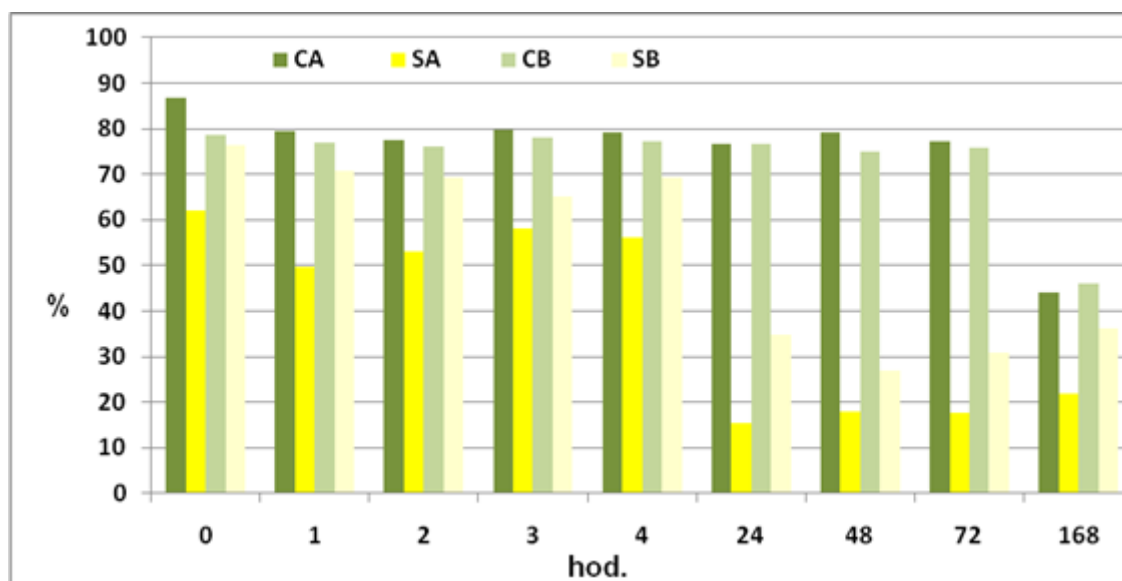
## 4. VÝSLEKDY

### 4.1. Analýzy pohyblivosti spermíí

Celková pohyblivosť spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a 5°C sa v kontrolnej skupine CA pohybovala od 43,94 do 86,34%. Celková pohyblivosť spermíí v kontrolnej skupine CB sa pohybovala od 46,08 do 78,56%. Na začiatku pokusu (čas 0) bola zistená pohyblivosť spermíí 86,34±9,03% v CA kontrolnej skupine a 78,56 ±16,07% v CB kontrolnej skupine. Preukaznosť medzi kontrolnými skupinami CA a CB nebola zistené v žiadnom časovom intervale.

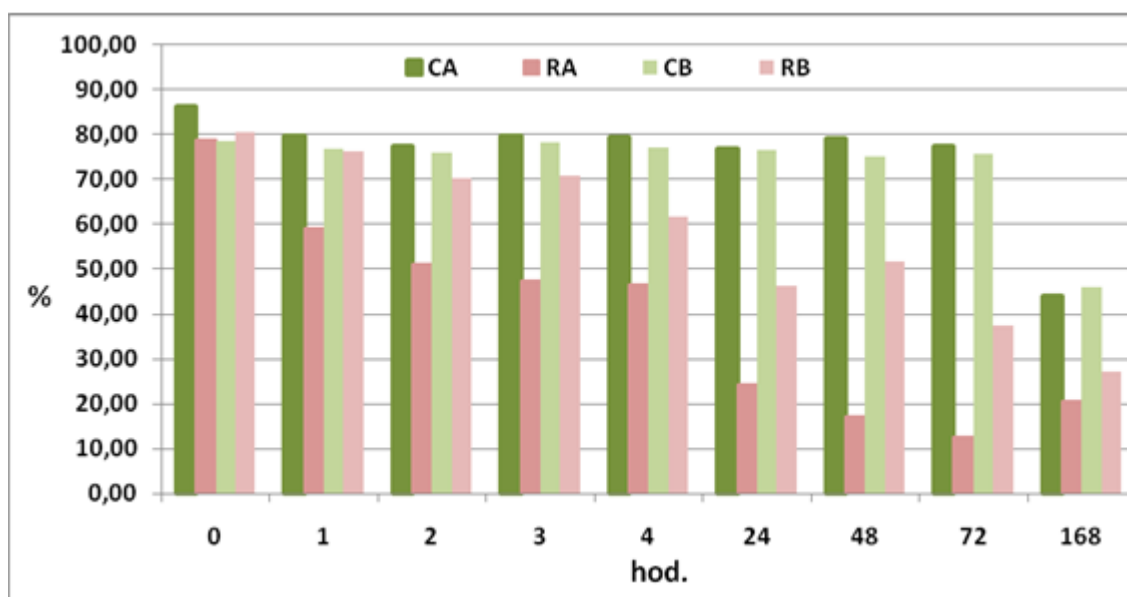
Kyselina salicylová SA a SB – percento pohyblivosti u kyseliny salicylovej bolo nižšie v SA skupine (15,38–62,16%) v porovnaní so skupinou SB, kde sme zaznamenali hodnoty od 26,86 do 76,30%. Pri porovnávaní skupín SA a SB bola preukaznosť v čase 0 a 24 hodín ( $p < 0,01$ ) a v čase 1 a 2 ( $p < 0,001$ ). Pri hodnotení pohyblivosti sme zaznamenali preukazne nižšie hodnoty v skupine SA oproti kontrolnej skupine. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) nastal už pri prvom meraní (čas 0) a preukazný pokles sme zistili vo všetkých nasledujúcich časových intervaloch. Najnižšie preukazné hodnoty sme namerali pri vzorkách, ktoré boli uskladnené pri teplote 5°C v časových intervaloch 24, 48 a 72 hodín. Ich rozpätie bolo 15,38±9,80 – 18,08±14,08% (graf č. 1). V skupine SB sme zistili signifikantný pokles pohyblivosti vo vzorkách kultivovaných pri teplote 5°C v čase 24 hodín ( $p < 0,001$ ), následne v čase 48 a 72 hodín na úrovni  $p < 0,001$  (graf č.1). Výsledky pohyblivosti spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním kyseliny salicylovej v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.1.

**Graf č. 1:** Celková pohyblivosť spermíí (%) po pridaní kyseliny salicylovej



Rezorcinol RA a RB – percento pohyblivosti rezorcinolu v skupine RA bolo v čase 0  $78,95 \pm 6,80\%$  a  $80,47 \pm 8,99\%$  v skupine RB. Preukazný pokles pohyblivosti v RA skupine začal v čase 1 ( $p < 0,001$ ) a následne aj v časových obdobiach po čas 72 hodín ( $p < 0,001$ ). V čase 168 hodín sa významný pokles preukázal, ale na úrovni  $p < 0,05$ . Najnižšie hodnoty pohyblivosti boli v skupine RA namerané pri vzorkách kultivovaných pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  v čase 24, 48 a 72 hodín (graf č. 2). V skupine RB sme preukazný pokles zaznamenali v čase 4 ( $p < 0,05$ ) a v čase 24, 48 a 72 hodín ( $p < 0,001$ ). V RB skupine boli namerané hodnoty od 27,10 (čas 168 hodín, bez preukazného poklesu) do 80,47% a preukazne najnižšie percento pohyblivosti bolo v čase 72 hodín od začiatku experimentu (graf č. 2). Pri porovnávaní skupín RA a RB bola preukaznosť poklesu v čase 1, 2, 3, 24, 48 a 72 hodín ( $p < 0,001$ ) a v čase 4 ( $p < 0,05$ ). Výsledky pohyblivosti spermií kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním rezorcinolu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.1.

**Graf č. 2:** Celková pohyblivosť spermií (%) po pridaní rezorcinolu

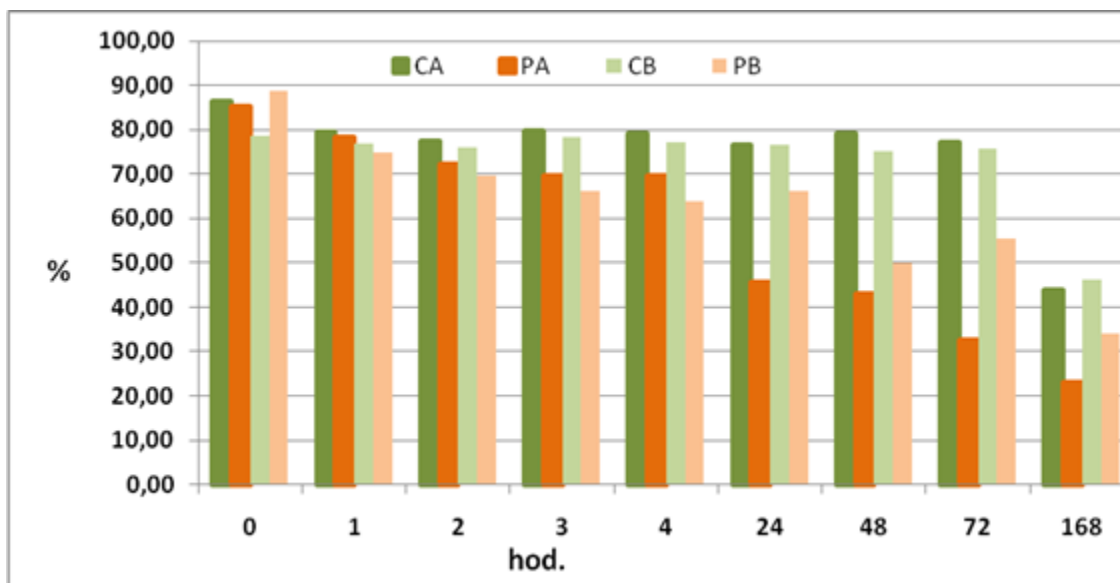


Pyrokatechol PA a PB – pri hodnotení percenta pohyblivosti v čase 0 v PA skupine pohyblivosť spermií bola  $85,19 \pm 9,63\%$  a  $88,81 \pm 4,96\%$  v skupine PB. U pyrokatecholu v A skupine boli namerané hodnoty pohyblivosti v rozpätí 22,95–85,19%, tieto hodnoty boli nižšie v porovnaní so skupinou PB. V PB skupine boli namerané hodnoty 34,15–88,81%.

Pri hodnotení pohyblivosti sme zaznamenali preukazne nižšie hodnoty v skupine PA v porovnaní s kontrolnou skupinou. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) nastal v čase 24 hodín po začatí experimentu (45,64%), preukazný pokles pohyblivosti ( $p < 0,001$ ) sme zistili aj v čase 48 a 72 hodín (graf č. 3). V skupine s nižšou koncentráciou (PB skupina), preukazný pokles

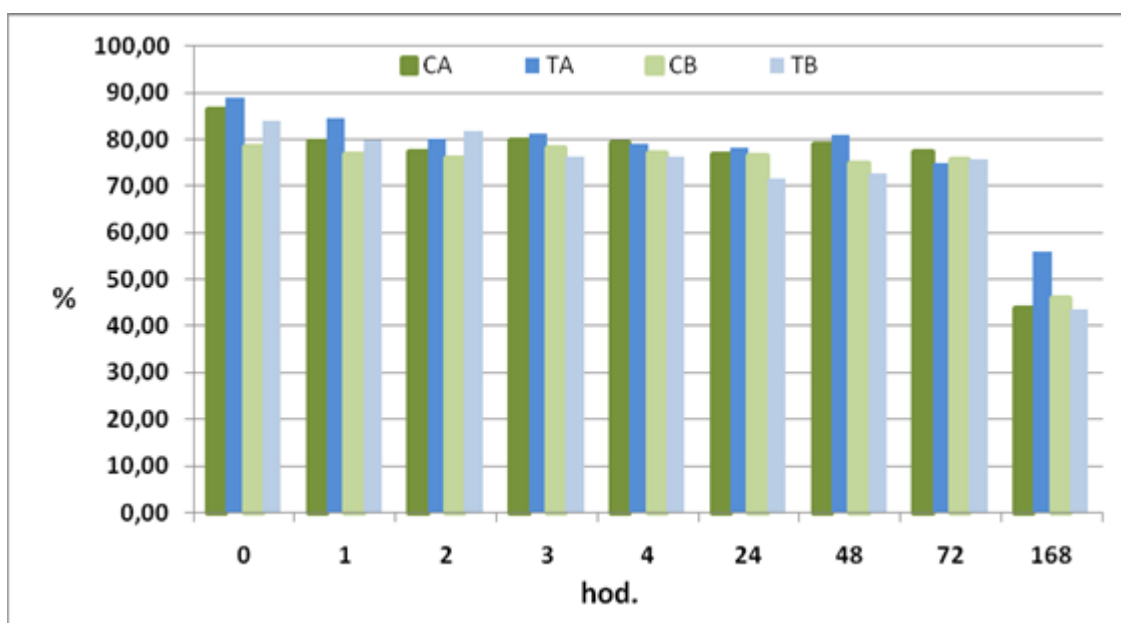
hodnôt začal v čase 48 hodín ( $p < 0,001$ ) a následne bol zaznamenaný aj v čase 72 hodín ( $p < 0,01$ ). Pri porovnávaní skupín PA a PB boli preukazne nižšie hodnoty v skupine PA, preukazná hodnota bola v čase 24 hodín a v čase 72 hodín na úrovni  $p < 0,001$  (graf č. 3). Výsledky pohyblivosti spermií kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním pyrokatecholu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.1.

**Graf č. 3:** Celková pohyblivosť spermií (%) po pridaní pyrokatecholu



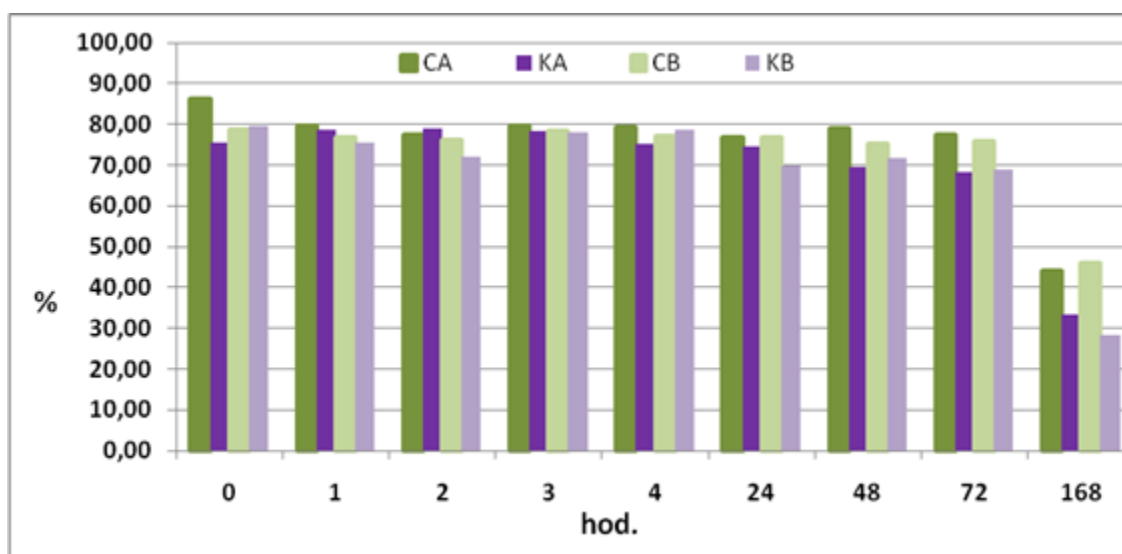
Trehalóza TA a TB – percento pohyblivosti u trehalózy v TA skupine bolo v rozpätí 56,04–89,00% a v skupine TB v rozpätí 43,52–84,02%. Pri porovnávaní skupín TA a TB nebola zaznamenaná preukaznosť v žiadnom časovom intervale. Preukazné rozdiely pohyblivosti v skupine A po pridaní trehalózy sme nezistili. Rovnako to bolo aj v skupine B s nižšou koncentráciou implementora, kde sme nezaznamenali žiadny preukazný rozdiel v pohyblivosti spermií. V porovnaní s kontrolnou skupinou A sme zaznamenali mierne vyššie hodnoty pohyblivosti spermií v jednotlivých časových intervaloch (graf č. 4). V porovnaní skupiny TB s kontrolnou skupinou B boli zistené mierne vyššie hodnoty pri teplote kultivácie 37°C v časovom období od času 0 po čas 4 hodiny od začiatku experimentu. Výsledky pohyblivosti spermií kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním trehalózy v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.1.

**Graf č. 4:** Celková pohyblivosť spermíí (%) po pridaní trehalózy



Kofeín KA a KB – percento pohyblivosti v skupine KA v čase 0 bolo  $75,41 \pm 17,05\%$  a  $79,49 \pm 14,81\%$  v skupine KB. U tohto implementora v skupine KA postupne klesala pohyblivosť, avšak preukazný pokles vplyvom kofeínu nebol zaznamenaný. V skupine s nižšou koncentráciou implementora pohyblivosť klesla v čase 1 a 2, ale následne v čase 3 a 4 bola vyššia oproti pohyblivosti v čase 0, v ďalších časových intervaloch pohyblivosť opäť klesala (graf č.5). V tejto skupine, rovnako ako v KA, nebol zaznamenaný preukazný rozdiel pohyblivosti. Výsledky pohyblivosti spermíí kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním kofeínu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.1.

**Graf č. 5:** Celková pohyblivosť spermíí (%) po pridaní kofeínu

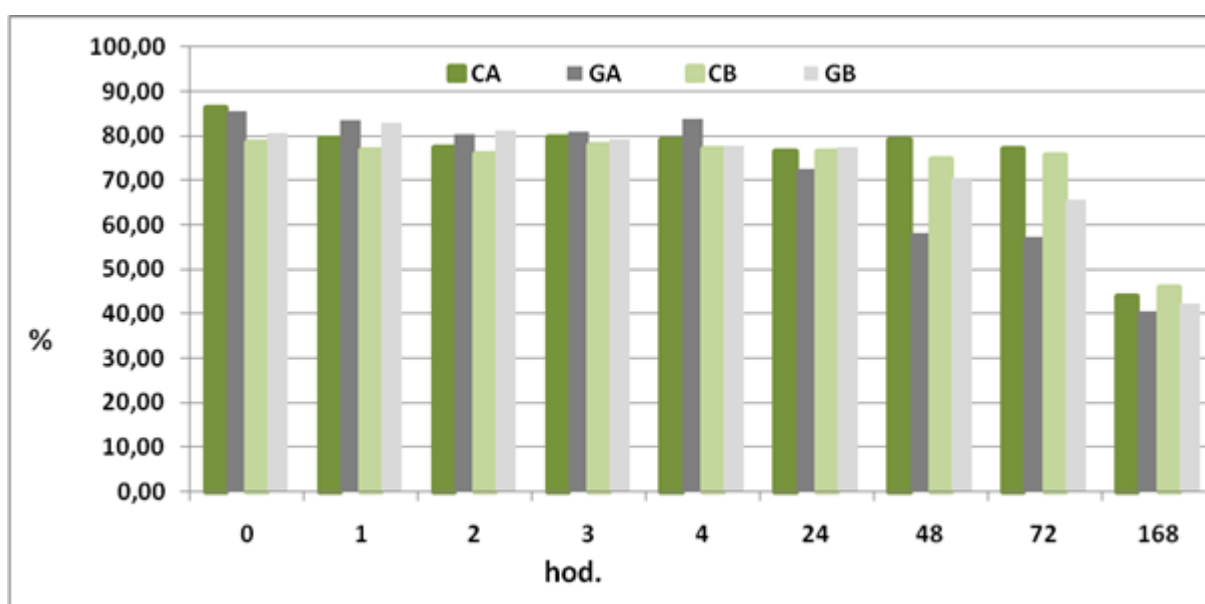


Glutatión GA a GB – pohyblivosť spermíí po pridaní glutatiónu sa pohybovala od 40,47 do 85,46% v A skupine a v skupine B bola pohyblivosť od 42,35 do 82,94%. V porovnaní s kontrolnou skupinou A sme zaznamenali mierne vyššie hodnoty pohyblivosti spermíí v časových intervaloch 1 až 4 hodiny od začiatku experimentu pri teplote kultivácie 37°C. V GA skupine preukazne nižšie hodnoty pohyblivosti boli zaznamenané v čase 48 (58,13±22,92%) a v čase 72 hodín (57,34±17,10%), hladina preukaznosti bola  $p < 0,01$ . V skupine B sme preukazný efekt pohyblivosti spermíí po pridaní glutatiónu nezaznamenali. V porovnaní skupiny GB s kontrolnou skupinou B boli zistené mierne vyššie hodnoty pri teplote kultivácie 37°C v časovom období 0 až 4 hodiny a pri teplote kultivácie 5°C v časovom období 24 hodín od začiatku experimentu (graf č.6). Preukaznosť medzi skupinami GA a GB nebola zaznamenaná. Výsledky pohyblivosti spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním glutatiónu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.1.

Porovnanie výsledkov pohyblivosti spermíí po pridaní kyseliny salicylovej, rezorcinolu, pyrokatecholu, trehalózy, kofeínu a glutatiónu s koncentráciou implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup> v skupine A a s koncentráciou implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup> v skupine B pri teplote kultivácie 37°C je v grafe č. 7.

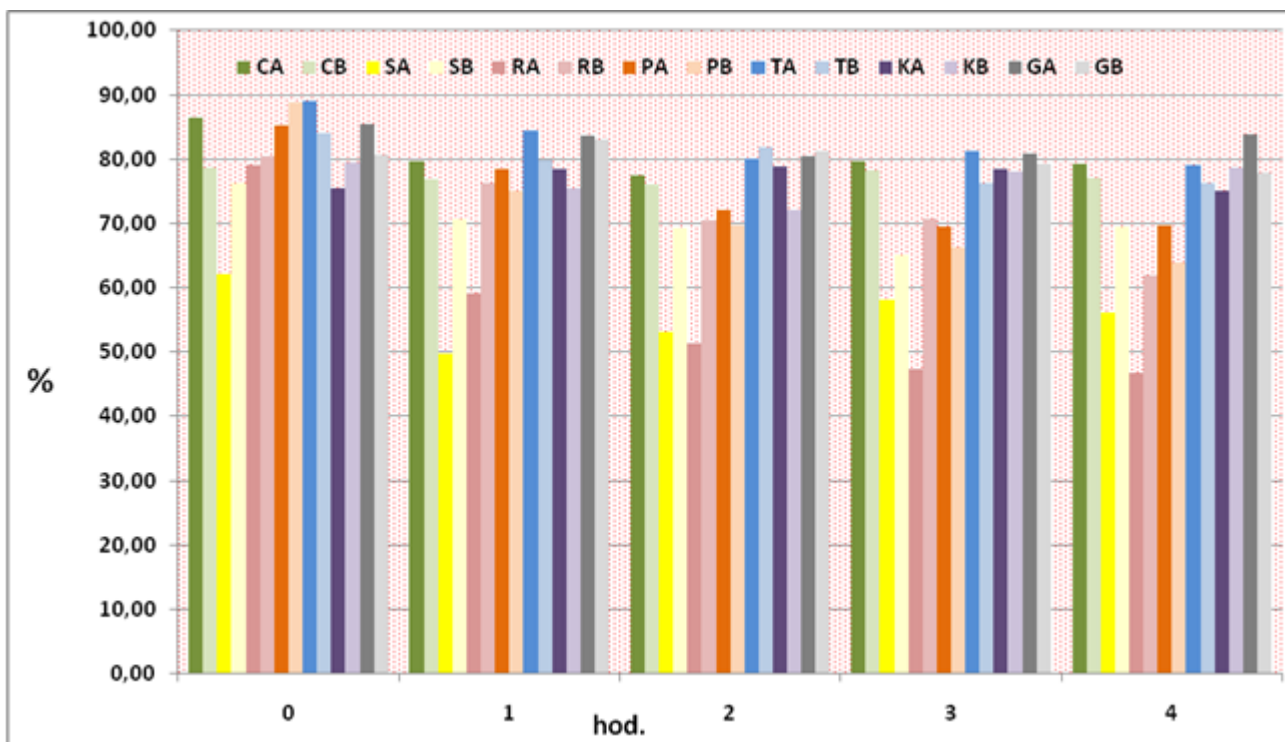
V grafe č.8 je porovnanie výsledkov pohyblivosti spermíí po pridaní kyseliny salicylovej, rezorcinolu, pyrokatecholu, trehalózy, kofeínu a glutatiónu s koncentráciou implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup> v skupine A a s koncentráciou implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup> v skupine B pri teplote kultivácie 5°C.

**Graf č. 6:** Celková pohyblivosť spermíí (%) po pridaní glutatiónu

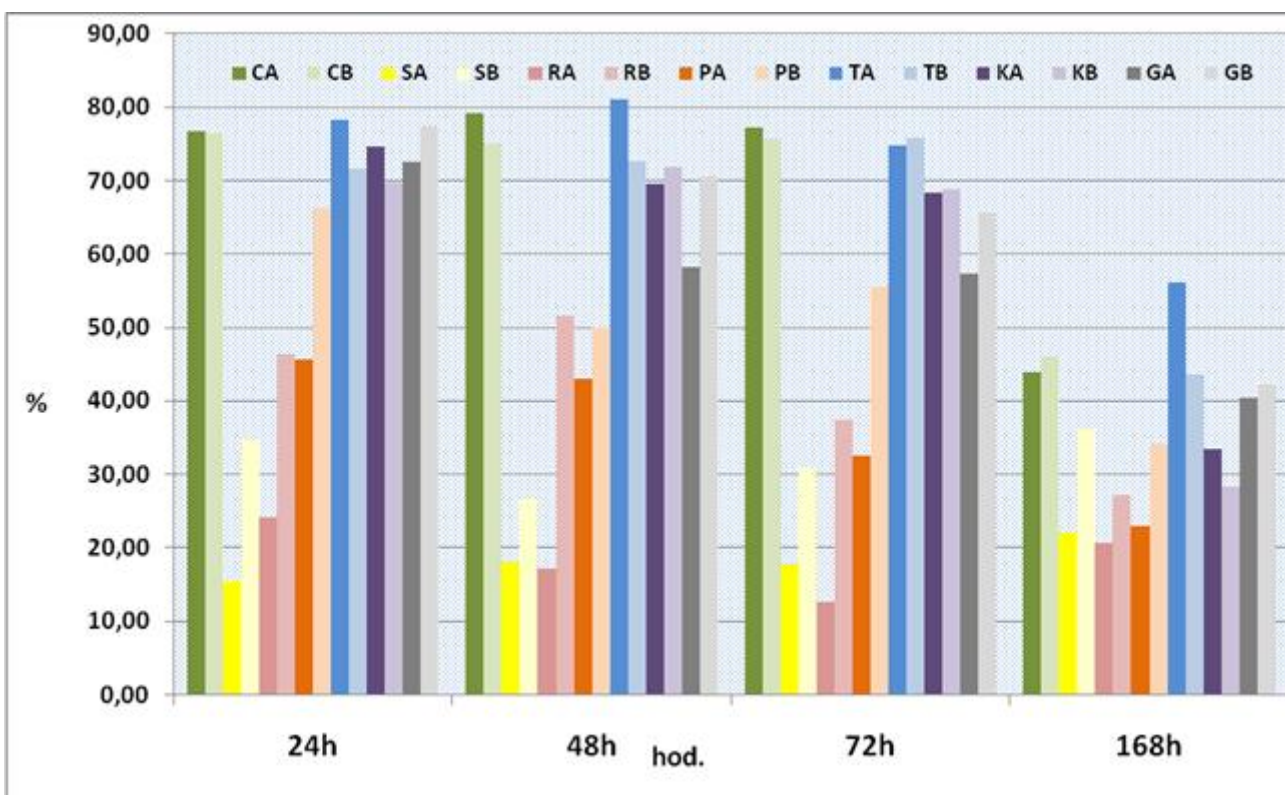




**Graf č. 7:** Celková pohyblivosť spermíí pri teplote 37°C



**Graf č. 8:** Celková pohyblivosť spermíí pri teplote 5°C

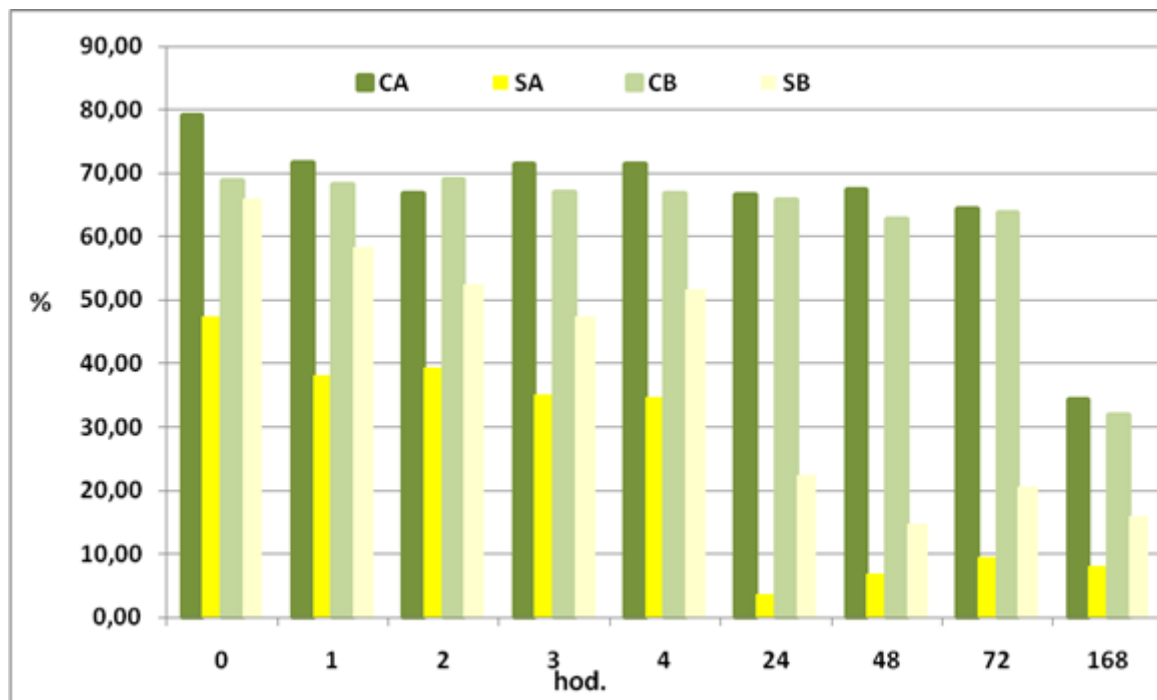


## Analýza progresívnej pohyblivosti spermíí

Progresívna pohyblivosť spermíí v kontrolnej skupine A kultivovanej pri teplote 37°C a 5°C sa pohybovala od 34,29 do 79,09%. V kontrolnej skupine B sa progresívna pohyblivosť pohybovala od 32,00 do 68,76%.

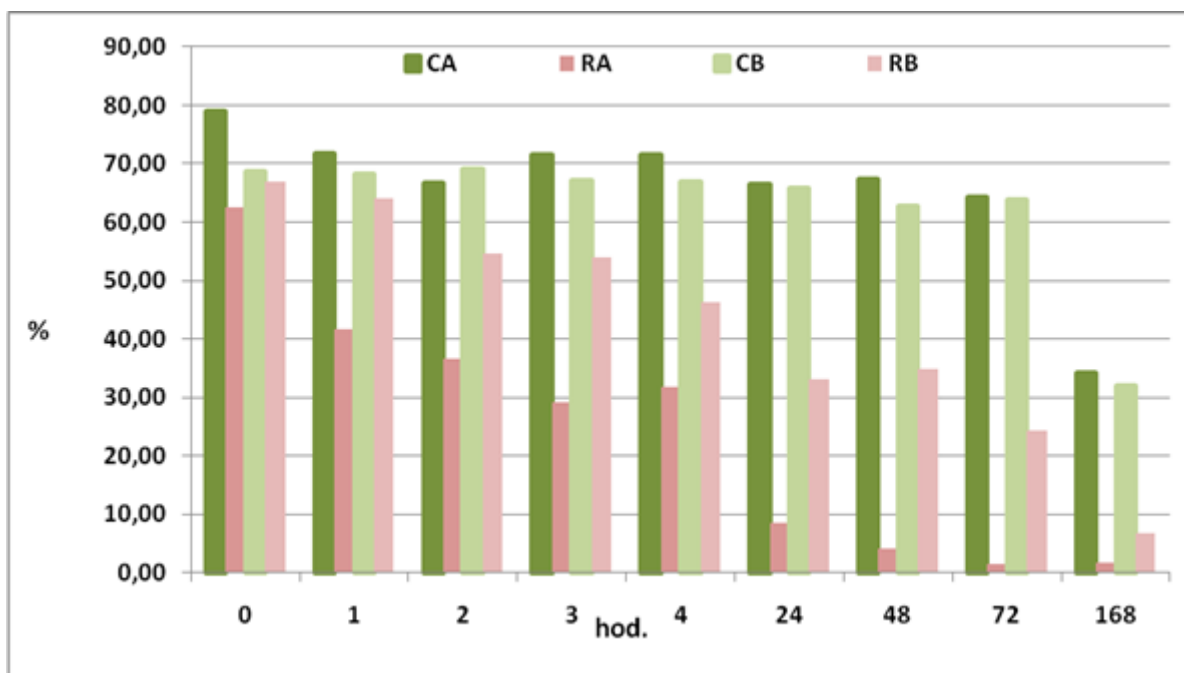
Kyselina salicylová SA a SB – percento progresívnej pohyblivosti u kyseliny salicylovej bolo nižšie v SA skupine (3,67–47,45%) oproti skupine SB, kde boli zaznamenané hodnoty 14,77–65,94%. Pri hodnotení progresívnej pohyblivosti sme zaznamenali preukazne nižšie hodnoty v skupine SA oproti kontrolnej skupine. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) nastal už pri prvom meraní (čas 0). Najnižšie preukazné hodnoty sme namerali pri vzorkách, ktoré boli uskladnené pri teplote 5°C v časových intervaloch 24, 48, 72 a 168 hodín. Ich rozpätie bolo  $3,67 \pm 3,50$  –  $9,63 \pm 14,25\%$ . Podobne to bolo aj pri skupine s koncentráciou kyseliny salicylovej  $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  (SB skupina), kde preukazný pokles hodnôt ( $p < 0,01$ ) začal po dvoch hodinách 52,55%. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) nastal v čase 3 a potom opäť pri teplote 5°C a v časových intervaloch 24, 48, 72 s najnižším nameraným percentom progresívnej pohyblivosti spermíí 14,77% po 48 hodinách od začiatku experimentu (graf č.9). Pri porovnávaní skupín SA a SB boli preukazne nižšie hodnoty ( $p < 0,001$ ) v čase 0 a 1 a potom v čase 24 hodín ( $p < 0,01$ ). Výsledky progresívnej pohyblivosti spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním kyseliny salicylovej v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.2.

**Graf č. 9:** Progresívna pohyblivosť spermíí (%) po pridaní kyseliny salicylovej



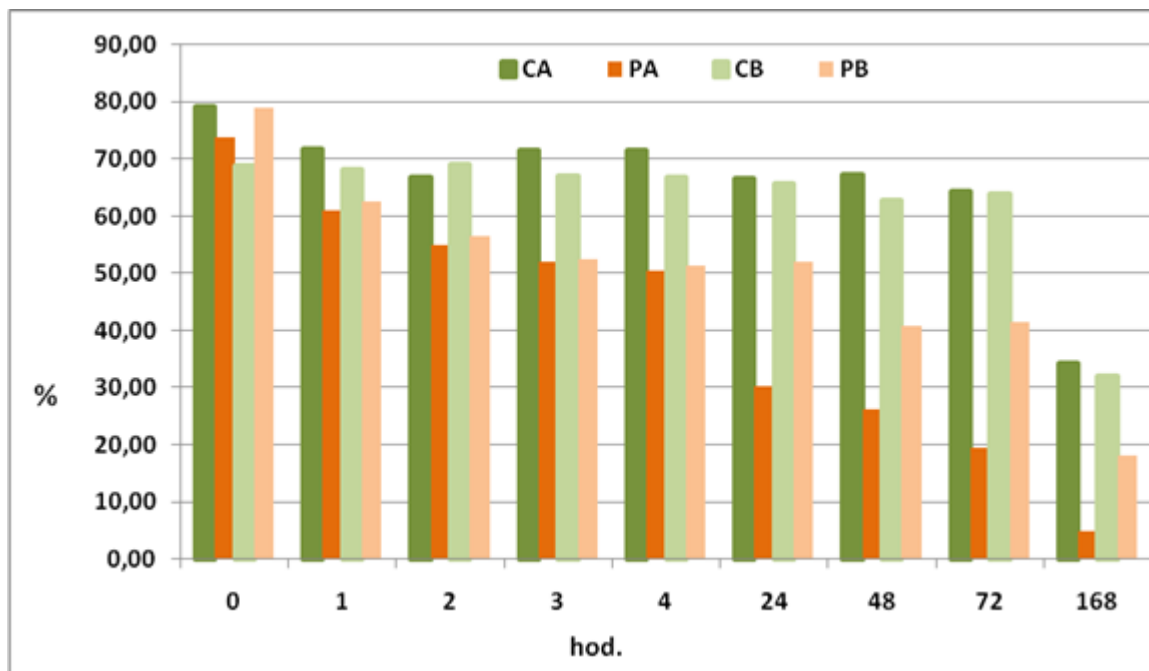
Rezorcinol RA a RB – percento progresívnej pohyblivosti u rezorcínolu v čase 0 v RA skupine bolo  $62,57 \pm 10,90\%$  a  $66,99 \pm 13,81\%$  v skupine RB. U tohto implementora to boli najvyššie namerané hodnoty progresívnej pohyblivosti. Nižšie namerané hodnoty boli opäť v skupine s vyššou koncentráciou (RA skupina) v rozpätí 1,42–62,57%. V RB skupine boli namerané hodnoty 6,75–66,99%. Pri hodnotení progresívnej pohyblivosti sme zaznamenali preukazne nižšie hodnoty v skupine RA oproti kontrolnej skupine. Preukazný pokles ( $p < 0,01$ ) nastal už pri prvom meraní (čas 0) a následne bol preukazný pokles  $p < 0,001$  zaznamenaný vo všetkých časových obdobiach. Preukazne nižšie hodnoty ( $p < 0,001$ ) sme namerali pri vzorkách, ktoré boli uskladnené pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  v časových intervaloch 24, 48, 72 a 168 hodín. Ich rozpätie bolo  $1,42 \pm 2,34 - 8,47 \pm 10,87\%$ . V skupine s nižšou koncentráciou (RB skupina), preukazný pokles hodnôt ( $p < 0,05$ ) nastal po dvoch hodinách (54,62%). Ďalší preukazný pokles ale už na úrovni  $p < 0,001$  nastal opäť až v čase 4 a následne aj pri teplote kultivácie  $5^{\circ}\text{C}$  a v časových intervaloch 24, 48, 72 a 168 hodín s najnižším nameraným percentom progresívnej pohyblivosti spermíí 6,75% po 168 hodinách od začiatku experimentu (graf č.10). Aj v týchto experimentoch s rezorcínolom bola zaznamenaná preukaznosť medzi skupinami RA a RB v čase 1, 2, 3, 24, 48 a 72 hodín –  $p < 0,001$ . Výsledky progresívnej pohyblivosti spermíí kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním rezorcínolu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.2.

**Graf č. 10:** Progresívna pohyblivosť spermíí (%) po pridaní rezorcínolu



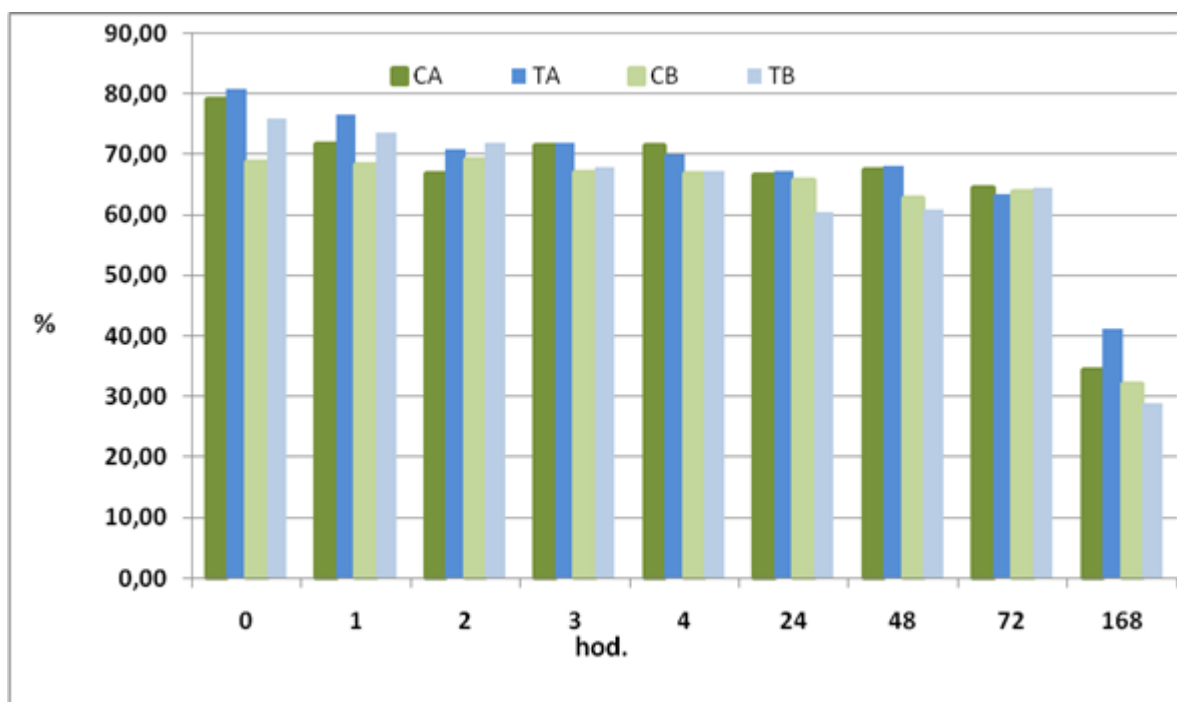
Pyrokatechol PA a PB – pri hodnotení posledného implementora zo skupiny fenolových kyselín pyrokatecholu percento progresívnej pohyblivosti v čase 0 v PA skupine bolo  $73,74 \pm 10,72\%$  a  $78,98 \pm 6,40\%$  v skupine PB. U pyrokatecholu v PA skupine boli namerané hodnoty progresívnej pohyblivosti  $4,89-73,74\%$ , tieto hodnoty boli nižšie v porovnaní so skupinou PB. V PB skupine boli namerané hodnoty  $18,19-78,98\%$ . Pri hodnotení progresívnej pohyblivosti sme zaznamenali preukazne nižšie hodnoty v skupine PA oproti kontrolnej skupine. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) nastal v čase tri hodiny po začatí experimentu pri teplote  $37^\circ\text{C}$  ( $51,93\%$ ). Percento progresívnej pohyblivosti spermíí následne klesalo a najnižšia hodnota bola v čase 168 hodín  $4,89 \pm 6,69\%$  ( $p < 0,001$ ). V skupine s nižšou koncentráciou (PB skupina), preukazný pokles hodnôt začal rovnako ako v skupine PA po troch hodinách  $52,38\%$  a pokračoval aj v čase štyri hodiny po začatí experimentu ale preukazný pokles progresívnej pohyblivosti bol na úrovni  $p < 0,05$ . Ďalší preukazný pokles na úrovni  $p < 0,001$  nastal pri teplote  $5^\circ\text{C}$  a v časovom intervale 48 a 72 hodín. Najnižšia nameraná hodnota bola po 168 hodinách na úrovni  $18,19\%$  bez preukazného poklesu pohyblivosti spermíí. Výsledky progresívnej pohyblivosti vplyvom pyrokatecholu sú zaznamenané v grafe č. 11. Preukaznosť medzi skupinami PA a PB bola zaznamenaná v čase 24 a 72 hodín ( $p < 0,001$ ). Výsledky progresívnej pohyblivosti spermíí kultivovaných pri teplote  $37^\circ\text{C}$  a pri teplote  $5^\circ\text{C}$  pridaním pyrokatecholu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.2.

