

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH  
ZDROJOV**

2125442

**FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE POHYBLIVOSŤ SPERMÍÍ  
– KYSELINA SALICYLOVÁ**

**2011**

**Dominika Skopalová, Bc.**

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA  
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH  
ZDROJOV**

**FAKTORY OVPLYVŇUJÚCE POHYBLIVOSŤ SPERMIÍ  
– KYSELINA SALICYLOVÁ**

**Diplomová práca**

Študijný program:	Špeciálne chovateľské odvetvia
Študijný odbor:	4179800 živočíšna produkcia
Školiace pracovisko:	Katedra fyziológie živočíchov
Školiteľ:	Peter Massányi, prof. MVDr. PhD.

**Nitra 2011**

**Dominika Skopalová, Bc.**

## **Čestné vyhlásenie**

Podpísaná Bc. Dominika Skopalová vyhlasujem, že som diplomovú prácu na tému „Faktory ovplyvňujúce pohyblivosť spermií – kyselina salicylová“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Diplomová práca nadväzuje na bakalársku prácu Skopalová, D. 2009. Analýza pohyblivosti spermií králika. Bakalárska práca, 2009, SPU, Nitra, 40 s.

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

V Nitre 22. marca 2011

Dominika Skopalová

## **Pod'akovanie**

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

Veľké pod'akovanie patrí aj mojej rodine a priateľovi, ktorí ma podporovali počas celého môjho štúdia .

V Nitre 22. marca 2011

Dominika Skopalová

## **Abstrakt**

V diplomovej práci sme sledovali parametre pohyblivosti spermií býkov s využitím CASA analýzy po pridaní kyseliny salicylovej. Predpokladom bolo využitie ako aditívum k ejakulátom pri využití v chovateľskej praxi.

Parametre pohyblivosti sme sledovali pri teplote 37°C v piatich časových intervaloch s jedn hodinovým odstupom (0, 60, 120, 180 a 240 minút) a pri teplote 5°C v štyroch časových intervaloch (24, 48, 72 a 168 hodín).

Celková pohyblivosť spermií sa pohybovala medzi 15,38 – 62,16% (SA skupina – 2 mg.ml<sup>-1</sup>) a 26,86 - 76,30% (SB skupina – 1 mg.ml<sup>-1</sup>). Preukazne najnižšie percento pohyblivosti vykazujú časy namerané po 24 hodinách. Výsledky v skupine SB dokazujú preukazný pokles až po 24 hodinách. Percento progresívnej pohyblivosti bolo nižšie skupine SA a v skupine SB. Preukazne nižšie hodnoty boli namerané v skupine SA. Najnižšie hodnoty sme zaznamenali pri v teplote 5°C po 24 hodinách. Preukazný pokles v skupine SB nastal pri teplote 5°C v čase po 24 hodinách.

Pri sledovaní dráhových parametrov sme zistili preukazne nižšie hodnoty už pri prvom meraní v skupine SA (po 24 hodinách). V skupine SB sme pozorovali postupné preukazné znižovanie hodnôt v rozpätí 16,28 – 11,17 μm. V tejto skupine všetky tri dráhové parametre vykazujú preukazne klesajúce hodnoty. V skupine rýchlostných parametroch sme zistili podobné tendencie.

Dosiahnuté originálne výsledky preukázali negatívny účinok kyseliny salicylovej, ktorá sa považuje za antioxidant, na pohybové parametre spermií in vitro.

**Kľúčové slová:** býk, spermie, pohyblivosť, CASA, teplota, kyselina salicylová

## **Abstract**

### **Factors Effecting Spermatozoa Motility – Salicylic Acid**

In this diploma thesis, bull spermatozoa motility parameters were analyzed using the CASA analysis after an addition of salicylic acid. The usage of this substance as an additional semen substance in breeding practice was anticipated.

Motility parameters were monitored at 37°C in five time intervals (0, 60, 120, 180 and 240 minutes) and at 5 ° C in four time intervals (24, 48, 72 and 168 hours).

The total spermatozoa motility ranged between 15.38 – 62.16% (SA group – 2 mg/ml) and 26.86 – 76.30% (SB group – 1 mg/ml). The significantly lowest percentage of spermatozoa motility was found after 24 hours of culture. The percentage of progressive motility was lower in SA group as well as in SB group. Significantly lower values were detected in SA group. The lowest values were recorded at temperature of 5° C and after 24 hours. A significant decrease was observed in SB group at 5°C during the course of 24 hours.

Measurement of path (distance) parameters detected significantly lower values even for the first measurement in SA group (after 24 hours). In SB group a gradual significant decrease in the range of 16.28 – 11.17 µm was detected. In this group all three path parameters show significantly decreasing tendency. Similar tendency is reported for all velocity parameters.

Obtained original results achieved negative effect of salicylic acid, which is consider as an antioxidant, on spermatozoa motility parameters in vitro.

**Key words:** bull, sperm motility, CASA, temperature, salicylic acid

## Zoznam tabuliek a grafov

Tab. 1 Rýchlosť pohybu spermíí	19
Tab. 2 Základné charakteristiky ejakulátu domácich zvierat	20
Tab. 3 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 0	32
Tab. 4 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 0	33
Tab. 5 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 1	34
Tab. 6 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 1	35
Tab. 7 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 2	36
Tab. 8 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 2	37
Tab. 9 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 3	38
Tab. 10 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 3	39
Tab. 11 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 4	40
Tab. 12 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 4	41
Tab. 13 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 5	42
Tab. 14 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 5	43
Tab. 15 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 6	44
Tab. 16 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 6	45
Tab. 17 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 7	46
Tab. 18 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 7	47
Tab. 19 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 8	48
Tab. 20 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v čas. obd. – ČAS 8	49
Graf 1 Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	50
Graf 2 Progresívna pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	50
Graf 3 Priemerná prejdená dráha spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	51
Graf 4 Krivočiarová dráha pohybu spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	51
Graf 5 Priama dráha spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	52
Graf 6 Priemerná dráhová rýchlosť spermíí po pridaní kys. salicylovej	52
Graf 7 Krivočiarová rýchlosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	53
Graf 8 Rýchlosť prejdenej pr. dráhy spermíí po pridaní kys. salicylovej	53
Graf 9 Priamosť pohybu spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	54
Graf 10 Linearita pohybu spermíí po pridaní kyseliny salicylovej	54

Graf 11 Kmitanie spermií po pridaní kyseliny salicylovej	55
Graf 12 Amplitúda laterálneho posunu hlavičky po pridaní kys. salicylovej	55
Graf 13 Frekvencia úderov spermií po pridaní kyseliny salicylovej	56



# Obsah

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>1 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky</b> .....	<b>10</b>
1.1 Vývoj spermíí – spermatogenéza.....	10
1.1.1 Rozmnožovanie.....	11
1.1.2 Meióza.....	11
1.1.3 Metamorfóza (spermiogenéza).....	12
1.2 Morfológia spermie.....	12
1.2.1 Hlavička spermie ( <i>caput spermii</i> ).....	13
1.2.1.1 Nukleoplazma .....	14
1.2.1.2 Akrozóm .....	14
1.2.1.3 Postakrozomálna čiapka .....	15
1.2.2 Bičík (flagellum spermii).....	15
1.2.2.1 Krčok (centriolový oddiel) bičíka.....	15
1.2.2.2 Mitochondriálny oddiel bičíka.....	16
1.2.2.3 Hlavný oddiel bičíka .....	16
1.2.2.4 Koncový (terminálny) oddiel bičíka .....	16
1.3 Motilita spermíí.....	16
1.3.1 Metabolizmus spermíí .....	17
1.3.2 Ejakulát.....	20
1.4. Kyselina salycilová .....	22
<b>2 Cieľ práce</b> .....	<b>25</b>
<b>3 Materiál a metodika práce</b> .....	<b>26</b>
<b>4 Výsledky</b> .....	<b>29</b>
<b>5 Diskusia</b> .....	<b>57</b>
<b>6 Návrh na využitie výsledkov</b> .....	<b>60</b>
<b>7 Záver</b> .....	<b>61</b>
<b>8 Zoznam použitej literatúry</b> .....	<b>62</b>

---

# ÚVOD

Riadená reprodukcia hospodárskych zvierat predstavuje predpoklad rozvíjania úžitkovosti hospodárskych zvierat.

Umelá inseminácia plní už viac ako 70 rokov efektívnu úlohu na celom svete pri zlepšovaní genofondu úžitkových vlastností hospodárskych zvierat a veterinárnej starostlivosti o reprodukčný proces, ako aj pri využívaní biotechnologických metód riadenej reprodukcie. Umelá inseminácia predstavuje alternatívny spôsob oplodnenia, ktorý sa stále viac uplatňuje v reprodukcii zvierat z dôvodov ekonomických, technických, organizačných alebo zdravotných.

Prvá úspešná inseminácia prebehla v 18. storočí a vykonal ju taliansky fyziológ Spallanzani, ktorý inseminoval sučku. Ďalší záujem o umelú insemináciu bol prejavovaný až koncom 19. storočia, kedy sa robili ďalšie pokusy v Európe a v Amerike.