**Graf č. 11:** Progresívna pohyblivosť spermíí (%) po pridaní pyrokatecholu



Trehalóza TA a TB – pri sledovaní progresívnej pohyblivosti spermií býkov s pridaním trehalózy neboli zaznamenané preukazné rozdiely ani v jednom časovom období. V čase 0 pri začatí pokusu bola nameraná hodnota  $80,80 \pm 5,00\%$  v skupine TA a v skupine TB bola táto pohyblivosť na úrovni  $75,83 \pm 11,06\%$ , čo boli aj najvyššie hodnoty pohyblivosti v týchto skupinách. V skupine TA boli v ďalších časových intervaloch zaznamenané hodnoty 76,50-41,26%, kedy najnižšie percento bolo v čas 168 hodín. V porovnaní s kontrolnou skupinou A sme zaznamenali mierne vyššie hodnoty pohyblivosti spermií v jednotlivých časových intervaloch, okrem časového intervalu 4 hodiny a 72 hodín od začiatku experimentu. V skupine TB boli hodnoty 73,61-28,78%, taktiež najnižšia pohyblivosť bola v čase 168 hodín. V porovnaní skupiny TB s kontrolnou skupinou B boli zistené mierne vyššie hodnoty pri teplote kultivácie  $37^{\circ}\text{C}$  v časovom období od času 0 po čas 4 hodiny a v čase 72 hodín pri teplote kultivácie  $5^{\circ}\text{C}$  od začiatku experimentu (graf č.12). Pri porovnávaní skupín TA a TB neboli zaznamenaný preukazný efekt. Výsledky progresívnej pohyblivosti spermií kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním trehalózy v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.2.

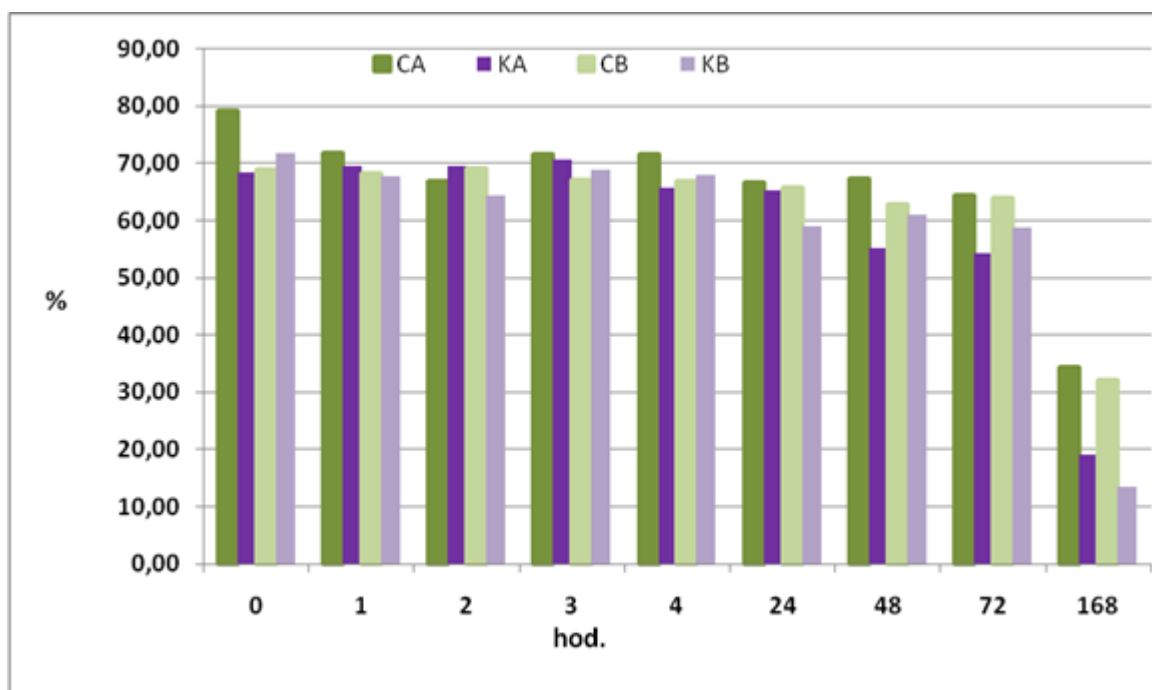
**Graf č. 12:** Progresívna pohyblivosť spermií (%) po pridaní trehalózy



Kofeín KA a KB – percento progresívnej pohyblivosti u kofeínu v čase 0 v KA skupine bolo  $68,48 \pm 16,96\%$  a  $71,70 \pm 13,72\%$  v skupine KB. U tohto implementora v skupine KA následne klesala pohyblivosť až do času dvoch hodín, progresívna pohyblivosť mierne stúpila (v čase tri hodiny) na hodnotu  $70,67 \pm 7,61\%$  a potom hodnoty klesali až na úroveň  $19,15\%$  v čase 168 hodín. V tejto skupine KA neboli zaznamenané preukazne rozdiely progresívnej

pohyblivosti ani v jednom časovom období. V skupine s nižšou koncentráciou implementora progresívna pohyblivosť klesala od času 0 do 168 hodín (71,70-13,45%). Mierne zvýšenie progresívnej pohyblivosti spermíí bola zaznamenaná v čase 0, 3 a 4 hodiny od začiatku experimentu. Najnižšia hodnota zaznamenaná v čase 168 hodín bola preukazne ( $p < 0,05$ ) nižšia progresívna pohyblivosť spermíí (graf č. 13). Výsledky progresívnej pohyblivosti spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním kofeínu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.2.

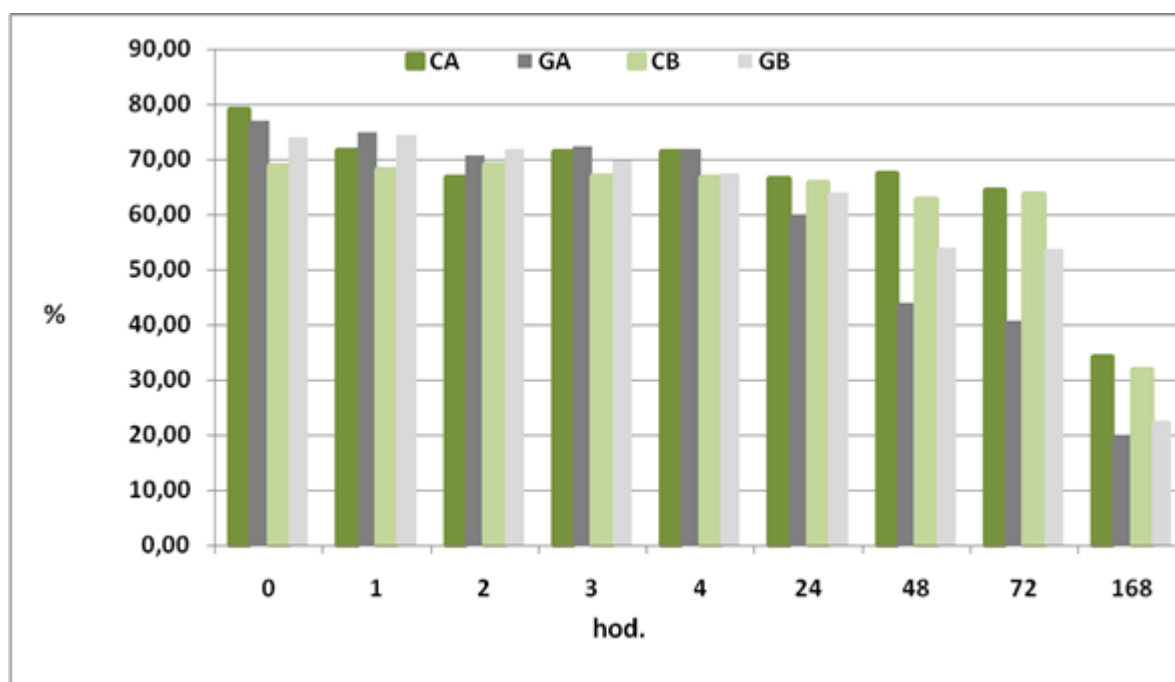
**Graf č. 13:** Progresívna pohyblivosť spermíí (%) po pridaní kofeínu



Glutatión GA a GB – percento progresívnej pohyblivosti u posledného implementora glutatiónu v čase 0 v GA skupine bolo  $76,98 \pm 10,65\%$  a  $73,96 \pm 13,45\%$  v skupine GB s nižšou koncentráciou. U glutatiónu v skupine GA to boli najvyššie namerané hodnoty percenta progresívnej pohyblivosti. Mierne vyššie hodnoty progresívnej pohyblivosti spermíí sme zaznamenali v čase 1, 2, 3 a 4 hodiny od začiatku experimentu v porovnaní s kontrolnou skupinou. Preukazne rozdielne hodnoty neboli zaznamenané po čas 24 hodín, následne v čase 48 hodín bola preukazne ( $p < 0,001$ ) nižšia progresívna pohyblivosť spermíí  $44,05 \pm 22,48\%$ . Hodnoty progresívnej pohyblivosti od času 72 hodín po čas 168 hodín neboli preukazne rozdielne v porovnaní s kontrolnou skupinou. V skupine GB neboli hodnoty progresívnej pohyblivosti preukazne rozdielne ani v jednom časovom období. Namerané hodnoty od času 0 po čas 4 hodiny od začiatku experimentu kultivované pri teplote 37°C mierne stúpali. Hodnoty progresívnej pohyblivosti od časového obdobia 24 hodín až po čas

168 hodín klesali až na hodnotu  $22,70 \pm 7,11\%$ . Rovnako neboli zaznamenané preukazne rozdielne hodnoty v porovnaní skupiny GA a skupiny GB (graf č. 14). Výsledky progresívnej pohyblivosti spermií kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním glutatiónu v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.2.

**Graf č. 14:** Progresívna pohyblivosť spermií (%) po pridaní glutatiónu



### Ostatné hodnotené parametre pohyblivosti spermií

Pri sledovaní vzdialenostných (dráhových) parametrov sme hodnotili tri parametre a to priemernú prejdenú dráhu spermií (DAP), krivočiarovú dráhu pohybu (DCL) a priamočiaru dráhu pohybu (DSL).

Priemerná prejdená vzdialenosť spermií (DAP;  $\mu\text{m}$ ) – pri hodnotení sledovaného parametru priemernej prejdenej vzdialenosti spermií boli v kontrolnej skupine CA namerané hodnoty od  $22,22$  do  $29,65 \mu\text{m}$  a v kontrolnej skupine CB od  $21,28$  do  $27,83 \mu\text{m}$ . V skupine A s koncentráciou  $2 \text{ mg.ml}^{-1}$  preukazne nižšie hodnoty boli po pridaní implementorov kyselina salicylová, rezorcinol a pyrokatechol. V skupine s kyselinou salicylovou boli zaznamenané preukazne nižšie hodnoty ( $p < 0,001$ ) už v čase 0 a táto preukaznosť bola vo všetkých časových obdobiach až po čas 168 hodín od začiatku experimentu. Rovnako v skupine s rezorcinolom boli preukazne nižšie hodnoty už v čase 0. Namerané hodnoty boli v rozpätí od  $5,04 \mu\text{m}$  v čase 168 hodín do  $21,23 \mu\text{m}$  v čase 1 hodina. V skupine s pyrokatecholom boli hodnoty v rozpätí  $9,15$ - $24,81 \mu\text{m}$ . Najvyššia hodnota  $24,81 \pm 4,01 \mu\text{m}$  v čase 0 ako jediná

z tejto skupiny nebola preukazne nižšia v porovnaní s CA kontrolnou skupinou. Od času 1 boli hodnoty priemernej prejdenej vzdialenosti preukazne nižšie ( $p < 0,001$ ). V experimentoch s trehalózou, kofeínom a glutatiónom neboli zaznamenané preukazne rozdiely oproti CA skupine. V skupine TA boli hodnoty od 21,28  $\mu\text{m}$  v čase 168 hodín do 29,45  $\mu\text{m}$  v čase 3. Mierne vyššie hodnoty boli zaznamenané len v čase 3 hodiny. V skupine KA bola najnižšia hodnota v čase 17,11  $\mu\text{m}$  bez preukazného rozdielu a najvyššia v čase 2 hodiny 28,05  $\mu\text{m}$  rovnako bez preukazného rozdielu. V skupine SB s nižšou koncentráciou  $1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  bol zaznamenaný preukazný pokles už v čase 0 na úrovni  $p < 0,05$ . V nasledujúcich časových obdobiach bola preukaznosť poklesu na úrovni  $p < 0,001$  do času 24 hodín. V čase 48 hodín neboli preukazne rozdielne hodnoty. Preukazný pokles bol opäť zaznamenaný v čase 72 hodín ( $p < 0,05$ ). V skupine RB neboli hodnoty v čase 0, 1, 2, 3, 4, 24 hodín a 48 hodín preukazne rozdielne oproti kontrolnej skupine, hodnoty boli od 20,38  $\mu\text{m}$  v čase 48 hodín do 24,50  $\mu\text{m}$  v čase 1 hodina. Následne v čase 72 hodín a hodnote 19,87  $\mu\text{m}$  bol preukazný pokles  $p < 0,05$  a v čase 168 hodín (10,56  $\mu\text{m}$ ) bola preukaznosť na úrovni  $p < 0,01$ . V skupine pyrokatecholu boli hodnoty preukazne nižšie v časoch 1, 2, 3 ( $p < 0,001$ ) a následne až v čase 72 hodín ( $p < 0,01$ ). V skupinách s trehalózou, kofeínom a glutatiónom nebol zaznamenaný preukazný rozdiel ani u jedného implementora. Vyššie hodnoty priemernej prejdenej vzdialenosti spermíí boli u trehalózy v čase 1, 3, 4, 48 a 72 hodín od začiatku experimentu. V skupine s kofeínom a glutatiónom boli mierne vyššie hodnoty zaznamenané v čase 0 až 4 hodiny od začiatku experimentu. Hodnoty priemernej prejdenej vzdialenosti spermíí kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.3.

Krivočiarová prejdená vzdialenosť spermíí (DCL;  $\mu\text{m}$ ) kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch je uvedená v prílohe v tabuľke č. 4.4. Pri hodnotení sledovaného parametru boli v kontrolnej skupine CA namerané hodnoty od 40,88 do 55,57  $\mu\text{m}$  a v kontrolnej skupine CB od 39,51 do 52,74  $\mu\text{m}$ . Hodnotením krivočiarovej prejdenej vzdialenosti spermíí v skupine A s kyselinou salicylovou sme zaznamenali preukazný pokles sledovaného parametru už v čase 0 ( $p < 0,001$ ) a následne bol tento preukazný pokles vo všetkých časových obdobiach pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a aj pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$ . Preukazný pokles v skupine A s rezorcínolom bol od časového obdobia 1 hodina až do časového obdobia 168 hodín. U tohto parametru bol tento preukazný pokles na úrovni  $p < 0,001$ . V skupine A s pyrokatecholom bol preukazný pokles opäť vo všetkých časových intervaloch. V časových intervaloch 0 až 2 hodiny bol preukazný pokles na úrovni  $p < 0,001$ . Od času 3 do času 4 hodiny bol na úrovni  $p < 0,01$  a vo všetkých nasledovných časových obdobiach boli hodnoty sledovaného parametru opäť preukazne nižšie ( $p < 0,001$ ). V skupine s trehalózou sme zistili mierne vyššie hodnoty v čase 2, 3 a 4



hodiny. V skupine A s kofeínom a glutatiómom boli mierne vyššie hodnoty v porovnaní s kontrolnou skupinou zaznamenané v čase 2, 3 a 4 hodiny a v ďalších časových obdobiach hodnoty klesali. V čase 72 hodín v skupine A s kofeínom boli hodnoty preukazne nižšie na úrovni ( $p < 0,05$ ). V skupine B boli preukazne nižšie hodnoty u implementorov kyselina salicylová, rezorcinol a pyrokatechol. V skupine B s kyselinou salicylovou bola preukaznosť sledovaného parametru najvýraznejšia. Preukazné rozdiely sme zistili v čase 1 a 2 hodiny ( $p < 0,001$ ), v čase 4 ( $p < 0,01$ ) a v čase 24, 48 a 72 hodín pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  bol preukazný pokles na úrovni ( $p < 0,001$ ). Pri RB skupine sme zistili preukazný pokles v čase 24 hodín ( $p < 0,05$ ), v čase 48 hodín ( $p < 0,01$ ) a preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) krivočiarovej prejdenej vzdialenosti bol v čase 72 a 168 hodín. V skupine B s pyrokatecholom bol preukazný pokles vo viacerých časových intervaloch, v čase 1 ( $p < 0,05$ ), v čase 2 ( $p < 0,01$ ), v čase 3 a 4 ( $p < 0,05$ ), v čase 48 a 72 hodín ( $p < 0,001$ ) a v čase 168 ( $p < 0,05$ ). U implementorov trehalóza, kofeín a glutatión v skupine B preukazný rozdiel sledovaného parametru DCL nenastal. Boli zaznamenané mierne vyššie hodnoty pohyblivosti spermií, u trehalózy v čase 1, 3, 4, 48, 72 a 168 hodín od začiatku experimentu, v čase 0, 1, 3, 4 a 72 hodín u kofeínu a v čase 0, 1, 2, 3, 4 a 72 hodín u glutatiónu od začiatku experimentu.

Priamočiará prejdená vzdialenosť spermií (DSL;  $\mu\text{m}$ ) – pri hodnotení sledovaného parametru boli v kontrolnej skupine CA namerané hodnoty od 13,22 do 22,09  $\mu\text{m}$  a v kontrolnej skupine CB od 13,55 do 21,09  $\mu\text{m}$ . U kyseliny salicylovej, rezorcinolu a pyrokatecholu sme preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) v skupine A zistili od času 0 do času 72 hodín od začiatku experimentu. V čase 168 hodín sme preukazný pokles v skupine s kyselinou salicylovou a pyrokatecholom nezaznamenali, preukazný pokles ( $p < 0,01$ ) bol zistený v skupine A s rezorcinolom. V skupine A bol preukazný pokles parametru DSL zaznamenaný aj v skupine s kofeínom ( $p < 0,001$ ) v čase 1 hodina. Pri ostatných časových obdobiach v skupine A s kofeínom neboli zaznamenané preukazne rozdielne hodnoty sledovaného parametru. V skupine A s trehalózou boli zaznamenané mierne vyššie hodnoty v čase 1, 2, 3 a 168 hodín. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) priamočiarej prejdenej vzdialenosti spermií bol v skupine B s kyselinou salicylovou zistený od času 1 po čas 48 hodín. V čase 72 hodín sme preukazne nižšie hodnoty zaznamenali na úrovni  $p < 0,05$ . V skupine B s rezorcinolom bol preukazný pokles v čase 24 hodín ( $p < 0,01$ ), v čase 48 hodín ( $p < 0,05$ ) a v čase 72 hodín ( $p < 0,001$ ) od začiatku experimentu. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) priamočiarej prejdenej vzdialenosti spermií bol zistený aj v skupine B s pyrokatecholom od času 1 po 72 hodín od začiatku experimentu. V skupinách B s trehalózou, kofeínom a glutatiómom sme preukazné rozdiely parametra DSL nezistili v žiadnom časovom období. Mierne vyššie hodnoty boli zaznamenané v závislosti na časovom období experimentu u trehalózy v čase 1, 3, 4, 48, 72 a 168 hodín, u kofeínu v čase 1, 2, 3, 4 a 72 hodín

a u glutatiónu v čase 0, 3 a 4 hodiny od začiatku experimentu. Dosiahnuté výsledky priamočiarej prejdenej vzdialenosti spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.5.

Hodnotením priemernej dráhovej rýchlosti spermíí (VAP;  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) boli v kontrolnej skupine CA namerané hodnoty od 50,89 do 69,97  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  a v kontrolnej skupine CB od 49,24 do 64,68  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Preukazný pokles sledovaného parametru sme zistili u kyseliny salicylovej, rezorcinolu a pyrokatecholu v skupine A a v skupine B. V skupine A s kyselinou salicylovou boli hodnoty preukazne nižšie ( $p < 0,001$ ) už v čase 0 a tendencia preukazného poklesu ( $p < 0,001$ ) zostala až do času 168 hodín od začiatku experimentu. Preukaznosť poklesu ( $p < 0,001$ ) v skupine A s rezorcinolom bola presne taká istá ako v skupine A s kyselinou salicylovou. Preukazný pokles parametra VAP bol zaznamenaný aj v skupine A s pyrokatecholom. V čase 0 bol preukazný pokles na úrovni  $p < 0,05$ , následne od času 1 po čas 168 hodín sa preukaznosť zvýšila na hladinu  $p < 0,001$ . Pri sledovaní priemernej dráhovej rýchlosti v skupinách A s trehalózou, kofeínom a glutatiónom sme nezistili preukazné rozdiely. Mierne zvýšené hodnoty sme namerali v čase 2 a 3 hodiny od začiatku experimentu u všetkých troch implementorov. V skupine B, tak ako sme už spomínali, boli tiež zistené preukazne nižšie hodnoty VAP. U skupine B s kyselinou salicylovou v čase 0 bola preukaznosť poklesu  $p < 0,01$ , v nasledujúcich časových obdobiach sa preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) zmenil až do času 24 hodín. V čase 48 hodín bol tiež preukazný pokles ale na úrovni  $p < 0,05$  a v čase 72 hodín sme zistili preukazný pokles ( $p < 0,01$ ). V skupine s rezorcinolom sme preukazný pokles zistili v čase 1 ( $p < 0,05$ ), potom až v čase 72 hodín ( $p < 0,05$ ) a v čase 168 hodín ( $p < 0,01$ ) od začiatku experimentu. V skupine s rezorcinolom bol preukazný pokles od času 1 po čas 3 na úrovni  $p < 0,001$ , v čase 4 hodiny na úrovni  $p < 0,01$ , v čase 48 hodín ( $p < 0,01$ ) a v čase 72 hodín na úrovni  $p < 0,001$ . Rovnako ako v skupine A ani v skupine B s trehalózou, kofeínom a glutatiónom preukazný účinok na sledovaný parameter nebol zistený. Mierne vyššie hodnoty boli namerané u trehalózy v čase 1, 3, 4, 72 a 48 hodín, u kofeínu v čase 0 až 24 hodina a v čase 72 hodín a u glutatiónu v čase 0 až 4 hodiny. Hodnoty priemernej dráhovej rýchlosti spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.6.

Krivočiarová rýchlosť spermíí (VCL;  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) – pri hodnotení tohto parametru boli v kontrolnej skupine CA namerané hodnoty od 93,56 do 131,04  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  a v kontrolnej skupine CB od 90,77 do 121,54  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Signifikantné rozdiely sme zistili v skupine s kyselinou salicylovou a rezorcinolom od času 0 až po čas 72 hodín. Preukazný pokles bol vo všetkých

časových obdobiach u oboch implementorov rovnaký ( $p < 0,001$ ). V porovnaní skupiny A s pyrokatecholom s kontrolnou skupinou CA bol zaznamenaný preukazný pokles v čase 1 až 3 hodiny ( $p < 0,001$ ), v čase 4 signifikantné rozdiely neboli ale opäť v čase 24, 48 a 72 boli namerané hodnoty preukazne nižšie ( $p < 0,001$ ). V skupine s trehalózou nastal preukazný nárast v čase 4 ( $p < 0,001$ ), v ostatných časových obdobiach boli zaznamenané mierne vyššie hodnoty bez preukazného rozdielu. V skupinách A s kofeínom a glutatiómom sme zaznamenali preukazne nižšie hodnoty rovnako u oboch v čase 72 hodín ( $p < 0,05$ ). V časových intervaloch 2, 3 a 4 hodiny sme namerali mierne vyššie hodnoty. V skupine B sme zistili, že krivočiarová rýchlosť spermíí bola preukazne nižšia u kyseliny salicylovej na úrovni  $p < 0,001$  v čase 1 a 2, v čase 3 ( $p < 0,01$ ) a v čase 24, 48 a 72 hodín ( $p < 0,001$ ). U skupiny B s rezorcinolom začali hodnoty VCL preukazne klesať v čase 48 hodín ( $p < 0,01$ ) a následne aj v čase 72 hodín ( $p < 0,001$ ). Rovnako boli zistené preukazné poklesy u skupiny B s pyrokatecholom, kedy v čase 1 nastal pokles  $p < 0,05$ , v čase 2 ( $p < 0,01$ ), v čase 3 ( $p < 0,05$ ), čase 24 hodín ( $p < 0,05$ ) a v čase 48 a 72 hodín ( $p < 0,001$ ) od začiatku experimentu. V skupine B s trehalózou, kofeínom a glutatiómom nebol zistený preukazný rozdiel v porovnaní s kontrolnou skupinou CB. Mierne vyššie hodnoty sme zistili u trehalózy v čase 1, 3, 4, 48 a 72 hodín, u kofeínu v čase 0, 1, 3, 4, a 72 hodín a u glutatiónu v čase 0, 1, 2, 3, 4 a 72 hodín. Dosiagnuté výsledky krivočiarovej rýchlosti spermíí kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.7.

Hodnotením priamej dráhovej rýchlosti spermíí ( $\text{VSL}, \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) sme zistili v kontrolnej skupine CA hodnoty v rozpätí od 30,46 do 52,20  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  a v kontrolnej skupine CB od 31,41 do 48,86  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Dosiagnuté výsledky priamej dráhovej rýchlosti spermíí kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.8. V skupinách s kyselinou salicylovou a pyrokatecholom nastal rovnaký preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) na začiatku pokusu v čase 0, kedy VSL v skupine SA poklesla na  $29,05 \pm 5,50 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  a v skupine PA na  $38,75 \pm 5,85 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Signifikantný pokles ( $p < 0,001$ ) pokračoval v oboch skupinách aj v časových obdobiach 1, 2, 3, 4, 24, 48 a 72 hodín. V skupine A s rezorcinolom sme zistili preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) rovnako ako v skupine SA a PA od času 0 po časový interval 72 hodín. V čase 168 hodín úroveň preukazného poklesu bola  $p < 0,01$ . V skupine A s trehalózou sme nezistili preukazné rozdiely v porovnaní s kontrolnou skupinou A. V skupine A s kofeínom bol zistený preukazný pokles v čase 1 ( $p < 0,01$ ). V skupine A s glutatiómom sme nezistili preukazné rozdiely v hodnotení priamej dráhovej rýchlosti. V skupine B s nižšou koncentráciou implementorov sme zistili, že preukazne nižšie hodnoty VSL boli v skupine s kyselinou salicylovou od času 1 po čas 48 hodín ( $p < 0,001$ ) a v čase 72 hodín ( $p < 0,05$ ). V skupine B s rezorcinolom bol

preukazný pokles v čase 24 a 72 hodín ( $p < 0,01$ ). V skupine B s pyrokatecholom sme zistili preukazne nižšie hodnoty ( $p < 0,001$ ) od času 0 po čas 3, v čase 4 hodiny bol preukazný pokles na úrovni  $p < 0,01$  a od času 24 po čas 72 hodín na úrovni  $p < 0,001$ . Preukazný rozdiel v skupine B s trehalózou, rezorcinolom a pyrokatecholom v porovnaní s kontrolnou skupinou nebol zistení.

Priamosť pohybu (STR) v kontrolnej skupine CA bola od 0,60 do 0,76 a v kontrolnej skupine CB v rozpätí 0,64–0,77. V skupine A preukazný pokles priamosti pohybu bol u kyseliny salicylovej v čase 1 ( $p < 0,05$ ), v čase 24 ( $p < 0,01$ ) a v čase 48 a 72 hodín ( $p < 0,001$ ). V skupine s rezorcinolom sme zistili preukazný pokles v čase 48 hodín ( $p < 0,05$ ) a v čase 72 hodín bola úroveň preukazného poklesu  $p < 0,001$ . V skupine po pridaní pyrokatecholu významný pokles bol v čase 1 ( $p < 0,05$ ). V skupine s trehalózou, kofeínom a glutatiónom sme preukazný rozdiel priamosti pohybu nezaznamenali. V skupine implementorov s nižšou koncentráciou sme zistili preukazný pokles ( $p < 0,01$ ) priamosti pohybu v skupine B s pyrokatecholom v čase 3. Vo všetkých ostatných časových obdobiach sme preukazný účinok pyrokatecholu nezistili. Rovnako významné rozdiely neboli zaznamenané u skupine B implementorov kyseliny salicylovej, rezorcinolu, pyrokatecholu, kofeínu a glutatiónu. Výsledky priamosti pohybu spermíí kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.9.

Priamočiarosť krivočiarovej dráhy pohybu spermíí (LIN) kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch je uvedená v prílohe v tabuľke č. 4.10. V kontrolnej skupine CA sa priamočiarosť krivočiarovej dráhy pohybovala od 0,30 do 0,43 a v kontrolnej skupine CB od 0,32 do 0,46. Preukazný pokles sledovaného parametru bol zaznamenaný v skupine A s kyselinou salicylovou v čase 4 ( $p < 0,001$ ) a v skupine A s pyrokatecholom v čase 0 ( $p < 0,01$ ). U ostatných implementorov v skupine A nebol zaznamenaný preukazný účinok sledovaného parametru. V skupine B sme zistili preukazný pokles u pyrokatecholu v čase 0 a v čase 3 ( $p < 0,05$ ). V ostatných skupinách implementorov sme nezistili preukazný rozdiel priamočiarosti krivočiarovej dráhy pohybu. Mierne vyššie hodnoty sledovaného parametru sme zistili v skupine B s kofeínom v čase od 48 do 168 hodín a u glutatiónu v čase 0 a v čase 168 hodín.

Kmitanie (oscilácia) aktuálnej dráhy okolo priemernej dráhy (WOB) je vyjadrená ako pomer VAP:VCL. Výsledky oscilácie aktuálnej dráhy okolo priemernej dráhy kultivovaných pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$  a pri teplote  $5^{\circ}\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.11. V skupine A s pyrokatecholom,

trehalózou, kofeínom a glutatiónom boli zaznamenané mierne vyššie hodnoty sledovaného parametru v závislosti na čase a teplote kultivácie sledovaného implementora. Hodnoty oscilácie v kontrolnej skupine CA sa pohybovali od 0,48 do 0,57 a v kontrolnej skupine CB od 0,50 do 0,59. V skupine A sme preukazný pokles kmitania aktuálnej dráhy okolo priemernej dráhy zistili v skupine A s rezorcinolom v čase 168 hodín ( $0,24 \pm 0,30$ ), kde signifikantnosť bola na úrovni  $p < 0,001$ . V skupine B boli preukazne nižšie hodnoty zaznamenané v skupine s pyrokatecholom v čase 3, preukazný pokles WOB bol na úrovni  $p < 0,01$ . V ostatných skupinách implementorov sme nezistili preukazný rozdiel oscilácie aktuálnej dráhy okolo priemernej dráhy.

Amplitúda laterálneho (bočného) premiestnenia hlavičky (ALH;  $\mu\text{m}$ ) pri hodnotení sledovaného parametru sa v kontrolnej skupine CA hodnoty pohybovali od 4,78 do 5,97  $\mu\text{m}$  a v kontrolnej skupine CB boli hodnoty v rozpätí 4,51–5,65  $\mu\text{m}$ . V skupine A s kyselinou salicylovou signifikantný pokles nastal v čase 1 ( $p < 0,001$ ), v čase 2 bol  $p < 0,05$  a od časového obdobia 3 až do 72 hodín sme zistili preukazný pokles amplitúdy laterálneho premiestnenia hlavičky na úrovni  $p < 0,001$ . V čase 168 hodín sme preukazný pokles ALH zaznamenali na úrovni  $p < 0,01$ . V skupine A s rezorcinolom preukazný pokles nastal v čase 0 ( $p < 0,001$ ), v čase 1 bol  $p < 0,01$ , v čase 2 sme preukazný rozdiel nezistili. Ďalší preukazný pokles nastal až v čase 3 ( $p < 0,05$ ), rovnaký pokles bol aj v čase 4. Preukazný pokles na úrovni  $p < 0,001$  sme zistili u vzoriek kultivovaných pri teplote  $5^\circ\text{C}$  v časových obdobiach 24, 48 a 72 hodín. V čase 168 hodín sme zistili signifikantnosť  $p < 0,01$ . V skupine A s pyrokatecholom sme preukazný pokles zaznamenali v čase 24 hodín ( $p < 0,01$ ), následne bola preukaznosť zistená v čase 48 a 72 hodín (na hladine  $p < 0,001$ ). V skupine s trehalózou, kofeínom a glutatiónom sme zistili preukazný nárast u všetkých v čase 2, preukaznosť u trehalózy a kofeínu bola na úrovni  $p < 0,05$  a u glutatiónu na úrovni  $p < 0,01$ . Vyššie hodnoty bez preukazného rozdielu sme zistili u trehalózy v čase 0, 1, 3, 4, 24, 72 a 168 hodín, u kofeínu v čase 1, 3, 4 a 24 hodín a u glutatiónu v čase 0, 1, 3, 4 a 24 hodín. V skupine B s nižšou koncentráciou bol preukazný pokles u kyseliny salicylovej od času 24 hodín do času 72 hodín ( $p < 0,05$ ), v skupine implementora rezorcinol v čase 72 hodín ( $p < 0,05$ ) a v skupine PB na úrovni  $p < 0,01$  v čase 48 hodín a na úrovni  $p < 0,001$  v čase 72 hodín. Preukazné rozdiely v skupine B s trehalózou, kofeínom a glutatiónom sme nezistili, mierne vyššie hodnoty sme zaznamenali u trehalózy vo všetkých časových obdobiach okrem času 168 hodín, u kofeínu v čase 0, 1, 3, 4 a 24 hodín a u glutatiónu v čase od 0 po 24 hodín od začiatku kultivácie. Výsledky amplitúdy laterálneho premiestnenia hlavičky kultivovaných pri teplote  $37^\circ\text{C}$  a pri teplote  $5^\circ\text{C}$  pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.12.

Frekvencia krížových úderov spermíí (BCF; Hz) pri hodnotení sledovaného parametru boli v kontrolnej skupine CA namerané hodnoty od 19,72 do 27,82 Hz a v kontrolnej skupine CB od 20,20 do 28,74 Hz. V skupine A s koncentráciou 2 mg.ml<sup>-1</sup> preukazne nižšie hodnoty boli po pridaní implementora kyselina salicylová, rezorcinol a pyrokatechol. V skupine A s kyselinou salicylovou boli zaznamenané preukazne nižšie hodnoty ( $p < 0,001$ ) už v čase 1 a táto preukaznosť bola ďalej vo všetkých časových obdobiach po čas 72 hodín. Rovnako v skupine A s rezorcinolom boli preukazne nižšie hodnoty už v čase 1 ( $p < 0,01$ ), v čase 2 sa preukazný pokles zmenil na  $p < 0,001$  a tento pokles bol zaznamenaný až po čas 72 hodín. V skupine A s pyrokatecholom bol preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) v čase 0 a tento pokles bol následne v čase 1, 2, 3 a 4 rovnaký. V čase 24 a 48 hodín preukaznosť zistená nebola a opäť sme ju zaznamenali v čase 72 hodín na úrovni  $p < 0,05$ . V experimentoch s implementorom trehalóza neboli zaznamenané preukazne rozdielne hodnoty oproti kontrolnej skupine A. Mierne vyššie hodnoty sme zistili v čase 168 hodín. V skupine A s kofeínom sme zaznamenali preukazný pokles v čase 48 hodín ( $p < 0,05$ ). Preukazný pokles v skupine A s glutatiónom bol zistený v čase 2 ( $p < 0,05$ ). V skupine B s nižšou koncentráciou bol zaznamenaný preukazný pokles v vzorkách s kyselinou salicylovou a pyrokatecholom. V skupine B s kyselinou salicylovou bol preukazný pokles v čase 1 ( $p < 0,05$ ), následne v čase 2 na úrovni  $p < 0,001$  a táto hladina bola až do času 4 hodiny, v čase 24 hodín bola signifikantnosť na hladine  $p < 0,01$ . V skupine B s pyrokatecholom sme zistili preukazne nižšie hodnoty v čase 2 ( $p < 0,001$ ), v nasledujúcich časových obdobiach bola rovnaká preukaznosť až po čas 24 hodín, v čase 48 hodín a hodnote 16,45 Hz bol preukazný pokles  $p < 0,01$  a v čase 72 hodín (17,60 Hz) bola preukaznosť na úrovni  $p < 0,05$ . V skupine B s trehalózou, kofeínom a glutatiónom nebol zaznamenaný preukazný rozdiel hodnoteného parametru. Mierne vyššie hodnoty frekvencie krížových úderov spermíí sme zistili v skupine B s kofeínom v čase 2, 3, 4, 48 a 72 hodín. Hodnoty frekvencie krížových úderov spermíí kultivovaných pri teplote 37°C a pri teplote 5°C pridaním jednotlivých implementorov v jednotlivých časových intervaloch sú uvedené v prílohe v tabuľke č. 4.13.

## **4.2. Analýza výskytu morfologicky zmenených foriem spermíí**

### **Skupina A s prídavkom implementorov s koncentráciou 2,0 mg.ml<sup>-1</sup>**

Na základe morfologickej analýzy spermíí býkov v kontrolnej skupine CA sme zistili, že 86,27% tvoria normálne spermie a 13,73% tvoria morfologicky zmenené spermie. Z celkového počtu morfologicky zmenených spermíí v kontrolnej skupine A tvoria 0,82% akrozomálne zmeny, 2,73% hlavičky bez bičíka, 2,64% kľučkovité stočenie bičíka, 2,18%

torzo bičička, 0,64% zvinutie bičička, 1,45% zlomený bičičik, 0,55% retencia cytoplazmatickej membrány, 2,45% malá hlavička a 0,27% veľká hlavička (Tabuľka č. 4.14, skupina CA).

Analýzou morfológie spermíí býkov kultivovaných s prídavkom kyseliny salicylovej sme zistili, že z celkového počtu hodnotených spermíí bolo 81,75% normálnych spermíí a 18,25% predstavovali morfológicky zmenené spermie. Z tohto počtu tvoria 2,12% akrozomálne zmeny, 3,37% hlavičky bez bičička, 3,87% kľučkovité stočenie bičička, 2,87% torzo bičička, 1,00% zvinutie bičička, 1,37% zlomený bičičik, 0,63% retencia cytoplazmatickej membrány, 1,75% malá hlavička, 0,75% veľká hlavička a 0,50% tvorili iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.14, skupina SA).

V skupine s prídavkom rezorcinolu RA skupina sme zistili nasledovné hodnoty abnormálnych foriem spermíí. Z 18,37%, čo boli morfológicky zmenené spermie najvyššie percento tvorili malé hlavičky (3,25%), 3,13% predstavovalo torzo bičička, 3,00% hlavička bez bičička, 2,12% kľučkovité stočenie bičička, 1,50% zlomený bičičik, 1,37% zvinutie bičička, 1,25% akrozomálne zmeny a retencia cytoplazmatickej membrány, 1,12% veľké hlavičky a 0,38% iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.14, skupina RA).

Na základe morfologickej analýzy spermíí býkov v skupine s pyrokatecholom PA skupina sme zistili, že 81,00% tvoria normálne spermie a 19,00% tvoria morfológicky zmenené spermie. Z celkového počtu morfológicky zmenených spermíí v PA tvoria 2,25% akrozomálne zmeny, 4,25% hlavičky bez bičička, 2,37% kľučkovité stočenie bičička, 3,25% torzo bičička, 0,38% zvinutie bičička, 1,62% zlomený bičičik, 1,00% retencia cytoplazmatickej membrány, 2,37% malá hlavička, 1,00% veľká hlavička a 0,50% iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.14, skupina PA).

V skupine TA sme zistili, že 88,38% tvoria normálne spermie a 11,62% morfológicky zmenené spermie; z toho 1,25% tvorili akrozomálne zmeny, 2,00% hlavičky bez bičička, 1,50% kľučkovité stočenie 2,37% torzo bičička, 0,75% zvinutie bičička, 0,88% zlomený bičičik, 0,38% retencia cytoplazmatickej membrány, 1,62% malá hlavička, 0,50% veľká hlavička a 0,38% iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.14, skupina TA).

Analýzou morfológie spermíí býkov kultivovaných s prídavkom alkaloidu kofeín sme zistili, že z celkového počtu hodnotených spermíí bolo 82,25% normálnych spermíí a 17,75% predstavovali morfológicky zmenené spermie. Z tohto počtu tvoria 1,12% akrozomálne zmeny, 3,50% hlavičky bez bičička, 2,00% kľučkovité stočenie bičička, 2,62% torzo bičička, 1,75% zvinutie bičička, 1,62% zlomený bičičik, 0,38% retencia cytoplazmatickej membrány, 3,25% malá hlavička, 1,12% veľká hlavička a 0,38% tvorili iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.14, skupina KA).

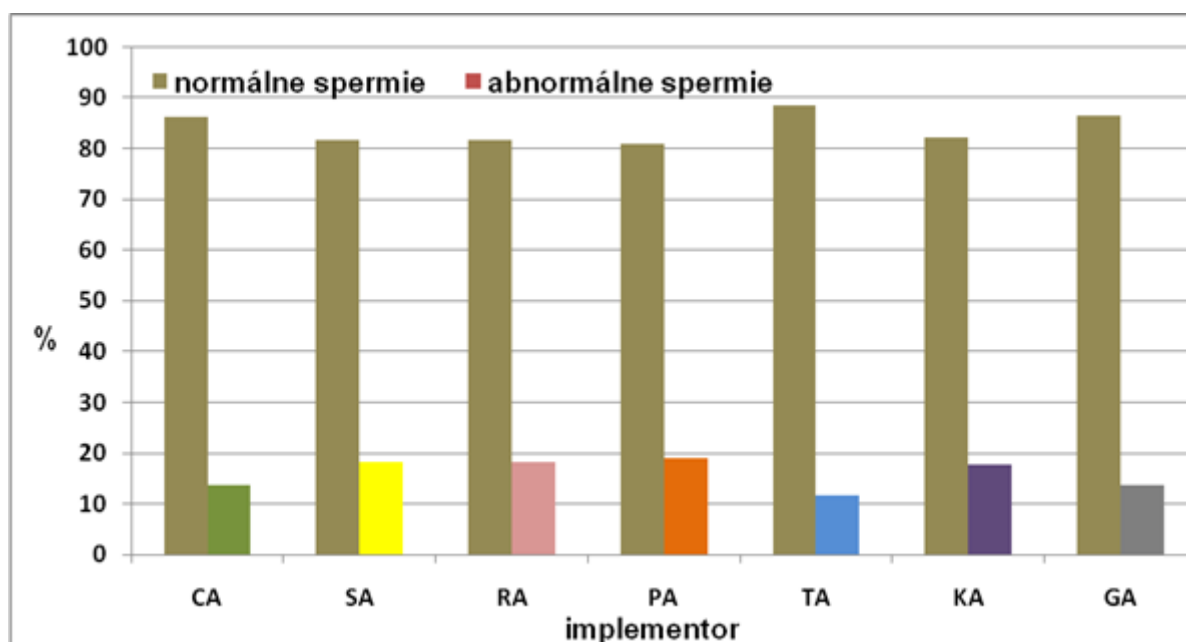
Morfologická analýza spermíí býkov kultivovaných s glutatiómom preukázala, že 86,38% je normálnych spermíí a 13,62% je morfológicky zmenených spermíí. Z celkového počtu hodnotených spermíí sme zistili, že 1,62% sú akrozomálne zmeny, 2,62% tvoria

hlavičky bez bičíka, 2,37% tvorí kľučkovité stočenia bičíka, 2,12% torzo bičíka, 1,50% zvinutie bičíka, 0,88% zlomený bičik, 0,50% retencia cytoplazmatickej membrány, 1,50% malá hlavička, a 0,50% veľká hlavička (Tabuľka č. 4.14, skupina GA).

Percentuálne zastúpenie normálnych a morfológicky zmenených spermíí po pridaní implementorov s koncentráciou 2 mg.ml<sup>-1</sup> je uvedený v grafe č. 13.

Preukazné rozdiely medzi jednotlivými skupinami neboli zistené, ale v skupine A bola tendencia výskytu vyššieho percenta morfológicky zmenených foriem spermíí po kultivácii s kyselinou salicylovou, rezorcinolom a pyrokatecholom.

**Graf č. 15:** Percentuálne zastúpenie normálnych a morfológicky zmenených spermíí po pridaní jednotlivých implementorov v skupine A



### Skupina B s prídavkom implementorov s koncentráciou 1,0 mg.ml<sup>-1</sup>

Na základe morfológickej analýzy spermíí býkov v kontrolnej skupine CB sme zistili, že 85,38% tvoria normálne spermie a 14,62% tvoria morfológicky zmenené spermie. Z celkového počtu morfológicky zmenených spermíí v kontrolnej skupine B tvoria 1,25% akrozomálne zmeny, 2,50% hlavičky bez bičíka, 1,50% kľučkovité stočenie bičíka, 2,75% torzo bičíka, 1,37% zvinutie bičíka a zlomený bičik, 0,88% retencia cytoplazmatickej membrány, 2,25% malá hlavička a 0,75% veľká hlavička (Tabuľka č. 4.15, skupina CB).

Analýzou morfológie spermíí býkov kultivovaných s prídavkom kyseliny salicylovej sme zistili, že z celkového počtu hodnotených spermíí bolo 84,50% normálnych spermíí a 15,50% predstavovali morfológicky zmenené spermie. Z tohto počtu tvoria 1,37%



akrozomálne zmeny, 3,25% hlavičky bez bičíka, 2,00% kľučkovité stočenie bičíka, 3,27% torzo bičíka, 1,12% zvinutie bičíka, 1,00% zlomený bičík, 0,63% retencia cytoplazmatickej membrány, 1,25% malá hlavička, 1,00% veľká hlavička a 0,50% tvorili iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.15, skupina SB).

V skupine s prídavkom rezorcinolu RB skupina sme zistili nasledovné hodnoty abnormálnych foriem spermíí. Z 16,25%, čo boli morfológicky zmenené spermie najvyššie percento tvorili malé hlavičky (3,25%), 3,00% predstavovalo torzo bičíka, 2,75% hlavička bez bičíka, 2,00% kľučkovité stočenie bičíka, 1,50% zlomený bičík a zvinutie bičíka, 1,25% retencia cytoplazmatickej membrány a 0,63% veľké hlavičky (Tabuľka č. 4.15 Skupina RB).

Na základe morfológickej analýzy spermíí býkov v skupine s pyrokatecholom PB skupina sme zistili, že 85,13% tvoria normálne spermie a 14,87% tvoria morfológicky zmenené spermie. Z celkového počtu morfológicky zmenených spermíí v PB tvoria 1,75% akrozomálne zmeny, 4,00% hlavičky bez bičíka, 1,50% kľučkovité stočenie bičíka, 2,75% torzo bičíka, 1,75% zvinutie bičíka, 0,63% zlomený bičík, 0,75% retencia cytoplazmatickej membrány, 1,37% malá hlavička a 0,38% veľká hlavička (Tabuľka č. 4.15, skupina PB).

V skupine TB sme zistili, že 88,88% tvoria normálne spermie a 11,12% morfológicky zmenené spermie; z toho 0,88% tvorili akrozomálne zmeny, 2,87% hlavičky bez bičíka, 1,00% kľučkovité stočenie 2,37% torzo bičíka, 0,75% zvinutie bičíka, 0,25% zlomený bičík, 0,75% retencia cytoplazmatickej membrány, 1,25% malá hlavička, 0,63% veľká hlavička a 0,38% iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.15, skupina TB).

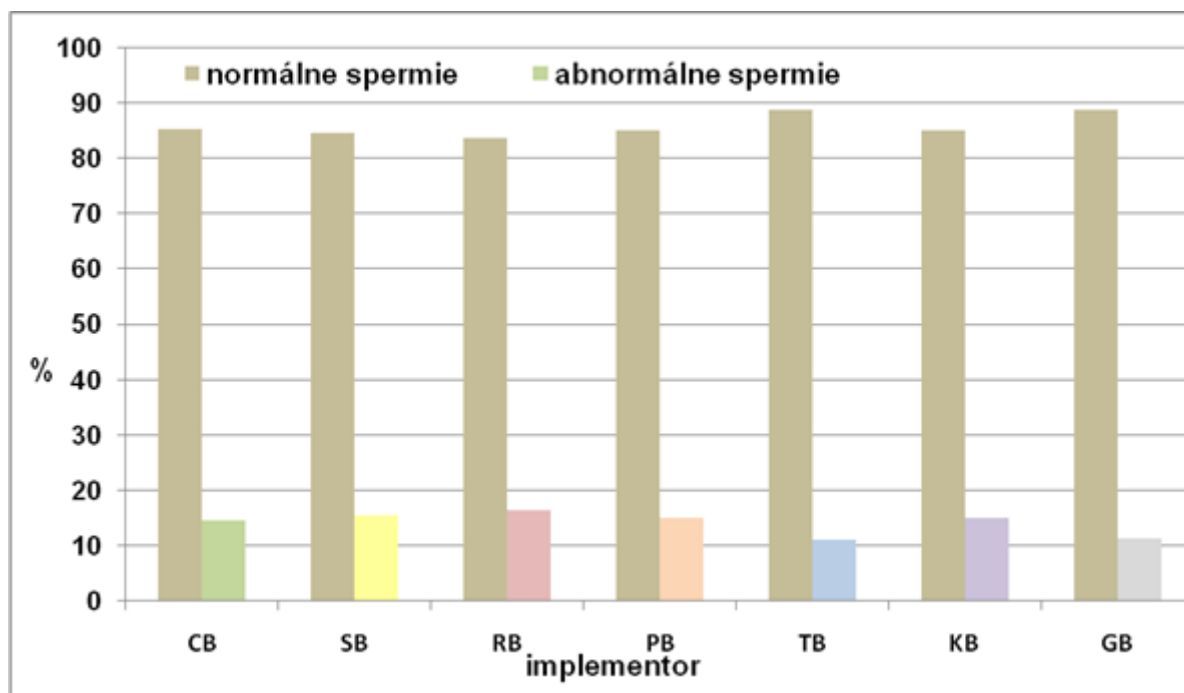
Analýzou morfológie spermíí býkov kultivovaných s prídavkom alkaloidu kofeín sme zistili, že z celkového počtu hodnotených spermíí bolo 85,13% normálnych spermíí a 14,87% predstavovali morfológicky zmenené spermie. Z tohto počtu tvoria 0,25% akrozomálne zmeny, 3,75% hlavičky bez bičíka, 2,62% kľučkovité stočenie bičíka, 2,62% torzo bičíka, 0,50% zvinutie bičíka, 1,62% zlomený bičík, 0,50% retencia cytoplazmatickej membrány, 3,37% malá hlavička, 0,38% veľká hlavička a 0,25% tvorili iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.15, skupina KB).

Morfológická analýza spermíí býkov kultivovaných s glutatiónom preukázala, že 88,75% je normálnych spermíí a 11,25% je morfológicky zmenených spermíí. Z celkového počtu hodnotených spermíí sme zistili, že 1,12% sú akrozomálne zmeny, 2,37% tvoria hlavičky bez bičíka, 0,75% tvorí kľučkovité stočenia bičíka, 2,00% torzo bičíka, 1,00% zvinutie bičíka, 0,50% zlomený bičík, 0,38% retencia cytoplazmatickej membrány, 2,00% malá hlavička, 0,75% veľká hlavička A 0,38% tvoria iné formy morfológicky zmenených spermíí (Tabuľka č. 4.15, skupina GB).

Percentuálne zastúpenie normálnych a morfológicky zmenených spermíí po pridaní implementorov s koncentráciou  $1 \text{ mg.ml}^{-1}$  je uvedený v grafe č. 14.

Preukazné rozdiely medzi jednotlivými skupinami neboli zistené, ale tak ako v skupine A s koncentráciou  $2 \text{ mg.ml}^{-1}$  bola tendencia väčšieho výskytu morfoloicky zmenených foriem spermíí u vzoriek po pridaní fenolových kyselín.

**Graf č. 16:** Percentuálne zastúpenie normálnych a morfoloicky zmenených spermíí po pridaní jednotlivých implementorov v skupine B



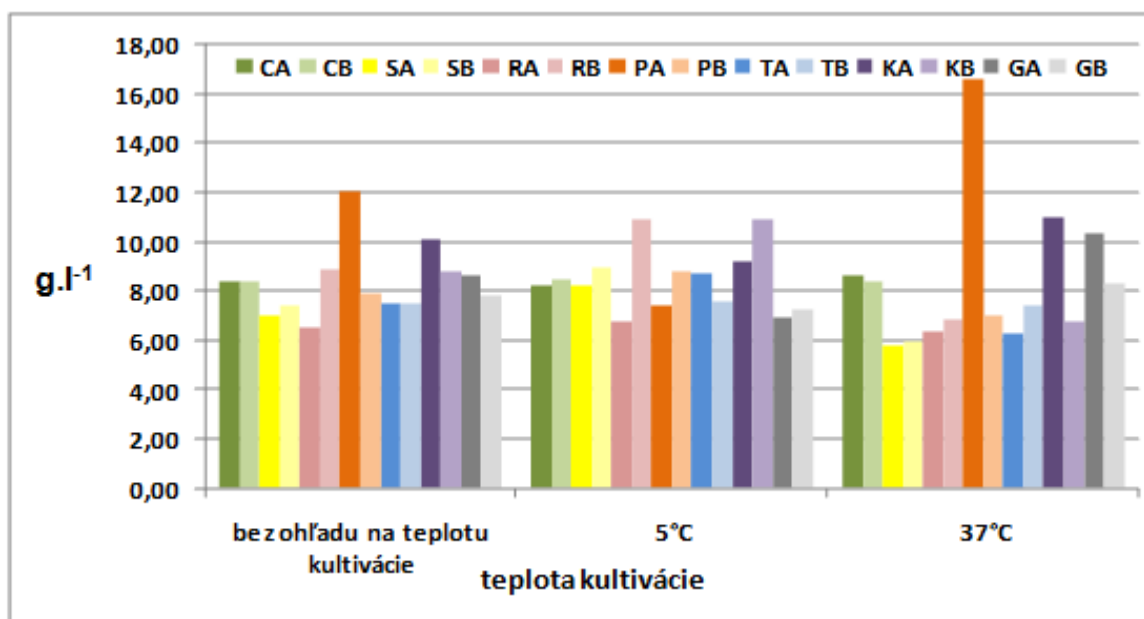
#### 4.3. Stanovenie koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementov

Pri stanovovaní biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov sme stanovovali koncentráciu albumínu a malondialdehydu. Biochemické parametre sme stanovovali pri teplote  $37^{\circ}\text{C}$ ,  $5^{\circ}\text{C}$  a bez ohľadu na teplotu kultivácie.

Preukazné rozdiely v koncentrácii albumínu sme nezistili. Koncentrácia albumínu bez ohľadu na teplotu kultivácie bola v kontrolnej skupine CA  $8,40 \pm 3,57 \text{ g.l}^{-1}$ . Najvyššia koncentrácia albumínu v porovnaní s kontrolnou skupinou A sa nachádzala v skupine s pyrokatecholom  $12,03 \pm 10,77 \text{ g.l}^{-1}$  a najnižšia v skupine A po pridaní rezorcinolu ( $6,53 \pm 2,21 \text{ g.l}^{-1}$ ). V kontrolnej skupine CB bola stanovená koncentrácia albumínu na úrovni  $8,39 \text{ g.l}^{-1}$ . Na rozdiel od skupiny s koncentráciou implementora  $2 \text{ mg.ml}^{-1}$  bolo v skupinách s nižšou koncentráciou implementora  $1 \text{ mg.ml}^{-1}$  najvyššia koncentrácia albumínu oproti kontrolnej skupine u rezorcinolu a najnižšia v skupine s kyselinou salicylovou. Koncentrácia albumínu

stanovovaná pri teplote 5°C bola v rozpätí od 6,72±2,16 g.l<sup>-1</sup> v skupine A s rezorcinolom do 9,21±4,10 g.l<sup>-1</sup> v skupine A s kofeínom. V skupine B bola najnižšia koncentrácia albumínu v skupine s glutatiómom 7,21±3,57 g.l<sup>-1</sup> a najvyššia v skupine s rezorcinolom (10,91 g.l<sup>-1</sup>). Pri teplote 37°C bolo najnižšie množstvo albumínu stanovené v skupine A s kyselinou salicylovou (5,8 g.l<sup>-1</sup>) a najvyššie množstvo v skupine A s pyrokatecholom (16,63 g.l<sup>-1</sup>). V kontrolnej skupine SB bolo množstvo albumínu 8,35±6,05 g.l<sup>-1</sup>. V porovnaní koncentrácie albumínu s kontrolnou skupinou po pridaní jednotlivých implementorov najnižšia koncentrácia bola stanovená v skupine s kyselinou salicylovou (5,93 g.l<sup>-1</sup>) a v skupine s glutatiómom množstvo najvyššie (8,34 g.l<sup>-1</sup>). Porovnanie stanovených koncentrácií albumínu po pridaní jednotlivých implementorov a pri rozdielnych teplotách kultivácie v porovnaní s kontrolnými skupinami uvádza graf č. 17. Stanovené koncentrácie albumínu po pridaní jednotlivých implementorov a pri rozdielnych teplotách kultivácie v porovnaní s kontrolnými skupinami sú uvedené v časti prílohy v tabuľke č. 4. 16 a č. 4. 17.

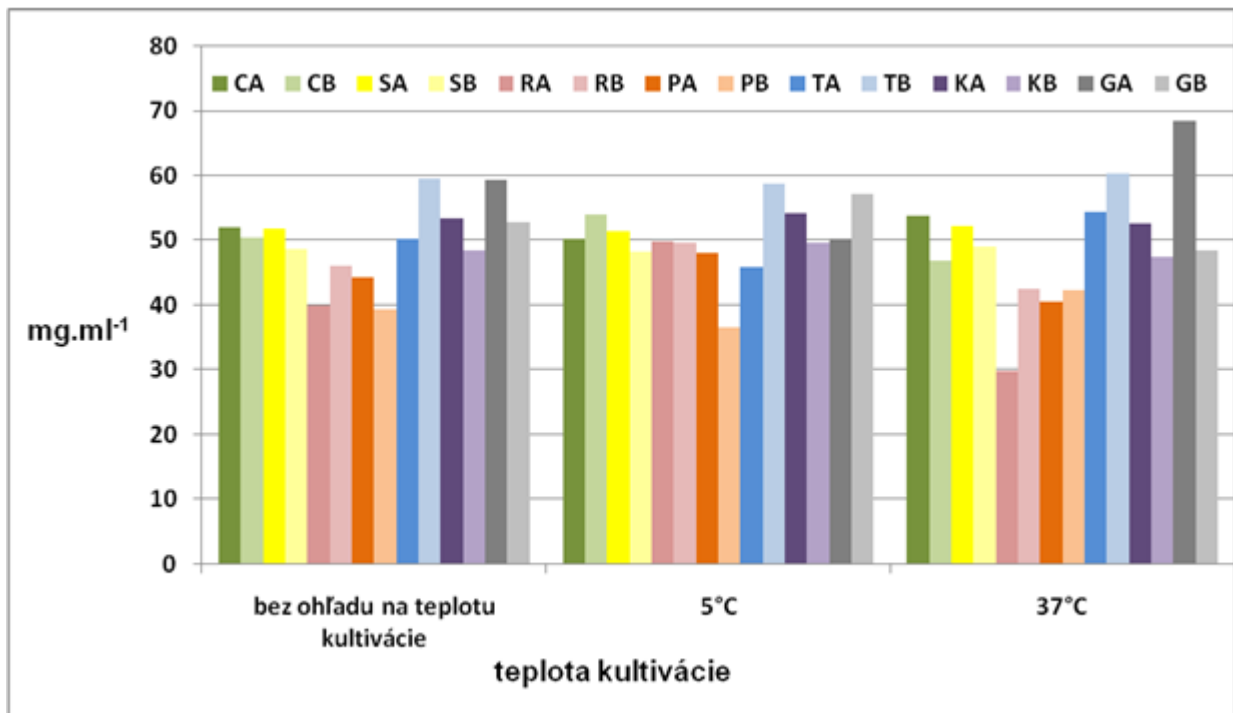
**Graf č. 17:** Stanovené koncentrácie albumínu po pridaní jednotlivých implementorov a pri rozdielnych teplotách kultivácie v porovnaní s kontrolnými skupinami



Koncentráciu malondialdehydu ako markeru prooxidačného statusu sme stanovili pri teplote 5°C a 37°C a bez ohľadu na teplotu kultivácie. Najvyššia koncentrácia MDA v porovnaní s kontrolnými skupinami bola zistená v skupinách A s koncentráciou implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup> u glutatiónu (bez ohľadu na teplotu kultivácie a pri teplote 37°C) a pri kofeíne (teplota kultivácie 5°C). Najnižšia koncentrácia bez ohľadu na teplotu kultivácie a pri teplote 37°C bola v skupine s rezorcinolom a pri teplote 5°C v skupine s trehalózou.

V skupine B boli najvyššie hodnoty zaznamenané u trehalózy rovnako pri všetkých teplotách kultivácie. V tejto skupine (skupina B) najnižšie množstvo implementora pri všetkých troch teplotách kultivácie bolo v skupine s pyrokatecholom. Preukazne rozdiely pri stanovení koncentrácie MDA sme nezistili. Sledovaním vplyvu teploty kultivácie na stanovenie koncentrácie MDA sme preukazný pokles zaznamenali u MDA v skupine A s trehalózou pri teplote 5°C. Porovnanie stanovených koncentrácií MDA po pridaní jednotlivých implementorov a pri rozdielnych teplotách kultivácie v porovnaní s kontrolnými skupinami uvádza graf č. 18. Stanovené koncentrácie malondialdehydu po pridaní jednotlivých implementorov a pri rozdielnych teplotách kultivácie v porovnaní s kontrolnými skupinami sú uvedené v časti prílohy v tabuľke č. 4.16 a č. 4.17.

**Graf č. 18:** Stanovené koncentrácie malondialdehydu po pridaní jednotlivých implementorov a pri rozdielnych teplotách kultivácie v porovnaní s kontrolnými skupinami



## 5. DISKUSIA

V dnešnej dobe je zabezpečenie vysoko kvalitného ejakulátu hospodárskych zvierat v prirodzenej plemenitbe a príprava inseminačných dávok jedným zo základných úspechov v živočíšnych biotechnológiách. Súčasne je primárnym predpokladom pre úspešnú umelú insemináciu, *in vitro* fertilizáciu a kryokonzerváciu. Vysoko kvalitné inseminačné dávky sú nevyhnutným kritériom pre zabezpečenie optimálneho biologického materiálu pre úspešnú plemenitbu a následne šľachtiteľskú prácu hospodárskych zvierat. Základným kritériom pre prácu s ejakulátom v laboratóriu je zabezpečenie optimálnych podmienok pre jeho *in vitro* kultiváciu (Balaban et al., 1999; Jankovičová et al., 2006), ktorá predstavuje značne komplikovaný proces.

Sledovanie charakteristík variability spermií je dôležité pre správne určenie oplodňovacej schopnosti samcov hospodárskych zvierat. Dosiahnuté výsledky reprodukčných ukazovateľov, predovšetkým plodnosti sú hlavným predpokladom optimálnej intenzity chovu a tým v úzkej väzbe, na dosiahnutie ekonomického profitu v chovoch hospodárskych zvierat. Viaceré práce poukazujú na vhodnosť pridávania implementorov do inseminačných dávok za účelom uchovania stability bunkovej membrány, potlačenie oxidačného stresu a apoptotických zmien, zvýšenia pohyblivosti ako aj prežívateľnosti spermií (Anchorogery et al., 1987; Graham and Hammerstedt, 1992; Parks and Graham, 1992).

V dizertačnej práci sme sledovali vplyv vybratých implementorov (kyseliny salicylovej, rezorcinolu, pyrokatecholu, trehalózy, kofeínu a glutatiónu) na parametre pohyblivosti spermií pri rôznych časových intervaloch a pri rozdielnych teplotách kultivácie ejakulátu býkov. Parametre pohyblivosti sme zisťovali s využitím metódy CASA. CASA metóda sa využíva pre objektívne hodnotenie parametrov pohyblivosti spermií hospodárskych zvierat aj ľudí. Je to jednoduchý klasifikačný systém, ktorý najlepšie možné hodnotenie spermií bez potreby zložitých zariadení (Massányi et al., 2002; Chrenek et al., 2007, Okab 2007, Makarevich et al., 2008). Pohyblivosť spermií vo vzorkách bez pridania implementorov sa pohybovala od 62,16 do 89,00% v závislosti na časovom intervale a teplote kultivácie.

Je veľké množstvo faktorov, ktoré ovplyvňujú pohyblivosť spermií hospodárskych zvierat. Zisťovanie pohyblivosti spermií bolo už témou viacerých odborných prác. Objektívne hodnotenie bolo ovplyvňované mnohými faktormi ako sú použité zriedovacie roztoky, rôzne koncentrácie riedenia, teplota kultivácie, časový faktor a použitou metódou hodnotenia. Jednotliví autori dochádzajú k rôznym výsledkom. Pri sledovaní pohyblivosti spermií hospodárskych zvierat je potrebné brať do úvahy aj skutočnosť, že aj keď je motilita známkou vysokého stupňa integrity bunky, nemusí byť v každom prípade zárukou fertilizačnej schopnosti spermií. Na druhej strane niektorí autori došli k záveru, že znalosť

rýchlosti pohybu spermií je parameter, ktorý určuje omnoho výraznejšie kvalitu ejakulátu, ako napríklad pokles percenta živých spermií.

Timurkaan et al. (2005) sledovali účinky príjmu múčky bavlnených semien na pohyblivosť spermií potkanov. Celkovo 100 samcov rozdelili do 5 skupín, ktorým podávali túto múčku v rôznych množstvách (kontrola 0%, 5%, 10%, 20% a 40%) do potravy po dobu 8 dní. Výsledky poukázali na to, že pohyblivosť spermií kŕmených múčkou (10%, 20% a 40%) bola signifikantne znížená. Klinické symptómy boli pozorované len u samcov kŕmených najvyššou dávkou múčky (40%). Výsledky práce poukazujú na to, že skrmovanie múčky bavlnených semien v množstve prevyšujúcom 5% znižuje pohyblivosť spermií.

Vplyv cudzích génov na reprodukčné schopnosti králikov sledovali Chrenek et al. (2007). Zamerali sa na porovnanie charakteristík ejakulátu a reprodukčných schopností normálnych a transgénnych králikov. Zistili, že neboli rozdiely v libide a pH ejakulátu medzi normálnymi a transgénnymi králikmi. Avšak rozdiely pozorovali v pohyblivosti spermií, koncentrácii spermií, v osmolalite a v termorezistetnom teste spermií. Taktiež zistili rozdiel v množstve živých spermií v ejakuláte.

V porovnaní s čerstvým ejakulátom, schladený ejakulát baranov je náchylnejší na pokles pohyblivosti a vyšší výskyt morfológických zmien spermií, čo môže byť sprevádzané poklesom schopnosti prežitia spermií v samičom reprodukčnom trakte, znížením plodnosti a zvýšením embryonálnych strát (Aisen et al., 2002; Gil et al., 2003).

V prácach Mathura et al. (1986), Budwortha et al. (1987), Massányiho (1989b) a Vatmana et al. (1989), sú popísané charakteristiky pohyblivosti spermií na základe údajov, ktoré boli získané pomocou komputrovej techniky.

Slanina (2010) popisuje značný pokles pohyblivosti spermií moriakov pri laboratórnej teplote 22°C a pri teplote 4°C (kultivácia v chlade). Pri teplote 22°C bol preukazný pokles od času 0 (94,15%) po čas 180 minút kultivácie (53,91%). Pri kultivácii v chlade zistil rozdiel nižší (95,41% a 78,86%) a rozdiely boli štatisticky preukazné od kultivácie 30 minút až po 180 minút.

Kordic (2009) hodnotila percento pohyblivosti spermií býkov pri zvýšenej teplote 40°C a pri zníženej teplote 7°C. Po uplynutí 120 a 180 minútach od začiatku experimentu zistila výrazné zmeny v klesaní pohyblivosti a progresívnej pohyblivosti spermií. Zistené výsledky potvrdzuje aj naša práca, kde sme zaznamenali tendencia poklesu pohyblivosti spermií v závislosti na teplote kultivácie spermií býkov a značný pokles bol pri vzorkách kultivovaných pri teplote 4°C.

V našej práci parametre pohyblivosti po pridaní kyseliny salicylovej výrazne preukazne klesali už od času 0 až po čas 4 hodiny pri teplote kultivácie 37°C. Ešte väčší pokles pohyblivosti spermií sme zistili pri teplote kultivácie 5°C v časovom období od 24 po 168 hodín od začiatku experimentu.

Klinické štúdie dokázali, že injekcie kyseliny salicylovej, ktoré boli podávané potkanom, spôsobovali poruchy sluchu u potkanov. Zároveň pri súčasnom podávaní zinku výsledky ukázali, že jeho vstrekovanie pomohlo zvrátiť stratu sluchu (Guitton et al., 2003).

V minulosti boli vo veterinárnom lekárstve používané liečivá, ktoré obsahovali kyselinu salicylovú. Psy sú, napríklad, obzvlášť citlivé na gastrointestinálne nežiaduce účinky spojené so salicylátmi (Plumb, 2008). Kone taktiež v minulosti dostávali tieto liečivá na úľavu od bolesti a keďže sú taktiež mimoriadne citlivé, neodporúča sa ich podávanie (Cambridge et al., 2010). Tieto liečivá by nemali byť nikdy podávané mačkám, pretože im chýba schopnosť tvoriť glukuronidové konjugáty, preto je viac než pravdepodobné, že budú pre ne jedovaté. Môžu byť používané len pod priamym dohľadom veterinárneho lekára (Lappin, 2001).

V súvislosti s vplyvom kyseliny salicylovej, rezorcinolu a pyrokatecholu na pohyblivosť spermií hospodárskych zvierat výsledky v literatúre kompletne chýbajú. Môžeme povedať, že zistené výsledky v našej práci sú originálne a zatiaľ vplyv kyseliny salicylovej, rezorcinolu a pyrokatecholu vo vzťahu k hospodárskym zvieratám publikovaný nebol.

Vplyv trehalózy na pohybové parametre pohyblivosti sa prejavil pozitívne na parametre pohyblivosti. Z výsledkov sme zistili, že pôsobenie trehalózy malo stimulačný efekt na sledované parametre. Tento účinok sa prejavil predovšetkým z pohľadu dlhodobého pôsobenia, keďže zvýšené hodnoty pohyblivosti ako aj progresívnej pohyblivosti boli zaznamenané aj v časových intervaloch dva dni od začiatku experimentu.

Dlhodobá kultivácia spermií je dôležitým predpokladom pre analýzy spojené so základným výskumom. Cieľom takýchto analýz je pozorovanie vitality, oplodňovacej schopnosti spermií po podaní implementorov. Takéto analýzy by mohli priniesť pozoruhodné výsledky využiteľné pri prevencii alebo liečbe problémov spojených s infertilitou (Schneider, 1999).

Spermie sú mimoriadne senzibilné na *ex vivo* prostredie a na stratu exogénneho zdroja energie. Metabolickú energiu vyžadujú pre široké spektrum svojich funkcií, a to predovšetkým na podporu motility. Hlavnými zdrojmi ATP je mitochondriálna glykolýza a oxidačná fosforylácia. Pokiaľ spermia nemá, resp. spotrebuje exogénny zdroj energie, rýchlo zmetabolizuje svoje vlastné energetické zásoby a po krátkom čase odumiera (Breuer a Wells, 1977). Jedným z rozhodujúcich faktorov úspešnej kultivácie spermií je predovšetkým prítomnosť energetického substrátu. Spermie poškodeným pohybovým systémom a energeticky vyčerpané nerotujú (Massányi et al., 2002).

Ako univerzálne kultivačné médium sa najčastejšie využíva glukóza. Poskytuje okamžite dostatočné množstvo energie bez potreby zapojenia iných metabolických dráh. Jej nevýhodou je však jej inhibičný vplyv na proces akrozómovej reakcie a vývin embryí hovädzieho dobytku (Williams a Ford, 2001). Na dlhodobú kultiváciu nie je príliš vhodná, pretože prežívateľnosť a pohyblivosť spermií je časovo obmedzená. Jej vhodnou alternatívou

je fruktóza, ktorá sa prirodzene vyskytuje v reprodukčnom trakte hovädzieho dobytká i králikov. V neprítomnosti glukózy je možné ako substrát pre glykolýzu, využiť, aj organické zlúčeniny t. j. laktát, alebo pyruvát (Ford, 2006). V poslednom období sa pozornosť obracia na trehalózu, ktorá ako disacharid, poskytuje značné množstvo metabolickej energie. Mimoriadne sa oceňujú aj jej sekundárne funkcie, akými sú stabilizácia a ochrana bunkových membrán pred stresom vyvolaným napr. zmrazením, vysušovaním, alebo zvýšenými teplotami (Uysal a Bucak, 2009). Uvádzané skutočnosti potvrdzujú aj naše výsledky, že trehalóza je vhodná na dlhodobú kultiváciu spermií.

López-Sáez et al. (2000) sa zaoberali účinkom troch rôznych riedidiel: smotanou (M), TesT (TE) a Tris-trehalózy (TR) na pohyblivosť spermií uchovávaných pri 5°C. Percentuálny podiel pohybujúcich sa spermií bol hodnotený každých 24 hodín po dobu 16 dní. Riedidlo Tris-trehalóza dosahovalo vyššie hodnoty ( $94,7 \pm 1,36\%$ ) než TesT ( $82,4 \pm 3,08\%$ ), zatiaľ čo smotana vykazovala hodnoty pohyblivosti spermií  $89,3 \pm 2,17\%$ ). Hodnoty pohyblivosti vyššie ako 50% zachovávalo riedidlo Tris trehalóza po 8. deň kultivácie, zatiaľ čo TesT a smotana zachovávali pohyblivosť vyššiu ako 50% len po 5. deň kultivácie.

Kňazická et al. (2010) sledovali vplyv energetických zložiek kultivačných médií na pohybové parametre boviných spermií v podmienkach *in vitro*. Na predĺženie životaschopnosti spermií použili sedem rôznych kultivačných médií s energetickou zložkou (komerčné riedidlo; glukózu; fruktózu; sacharózu, glukózu a sacharózu; glukózu a trehalózu a glukózu, trehalózu a sacharózu), ktoré sa zriedili fyziologickým roztokom. Maximálnu prežiteľnosť a motilitu sledovali v časových intervaloch 0, 1 a 24 hodín pri kultivácii v termostate 37°C. Z výsledkov vyplývajúcich z analýzy predpokladajú, že optimálnou voľbou pre dlhodobú kultiváciu boviných spermií je kombinácia niekoľkých druhov sacharidov, pričom dominantným substrátom by mala byť glukóza, ktorá poskytuje dostatočné množstvo energie, a to aj počas 24 hodinovej kultivácie spermií. Potvrdzuje sa teda fakt, že väčšinu energie pre pohyb získava spermia v procese glykolýzy a glukóza je pre metabolizmus spermie najlepšie využiteľným substrátom. Najvyššiu motilitu i progresívnu motilitu sa dosiahli počas dlhodobej kultivácie v médiách v zložení glukóza (5%), sacharóza (5%) a trehalóza (1%), ako aj v médiu v zložení glukóza (10%) a trehalóza (1%). Médium, ktoré dosiahlo najlepšie parametre pohyblivosti, obsahovalo popri glukóze a trehalóze aj sacharózu, teda disacharid zložený z jednotiek glukózy a fruktózy. Obe médiá, ktoré obsahovali trehalózu, dosiahli najlepšie parametre motility. Môžeme skonštatovať, že trehalóza nielen pôsobí pozitívne pri zmrazovaní inseminačných dávok, ale poskytuje ochranu aj natívnym spermiám pred stresom z dlhodobej kultivácie *in vitro*.

Vychádzajúc z našich výsledkov môžeme rovnako potvrdiť stimulačný vplyv použitých koncentrácií trehalózy na parametre pohyblivosti. Pozitívny efekt sa docielil v médiách bez zmrazovania.



Woelders et al. 1997 sledovali vplyv trehalózy a sacharózy, osmolality zmrazeného média a rýchlosti ochladzovania na životaschopnosť a neporušenosť spermíí býkov. Spermie býkov boli schladzované na štyroch úrovniach rýchlosti zmrazovania spermíí v rozmedzí 40 - 300°C za minútu v štandardnom Tris – vaječnom žĺtku s množstvom 0,2M trehalózy alebo sacharózy. Z výsledkov zistili, že izotonické cukrové média sú vhodnými na zlepšenie kryokonzervácie spermíí býkov. Pri sledovaní spermíí sa nezaznamenali štrukturálne zmeny na spermíách, predovšetkým na akrozómovej úrovni.

Pozornosť sa momentálne obracia aj na antioxidačný vplyv trehalózy na membránovú integritu spermíí, ale aj ochrannú funkciu pred teplotným šokom pri mrazení insemináčnych dávok. Preto sa množstvo štúdií venuje práve analýze vplyvu trehalózy na vitalitu spermíí pred a počas zmrazovania vzoriek, ako aj po ich rozmrazení. Monilinia et al. (1994) a Matsuoka et al. (2006) zistili, že motilita rozmrazených baraních spermíí bola vyššia po pridaní trehalózy ako po podaní glukózy do kultivačného média.

Z analýzy Uysaka a Bucaka (2009) vyplýva, že pridanie 50 alebo 100 mM trehalózy do zmrazovacieho média preukazne zvýšilo parametre pohyblivosti baraních spermíí, avšak koncentrácia 150 mM parametre pohyblivosti výrazne znížila. Z tejto štúdie vyplýva, že vyššie koncentrácie trehalózy môžu pôsobiť toxicky.

Hu et al. (2009) sa zaoberali vplyvom trehalózy na parametre kančích spermíí po rozmrazení. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté po pridaní 100 mM trehalózy, a to čo sa týka nielen pohyblivosti, ale aj akrozómovej stability a membránovej integrity, pričom jej pridávanie do média by mohlo podstatne znížiť kryokapacitáciu spermíí počas zmrazovania.

Ďalšia experimentálna práca Hua et al., (2010) bola založená na skúmaní efektov rôznych koncentrácií trehalózy na parametre kvality a antioxidačné vlastnosti zmrazených býčích spermíí. Pridanie 100 mM trehalózy dosiahlo najvyššie parametre pohyblivosti, ale aj akrozómovej reakcie a parametrov stability membrány spermíí. Rovnako sa znížil oxidačný stres vyvolaný zmrazovaním a následným opätovným rozmrazovaním. Jedinečná bunková stavba spermíí spôsobuje, že sa stávajú osobitne citlivými na oxidatívny stres. Plazmatická membrána spermíí obsahuje obrovské množstvo polynenasýtených mastných kyselín (PUFA) a nakoľko sa v ich cytoplazme nachádzajú len veľmi nízke koncentrácie antioxidačných enzýmov, stávajú sa mimoriadne zraniteľnými voči účinkom voľných radikálov (Halliwell, 1990; Buettner, 1993).

Z uvedených prác môžeme konštatovať, že optimálna koncentrácia trehalózy pridanej do kultivačného média pred zmrazovaním vzoriek má na prežívateľnosť spermíí veľmi pozitívny vplyv. Na druhej strane však vyššie koncentrácie trehalózy môžu pozmeniť štruktúru resp. pôsobiť toxicky na spermie.

Z výsledkov zistených v našej práci kofeín ako použitý implementor pôsobil stimulačne na parametre pohybu spermií býkov. Predovšetkým v časových intervaloch dve, tri a štyri hodiny po začatí experimentu bola pohyblivosť vyššia ako v kontrolnej skupine.

Kofeín, inhibítor fosfodiesteráz, má výrazný stimulujúci účinok na respiráciu a motilitu ejakulovaných spermií (Garbers et al., 1971; El-Gaafary, 1994). Je dokázané, že inhibičný efekt kofeínu na fosfodiesterázovú aktivitu, môže mať za následok zvýšenie intracelulárneho cyklického adenosínmonofosfátu (cAMP), čo vedie k zvýšeniu pohyblivosti spermií (El-Menoufy et al., 1986). Pre zachovanie životaschopnosti a oplodňovacej schopnosti spermií sú nevyhnutné nepoškodené bunkové membrány.

Colás et al., 2010 zistil, že kofeín, fosfodiesterázový inhibítor, má stimulujúci účinok na pohyblivosť spermií cicavcov. Toto zvýšenie pohyblivosti však nemusí vždy viesť ku zlepšeniu oplodňovacej schopnosti spermií. Kvalita spermií a ako aj ich variabilita sú kľúčovými faktormi, určujúcimi efektívnosť inseminácie.

Pivko et al. (2009) vo svojej práci hodnotili vplyv kofeínu na pohyblivosť spermií. Podľa autorov kofeín neovplyvnil frekvenciu 1. stupňa (spermie z nepoškodenou plazmovou membránou hlavičky a nepoškodeným akrozómom) ale znížil výskyt 2. stupňa (spermia so zvlhnutou a naštrbenou cytoplazmatickou membránou) a zvýšil výskyt abnormalít spermií v 3. a 4. stupni (3. stupeň – spermia s napuchnutým alebo poškodeným akrozómom, 4. stupeň – spermia s pseudoakrozomálnou reakciou vytvorenou vačkami alebo chýbajúcim akrozomálnym obsahom), teda viedol k akrozomálnej reakcii. Zistilo sa, že menšie množstvo kofeínu pozitívne ovplyvní pohyblivosť spermií, ale nárastom prísunu kofeínu sa spermie deformujú a mutujú. Podľa autorov glutatión na frekvenciu 1. a 2. stupňa spermií nemal vplyv ale znížil výskyt 3. stupňa (spermia s napuchnutým alebo poškodeným akrozómom).