Ivanov ako prvý na svete prepracoval základné teoretické otázky a techniku inseminácie a je tak považovaný za zakladateľa inseminácie hospodárskych zvierat.

Za hlavné úlohy umelej inseminácie sú považované rôzne aspekty. Patrí medzi ne zvýšenie úžitkovosti zvierat, dosiahnutie značného počtu potomstva, rýchle zošľachtenie chovu zvierat, rýchle poznanie hodnoty mladých plemenníkov podľa potomstva a zníženie nákladov na chov plemenníkov.

Kvalitatívne hodnotenie pohyblivosti spermíí je dôležitý krok v objektivizácii selekcie ejakulátov pre umelú insemináciu. Toto hodnotenie nám umožňujú laboratórne a komputerové metódy, ktoré určujú biologickú plnohodnotnosť ejakulátu. Jej pomocou je možné zistiť, či vlastnosti ejakulátu zodpovedajú fertilizačným požiadavkám.

Hypotézou diplomovej práce bola využiteľnosť kyseliny salicylovej, ako látky s antioxidantnými vlastnosťami, ako prídavku do ejakulátu plemených zvierat používaných v chovateľskej praxi.

---

# 1 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky

## 1.1 Vývoj spermii – spermatogenéza

Podľa súčasných vedeckých poznatkov spermatogézu chápeme ako extrémne komplikovaný proces vývoja vysoko špecializovanej samčej pohlavnej bunky. V tomto procese sa relatívne málo diferencované kmeňové bunky spermatogónie transformujú na spermie. Pohlavné bunky sa diferencujú kontinuálnym a ireverzibilným spôsobom (Massányi, 1991).

Napriek tomu, že spermia sa svojim zložením zdá byť jednoduchá, jej vývoj trvá niekoľko mesiacov. Spermie sa začínajú tvoriť v čase pohlavnej dospelosti. Na začiatku tejto vývojovej etapy ešte nemá tvorba spermii cyklický charakter. S dosiahnutím pohlavnej dospelosti a stabilizácií neuroendokrinnnej regulácie pohlavných funkcií prebieha spermatogenéza u väčšiny hospodárskych zvierat v pravidelných cykloch v priebehu celého roku a nedá sa ani urýchliť ani spomaliť (Massányi et al., 2002). Pravidelné cykly za sebou nasledujú v presných časových intervaloch, pričom každý cyklus začína asi o  $\frac{1}{4}$  dĺžky cyklu neskôr než predchádzajúci (Jelínek et al., 2003).

Cykly začínajú postupne a šíria sa vlnovite po celej dĺžke kanálíka. Pri zvieratách s normálne vyvinutou pohlavnou sústavou prebieha spermatogenéza celý život a končí v seniu (Kulíšek et al., 2006).

Sertoliho bunky sú v semenníku zastúpené v menšom počte. Sú to štíhle pyramídové bunky, ktoré nasadajú svojou širokou bázou na vonkajšiu väzivovú vrstvu steny semenotvorného kanálíka a apikálnym pólom dosahujú lúmen semenotvorného kanálíka. Usporiadané sú v pravidelných odstupoch po obvode kanálíka a sú medzi sebou spojené systémom výbežkov vytvárajúcich dutinky, v ktorých sú uložené spermatogénne elementy (Lukáč et al., 2007).

Počas priebehu spermatogenézy prechádzajú bunky semenotvorného epitelu niekoľkými etapami vývoja. Spermatogenéza má nasledujúce fázy: rozmnožovanie, meiózu a metamorfózu (Massányi, 1997; Cigánková et al., 1993, 1996).

---

### 1.1.1 Rozmnožovanie

Rozmnožovanie je spojené s mnohonásobným delením a postupnou diferenciáciou buniek. Vznikajú nasledovné spermatogónie: A–spermatogónie (materská bunka), Im–spermatogónie (spermatogónie intermediárneho typu) a B–spermatogónie. Spermatogónie sa mitoticky delia, pričom sú východiskovou bunkou spermatogenézy.

A–spermatogónie sú kmeňové materské bunky nachádzajúce sa na obode semenotvorných kanálikov. Sú to veľké bunky guľatého tvaru s malým množstvom cytoplazmy. Jadro obklopené tenkou membránou má elipsovité tvar s dlhou osou, ktorá leží paralelne so stenou tubulov. V centre jadra leží veľké jadierko.

Im–spermatogónie vznikajú delením A–spermatogónií tak, že okrem jednej dcérskej bunky, ktorá sa podobá materskej, vzniká druhá bunka vyššie diferencovaná, intermediárneho typu. Táto bunka je podobná A–spermatogónií, ale s tým rozdielom, že má menšie jadro, ktoré je bohatšie na chromatin.

B–spermatogónie sú pokračovaním spermatogónií intermediárneho typu, po niekoľkonásobnom rozdelení a rozmnožení. Tieto bunky sú charakteristické tým, že chromatin sa nachádza v blízkosti jadrovej membrány vo forme kôrovitého zhrubnutia. Od A–spermatogónie sa líši tvarom chromozómov a veľkosťou, ktorá sa mení počas mitotického delenia.

Spermatocyty I. radu sú okrúhle bunky (12 – 17  $\mu\text{m}$ ) s veľkým jadrom, ktoré sa na rozdiel od spermatogónií slabšie farbja. Postupujú od obvodu semenotvorných kanálikov smerom do stredu a tvoria druhý rad semenotvorných buniek. V prvom rade sa nachádzajú spermatogónie (Massányi, 1991).

### 1.1.2 Meióza

Meiózu charakterizuje rast a zrecie delenie spermatocytov. Pri prvom meiotickom delení vznikajú zo spermatocytov I. radu spermatocyty II. radu a pri druhom delení spermatidy, posledná najpočetnejšia generácia vo vývoji spermií.

Meióza sa skladá z dvoch po sebe nasledujúcich a funkčne úzko spojených bunkových delení, ktoré sa vyznačujú zmenami na chromozómoch a ich delením.

---

Cieľom meiózy je výmena materiálu medzi homologickými chromozómami a redukcia ich počtu na polovicu (z diploidného na haploidný počet). Toto sa dosahuje tým, že sa chromozómy počas dvoch delení buniek len raz úplne rozštiepia (Gamčík et al., 1992).

Meiotické delenia a spermatocyty I. radu znamenajú v spermatogenéze kritické štádium. Pri porušení deliaceho procesu sa môžu vyvinúť spermie bez fertilizačných vlastností. Nepravidelnosť v meióze bola zaznamenaná predovšetkým pri mladých jedincoch (Johnson a Everit, 2000).

### **1.1.3 Metamorfóza (spermiogenéza)**

V tomto období sa mení okrúhla spermia na štíhlu spermium, ktorá obsahuje všetky vlastnosti na úspešné splnenie procesu oplodnenia. Počas procesu premeny si bunka vytvára pohybový ústroj (bičík) a formuje sa na penetráciu vajíčka (vznik akrozómu). Metamorfóza sa delí na Golgiho štádium, štádium akrozómovej čiapočky, štádium kaudálnej manžety a štádium zrenia (Massányi et al., 2002).

## **1.2 Morfológia spermie**

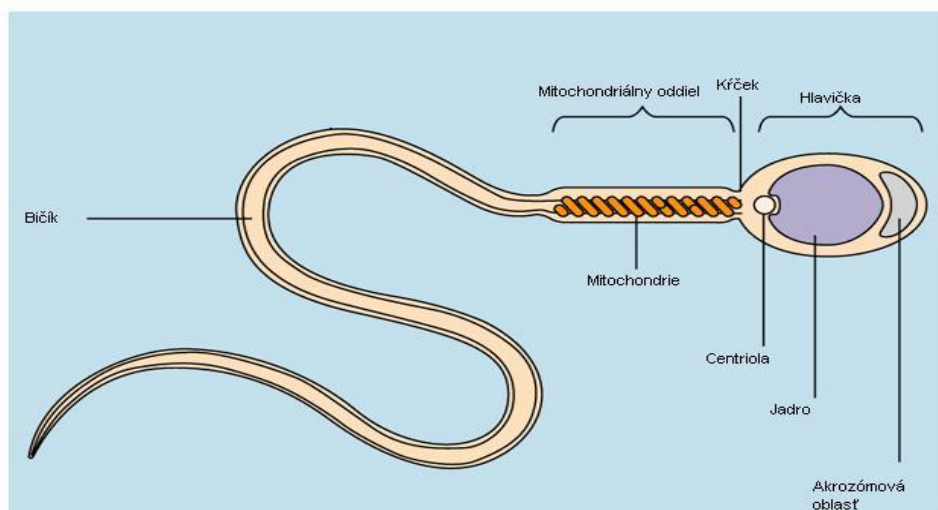
Spermie objavil v roku 1677 Leewenhoekov žiak Hamm z Leidenu. Leewenhoek popísal spermie ako čulo sa pohybujúce útvary s charakteristickou stavbou – primitívne „zárodky“, ktoré v ejakuláte parazitujú. Od neho pochádza aj starší, dosiaľ niekedy používaný názov samčej pohlavnej bunky – *spermatozoon*. Podľa vtedajších predstáv hlavička tohto semenného zvieraťa obsahovala miniatúru celého budúceho individua (Massányi et al., 2004).