Kofeín je často používaný ako stimulátor pohyblivosti a akrozomovej reakcie spermií mužov (Levin et al., 1981). Kofeín (10 mM) indukuje zvýšenie intracelulárneho vápnika a tým okamžitú hyperaktiváciu spermií baranov (Colas et al., 2010). Táto esenciálna úloha vápnika pri kapacitácii spermií bola preukázaná na niekoľkých cicavčích modeloch (Yanagimachi, 1994), pričom zvýšenie koncentrácie intracelulárneho  $Ca^{2+}$  bolo pozorované aj v hyperaktivovanom bičíku.

Koncentrácie kofeínu 2 až 5 mM, pridané do riedidla, efektívne zlepšovali parametre pohyblivosti spermií baranov, pričom nebol pozorovaný vplyv kofeínu na percentuálny podiel živých spermií ani na podiel spermií s poškodením akrozómov (Sinha et al., 1995). Podobne pri králikoch, prídavok 5–10 mM kofeínu, nespôsobil poškodenie akrozómov spermií (El-Gaafary, 1994).

Nekróza a apoptóza sú dve formy bunkovej smrti. Medzi bežne používané fluorescenčné farbivo na detekciu mŕtvych/nekrotických spermií patrí propídium jodid (PI). Apoptóza spermií je fyziologicky naprogramovaná bunková smrť, ktorá postihuje individuálne

bunky (Wyllie et al., 1980). Membrány apoptotických spermíí zostávajú intaktné, zatiaľ čo membrány nekrotických spermíí strácajú integritu (Vermes et al., 1995). Voľné radikály môžu spustiť sériu reakcií, ktoré v konečnom dôsledku smerujú k apoptóze. Apoptóza pomáha k odstráneniu abnormálnych buniek a zabraňuje ich nadmernému rastu a diferenciacii (Agarwal a Allamaneni, 2006). Zvýšená hladina voľných radikálov môže poškodiť fluiditu vonkajšej a vnútornej mitochondriálnej membrány, čím dochádza k uvoľneniu proteínov cytochrómu-c, aktivuje tak kaspázy. Apoptóza v spermíách môže byť taktiež spustená dráhami nezávislými na voľných radikáloch, kde dochádza k aktivácii povrchového proteínu Fas (Sakkas et al., 1990). Farbenie pomocou fluorescenčného farbiva Yo-Pro-1 je schopné rozlíšiť živé spermie od apoptotických. Výskyt apoptotických spermíí v insemináčnych dávkach môže byť jedným z dôvodov nižšej oplodňovacej schopnosti spermíí (Gorczyca et al., 1993; Baccetti et al., 1996; Barroso et al., 2000). Preto by hodnotenie apoptotických spermíí malo byť zahrnuté do testov kvality ejakulátu, na zistenie potencionalnej fertilizačnej schopnosti. Kofeín, v koncentrácii 2 a 4 mmol.l<sup>-1</sup>, znižoval podiel PI pozitívnych buniek v schladenom semene baranov, pričom táto redukcia bola štatisticky preukazná pri koncentrácii 2 mmol.l<sup>-1</sup>. Výsledky štúdie preukázali pozitívny vplyv kofeínu na zníženie výskytu apoptotických spermíí v ejakuláte baranov dlhodobo uskladnenom pri teplote 4°C (Špaleková et al., 2011).

Rovnako pozitívne sa javí aj glutatión. Energetický substrát je pre prežiteľnosť spermíí v podmienkach *in vitro* jednou z rozhodujúcich zložiek kultivačného média ale rovnako dôležité sú aj iné substancie ako aminokyseliny, proteíny a minerálne látky.

Munsi et al., 2007 sledovali vplyv glutatiónu na kvalitu schladených spermíí býkov. Glutatión bol pridávaný do vzoriek spermíí býkov v koncentráciách 0,0 (kontrola) 0,5; 1,0; 2,0 a 3,0 mM. Všetky vzorky boli uskladnené pri teplote 4 – 8°C po dobu 5 dní. Pohyblivosť spermíí a zmeny na akrozóme boli sledované denne. Zistili, že pohyblivosť spermíí bola signifikantne vyššia ( $p < 0,01$ ) po pridaní GSH v koncentrácii 0,5 mM ako v skupine bez pridaní GSH. Optimálna pohyblivosť spermíí (viac ako 50%) bola po dobu troch dní v koncentráciách 0,5; 1,0 a 2,0 mM zatiaľ čo v koncentrácii 3,0 mM bola pohyblivosť len na úrovni 46,8%. Z výsledkov vyplýva, že spermie býkov môžu byť uskladnené v chlade po dobu 5 dní a koncentrácii 0,5 mM a pohyblivosť je zachovaná na úrovni 40% a zmeny na akrozóme boli na úrovni 12%. Tieto závery potvrdzujú aj výsledky v tejto práci, kde glutatión zvyšoval parametre pohyblivosti v závislosti na teplote kultivácie.

Massányi et al. (1996) sledovali patologické spermie býkov v závislosti od ročného obdobia. Zistilo sa, že zmeny na hlavičke predstavovali 21,89%, čo potvrdzuje dominanciu výskytu zmien na bičíku zistenú v dizertačnej práci. Na akrozóme sa patologické zmeny vyskytovali v 16,18% zo zmien na hlavičke, čo je 3,54% zo všetkých abnormalít a 0,21% zo všetkých skúmaných spermíí. Zmeny na bičíku predstavovali 59,11%, to znamená 3,47% zo

všetkých spermii. Najčastejšou sa vyskytujúcou zmenou bola dekapitácia, ktorá predstavovala 18,99% zo všetkých zmien, čo je 1,11% zo všetkých pozorovaných spermii.

Joshi et al. (2001) determinovali ultraštruktúrálnu patológiu ľudských spermii. Sledovali ultraštruktúrálny zmeny, povrch spermii, výskyt patologických spermii a morfológické zmeny spôsobujúce neplodnosť mužov. Porovnávali normálne a patologické spermie mužov. Zamerali sa na morfológické detaily, topologické informácie a trojrozmerný obraz hlavičky, krku (křčka) a bičika normálnej a patologickej spermie. Získané obrazy jasne poukazovali na dramatické zmeny v morfológii hlavičky, krku a bičika patologických spermii. Dokonca zmeny na vrchole bičika a v oblasti akrozómu boli jasne viditeľné. Štúdia tým napomohla k objasňovaniu neplodnosti mužov, ktorá je okrem iného ovplyvňovaná aj morfológickými zmenami spermii.

Tvrďá et al. (2010) sledovali albumín, bilirubín a kyselinu močovú ako potencionálnu ochranu spermii proti oxidačnému stresu. Výsledky jasne dokázali, že albumín a kyselina močová sú látky s antioxidantnými vlastnosťami, ktoré môžu chrániť bunky spermii proti oxidačnému stresom a tak zlepšiť kvalitu spermii. Tiež poukázali na význam semennej plazmy ako ochrany spermii proti možnému vzniku voľných radikálov a distribúcie.

Patologické procesy pôsobenia voľných radikálov sú príčinou 30 – 80% prípadov mužskej neplodnosti. Voľné radikály pôsobia na spermie a tým aj na mužskú (ne)plodnosť dvoma kľúčovými mechanizmami. Prvým z nich je oxidácia nenasýtených mastných kyselín v membráne spermii a následné poškodenie mitochondrií, ktoré vedie k zníženiu pohyblivosti spermii a narušeniu ich schopnosti preniknúť do vajička. Druhým mechanizmom pôsobenia voľných radikálov je priame poškodenie DNA v spermiiach (Jones et al., 1979) demonštrovali, že v humánných spermiiach prebieha významná peroxidácia lipidov za prítomnosti a podpory  $Fe^{2+}$ , pričom výrazná peroxidácia lipidov je asociovaná s poruchami motility spermii.

## 6. NÁVRH NA VYUŽITIE VÝSLEDKOV

V súčasnosti sa na celom svete v reprodukcii hospodárskych zvierat venuje veľká pozornosť umelej inseminácii. Dnes sa umelá inseminácia využíva takmer u všetkých druhov hospodárskych zvierat, predovšetkým u hovädzieho dobytku. Umelá inseminácia má plniť dôležitú úlohu pri zlepšovaní úžitkových vlastností hospodárskych zvierat, dosiahnutie veľkého počtu potomkov využitím vynikajúcich plemenníkov v chove, ako aj rýchlejšie zošľachtovanie chovu. Významnú úlohu plní aj pri využívaní biotechnologických metód riadenej reprodukcie.

Aby využívanie kvalitných inseminačných dávok od výborných plemenníkov a metód biotechnológií v umelej inseminácii malo pozitívny efekt je potrebné zabezpečiť kvalitné ejakuláty na reprodukciu zvierat.

Dizertačná práca zameraná na kvantifikáciu pohyblivosti a štruktúry býčích spermíí po pridaní vybraných implementorov *in vitro* rozširuje súčasné poznatky o účinkoch na bunkové štruktúry živočíchov. Je veľmi veľa faktorov, ktoré tieto účinky ovplyvňujú v pozitívnom ako aj v negatívnom smere.

V dnešnej dobe je otázka získavanie kvalitných ejakulátov a inseminačných dávok veľmi aktuálna. Využívanie vyhovujúcich ejakulátov zohráva dôležitú úlohu v reprodukcii zvierat, v oblasti šľachtenia a plemenitby hospodárskych zvierat a pri využívaní v biotechnológiách hospodárskych zvierat.

Doteraz nie je publikovaných veľa poznatkov vplyvu fenolických látok na bunkové štruktúry organizmov. Aj napriek tomu, že kyselina salicylová, rezorcinol a pyrokatechol patria medzi antioxidanty, ich účinok, nie len na kvalitu spermíí, nie je jednoznačný. Vďaka antioxidantným vlastnostiam môžu mať v organizme dôležitú biologickú funkciu. Začleňujú sa do rôznych oxidačných procesov a pomocou antioxidantov sa organizmus bráni vychytávaním nebezpečných radikálov. Výskumy poukazujú ale na skutočnosť, že u niektorých antioxidantov dochádza pri dlhodobom užívaní v čistom stave k tzv. zvratu antioxidantu, kedy sa jeho antioxidantný účinok zmení na prooxidatívny (vysoko nežiaduci účinok).

Koncentrácie fenolických látok použité v našej práci výrazne znižovali sledované parametre, teda pôsobili negatívne na sledované parametre. Pozornosť by sa mala ďalej venovať vplyvu fenolických látok na kvalitu ejakulátov a zamerať sa na sledovanie vplyvu nižších koncentrácií vybraných implementorov, nakoľko nami použité koncentrácie znižovali kvalitu parametrov pohyblivosti býčích spermíí, napriek tomu, že sme predpokladali opačný účinok.

U implementorov trehalóza, kofeín a glutatión sme zistili stimulačný účinok na sledované parametre pohyblivosti spermíí býkov a výsledky vedú k záverom, že zlepšujú

kvalitatívne vlastnosti ejakulátov býkov. Výsledky poukazujú na to, že trehalóza má stimulačný efekt z hľadiska dlhodobého pôsobenia na spermie a tým je vhodná na použitie pri zmrazovaní inseminačných dávok. V kombinácii s ďalšími sacharidmi dosahuje pozitívne výsledky. Trehalóza ako disacharid je vhodný stimulačný implementor v oblasti kryokonzervácie spermií býkov.

Získané poznatky o pôsobení vybraných implementorov by sa mali ďalej využívať nie len v biológii reprodukcie býkov, ale je možné využiť výsledky aj u ďalších druhov zvierat ako sú napríklad ovce, kozy, kone, ošípané a psy. Je predpoklad, že vplyv sledovaných implementorov môže ovplyvňovať nie len účinok na kvalitu ejakulátov a spermií ale môže ovplyvňovať aj ostatné bunky a bunkové štruktúry v organizme živočíchov.

## 7. ZÁVER

V predloženej dizertačnej práci sme analyzovali vplyv kyseliny salicylovej, rezorcinolu, pyrokatecholu, trehalózy, kofeínu a glutatiónu na pohyblivosť spermíí pomocou CASA analýzy pri teplote 37°C a 5°C, v časových obdobia 0, 1, 2, 3, 4, 24, 48, 72 a 168 hodín od začiatku experimentu, výskyt morfológicky zmenených foriem spermíí a stanovovali sme koncentráciu (albumínov a malondialdehydu) v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov.

V práci sme použili ejakuláty šiestich plemenných býkov rozdelených do dvoch skupín. Do prvej skupiny (skupina A) sme pridali 2 mg.ml<sup>-1</sup> vybraných implementorov a do druhej skupiny (skupina B) sme pridali 1 mg.ml<sup>-1</sup> vybraných implementorov.

Z dosiahnutých výsledkov môžeme vyvodiť nasledovné závery:

- preukazne najvýraznejší pokles pohyblivosti spermíí v porovnaní s kontrolnou skupinou, už v čase 0 hodín, sme zistili u kyseliny salicylovej pri oboch použitých koncentráciách; preukazný pokles sme zaznamenali aj u rezorcinolu a pyrokatecholu (všetky tri sú zo skupiny fenolických látok);
- v závislosti na teplote, čase a koncentrácii implementora sme rovnaké výsledky zaznamenali aj pri hodnotení progresívnej pohyblivosti spermíí;
- vzdialenostné parametre spermíí (priemerná, krivočiarová a priama prejdená vzdialenosť) a dráhové parametre spermíí (priemerná, krivočiarová a priama dráhová rýchlosť) potvrdzujú negatívny efekt kyseliny salicylovej, rezorcinolu a pyrokatecholu pri použitých koncentráciách a teplote kultivácie;
- priamosť pohybu spermíí, priamočiarosť krivočiarovej dráhy pohybu, kmitanie spermíí, amplitúda laterálneho premiestnenia hlavičky spermíí a frekvencia krížových úderov spermíí podporujú predchádzajúcu tendenciu poklesu pohybových parametrov spermíí býkov a dokresľujú odchýlky v porovnaní s kontrolnou skupinou;
- stimulačný efekt a mierne vyššie hodnoty sledovaných parametrov pohyblivosti spermíí po pridaní trehalózy, kofeínu a glutatiónu;
- trehalóza mala dlhodobejší stimulačný efekt na sledované parametre pohyblivosti spermíí a kofeín a glutatión pôsobil na sledované parametre krátkodobejšie;
- napriek tendencii zvýšeného výskytu morfológicky zmenených foriem spermíí sme preukazné rozdiely nezaznamenali;
- stanovením koncentrácie albumínu a malondialdehydu sme preukazný rozdiel nezaznamenali.

Z dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že vplyv vybraných implementorov na pohyblivosť spermíí býkov je rozdielna. Jeden z dôvodov je, že vybrané druhy implementorov neboli z rovnakej skupiny z hľadiska chemického zloženia. Zo spomínaného hľadiska a z dosiahnutých výsledkov sa negatívny efekt pri použitých koncentráciách prejavil hlavne u implementorov zo skupiny fenolických látok, ktoré preukazne znižovali sledované parametre pohyblivosti spermíí. Dôležitá je spomenúť aj teplotno – časovú závislosť a koncentráciu vybraných implementorov. U ďalších implementorov, zo skupiny alkaloidov, disacharidov a tripeptidov, sa prejavil stimulačný efekt implementorov na sledované pohybové parametre spermíí.



## 8. POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AALSETH, E. P. – SAACKE, R. G. 1980. Morphological change of the acrosome on motile bovine spermatozoa due to storage at 4°C. In *Journal of Reproduction and Fertility*, 74, 1985, p. 473-478.
2. AGARWAL, A. – ALLAMANENI, S. 2002. Oxidative stress and human reproduction. In *Oxidative Stress, Disease and Cancer*, New York, Imperial College Press, 2006, p. 687-703. ISBN 978-1-86094-804-6.
3. AGARWAL, A. – SALEH R. A. – BEDAIWY, M. A. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. In *Fertility and Sterility*, vol. 79, 2003, p. 829-843.
4. AGARWAL, A. – GUPTA, S. – SIKKA, S. 2006. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. In *Current Option in Obstetrics and Gynecology*, vol. 18, 2006, p. 325-332.
5. AGARWAL, A. – VARGHESE, A.C. – SHARMA, R.K. 2009. Markers of Oxidative Stress and Sperm Chromatin Integrity. *Molecular Endocrinology, Methods in Molecular Biology*, New York, In Humana Press, 2009, p. 377-402, p. 687-703. ISBN 978-1-60327-7.
6. ALVAREZ, J. G. – TOUCCHSTONE, J. C. – BLASCO, L. – STOREY, B. T. 1987. Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. In *Journal of Andrology*, vol. 8, 1987, p. 338-348.
7. AITKEN, R. J. – BAKER, M. A. 2003. Oxidative stress and male reproductive biology. In *Reproduction, Fertility and Development*, vol. 16, 2004, p. 581-588.
8. AISEN, E. G. – MEDINA, V. H. – VENTURINO, A. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. In *Theriogenology*, vol. 57, 2002, p. 1801-1808.
9. AKÇAY, E. – VARISLI, Ö. – TEKIN, N. 2006. Fertilizing ability of turkey semen diluted with simple sugar-based extenders after cooled storage. In *EPC 2006 - XII European Poultry Conference*. Verona : World Poultry Science Association, 2006.
10. AMELAR, R.D. 1980. Sperm motility. In *Fertility and Sterility*, vol. 34, 1980, p. 197-214.
11. ANCHORNDGERY, J. J. – RUDOLPH, A. S. – CARPENTER, J. F. – CROWE, J. H. 1987. Modes of interaction of cryoprotectants with membrane phospholipids during freezing. In *Cryobiology*, vol. 34, 1987, p. 324-331.
12. ANZAR, M. – HE, L. – BUHR, M. M. – KROETSCH, T.G. – PAULS, K.P. 2002. Sperm apoptosis in fresh and cryopreserved bull semen detected by flow cytometry and its relationship with fertility. In *Biology of Reproduction*, vol. 66, 2002, p. 354-360.

13. ARIOLA, J. et al. 1985. A specific oligoteratozoospermia in a bull. The sperm tail stump defect. *Theriogenology*, 23, 1985, s. 899-913.
14. ARMSTRONG, J. S. – RAJASEKARAN, M. – GHAMULITRAT, W. – GATTI, P. – HELLSTROM, W.J. – SIKKA, S. C. 1999. Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism. In *Free Radicals in Biology and Medicine*, vol. 26, 1999, p. 869-880.
15. AUGER, J. 2010. Assessing human sperm morphology: top models, underdogs or biometrics? In: *Asian Journal of Andrology*, vol. 12, 2010, p. 36-46.
16. BACCETTI, B. – COLLODEL, G. – PIOMBONI, P. 1996. Apoptosis in human ejaculated sperm cells. In *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, vol. 28, 1996, p. 587-596.
17. BALABAN, B. – URMAN, B. – SERTAC, A. – ALATAS, C. – AKSOY, S. – MERCAN, R. – NUHOGLU, A. 1999. In vitro culture of spermatozoa induces motility and increases implantation and pre-pregnancy rates after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. In: *Human Reproduction*, vol. 14, 1999, no. 11, p. 2808-2811.
18. BALL, G. D., FIRST, N. L. 1983. Fertility of ejaculated bull sperm in vitro after exposure to caffeine and cAMP. In *Animal Reproduction Science*, vol. 57, 1983, p. 317.
19. BARKER, M. A. – KRUTSKIKH, A. – AITKEN, R. J. 2003. Biochemical entities involved in reactive oxygen species generation by human spermatozoa. In *Protoplasma*, vol. 221, 2003, p. 145-151.
20. BARROSO, G. – MORSHEDI, M. – OEHNINGER, S. 2000. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa. In *Human Reproduction*, vol. 15, 2000, p. 1338-1344.
21. BARTH, A. D. 1989. Abaxial tail attachment of bovine spermatozoa and effect on fertility. In *Canadian Veterinary Journal*, vol. 30, 1989, p. 656-662.
22. BEDAIWY, M. A. – FALCONE, T. – MOHAMED, M. S. – ALEEM, A. A. – SHARMA, R. K. – WORLEY, S. E. – THORTON, J. – AGARWAL, A. 2004. Differential growth of human embryos *in vitro*: role of reactive oxygen species. In *Fertility and Sterility*, vol. 82, 2004, p. 593-600.
23. BEDFORD, J. M. 1983. Significance of the need of sperm capacitation before fertilization in eutherian mammal. In *Biology of Reproduction*, vol. 28, 1983, p. 108-120.
24. BEHRE, H. M. – VAN AHLEN, H. – NIESCHLAG, E. 2000. *Andrology*. In *Male Reproductive Health and Dysfunction*. Springer, 2000, p. 454. ISBN 3540672249.
25. BELOKAR, P. M. et al. 1990. Studies on seminal and mensurational characteristics of spermatozoa and their interrelationships with freezability and fertility in crossbred bulls. In *PVK-Research Journal*, vol. 2, 1990, p. 165-173.

26. BHOSREKAR, M. R. et al. 1991. Studies on the effect of deep freezing and seasons on leakage of asparatate amino transferase into extracellular medium and sperm morphology of Murrah buffalo bulls. In *Animal Reproduction Science*, vol. 3-4, 1991, 26, p. 219-226.
27. BLOM, E. 1980. A sterilizing tail stump sperm defect in Holstein-Friesia bull. In *Nordic Veterinary Medicine*, vol. 23, 1976, p. 295-298.
28. BOZKURT, H. H. – WOOLLEY, D. M. 1993. Morphology of nexis links in relation to interdoubtlet sliding in the sperm flagellum. In *Cell Motil Cytoskeleton* [online], vol. 24, 1993, č. 2, p. 109-118 [cit. 2011-17-3]. ISSN 10970169.
29. BÓZNER, A. – BOBÁK, M. – DAVID, H. – SMETANA, K. 1992. *Cytológia*. In: *Osveta, Martin* 1992, p. 260. ISBN 80-217-0168-4.
30. BOWES, V.A. – JULIAN, R. J. – STIRTZINGER, T. 1989 Comparison of Serum Biochemical Profiles of Male Broilers with Female Broilers and White Leghorn Chickens. In *Canadian Journal of Veterinary Research*, vol. 53, 1989, no 1, p. 7-11.
31. BREUER, D. J. – WELLS, M. E. 1977. Effect of In Vitro Incubation of Bovine Spermatozoa in Bovine Follicular Fluid. In *Journal of Animal Science*, vol. 44, 1977, p. 262-265.
32. BUDWORTH, P. R. – AMANN, P. R. – HAMMERSTEDT, R. H. 1987. A micropomuter photographic method for evaluating of motility and velocity of bull sperm. In *Journal of Dairy Science*, vol. 70, 1987, p. 1927-1936.
33. BUETTNER, G. R. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol and ascorbate. In *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 300, 1993, p. 535-543.
34. BYSTRICKÁ, J. 2003. Úroda a kvalita mrkvy obyčajnej po aplikácii vybraných fenolických a terpenoidných zlúčenín. In *Dizertačná práca*. Nitra : SPU Nitra 2003. p. 52-53.
35. CHRENEK, P. – TRANDŽÍK, J. – MASSÁNYI, P. – MAKAREVICH, A. – LUKÁČ, N. – PĚSKOVIČOVÁ, D. – PALEYANDA, R. 2007. Effects of transgenesis on reproductive traits of rabbits males. In *Animal Reproduction Science*, vol. 99, 2007, p. 127-134.
36. CAMBRIDGE, P. – LEES, R. E. – HOOKE, C. S. – RUSSELL, H. 2010. Antithrombotic actions of aspirin in the horse. In *Equine Veterinary Journal*, vol. 23, 2010, č. 2, p. 123-127.
37. CIGÁNKOVÁ, V. – CIGÁNEK, J. – TOMAJKOVÁ, E. 1993. Postirradiation morphological changes in the testes of adult dogs. In *Folia veterinaria*, vol. 37, 1993, p. 103-109.

38. CIGÁNKOVÁ, V. – CIGÁNEK, J. – TOMAJKOVÁ, E. 1996. Postirradiation morphological changes in the testes of sexually immature dogs. In *Folia veterinaria*, vol. 40, 1996, p. 5-6.
39. COLÁS, C. – CEBRIÁN-PÉREZ, J. A. – MUIÑO-BLANCO, T. 2010. Caffeine induces ram sperm hyperactivation independent of cAMP-dependent protein kinase. In *International Journal of Andrology*, vol. 33, 2010, p. 187-197.
40. COUROT, M. – HOCHEREAU-DeREVIERS, M. T. – ORTAVANT, R. 1970. Spermogenesis. In JOHNSON, A. D. – GOMES, W.D. – VANDEMARK, N.L. (ed). *The testis*, vol. 1, New York-London:Academic press, 1970, p. 339-442.
41. COURTENS, J. L. et al. 1980. Abnormal spermiogenesis in bulls treated with ethylene dibromine. An ultrastructural and ultrachemical study. In *Journal of Ultrastructure Research*, 71, 1980, p. 103-115.
42. CRAN, D. G. – MASSÁNYI, L. 1988. Two cases of multiple abnormalities in testicular and ejaculated bull spermatozoa. *Theriogenology*, 30, 1988, p. 1121-1126.
43. DE LAMIRANDE, A. – GAGNON, C. 1993. A positive role for the superoxide anion in triggering hyperactivation and capacitation of human spermatozoa. In *International Journal of Andrology*, vol. 16, 1993, č. 1, p. 21-25.
44. DOUARD, V. et al. 2003. Reproductive period affects lipid composition and quality of fresh and stored spermatozoa in Turkeys. In *Theriogenology* [online], vol. 59, 2003, č. 3-4, p. 753-764 [cit. 2011-03-25].
45. EBISCH, I. M. V. – PETERS, W. H. M. – THOMAS, C. M. G. – WETZELS, A. M. M. – PEER, P. G. M. – STEEGERS-THEUNISSEN, R. P. M. 2006. Homocysteine, glutathione and related thiols affect Fertility parameters in the (sub)fertile couple. In *Human Reproduction*, vol. 21, 2006, p. 1725-1733.
46. EL-GAAFARY, M. N. 1994. Quality and Fertility of cooled rabbit semen supplemented with cyclic-AMP stimulators. In *Animal Reproduction Science*, vol.34, 1994, p.307-313.
47. EI-MENOUFY, A. A. – SEIDA, A. A. – FATTOUH, EI-S. M. – ABOU-AHMED, M. M. 1986. Effect of caffeine on metabolic activity of ejaculated and epididymal spermatozoa of buffalo. In *Reproduction in Domestic Animals*, vol. 21, 1986, p. 214-219.
48. EVENSON, D. P. et al. 1993a. Glutathione depletion potentiates ethyl methanesulfonate – induced damage to sperm chromatin structure. In *Reproductive Toxicology*, vol. 7, 1993, p. 297-304.
49. EVENSON, D. P. et al. 1993b. Zinc-silicon interactions influencing sperm chromatin integrity and testicular cell development in the rat as measured by flow cytometry. In *Journal of Animal Science*, vol. 71, 1993, p. 955-962.

50. FLADE, J. E. – GAGERN, W. – GUSOVIUS, L. J. – MILL, J. – NEISSER, E. 1990. Chov a športové využitie koní. In: Bratislava: Príroda 1990, p. 451. ISBN 80-07-00252-9.
51. FIEGEL, H. – VOGES, H. – HAMAMOTO, T. – UMEMURA, S. – IWATA, T. – MIKI, H. – FUJITA, Y. – BUYSCH, H. J. – GARBE, D. – PAULUS, W. 2002. "Phenol Derivatives" in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, 2002.
52. FORD, W. C. L. 2006. Glycolysis and sperm motility: does a spoon-ful of sugar help the flagellum go round? In Human Reproduction Update, vol. 12, 2006, no. 3, p. 269-274.
53. GAMČÍK, P. – KOZUMPLÍK, J. et al. 1976. Andrológia a inseminácia hospodárskych zvierat. Príroda, Bratislava, 1976.
54. GAMČÍK, P. – KOZUMPLÍK, J. et al. 1984. Andrológia a inseminácia hospodárskych zvierat. Príroda, Bratislava, 1984.
55. GAMČÍK, P. – KOZUMPLÍK, J. – MESÁROŠ, P. – SCHVARC, F. – VLČEK, Z. – ZIBRÍN, M. 1992. Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat. In: Príroda, Bratislava, 1992, 299 pp.
56. GAMČÍK, P. – KOZUMPLÍK, J. – MESÁROŠ, P. – SCHVARC, F. – VLČEK, Z. – ZIBRÍN, M. 1992. Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat. In Bratislava: Príroda, 1992, p. 299.
57. GARBERS, D. L. – FIRST, N. L. – SULLIVAN, J. J. – LARDY, H. A. 1971. Stimulation and maintenance of ejaculated bovine spermatozoa respiration and motility by caffeine. In Biology of Reproduction, vol. 5, 1971, p. 336-339.
58. GARRIDO, N. – MESEGUER, M. – SIMON, C. – PELLICER, A. – REMOHI, J. 2004a. Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. In Asian Journal of Andrology, vol. 6, 2004, p. 59-65.
59. GIANNATTASIO, A. – DE ROSA, M. – SMERAGLIA, R. – ZARRILLI, S. – CIMMINO, A. – Di ROSARIO, B. – RUGGIERO, R. – COLAO, A. – LOMBARDI, G. 2002. Glutathione peroxidase (GPX) activity in seminal plasma of healthy and fertile males. In Journal of Endocrinological Investigation, vol. 25, 2002. p. 983-986.
60. GIL, J. – LUNDEHEIM, N. – SERQUIST, L. – RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. 2003. Influence of extender, temperature, and addition of glycerol on postthaw sperm parameters in ram semen. In Theriogenology, vol. 59, 2003, p. 1241-1255.
61. GORCZYCA, W. – TRAGANOS, F. – JESIONOWSKA, H. – DARZYNKIEWICZ, Z. 1993. Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ to denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. In Experimental Cell Research, vol. 207, 1993, p. 202-205.

62. GOULD, K. G. – MARTIN, D. E. – HAFEZ, E. S. E. 1975. Mammalian spermatozoon. In: HAFEZ, E.S.E. (Ed.): Scanning electron microscopic atlas of mammalian reproduction. Stuttgart, Georg Thieme, 1975, p. 58-67.
63. GÜNDOĞAN, M. et al. 2003. Effect of diluents on motility of ram sperm during storage at 5°C. In Archives of Andrology, vol. 49, 2003, č. 1, p. 69-75.
64. GRAHAM, J. K. – HAMMERSTEDT, R. H. 1992. Differential effects of butylated hydroxytoluene analogs on bull sperm subjected to cold-induced membrane stress. In Cryobiology, vol. 29, 1992, p. 106-117.
65. GUITTON, M. J. – CASTON, J. – RUEL, J. – JOHNSON, R. M. – PUJOL, R. – PUEL, J. L. 2003. Salicylate Induces Tinnitus through Activation of Cochlear NMDA Receptors. In The Journal of Neuroscience [online], vol. 2003, č. 9, p. 23, [cit. 2011-04-17].
66. HALLIWELL, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. In Free Radicals Research, vol. 9, 1990, p.1-32.
67. HARRISON, P. M. – AROSIO, P. 1996. The ferritins: Molecular properties, iron storage function and cellular regulation. In Biochimica et Biophysica Acta, vol. 1275, 1996, p. 161-203.
68. HAUSLADEN, A. – ALSCHER, R. G. 1993. Glutathione. In Antioxidants in Higher Plants. Boca Raton: CRC Press, 1993, p. 1-30. ISBN 0849363284.
69. HAYAT, S. – AMHAD, A. 2007. Salicylic acid – A Plant Hormone. Springer. Dordrecht, 2007, p. 401. ISBN 14-0205-183-2.
70. HEMAVATHI, E. – RAHIMAN, M. A. 1993. Toxicological effects of Ziram, Thiram and Dithane M-45 assessed by sperm shape abnormalities in mice. Journal of Toxicology and Environmental Health, vol. 38, 1993, p. 393-398.
71. HORÁK, J. – LINHART, I. – KLUSOŇ, P. 2004. Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky. 1. vyd., Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. p. 189. ISBN 80-7080-548-X.
72. HU, J. H. – LI, Q. W. – LI, GANG, L. – JIANG, Z. L. – BU, S. H. – HAI, Y. – WANG, Q. 2009. The cryoprotective effect of trehalose supplementation on boar spermatozoa quality. In Animal Reproductive Science, vol. 112, 2009, no. 1-2, p. 107-118.
73. HU, J. H. – ZAN, L. S. – ZHAO, X. L. – LI, Q. W. – JIANG, Z. L. – LI, Y. K. – LI, X. 2010. Effects of trehalose supplementation on semen quality and oxidative stress parameters in frozen-thawed bovine semen. In Journal of Animal Science, published online first.
74. HESS, R. A. – DE FRANCA, R. L. 2008. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 636, 2008, p. 1-15.

75. HRNČIAR, P. 1997. Fenoly In: Organická chémia, Univerzita Komenského, 1997 p. 334 – 335. ISBN 80-223-1161-8.
76. HRUDKA, F. – POPESKO, P. – KOMÁREK, V. 1962. Základy morfológie hospodárskych zvierat. In Bratislava: SVPL, 1962, p. 753.
77. INABA, K. 2003. Molecular architecture of the sperm flagella: molecules for motility and signaling. In Zoological Science [online], vol. 20, 2003, č. 9, p. 1043-1056 [cit. 2011-02-25]. Dostupné na: <<http://bioone.org/doi/full/10.2108/zsj.20.1034>. ISBN 02890003.
78. JANKOVIČOVÁ, J. – ŠIMON, M. – ANTALÍKOVÁ, J. 2006. Methods for evaluation of an acrosome reaction of bovine spermatozoa. In Acta fytotechnica et zootechnica, vol. Special issue, 2006, p. 118-119.
79. JANNSEN, Z. M. – VAN HOUTEN, B. – BORM, O. J. – MOSSMAN, B. 1993. Cell and tissue responses to oxidative damage. In Laboratory Investigation, vol. 69, 1993, p. 261-274.
80. JELÍNEK, F. – JELÍNEK, K. 2002. Morfológie hospodárskych zvierat. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2002, p. 287. ISBN 80-7040-550-3.
81. JOHNSON, D. E. – KIENHOLZ, E. W. – BAXTER, J. C. et. al. 1981. Heavy metal retention in tissues of cattle fed high cadmium sewage sludge. In Journal of Animal Science, vol. 52, 1981, n. 1, p. 108-114.
82. JOHNSON, L. – PETTY, CH. S. – NEAVES, W. B. 1983. Further quantification of human spermatogenesis: Germ cell loss during postprophase of meiosis and its relationship to daily sperm production. In Biology of Reproduction, vol. 29, 1983, p. 207-215.
83. JONES, R. – MANN, T. – SHERINS, R. J. 1979. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa. In Fertility and Sterility, vol. 31, 1979, p. 531-537.
84. JOSHI, N. – MEDINA, H. – CRUZ, I. – OSUNA, J. 2001. Determination of the ultrastructural pathology of human sperm by atomic force microscopy. In Fertility and Sterility, vol. 75, 2001, p. 961-965.
85. JOYCE, D. A. 1987. Oxygen radicals in diseases. In Adverse Drug Reaction Bulletin, vol. 127, 1987, p. 476-479.
86. KASKER, H. T. 1994. The relationship between morphology, motility, and zona pellucida binding potential of human spermatozoa. In Andrologia, vol. 26, 1994, p. 1-4.
87. KLIMENT, J. – HINTNAUS, J. – NOVÁK, M. 1983. Reprodukcia hospodárskych zvierat. In Bratislava: Príroda, 1983, pp. 376.
88. KLIMENT, J. – HINTNAUS, J. – NOVÁK, M. 1989. Reprodukcia hospodárskych zvierat. In Bratislava: Príroda, 1989, pp. 392.

89. KŇAŽICKÁ, Z. – TVRDÁ, E. – KERTI, A. – BULLA, J. – MASSÁNYI, P. – LUKÁČ, N. 2010. Vplyv energetických zložiek kultivačných médií na pohybové parametre boviných spermíí v podmienkach in vitro. In *Acta fytotechnica et zootechnica 1 Nitra*, SPU Nitra, 2010, p. 1-6.
90. KOJIMA, Y. 1978. Fine structure of boar sperm abnormality: Tightly coiled tail. In *Japan Journal of Animal Reproduction*, vol. 24, 1978, p. 89-90.
91. KORDIC, V. 2009. Detekcia termického stresu na parametre pohyblivosti spermíí. In Nitra: SPU, 2009, p.51.
92. KOTLOWSKA, M. et al. 2006. Effects of liquid storage on amidase activity, DNA fragmentation and motility of turkey spermatozoa. In *Theriogenology* [online], vol. 67, 2006, č. 2, p. 276-286 [cit. 2011-03-27].
93. KOZUMPLÍK, J. 1990. Morfológické zmeny a dekapitácia spermíí jako príčina poruch plodnosti plemenníků. In *Veterinarni Medicina*, vol. 6, 1990, p. 35, 331-336.
94. KRAJŇÁK, P. 1983. Morfológické zmeny spermíí kancov a ich vplyv na plodnosť ošipaných. In *Kandidátska dizertačná práca*. VŠP Nitra, 1983.
95. KRESAN, J. – ČOLLÁK, D. – HAMPL, A. – KRESAN, J. – MARVAN, F. – VERNEROVÁ, E. 1979. Morfológia hospodárskych zvierat. In Bratislava: Príroda, 1979, p. 622.
96. KRUGER, T.F. 1996. Human spermatozoa in Assisted Reproduction. In Oxford: Taylor & Francis, 1996, p. 518. ISBN 185-07-059-09.
97. KULÍŠEK, V. – HLUCHÝ, S. – TOMAN, R. 2006. Cytológia, histológia a embryológia. In Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2006, 196 pp.
98. KUMI-DIAKA, J. et al. 1988. Seasonal and monthly variations in the incidence of morphological abnormalities in bovine spermatozoa in Shika, Zaria, Northern Nigeria. In *Animal Reproduction Science*, vol. 1-2, 1988, p. 17, 61-67.
99. LAPPIN, M. R. 2001. Feline internal medicine secrets. In Philadelphia Hanley&Belfus, Medical Publishers, 2001. p. 479. ISBN 1560534613.
100. LENNON, S. V. – MARTIN, S. J. – COTTER, T. G. 1991. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli. In *Cell Proliferation*, vol. 24, 1991, p. 203-214.
101. LENZI, A. – LOMBARDO, F. – GANDINI, L. – ALFANO, P. – DONDERO, E. 1993. Computer assisted sperm motility analysis at the moment of induced pregnancy during gonadotropin treatment for hypogonadotropic hypogonadism. In *Journal of Endocrinology Investigations*, vol 16, 1993, p. 683-686.
102. LEVIN, R. M. – GREENBERG, S. H. – WEIN, A. J. 1981. Quantitative analysis of the effects of caffeine on sperm motility and cyclic adenosine 3', 5'- monophosphate (AMP) phosphodiesterase. In *Fertility and Sterility*, vol. 36, 1991, p. 798-802.



103. LINCK, R. W. 2001. Cilia and Fladella. In Encyclopedia of Life Science. London : Nature Publishing Group, 2001, p. 1-12. ISBN 9781561592746.
104. LÓPEZ-SÁEZ, A. et al. 2000. Liquids storage (5°C) of ram semen in different diluents. In Archives of Andrology, vol. 44, 2000, č. 2, p. 155-64.
105. LUKÁČ, N. – BULLA, J. – CIGÁNKOVÁ, V. – FLEŠÁROVÁ, S. – KOVÁČIK, J. – MASSÁNYI, P. – NAĎ, P. – SKALICKÁ, M. – STAWARZ, R. – TRANDŽÍK, J. 2007. Stopové prvky a kvalita spermií. In Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2007, p. 118.
106. LUKÁČ, N. – MASSÁNYI, P. – KROČKOVA, J. – NAĎ, P. – SLAMEČKA, J. – ONDRUŠKA, Ľ - FORMICKI, G. – TRANDŽÍK, J. 2009. Relationship between trace element concentrations and spermatozoa quality in rabbit semen. In Slovak Journal of Animal Science, vol. 42, 2009, p. 46-50.
107. LUŠTINEC J. – ŤÁRSKÝ V. 2005: Úvod do fyziologie vyšších rostlin, 1. vydání, kap. 9 In Karolinum, Univerzita Karlova v Praze, Praha 2005.
108. LV, Z. M. – WANG, M. – XU, C. 2010. Antifertility characteristics of the N-terminal region of mouse equatorial segment protein. In Anatomical Records, vol. 293, 210, p. 171-181.
109. MACLEOD, J. 1943. The role of oxygen in the metabolism and motility of human spermatozoa. In American Journal of Physiology, vol. 138, 1943, p. 512–518.
110. MAKAREVICH , A. V. – PARKANYI, V. – ONDRUŠKA, Ľ. – KUBOVIČOVÁ, E. – FLÁK, P. – SLEZÁKOVÁ, M. – PIVKO, J. – RAFAY, J. 2008. Evaluation of fertilizing capacity of rabbit sperm on the basis of annexin of V-labelled membrane changes. In Slovak Journal of Animal Science, vol. 41, 2008, p.1-5.
111. MARTINIAKOVÁ, M. – KUNA, R. – OMELKA, R. – JANČOVÁ, A. – MASSÁNYI, P. 2008. Všeobecná cytológia a histológia. In Nitra Univerzita Konštantína Filozofa, 2008, p. 204.
112. MARVAN, F. – HAMPL, A. – HLOŽÁNKOVÁ, E. – KRESAN, J. – MASSÁNYI, L. – VERNEROVÁ, E. 1992. In Morfologie hospodárskych zvierat, 1992, p.303.
113. MASSÁNYI, L. 1989b. Hodnotenie pohyblivosti spermií komputrovou technikou. In Veterinarni Medicina (Praha), vol. 34, 1989, p. 163-170.
114. MASSÁNYI, L. 1991. Funkčná morfológia spermie. In Veda, vydavateľstvo SAV, Bratislava, 1991, p.194.
115. MASSÁNYI, P. – LUKÁČ, N. – MASSÁNYIOVÁ, K. 1996. Sezónny výskyt patologických spermií u býkov. In Poľnohospodárstvo, vol. 42, 1996, p. 628-637.
116. MASSÁNYI, P. – TRANDŽÍK, J. – LUKÁČ, N. 2002. Hodnotenie pohyblivosti spermií komputrovou technikou. 1. vyd. In Nitra: SPU, 2002. p. 70. ISBN 80-8069-117-7.