Spomedzi všetkých metazoických buniek sú spermie najviac špecializovanými bunkami. Ich rozmanitá a niekedy spleť morfológia je prispôbená hlavnej funkcii – odovzdanie obsahu ich pôvodu alebo spojenie spermie a vajíčka pri fertilizácii (Birkhead et al., 2009).

Spermie sú samčie pohlavné bunky. Vznikajú v semenotvornom kanálíku procesom, ktorý nazývame spermatogenéza. Normálna spermia sa skladá z dvoch

---

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



Obrázok č. 1: Stavba spermie (Animal Reproduction, 1999)

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

V jadre hlavičky spermie je uložený otcovský dedičný materiál. Jeho obsah v zrelej spermii predstavuje kondenzovaný chromatín. Od jadier somatických buniek sa líši tým, že má polovičný obsah DNA a chromatín v ultratenkých rezoch nie je usporiadaný do vlákna štruktúry, ale tvorí kompaktnú masu. Nukleoplazma neobsahuje jadrovú tekutinu a pripomína tzv. pyknotické jadro (Massányi 1991).

Hlavnou úlohou hlavičky je preniesť dedičný materiál lokalizovaný v nukleoplazme. Skladá sa z nukleoplazmy (jadro) a štruktúr jadrového pôvodu, akrozómálneho systému a postakrozómálnej čiapky. Zo strán je sploštená, pri pohľade zhora má lyžičkovitý tvar, vpredu býva zahrotená. Celá hlavička je pokrytá cytoplazmatickou membránou, ktorá prechádza cez bičik (Cole, 1969).

---

### 1.2.1.1 Nukleoplazma

Nukleoplazma vyplňa celé jadro hlavičky spermie. Jej štruktúra je homogénna a kompaktná, tvar jadra je identický s tvarom hlavičky. V jadre sa nachádza otcovský dedičný materiál v kondenzovanej forme v podobe DNA (Massányi et al., 2002).

V nukleoplazme môžeme príležitostne pozorovať väčšie alebo menšie svetlé prázdne miesta, vakuoly. Vakuoly sa najčastejšie nachádzajú na apikálnom okraji a ekvatoriálnom segmente hlavičky spermie. Vakuoly sa môžu vyskytovať pri 2 – 80% spermii, vyššie percento výskytu má vplyv na plodnosť. Hoci u niektorých druhov, napríklad u človeka, je výskyt vakuol v nukleoplazme spermii pomerne častý, tento jav je nenormálny a vakuoly treba zaradiť medzi primárne štrukturálne malformácie spermii (Gamčík et al., 1992).

Jadro obaľuje nukleárna membrána, ktorá je dvojvrstvová, pri báze hlavičky o niečo hrubšia. Jadrové póry, ktoré sú miestom výmeny materiálu medzi jadrom a cytoplazmou, sa v spermii nevyskytujú, okrem malého úseku v okolí tzv. bazálnych teliesok. Tieto malé telieska predstavujú malé množstvo fibrilárneho chromatinu uloženého na báze hlavičky. Ich význam je nejasný. Predpokladá sa, že v spermii cicavcov sú jediným miestom, kde je možná syntéza RNA (Massányi et al., 2002).

### 1.2.1.2 Akrozóm

Akrozóm (akrozomálny systém, hlavičková čiapka) pokrýva prednú časť hlavičky spermie, zaberajúci takmer 50% jej plochy. Jedná sa o cytoplazmatický útvar čiapočkovitého tvaru, nachádzajúci sa medzi cytoplazmatickou a nukleárnou membránou. Vnútro akrozomálneho systému tvorí akrozomálny materiál, predovšetkým nasledovné enzýmy: hyaluronidáza, akrozín, proakrozín, esterázy, neuraminidáza, kyslá fosfatáza, fosfolipáza A, N-acetylglukozaminidáza, arylamidáza a iné. Tieto enzýmy plnia významnú úlohu – napomáhajú k penetrácii a rozpúšťaniu obalov vajíčka pri kontakte spermii so samičou pohlavnou bunkou (Alberts et al., 1998).

---

### 1.2.1.3 Postakrozomálna čiapka

Postakrozomálnou čiapkou sa označuje materiál, ktorý leží tesne pod cytoplazmatickou membránou v postakrozómovej oblasti. Zatiaľ sa nepozná jej biochemické zloženie. Vzhľadom na súčasné poznatky o morfogenéze ju treba považovať za cytoplazmatickú organelu. Záujem o štúdium v tejto časti spermie zvýšili zistenia, že v postakrozómovej oblasti dochádza k prvému spojeniu a splynutiu spermie s vajíčkom (Jeyendran, 2002).

### 1.2.2 Bičik (flagellum spermii)

Bičik ako ústroj pohybu sprostredkúva transport spermie na miesto oplodnenia. Dôležitú úlohu má pritom mitochondriálny aparát, ktorý vyrába energiu a komplex axiálnych vlákien ako miesto, kde sa táto energia mení na mechanickú – na pohyb spermie. Bičik pozostáva z niekoľkých častí, ktoré sa líšia lokalizáciou, štruktúrou a funkciou (Kulíšek et al., 2006):

- krčok (centriolový – implantačný oddiel),
- telo (stredný – mitochondriálny oddiel),
- chvost (hlavný a koncový terminálny oddiel).

#### 1.2.2.1 Krčok (centriolový oddiel) bičika

Krčok spermie je najdôležitejšou časťou spermie. Jeho dĺžka je 2 – 3  $\mu\text{m}$  a spojuje hlavičku s bičíkom spermie. Obsahuje dva za sebou uložené centrioly (proximálny a distálny) a segmentové chordy. Tieto časti tvoria jeho morfológický základ (Jelínek et al., 2003).

Úplne sa zachováva len proximálny centriol, z ktorého vznikajú segmentované a nesegmentované chordy a fibrózna pošva. Distálny centriol je pri zrelej spermii len rudimentárny. Proximálny centriol so segmentovanými chordami vytvárajú hlavičku bičika, ktorá zapadá do implantačnej jamky (Massányi, 1991).



---

#### **1.2.2.2 Mitochondriálny oddiel bičíka**

Mitochondriálny oddiel je pokračovaním centriolového oddielu (Massányi, 1991). Je charakteristický prítomnosťou mitochondrií, ktoré sú stabilné, špirálovite usporiadané okolo hladkých chord a tvoria závitnicovú pošvu. Distálne je stredný oddiel ohraničený Jensenovým prstencom (*anulus*).

#### **1.2.2.3 Hlavný oddiel bičíka**

Hlavný oddiel je najdlhšia časť bičíka a celej spermie vôbec. Jeho podkladom sú osové vlákna a do  $\frac{3}{4}$  dĺžky aj hladké chordy. Chordy sú omnoho tenšie až slepo končia. Poslednú  $\frac{1}{4}$  hlavného oddielu tvoria už len osové vlákna pokryté fibróznou pošvou. Fibrózna pošva zabezpečuje súdržnosť osových vlákien, ale aj pevnosť a pružnosť potrebnú na kmitanie bičíka (Bóznér et al., 1992).

#### **1.2.2.4 Koncový (terminálny) oddiel bičíka**

Koncový oddiel bičíka pozostáva z osových vlákien obalených cytoplazmatickou membránou. Je to najdistálnejšia časť bičíka spermie. Plné vlákna dubletov sa v tomto úseku menia na duté a pravidelné usporiadanie axonémy sa strácajú (Kulíšek et al., 2006).

### **1.3 Motilita spermii**

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 epididymálne 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 spermii priľnúť 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 u väčšiny bičíkovcov a bunkách cílií od prvokov až po človeka s relatívne malými modifikáciami. Táto revolučná stabilita indikuje, že axonémálne komponenty majú dostatočnú rozmanitosť v štruktúre a funkcii prispôbiť 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 mikrotubulu A smerom k mikrotubulu B priľahlé duplety, ktoré sú najdôležitejšími hráčmi v aktívnom kĺzaní mikrotubúl. Susedné mikrotubulové duplety sú navzájom pripojené prostredníctvom nexínových spojok (Bozkurt a Wooleym 1993) a radiálne lúče poukazujú plášť obklopený dvomi singletovými mikrotubulmi v strede axonémy (Smith a Yang, 2004).

Hoci zmeny dozrievania spermii 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).

### **1.3.1 Metabolizmus spermii**

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 pohybových cyklov vznikajú, sa zvyšujú postupne k distálnemu koncu bičíka. Hlavička rotuje okolo vlastnej pozdĺžnej osi počas všetkých kontraktilných cyklov. Spermie s poškodeným pohybovým systémom a energeticky vyčerpané nerotujú (Massanyi et al., 2002).

Energia potrebná pre pohyb spermie sa akumuluje v mitochondriálnej pošve bičíka a získa sa štiepením ATP (adenozíntrifosfát). Gibbons a Rowe (1965) demonštrovali, že táto energia sa získava podobnou cestou ako pri iných celulárnych pracovných procesoch – hydrolytickým štiepením ATP (adenozíntrifosfát) na ADP

---

(adenozíndifosfát) a kyselinu fosforečnú. Susedné dublety mikrotubulov sú spojené výbežkami z vysokomolekulovej bielkoviny – dyneínu. Pri hydrolýze sa tieto spojenia prerušia. Dyneín má ATP-ázovú aktivitu.

Mnohé zo závažných údajov o mechanizme pohyblivosti sa preskúmali na ciliách alebo jednoduchších bičíkoch bezstavovcov. Keďže základný mechanizmus pohyblivosti je rovnaký na všetkých pohyblivých bunkových výbežkoch, ktoré majú usporiadanú axonému podľa vzorca 9+2, získané závery platia všeobecne aj pre pohyblivosť bičíkov spermii cicavcov (Massányi, 1991).

Definovali sa podmienky, pri ktorých sa bielkovina mikrotubulov – tubulín – môže *in vitro* polymerizovať do mikrotubulov. Je to typický autoorganizačný proces, podmienený vlastnosťami diméru tubulínu. Po extrakcii dyneínu z bičika môžeme elektrónovým mikroskopom vidieť, že dyneínové ramená sa strácajú. Po expozícii bičika v roztoku dyneínu pri presne definovaných podmienkach sa dyneínové ramená znovu reinkorporujú do axonémy (Gibbons, 1975). Takto sa dokázalo, že ramienka sú molekuly dyneínu.

Enzým trypsín môže odbúrať z axonémy radiálne a nexínové spojky bez porušenia mikrotubulov (Summer a Gibbons, 1973). Keď sa pridá k takýmto trypsinovým flagelám ATP, axonéma sa predĺži a zúži. Zmena spôsobí kĺzanie skupiny dubletov mikrotubulov. Je to priamy dôkaz toho, že dvojice mikrotubulov sú schopné sa popri sebe kĺzať (Massányi a Trandžik, 1991).

Kĺzanie sa experimentálne potvrdilo sledovaním hrotov cílií v rozličných pozíciách ich pohybu. V priereze má každý rôznu dĺžku (Satir, 1965, 1976).

Ak môžu mikrotubuly popri sebe kĺzať pomocou svojich dyneínových ramien, usudzuje sa, že pri správnej postupnosti tejto aktivity a primeraných tlakových silách v axonéme budú vznikať vlny a následne charakteristický pohyb pre spermii. Na základe týchto, ako aj ďalších dôkazov sa utvorila teória o kĺzajúcich sa mikrotubuloch, ktorá sa dnes všeobecne akceptuje. Podľa nej je základom pohyblivosti bičika kĺzavý pohyb vedľa seba uložených dvojíc mikrotubulov. Zdrojom energie je ATP (adenozíntrifosfát). Pohybujú sa dyneínové ramená, ktoré sú v skutočnosti molekuly s adenozíntrifosfátovou aktivitou. Spojenie susedných dubletov mikrotubulov sa počas hydrolýzy ATP preruší. Utváraním a prerušovaním dyneínových mostíkov dochádza k vzájomnému posunu – kĺzaniu – dubletov

mikrotubulov. Tým vzniká určité napätie oproti okolitým dubletom a centrálnemu páru mikrotubulov, čo spôsobuje ohýbanie sa bičíka. Dynamické zmeny v postupnom slede vyvolávajú kmitanie alebo vlnovitý pohyb bičíkov (Massányi et al., 2002).

Gamčík et al. (1992) uvádzajú, že charakteristickým prejavom života spermií a ich fertilizačných vlastností je látková premena a pohyb. Metabolické procesy, prebiehajúce v spermiách, sa využívajú hlavne na zabezpečenie pohybu spermií. Kvalita metabolických procesov závisí od energetických zdrojov, t.j. množstva kvality substrátov a fermentov nachádzajúcich sa v spojovacej časti bičíka spermie.

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).

Druh	Priemerná rýchlosť pohybu		
	$\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	$\mu\text{m}\cdot\text{min}^{-1}$	$\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$
Býk	94 – 150	5,64 – 9,00	350 – 540
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

Tabuľka 1: Rýchlosť pohybu spermií (Gamčík et al., 1992)

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).

### 1.3.2 Ejakulát

Ejakulát je belavá viskózna tekutina, ktorá okrem spermií produkovaných v semenníkoch obsahuje sekrety prídavných pohlavných žliaz, prisemenníka a semenníka. Koncentrácia spermií a celkový objem ejakulátu jednotlivých druhov zvierat uvádza tabuľka č. 2.

Druh	Objem v ml	Koncentrácia v $10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$	Celkový počet spermií v ejakuláte v $10^9 \cdot \text{ml}^{-1}$
Býk	2,0 – 13,0	0,5 – 2,0	1,0 – 26,0
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

Tabuľka 2: Základné charakteristiky ejakulátu domácich zvierat (Gamčík et al., 1992)

---

Podiel semennej plazmy na celkovom objeme ejakulátu vtákov a nižších živočíchov je malý, pričom pri väčšine cicavcov tvorí semenná plazma podstatnú časť ejakulátu (70 – 98%).

V procese ejakulácie podnecuje semenná plazma spermie k pohybu, poskytuje spermiám ochranu proti nepriaznivým vplyvom prostredia, obsahuje látky, ktoré spermie využívajú ako zdroj energie resp. ako transportné médium v intrauterinnom prostredí (Gamčík et al., 1992; Kruger, 1996).

Laboratórna kontrola ejakulátu je dôležitým opatrením na používanie plnohodnotných ejakulátov pri zabezpečovaní dobrej plodnosti prostredníctvom umelej inseminácie. Pojmom kvalitný ejakulát rozumieme biologickú plnohodnotnosť, teda schopnosť oplodniť a dať začiatok novému životu. Ejakulát sa testuje laboratórnymi metódami, ktorými zisťujeme, či vlastnosti ejakulátu zodpovedajú fertilizačným požiadavkám (ide o makroskopické, mikroskopické, fyzikálno–chemické a morfológické vyšetrenie).

Objem ejakulátu sa určí v kalibračnej nádobe s presnosťou 0,5 cm<sup>3</sup> (býk). Býk vo veku 24 mesiacov má mať objem ejakulátu najmenej 2 cm<sup>3</sup>, vo veku vyššie 24 mesiacov najmenej 3 cm<sup>3</sup>. Farba a zakalenie závisí od hustoty a konzistencie ejakulátu. Ejakulát býka je mliečnej, niekedy sivobielej, mierne zelenkastej farby, v suchom období je často žltobielej farby. Konzistencia ejakulátu závisí od obsahu sekrétov prídavných pohlavných žliaz a vývodných pohlavných ciest. Hustý ejakulát býka dobrej kvality je neprehľadná, ťahavá tekutina smotanovitej konzistencie, mierne zrnitého vzhľadu (Gamčík et al., 1992). Podľa Alvarina (1993) farba ejakulátu, jeho množstvo a prítomnosť gélu v ejakuláte boli zaznamenané mikroskopicky.

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 spermií (Douard et al., 2003). Starnutie bolo sprevádzané znižovaním počtu spermií v ejakuláte, objemu ejakulátu (Kotłowska et al., 2006) a úbytkom pohyblivosti, životaschopnosti a membránovej integrity spermií (Rosato et al., 2006).

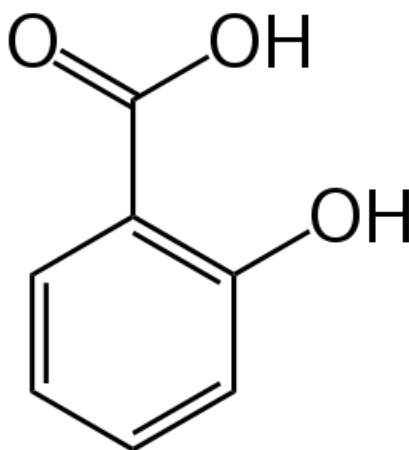
---

## 1.4. Kyselina salicylová

Grécky lekár Hippokrates sa v 5. storočí pred n. l. zmienil o horkom prášku extrahovanom z vrbovej kôry, ktorý by mohol zmierniť bolesti a zníženie horúčky. O tomto lieku sa taktiež zmienili v starých písomnostiach aj v Libanone či Sýrii. Domorodí Američania používali vrbovú kôru na ďalšie liečebné účely už po celé stáročia. Taktiež anglický reverend Edward Stone spomenul liečivé účinky kôry z vrby.

Názov kyseliny salicylovej pochádza z latinského názvu pre vrbu, *Salix*, z kôry ktorej možno kyselinu pripraviť a bola izolovaná nemeckým chemikom Johannom Andreasom Buchnerom v roku 1826. Väčšie množstvo tejto látky bolo izolované v roku 1828 francúzskym lekárnikom Henrim Lerouxom (Hayat et al., 2007).

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



Obrázok 2: Vzorec kyseliny salicylovej

Antioxidanty sú látky, ktoré predlžujú trvanlivosť potravín tak, že ich chránia pred znehodnotením spôsobeným oxidáciou, ktorej prejavom je žltnutie prítomných tukov a ďalších ľahko oxidujúcich zložiek potravín (napríklad vonné látky). Oxidácia

---

lipidov vyvoláva ďalšie chemické zmeny v potravinách ktoré negatívne ovplyvňujú ich výživovú, hygienicko–toxikologickú a senzorickú hodnotu. Antioxidačné vlastnosti vykazuje rad rastlinných potravinárskych materiálov. Po stáročia sa k predĺženiu trvanlivosti potravín využívajú prevažne rôzne byliny a korenie. Prírodné antioxidanty majú často obmedzené použitie, pretože môžu vykazovať vôňu po použitých rastlinách alebo horkú chuť (Velíšek, 2002).