117. MASSÁNYI, P. – KISS, Z. – TOMAN, R. – BÁRDOS, L. 2002. Effect of acute cadmium exposure on testicular tissue and testicular retinoid and  $\beta$ -carotene content. In Magyar Allatorvosok Lapja, vol. 124, 2002, p. 688-692.
118. MASSÁNYI, P. – TOMAN, R. – LUKÁČ, N. – TRANDŽÍK, J. – CHRENEK, P. – FABIŠ, M. 2004. Fyziológia bunky. In Nitra : SPU, 2004, p. 137. ISBN 80-8069-443-5.
119. MASSÁNYI, P. – TRANDŽÍK, J. – NAĐ, P. – KORÉNEKOVÁ, B. – SKALICKÁ, M. – TOMAN, R. – LUKÁČ, N. – HALO, M. – STRAPÁK, P. 2004. Concentration of copper, iron, zinc, cadmium, lead, and nickel in bull and ram semen and relation to the occurrence of pathological spermatozoa. In Journal of Environmental Science and Health, vol. A39, 2004, p. 3005-3014.
120. MASSÁNYI, P. – TRANDŽÍK, J. – NAĐ, P. – SKALICKÁ, M. – KORÉNEKOVÁ, B. – LUKÁČ, N. – FABIŠ, M. – TOMAN, R. 2005. Seminal concentration of trace elements in fox and relationship to spermatozoa quality. In Journal of Environmental Science and Health, vol. A40, 2005, p. 1097-1105.
121. MASSÁNYI, P. – CHRENEK, P. – LUKÁČ, N. – MAKAREVIČ, A.V. – OSTRÓ, A. – ŽIVČÁK, J. – BULLA, J. 2008. Comparison of different evaluation chambers for analysis of rabbit spermatozoa motility parameters using CASA system. In Slovak Journal of Animal Science, vol. 41, 2008, p. 60-66.
122. MASSÁNYI, P. – LUKÁČ, N. – STAWARZ, R. – ROYCHOUDHURY, S. – SLAMEČKA, J. – CHLEBEC, I. – TOMAN, R. – KOVÁČIK, J. – BULLA, J. 2009. Environmental concentrations of cadmium in rabbit semen and detection of the effects on spermatozoa motility in vitro. In World Applied Science Journal, vol. 5, 2009, p. 21-31.
123. MATSUOKA, T – IMAI, H. – KOHNO, H. – FU KU I, Y. 2006. Effects of bovine sérum albumine and trehalose in semen diluents for im-provement of frozen-thawed ram spermatozoa. In Journal of Reproduction and Development, vol. 52, 2006, p. 675-683.
124. MATRHUR, S. – CARLTON, M. – ZIEGLER, J. – RUST, P. F. – WILLIAMSON, H. O. 1986. A compurized sperm motion analysis. In Fertility and Sterility, vol. 46, 1986, p. 484 -488.
125. McDONALD, L. E. – PINEDA, M. H. 1989. Veterinary Endocrinology and Reproduction. 4<sup>th</sup> ed. In Philadelphia, London: Lea & Febiger 1989, p. 571. ISBN 0-8121-1134-6.
126. McMURRY, J. 1996. Organic Chemistry, 1996, p. 993. ISBN 0-534-23832-7.
127. MOLINIA, F. C. – EVANS, G. – MAXWELL, W. M. C. 1994. Effects of monosaccharides and disaccharides in tris-based diluents on motility, acrosome integrity and fertility of pellet frozen ram spermatozoa. In Animal Reproduction Science, vol. 36, 1994, p. 113-122.

128. MOSTAFA, T. – TAWADROUS, G. – ROAIA, M. M. – AMER, M. K. – KADER, R. A. – AZIZ, A. 2006. Effect of smoking on seminal plasma ascorbic acid in infertile and fertile males. In *Andrologia*, vol. 38, 2006. p. 221-224.
129. MUCHOVÁ, J. et al. 2004. *Lekárska chémia a toxikológia*. In Bratislava: UK, 2004, p. 152. ISBN 80-223-1943-1.
130. MUNSI, M. N. – BHUIYAN, M. M. – MAJUMDER, S. – ALAM, M. G. 2007. Effects of exogenous glutathione on the quality of chilled bull semen. In *Reproduction in Domestic Animals*, vol. 42, 2007, p. 358-362.
131. NIŠTIAR, F. – RACZ, O. – BEŇAČKA, R. – LUKAČINOVÁ, A. 2009. Effect of bioflavonoids on type 1 diabetes onset and antioxidant status in spontaneously diabetic rats of BB strain. In *Journal of Central European Agriculture*, vol. 11, 2009, č. 1, p. 113-140.
132. OETTLE, E. E. – SOLEY, J. T. 1988. Sperm abnormalities in dog. A. Light and electron microscopic study. In *Veterinary Medicine Reviews*, vol. 59, 1988, p. 28-70.
133. OKAB, A. B. 2007. Semen characteristics and plasma testosterone of New Zealand male rabbits as affected by environmental temperatures. In *Slovak Journal of Animal Science*, vol. 40, 2007, p.161-167.
134. PALLADE, G. 1953. An electron microscopic study of the mitochondriae structure. In *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1953, p. 188 – 191.
135. PARKS, J. E. – GRAHAM, J. K. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. In *Theriogenology*, vol. 38, 1992, p. 209-222.
136. PAULOV, Š. 1980. *Fyziológia živočíchov a človeka*. In Bratislava: Príroda, 1980, p. 384-387.
137. PETAC, D. – KOSEC, M. 1989. Some morphological characters of bull spermatozoa and their effect on fertility. In *Veterinárstvo*, 1, 1989, p. 26, 65-72.
138. PIVKO, J. – MAKAREWICH, A. V. – KUBOVIČOVÁ, E. – RIHA, Ľ. – SIROTKIN, A. V. – MATEJAŠAKOVÁ, E. 2009. Ultrastructural alterations in sperm heads under influence of several implementors to ram semen. In *Slovak Journal of Animal Science*, 2009, vol.4, p.149-154. ISSN 1337-9984.
139. PLUMB, D. C. 2008. *Veterinary drug handbook*, In Iowa State University Press, Ames, 1999. p. 1136. ISBN 9780813810973.
140. POMPELLA, A. – VISVIKIS, A. – PAOLICCHI, A. – DE TATA, V. – CASINI, A. F. 2003. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. In *Biochemical Pharmacology*, 2003, 66 (8): p. 1499–503.
141. PRICE, A. – LUCAS, P. W. – LEA, P. J. 1990. Age dependent damage and glutathione metabolism in ozone fumigated barley: a leaf section approach. In *Journal of Experimental Botany*, vol. 41, 1990, p. 1309-1317.

142. RAVEN, P. H. – JOHNSON, G. B. 1996. Biology. 4<sup>rd</sup> ed. In Washington: WCB/McGraw-Hill, 1996, pp. 1311.
143. ROB, O. 1969. Studie některých morfologických a spermiologických metod, některých poruch spermiogenese plemenných býků a laboratorní testace zmraženého semena ve formě pelet. In Habilitačná práca, Košice, 1969.
144. ROCHA, A. – OLIVEIRA, E. – VILHENA, M. J. – DIAZ, J. – SOUSA, M. 2006. A novel apical midpiece defect in the spermatozoa of a bull without an apparent decrease in motility and fertility. A case study. In Theriogenology, vol 66, 2006, p. 913-922.
145. ROSATO, M. P. 2006. Changes on the quality characteristics of stored semen during reproductive period of Hybrid toms. In XII European Poultry Conference. In World Poultry Science Journal, vol. 62, p. 538.
146. RYAN, D. – ANTOLOVICH, M. – PRENZLER, P. – ROBARDS, K. – LAVEE, S. 2002. In Scientia Horticulturae, vol. 92, 2002, p.147.
147. SAKKAS, D. – MARIETHOZ, E. – MNICSIRDI, G. – BIZZARO, D. – BIANCHI, P. G. – BIANCHI, U. 1999. Origin od DNA damage in ejaculated human spermatozoa. In Reviews of Reproduction, vol. 4, 1999, p. 31-37.
148. SALAH, M. S. et al. 1992. Efect of water sprinkling during the hot-dry summer season on semen quality of Holstein bulls in Saudi Arabia. In Animal Reproduction, vol. 55, 1992, 59-63.
149. SALEH, R. A. – AGARWAL, A. – NADA, E. A. – EL-TONSY, M. H. – SHARMA, R. K. – MEYER, A. 2003. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in man with idiopathic and male factor infertility. In Fertility and Sterility, vol. 79, 2003, p. 1597-1605.
150. SATIR, P. 1974. How cilia move. In Animal Science, vol. 231, 1974, p. 44.
151. SCHAFER, F. Q. – BUETTNER, G. R. 2001. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. In Free Radicals in Biology and Medicine, vol. 30, 2001, p. 1191-1212.
152. SCHNEIDER, C. S. 1999. Relationship between bull field fertility and in vitro embryo production using sperm preparation methods with and without somatic cell co-culture. In Theriogenology, vol. 51,1999, no. 6, p. 1085-1098.
153. SEKONI, V. O. – GUSTAFSSON, B. K. 1987. Seasonal variations in the incidence of sperm morphological abnormalities indairy bulls regulary used for artificial insemination. In British Veterinary Journal, vol. 143, 1987, p. 312-317.
154. SHEWEITA, S. A. – TILISANY, A. M. – AL-SAWAF, H. 2005. Mechanism of male infertility: role of antioxidants. In Current Drug Metabolism, vol. 6, 2005, p. 495-501.
155. SIES, H. 1993. Strategies of antioxidant defense. In European Journal of Biochemistry, vol. 215, 1993, p. 213-219.

156. SINHA, M. P. - SINHA, A. K. - SINGH, B. K. 1995. Effect of methylxanthines on motility and fertility of frozen-thawed goat semen. In *Theriogenology*, vol. 44, 1995, p. 905-914.
157. SIKKA, S. C. – RAJASEKARAN, M. – HELLSTROM, W. J. 1995. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. In *Journal of Andrology*, vol. 16, 1995, p. 464-468.
158. SLANINA, T. 2010. Faktory ovplyvňujúce motilitu spermií moriakov – teplota a vek. In Nitra: SPU, 2010, p.63.
159. SLIVKOVÁ, J. - MASSÁNYI, P. - PIZZI, F. - TRANDŽÍK, J. - ROYCHOUDHURY, S. - LUKÁČ, N. - DANKOVÁ, M. - ALMÁŠIOVÁ, V. 2010. In vitro toxicity of mercury chloride on rabbit spermatozoa motility and cell membrane integrity. In *Journal of Environmental Science and Health*, vol. A45, 2010, p. 767-774.
160. SMITH, S. R. 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. In *Environment International*, vol. 35, 2009, p. 142-156.
161. SMITH, E. F. – YANG, P. 2004. The radials spoken and central apparatus: mechanochemicals transducers that regulate flegellar motility. In *Cell Motility and Cytoskeleton* [online], vol. 57, č. 1, p. 8-17.
162. SPITELLER, G. 1993. Rewiev: on the chemistry of oxidative stre. In *Journal of Lipid Mediators*, vol. 7, 1993, p. 199-221.
163. SODERQUIST, L. et al. 1991. Sperm morphology and fertility in AI bulls. In *Journal of Veterinary Medicine*, vol. 7, 1991, p. 534-543.
164. SONG, G. J. – NORKUS, E. P. – LEWIS, V. 2006. Relationship between seminal ascorbic acid and sperm DNA integrity in infertile men. In *International Journal of Andrology*, vol. 29, 2006, p. 569-575.
165. SUKOVÁ, I. 2006. Trehalóza. In <http://www.agronavigator.cz/>.
166. SUKOVÁ, I. 2010. Trehalóza pro snížení rizika vývoje metabolického syndromu. In *Food Bussiness News*, 6, 2010, č. 21, p. 30-31.
167. ŠPALEKOVÁ, E. – MAKAREVICH, A. – KUBOVIČOVÁ, E. – PIVKO, J. 2011. Effect of caffeine on selected parameters of ram sperm. In *Animal Physiology*, 2011, p. 1-11.
168. TERAWAKI, Y. et al. 1991. Repeatability of morphologically abnormal spermatozoa with cytoplasmic droplets in Holstein bulls in Hokkaido. In *Animal Science and Technology*, vol. 62, 1991, p. 1069-1073.
169. TIMORACKÁ, M. – VOLLMANNOVÁ, A. – BAJČAN, D. 2008. Analýza polyfenolických látok v rastlinnom materiáli. In *Kvalita potravín. Šumperk: Qualifood*, vol. 8, 2008, č. 2, 2008, p. 14-17. ISSN 1213-6859.

170. TIMURKAAN, N. – YALMAZ, F. – RISVANLI, A. – TIMRKAAN, H. – KARADAS, E. 2005. Effects of cottonseed flour on testicular structure and sperm motility of rats. In *Veterinary Medicine*, vol. 61, 2005, p. 877-880.
171. THEROND, P. – AUGER, J. – LEGRAND, A. – JOUANNET, P. 1996. Alphatocopherol in human spermatozoa and seminal plasma: relationships with motility, antioxidant enzymes and leukocytes. In *Molecular Human Reproduction*, vol. 2, 1996, p. 739-744.
172. TOMAN, R. – MASSÁNYI, P. 1997. Štrukturálne zmeny semenníka a prisemenníka po podaní kadmia. In *SPU, Nitra*, 1997, p. 83.
173. TOMÁŠ, J. – HRUŠKOVIČOVÁ, A. – MUSILOVÁ, J. – BYSTRICKÁ, J. – TREBICHALSKÝ, P. 2009. Organická chémia. In *Nitra: SPU Nitra*, 2009, p. 208. ISBN 97855201825.
174. TOSHIMORI, K. – CHIZURU, I. 2003. Formation and organization of the mammalian sperm head. In *Archives of Histology and Cytology*, vol. 66, 2003, p. 383-396.
175. TREMELLEN, K. 2008. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective. In *Human Reproduction Update*, vol. 20, 2008, p. 1-16.
176. TVRDÁ, E. – KŇAŽICKÁ, Z. – LUKÁČ, N. 2011. Albumin, Uric Acid and Bilirubin as a potencial spermatozoa protectant against Oxidative Stress. Department of Animal Physiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Nitra. In „Mladí vedci 2010“, 2010, p. 169-175.
177. TVRDÁ, E. – KŇAZICKÁ, Z. – BÁRDOS, L. – MASSÁNYI, P. – LUKÁČ, N. 2011. Impact of oxidative stress on male fertility - A review. *Acta Veterinaria Hungarica*, vol. 59, 2011, MS8/2011, in press.
178. TURNER, R. M. 2003. Teles from the tail: what do we really know about sperm motility. In *Journal of Andrology* [online], vol. 24, 2003, č. 6, p. 86-94.
179. UYSAL, O. – BUCAK, M. N. 2009. The role of different trehalose concentrations and cooling rates in freezing of ram semen. In *Ankara University Journal*, vol. 56, 2009, p. 99-105.
180. VALKO, M. – LEIBFRITZ, D. – MONCOL, J. – CRONIN, M. T. – MAZUR, M. – TELSER, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. In *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, vol. 39, 2007, p. 44-84.
181. VATMAN, D. – BANKS, S. M. – KONKOULIS, G. – DENNISON, L. – SHERINS, R. J. 1989. Assessment of sperm motion characteristics from fertile and infertile men using a fully automated computer – assisted semen analyzer. In *Fertility and Sterility*, vol. 51, 1989, p. 156-161.

182. VEKERLE, L. 1987. Evaluation of boar spermograms. Classification of ejaculates according to the incidence of sperm abnormalities. In Magyar Allatorvosok Lapja, vol. 42, 1987, p. 561-566.
183. VEKERLE, L. et al. 1988. Seasonal variations in the incidence of sperm abnormalities in boar ejaculates. In Magyar Allatorvosok Lapja, vol. 43, 1988, p. 593-596.
184. VELÍŠEK, J. 2002. Chemie potravin. Tábor, 2002, p. 343. ISBN 808665902X.
185. VERMES, I. – HAANEN, C. – STEFFENS-NAKKEN, H. – EUTLINGSPERGER, C. P. M. 1995. A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labeled Annexin V. In Journal of Immunological Methods, vol. 184, 1995, p. 39-51.
186. VERNET, P. – AITKEN, R. J. – DREVET, J. R. 2004. Antioxidant strategies in the epididymis. In Molecular and Cell Endocrinology, vol. 216, 2004, p. 31-39.
187. VĚZNÍK, Z. et al. 2004. Repetitorium spermatologie a andrologie a metodiky spermatoanalýzy. In Brno: VÚVL, 2004.
188. VIERULA, M. et al. 1983. Ultrastructure of a tail stump sperm defect in an Ayshire bull. Andrologia, vol. 15, 1983, p. 4, 303-309.
189. VOLLMANNOVÁ, A. – TÓTH, T. – BYSTRICKÁ, J. – URMINSKÁ, D. 2008. Polyfenolické látky vybraných pseudocereálií vo vzťahu k ich obsahu bielkovín a metallickej záťaži pôdy. In Proteiny 2008. Sborník příspěvků V. ročníku mezinárodní konference. Zlín, 2008. p. 227-230. ISBN 978-80-7318-706-4.
190. VRZGULOVÁ, M. – POPESKO, P. K. – OŠČOVÁ, M. et al. 1979. Submikroskopické zmeny na Sertoliho bunkách po ischémii žľazy pri mladých baranoch. In Folia veterinaria, vol. 24, 1979, p. 53-62.
191. WEKERLE, L. 1987. Evaluation of boar spermograms. Classification of ejaculates according to the incidence of sperm abnormalities. In Magyar Allatorvosok Lapja, vol. 42, 1987, p. 561-566.
192. WILLIAMS, A. C. - FORD, W. C. 2001. The Role of Glucose in Supporting Motility and Capacitation in Human Spermatozoa. In Journal of Andrology, vol. 22, 2001, p. 680-695.
193. WILLIAMS, A. C. – FORD, W. C. 2004. Functional significance of the pentose phosphatase pathway and glutathione reductase in the antioxidant defense of human sperm. In Biology of Reproduction, vol. 71, 2004. p. 1309-1316.
194. WOELDERS, H. – MATTHIJS, A. – ENGEL, B. 1997. Cryobiology. Institute for Animal Science and Health, Lelystad, NL-8200 AB, The Netherlands. h.woelders@id.dlo.nl p.93-105.
195. WYLLIE, A. H. – KERR, J. F. – CURRIE, A. R. 1980. Cell death: the significance of apoptosis. In International Review of Cytology, vol. 68, 1980, p. 251-306.

196. YANAGIMACHI, R. 1994. Mammalian Fertilization, In Raven Press, New York, 1994, p. 189-317.
197. ZIBRÍN, M. 1976. Ultraštruktúrne zmeny akrozómu a mitochondrií spermií býka indukovaných in vitro. In Veterinarni Medicina, 21, 1976, p. 415-426.
198. ZIBRÍN, M. – BELÁK, M. – MÉSAROŠ, P. et al. 1987a. The ultrastructure of frozen-thawed ram spermatozoa. In ZEITSCHRIFT FÜR MIKROSKOPISCH-ANATOMISCHE FORSCHUNG, vol. 101, 1987, p. 904-912.
199. ZIBRÍN, M. – MÉSAROŠ, P. – TOMAJKOVÁ, E. et al. 1987b. Ultrastructure of frozen and thawed ram sperm. In Veterinarni Medicina (Praha), vol. 32, 1987, p. 171-180.
200. ZIBRÍN, M. – CIGÁNKOVÁ, V. – TOMAJKOVÁ, E. 1990. Nucleolus of Sertoli cells in domestic and wild animals – species differences, seasonal differences, seasonal-changes, ontogenetic development and experimental cryptorchidism. In Veterinární Medicina (Praha), vol. 35, 1990, p. 501-512.
201. ZIMA, T., 2002. Laboratórní diagnostika. In Praha: Galén, 2002, p. 906. ISBN 9788072623723.
202. ZINI, A. – GARRELS, K. – PHANG, D. 2000. Antioxidant activity in the semen of fertile and infertile men. In Urology, vol. 55, 2000, p. 922-926.



## 9. ZOZNAM PUBLIKOVANÝCH PRÁČ AUTORA SÚVISIACICH S RIEŠENOU PROBLEMATIKOU

Factors effecting spermatozoa motility – Salicylic acid

Skopalová, D., Rafajová, M., Massányi, P.

In Animal Physiology 2011, 9<sup>th</sup> International Scientific Conference, s. 417-422

The effect of crude glycerol on rabbit spermatozoa motility *in vitro*

Qoja, A. O.; Rafajová, M.; Massányi, P.

In Animal Physiology 2011, 9<sup>th</sup> International Scientific Conference, s. 457-462

Genetické hodnotenie produkčných a reprodukčných ukazovateľov oviec na Slovensku /

Milan Margetín, M. Oravcová, Martina Rafajová, Anna Machynová, J. Šútý.

In Ročenka chovu ovci a koz v České republice za rok 2010. - Brno : Svaz chovatelů ovci a koz v ČR, 2010. - ISBN 978-80-904131-5-3. - S. 103-107.

Seminár o elektronickej identifikácii zvierat / Marta Dianová, Martina Rafajová.

In Slovenský chov. - Bratislava : Združenie - Slovenský chov. - ISSN 1335-1990. - Roč. 9, č. 10 (2004), s. 22.

Mäsové plemená oviec majú šancu aj u nás / Milan Margetín, Martina Rafajová, Július Šútý, Miroslava Gálisová.

In Slovenský chov. - Bratislava : Združenie - Slovenský chov. - ISSN 1335-1990. - Roč. 15, č. 1 (2010), s. 29-31.

Nárast úžitkovosti domácich plemien : výsledky kontroly úžitkovosti oviec chovaných v Slovenskej republike / Štefan Ryba, Martina Rafajová.

In Slovenský chov. - Bratislava : Združenie - Slovenský chov. - ISSN 1335-1990. - Roč. XIII, č. 1 (2008), s. 40-41.

Výsledky kontroly úžitkovosti oviec v kontrolnom roku 2007 / Štefan Ryba, Martina Rafajová.

In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 28, č. 1 (2008), s. 10-12.

Aktuálne výsledky kontroly úžitkovosti oviec na Slovensku / grafy, tab.

In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 29, č. 1 (2009), s. 4-6.

Pokles úžitkovosti okrem plemena lacaune / Štefan Ryba, Martina Rafajová.

In Slovenský chov. - Bratislava : Združenie - Slovenský chov. - ISSN 1335-1990. - Roč. 14., č. 1 (2009), s. 38-40.

Pokles úžitkovosti okrem plemena lacaune / Štefan Ryba, Martina Rafajová.

In Slovenský chov. - Bratislava : Združenie - Slovenský chov. - ISSN 1335-1990. - Roč. 14, č. 1 (2009), s. 38-40.

Návšteva a pracovné stretnutie s partnerskými organizáciami a chovateľmi oviec a kôz v Chorvátsku / Pavel Srpoň, Martina Rafajová.

In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 29, č. 2 (2009), s. 17-18.

Zavedenie elektronickej identifikácie oviec a kôz na Slovensku už od 31. 12. 2009 / Štefan Ryba, Martina Rafajová.

In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 29, č. 4 (2009), s. 26.

Rezervy v úžitkovosti oviec pretrvávajú / Štefan Ryba, Martina Rafajová.  
In Slovenský chov. - Bratislava : Združenie - Slovenský chov. - ISSN 1335-1990. - Roč. 15, č. 1 (2010), s. 32-33.

Aktuálne výsledky kontroly úžitkovosti oviec a kôz za rok 2009 / Štefan Ryba, Martina Rafajová.  
In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 30, č. 1 (2010), s. 7-9.

Pragmatické prístupy k označovaniu oviec a kôz / Martina Rafajová. - Nitra : Agroinštitút, 2008. - 26 s. : obr., príl. - ISBN 978-80-7139-125-8

Plemenárske služby SR, štátny podnik priniesli novú službu vo výkone kontroly úžitkovosti mäsových plemien / Štefan Ryba, Martina Rafajová, Radovan Drozd.  
In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 30, č. 4 (2010), s. 35 a 38.

Slabšia reprodukcia a nárast produkcie mlieka / Martina Rafajová.  
In Slovenský chov. - Bratislava : Združenie - Slovenský chov. - ISSN 1335-1990. - Roč. 16, č. 3 (2011), s. 26 a 28.

Valaška (pôvodná valaška). Ako ďalej.....? / Slavomír Reľovský, Július Šutý, Martina Rafajová.  
In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 31, č.1 (2011), s. 16-17.

Dosiahnuté výsledky kontroly úžitkovosti oviec na Slovensku v roku 2010 / Štefan Ryba, Martina Rafajová.  
In Chov oviec a kôz. - Banská Bystrica : Zväz chovateľov oviec a kôz. - Roč. 31, č.1 (2011), s. 26-28.

Výsledky kontroly úžitkovosti oviec za rok 2008 na Slovensku  
Ryba, Š., Rafajová, M.  
In Ročenka chovu ovčí a koz v Českej republike za rok 2008. - Brno : Svaz chovatelů ovčí a koz v ČR, 2009 S. 97 – 103.

# PRÍLOHY

Tabuľka č. 4.1: Pohyblivosť spermií (%) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	86,34	9,03	1,30	10,46	63,09	96,11
SA	62,16 <sup>C</sup>	22,22	3,21	35,75	21,21	97,07
RA	78,95	6,80	0,98	8,61	63,51	91,93
PA	85,19	9,63	1,39	11,31	58,06	98,18
TA	89,00	4,98	0,72	5,60	75,00	97,72
KA	75,41	17,05	2,46	22,61	35,00	97,93
GA	85,46	10,24	1,48	11,98	51,21	99,15
CB	78,56	16,07	2,32	20,46	45,45	98,92
SB	76,30	15,95	2,30	20,91	45,61	98,11
RB	80,47	8,99	1,30	11,17	58,18	93,42
PB	88,81	4,96	0,72	5,58	74,83	96,50
TB	84,02	10,87	1,57	12,94	53,15	98,59
KB	79,49	14,81	2,14	18,63	36,95	96,31
GB	80,66	14,64	2,11	18,15	54,76	99,20
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	79,58	7,64	1,10	9,60	61,11	93,95
SA	49,80 <sup>C</sup>	24,15	3,49	48,49	14,28	86,27
RA	59,09 <sup>C</sup>	24,22	3,50	40,99	18,86	90,00
PA	78,42	9,66	1,39	12,32	58,53	100,00
TA	84,43	8,07	1,17	9,56	62,88	100,00
KA	78,54	6,95	1,00	8,85	63,88	92,30
GA	83,53	7,00	1,01	8,39	64,70	95,58
CB	76,81	9,23	1,33	12,01	53,62	90,80
SB	70,65	13,06	1,89	18,49	41,07	90,71
RB	76,25	11,09	1,60	14,54	47,86	96,72
PB	74,99	24,99	3,61	33,33	14,15	96,70
TB	79,77	11,61	1,68	14,55	50,00	98,27
KB	75,36	10,86	1,57	14,41	44,77	87,27
GB	82,94	6,97	1,01	8,41	66,66	94,30
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	77,38	7,79	1,12	10,07	56,89	89,47
SA	53,15 <sup>C</sup>	17,97	2,59	33,81	17,50	86,09
RA	51,27 <sup>C</sup>	25,27	3,65	49,29	2,19	87,09

PA	72,11	10,31	1,49	14,30	53,24	90,74
TA	80,01	8,79	1,27	10,99	62,22	94,65
KA	78,94	7,86	1,19	9,96	58,92	88,39
GA	80,48	7,65	1,10	9,50	59,45	93,26
CB	76,07	8,38	1,21	11,02	58,90	91,54
SB	69,23	10,16	1,47	14,67	52,45	89,70
RB	70,39	9,36	1,35	13,29	41,80	92,98
PB	69,75	21,75	3,14	31,19	5,15	93,33
TB	81,86	9,66	1,39	11,80	54,38	96,66
KB	71,97	11,10	1,60	15,42	46,93	89,74
GB	81,18	7,13	1,03	8,78	55,10	91,86
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	79,74	11,32	1,63	14,20	54,16	99,14
SA	58,13 <sup>C</sup>	18,67	2,70	32,12	21,62	85,71
RA	47,44 <sup>C</sup>	27,30	3,94	57,53	6,49	82,66
PA	69,54	12,60	1,82	18,12	40,00	91,66
TA	81,21	8,17	1,18	10,06	60,00	95,34
KA	78,48	7,87	1,14	10,02	58,49	92,10
GA	80,91	9,47	1,37	11,70	58,33	96,61
CB	78,20	6,46	0,93	8,27	61,53	90,99
SB	65,11	13,34	1,93	20,49	37,77	87,65
RB	70,73	9,55	1,38	13,51	51,49	92,03
PB	66,25	5,83	3,73	38,99	3,15	92,94
TB	76,16	8,67	1,25	11,38	56,94	90,56
KB	77,96	9,33	1,35	11,96	59,09	95,37
GB	79,26	9,92	1,43	12,52	56,31	93,45
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	79,27	10,47	1,51	13,21	56,00	93,83
SA	56,09 <sup>C</sup>	16,53	2,39	29,46	29,68	84,73
RA	46,70 <sup>C</sup>	24,43	3,53	52,30	5,35	86,86
PA	69,73	11,68	1,69	16,75	45,20	91,79
TA	79,01	13,08	1,89	16,56	39,66	95,30
KA	75,04	13,31	1,92	17,73	35,00	92,68
GA	83,76	6,42	0,93	7,66	70,12	97,27
CB	77,14	12,08	1,74	15,66	52,54	98,20
SB	69,41	14,40	1,92	20,75	38,61	91,53
RB	61,83 <sup>A</sup>	9,91	1,57	16,04	41,23	78,84
PB	63,81	25,99	3,75	40,72	7,96	94,15

TB	76,25	7,18	1,04	9,42	60,80	94,44
KB	78,58	10,45	1,51	13,29	50,00	94,68
GB	77,75	7,90	1,14	10,16	60,60	95,08
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	76,72	9,77	1,41	12,73	55,03	93,33
SA	15,38 <sup>C</sup>	9,80	1,41	63,71	1,63	45,16
RA	24,19 <sup>C</sup>	15,79	2,28	65,26	0,00	59,75
PA	45,64 <sup>C</sup>	24,75	3,57	54,22	8,53	89,33
TA	78,30	10,12	1,46	12,93	57,59	99,15
KA	74,66	10,98	1,59	14,71	54,54	95,19
GA	72,50	14,00	1,87	19,31	46,37	98,62
CB	76,60	11,66	1,68	15,23	51,23	94,73
SB	34,78 <sup>C</sup>	27,48	4,35	79,02	2,98	93,00
RB	46,42 <sup>C</sup>	20,19	2,91	43,50	11,11	83,90
PB	66,27	26,66	3,85	40,22	2,85	99,27
TB	71,72	9,96	1,44	13,89	47,67	88,88
KB	69,80	12,26	1,77	17,56	46,42	93,04
GB	77,48	10,34	1,38	13,34	54,12	94,21
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	79,11	12,65	1,83	15,99	49,49	95,38
SA	18,08 <sup>C</sup>	14,08	2,03	77,91	0,00	44,95
RA	17,16 <sup>C</sup>	8,30	1,20	48,39	6,52	43,87
PA	43,08 <sup>C</sup>	26,20	3,50	60,83	9,85	89,28
TA	81,03	8,84	1,28	10,91	59,70	95,45
KA	69,47	17,60	2,54	25,33	29,29	92,75
GA	58,13 <sup>B</sup>	22,92	3,31	39,42	14,14	92,59
CB	75,03	13,64	1,97	18,19	42,16	96,25
SB	26,86 <sup>C</sup>	15,92	2,52	59,29	2,50	60,91
RB	51,60 <sup>C</sup>	28,65	4,14	55,53	8,00	96,64
PB	50,07 <sup>C</sup>	32,48	5,14	64,87	1,51	95,23
TB	72,74	16,75	2,42	23,03	10,00	95,60
KB	71,82	16,57	2,39	23,07	40,90	96,77
GB	70,61	18,76	2,71	26,57	28,75	100,00
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	77,30	11,07	1,58	14,33	56,75	94,54
SA	17,75 <sup>C</sup>	18,29	2,64	103,01	0,00	63,15
RA	12,72 <sup>C</sup>	6,99	1,01	54,90	2,77	46,66
PA	32,57 <sup>C</sup>	21,76	3,14	66,79	0,00	85,33

TA	74,78	15,73	2,27	21,03	43,85	100,00
KA	68,35	14,57	2,10	21,31	30,93	87,01
GA	57,34 <sup>B</sup>	17,10	2,47	29,81	27,61	85,71
CB	75,75	14,61	2,13	19,29	30,76	93,52
SB	30,75 <sup>C</sup>	17,80	2,81	57,87	6,38	69,23
RB	37,53 <sup>C</sup>	20,70	2,93	61,18	7,81	79,68
PB	55,61 <sup>B</sup>	28,01	4,04	50,36	3,44	98,00
TB	75,84	13,68	1,97	18,03	37,07	95,74
KB	68,81	17,05	2,46	24,78	15,51	87,32
GB	65,76	18,04	2,60	27,43	30,43	89,68
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	43,94	27,06	4,78	61,58	13,97	92,07
SA	22,00	15,92	2,81	72,33	3,33	50,90
RA	20,68 <sup>A</sup>	15,86	2,80	76,71	2,24	64,22
PA	22,95	14,57	2,58	63,48	3,53	61,53
TA	56,04	25,05	4,43	44,71	14,04	100,00
KA	33,49	12,54	2,22	37,44	14,61	60,60
GA	40,47	10,96	1,94	27,08	17,20	63,63
CB	46,08	14,93	2,64	32,40	23,52	79,31
SB	36,15	18,16	3,21	50,23	6,34	75,00
RB	27,10	16,58	2,93	61,18	5,80	70,73
PB	34,15	32,02	5,66	93,75	4,54	100,00
TB	43,52	15,92	2,82	36,59	12,00	63,76
KB	28,33	16,48	2,91	58,17	3,29	63,63
GB	42,35	14,85	2,63	35,07	18,75	91,42

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.2:** Progresívna pohyblivosť (%) spermíí s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	79,07	11,12	1,60	14,06	50,84	92,49
SA	47,45 <sup>C</sup>	24,32	3,51	51,25	12,12	91,70
RA	62,57 <sup>B</sup>	10,90	1,57	17,41	31,08	81,39
PA	73,74	10,72	1,55	14,53	52,08	91,44
TA	80,80	5,00	0,72	6,18	66,66	89,39
KA	68,48	16,96	2,45	24,76	30,00	91,17
GA	76,98	10,65	1,54	13,83	41,46	93,49
CB	68,76	17,70	2,55	25,74	24,24	89,38
SB	65,94	13,95	2,01	21,15	38,09	85,62
RB	66,99	13,81	1,99	20,62	36,17	86,85
PB	78,98	6,40	0,92	8,10	59,74	88,41
TB	75,83	11,06	1,60	14,59	45,04	92,95
KB	71,70	13,72	1,98	19,14	34,78	87,58
GB	73,96	13,45	1,94	18,19	48,88	92,63
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	71,68	7,51	1,08	10,48	55,55	86,57
SA	38,16 <sup>C</sup>	24,65	3,56	64,60	2,40	76,34
RA	41,60 <sup>C</sup>	24,38	3,52	58,60	3,44	71,66
PA	61,00	10,82	1,56	17,73	39,70	83,33
TA	76,50	7,85	1,13	10,26	55,67	92,66
KA	69,44	7,76	1,12	11,18	54,90	84,61
GA	74,85	8,72	1,26	11,65	57,14	90,56
CB	68,17	9,96	1,44	14,61	47,82	85,57
SB	58,28	15,01	2,17	25,75	28,57	82,06
RB	64,15	11,75	1,70	18,31	32,47	88,99
PB	62,62	27,29	3,94	43,57	0,00	89,72
TB	73,61	12,95	1,87	17,60	30,00	96,55
KB	67,71	11,55	1,67	17,06	37,03	82,14
GB	74,45	8,32	1,20	11,18	53,06	87,80
<b>čas 2 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	66,73	9,88	1,43	14,81	40,00	83,50
SA	39,43 <sup>C</sup>	19,33	2,79	49,02	10,00	73,23
RA	36,73 <sup>C</sup>	22,09	3,19	60,15	0,00	60,97
PA	54,83	12,93	1,87	23,59	25,97	81,81



TA	70,84	10,83	1,56	15,29	46,42	89,30
KA	69,58	9,02	1,36	12,96	46,15	81,57
GA	70,61	9,64	1,39	13,66	44,73	86,53
CB	69,10	7,59	1,10	10,98	50,68	82,78
SB	52,55 <sup>B</sup>	12,89	1,86	24,53	26,98	80,55
RB	54,62 <sup>A</sup>	12,30	1,78	22,52	28,39	82,45
PB	56,58	26,46	3,82	46,77	0,00	86,06
TB	71,77	10,88	1,57	15,16	3,84	89,33
KB	64,40	10,53	1,52	16,36	37,83	83,63
GB	71,94	7,00	1,01	9,73	48,97	86,45
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	71,48	12,66	1,83	17,72	42,10	94,84
SA	35,22 <sup>C</sup>	20,58	2,97	58,44	10,81	73,10
RA	29,19 <sup>C</sup>	23,50	3,39	80,50	0,00	62,67
PA	51,93 <sup>C</sup>	14,74 <sup>C</sup>	2,13	28,38	20,77	76,92
TA	71,85	8,87	1,28	12,35	51,90	87,59
KA	70,67	7,61	1,10	10,77	50,94	84,21
GA	72,43	10,10	1,46	13,94	52,10	90,90
CB	67,09	8,09	1,17	12,06	41,02	83,78
SB	47,54 <sup>C</sup>	16,71	2,41	35,15	17,77	78,62
RB	54,02	13,44	1,94	24,88	23,07	78,76
PB	52,38 <sup>A</sup>	26,22	3,78	50,06	0,00	85,20
TB	67,88	10,86	1,57	16,00	45,83	84,90
KB	68,93	8,66	1,25	12,56	51,85	86,36
GB	69,76	10,43	1,51	14,95	48,54	86,32
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	71,52	8,92	1,29	12,47	52,00	86,30
SA	34,68 <sup>C</sup>	22,66	3,27	65,33	2,63	72,59
RA	31,82 <sup>C</sup>	23,27	3,36	73,12	0,00	72,99
PA	50,43 <sup>C</sup>	14,79	2,13	16,27	25,75	79,10
TA	69,91	15,28	2,21	21,86	26,44	89,47
KA	65,62	14,02	2,02	21,37	30,00	84,15
GA	72,00	8,76	1,26	12,17	48,88	89,09
CB	66,88	14,29	2,06	21,37	38,75	92,21
SB	51,73 <sup>A</sup>	18,60	2,49	35,96	11,88	80,00
RB	46,20 <sup>C</sup>	12,76	2,02	27,62	26,76	72,00
PB	51,24 <sup>A</sup>	25,86	3,73	50,47	0,00	85,06
TB	67,13	9,29	1,34	13,84	45,60	88,65

KB	67,98	12,91	1,86	18,98	35,71	86,17
GB	67,47	9,51	1,37	14,09	40,67	85,24
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	66,51	11,55	1,67	17,37	44,96	90,90
SA	3,67 <sup>C</sup>	3,50	0,50	95,36	0,00	13,33
RA	8,47 <sup>C</sup>	10,87	1,57	128,40	0,00	43,90
PA	30,12 <sup>C</sup>	23,61	3,41	78,99	0,00	77,02
TA	67,19	9,96	1,44	14,83	48,73	91,59
KA	65,29	11,39	1,64	17,44	42,42	87,50
GA	59,80	15,56	2,08	26,02	30,00	88,33
CB	65,79	13,29	1,92	20,20	39,68	88,28
SB	22,47 <sup>C</sup>	27,32	4,32	121,61	0,00	80,23
RB	33,02 <sup>C</sup>	20,63	2,98	62,46	5,05	73,56
PB	51,92	26,14	3,77	50,35	0,00	91,24
TB	60,40	11,31	1,63	18,72	36,04	85,55
KB	58,87	12,91	1,86	21,93	35,00	88,00
GB	63,91	11,42	1,53	17,87	39,44	86,31
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	67,37	12,85	1,85	19,08	41,41	83,82
SA	7,00 <sup>C</sup>	8,56	1,24	122,22	0,00	31,19
RA	4,06 <sup>C</sup>	6,35	0,92	156,62	0,00	26,53
PA	26,22 <sup>C</sup>	26,23	3,51	100,03	0,00	81,25
TA	68,07	13,17	1,90	19,35	27,27	90,00
KA	55,27	16,61	2,40	30,06	23,23	80,00
GA	44,05 <sup>C</sup>	22,28	3,22	50,58	4,04	82,22
CB	62,72	15,16	2,19	24,17	30,76	90,00
SB	14,77 <sup>C</sup>	13,69	2,17	92,73	0,00	45,97
RB	34,92 <sup>C</sup>	27,97	4,04	80,09	3,57	88,11
PB	40,84 <sup>B</sup>	30,07	4,75	73,62	0,00	86,50
TB	60,87	16,39	2,37	26,93	10,00	90,10
KB	61,07	17,05	2,46	27,93	31,46	85,71
GB	54,09	17,46	2,52	32,27	16,25	84,80
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	64,37	13,10	1,87	20,35	35,44	85,38
SA	9,63 <sup>C</sup>	14,25	2,06	147,94	0,00	43,80
RA	1,42 <sup>C</sup>	2,34	0,34	164,69	0,00	10,66
PA	19,51 <sup>C</sup>	19,12	2,76	98,01	0,00	70,66
TA	63,48	17,57	2,54	27,67	31,57	100,00