Fenoly sú aromatické hydroxylzlučeniny s hydroxylovou skupinou viazanou na uhlík, ktorý je súčasťou aromatického jadra. Na rozdiel od alkoholov, ktoré sú nestále, ak je hydroxylová skupina viazaná na uhlík, z ktorého vychádza dvojité 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).

Fenolové kyseliny a ich deriváty vykazujú všetky vlastnosti primárnych antioxidantov. Aktivita záleží na počte hydroxylových skupín v molekule. K fenolovým antioxidantom patrí aj kyselina salicylová, ktorá je derivátom kyseliny benzoovej (Velíšek, 2002).

Kyselina salicylová (kyselina 2–hydroxybenzoová, staršie tiež salicyl) sa v prírode nachádza voľná (v jahodách, malinách) alebo viazaná vo forme rastlinných esterov (v rastlinných siliciach). Je to kryštalická, vo vode málo rozpustná látka, a alkohole a éteri sa rozpúšťa dobre. 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 je  $1,44 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  (pri  $20^\circ\text{C}$ ). Medzi aromatickými hydroxykyselinami má najväčší technický význam. Kyselina salicylová sa vyrába zahrievaním fenolátu sodného s oxidom uhličitým – Kolbeho–Schmittova reakcia (Tomáš et al., 2009).

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 v potravinárstve ako konzervačná látka. 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. Kyselina salicylová je taktiež prísadou mnohých produktov farmaceutického a kozmetického priemyslu.

---

## 2 Cieľ práce

Hlavným cieľom diplomovej práce bolo zistiť parametre pohyblivosti spermíí býkov po pridaní kyseliny salicylovej pomocou CASA analýzy, ktoré by mohli preukázať ich fertilizačnú schopnosť.

Detailne sme si určili nasledovné ciele:

1. analyzovať v piatich vopred určených časových intervaloch pohyblivosť a progresívnu pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej pri teplote 37°C (termický test prežívateľnosti: 0 – 240 minút);
2. analyzovať v štyroch vopred určených časových intervaloch pohyblivosť a progresívnu pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej pri teplote 5°C (dlhodobý test prežívateľnosti: 0 – 168 hodín);
3. využiť parametre asistovanej analýzy pohyblivosti spermíí (CASA analýza) s dôrazom na dráhové a rýchlostné parametre na popis účinku kyseliny salicylovej na spermie v podmienkach *in vitro*.

---

### 3 Materiál a metodika práce

V práci sme využili ejakuláty šiestich náhodne vybraných plemenných býkov. Pre udržanie teploty, ktorú ejakulát mal bezprostredne po ejakulácii, sa dávka udržiavala počas transportu 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 osem vzoriek a tie sme rozdelili na dve skupiny.

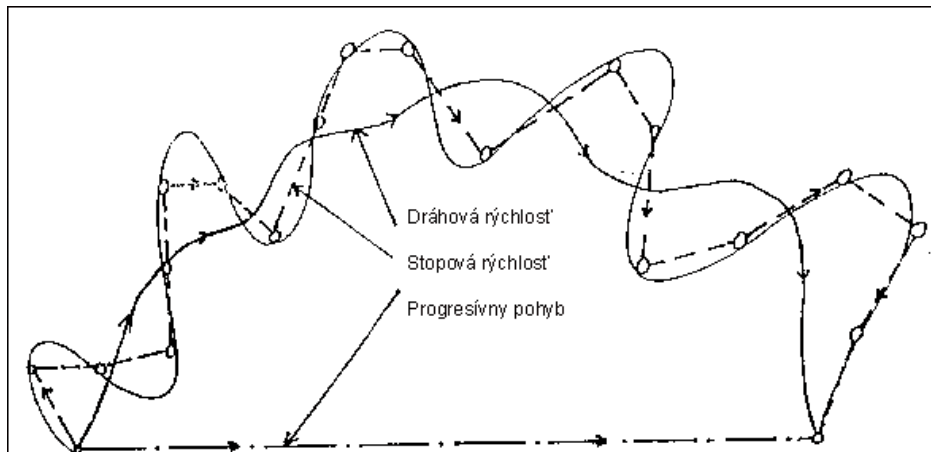
Následne sme vzorky na ďalšiu kultiváciu pripravili nasledovne:

Skupina	Objem ejakulátu (μl)	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> (mg.ml <sup>-1</sup> )	Fyziologický roztok (μl)	Riedenie
SA	20	<b>2,0</b>	1000	1:50
SB	20	<b>1,0</b>	1000	1:50
CA/CB	20	<b>0,0</b>	1000	1:50

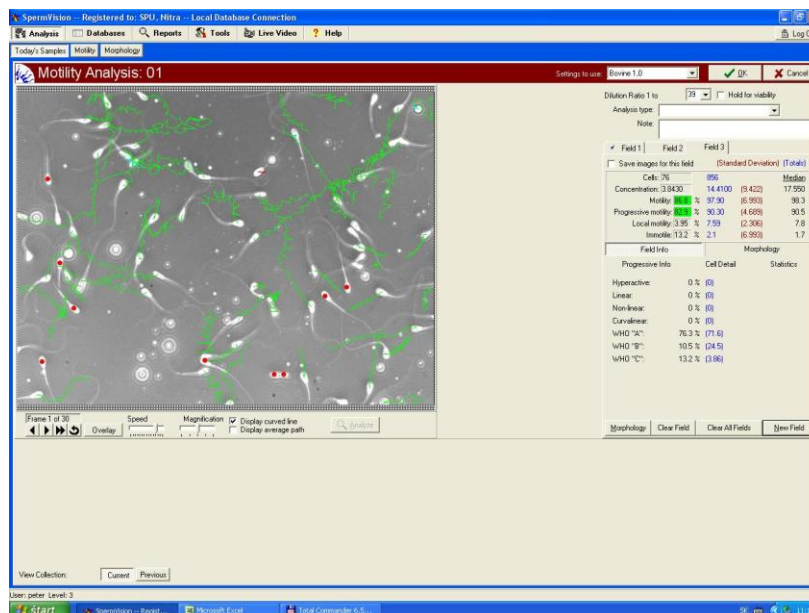
Ďalšie členenie skupín bolo nasledovné:

- skupina A:
  - kontrolná skupina CA (zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 37 °C);
  - kontrolná skupina CA (zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 5 °C);
  - skupina SA (zriedený ejakulát s pridaním 2 mg kyseliny salicylovej kultivovaný pri teplote 37 °C);
  - skupina SA (zriedený ejakulát s pridaním 2 mg kyseliny salicylovej kultivovaný pri teplote 5 °C)
- skupina B:
  - kontrolná skupina CB (zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 37 °C);
  - kontrolná skupina CB (zriedený ejakulát kultivovaný pri teplote 5 °C);
  - skupina SB (zriedený ejakulát s pridaním 1 mg kyseliny salicylovej ejakulát kultivovaný pri teplote 37 °C);
  - skupina SB (zriedený ejakulát s pridaním 1 mg kyseliny salicylovej ejakulát kultivovaný pri teplote 5 °C).

Merania sme vykonávali použitím metódy CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis – analýza pohyblivosti spermií počítačovou technikou) systémom SpermVision (Minitüb, Tiefenbach, SRN) s mikroskopom Olympus BX 51 (Olympus, Japonsko). Princípom metódy je digitalizácia pohybu spermií – jednotlivých krivočiar (Obrázok 3), ktorá sa následne vyhodnotí softvérom a znázorní na obrazovke PC (Obrázok 4).



Obrázok 3: Priebeh záznamu krivočiarového pohybu spermií a hodnotené parametre



Obrázok 4: Výstup CASA analýzy na PC

---

Merania prebiehali nasledovne:

- vzorky inkubované pri teplote 37 °C v piatich časových intervaloch s jedn hodinovým odstupom: 0, 60, 120, 180 a 240 minút;
- vzorky uložené pri teplote 5 °C v štyroch časových intervaloch: 24, 48, 72 a 168 hodín.

Každú vzorku sme umiestnili do počítačovej komôrky Makler Counting Chamber s hĺbkou 10 µm (Sefi–Medical Instruments, SRN) a následne umiestnili do zorného poľa. V každej vzorke sme sledovali nasledovné parametre:

- MOT (motility – percento pohyblivosti spermii; > 5 µm.s<sup>-1</sup>; v %);
- PRO (progressive motility – percento progresívne pohyblivých spermii; > 20 µm.s<sup>-1</sup>; v %);
- DAP (distance average path – priemerná prejdená dráha; v µm);
- DCL (distance curved line – krivočiarová dráha pohybu; v µm);
- DSL (distance straight line – priama dráha; v µm);
- VAP (velocity average path – priemerná dráhová rýchlosť; v µm.s<sup>-1</sup>);
- VCL (velocity curved line – krivočiará rýchlosť; v µm.s<sup>-1</sup>);
- VSL (velocity straight line – rýchlosť prejdenej priamej dráhy; v µm.s<sup>-1</sup>);
- STR (straightness – priamosť – VSL:VAP);
- LIN (linearity – linearita – VSL:VCL);
- WOB (wobble – kmitanie – VAP:VCL);
- ALH (amplitude of lateral head displacement – amplitúda laterálneho posunu hlavičky; v µm);
- BCF (beat cross frequency – frekvencia krížových úderov; v Hz).