KA	54,17	14,74	2,13	27,22	23,02	76,92
GA	40,68	18,59	2,68	45,71	5,00	69,23
CB	63,83	15,91	2,32	24,93	23,07	84,89
SB	20,63 <sup>C</sup>	16,84	2,66	81,63	1,52	54,62
RB	24,38 <sup>C</sup>	19,53	1,34	112,54	1,56	68,75
PB	41,52 <sup>C</sup>	26,01	3,75	62,65	0,00	84,67
TB	64,43	15,75	2,27	24,44	29,31	86,17
KB	58,77	17,58	2,54	29,91	12,06	77,94
GB	53,72	18,30	2,64	34,06	19,40	83,33
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	34,29	25,68	4,54	74,87	3,40	80,30
SA	8,20 <sup>C</sup>	12,21	2,16	148,82	0,00	42,65
RA	1,81 <sup>C</sup>	3,95	0,70	218,15	0,00	19,26
PA	4,89 <sup>C</sup>	6,69	1,18	136,83	0,00	22,52
TA	41,26	23,51	4,16	56,99	4,65	87,65
KA	19,15	11,96	2,11	62,43	2,66	43,43
GA	19,96	10,96	1,94	54,89	1,88	42,42
CB	32,00	14,00	2,48	43,75	8,19	60,97
SB	15,91	11,89	2,10	74,76	0,00	39,36
RB	6,75 <sup>C</sup>	7,59	1,34	112,54	0,00	26,08
PB	18,19	26,76	4,73	147,11	0,00	75,00
TB	28,78	14,03	2,48	48,74	1,33	54,00
KB	13,45 <sup>A</sup>	9,67	1,71	71,89	0,00	33,72
GB	22,70	7,11	1,26	31,32	8,73	34,42

**C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);**

**S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;**

**A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>**

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A – p<0,05; B – p<0,01; C – p<0,001**

**x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient**

**Tabuľka č. 4.3:** Priemerná prejdená vzdialenosť spermíí ( $\mu\text{m}$ ) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	28,35	3,20	0,46	11,27	23,37	34,50
SA	17,28 <sup>C</sup>	3,05	0,44	17,65	13,06	23,78
RA	20,81 <sup>C</sup>	3,27	0,47	15,72	15,19	30,03
PA	24,81	4,01	0,58	16,15	18,54	36,31
TA	28,19	7,20	1,04	25,53	19,72	49,63
KA	26,23	4,54	0,66	17,32	19,51	40,09
GA	25,75	3,87	0,56	15,03	19,49	33,04
CB	24,72	2,67	0,39	10,82	18,33	30,58
SB	23,75 <sup>A</sup>	2,34	0,32	10,51	17,37	27,81
RB	23,18	2,40	0,35	10,35	17,00	28,55
PB	24,33	2,20	0,322	9,04	17,52	27,94
TB	20,80	2,19	0,34	9,85	19,85	29,80
KB	25,28	3,73	0,54	14,75	21,61	37,55
GB	27,13	5,57	0,80	20,53	19,62	42,44
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	29,65	3,09	0,45	10,41	22,83	36,51
SA	17,41 <sup>C</sup>	2,86	0,41	16,43	9,08	23,69
RA	21,23 <sup>C</sup>	3,40	0,49	16,00	9,57	26,95
PA	21,55 <sup>C</sup>	2,57	0,37	11,91	13,32	25,87
TA	28,61	2,20	0,32	7,70	24,82	34,36
KA	26,64	2,21	0,32	8,30	21,65	32,33
GA	28,79	2,40	0,35	8,33	24,62	34,60
CB	27,52	2,69	0,39	9,77	20,19	34,52
SB	21,61 <sup>C</sup>	2,90	0,42	13,43	17,45	28,66
RB	24,50	2,13	0,31	8,70	19,74	30,52
PB	23,17 <sup>C</sup>	6,26	0,90	27,02	0,00	30,15
TB	29,61	3,96	0,57	13,37	15,01	38,02
KB	28,11	4,21	0,61	14,97	23,60	39,15
GB	28,54	2,77	0,40	9,71	23,22	33,49
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	28,25	3,27	0,47	11,56	20,54	36,04
SA	17,25 <sup>C</sup>	2,88	0,42	16,72	11,75	23,28
RA	18,93 <sup>C</sup>	6,65	0,96	35,16	0,00	29,50
PA	21,50 <sup>C</sup>	2,50	0,36	11,61	14,96	26,93

TA	28,71	3,16	0,46	11,01	22,88	38,46
KA	28,05	2,43	0,37	8,65	23,72	33,07
GA	28,03	2,18	0,31	7,78	21,39	31,67
CB	27,83	3,11	0,45	11,17	18,65	34,84
SB	20,64 <sup>C</sup>	3,49	0,50	16,90	14,11	28,13
RB	24,43	2,48	0,36	10,13	19,74	30,74
PB	22,26 <sup>C</sup>	7,74	1,12	34,78	0,00	32,49
TB	27,07	3,67	0,53	13,56	18,04	34,64
KB	28,28	3,19	0,46	11,26	21,97	36,25
GB	28,75	3,12	0,45	10,84	23,62	37,64
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	27,44	5,81	0,84	21,16	14,80	35,55
SA	15,67 <sup>C</sup>	3,26	0,47	20,78	10,80	22,00
RA	16,67 <sup>C</sup>	5,34	0,77	32,03	0,00	23,40
PA	22,26 <sup>C</sup>	3,75	0,54	16,85	14,96	30,73
TA	29,45	3,69	0,53	12,53	22,29	38,50
KA	27,87	3,02	0,44	10,83	22,61	34,84
GA	28,83	2,05	0,30	7,11	25,86	33,49
CB	25,68	1,41	0,20	5,47	21,99	28,98
SB	19,18 <sup>C</sup>	3,81	0,55	19,84	12,42	24,93
RB	22,47	2,91	0,42	12,94	17,43	28,69
PB	19,79 <sup>C</sup>	8,40	1,21	42,46	0,00	30,38
TB	27,62	3,22	0,46	11,64	20,49	34,42
KB	26,57	3,89	0,56	14,63	19,65	34,76
GB	27,83	2,49	0,36	8,96	21,94	32,23
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	28,07	4,14	0,60	14,76	21,59	38,44
SA	14,82 <sup>C</sup>	3,28	0,47	22,15	10,15	22,39
RA	16,86 <sup>C</sup>	6,19	0,89	36,71	0,00	23,69
PA	21,28 <sup>C</sup>	3,46	0,50	16,27	15,17	28,97
TA	28,06	4,75	0,69	16,93	19,12	36,35
KA	26,78	3,06	0,44	11,41	21,46	36,07
GA	27,53	3,21	0,46	11,65	19,05	32,06
CB	25,09	2,49	0,36	9,93	18,68	29,79
SB	19,20 <sup>C</sup>	3,90	0,52	20,33	10,90	25,81
RB	21,69	4,16	0,66	19,16	16,19	32,88
PB	21,10	8,34	1,20	39,52	0,00	31,26
TB	27,56	3,58	0,52	12,98	20,35	37,24

KB	25,88	2,59	0,37	10,00	22,27	31,23
GB	26,53	2,90	0,42	10,92	21,25	33,72
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	27,31	3,22	0,46	11,80	19,55	34,36
SA	11,38 <sup>C</sup>	8,72	1,26	76,66	0,00	28,11
RA	15,06 <sup>C</sup>	8,55	1,23	56,75	0,00	38,42
PA	19,81 <sup>C</sup>	5,80	0,84	29,26	0,00	31,25
TA	27,23	4,14	0,60	15,22	22,16	38,23
KA	27,03	4,24	0,61	15,69	19,98	34,63
GA	26,92	5,00	0,67	18,57	19,89	41,27
CB	26,25	3,24	0,47	12,33	18,63	36,49
SB	16,44 <sup>C</sup>	6,63	1,05	40,34	0,00	26,97
RB	21,40	3,90	0,56	18,23	10,33	28,73
PB	21,16	9,85	1,42	46,56	0,00	35,87
TB	25,99	2,88	0,42	11,08	19,28	34,30
KB	27,49	2,76	0,40	10,05	22,62	34,40
GB	24,72	2,16	0,29	8,72	20,06	28,25
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	25,84	2,62	0,38	10,13	18,54	31,83
SA	10,12 <sup>C</sup>	9,20	1,33	90,93	0,00	25,65
RA	8,90 <sup>C</sup>	7,39	1,07	83,04	0,00	21,75
PA	17,98 <sup>C</sup>	6,74	0,90	37,46	0,00	27,90
TA	25,82	3,09	0,45	11,99	13,41	30,36
KA	23,20	3,12	0,45	13,46	14,33	30,73
GA	22,99	3,89	0,56	16,94	13,31	31,39
CB	24,77	4,46	0,64	18,02	19,07	38,51
SB	19,10	6,90	1,09	36,13	0,00	38,61
RB	20,38	3,93	0,57	19,30	10,87	26,13
PB	18,01 <sup>B</sup>	9,75	1,54	54,12	0,00	30,05
TB	26,08	4,89	0,71	18,75	18,08	39,47
KB	23,75	3,55	0,51	14,93	16,35	34,68
GB	23,10	3,81	0,55	16,49	16,59	30,13
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	26,49	3,03	0,43	11,42	21,19	31,16
SA	10,39 <sup>C</sup>	8,67	1,25	83,47	0,00	25,83
RA	6,20 <sup>C</sup>	7,37	1,06	118,91	0,00	30,48
PA	18,47 <sup>C</sup>	6,89	0,99	37,31	0,00	34,68
TA	26,79	4,28	0,62	15,97	16,00	36,54

KA	22,75	2,63	0,38	11,56	15,88	30,56
GA	22,21	3,45	0,50	15,53	12,53	31,60
CB	25,21	3,06	0,45	12,13	19,28	31,64
SB	19,49 <sup>A</sup>	3,84	0,61	19,73	9,98	25,54
RB	19,87 <sup>A</sup>	3,99	0,91	48,95	9,99	27,02
PB	18,14 <sup>B</sup>	8,63	1,25	47,89	0,00	27,20
TB	25,70	3,22	0,47	12,54	14,09	32,13
KB	25,56	2,39	0,35	9,35	21,83	32,44
GB	24,91	2,41	0,35	9,69	18,66	29,25
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	22,22	3,91	0,69	17,61	15,17	34,44
SA	10,69 <sup>C</sup>	7,18	1,27	67,20	0,00	20,71
RA	5,04 <sup>C</sup>	5,98	1,06	118,61	0,00	17,02
PA	9,15 <sup>C</sup>	6,16	1,09	67,35	0,00	18,14
TA	21,28	2,69	0,48	12,63	13,79	26,25
KA	17,11	3,02	0,53	17,63	9,19	23,76
GA	17,51	2,63	0,47	15,03	11,56	20,84
CB	21,28	3,35	0,59	15,73	10,59	28,21
SB	15,62	6,89	1,22	44,12	0,00	27,71
RB	10,56 <sup>B</sup>	5,17	0,91	48,95	0,00	17,27
PB	15,25	20,74	3,67	136,05	0,00	120,98
TB	21,30	3,58	0,63	16,81	12,78	30,10
KB	18,07	6,12	1,08	33,90	0,00	37,46
GB	18,85	2,95	0,52	15,67	11,24	23,78

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.4:** Krivočiara prejdená vzdialenosť spermii ( $\mu\text{m}$ ) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	49,79	6,84	0,99	13,74	39,98	64,78
SA	30,14 <sup>C</sup>	5,97	0,86	19,81	21,39	42,79
PA	46,51	8,35	1,20	17,95	34,11	71,50
RA	37,77 <sup>C</sup>	7,40	1,07	19,59	28,48	55,52
TA	50,38	12,26	1,77	24,34	35,75	87,22
KA	44,54	8,01	1,16	17,99	32,71	60,59
GA	44,22	5,72	0,83	12,94	34,27	56,22
CB	41,71	5,82	0,84	13,95	31,26	53,34
SB	35,88	3,98	0,57	11,10	29,97	51,64
RB	41,21	6,58	0,95	15,97	28,13	56,18
PB	43,72	4,54	0,66	10,39	33,29	51,68
TB	40,69	4,96	0,72	12,20	33,27	52,01
KB	42,33	7,07	1,02	16,70	29,05	62,24
GB	45,55	10,08	1,45	22,12	32,02	74,37
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	55,57	8,25	1,19	14,84	34,78	73,95
SA	33,11 <sup>C</sup>	5,44	0,79	16,44	15,61	43,93
RA	38,76 <sup>C</sup>	7,60	1,10	19,62	15,77	52,82
PA	40,29 <sup>C</sup>	5,96	0,86	14,79	26,37	49,65
TA	54,79	4,37	0,63	7,97	47,07	69,55
KA	50,23	5,10	0,74	10,15	40,12	64,96
GA	54,58	5,94	0,86	10,88	38,18	66,36
CB	51,03	6,88	0,99	13,48	37,41	65,18
SB	39,43 <sup>C</sup>	4,54	0,65	11,50	32,10	49,62
RB	46,25	6,04	0,87	13,05	34,88	60,85
PB	43,21 <sup>A</sup>	12,61	1,82	29,18	0,00	61,70
TB	55,48	10,08	1,45	18,46	25,75	74,11
KB	52,76	10,47	1,51	19,84	39,16	76,87
GB	55,68	6,69	0,97	12,01	43,16	67,34
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	52,25	8,33	1,20	15,94	34,60	67,74
SA	32,33 <sup>C</sup>	4,38	0,63	13,56	23,36	42,19
RA	35,18 <sup>C</sup>	13,84	2,00	39,34	0,00	61,85
PA	38,87 <sup>C</sup>	5,73	0,83	14,75	24,53	49,05



TA	55,79	7,94	1,15	14,24	43,43	80,13
KA	54,26	5,99	0,90	11,04	41,95	64,71
GA	55,43	5,70	0,82	10,28	43,52	65,86
CB	52,74	8,36	1,21	15,85	29,50	71,83
SB	38,41 <sup>C</sup>	6,30	0,91	16,27	25,57	51,41
RB	45,63	7,50	1,08	16,44	34,27	62,67
PB	42,53 <sup>B</sup>	17,31	2,50	40,70	0,00	73,28
TB	50,60	8,35	1,21	16,50	31,31	66,16
KB	52,21	7,52	1,09	14,41	39,98	71,88
GB	55,32	7,53	1,09	13,61	41,93	73,18
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	52,26	11,99	1,73	22,94	28,38	72,21
SA	30,53 <sup>C</sup>	5,15	0,74	16,86	19,64	39,77
RA	30,86 <sup>C</sup>	10,80	1,56	35,00	0,00	46,61
PA	42,01 <sup>B</sup>	9,87	1,42	23,49	24,26	65,16
TA	56,16	9,39	1,36	16,73	39,74	81,04
KA	55,62	8,87	1,28	15,94	40,89	71,60
GA	56,85	5,44	0,79	9,58	46,99	69,11
CB	46,93	3,96	0,57	8,43	36,62	53,03
SB	38,49	9,47	1,37	24,61	25,86	70,42
RB	41,70	7,24	1,04	17,36	28,91	58,73
PB	37,80 <sup>A</sup>	17,88	2,58	47,30	0,00	75,04
TB	50,95	7,05	1,02	13,85	36,04	66,27
KB	48,87	7,19	1,04	14,71	36,78	61,46
GB	53,91	6,90	1,00	12,79	39,72	66,78
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	51,92	11,03	1,59	21,25	35,56	82,33
SA	30,69 <sup>C</sup>	5,26	0,76	17,15	21,01	40,92
RA	32,71 <sup>C</sup>	13,82	1,99	42,25	0,00	58,99
PA	39,77 <sup>B</sup>	7,84	1,13	19,71	28,52	63,40
TA	52,96	11,07	1,60	20,89	34,10	73,74
KA	52,91	10,01	1,44	18,91	39,31	87,64
GA	54,24	7,41	1,07	13,65	35,49	65,84
CB	47,44	6,82	0,98	14,38	30,48	65,21
SB	39,15 <sup>B</sup>	6,65	0,89	16,99	26,80	55,35
RB	42,72	12,10	1,91	28,33	30,21	72,45
PB	40,82 <sup>A</sup>	18,48	2,67	45,26	0,00	74,45
TB	51,82	10,03	1,45	19,35	35,66	74,72

KB	49,58	7,56	1,09	15,25	38,06	71,80
GB	51,32	7,10	1,03	13,84	35,45	71,98
<b>čas 24 hodiny, teplota 5°C</b>						
CA	54,14	7,80	1,13	14,41	34,83	71,99
SA	18,95 <sup>C</sup>	14,78	2,13	77,99	0,00	47,96
RA	25,82 <sup>C</sup>	15,89	2,29	61,54	0,00	66,69
PA	33,46 <sup>C</sup>	11,91	1,72	35,59	0,00	56,51
TA	53,62	11,68	1,69	21,79	36,83	80,54
KA	50,11	9,59	1,38	19,14	35,38	67,03
GA	53,81	12,03	1,61	22,35	38,08	86,35
CB	51,48	8,47	1,22	16,46	33,71	81,39
SB	28,77 <sup>C</sup>	11,47	1,81	39,86	0,00	45,53
RB	39,51 <sup>A</sup>	9,66	1,39	24,45	14,58	60,66
PB	41,10	20,83	3,01	50,69	0,00	73,72
TB	50,41	8,06	1,16	16,00	35,46	71,53
KB	50,71	6,83	0,99	13,48	37,62	69,22
GB	47,83	6,21	0,83	12,98	36,97	64,58
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	53,24	5,97	0,86	11,22	39,97	65,82
SA	16,86 <sup>C</sup>	15,89	2,29	94,27	0,00	41,12
RA	12,55 <sup>C</sup>	11,14	1,61	88,79	0,00	35,16
PA	29,76 <sup>C</sup>	12,73	1,70	42,78	0,00	52,66
TA	51,12	8,21	1,18	16,05	23,89	65,30
KA	43,95	7,04	1,02	16,01	23,65	64,29
GA	44,70	8,75	1,26	19,58	23,09	66,40
CB	49,82	12,31	1,78	24,70	33,22	83,75
SB	32,46 <sup>C</sup>	13,35	2,11	41,14	0,00	60,56
RB	37,20 <sup>B</sup>	7,94	1,15	21,35	14,97	48,46
PB	33,43 <sup>C</sup>	18,10	2,86	54,15	0,00	56,61
TB	52,55	11,57	1,67	22,01	33,50	83,91
KB	45,35	7,63	1,10	16,81	29,59	71,79
GB	46,10	8,53	1,23	18,51	29,03	63,50
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	54,61	6,05	0,86	11,08	41,85	65,82
SA	18,07 <sup>C</sup>	15,64	2,26	86,57	0,00	42,68
RA	8,76 <sup>C</sup>	10,61	1,53	121,13	0,00	37,14
PA	31,47 <sup>C</sup>	11,69	1,69	37,14	0,00	52,56
TA	54,27	9,72	1,40	17,91	32,53	76,94

KA	44,48 <sup>A</sup>	6,57	0,95	14,76	28,46	59,71
GA	45,58	10,28	1,48	22,54	24,02	74,07
CB	50,75	8,58	1,25	16,91	37,10	70,92
SB	34,68 <sup>C</sup>	9,21	1,46	26,56	13,89	51,37
RB	37,29 <sup>C</sup>	9,04	2,01	63,45	16,06	53,02
PB	33,96 <sup>C</sup>	16,68	2,41	49,12	0,00	53,75
TB	52,14	9,01	1,30	17,28	22,41	74,15
KB	51,45	6,57	0,95	12,77	38,28	70,51
GB	51,70	6,91	1,00	13,36	34,49	64,31
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	40,88	9,51	1,68	23,26	18,65	57,60
SA	20,27 <sup>C</sup>	15,11	2,67	74,57	0,00	43,16
RA	9,90 <sup>C</sup>	12,60	2,23	127,28	0,00	36,72
PA	15,23 <sup>C</sup>	12,63	2,23	82,97	0,00	38,52
TA	40,11	5,79	1,02	14,44	25,88	50,25
KA	32,04	8,44	1,49	26,35	11,93	48,50
GA	32,75	6,10	1,08	18,64	21,81	42,72
CB	39,51	7,45	1,32	18,85	18,11	51,88
SB	29,38	13,66	2,42	46,50	0,00	53,48
RB	17,95 <sup>C</sup>	11,39	2,01	63,45	0,00	42,60
PB	23,93 <sup>A</sup>	24,69	4,36	103,18	0,00	133,97
TB	40,01	8,00	1,41	19,99	20,21	58,26
KB	33,51	11,49	2,03	34,27	0,00	63,48
GB	35,19	6,12	1,08	17,40	18,62	46,26

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.5:** Priamočiara prejdená vzdialenosti spermií ( $\mu\text{m}$ ) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	21,25	2,92	0,42	13,75	16,43	26,54
SA	12,71 <sup>C</sup>	2,11	0,30	16,56	9,23	16,94
RA	16,20 <sup>C</sup>	3,21	0,46	19,81	11,77	25,52
PA	16,63 <sup>C</sup>	2,60	0,38	15,66	12,83	23,06
TA	21,35	7,14	1,03	33,43	13,75	42,80
KA	18,82	3,76	0,54	19,99	11,89	30,23
GA	19,73	4,34	0,63	22,01	13,32	28,03
CB	19,11	2,88	0,42	15,08	12,46	26,16
SB	16,14	2,61	0,38	16,15	12,10	21,51
RB	18,36	2,52	0,36	13,72	13,27	23,90
PB	17,78	2,08	0,30	11,72	12,46	22,24
TB	17,66	1,98	0,29	11,23	13,82	23,77
KB	18,59	3,09	0,45	16,65	14,69	27,92
GB	21,28	5,54	0,80	26,03	14,19	34,82
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	22,09	3,17	0,46	14,33	15,43	29,79
SA	11,80 <sup>C</sup>	2,34	0,34	19,86	5,60	17,41
RA	16,12 <sup>C</sup>	2,67	0,39	16,56	7,97	22,00
PA	14,66 <sup>C</sup>	1,86	0,27	12,71	7,26	17,54
TA	20,74	2,89	0,42	13,95	16,12	28,03
KA	18,74 <sup>C</sup>	2,20	0,32	11,72	14,74	23,55
GA	21,18	2,40	0,35	11,32	16,81	26,25
CB	20,76	2,63	0,38	12,67	14,56	26,36
SB	16,28 <sup>C</sup>	2,65	0,38	16,30	12,69	23,93
RB	19,06	2,18	0,31	11,43	15,13	24,15
PB	16,68 <sup>C</sup>	4,50	0,65	26,97	0,00	23,67
TB	21,17	2,40	0,35	11,34	11,69	24,43
KB	20,86	3,49	0,50	16,71	15,66	29,81
GB	20,38	2,07	0,30	10,14	15,82	24,37
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	21,23	2,62	0,38	12,33	16,11	27,68
SA	11,74 <sup>C</sup>	2,17	0,31	18,53	7,61	16,10
RA	13,97 <sup>C</sup>	4,99	0,72	35,73	0,00	22,62
PA	14,84 <sup>C</sup>	1,81	0,26	12,23	10,81	18,58

TA	20,32	2,06	0,30	10,16	17,11	24,69
KA	19,10	1,48	0,22	7,76	15,80	23,62
GA	19,62	1,69	0,24	8,61	14,34	23,35
CB	21,09	2,33	0,34	11,04	15,49	26,25
SB	15,10 <sup>C</sup>	3,04	0,44	20,14	10,18	23,18
RB	19,47	1,80	0,26	9,23	15,77	23,81
PB	16,31 <sup>C</sup>	5,43	0,78	33,30	0,00	23,37
TB	19,97	2,67	0,39	13,36	13,27	24,90
KB	21,45	2,97	0,43	13,83	14,99	27,15
GB	20,76	2,18	0,31	10,50	17,26	26,33
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	20,16	3,79	0,55	18,79	12,17	27,95
SA	10,54 <sup>C</sup>	2,37	0,34	22,50	6,55	14,79
RA	11,98 <sup>C</sup>	3,69	0,53	30,80	0,00	19,12
PA	15,47 <sup>C</sup>	2,43	0,35	15,72	10,74	21,34
TA	21,72	2,48	0,36	11,42	16,09	26,42
KA	19,61	1,98	0,29	10,11	15,57	23,70
GA	20,46	1,64	0,24	8,03	17,49	24,70
CB	19,77	1,71	0,25	8,67	16,63	24,57
SB	13,61 <sup>C</sup>	2,72	0,39	19,98	8,68	19,41
RB	17,71	1,95	0,28	10,99	14,00	22,43
PB	14,73 <sup>C</sup>	6,06	0,87	41,12	0,00	23,01
TB	21,29	2,29	0,33	10,73	16,19	25,83
KB	20,16	3,93	0,57	19,49	14,63	30,74
GB	20,17	1,71	0,25	8,46	17,26	24,85
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	21,29	2,88	0,42	13,51	16,05	27,70
SA	9,74 <sup>C</sup>	2,60	0,37	26,67	5,09	15,03
RA	12,16 <sup>C</sup>	4,22	0,61	34,67	0,00	16,88
PA	14,87 <sup>C</sup>	2,44	0,35	16,38	10,53	20,73
TA	21,26	4,02	0,58	18,90	14,15	29,73
KA	19,45	2,06	0,30	10,60	13,64	25,71
GA	19,94	2,91	0,42	14,61	14,10	26,26
CB	19,35	2,42	0,35	12,50	13,90	24,53
SB	13,81 <sup>C</sup>	3,19	0,43	23,10	7,09	20,69
RB	17,19	3,23	0,51	18,78	13,14	27,43
PB	15,86 <sup>C</sup>	6,19	0,89	39,02	0,00	23,80
TB	21,27	2,63	0,38	12,34	14,68	27,86

KB	20,03	2,78	0,40	13,87	15,52	26,52
GB	19,72	1,80	0,26	9,13	14,67	23,92
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	18,40	2,43	0,35	13,21	12,81	24,26
SA	7,66 <sup>C</sup>	5,63	0,81	73,48	0,00	18,42
RA	9,64 <sup>C</sup>	5,58	0,80	57,87	0,00	29,74
PA	12,08 <sup>C</sup>	3,50	0,51	29,01	0,00	19,42
TA	17,53	2,37	0,34	13,50	13,81	22,71
KA	16,83	1,62	0,23	9,64	13,52	20,56
GA	16,59	2,15	0,29	12,96	10,68	21,86
CB	18,19	2,03	0,29	11,17	12,65	21,60
SB	11,17 <sup>C</sup>	4,81	0,76	43,01	0,00	22,82
RB	14,28 <sup>B</sup>	2,52	0,36	17,67	7,52	19,79
PB	13,87 <sup>C</sup>	6,09	0,88	43,89	0,00	21,28
TB	17,21	1,90	0,27	11,07	12,01	20,54
KB	17,47	2,52	0,36	14,43	12,61	22,36
GB	15,92	1,15	0,15	7,22	12,77	19,36
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	16,54	1,46	0,21	8,84	13,86	19,62
SA	6,67 <sup>C</sup>	5,91	0,85	88,59	0,00	17,40
RA	6,27 <sup>C</sup>	5,02	0,72	80,07	0,00	15,13
PA	11,36 <sup>C</sup>	3,95	0,53	34,76	0,00	17,05
TA	16,01	1,89	0,27	11,80	9,99	20,53
KA	15,36	2,03	0,29	13,21	9,76	19,72
GA	14,64	2,00	0,29	13,65	9,68	18,14
CB	16,33	2,43	0,35	14,89	12,08	24,36
SB	11,45 <sup>C</sup>	3,43	0,54	29,93	0,00	18,31
RB	12,97 <sup>A</sup>	2,43	0,35	18,76	7,56	17,54
PB	11,15 <sup>C</sup>	5,96	0,94	53,42	0,00	18,88
TB	16,66	2,81	0,41	16,88	11,03	22,53
KB	15,92	2,20	0,32	13,78	12,25	24,60
GB	15,03	2,18	0,31	14,49	11,00	19,78
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	16,70	1,75	0,25	10,47	12,90	20,64
SA	6,88 <sup>C</sup>	5,80	0,84	84,33	0,00	18,80
RA	4,28 <sup>C</sup>	4,67	0,67	109,18	0,00	12,42
PA	11,70 <sup>C</sup>	3,54	0,51	30,29	0,00	18,74
TA	16,13	2,76	0,40	17,08	7,13	20,67

KA	15,29	1,28	0,18	8,34	12,26	18,56
GA	13,93	1,91	0,28	13,71	8,61	18,26
SB	12,70 <sup>A</sup>	2,14	0,34	16,86	7,93	16,89
RB	12,21 <sup>C</sup>	2,67	0,70	48,57	6,33	18,30
PB	11,67 <sup>C</sup>	5,52	0,80	47,28	0,00	17,34
TB	16,69	2,06	0,30	12,32	9,89	20,16
KB	17,46	2,14	0,31	12,28	13,24	23,16
GB	15,66	1,50	0,22	9,55	11,34	18,31
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	13,22	2,32	0,41	17,54	6,93	17,72
SA	7,48	4,86	0,86	64,91	0,00	16,45
RA	4,15 <sup>B</sup>	4,97	0,88	119,77	0,00	15,78
PA	7,03	4,43	0,78	62,95	0,00	11,97
TA	13,71	1,68	0,30	12,28	9,51	18,92
KA	11,51	2,52	0,44	21,86	6,49	17,29
GA	11,79	1,73	0,31	14,69	6,48	15,04
CB	13,55	1,94	0,34	14,35	7,39	18,22
SB	10,08	4,83	0,85	47,97	0,00	20,89
RB	8,11	3,94	0,70	48,57	0,00	13,94
PB	11,67	19,75	3,49	169,28	0,00	115,92
TB	14,22	2,69	0,47	18,90	6,45	21,33
KB	12,08	3,91	0,69	32,33	0,00	22,51
GB	12,05	1,74	0,31	14,45	8,27	15,08

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.6:** Priemerná dráhová rýchlosť spermíí ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	67,01	7,55	1,09	11,26	55,51	82,38
SA	39,43 <sup>C</sup>	7,87	1,14	19,96	29,45	56,35
RA	47,97 <sup>C</sup>	6,21	0,90	12,95	36,68	64,00
PA	57,66 <sup>A</sup>	9,11	1,32	15,81	42,65	85,90
TA	65,86	16,67	2,41	25,30	45,73	113,78
KA	61,67	10,36	1,50	16,80	47,52	93,24
GA	60,62	9,49	1,37	15,65	45,03	78,46
CB	58,26	6,53	0,94	11,21	41,43	70,44
SB	47,89 <sup>B</sup>	4,55	0,66	9,50	40,13	61,25
RB	53,63	4,89	0,71	9,12	39,99	65,09
PB	57,07	5,57	0,80	9,76	39,69	68,14
TB	55,90	5,05	0,73	9,03	46,59	68,29
KB	59,56	9,47	1,37	15,90	50,79	88,74
GB	63,41	12,90	1,86	20,35	45,30	94,96
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	69,97	7,34	1,06	10,50	54,23	86,74
SA	39,23 <sup>C</sup>	6,59	0,95	16,80	26,81	53,14
RA	48,69 <sup>C</sup>	8,19	1,18	16,82	20,93	64,49
PA	50,21 <sup>C</sup>	5,86	0,85	11,66	31,63	61,63
TA	67,27	5,08	0,73	7,55	56,37	78,92
KA	63,66	5,05	0,73	7,93	53,50	74,73
GA	67,65	5,84	0,84	8,63	56,99	83,04
CB	64,68	6,17	0,89	9,54	47,99	80,19
SB	49,60 <sup>C</sup>	6,50	0,94	13,10	40,75	65,47
RB	57,02 <sup>A</sup>	4,92	0,71	8,64	46,36	71,45
PB	54,44 <sup>C</sup>	14,36	2,07	26,38	0,00	68,62
TB	69,70	9,48	1,37	13,60	33,98	88,61
KB	66,49	9,12	1,32	13,72	52,97	89,27
GB	67,48	6,37	0,92	9,44	54,40	79,36
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	65,80	7,50	1,08	11,39	47,90	83,01
SA	38,59 <sup>C</sup>	7,38	1,06	19,12	24,89	54,59
RA	43,69 <sup>C</sup>	14,50	2,09	33,19	0,00	65,02
PA	49,79 <sup>C</sup>	5,89	0,85	11,83	31,44	61,90



TA	67,57	6,99	1,01	10,35	55,13	86,13
KA	66,05	14,30	0,89	8,93	55,66	77,50
GA	65,89	5,41	0,78	8,21	51,65	76,20
CB	64,25	6,85	0,99	10,67	43,96	79,40
SB	46,85 <sup>C</sup>	7,75	1,12	16,54	33,75	62,08
RB	55,89	5,61	0,81	10,03	47,51	69,63
PB	52,05 <sup>C</sup>	18,04	2,60	34,67	0,00	77,72
TB	63,56	8,95	1,29	14,08	44,98	85,04
KB	65,71	7,21	1,04	10,98	50,68	89,27
GB	66,83	7,76	1,12	11,62	52,97	87,76
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	63,77	13,60	1,96	21,32	34,41	85,28
SA	34,97 <sup>C</sup>	8,12	1,17	23,21	22,62	51,06
RA	38,26 <sup>C</sup>	13,04	1,88	34,08	0,00	62,86
PA	50,92 <sup>C</sup>	8,09	1,17	15,88	36,53	67,99
TA	68,43	8,43	1,22	12,32	53,15	88,05
KA	65,67	7,38	1,07	11,24	52,49	83,97
GA	67,26	4,52	0,65	6,72	60,08	76,66
CB	59,89	3,53	0,51	5,89	49,98	65,07
SB	43,13 <sup>C</sup>	9,37	1,35	21,73	26,99	58,37
RB	50,89	6,36	0,92	12,50	38,58	63,63
PB	46,28 <sup>C</sup>	19,40	2,80	41,92	0,00	68,77
TB	63,66	7,37	1,06	11,58	48,94	78,54
KB	61,60	8,32	1,20	13,51	46,88	76,13
GB	64,54	6,16	0,89	9,94	48,82	76,47
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	65,03	9,13	1,32	14,03	49,03	86,58
SA	33,07 <sup>C</sup>	8,20	1,18	24,79	22,10	51,43
RA	38,41 <sup>C</sup>	13,60	1,96	35,40	0,00	54,56
PA	48,68 <sup>C</sup>	8,18	1,18	16,81	36,10	67,50
TA	64,98	10,75	1,55	16,54	42,08	82,01
KA	62,53	7,85	1,13	12,56	46,74	85,38
GA	64,61	7,78	1,12	12,04	44,36	77,60
CB	58,08	5,81	0,84	10,00	44,16	69,96
SB	43,65 <sup>C</sup>	9,61	1,28	22,02	23,32	59,21
RB	49,26	8,54	1,35	17,34	36,07	72,08
PB	48,23 <sup>A</sup>	18,09	2,61	37,51	0,00	70,54
TB	63,56	8,17	1,18	12,86	48,52	86,05

KB	59,92	5,64	0,81	9,41	51,25	72,54
GB	61,65	7,08	1,02	11,48	47,98	76,38
<b>čas 24 hodiny, teplota 5°C</b>						
CA	64,61	8,34	1,20	12,91	45,90	82,36
SA	26,42 <sup>C</sup>	20,03	2,89	75,81	0,00	63,43
RA	34,21 <sup>C</sup>	19,37	2,80	56,63	0,00	82,33
PA	45,97 <sup>C</sup>	13,03	1,88	28,35	0,00	72,58
TA	63,43	9,58	1,38	15,10	49,24	86,75
KA	63,61	9,55	1,38	15,02	48,27	78,46
GA	62,69	11,51	1,54	18,37	46,30	99,15
CB	60,81	6,74	0,97	11,09	47,05	79,06
SB	37,88 <sup>C</sup>	15,47	2,45	40,84	0,00	64,23
RB	49,44	8,84	1,28	17,87	24,23	63,94
PB	48,69	22,62	3,26	46,45	0,00	81,49
TB	60,49	6,46	0,93	10,69	45,10	79,64
KB	63,44	6,19	0,89	9,76	51,08	78,16
GB	57,74	5,00	0,67	8,65	46,36	67,52
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	60,39	6,56	0,95	10,87	43,45	75,14
SA	22,72 <sup>C</sup>	20,69	2,99	91,07	0,00	53,08
RA	21,51 <sup>C</sup>	17,80	2,57	82,72	0,00	50,67
PA	42,51 <sup>C</sup>	15,92	2,13	37,46	0,00	64,22
TA	59,70	7,36	1,06	12,33	30,25	71,36
KA	53,54	7,36	1,06	13,74	32,18	68,79
GA	53,13	9,71	1,40	18,28	29,18	71,13
CB	57,76	10,68	1,54	18,48	44,89	91,61
SB	43,47 <sup>A</sup>	14,30	2,26	32,90	0,00	79,89
RB	47,33	8,92	1,29	18,84	25,93	62,34
PB	41,61 <sup>B</sup>	22,82	3,61	54,84	0,00	69,14
TB	60,35	11,57	1,67	19,17	41,80	91,26
KB	54,66	8,12	1,17	14,85	38,64	77,96
GB	53,68	9,23	1,33	17,19	38,91	70,42
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	61,85	7,66	1,09	12,39	46,45	74,87
SA	23,61 <sup>C</sup>	19,42	2,80	82,27	0,00	53,45
RA	14,71 <sup>C</sup>	17,09	2,47	116,19	0,00	63,07
PA	42,32 <sup>C</sup>	15,46	2,23	36,53	0,00	80,91
TA	62,69	9,91	1,43	15,80	34,98	85,34

KA	52,88	6,57	0,95	12,42	35,31	71,76
GA	51,04	8,38	1,21	16,42	29,15	74,53
CB	57,97	7,01	1,02	12,08	44,14	71,91
SB	44,57 <sup>B</sup>	8,68	1,37	19,49	24,54	60,69
RB	46,31 <sup>A</sup>	8,50	2,42	50,71	28,85	61,87
PB	41,55 <sup>C</sup>	19,77	2,85	47,57	0,00	64,18
TB	59,70	7,53	1,09	12,61	33,59	71,44
KB	58,25	5,33	0,77	9,15	48,98	77,19
GB	57,43	6,12	0,88	10,65	43,70	67,86
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	50,89	9,52	1,68	18,72	32,15	75,40
SA	25,99 <sup>C</sup>	16,82	2,97	64,70	0,00	46,30
RA	12,61 <sup>C</sup>	15,13	2,67	120,04	0,00	42,56
PA	22,40 <sup>C</sup>	14,63	2,59	65,33	0,00	46,48
TA	49,80	5,79	1,02	11,63	31,37	62,88
KA	39,62	5,95	1,05	15,02	28,27	51,94
GA	40,53	5,33	0,94	13,16	27,86	49,26
CB	49,24	7,64	1,35	15,52	23,19	71,64
SB	35,50	15,70	2,77	44,21	0,00	62,87
RB	26,97 <sup>B</sup>	13,68	2,42	50,71	0,00	53,87
PB	35,11	43,31	7,66	123,37	0,00	250,31
TB	48,29	7,17	1,27	14,85	31,96	62,70
KB	41,12	15,71	2,78	38,20	0,00	102,16
GB	44,26	7,20	1,27	16,28	25,87	56,41

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.7:** Krivočiarová rýchlosť spermíí ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	117,44	15,99	2,31	13,62	96,49	152,98
SA	68,52 <sup>C</sup>	14,94	2,16	21,80	46,29	100,85
RA	86,73 <sup>C</sup>	14,58	2,10	16,81	68,20	121,74
PA	107,77	18,90	2,73	17,54	78,31	168,50
TA	117,69	28,69	4,14	24,38	83,86	199,35
KA	104,74	18,73	2,70	17,88	79,00	146,47
GA	103,75	13,73	1,98	13,23	78,49	131,98
CB	98,00	13,75	1,98	14,03	75,62	128,84
SB	82,23	7,91	1,14	9,62	70,51	112,29
RB	94,94	13,61	1,96	14,33	66,25	130,07
PB	102,42	10,82	1,56	10,57	75,25	121,13
TB	95,38	10,97	1,58	11,51	77,18	120,28
KB	99,52	17,86	2,58	17,94	68,34	154,53
GB	106,16	23,31	3,37	21,96	70,00	165,96
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	131,04	19,90	2,87	15,19	82,61	183,84
SA	74,06 <sup>C</sup>	11,90	1,72	16,07	44,96	97,36
RA	88,60 <sup>C</sup>	17,51	2,53	19,77	34,24	122,72
PA	93,53 <sup>C</sup>	13,18	1,90	14,09	62,06	118,02
TA	128,73	10,55	1,52	8,19	110,55	158,95
KA	119,74	11,82	1,71	9,87	93,32	149,29
GA	128,01	14,28	2,06	11,16	85,54	159,12
CB	119,72	16,66	2,40	13,92	83,68	154,06
SB	90,15 <sup>C</sup>	9,97	1,44	11,06	74,41	113,29
RB	107,42	13,96	2,02	13,00	81,38	140,13
PB	101,02 <sup>A</sup>	29,04	4,19	28,75	0,00	140,51
TB	130,41	24,27	3,50	18,61	57,49	173,91
KB	124,10	22,45	3,24	18,09	93,26	177,04
GB	131,24	15,42	2,23	11,75	102,57	158,51
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	121,44	19,19	2,77	15,80	80,60	161,55
SA	71,92 <sup>C</sup>	11,10	1,60	15,43	50,36	98,68
RA	80,45 <sup>C</sup>	29,70	4,29	36,92	0,00	135,08
PA	89,62 <sup>C</sup>	13,37	1,93	14,92	51,85	115,71

TA	130,92	17,62	2,54	13,46	104,89	178,81
KA	127,44	14,30	2,16	11,22	98,36	149,63
GA	130,07	13,62	1,97	10,47	104,63	153,26
CB	121,54	18,41	2,66	15,15	70,77	159,07
SB	87,50 <sup>C</sup>	13,93	2,01	15,91	61,44	114,09
RB	104,04	17,09	2,47	16,43	81,49	143,53
PB	99,09 <sup>B</sup>	39,89	5,76	40,25	0,00	168,42
TB	118,43	20,49	2,96	17,30	77,75	161,01
KB	121,20	17,29	2,50	14,27	92,04	187,52
GB	128,43	18,48	2,67	14,39	94,46	171,35
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	121,32	27,93	4,03	23,02	64,56	165,01
SA	67,70 <sup>C</sup>	12,66	1,83	18,70	44,27	92,92
RA	70,28 <sup>C</sup>	25,16	3,63	35,81	0,00	105,22
PA	95,51 <sup>C</sup>	21,33	3,08	22,33	59,07	145,64
TA	130,17	21,16	3,05	16,25	95,33	183,50
KA	130,65	21,20	3,06	16,22	96,82	171,34
GA	132,23	12,29	1,77	9,29	110,35	157,54
CB	109,07	9,90	1,43	9,08	83,65	125,81
SB	86,01 <sup>B</sup>	21,17	3,06	24,62	56,81	151,10
RB	94,11	15,14	2,19	16,09	65,03	128,60
PB	88,03 <sup>A</sup>	41,05	5,93	46,64	0,00	167,66
TB	117,20	16,02	2,31	13,67	85,36	150,18
KB	113,22	15,74	2,27	13,90	85,97	143,38
GB	124,83	16,29	2,35	13,05	88,91	155,90
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	119,93	24,49	3,54	20,42	83,79	185,05
SA	67,76 <sup>C</sup>	12,56	1,81	18,53	46,87	92,00
RA	73,89 <sup>C</sup>	30,15	4,35	40,81	0,00	130,30
PA	90,65	18,49	2,67	20,39	67,25	146,98
TA	122,35 <sup>C</sup>	24,96	3,60	20,40	75,91	166,89
KA	123,44	24,27	3,50	19,66	90,50	206,03
GA	126,91	17,81	2,57	14,04	82,27	154,05
CB	109,41	15,28	2,20	13,96	72,08	154,83
SB	88,38	16,07	2,15	18,19	55,81	129,34
RB	96,47	25,16	3,98	26,08	72,00	154,52
PB	92,51	39,84	5,75	43,07	0,00	168,17
TB	119,21	22,51	3,25	18,88	81,01	172,64