Na porovnanie výsledkov CASA analýzy v jednotlivých časových obdobiach pri sledovaní vplyvu teploty sme použili štatistický Scheffeho test. Pri porovnávaní výsledkov sme použili štandardný štatistický Studentov t–test. Preukaznosť rozdielov sme hodnotili na hladine preukaznosti p<0,05; 0,01 a 0,001.

---

## 4 Výsledky

V predkladanej diplomovej práci popisujeme pohybové parametre spermíí býkov po pridaní kyseliny salicylovej hodnotené komputrovou technikou a jej časové a teplotné odlišnosti.

Pri jednotlivých meraniach sme zaznamenávali priemernú hodnotu ( $\bar{x}$ ), smerodajnú odchýlku ( $sd$ ), variačný koeficient ( $cv$ ), smerodajnú chybu ( $se$ ), minimálnu ( $min$ ) a maximálnu ( $max$ ) hodnotu.

Kompletné výsledky analýzy pohybových parametrov býkov po pridaní kyseliny salicylovej hodnotených metódou CASA sú uvedené v tabuľkách 1 – 18, kde sme jednotlivé merania označili nasledovne: ČAS 0 – 0 hodín (hneď po pridaní); ČAS 1 – po 1 hodine, ČAS 2 – po 2 hodinách, ČAS 3 – po 3 hodinách, ČAS 4 – po 4 hodinách, ČAS 5 – po 24 hodinách, ČAS 6 – po 48 hodinách, ČAS 7 – po 72 hodinách a ČAS 8 – po 168 hodinách a v grafoch 1 – 13.

V hodnotení výsledkov a ich preukaznosti sme sa detailne zamerali najmä na parametre pohyblivosť spermíí (MOT), progresívnu pohyblivosť spermíí (PRO), vzdialenosť parametre (DAP, DCL, DSL), rýchlostné parametre (VAP, VCL, VSL), amplitúdu laterálneho posunu hlavičky (ALH) a frekvenciu úderov (BCF).

Celková pohyblivosť spermíí sa pohybovala medzi 15,38 – 62,16% (SA skupina) a 26,86 – 76,30% (SB skupina). V skupine SA v porovnaní s kontrolnou skupinou boli namerané hodnoty pohyblivosti spermíí preukazne nižšie v čase 0 – 7. Preukazne ( $p < 0,001$ ) najnižšie percento pohyblivosti nám však ukazujú časy 5, 6 a 7 a to pri teplote 5 °C, kedy ich rozpätie je 15,38 – 18,08%. Zaujímavé boli hodnoty v skupine SB, kde preukaznosť nastala až po 24 hodinách, kedy hodnoty nabrali výrazný klesajúci charakter a to konkrétne v časoch 5, 6 a 7. Pri porovnávaní skupín SA a SB nám hodnoty vykazujú, že výrazne znížená motilita spermíí nastala pri vyššej koncentrácii kyseliny salicylovej (skupine SA).

Percento progresívnej pohyblivosti bolo nižšie 3,67 – 47,45% (SA skupina) a 14,77 – 65,94% (SB skupina) v skupinách s pridaním kyseliny salicylovej. Pri hodnotení progresívnej pohyblivosti sme namerali preukazne nižšie hodnoty v skupine SA oproti skupine kontrolnej. Preukazný pokles ( $p < 0,001$ ) nastal už pri prvom meraní (čas 0). Tieto vzorky boli kultivované pri teplote 37 °C. Najnižšie

---

preukazné hodnoty sme opäť zaznamenali pri vzorkách, ktoré boli skladované pri v teplote 5 °C a to po 24 hodinách (čas 5, 6, 7 a 8). Ich rozpätie bolo 3,67 – 9,36%. Podobne to bolo aj pri skupine s nižšou koncentráciou (SB), kde sme preukazný pokles hodnôt začali zaznamenávať v čase 2, teda po dvoch hodinách. Preukazný pokles nastal pri teplote 5 °C až v čase 5, 6 a 7 s najnižším nameraným percentom progresívnej pohyblivosti spermii 14,77%. Pri porovnávaní skupín SA a SB môžeme konštatovať, že najzaujímavejšie preukazne nižšie hodnoty boli namerané pri vyššej koncentrácii kyseliny salicylovej vo vzorkách a to v skupine SA, kde najnižšia hodnota ( $p < 0,001$ ) je 3,67% (po 24 hodinách, teplota 5 °C).

Pri sledovaní vzdialenostných (dráhových) parametrov sme zistili preukazne nižšie hodnoty a to najmä pri parametri DSL v skupine SA už pri prvom meraní. Preukazný pokles nastal po 24 hodinách a najnižšou hodnotou tohto parametra je hodnota v čase 6, teda po 47 hodinách. V skupine SB sme zaznamenali preukazne nižšie hodnoty už pri druhom meraní v čase 1. Tu môžeme pozorovať preukazne postupné znižovanie sa hodnôt a to v rozpätí 16, 28 – 11,17  $\mu\text{m}$ . V porovnaní oboch skupín s rozdielnou koncentráciou kyseliny salicylovej namerané hodnoty vykazujú preukazne nižšie namerané hodnoty s skupine s nižšou koncentráciou (SA), kedy sme vzorky kultivovali pri teplote 5 °C. V tejto skupine všetky tri dráhové parametre vykazujú preukazne klesajúce hodnoty ( $p < 0,001$ ).

V skupine rýchlostných parametrov (VAP, VCL, VSL) sme zistili podobné tendencie ako u parametrov dráhových. Preukaznosť pri vyššej koncentrácii kyseliny salicylovej je oproti kontrolnej skupine viditeľná už pri prvom meraní až po čas 7. Preukazne najnižšiu hodnotu nám ukazuje parameter VSL a to najmä pri teplote 5°C (15,02  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Celkovo preukazne nižšie hodnoty sme zaznamenali v časoch 5, 6 a 7. Štatisticky preukazné hodnoty sme zaznamenali aj v skupine SB, ktorú sme taktiež porovnali s kontrolnou skupinou. Preukaznú hodnotu ( $p < 0,001$ ) vidíme už v čase 1, čo je druhé meranie – 16, 28  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  (parameter VSL). Pri porovnaní skupín SA a SB môžeme zhodnotiť, že preukazne významnejší pokles hodnôt nastal opäť pri vyššej koncentrácii kyseliny salicylovej vo vzorkách, ktoré boli uchovávané pri nízkej teplote.

Pri parametri amplitúda laterálneho posunu hlavičky (ALH) sme si všimli preukazné klesanie ( $p < 0,01$ ) hodnôt už pri prvom meraní v skupine SA v porovnaní

---

s kontrolnou skupinou CA. Preukazné boli aj časy 1 – 7 ( $p < 0,001$ ). Zaujímavý obraz môžeme sledovať aj v hodnotení skupín SB a CB, kde preukaznosť hodnôt ( $p < 0,05$ ) je zaznamenaná až po 24 hodinách (čas 5, 6 a 7, teplota 5° C). Pri tomto parametri sme opäť zistili, že výraznejší vplyv na laterálny pohyb hlavičky spermie má vyššia koncentrácia kyseliny salicylovej (2,35 – 3,83  $\mu\text{m}$ ).

Frekvencia krížových úderov (BCF) vykazuje taktiež vysokú preukaznosť hodnôt, ktoré sme počas našich meraní zaznamenali. Významnú preukaznosť sme zhodnotili v skupine SA voči kontrolnej skupine. Tá je zaznamenaná už pri prvom meraní, v čase 0. Ostatné hodnoty postupnou kultiváciou preukazne klesali ( $p < 0,001$ ) až po čas 7. O niečo nižšie hodnoty, v rámci skupiny SA, sme namerali pri teplote 5°C. Rozpätie hodnôt sa pohybuje od 11,47 – 21,80 Hz. V skupine s nižšou koncentráciou kyseliny salicylovej sme zaznamenali preukaznosť hodnôt už v druhom meraní až po meranie šieste (čas 5). Pri porovnávaní koncentrácií sme opäť prišli k záveru, že vyššia koncentrácia kyseliny salicylovej má za následok zníženie frekvencie krížových úderov.



**Tabuľka 3:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 0

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>86,34<sup>C</sup></b>	9,03	1,30	10,46	63,09	96,11
	PRO	<b>79,07<sup>C</sup></b>	11,12	1,60	14,06	50,84	92,49
	DAP	<b>28,35<sup>C</sup></b>	3,20	0,46	11,27	23,37	34,50
	DCL	<b>49,79<sup>C</sup></b>	6,84	0,99	13,74	39,98	64,78
	DSL	<b>21,25<sup>C</sup></b>	2,92	0,42	13,75	16,43	26,54
	VAP	<b>67,01<sup>C</sup></b>	7,55	1,09	11,26	55,51	82,38
	VCL	<b>117,44<sup>C</sup></b>	15,99	2,31	13,62	96,49	152,98
	VSL	<b>50,43<sup>C</sup></b>	7,01	1,01	13,89	39,57	62,36
	STR	<b>0,75</b>	0,04	0,01	5,99	0,66	0,85
	LIN	<b>0,43</b>	0,06	0,01	12,92	0,35	0,59
	WOB	<b>0,57</b>	0,04	0,01	7,38	0,52	0,69
	ALH	<b>5,37<sup>B</sup></b>	0,70	0,10	13,11	3,79	6,26
	BCF	<b>26,47<sup>C</sup></b>	2,15	0,31	8,12	22,52	31,25
<b>SA</b>	MOT	<b>62,16<sup>C</sup></b>	22,22	3,21	35,75	21,21	97,07
	PRO	<b>47,45<sup>C</sup></b>	24,32	3,51	51,25	12,12	91,70
	DAP	<b>17,28<sup>C</sup></b>	3,05	0,44	17,65	13,06	23,78
	DCL	<b>30,14<sup>C</sup></b>	5,97	0,86	19,81	21,39	42,79
	DSL	<b>12,71<sup>C</sup></b>	2,11	0,30	16,56	9,23	16,94
	VAP	<b>39,43<sup>C</sup></b>	7,87	1,14	19,96	29,45	56,35
	VCL	<b>68,52<sup>C</sup></b>	14,94	2,16	21,80	46,29	100,85
	VSL	<b>29,05<sup>C</sup></b>	5,50	0,79	18,92	20,70	40,56
	STR	<b>0,73</b>	0,03	0,00	4,56	0,65	0,82
	LIN	<b>0,42</b>	0,04	0,01	9,79	0,33	0,52
	WOB	<b>0,57</b>	0,04	0,01	6,55	0,47	0,69
	ALH	<b>3,74<sup>B</sup></b>	0,89	0,13	23,70	2,45	5,39
	BCF	<b>21,80<sup>C</sup></b>	2,13	0,31	9,79	14,76	25,60

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 4:** Pohyblivosť spermíí po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 0

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>78,56</b>	16,07	2,32	69,23	45,45	98,92
	PRO	<b>68,76</b>	17,70	2,32	20,46	24,24	89,38
	DAP	<b>24,72<sup>A</sup></b>	2,67	2,55	25,74	18,33	30,58
	DCL	<b>41,71</b>	5,82	0,84	13,95	31,26	53,34
	DSL	<b>19,11</b>	2,88	0,42	15,08	12,46	26,16
	VAP	<b>58,26<sup>B</sup></b>	6,53	0,94	11,21	41,43	70,44
	VCL	<b>98,00</b>	13,75	1,98	14,03	75,62	128,84
	VSL	<b>45,26</b>	7,01	1,01	15,49	28,16	58,83
	STR	<b>0,77</b>	0,07	0,01	9,08	0,64	0,89
	LIN	<b>0,46</b>	0,09	0,01	20,03	0,33	0,68
	WOB	<b>0,59</b>	0,07	0,01	11,52	0,51	0,78
	ALH	<b>4,57</b>	1,15	0,17	25,25	2,38	6,38
	BCF	<b>26,50</b>	2,74	0,40	10,35	20,33	31,17
<b>SB</b>	MOT	<b>76,30</b>	15,95	2,30	20,91	45,61	98,11
	PRO	<b>65,94</b>	13,95	2,01	21,15	38,09	85,62
	DAP	<b>23,75<sup>A</sup></b>	2,34	0,32	10,51	17,37	27,81
	DCL	<b>35,88</b>	3,98	0,57	11,10	29,97	51,64
	DSL	<b>16,14</b>	2,61	0,38	16,15	12,10	21,51
	VAP	<b>47,89<sup>B</sup></b>	4,55	0,66	9,50	40,13	61,25
	VCL	<b>82,23</b>	7,91	1,14	9,62	70,51	112,29
	VSL	<b>37,25</b>	5,50	0,79	14,77	27,81	47,91
	STR	<b>0,77</b>	0,06	0,01	7,80	0,64	0,89
	LIN	<b>0,45</b>	0,06	0,01	12,61	0,32	0,57
	WOB	<b>0,58</b>	0,04	0,01	6,50	0,50	0,65
	ALH	<b>3,99</b>	0,93	0,13	23,37	2,51	5,81
	BCF	<b>26,76</b>	4,01	0,58	14,97	20,94	35,33

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 5:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 1

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>79,58<sup>C</sup></b>	7,64	1,10	9,60	61,11	93,95
	PRO	<b>71,68<sup>C</sup></b>	7,51	1,08	10,48	55,55	86,57
	DAP	<b>29,65<sup>C</sup></b>	3,09	0,45	10,41	22,83	36,51
	DCL	<b>55,57<sup>C</sup></b>	8,25	1,19	14,84	34,78	73,95
	DSL	<b>22,09<sup>C</sup></b>	3,17	0,46	14,33	15,43	29,79
	VAP	<b>69,97<sup>C</sup></b>	7,34	1,06	10,50	54,23	86,74
	VCL	<b>131,04<sup>C</sup></b>	19,90	2,87	15,19	82,61	183,84
	VSL	<b>52,20<sup>C</sup></b>	7,39	1,07	14,17	37,12	69,91
	STR	<b>0,74<sup>A</sup></b>	0,07	0,01	9,87	0,63	0,90
	LIN	<b>0,40</b>	0,07	0,01	17,27	0,29	0,57
	WOB	<b>0,53</b>	0,04	0,01	8,19	0,40	0,65
	ALH	<b>5,15<sup>C</sup></b>	1,16	0,17	22,50	2,38	6,81
	BCF	<b>27,63<sup>C</sup></b>	5,18	0,75	18,76	20,42	40,40
<b>SA</b>	MOT	<b>49,80<sup>C</sup></b>	24,15	3,49	48,49	14,28	86,27
	PRO	<b>38,16<sup>C</sup></b>	24,65	3,56	64,60	2,40	76,34
	DAP	<b>17,41<sup>C</sup></b>	2,86	0,41	16,43	9,08	23,69
	DCL	<b>33,11<sup>C</sup></b>	5,44	0,79	16,44	15,61	43,93
	DSL	<b>11,80<sup>C</sup></b>	2,34	0,24	19,86	5,60	17,41
	VAP	<b>39,23<sup>C</sup></b>	6,59	0,95	16,80	26,81	53,14
	VCL	<b>74,06<sup>C</sup></b>	11,90	1,72	16,07	44,96	97,36
	VSL	<b>26,64<sup>C</sup></b>	5,34	0,77	20,05	11,99	40,09
	STR	<b>0,67<sup>A</sup></b>	0,06	0,01	9,19	0,36	0,80
	LIN	<b>0,36</b>	0,05	0,01	13,88	0,17	0,48
	WOB	<b>0,53</b>	0,04	0,01	8,00	0,40	0,59
	ALH	<b>3,80<sup>C</sup></b>	0,56	0,08	14,73	1,95	4,67
	BCF	<b>19,86<sup>C</sup></b>	2,40	0,35	12,10	16,53	27,40

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 6:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 1

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>76,81</b>	9,23	1,33	12,01	53,62	90,80
	PRO	<b>68,17</b>	9,96	1,44	14,61	47,82	85,57
	DAP	<b>27,52<sup>C</sup></b>	2,69	0,39	9,77	20,19	34,52
	DCL	<b>51,03<sup>C</sup></b>	6,88	0,99	13,48	37,41	65,18
	DSL	<b>20,76<sup>C</sup></b>	2,63	0,38	12,67	14,56	26,36
	VAP	<b>64,68<sup>C</sup></b>	6,17	0,89	9,54	47,99	80,19
	VCL	<b>119,72<sup>C</sup></b>	16,66	2,40	13,92	83,68	154,06
	VSL	<b>48,86<sup>C</sup></b>	5,85	0,84	11,97	34,70	61,14
	STR	<b>0,75</b>	0,07	0,01	8,67	0,64	0,89
	LIN	<b>0,41</b>	0,07	0,01	16,72	0,33	0,59
	WOB	<b>0,54</b>	0,05	0,01	8,58	0,46	0,67
	ALH	<b>4,78</b>	0,94	0,14	19,64	2,97	6,33
	BCF	<b>27,93<sup>A</sup></b>	4,81	0,69	17,21	20,96	36,83
<b>SB</b>	MOT	<b>70,65</b>	13,06	1,89	18,49	41,07	90,71
	PRO	<b>58,28</b>	15,01	2,17	25,75	28,57	82,06
	DAP	<b>21,61</b>	2,90	0,42	13,43	17,45	28,66
	DCL	<b>39,43<sup>C</sup></b>	4,54	0,65	11,50	32,10	49,62
	DSL	<b>16,28<sup>C</sup></b>	2,65	0,38	16,30	12,69	23,93
	VAP	<b>49,60<sup>C</sup></b>	6,50	0,94	13,10	40,75	65,47
	VCL	<b>90,15<sup>C</sup></b>	9,97	1,44	11,06	74,41	113,29
	VSL	<b>37,41<sup>C</sup></b>	5,84	0,84	15,61	29,84	53,98
	STR	<b>0,77</b>	0,06	0,01	5,81	0,64	0,89
	LIN	<b>0,41</b>	0,03	0,00	8,36	0,34	0,49
	WOB	<b>0,54</b>	0,03	0,00	5,53	0,47	0,60
	ALH	<b>4,07</b>	0,54	0,08	13,15	3,14	4,90
	BCF	<b>23,75<sup>A</sup></b>	3,09	0,45	13,01	18,18	30,70