KB	114,29	16,61	2,40	14,53	90,37	157,82
GB	118,89	16,96	2,45	14,27	80,34	166,72
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	127,37	18,85	2,72	14,80	80,88	168,11
SA	43,44 <sup>C</sup>	33,18	4,79	76,37	0,00	103,69
RA	58,37 <sup>C</sup>	35,62	5,14	61,02	0,00	142,91
PA	76,88 <sup>C</sup>	26,20	3,78	34,08	0,00	131,08
TA	124,24	26,15	3,77	21,04	86,92	183,19
KA	117,37	21,92	3,16	18,68	85,20	158,52
GA	124,64	27,09	3,62	21,74	89,24	209,90
CB	118,66	17,21	2,48	14,51	80,23	174,97
SB	65,82 <sup>C</sup>	26,18	4,14	39,77	0,00	103,91
RB	90,41	20,67	2,98	22,86	34,19	134,85
PB	94,11 <sup>A</sup>	47,60	6,87	50,58	0,00	168,42
TB	116,70	17,19	2,48	14,73	82,33	161,11
KB	116,53	15,29	2,21	13,12	90,94	152,51
GB	111,25	13,67	1,83	12,29	85,91	147,51
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	123,84	14,20	2,05	11,47	92,98	151,45
SA	37,64 <sup>C</sup>	35,41	5,11	94,08	0,00	92,11
RA	29,81 <sup>C</sup>	25,82	3,73	86,63	0,00	80,94
PA	69,73 <sup>C</sup>	29,39	3,93	42,15	0,00	120,61
TA	117,55	18,15	2,62	15,44	54,81	147,74
KA	100,97	15,87	2,29	15,72	52,81	144,32
GA	102,68	20,86	3,01	20,31	50,91	149,02
CB	115,33	27,70	4,00	24,02	77,22	189,21
SB	73,46 <sup>C</sup>	27,87	4,41	37,93	0,00	125,30
RB	85,81 <sup>B</sup>	17,84	2,58	20,79	39,60	116,78
PB	76,67 <sup>C</sup>	41,53	6,57	54,17	0,00	130,55
TB	120,98	25,86	3,73	21,38	82,61	188,06
KB	104,02	16,98	2,45	16,33	71,44	159,91
GB	106,70	20,28	2,93	19,01	68,42	147,24
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	126,91	14,71	2,10	11,59	95,23	157,58
SA	40,54 <sup>C</sup>	34,27	4,95	84,53	0,00	88,31
RA	20,61 <sup>C</sup>	24,59	3,55	119,28	0,00	76,85
PA	71,58 <sup>C</sup>	26,01	3,75	36,34	0,00	117,65
TA	126,34	22,04	3,18	17,44	71,58	179,17

KA	102,91 <sup>A</sup>	15,54	2,24	15,10	62,57	138,70
GA	104,17 <sup>A</sup>	24,02	3,47	23,06	54,72	172,29
CB	116,13	18,11	2,64	15,59	88,10	153,82
SB	78,91 <sup>C</sup>	20,58	3,25	26,08	33,44	118,83
RB	86,05 <sup>C</sup>	19,49	4,71	59,50	43,53	117,57
PB	77,34 <sup>C</sup>	37,58	5,42	48,60	0,00	119,56
TB	120,48	19,58	2,83	16,25	52,79	160,58
KB	116,59	13,22	1,91	11,34	90,31	157,18
GB	118,51	16,34	2,36	13,79	77,13	154,15
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	93,56	23,22	4,10	24,81	39,25	135,40
SA	48,15	33,87	5,99	70,35	0,00	95,99
RA	24,12	30,22	5,34	125,33	0,00	81,35
PA	36,51	29,03	5,13	79,52	0,00	90,65
TA	93,32	12,09	2,14	12,96	57,65	118,07
KA	73,40	17,61	3,11	24,00	36,58	105,98
GA	75,15	12,59	2,23	16,76	51,56	91,99
CB	90,77	15,94	2,82	17,56	39,70	123,77
SB	66,47	31,08	5,49	46,75	0,00	119,90
RB	44,74	26,62	4,71	59,50	0,00	101,36
PB	55,00	52,55	9,29	95,55	0,00	277,19
TB	90,32	16,36	2,89	18,11	50,53	125,08
KB	75,63	28,14	4,97	37,21	0,00	173,13
GB	82,09	14,51	2,56	17,67	42,27	102,15

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.8:** Priama dráhová rýchlosť spermíí ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	50,43	7,01	1,01	13,89	39,57	62,36
SA	29,05 <sup>C</sup>	5,50	0,79	18,92	20,70	40,56
RA	37,39 <sup>C</sup>	6,33	0,91	16,92	26,98	56,45
PA	38,75 <sup>C</sup>	5,85	0,84	15,09	29,76	51,54
TA	49,97	16,49	2,38	33,00	31,75	97,98
KA	44,43	8,87	1,28	19,97	26,24	72,05
GA	46,65	10,58	1,53	22,69	30,93	66,62
CB	45,26	7,01	1,01	15,49	28,16	58,83
SB	37,25	5,50	0,79	14,77	27,81	47,91
RB	42,56	5,10	0,74	11,99	31,18	53,12
PB	41,85 <sup>C</sup>	5,33	0,77	12,75	28,24	54,90
TB	41,83	4,31	0,62	10,30	32,30	54,12
KB	43,94	7,74	1,12	17,62	33,66	66,67
GB	49,95	12,96	1,87	25,94	32,87	81,29
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	52,20	7,39	1,07	14,17	37,12	69,91
SA	26,64 <sup>C</sup>	5,34	0,77	20,05	11,99	40,09
RA	37,01 <sup>C</sup>	6,00	0,87	16,20	17,39	48,58
PA	34,20 <sup>C</sup>	4,32	0,62	12,62	17,30	42,17
TA	48,78	6,41	0,93	13,14	36,25	65,36
KA	44,78 <sup>B</sup>	4,86	0,70	10,85	35,29	55,90
GA	49,78	5,36	0,77	10,77	39,96	63,20
CB	48,86	5,85	0,84	11,97	34,70	61,14
SB	37,41 <sup>C</sup>	5,84	0,84	15,61	29,84	53,98
RB	44,42	4,76	0,69	10,71	35,34	55,65
PB	39,32 <sup>C</sup>	10,33	1,49	26,27	0,00	52,88
TB	49,90	5,54	0,80	11,09	26,53	58,13
KB	49,42	7,65	1,10	15,48	37,55	69,36
GB	48,23	4,67	0,67	9,68	36,70	57,82
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	49,48	5,64	0,81	11,39	37,65	64,19
SA	26,28 <sup>C</sup>	5,61	0,81	21,35	16,11	37,75
RA	32,33 <sup>C</sup>	10,88	1,57	33,66	0,00	49,68
PA	34,43 <sup>C</sup>	4,20	0,61	12,20	22,71	43,10



TA	47,95	4,56	0,66	9,52	41,36	58,99
KA	44,92	3,42	0,52	7,61	37,11	53,64
GA	46,08	4,13	0,60	8,95	34,57	54,13
CB	48,71	4,79	0,69	9,83	36,52	59,43
SB	34,27 <sup>C</sup>	6,72	0,97	19,60	24,71	50,99
RB	44,52	3,94	0,57	8,84	38,18	53,95
PB	38,19 <sup>C</sup>	12,61	1,82	33,01	0,00	54,92
TB	46,90	5,73	0,83	12,21	33,29	57,80
KB	49,78	6,29	0,91	12,63	34,74	62,13
GB	48,25	5,20	0,75	10,79	39,50	65,85
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	46,86	8,85	1,28	18,88	27,94	67,70
SA	23,56 <sup>C</sup>	5,83	0,84	24,76	13,79	34,66
RA	27,57 <sup>C</sup>	9,44	1,36	34,22	0,00	56,43
PA	35,42 <sup>C</sup>	5,19	0,75	14,65	25,43	46,94
TA	50,54	5,84	0,84	11,56	37,43	63,03
KA	46,23	4,81	0,69	10,41	36,29	62,64
GA	47,74	3,27	0,47	6,84	41,97	54,90
CB	46,16	3,63	0,52	7,86	38,87	55,26
SB	30,67 <sup>C</sup>	6,78	0,98	22,11	19,71	45,63
RB	40,13	4,30	0,62	10,71	30,89	49,65
PB	34,51 <sup>C</sup>	14,01	2,02	40,59	0,00	53,04
TB	48,95	4,69	0,68	9,58	38,91	57,74
KB	46,67	8,33	1,20	17,85	34,73	66,84
GB	46,72	3,79	0,55	8,10	38,29	54,54
<b>čas 4 hodiny, teplota 5°C</b>						
CA	49,35	6,21	0,90	12,59	37,08	62,70
SA	21,82 <sup>C</sup>	6,33	0,91	29,01	10,54	34,59
RA	27,83 <sup>C</sup>	9,38	1,35	33,70	0,00	37,37
PA	34,04 <sup>C</sup>	5,70	0,82	16,73	24,96	47,85
TA	49,25	8,78	1,27	17,84	31,20	67,51
KA	45,33	5,12	0,74	11,29	29,64	60,95
GA	46,77	6,93	1,00	14,82	32,90	63,33
CB	44,80	5,26	0,76	11,74	33,08	59,58
SB	31,42 <sup>C</sup>	7,73	1,03	24,61	14,75	47,19
RB	39,07	6,62	1,05	19,94	29,60	60,18
PB	36,31 <sup>B</sup>	13,32	1,92	36,68	0,00	55,04
TB	49,10	5,67	0,82	11,55	35,52	64,52

KB	46,44	5,92	0,85	12,75	36,91	58,44
GB	45,84	3,80	0,55	8,29	34,57	53,96
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	45,53	5,58	0,81	12,82	30,28	58,40
SA	17,99 <sup>C</sup>	13,25	1,91	73,65	0,00	48,06
RA	21,98 <sup>C</sup>	12,63	1,82	57,47	0,00	63,72
PA	28,26 <sup>C</sup>	8,06	1,16	28,52	0,00	43,19
TA	40,82	5,00	0,72	12,26	30,63	50,80
KA	39,71	3,70	0,53	9,31	31,99	48,07
GA	38,68	5,02	0,67	12,97	23,79	55,05
CB	42,20	4,29	0,62	10,16	31,77	50,30
SB	25,81 <sup>C</sup>	11,35	1,80	43,99	0,00	54,15
RB	33,01 <sup>B</sup>	5,53	0,80	16,75	17,09	44,72
PB	32,11 <sup>C</sup>	13,90	2,01	43,43	0,00	49,70
TB	40,05	4,02	0,58	10,04	27,96	48,05
KB	40,22	5,17	0,75	12,86	29,85	49,72
GB	37,21	2,71	0,36	7,27	29,76	44,30
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	38,55	3,37	0,49	8,75	32,55	45,15
SA	15,02 <sup>C</sup>	13,39	1,93	89,16	0,00	36,00
RA	15,41 <sup>C</sup>	12,79	1,85	82,99	0,00	47,85
PA	27,02 <sup>C</sup>	9,67	1,29	35,80	0,00	46,48
TA	37,08	4,26	0,61	11,49	22,65	47,91
KA	35,48	4,73	0,68	13,33	22,08	45,68
GA	33,81	5,17	0,75	15,28	22,04	42,60
CB	38,01	5,45	0,79	14,35	28,02	54,97
SB	26,34 <sup>C</sup>	7,89	1,25	29,97	0,00	43,96
RB	30,29	5,77	0,83	19,06	17,83	39,99
PB	25,66 <sup>C</sup>	13,82	2,19	53,86	0,00	42,96
TB	38,58	6,46	0,93	16,75	25,40	50,84
KB	36,53	4,79	0,69	13,13	29,08	56,48
GB	34,93	5,22	0,75	14,95	25,61	46,85
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	39,04	4,25	0,61	10,89	31,12	48,25
SA	15,77 <sup>C</sup>	13,22	0,79	17,10	0,00	38,90
RA	10,37 <sup>C</sup>	11,41	1,65	110,11	0,00	29,38
PA	26,87 <sup>C</sup>	7,98	1,15	29,69	0,00	40,57
TA	37,83	6,32	0,91	16,70	17,84	48,54

KA	35,53	3,01	0,43	8,48	27,28	43,89
GA	32,04	4,29	0,62	13,39	20,26	41,68

CB	37,06	3,58	0,52	9,66	29,66	48,98
SB	29,10 <sup>A</sup>	4,97	1,91	83,81	17,83	40,68
RB	28,77 <sup>B</sup>	5,95	1,92	51,90	14,96	42,40
PB	26,80 <sup>C</sup>	12,70	1,83	47,38	0,00	41,02
TB	38,68	4,31	0,62	11,13	24,04	44,76
KB	39,72	4,35	0,63	10,94	30,13	52,12
GB	36,10	3,57	0,52	9,90	26,01	42,31

**čas 168 hodín, teplota 5°C**

CA	30,46	6,03	1,07	19,80	14,54	42,14
SA	18,30	11,65	2,06	63,65	0,00	34,04
RA	10,46 <sup>B</sup>	12,78	2,26	122,19	0,00	39,46
PA	17,48	10,88	1,92	62,25	0,00	28,04
TA	32,24	3,68	0,65	11,43	21,96	40,73
KA	26,75	5,43	0,96	20,31	14,47	37,70
GA	27,45	3,48	0,62	12,68	17,06	33,44
CB	31,41	4,37	0,77	13,90	16,26	44,04
SB	23,01	10,95	1,94	47,58	0,00	47,53
RB	20,87	10,83	1,92	51,90	0,00	45,00
PB	26,68	40,95	7,24	153,47	0,00	239,84
TB	32,31	5,57	0,98	17,23	16,13	44,46
KB	27,54	9,77	1,73	35,47	0,00	61,41
GB	28,46	4,47	0,79	15,70	19,13	38,32

**C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);**

**S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;**

**A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>**

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A – p<0,05; B – p<0,01; C – p<0,001**

**x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient**

**Tabuľka č. 4.9:** Priamosť pohybu spermíí s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	0,75	0,04	0,01	5,99	0,66	0,85
SA	0,73	0,03	0,00	4,56	0,65	0,82
RA	0,77	0,04	0,01	5,44	0,69	0,88
PA	0,67	0,05	0,01	7,30	0,53	0,77
TA	0,74	0,06	0,01	7,45	0,67	0,89
KA	0,71	0,07	0,01	9,52	0,44	0,85
GA	0,76	0,07	0,01	8,62	0,566	0,87
CB	0,77	0,07	0,01	9,08	0,64	0,89
SB	0,77	0,06	0,01	7,80	0,64	0,89
RB	0,79	0,04	0,01	5,59	0,69	0,87
PB	0,73	0,05	0,01	6,47	0,65	0,85
TB	0,74	0,04	0,01	5,38	0,67	0,83
KB	0,73	0,05	0,01	7,08	0,66	0,85
GB	0,78	0,06	0,01	7,49	0,68	0,90
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	0,74	0,07	0,01	9,87	0,63	0,90
SA	0,67 <sup>A</sup>	0,06	0,01	9,19	0,36	0,80
RA	0,76	0,08	0,01	10,54	0,57	0,96
PA	0,68 <sup>A</sup>	0,04	0,01	6,23	0,54	0,79
TA	0,72	0,06	0,01	8,82	0,64	0,87
KA	0,70	0,05	0,01	7,25	0,60	0,80
GA	0,73	0,06	0,01	7,94	0,62	0,86
CB	0,75	0,07	0,01	8,67	0,64	0,89
SB	0,75	0,04	0,01	5,81	0,65	0,85
RB	0,77	0,04	0,01	5,80	0,67	0,85
PB	0,71	0,12	0,02	17,35	0,00	0,93
TB	0,72	0,07	0,01	9,69	0,56	0,89
KB	0,74	0,06	0,01	8,13	0,63	0,87
GB	0,71	0,05	0,01	7,29	0,64	0,88
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,75	0,07	0,01	9,79	0,63	0,91
SA	0,67	0,04	0,01	5,65	0,59	0,77
RA	0,69	0,19	0,03	26,90	0,00	0,91
PA	0,69	0,03	0,00	4,17	0,62	0,75

TA	0,71	0,03	0,00	4,22	0,62	0,77
KA	0,68	0,05	0,01	6,71	0,60	0,80
GA	0,70	0,04	0,01	6,28	0,63	0,79
CB	0,76	0,06	0,01	7,30	0,66	0,89
SB	0,72	0,05	0,01	6,52	0,62	0,82
RB	0,79	0,04	0,01	5,42	0,70	0,87
PB	0,69	0,19	0,03	27,27	0,00	0,96
TB	0,74	0,06	0,01	8,73	0,64	0,89
KB	0,75	0,06	0,01	8,43	0,63	0,91
GB	0,72	0,05	0,01	7,19	0,60	0,82
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,74	0,06	0,01	8,12	0,64	0,84
SA	0,67	0,04	0,01	6,13	0,57	0,79
RA	0,68	0,19	0,03	28,19	0,00	0,98
PA	0,69	0,03	0,00	4,70	0,63	0,75
TA	0,74	0,05	0,01	6,16	0,67	0,82
KA	0,70	0,06	0,01	8,14	0,59	0,85
GA	0,71	0,06	0,01	8,31	0,60	0,82
CB	0,77	0,06	0,01	7,64	0,65	0,89
SB	0,71	0,05	0,01	7,26	0,58	0,81
RB	0,79	0,04	0,01	4,61	0,73	0,88
PB	0,65 <sup>B</sup>	0,26	0,04	39,10	0,00	0,96
TB	0,77	0,05	0,01	6,68	0,67	0,87
KB	0,75	0,07	0,01	9,06	0,65	0,88
GB	0,72	0,06	0,01	8,73	0,63	0,85
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,76	0,06	0,01	7,85	0,68	0,91
SA	0,65	0,05	0,01	8,39	0,46	0,76
RA	0,68	0,19	0,03	27,44	0,00	0,88
PA	0,70	0,03	0,00	4,69	0,61	0,78
TA	0,75	0,05	0,01	6,04	0,68	0,84
KA	0,72	0,07	0,01	9,42	0,62	0,85
GA	0,72	0,05	0,01	7,00	0,62	0,83
CB	0,77	0,05	0,01	7,11	0,67	0,88
SB	0,71	0,04	0,01	6,27	0,59	0,80
RB	0,79	0,04	0,01	5,14	0,68	0,87
PB	0,69	0,22	0,03	31,51	0,00	0,94
TB	0,77	0,05	0,01	6,94	0,67	0,87

KB	0,77	0,06	0,01	7,53	0,69	0,87
GB	0,74	0,07	0,01	9,06	0,62	0,88
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	0,67	0,05	0,01	7,29	0,59	0,78
SA	0,49 <sup>B</sup>	0,34	0,05	69,30	0,00	0,90
RA	0,54	0,26	0,04	48,13	0,00	0,92
PA	0,60	0,12	0,02	19,19	0,00	0,76
TA	0,64	0,07	0,01	10,36	0,48	0,77
KA	0,63	0,10	0,01	15,60	0,43	0,81
GA	0,62	0,07	0,01	11,54	0,40	0,75
CB	0,69	0,06	0,01	8,12	0,57	0,82
SB	0,61	0,22	0,04	36,66	0,00	0,84
RB	0,67	0,06	0,01	9,03	0,54	0,81
PB	0,58	0,24	0,03	40,58	0,00	0,96
TB	0,66	0,07	0,01	10,48	0,53	0,82
KB	0,63	0,10	0,01	15,55	0,47	0,84
GB	0,64	0,05	0,01	8,07	0,51	0,77
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	0,64	0,05	0,01	8,12	0,53	0,75
SA	0,41 <sup>C</sup>	0,35	0,05	84,77	0,00	0,89
RA	0,47 <sup>A</sup>	0,37	0,05	78,62	0,00	0,97
PA	0,61	0,16	0,02	26,79	0,00	0,82
TA	0,62	0,06	0,01	9,29	0,52	0,81
KA	0,66	0,06	0,01	9,24	0,52	0,78
GA	0,64	0,06	0,01	10,13	0,52	0,76
CB	0,66	0,05	0,01	7,73	0,55	0,76
SB	0,59	0,17	0,03	28,83	0,00	0,78
RB	0,64	0,08	0,01	12,32	0,48	0,91
PB	0,49	0,25	0,04	51,28	0,00	0,75
TB	0,64	0,07	0,01	11,57	0,40	0,79
KB	0,67	0,07	0,01	10,34	0,47	0,82
GB	0,65	0,05	0,01	6,96	0,54	0,75
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	0,63	0,05	0,01	7,96	0,53	0,75
SA	0,42 <sup>C</sup>	0,34	0,05	81,54	0,00	0,99
RA	0,36 <sup>C</sup>	0,40	0,06	110,94	0,00	0,98
PA	0,62	0,16	0,02	26,05	0,00	0,87
TA	0,60	0,07	0,01	11,60	0,32	0,76

KA	0,67	0,06	0,01	9,05	0,50	0,77
GA	0,63	0,06	0,01	10,14	0,48	0,76
CB	0,64	0,08	0,01	12,92	0,46	0,79
SB	0,66	0,09	0,01	14,26	0,33	0,86
RB	0,62	0,09	0,05	46,20	0,41	0,87
PB	0,54	0,25	0,04	45,91	0,00	0,75
TB	0,65	0,06	0,01	9,97	0,54	0,80
KB	0,68	0,06	0,01	9,30	0,53	0,79
GB	0,63	0,05	0,01	8,18	0,49	0,76
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	0,60	0,07	0,01	10,98	0,42	0,69
SA	0,53	0,33	0,06	61,31	0,00	0,96
RA	0,36	0,42	0,07	116,23	0,00	0,97
PA	0,60	0,37	0,07	61,24	0,00	0,99
TA	0,65	0,05	0,01	8,10	0,49	0,79
KA	0,67	0,08	0,01	12,64	0,49	0,92
GA	0,67	0,05	0,01	8,07	0,55	0,81
CB	0,64	0,04	0,01	6,06	0,55	0,70
SB	0,56	0,23	0,04	41,75	0,00	0,95
RB	0,65	0,30	0,05	46,20	0,00	0,98
PB	0,56	0,31	0,06	56,08	0,00	0,95
TB	0,66	0,06	0,01	9,06	0,50	0,74
KB	0,65	0,13	0,02	20,44	0,00	0,82
GB	0,64	0,05	0,01	7,19	0,52	0,74

**C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);**

**S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;**

**A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>**

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A – p<0,05; B – p<0,01; C – p<0,001**

**x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient**

**Tabuľka č. 4.10:** Priamočiarosť krivočiarovej dráhy pohybu spermií s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	0,43	0,06	0,01	12,92	0,35	0,59
SA	0,42	0,04	0,01	9,79	0,33	0,52
RA	0,43	0,04	0,01	9,66	0,34	0,52
PA	0,36 <sup>B</sup>	0,03	0,00	9,53	0,27	0,45
TA	0,41	0,04	0,01	9,48	0,35	0,52
KA	0,42	0,07	0,01	17,60	0,26	0,60
GA	0,44	0,07	0,01	14,96	0,34	0,61
CB	0,46	0,09	0,01	20,03	0,33	0,68
SB	0,45	0,06	0,01	12,61	0,32	0,57
RB	0,45	0,03	0,00	7,21	0,39	0,51
PB	0,40 <sup>A</sup>	0,05	0,01	11,64	0,32	0,54
TB	0,44	0,05	0,01	11,91	0,34	0,55
KB	0,44	0,09	0,01	20,18	0,35	0,67
GB	0,47	0,07	0,01	14,14	0,38	0,63
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	0,40	0,07	0,01	17,27	0,29	0,57
SA	0,36	0,05	0,01	13,88	0,17	0,48
RA	0,42	0,09	0,01	20,37	0,32	0,71
PA	0,36	0,04	0,01	10,21	0,26	0,51
TA	0,38	0,05	0,01	13,56	0,31	0,52
KA	0,37	0,04	0,01	11,33	0,30	0,47
GA	0,39	0,05	0,01	12,61	0,32	0,58
CB	0,41	0,07	0,01	16,72	0,33	0,59
SB	0,41	0,03	0,00	8,36	0,34	0,49
RB	0,41	0,03	0,00	8,11	0,33	0,48
PB	0,39	0,10	0,01	24,82	0,00	0,76
TB	0,39	0,07	0,01	18,52	0,28	0,59
KB	0,40	0,06	0,01	14,84	0,29	0,54
GB	0,37	0,04	0,01	9,88	0,31	0,52
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,41	0,07	0,01	16,89	0,31	0,60
SA	0,36	0,04	0,01	12,50	0,25	0,45
RA	0,38	0,12	0,02	32,29	0,00	0,75
PA	0,38	0,02	0,00	5,95	0,32	0,43



TA	0,36	0,03	0,00	7,07	0,30	0,41
KA	0,35	0,04	0,01	11,28	0,29	0,45
GA	0,35	0,03	0,01	9,92	0,30	0,44
CB	0,40	0,05	0,01	13,10	0,34	0,52
SB	0,39	0,04	0,01	9,70	0,30	0,48
RB	0,43	0,04	0,01	9,76	0,34	0,51
PB	0,38	0,14	0,02	37,16	0,00	0,99
TB	0,40	0,05	0,01	12,58	0,32	0,50
KB	0,41	0,04	0,01	10,96	0,33	0,56
GB	0,37	0,04	0,01	11,51	0,30	0,46
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,39	0,04	0,01	11,51	0,31	0,46
SA	0,34	0,05	0,01	14,60	0,24	0,46
RA	0,38	0,15	0,02	38,45	0,00	0,84
PA	0,37	0,03	0,00	9,29	0,30	0,44
TA	0,39	0,04	0,01	10,68	0,31	0,48
KA	0,35	0,05	0,01	13,73	0,27	0,47
GA	0,36	0,04	0,01	11,67	0,28	0,44
CB	0,42	0,05	0,01	12,49	0,33	0,57
SB	0,36	0,06	0,01	16,18	0,16	0,44
RB	0,43	0,05	0,01	12,03	0,32	0,54
PB	0,35 <sup>A</sup>	0,15	0,02	41,75	0,00	0,59
TB	0,42	0,04	0,01	8,88	0,35	0,48
KB	0,41	0,05	0,01	12,92	0,31	0,53
GB	0,37	0,05	0,01	13,61	0,29	0,50
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,42	0,07	0,01	16,01	0,31	0,62
SA	0,32 <sup>C</sup>	0,07	0,01	21,27	0,15	0,43
RA	0,37	0,13	0,02	35,50	0,00	0,72
PA	0,37	0,03	0,00	7,77	0,31	0,44
TA	0,40	0,03	0,00	8,49	0,33	0,48
KA	0,37	0,05	0,01	13,52	0,29	0,47
GA	0,37	0,04	0,01	10,89	0,30	0,49
CB	0,41	0,04	0,01	9,56	0,32	0,50
SB	0,35	0,06	0,01	16,54	0,22	0,43
RB	0,41	0,08	0,01	19,13	0,27	0,57
PB	0,37	0,14	0,02	36,80	0,00	0,74
TB	0,41	0,06	0,01	13,99	0,32	0,55

<b>KB</b>	<b>0,40</b>	0,05	0,01	12,48	0,28	0,50
<b>GB</b>	<b>0,39</b>	0,06	0,01	14,33	0,28	0,51
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
<b>CA</b>	<b>0,34</b>	0,03	0,00	8,03	0,27	0,38
<b>SA</b>	<b>0,31</b>	0,23	0,03	74,12	0,00	0,71
<b>RA</b>	<b>0,33</b>	0,18	0,03	54,65	0,00	0,84
<b>PA</b>	<b>0,37</b>	0,10	0,01	27,44	0,00	0,62
<b>TA</b>	<b>0,33</b>	0,05	0,01	14,28	0,22	0,48
<b>KA</b>	<b>0,34</b>	0,06	0,00	18,35	0,23	0,46
<b>GA</b>	<b>0,31</b>	0,04	0,01	12,80	0,18	0,36
<b>CB</b>	<b>0,35</b>	0,04	0,01	12,19	0,25	0,42
<b>SB</b>	<b>0,35</b>	0,14	0,02	39,36	0,00	0,56
<b>RB</b>	<b>0,37</b>	0,07	0,01	17,84	0,23	0,56
<b>PB</b>	<b>0,31</b>	0,14	0,02	44,68	0,00	0,62
<b>TB</b>	<b>0,34</b>	0,05	0,01	13,73	0,24	0,46
<b>KB</b>	<b>0,34</b>	0,06	0,01	17,14	0,25	0,48
<b>GB</b>	<b>0,33</b>	0,03	0,00	10,35	0,22	0,41
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
<b>CA</b>	<b>0,31</b>	0,02	0,00	7,76	0,26	0,35
<b>SA</b>	<b>0,26</b>	0,22	0,03	87,59	0,00	0,64
<b>RA</b>	<b>0,36</b>	0,31	0,04	85,29	0,00	0,95
<b>PA</b>	<b>0,38</b>	0,13	0,02	35,00	0,00	0,67
<b>TA</b>	<b>0,32</b>	0,05	0,01	16,17	0,23	0,56
<b>KA</b>	<b>0,35</b>	0,03	0,00	9,63	0,27	0,41
<b>GA</b>	<b>0,33</b>	0,05	0,01	14,03	0,23	0,47
<b>CB</b>	<b>0,33</b>	0,04	0,01	11,41	0,23	0,43
<b>SB</b>	<b>0,36</b>	0,12	0,02	34,33	0,00	0,57
<b>RB</b>	<b>0,36</b>	0,08	0,01	22,66	0,24	0,71
<b>PB</b>	<b>0,26</b>	0,14	0,02	51,31	0,00	0,38
<b>TB</b>	<b>0,32</b>	0,04	0,01	12,58	0,17	0,42
<b>KB</b>	<b>0,35</b>	0,04	0,01	11,09	0,23	0,43
<b>GB</b>	<b>0,33</b>	0,03	0,00	9,36	0,27	0,39
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
<b>CA</b>	<b>0,30</b>	0,02	0,00	7,54	0,26	0,36
<b>SA</b>	<b>0,26</b>	0,23	0,03	91,35	0,00	0,90
<b>RA</b>	<b>0,28</b>	0,33	0,05	120,01	0,00	0,99
<b>PA</b>	<b>0,37</b>	0,12	0,02	32,89	0,00	0,71
<b>TA</b>	<b>0,30</b>	0,04	0,01	14,28	0,12	0,37

KA	0,35	0,04	0,01	12,16	0,26	0,44
GA	0,31	0,05	0,01	15,50	0,22	0,43
CB	0,32	0,05	0,01	14,46	0,22	0,40
SB	0,38	0,09	0,01	23,12	0,17	0,62
RB	0,34	0,08	0,05	58,86	0,21	0,65
PB	0,29	0,14	0,02	47,05	0,00	0,44
TB	0,32	0,04	0,01	13,06	0,23	0,45
KB	0,34	0,03	0,00	10,08	0,26	0,44
GB	0,30	0,03	0,00	10,68	0,22	0,39
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	0,33	0,04	0,01	12,01	0,25	0,43
SA	0,31	0,24	0,04	76,49	0,00	0,97
RA	0,21	0,27	0,05	128,10	0,00	0,85
PA	0,43	0,33	0,06	76,25	0,00	0,99
TA	0,34	0,04	0,01	11,43	0,27	0,47
KA	0,37	0,08	0,01	22,19	0,28	0,72
GA	0,37	0,05	0,01	13,38	0,28	0,54
CB	0,34	0,04	0,01	10,35	0,28	0,43
SB	0,31	0,17	0,03	54,91	0,00	0,98
RB	0,43	0,25	0,05	58,86	0,00	0,83
PB	0,35	0,23	0,04	64,64	0,00	0,86
TB	0,36	0,05	0,01	14,26	0,24	0,49
KB	0,35	0,08	0,01	22,92	0,00	0,51
GB	0,35	0,04	0,01	11,49	0,27	0,45

**C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);**

**S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;**

**A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>**

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A – p<0,05; B – p<0,01; C – p<0,001**

**x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient**

**Tabuľka č. 4.11:** Kmitanie aktuálnej dráhy okolo priemernej dráhy spermií s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	0,57	0,04	0,01	7,38	0,52	0,69
SA	0,57	0,04	0,01	6,55	0,47	0,69
RA	0,55	0,04	0,01	7,10	0,47	0,62
PA	0,53	0,03	0,00	4,92	0,42	0,59
TA	0,55	0,02	0,00	3,28	0,52	0,61
KA	0,59	0,06	0,01	10,03	0,51	0,74
GA	0,58	0,04	0,01	7,23	0,51	0,71
CB	0,59	0,07	0,01	11,52	0,51	0,78
SB	0,58	0,04	0,01	6,50	0,50	0,65
RB	0,56	0,04	0,01	6,79	0,49	0,64
PB	0,55	0,03	0,00	5,52	0,49	0,63
TB	0,58	0,04	0,01	6,84	0,50	0,67
KB	0,60	0,08	0,01	12,56	0,53	0,79
GB	0,60	0,05	0,01	7,70	0,54	0,72
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	0,53	0,04	0,01	8,19	0,40	0,65
SA	0,53	0,04	0,01	8,00	0,40	0,59
RA	0,55	0,06	0,01	11,42	0,45	0,75
PA	0,53	0,04	0,01	6,79	0,47	0,65
TA	0,52	0,02	0,00	4,76	0,48	0,60
KA	0,53	0,03	0,00	5,24	0,48	0,60
GA	0,53	0,03	0,00	5,76	0,48	0,67
CB	0,54	0,05	0,01	8,58	0,46	0,67
SB	0,54	0,03	0,00	5,53	0,47	0,60
RB	0,53	0,03	0,00	5,76	0,46	0,58
PB	0,53	0,10	0,01	19,22	0,00	0,91
TB	0,54	0,05	0,01	90,2	0,48	0,67
KB	0,54	0,05	0,01	9,90	0,36	0,65
GB	0,51	0,03	0,00	5,42	0,44	0,59
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,54	0,04	0,01	7,43	0,47	0,66
SA	0,53	0,05	0,01	8,85	0,37	0,61
RA	0,51	0,15	0,02	29,68	0,00	0,81
PA	0,55	0,03	0,00	5,60	0,49	0,61

TA	0,51	0,02	0,00	4,05	0,47	0,56
KA	0,52	0,03	0,00	5,30	0,44	0,57
GA	0,50	0,02	0,00	4,74	0,46	0,55
CB	0,53	0,03	0,00	6,31	0,47	0,62
SB	0,53	0,03	0,00	5,18	0,45	0,60
RB	0,54	0,04	0,01	7,61	0,45	0,61
PB	0,50	0,16	0,02	21,11	0,00	1,02
TB	0,54	0,02	0,00	4,45	0,49	0,58
KB	0,54	0,03	0,00	5,27	0,47	0,62
GB	0,52	0,02	0,00	4,82	0,46	0,57
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,52	0,03	0,00	5,07	0,46	0,57
SA	0,51	0,05	0,01	10,37	0,36	0,60
RA	0,52	0,16	0,02	31,58	0,00	0,85
PA	0,54	0,04	0,01	8,29	0,46	0,61
TA	0,52	0,03	0,00	5,58	0,47	0,58
KA	0,50	0,04	0,01	8,73	0,40	0,59
GA	0,51	0,02	0,00	4,24	0,47	0,55
CB	0,55	0,03	0,00	5,78	0,50	0,65
SB	0,50	0,07	0,01	13,20	0,27	0,58
RB	0,54	0,05	0,01	9,15	0,43	0,62
PB	0,47 <sup>A</sup>	0,19	0,03	39,89	0,00	0,61
TB	0,54	0,02	0,00	4,18	0,50	0,60
KB	0,54	0,03	0,00	5,16	0,48	0,61
GB	0,51	0,03	0,00	5,74	0,45	0,59
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	0,54	0,04	0,01	8,18	0,46	0,68
SA	0,48	0,08	0,01	16,11	0,29	0,59
RA	0,50	0,16	0,02	31,22	0,00	0,81
PA	0,54	0,03	0,00	6,40	0,45	0,60
TA	0,53	0,03	0,00	5,14	0,47	0,58
KA	0,51	0,04	0,01	8,55	0,40	0,58
GA	0,51	0,03	0,00	5,44	0,44	0,60
CB	0,53	0,04	0,01	8,12	0,43	0,61
SB	0,49	0,07	0,01	13,74	0,31	0,58
RB	0,52	0,08	0,01	15,76	0,38	0,65
PB	0,49	0,17	0,02	33,75	0,00	0,79
TB	0,53	0,05	0,01	8,73	0,41	0,63

<b>KB</b>	<b>0,52</b>	0,05	0,01	8,69	0,40	0,61
<b>GB</b>	<b>0,52</b>	0,04	0,01	8,07	0,42	0,61
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
<b>CA</b>	<b>0,50</b>	0,03	0,00	6,13	0,45	0,57
<b>SA</b>	<b>0,44</b>	0,30	0,04	67,76	0,00	0,80
<b>RA</b>	<b>0,50</b>	0,25	0,04	49,29	0,00	0,91
<b>PA</b>	<b>0,60</b>	0,13	0,02	21,40	0,00	0,86
<b>TA</b>	<b>0,51</b>	0,04	0,01	7,95	0,44	0,65
<b>KA</b>	<b>0,54</b>	0,03	0,00	6,16	0,48	0,60
<b>GA</b>	<b>0,50</b>	0,03	0,00	5,59	0,44	0,56
<b>CB</b>	<b>0,51</b>	0,04	0,01	8,18	0,45	0,62
<b>SB</b>	<b>0,51</b>	0,18	0,03	35,87	0,00	0,67
<b>RB</b>	<b>0,55</b>	0,08	0,01	14,29	0,34	0,74
<b>PB</b>	<b>0,46</b>	0,18	0,03	39,96	0,00	0,64
<b>TB</b>	<b>0,52</b>	0,04	0,01	7,64	0,41	0,60
<b>KB</b>	<b>0,54</b>	0,03	0,00	6,28	0,46	0,64
<b>GB</b>	<b>0,52</b>	0,03	0,00	6,63	0,43	0,58
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
<b>CA</b>	<b>0,48</b>	0,03	0,00	5,55	0,43	0,55
<b>SA</b>	<b>0,37</b>	0,31	0,04	82,81	0,00	0,71
<b>RA</b>	<b>0,48</b>	0,37	0,05	77,29	0,00	1,02
<b>PA</b>	<b>0,59</b>	0,17	0,02	29,32	0,00	0,91
<b>TA</b>	<b>0,51</b>	0,04	0,01	8,22	0,44	0,69
<b>KA</b>	<b>0,53</b>	0,04	0,01	6,90	0,44	0,60
<b>GA</b>	<b>0,52</b>	0,04	0,01	8,25	0,42	0,63
<b>CB</b>	<b>0,50</b>	0,05	0,01	9,46	0,39	0,59
<b>SB</b>	<b>0,57</b>	0,16	0,02	27,31	0,00	0,77
<b>RB</b>	<b>0,55</b>	0,07	0,01	12,71	0,42	0,89
<b>PB</b>	<b>0,43</b>	0,22	0,04	51,67	0,00	0,62
<b>TB</b>	<b>0,50</b>	0,04	0,01	7,41	0,42	0,57
<b>KB</b>	<b>0,52</b>	0,03	0,00	6,51	0,47	0,61
<b>GB</b>	<b>0,50</b>	0,03	0,00	5,48	0,45	0,57
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
<b>CA</b>	<b>0,48</b>	0,04	0,01	7,65	0,39	0,57
<b>SA</b>	<b>0,37</b>	0,30	0,04	81,84	0,00	0,94
<b>RA</b>	<b>0,36</b>	0,39	0,06	109,15	0,00	1,02
<b>PA</b>	<b>0,57</b>	0,15	0,02	25,62	0,00	0,82
<b>TA</b>	<b>0,49</b>	0,03	0,00	6,60	0,38	0,55

KA	0,51	0,04	0,01	7,13	0,43	0,60
GA	0,49	0,05	0,01	9,66	0,41	0,59

CB	0,50	0,04	0,01	8,07	0,40	0,57
SB	0,57	0,06	0,01	11,08	0,48	0,79
RB	0,55	0,08	0,05	51,35	0,42	0,79
PB	0,45	0,21	0,03	46,37	0,00	0,63
TB	0,50	0,04	0,01	8,05	0,43	0,63
KB	0,50	0,03	0,00	5,76	0,45	0,59
GB	0,48	0,04	0,01	8,54	0,41	0,62

**čas 168 hodín, teplota 5°C**

CA	0,55	0,06	0,01	11,62	0,47	0,81
SA	0,43	0,29	0,05	67,88	0,00	1,00
RA	0,24 <sup>C</sup>	0,30	0,05	122,41	0,00	0,87
PA	0,52	0,35	0,06	67,76	0,00	1,03
TA	0,53	0,03	0,01	6,14	0,47	0,60
KA	0,55	0,07	0,01	12,52	0,44	0,78
GA	0,54	0,05	0,01	8,82	0,47	0,71
CB	0,54	0,03	0,01	6,16	0,45	0,62
SB	0,48	0,21	0,04	43,10	0,00	1,02
RB	0,54	0,28	0,05	51,35	0,00	0,92
PB	0,48	0,28	0,05	57,63	0,00	0,90
TB	0,54	0,05	0,01	8,70	0,45	0,66
KB	0,53	0,11	0,02	21,33	0,00	0,73
GB	0,54	0,04	0,01	7,36	0,45	0,64