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 7:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období –  
**ČAS 2**

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>77,38<sup>C</sup></b>	7,79	1,12	10,07	56,89	89,47
	PRO	<b>66,73<sup>C</sup></b>	9,88	1,43	14,81	40,00	83,50
	DAP	<b>28,25<sup>C</sup></b>	3,27	0,47	11,56	20,54	36,04
	DCL	<b>52,25<sup>C</sup></b>	8,33	1,20	15,94	34,60	67,74
	DSL	<b>21,23<sup>C</sup></b>	2,62	0,38	12,33	16,11	27,68
	VAP	<b>65,80<sup>C</sup></b>	7,50	1,08	11,39	47,90	83,01
	VCL	<b>121,44<sup>C</sup></b>	19,19	2,77	15,80	80,60	161,55
	VSL	<b>49,48<sup>C</sup></b>	5,64	0,81	11,39	37,65	64,19
	STR	<b>0,75</b>	0,07	0,01	9,79	0,63	0,91
	LIN	<b>0,41</b>	0,07	0,01	16,89	0,31	0,60
	WOB	<b>0,54</b>	0,04	0,01	7,43	0,47	0,66
	ALH	<b>4,78<sup>A</sup></b>	1,07	0,16	22,48	2,78	6,33
	BCF	<b>27,82<sup>C</sup></b>	5,21	0,75	18,75	20,30	38,56
<b>SA</b>	MOT	<b>53,15<sup>C</sup></b>	17,97	2,59	33,81	17,50	86,09
	PRO	<b>39,43<sup>C</sup></b>	19,33	2,79	49,02	10,00	73,23
	DAP	<b>17,25<sup>C</sup></b>	2,88	0,42	16,72	11,75	23,28
	DCL	<b>32,33<sup>C</sup></b>	4,38	0,63	13,56	23,36	42,19
	DSL	<b>11,74<sup>C</sup></b>	2,17	0,31	18,53	7,61	16,10
	VAP	<b>38,59<sup>C</sup></b>	7,38	1,06	19,12	24,89	54,59
	VCL	<b>71,92<sup>C</sup></b>	11,10	1,60	15,43	50,36	98,68
	VSL	<b>26,28<sup>C</sup></b>	5,61	0,81	21,35	16,11	37,75
	STR	<b>0,67</b>	0,04	0,01	5,65	0,59	0,77
	LIN	<b>0,36</b>	0,04	0,01	12,50	0,25	0,45
	WOB	<b>0,53</b>	0,05	0,01	8,85	0,37	0,61
	ALH	<b>3,80<sup>A</sup></b>	0,69	0,10	18,11	2,59	5,32
	BCF	<b>19,17<sup>C</sup></b>	1,81	0,26	9,43	15,58	24,31

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 8:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 2

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>76,07</b>	8,38	1,21	11,02	58,90	91,54
	PRO	<b>69,10<sup>B</sup></b>	7,59	1,10	10,98	50,68	82,78
	DAP	<b>27,83<sup>C</sup></b>	3,11	0,45	11,17	18,65	34,84
	DCL	<b>52,74<sup>C</sup></b>	8,36	1,21	15,85	29,50	71,83
	DSL	<b>21,09<sup>C</sup></b>	2,33	0,34	11,04	15,49	26,25
	VAP	<b>64,25<sup>C</sup></b>	6,85	0,99	10,67	43,96	79,40
	VCL	<b>121,54<sup>C</sup></b>	18,41	2,66	15,15	70,77	159,07
	VSL	<b>48,71<sup>C</sup></b>	4,79	0,69	9,83	36,52	59,43
	STR	<b>0,76</b>	0,06	0,01	7,30	0,66	0,89
	LIN	<b>0,40</b>	0,05	0,01	13,10	0,34	0,52
	WOB	<b>0,53</b>	0,03	0,00	6,31	0,47	0,62
	ALH	<b>4,76</b>	0,97	0,14	20,41	2,27	6,15
	BCF	<b>27,53<sup>C</sup></b>	5,13	0,74	18,62	21,60	41,41
<b>SB</b>	MOT	<b>69,23</b>	10,16	1,47	14,67	52,45	89,70
	PRO	<b>52,55<sup>B</sup></b>	12,89	1,86	24,53	26,98	80,55
	DAP	<b>20,64<sup>C</sup></b>	3,49	0,50	16,90	14,11	28,13
	DCL	<b>38,41<sup>C</sup></b>	6,30	0,91	16,27	25,57	51,41
	DSL	<b>15,10<sup>C</sup></b>	3,04	0,44	20,14	10,18	23,18
	VAP	<b>46,85<sup>C</sup></b>	7,75	1,12	16,54	33,75	62,08
	VCL	<b>87,50<sup>C</sup></b>	13,93	2,01	15,91	61,44	114,09
	VSL	<b>34,27<sup>C</sup></b>	6,72	0,97	19,60	24,71	50,99
	STR	<b>0,72</b>	0,05	0,01	6,52	0,62	0,82
	LIN	<b>0,39</b>	0,04	0,01	9,70	0,30	0,48
	WOB	<b>0,53</b>	0,03	0,00	5,18	0,45	0,60
	ALH	<b>4,12</b>	0,63	0,09	15,31	2,79	5,47
	BCF	<b>21,97<sup>C</sup></b>	2,50	0,36	11,40	17,08	27,44

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 9:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 3

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>79,74<sup>C</sup></b>	11,32	1,63	14,20	54,16	99,14
	PRO	<b>71,48<sup>C</sup></b>	12,66	1,83	17,72	42,10	94,84
	DAP	<b>27,44<sup>C</sup></b>	5,81	0,84	21,16	14,80	35,55
	DCL	<b>52,26<sup>C</sup></b>	11,99	1,73	22,94	28,38	72,21
	DSL	<b>20,16<sup>C</sup></b>	3,79	0,55	18,79	12,17	27,95
	VAP	<b>63,77<sup>C</sup></b>	13,60	1,96	21,32	34,41	85,28
	VCL	<b>121,32<sup>C</sup></b>	27,93	4,03	23,02	64,56	165,01
	VSL	<b>46,86<sup>C</sup></b>	8,85	1,28	18,88	27,94	67,70
	STR	<b>0,74</b>	0,06	0,01	8,12	0,64	0,84
	LIN	<b>0,39</b>	0,04	0,01	11,51	0,31	0,46
	WOB	<b>0,52</b>	0,03	0,00	5,07	0,46	0,57
	ALH	<b>4,91<sup>C</sup></b>	1,31	0,19	26,60	2,37	6,67
	BCF	<b>26,79<sup>C</sup></b>	4,48	0,65	16,71	21,08	37,65
<b>SA</b>	MOT	<b>58,13<sup>C</sup></b>	18,67	2,70	32,122	21,62	85,71
	PRO	<b>35,22<sup>C</sup></b>	20,58	2,97	58,44	10,81	73,10
	DAP	<b>15,67<sup>C</sup></b>	3,26	0,47	20,78	10,80	22,00
	DCL	<b>30,53<sup>C</sup></b>	5,15	0,74	16,86	19,64	39,77
	DSL	<b>10,54<sup>C</sup></b>	2,37	0,34	22,50	6,55	14,79
	VAP	<b>34,97<sup>C</sup></b>	8,12	1,17	23,21	22,62	51,06
	VCL	<b>67,70<sup>C</sup></b>	12,66	1,83	18,70	44,27	92,92
	VSL	<b>23,56<sup>C</sup></b>	5,83	0,84	24,76	13,79	34,66
	STR	<b>0,67</b>	0,04	0,01	6,13	0,57	0,79
	LIN	<b>0,34</b>	0,05	0,01	14,60	0,24	0,46
	WOB	<b>0,51</b>	0,05	0,01	10,37	0,36	0,60
	ALH	<b>3,53<sup>C</sup></b>	0,82	0,12	23,19	1,98	5,31
	BCF	<b>18,29<sup>C</sup></b>	2,06	0,30	11,25	13,60	23,07

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 10:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 3

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>78,20</b>	6,46	0,93	8,27	61,53	90,99
	PRO	<b>67,09<sup>C</sup></b>	8,09	1,17	12,06	41,02	83,78
	DAP	<b>25,68<sup>C</sup></b>	1,41	0,20	5,47	21,99	28,98
	DCL	<b>46,93</b>	3,96	0,57	8,43	36,62	53,03
	DSL	<b>19,77<sup>C</sup></b>	1,71	0,25	8,67	16,63	24,57
	VAP	<b>59,89<sup>C</sup></b>	3,53	0,51	5,89	49,98	65,07
	VCL	<b>109,07<sup>B</sup></b>	9,90	1,43	9,08	83,65	125,81
	VSL	<b>46,16<sup>C</sup></b>	3,63	0,52	7,86	38,87	55,26
	STR	<b>0,77</b>	0,06	0,01	7,64	0,65	0