**C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);**

**S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;**

**A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>**

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A – p<0,05; B – p<0,01; C – p<0,001**

**x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient**

**Tabuľka č. 4.12:** Amplitúda laterálneho premiestnenia hlavičky spermíí ( $\mu\text{m}$ ) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	5,37	0,70	0,10	13,11	3,79	6,26
SA	3,74 <sup>C</sup>	0,89	0,13	23,70	2,45	5,39
RA	4,06 <sup>C</sup>	0,42	0,06	10,39	3,41	5,07
PA	5,40	0,62	0,09	11,42	4,06	7,14
TA	5,39	0,43	0,06	7,97	4,59	6,32
KA	5,14	0,82	0,12	16,00	3,30	6,65
GA	4,93	0,78	0,11	15,91	3,44	6,84
CB	4,57	1,15	0,17	25,25	2,38	6,38
SB	3,99	0,93	0,13	23,37	2,51	5,81
RB	3,99	0,69	0,10	17,39	2,64	5,26
PB	5,18	0,77	0,11	14,91	3,82	6,53
TB	4,90	0,73	0,11	14,93	3,23	6,18
KB	4,90	1,00	0,14	20,40	2,82	6,31
GB	4,63	0,87	0,13	18,75	2,57	6,08
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	5,15	1,16	0,17	22,50	2,38	6,81
SA	3,80 <sup>C</sup>	0,56	0,08	14,73	1,95	4,67
RA	4,08 <sup>B</sup>	1,08	0,16	26,52	1,60	5,51
PA	5,04	0,60	0,09	11,88	3,94	6,46
TA	5,47	1,01	0,15	18,41	3,01	6,52
KA	5,46	0,88	0,13	16,18	3,69	6,97
GA	5,30	0,84	0,12	15,77	3,21	6,76
CB	4,78	0,94	0,14	19,64	2,97	6,33
SB	4,07	0,54	0,08	13,15	3,14	4,90
RB	4,51	0,67	0,10	14,82	3,31	5,66
PB	4,73	1,37	0,20	29,00	0,00	5,92
TB	5,35	0,95	0,14	17,84	2,97	6,75
KB	5,17	0,99	0,14	19,05	2,99	6,69
GB	5,51	0,70	0,10	12,78	3,86	6,75
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	4,78	1,07	0,16	22,48	2,78	6,33
SA	3,83 <sup>A</sup>	0,69	0,10	18,11	2,59	5,32
RA	3,94	1,26	0,18	31,84	0,00	5,96
PA	4,67	0,57	0,08	12,18	2,82	5,99



TA	5,66 <sup>A</sup>	0,41	0,06	7,24	4,93	6,62
KA	5,70 <sup>A</sup>	0,92	0,14	16,15	4,04	7,15
GA	5,81 <sup>B</sup>	0,62	0,09	10,65	4,38	6,95
CB	4,76	0,97	0,14	20,41	2,27	6,15
SB	4,12	0,63	0,09	15,31	2,79	5,47
RB	4,22	0,58	0,08	13,68	3,29	5,52
PB	4,48	1,38	0,20	30,72	0,00	6,34
TB	5,01	1,00	0,14	20,03	2,95	6,58
KB	4,73	0,86	0,12	18,17	2,82	6,32
GB	5,26	0,78	0,11	14,85	3,49	6,44
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	4,91	1,31	0,19	26,60	2,37	6,67
SA	3,53 <sup>C</sup>	0,82	0,12	23,19	1,98	5,31
RA	3,91 <sup>A</sup>	1,26	0,18	32,54	0,00	5,03
PA	4,77	0,50	0,07	10,43	4,07	5,88
TA	5,31	0,61	0,09	11,57	3,99	6,62
KA	5,40	0,93	0,13	17,16	3,80	6,93
GA	5,64	0,74	0,11	13,08	4,25	6,76
CB	4,51	0,84	0,12	18,63	2,69	5,76
SB	3,97	0,97	0,14	24,47	2,22	5,46
RB	4,02	0,77	0,11	19,23	2,50	5,14
PB	4,08	1,66	0,24	40,76	0,00	6,13
TB	4,67	0,88	0,13	18,82	3,09	6,20
KB	4,69	0,98	0,14	20,93	3,18	6,48
GB	5,18	1,13	0,16	21,76	2,95	6,90
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	4,84	0,93	0,13	19,17	2,50	5,97
SA	3,45 <sup>C</sup>	0,82	0,12	23,69	2,23	5,14
RA	3,88 <sup>A</sup>	1,20	0,17	30,92	0,00	5,15
PA	4,72	0,64	0,09	13,46	3,57	5,94
TA	5,01	0,70	0,10	13,91	3,47	6,05
KA	5,20	0,94	0,14	18,01	3,29	6,83
GA	5,66	0,65	0,09	11,50	4,35	6,46
CB	4,57	0,84	0,12	18,46	2,66	5,85
SB	4,15	0,88	0,12	21,14	2,33	5,42
RB	3,86	0,80	0,13	20,88	2,64	5,86
PB	4,12	1,53	0,22	37,13	0,00	5,92
TB	4,67	0,87	0,13	18,61	3,05	6,20

KB	4,59	0,81	0,12	17,63	3,02	5,85
GB	5,08	0,96	0,14	18,84	3,11	6,24
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	5,72	0,85	0,12	14,84	3,75	7,60
SA	2,94 <sup>C</sup>	2,15	0,31	73,01	0,00	7,20
RA	3,26 <sup>C</sup>	1,87	0,27	57,44	0,00	6,73
PA	4,21 <sup>B</sup>	1,27	0,18	30,21	0,00	6,68
TA	5,90	0,71	0,10	12,11	4,36	7,56
KA	5,73	0,94	0,14	16,41	3,70	7,18
GA	6,13	0,94	0,13	15,34	4,60	9,26
CB	5,24	0,78	0,11	14,92	3,37	6,89
SB	3,85 <sup>A</sup>	1,53	0,24	39,71	0,00	6,66
RB	4,41	0,76	0,11	17,27	2,43	5,74
PB	4,71	2,01	0,29	42,67	0,00	7,23
TB	5,37	0,72	0,10	13,39	4,01	6,59
KB	5,31	1,18	0,17	22,14	2,93	7,11
GB	5,67	0,52	0,07	9,24	4,29	6,59
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	5,97	0,74	0,11	12,48	3,81	7,50
SA	2,37 <sup>C</sup>	2,11	0,30	88,76	0,00	5,20
RA	2,13 <sup>C</sup>	1,75	0,25	82,33	0,00	4,86
PA	4,05 <sup>C</sup>	1,57	0,21	38,74	0,00	6,31
TA	5,95	0,80	0,12	13,49	4,01	7,40
KA	5,06	0,72	0,10	14,31	3,34	6,19
GA	5,18	0,97	0,14	18,66	2,42	6,94
CB	5,51	0,95	0,14	17,34	3,55	7,41
SB	4,06 <sup>A</sup>	1,24	0,20	30,57	0,00	6,13
RB	4,90	1,05	0,15	21,42	2,38	8,26
PB	3,97 <sup>B</sup>	2,20	0,35	55,35	0,00	6,58
TB	5,74	1,04	0,15	18,16	3,26	7,80
KB	5,13	0,94	0,14	18,35	3,03	6,99
GB	5,45	0,81	0,12	14,82	3,90	7,03
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	5,96	0,75	0,11	12,57	4,71	7,05
SA	2,35 <sup>C</sup>	1,91	0,28	81,41	0,00	4,58
RA	1,69 <sup>C</sup>	1,95	0,28	115,60	0,00	7,08
PA	4,18 <sup>C</sup>	1,22	0,18	29,20	0,00	5,92
TA	6,09	0,86	0,12	14,13	2,82	7,66

KA	5,11	0,75	0,11	14,69	4,02	6,97
GA	5,11	0,93	0,13	18,16	3,27	7,27
CB	5,65	0,83	0,12	14,75	3,80	6,75
SB	4,37 <sup>A</sup>	0,97	0,15	22,29	1,78	7,08
RB	4,48 <sup>A</sup>	0,82	0,25	46,29	2,88	5,97
PB	4,12 <sup>C</sup>	2,00	0,29	48,51	0,00	6,51
TB	5,83	0,80	0,12	13,75	3,08	6,97
KB	5,27	0,69	0,10	13,18	3,29	6,28
GB	5,63	0,72	0,10	12,82	3,94	7,02
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	4,91	1,10	0,20	22,48	2,15	6,67
SA	3,15 <sup>B</sup>	2,10	0,37	66,50	0,00	6,73
RA	1,84 <sup>B</sup>	2,16	0,38	117,77	0,00	5,30
PA	2,89	1,86	0,33	64,50	0,00	5,64
TA	5,17	0,50	0,09	9,59	4,22	6,25
KA	4,11	0,65	0,12	15,83	2,58	5,31
GA	4,25	0,57	0,10	13,53	3,14	5,47
CB	4,88	0,47	0,08	9,61	3,61	5,93
SB	3,54	1,60	0,28	45,22	0,00	6,70
RB	3,08	1,43	0,25	46,29	0,00	4,82
PB	4,66	9,03	1,60	193,84	0,00	53,00
TB	4,75	0,54	0,10	11,42	3,15	5,76
KB	3,84	1,29	0,23	33,54	0,00	6,43
GB	4,28	0,62	0,11	14,44	3,31	5,47

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.13:** Frekvencia krížových úderov spermií (Hz) s pridaním jednotlivých implementorov a v jednotlivých časových intervaloch

Skupina	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>čas 0 hodín, teplota 37°C</b>						
CA	26,47	2,15	0,31	8,12	22,52	31,25
SA	21,80 <sup>C</sup>	2,13	0,31	9,79	14,76	25,60
RA	25,89	2,10	0,30	8,11	21,65	30,55
PA	23,05 <sup>C</sup>	3,34	0,48	14,48	17,34	31,04
TA	26,41	3,51	0,51	13,31	20,37	36,99
KA	24,28	2,43	0,35	10,00	20,35	30,71
GA	26,19	2,91	0,42	11,12	21,31	32,84
CB	26,50	2,74	0,40	10,35	20,33	31,17
SB	26,76	4,01	0,58	14,97	20,94	35,33
RB	28,44	2,85	0,41	10,00	24,31	33,93
PB	25,15	2,53	0,36	10,05	20,45	31,88
TB	25,36	1,63	0,24	6,44	21,68	30,14
KB	24,56	2,36	0,34	9,61	21,03	30,60
GB	27,07	3,65	0,53	13,47	22,18	35,89
<b>čas 1 hodina, teplota 37°C</b>						
CA	27,63	5,18	0,75	18,76	20,42	40,40
SA	19,86 <sup>C</sup>	2,40	0,35	12,10	16,53	27,40
RA	23,12 <sup>B</sup>	4,92	0,71	21,26	12,70	43,25
PA	20,94 <sup>C</sup>	1,87	0,27	8,92	17,16	25,06
TA	26,03	4,57	0,66	17,57	20,97	37,11
KA	25,59	3,57	0,52	13,95	19,90	32,73
GA	25,84	3,10	0,45	11,98	21,94	36,03
CB	27,93	4,81	0,69	17,21	20,96	36,83
SB	23,75 <sup>A</sup>	3,09	0,45	13,01	18,18	30,70
RB	25,41	2,58	0,37	10,17	21,85	31,91
PB	24,57	5,39	0,78	21,94	0,00	37,97
TB	25,99	3,54	0,51	13,63	21,48	35,84
KB	26,51	4,11	0,59	15,51	18,96	35,95
GB	25,94	4,08	0,59	15,72	20,71	36,71
<b>čas 2 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	27,82	5,21	0,75	18,75	20,30	38,56
SA	19,17 <sup>C</sup>	1,81	0,26	9,43	15,58	24,31
RA	18,25 <sup>C</sup>	6,00	0,87	32,87	0,00	26,54
PA	20,22 <sup>C</sup>	1,51	0,22	7,49	17,18	24,46

TA	23,94	1,51	0,22	6,32	20,60	27,51
KA	24,84	3,84	0,58	15,46	19,87	32,50
GA	23,60 <sup>A</sup>	1,53	0,22	6,49	20,66	29,28
CB	27,53	5,13	0,74	18,62	21,60	41,41
SB	21,97 <sup>C</sup>	2,50	0,36	11,40	17,08	27,44
RB	25,22	2,77	0,40	10,98	20,22	32,77
PB	22,08 <sup>C</sup>	7,34	1,06	33,25	0,00	31,30
TB	26,74	4,86	0,70	18,16	21,46	38,65
KB	28,89	4,67	0,67	16,15	21,74	39,72
GB	25,91	4,25	0,61	16,39	19,86	37,04
<b>čas 3 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	26,79	4,48	0,65	16,71	21,08	37,65
SA	18,29 <sup>C</sup>	2,06	0,30	11,25	13,60	23,07
RA	19,67 <sup>C</sup>	7,05	1,02	35,83	0,00	40,00
PA	20,37 <sup>C</sup>	1,82	0,26	8,95	16,24	24,34
TA	24,79	2,23	0,32	8,99	20,68	31,20
KA	26,32	4,86	0,70	18,48	18,97	36,36
GA	24,41	2,91	0,42	11,91	20,77	31,64
CB	28,02	4,55	0,66	16,25	21,41	38,65
SB	22,07 <sup>C</sup>	2,28	0,33	10,35	17,76	26,52
RB	25,07	3,01	0,43	11,99	20,95	33,22
PB	20,33 <sup>C</sup>	9,63	1,39	47,36	0,00	31,93
TB	27,48	5,10	0,74	18,54	20,23	38,98
KB	28,22	4,13	0,60	14,65	22,02	37,48
GB	26,72	4,99	0,72	18,68	20,66	37,63
<b>čas 4 hodiny, teplota 37°C</b>						
CA	27,07	5,04	0,73	18,62	21,69	39,69
SA	18,63 <sup>C</sup>	2,22	0,32	11,90	13,37	27,20
RA	20,43 <sup>C</sup>	6,63	0,96	32,44	0,00	33,59
PA	20,73 <sup>C</sup>	1,59	0,23	7,65	17,48	25,32
TA	25,79	3,36	0,48	13,01	21,89	34,29
KA	26,74	4,29	0,62	16,04	20,04	36,95
GA	25,04	3,53	0,51	14,11	20,60	34,15
CB	28,74	5,96	0,86	20,74	21,75	44,04
SB	23,17 <sup>C</sup>	3,02	0,40	13,03	16,64	29,59
RB	25,41	3,13	0,50	12,33	20,88	32,11
PB	22,96 <sup>C</sup>	8,17	1,18	35,59	0,00	40,00
TB	28,28	4,47	0,64	15,80	21,12	38,97

KB	29,55	4,80	0,69	16,26	22,21	41,70
GB	26,72	5,54	0,80	20,75	20,00	41,02
<b>čas 24 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	23,82	3,84	0,55	16,10	18,01	32,05
SA	12,88 <sup>C</sup>	9,73	1,40	75,57	0,00	33,42
RA	15,56 <sup>C</sup>	9,37	1,35	60,21	0,00	40,49
PA	19,02	4,26	0,62	22,42	0,00	33,26
TA	22,83	2,88	0,42	12,60	16,73	31,89
KA	23,26	3,89	0,56	16,71	18,28	35,67
GA	21,77	2,47	0,33	11,37	16,86	29,75
CB	25,62	4,17	0,60	16,28	19,17	36,24
SB	18,86 <sup>B</sup>	7,22	1,14	38,27	0,00	31,30
RB	20,70	2,74	0,39	13,22	15,38	30,65
PB	18,78 <sup>C</sup>	8,14	1,18	43,36	0,00	29,72
TB	23,05	3,41	0,49	14,81	18,07	33,16
KB	24,38	5,79	0,84	23,75	16,62	36,59
GB	22,35	2,65	0,35	11,85	19,08	27,67
<b>čas 48 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	23,27	2,76	0,40	11,84	18,84	29,03
SA	11,47 <sup>C</sup>	9,80	1,41	85,44	0,00	26,66
RA	13,01 <sup>C</sup>	14,92	2,15	114,66	0,00	76,36
PA	17,22	4,93	0,66	28,61	0,00	23,11
TA	22,02	2,26	0,33	10,25	18,41	27,55
KA	23,44 <sup>A</sup>	3,06	0,44	13,05	16,68	28,80
GA	20,82	2,79	0,40	13,40	10,09	29,45
CB	23,54	3,34	0,48	14,17	18,12	30,82
SB	17,91	5,63	0,89	31,42	0,00	27,61
RB	19,83	3,79	0,55	19,11	6,00	33,76
PB	16,45 <sup>B</sup>	8,77	1,39	53,34	0,00	27,02
TB	23,20	3,85	0,56	16,59	17,88	32,99
KB	24,09	3,40	0,49	14,13	18,04	34,46
GB	22,67	2,49	0,36	10,96	18,49	27,74
<b>čas 72 hodin, teplota 5°C</b>						
CA	23,24	3,00	0,43	12,90	18,53	31,60
SA	12,64 <sup>C</sup>	11,33	1,64	89,69	0,00	44,57
RA	7,35 <sup>C</sup>	10,27	1,48	139,64	0,00	40,00
PA	17,68 <sup>A</sup>	5,07	0,73	28,65	0,00	25,38
TA	22,10	3,01	0,43	13,63	10,78	31,06

KA	22,93	2,34	0,34	10,22	17,98	27,02
GA	22,23	2,89	0,42	13,00	16,33	30,72
CB	23,24	3,65	0,53	15,70	17,31	32,50
SB	20,86	5,80	0,92	27,80	4,00	43,28
RB	19,07	3,15	1,85	74,75	8,18	25,11
PB	17,60 <sup>A</sup>	8,35	1,21	47,45	0,00	28,91
TB	22,36	3,46	0,50	15,46	14,47	30,39
KB	24,18	3,76	0,54	15,56	16,73	33,83
GB	22,05	2,66	0,38	12,07	17,18	27,67
<b>čas 168 hodín, teplota 5°C</b>						
CA	19,72	2,41	0,43	12,23	12,59	23,24
SA	15,15	11,94	2,11	78,80	0,00	48,46
RA	10,16	12,82	2,27	126,24	0,00	40,00
PA	17,93	21,83	3,86	121,72	0,00	90,00
TA	21,29	2,28	0,40	10,70	16,79	29,08
KA	21,50	3,27	0,58	15,19	13,78	26,41
GA	20,84	2,62	0,46	12,59	15,32	27,67
CB	20,20	2,31	0,41	11,43	15,67	23,98
SB	16,60	7,56	1,34	45,56	0,00	25,00
RB	13,98	10,45	1,85	74,75	0,00	36,00
PB	15,33	9,59	1,69	62,54	0,00	33,01
TB	21,41	3,30	0,58	15,41	10,90	28,05
KB	19,99	5,93	1,05	29,65	0,00	38,40
GB	21,58	1,93	0,34	8,93	16,55	26,32

**C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);**

**S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;**

**A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>**

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A – p<0,05; B – p<0,01; C – p<0,001**

**x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient**

**Tabuľka č. 4.14:** Výskyt morfoloicky zmenených foriem spermií (%) z celkového počtu hodnotených spermií

	<b>x</b>	<b>sd</b>	<b>se</b>	<b>cv</b>	<b>minimum</b>	<b>maximum</b>
<b>Skupina CA</b>						
<b>MZF</b>	<b>13,73</b>	5,62	1,70	40,96	8,00	27,00
<b>AZ</b>	<b>0,82</b>	0,75	0,23	91,76	0,00	2,00
<b>HBB</b>	<b>2,73</b>	1,10	0,33	40,47	1,00	5,00
<b>KSB</b>	<b>2,64</b>	2,46	0,74	93,33	0,00	9,00
<b>TB</b>	<b>2,18</b>	1,47	0,44	67,42	1,00	5,00
<b>ZVB</b>	<b>0,64</b>	0,92	0,28	145,27	0,00	2,00
<b>ZB</b>	<b>1,45</b>	1,29	0,39	88,92	0,00	4,00
<b>RCK</b>	<b>0,55</b>	0,93	0,28	171,27	0,00	3,00
<b>MH</b>	<b>2,45</b>	1,21	0,37	49,44	1,00	4,00
<b>VH</b>	<b>0,27</b>	0,65	0,19	237,11	0,00	2,00
<b>IF</b>	<b>0,00</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Skupina SA</b>						
<b>MZF</b>	<b>18,25</b>	5,18	1,83	28,36	11,00	25,00
<b>AZ</b>	<b>2,12</b>	1,13	0,40	52,99	1,00	4,00
<b>HBB</b>	<b>3,37</b>	1,60	0,56	47,35	1,00	5,00
<b>KSB</b>	<b>3,87</b>	2,03	0,72	52,41	1,00	7,00
<b>TB</b>	<b>2,87</b>	1,81	0,64	62,88	1,00	5,00
<b>ZVB</b>	<b>1,00</b>	0,76	0,27	75,59	0,00	2,00
<b>ZB</b>	<b>1,37</b>	1,06	0,38	77,14	0,00	3,00
<b>RCK</b>	<b>0,63</b>	0,74	0,26	119,04	0,00	2,00
<b>MH</b>	<b>1,75</b>	1,39	0,49	79,36	0,00	4,00
<b>VH</b>	<b>0,75</b>	1,49	0,53	198,41	0,00	4,00
<b>IF</b>	<b>0,50</b>	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
<b>Skupina RA</b>						
<b>MZF</b>	<b>18,37</b>	5,80	2,05	31,59	9,00	26,00
<b>AZ</b>	<b>1,25</b>	1,28	0,45	102,54	0,00	3,00
<b>HBB</b>	<b>3,00</b>	1,20	0,42	39,84	1,00	5,00
<b>KSB</b>	<b>2,12</b>	1,13	0,40	52,99	1,00	4,00
<b>TB</b>	<b>3,13</b>	1,73	0,61	55,26	1,00	6,00
<b>ZVB</b>	<b>1,37</b>	1,41	0,50	102,39	0,00	4,00
<b>ZB</b>	<b>1,50</b>	1,60	0,57	106,90	0,00	4,00
<b>RCK</b>	<b>1,25</b>	1,04	0,37	82,81	0,00	3,00
<b>MH</b>	<b>3,25</b>	1,04	0,37	31,85	2,00	5,00



VH	1,12	1,36	0,48	120,55	0,00	4,00
IF	0,38	0,74	0,26	198,41	0,00	2,00
<b>Skupina PA</b>						
MZF	19,00	6,74	2,38	35,47	11,00	31,00
AZ	2,25	1,67	0,59	74,18	0,00	5,00
HBB	4,25	2,38	0,84	55,89	1,00	8,00
KSB	2,37	1,41	0,50	59,28	0,00	4,00
TB	3,25	1,67	0,59	51,36	1,00	6,00
ZVB	0,38	0,52	0,18	138,01	0,00	1,00
ZB	1,62	1,19	0,42	73,09	0,00	3,00
RCK	1,00	0,93	0,33	92,58	0,00	2,00
MH	2,37	1,19	0,42	50,01	0,00	4,00
VH	1,00	1,20	0,42	119,52	0,00	3,00
IF	0,50	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
<b>Skupina TA</b>						
MZF	11,62	3,74	1,32	32,17	9,00	18,00
AZ	1,25	1,16	0,41	93,20	0,00	3,00
HBB	2,00	1,07	0,38	53,45	0,00	3,00
KSB	1,50	1,31	0,46	87,29	0,00	4,00
TB	2,37	1,06	0,38	44,66	1,00	4,00
ZVB	0,75	0,89	0,31	119,19	0,00	2,00
ZB	0,88	0,83	0,30	95,37	0,00	2,00
RCK	0,38	0,52	0,18	138,01	0,00	1,00
MH	1,62	0,92	0,32	56,38	0,00	3,00
VH	0,50	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
IF	0,38	0,52	0,18	138,01	0,00	1,00
<b>Skupina KA</b>						
MZF	17,75	3,96	1,40	22,28	12,00	24,00
AZ	1,12	1,13	0,40	100,09	0,00	3,00
HBB	3,50	1,31	0,46	37,41	2,00	6,00
KSB	2,00	1,07	0,38	53,45	1,00	4,00
TB	2,62	1,19	0,42	45,25	1,00	4,00
ZVB	1,75	1,04	0,37	59,15	0,00	3,00
ZB	1,62	0,52	0,18	31,85	1,00	2,00
RCK	0,38	0,52	0,18	138,01	0,00	1,00
MH	3,25	1,04	0,37	31,85	2,00	5,00
VH	1,12	1,36	0,48	120,55	0,00	4,00
IF	0,38	0,74	0,26	198,41	0,00	2,00

Skupina GA						
MZF	13,62	4,00	1,41	29,34	8,00	19,00
AZ	1,62	0,92	0,32	56,38	0,00	3,00
HBB	2,62	1,41	0,50	53,63	0,00	4,00
KSB	2,37	1,30	0,46	54,84	0,00	4,00
TB	2,12	1,81	,64	85,07	0,00	6,00
ZVB	1,50	1,31	0,46	87,29	0,00	4,00
ZB	0,88	1,36	0,48	154,99	0,00	4,00
RCK	0,50	0,53	0,19	106,90	0,00	1,00
MH	1,50	1,07	0,38	71,27	0,00	3,00
VH	0,50	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
IF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**MZF** – všetky morfológicky zmenené spermie; **AZ** – akrozomálne zmeny; **HBB** – hlavička bez bičíka; **KSB** – kľučkovité stočenie bičíka; **TB** – torzo bičíka; **ZVB** – zvinutie bičíka; **ZB** – zlomený bičík; **RCK** – retencia cytoplazmatickej kvapky; **MH** – malá hlavička; **VH** – veľká hlavička; **OHB** – ohnutý bičík; **IF** – iné formy morfológicky zmenených spermií

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.15:** Výskyt morfoloicky zmenených foriem spermíí (%) z celkového počtu hodnotených spermíí

	<b>x</b>	<b>sd</b>	<b>se</b>	<b>cv</b>	<b>minimum</b>	<b>maximum</b>
<b>Skupina CB</b>						
<b>MZF</b>	<b>14,62</b>	4,96	1,75	33,88	9,00	24,00
<b>AZ</b>	<b>1,25</b>	1,28	0,45	102,54	0,00	3,00
<b>HBB</b>	<b>2,50</b>	0,93	0,33	37,03	1,00	4,00
<b>KSB</b>	<b>1,50</b>	0,93	0,33	61,72	0,00	3,00
<b>TB</b>	<b>2,75</b>	1,67	0,59	60,69	1,00	6,00
<b>ZVB</b>	<b>1,37</b>	0,74	0,26	54,11	0,00	2,00
<b>ZB</b>	<b>1,37</b>	0,92	0,32	66,63	0,00	3,00
<b>RCK</b>	<b>0,88</b>	0,83	0,30	95,37	0,00	2,00
<b>MH</b>	<b>2,25</b>	0,89	0,31	39,40	1,00	3,00
<b>VH</b>	<b>0,75</b>	1,16	0,41	155,33	0,00	3,00
<b>IF</b>	<b>0,00</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Skupina SB</b>						
<b>MZF</b>	<b>15,50</b>	4,17	1,48	26,93	8,00	22,00
<b>AZ</b>	<b>1,37</b>	1,06	0,38	77,14	0,00	3,00
<b>HBB</b>	<b>3,25</b>	0,71	0,25	21,76	2,00	4,00
<b>KSB</b>	<b>2,00</b>	1,20	0,42	59,76	0,00	4,00
<b>TB</b>	<b>3,37</b>	1,60	0,56	47,35	1,00	6,00
<b>ZVB</b>	<b>1,12</b>	1,13	0,40	100,09	0,00	3,00
<b>ZB</b>	<b>1,00</b>	1,07	0,38	106,90	0,00	3,00
<b>RCK</b>	<b>0,63</b>	0,74	0,26	119,04	0,00	2,00
<b>MH</b>	<b>1,25</b>	1,04	0,37	82,81	0,00	3,00
<b>VH</b>	<b>1,00</b>	1,41	0,50	141,42	0,00	4,00
<b>IF</b>	<b>0,50</b>	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
<b>Skupina RB</b>						
<b>MZF</b>	<b>16,25</b>	5,57	1,97	34,30	8,00	25,00
<b>AZ</b>	<b>0,38</b>	0,74	0,26	198,41	0,00	2,00
<b>HBB</b>	<b>2,75</b>	1,39	0,49	50,50	1,00	5,00
<b>KSB</b>	<b>2,00</b>	1,20	0,42	59,76	1,00	4,00
<b>TB</b>	<b>3,00</b>	1,69	0,60	56,34	1,00	6,00
<b>ZVB</b>	<b>1,50</b>	1,51	0,53	100,79	0,00	4,00
<b>ZB</b>	<b>1,50</b>	1,60	0,57	106,90	0,00	4,00
<b>RCK</b>	<b>1,25</b>	1,04	0,37	82,81	0,00	3,00
<b>MH</b>	<b>3,25</b>	1,04	0,37	31,85	2,00	5,00

VH	0,63	0,74	0,26	119,04	0,00	2,00
IF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Skupina PB</b>						
MZF	14,87	3,83	1,36	25,77	9,00	22,00
AZ	1,75	1,04	0,37	59,15	0,00	3,00
HBB	4,00	2,14	0,76	53,45	1,00	7,00
KSB	1,50	1,41	0,50	94,28	1,00	4,00
TB	2,75	1,98	0,70	72,07	1,00	6,00
ZVB	1,75	1,49	0,53	85,03	0,00	4,00
ZB	0,63	0,92	0,32	146,58	0,00	2,00
RCK	0,75	1,04	0,37	138,01	0,00	2,00
MH	1,37	1,30	0,46	94,73	2,00	3,00
VH	0,38	0,52	0,18	138,01	0,00	1,00
IF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Skupina TB</b>						
MZF	11,12	2,42	0,85	21,72	8,00	15,00
AZ	0,88	0,83	0,30	95,37	0,00	2,00
HBB	2,87	1,13	0,40	39,16	1,00	4,00
KSB	1,00	1,20	0,42	119,52	0,00	3,00
TB	2,37	1,06	0,38	44,66	1,00	4,00
ZVB	0,75	1,16	0,41	155,33	0,00	3,00
ZB	0,25	0,46	0,16	185,16	0,00	1,00
RCK	0,75	0,71	0,25	94,28	0,00	2,00
MH	1,25	0,71	0,25	56,57	0,00	2,00
VH	0,63	0,92	0,32	146,58	0,00	2,00
IF	0,38	0,74	0,26	198,41	0,00	2,00
<b>Skupina KB</b>						
MZF	14,87	4,39	1,55	29,51	8,00	21,00
AZ	0,25	0,46	0,16	185,16	0,00	1,00
HBB	3,75	1,98	0,70	52,85	2,00	8,00
KSB	2,62	1,85	0,65	70,35	0,00	6,00
TB	2,62	0,92	0,32	34,90	2,00	4,00
ZVB	0,50	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
ZB	1,62	1,60	0,56	98,34	0,00	4,00
RCK	0,50	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
MH	2,37	0,92	0,32	38,57	1,00	4,00
VH	0,38	0,52	0,18	138,01	0,00	1,00
IF	0,25	0,46	0,16	185,16	0,00	1,00

Skupina GB						
<b>MZF</b>	11,25	3,37	1,19	29,96	6,00	17,00
<b>AZ</b>	1,12	1,13	0,40	100,09	0,00	3,00
<b>HBB</b>	2,37	0,74	0,26	31,33	1,00	3,00
<b>KSB</b>	0,75	0,89	0,31	119,19	0,00	2,00
<b>TB</b>	2,00	1,31	0,46	65,47	0,00	4,00
<b>ZVB</b>	1,00	0,76	0,27	75,59	0,00	2,00
<b>ZB</b>	0,50	0,76	0,27	151,19	0,00	2,00
<b>RCK</b>	0,38	0,52	0,18	138,01	0,00	1,00
<b>MH</b>	2,00	1,20	0,42	59,76	0,00	4,00
<b>VH</b>	0,75	1,16	0,41	155,33	0,00	3,00
<b>IF</b>	0,38	0,74	0,26	198,41	0,00	2,00

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**MZF** – všetky morfológicky zmenené spermie; **AZ** – akrozomálne zmeny; **HBB** – hlavička bez bičíka; **KSB** – kľučkovité stočenie bičíka; **TB** – torzo bičíka; **ZVB** – zvinutie bičíka; **ZB** – zlomený bičík; **RCK** – retencia cytoplazmatickej kvapky; **MH** – malá hlavička; **VH** – veľká hlavička; **OHB** – ohnutý bičík; **IF** – iné formy morfológicky zmenených spermíí

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.16:** Koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov

	<b>x</b>	<b>sd</b>	<b>se</b>	<b>cv</b>	<b>minimum</b>	<b>maximum</b>
<b>Skupina CA / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,40</b>	3,57	1,26	42,52	3,97	12,86
<b>MDA</b>	<b>52,05</b>	10,57	3,74	20,32	32,29	62,80
<b>Skupina SA / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,01</b>	3,09	1,09	44,15	3,71	12,07
<b>MDA</b>	<b>51,79</b>	11,28	3,99	21,79	29,20	62,42
<b>Skupina RA / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>6,53</b>	2,21	0,78	33,80	3,87	9,77
<b>MDA</b>	<b>39,81</b>	22,99	8,13	57,74	6,49	66,87
<b>Skupina PA / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>12,03</b>	10,77	3,81	89,47	4,13	36,90
<b>MDA</b>	<b>44,24</b>	14,60	5,16	32,99	14,88	62,46
<b>Skupina TA / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,51</b>	3,28	1,16	43,67	3,61	12,70
<b>MDA</b>	<b>50,14</b>	5,17	1,83	10,32	41,02	55,08
<b>Skupina KA / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>10,11</b>	4,59	1,62	45,37	3,97	17,41
<b>MDA</b>	<b>53,30</b>	10,94	3,87	20,53	36,18	69,69
<b>Skupina GA / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,60</b>	6,79	2,40	78,92	24,46	8,60
<b>MDA</b>	<b>59,26</b>	25,31	8,95	42,71	112,81	59,26
<b>Skupina CA / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,19</b>	4,61	2,31	56,31	3,97	12,86
<b>MDA</b>	<b>50,26</b>	13,31	6,65	26,48	32,29	62,80
<b>Skupina SA / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,21</b>	3,69	1,84	44,86	4,09	12,07
<b>MDA</b>	<b>51,38</b>	15,04	7,52	29,27	29,20	62,42
<b>Skupina RA / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>6,72</b>	2,16	1,08	32,18	4,29	9,30
<b>MDA</b>	<b>49,89</b>	15,98	7,99	32,02	27,27	64,83
<b>Skupina PA / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,43</b>	3,73	1,86	50,16	4,13	12,28
<b>MDA</b>	<b>47,96</b>	6,35	3,18	13,25	43,25	57,02
<b>Skupina TA / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,73</b>	4,54	2,27	51,95	3,61	12,70

<b>MDA</b>	<b>45,85</b>	3,57	1,79	7,79	41,02	48,73
<b>Skupina KA / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>9,21</b>	4,10	2,05	44,46	3,97	12,70
<b>MDA</b>	<b>54,10</b>	7,23	3,61	13,36	43,90	60,34
<b>Skupina GA / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>6,90</b>	3,24	1,62	47,02	3,97	10,87
<b>MDA</b>	<b>50,12</b>	8,65	4,32	17,25	37,23	55,71
<b>Skupina CA / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,60</b>	2,89	1,44	33,59	6,43	12,81
<b>MDA</b>	<b>53,83</b>	8,68	4,34	16,12	44,36	61,55
<b>Skupina SA / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>5,80</b>	2,21	1,10	38,06	3,71	7,74
<b>MDA</b>	<b>52,20</b>	8,39	4,20	16,08	42,16	60,58
<b>Skupina RA / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>6,34</b>	2,57	1,28	40,51	3,87	9,77
<b>MDA</b>	<b>29,73</b>	26,59	13,29	89,43	6,49	66,87
<b>Skupina PA / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>16,63</b>	14,15	7,07	85,06	4,39	36,90
<b>MDA</b>	<b>40,52</b>	20,49	10,25	50,57	14,88	62,46
<b>Skupina TA / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>6,29</b>	0,73	0,36	11,59	5,49	7,21
<b>MDA</b>	<b>54,43</b>	0,77	0,38	1,41	53,34	55,08
<b>Skupina KA / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>11,02</b>	5,50	2,75	49,88	4,08	17,41
<b>MDA</b>	<b>52,50</b>	15,01	7,51	7,51	36,18	69,69
<b>Skupina GA / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>10,30</b>	9,45	4,72	91,73	5,23	24,46
<b>MDA</b>	<b>68,40</b>	34,60	17,30	50,58	28,28	112,81

**C** – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);

**S** – kyselina salicylová; **P** – pyrokatechol; **R** – rezorcinol; **T** – trehalóza; **K** – kofeín; **G** – glutatión;

**A** – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; **B** – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>

**ALB** – albumíny, **MDA** – malondialdehyd

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A** – p<0,05; **B** – p<0,01; **C** – p<0,001

**x** – priemer; **sd** – smerodajná odchýlka; **se** – štandardná chyba; **cv** – variačný koeficient

**Tabuľka č. 4.17:** Koncentrácie vybraných biochemických parametrov v kultivačnom médiu po pridaní sledovaných implementorov

	<b>x</b>	<b>sd</b>	<b>se</b>	<b>cv</b>	<b>minimum</b>	<b>maximum</b>
<b>Skupina CB / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,39</b>	4,41	1,56	52,53	2,19	15,31
<b>MDA</b>	<b>50,38</b>	11,16	3,95	22,15	40,29	68,67
<b>Skupina SB / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,44</b>	3,21	1,13	43,13	3,66	13,80
<b>MDA</b>	<b>48,52</b>	18,13	6,41	37,36	25,60	79,59
<b>Skupina RB / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,85</b>	5,07	1,79	57,23	3,92	19,19
<b>MDA</b>	<b>46,10</b>	11,48	4,06	24,89	30,82	64,65
<b>Skupina PB / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,89</b>	4,20	1,48	53,21	4,65	16,78
<b>MDA</b>	<b>39,36</b>	10,74	3,80	27,28	24,89	50,60
<b>Skupina TB / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,48</b>	2,85	1,01	38,15	3,66	11,55
<b>MDA</b>	<b>59,56</b>	7,93	2,80	13,31	48,48	75,70
<b>Skupina KB / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,83</b>	4,50	1,59	50,97	3,76	18,35
<b>MDA</b>	<b>48,47</b>	16,38	5,79	33,79	21,66	64,25
<b>Skupina GB / bez ohľadu na teplotu kultivácie</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,78</b>	3,19	1,13	41,03	3,71	11,76
<b>MDA</b>	<b>52,70</b>	14,10	4,99	26,76	27,11	72,86
<b>Skupina CB / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,43</b>	2,96	1,48	35,06	5,02	10,98
<b>MDA</b>	<b>53,94</b>	13,41	6,70	24,86	41,72	68,67
<b>Skupina SB / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,95</b>	4,19	2,09	46,78	3,66	13,80
<b>MDA</b>	<b>48,13</b>	16,81	8,40	34,91	25,60	66,27
<b>Skupina RB / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>10,91</b>	6,46	3,23	59,18	3,92	19,19
<b>MDA</b>	<b>49,67</b>	6,44	3,22	12,97	40,55	55,70
<b>Skupina PB / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,77</b>	5,61	2,80	63,97	4,81	16,78
<b>MDA</b>	<b>36,48</b>	11,41	5,70	31,27	24,89	49,75
<b>Skupina TB / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,58</b>	3,95	1,97	52,10	3,66	11,55



<b>MDA</b>	<b>58,76</b>	11,97	5,98	20,37	48,48	75,70
<b>Skupina KB / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>10,87</b>	5,54	2,77	50,99	6,64	18,35
<b>MDA</b>	<b>49,55</b>	18,10	9,05	36,54	23,85	64,25
<b>Skupina GB / 5°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,21</b>	3,57	1,79	49,53	3,71	10,77
<b>MDA</b>	<b>57,04</b>	11,62	5,81	20,36	47,05	72,86
<b>Skupina CB / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,35</b>	6,05	3,02	72,45	2,19	15,31
<b>MDA</b>	<b>46,82</b>	8,77	4,39	18,74	40,29	59,74
<b>Skupina SB / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>5,93</b>	0,66	0,33	11,15	5,07	6,64
<b>MDA</b>	<b>48,91</b>	22,00	11,00	44,97	27,29	79,59
<b>Skupina RB / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>6,80</b>	2,63	1,32	38,70	4,76	10,51
<b>MDA</b>	<b>42,52</b>	15,22	7,61	35,79	30,82	64,65
<b>Skupina PB / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,00</b>	2,75	1,37	39,26	4,65	10,98
<b>MDA</b>	<b>42,24</b>	10,81	5,40	25,59	27,27	50,60
<b>Skupina TB / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>7,39</b>	1,84	0,92	24,95	5,54	9,90
<b>MDA</b>	<b>60,36</b>	1,33	0,67	2,21	58,61	61,76
<b>Skupina KB / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>6,79</b>	2,34	1,17	34,46	3,76	9,15
<b>MDA</b>	<b>47,40</b>	17,19	8,59	36,26	21,66	57,28
<b>Skupina GB / 37°C</b>						
<b>ALB</b>	<b>8,34</b>	3,18	1,59	38,19	5,23	11,76
<b>MDA</b>	<b>48,35</b>	16,70	8,35	34,54	27,11	63,22

**C – kontrolná skupina (bez prídavku implementora);**

**S – kyselina salicylová; P – pyrokatechol; R – rezorcinol; T – trehalóza; K – kofeín; G – glutatión;**

**A – koncentrácie implementora 2 mg.ml<sup>-1</sup>; B – koncentrácia implementora 1 mg.ml<sup>-1</sup>**

**ALB – albumíny, MDA – malondialdehyd**

**Preukaznosť rozdielov medzi kontrolnou skupinou a experimentálnymi skupinami:**

**A – p<0,05; B – p<0,01; C – p<0,001**

**x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient**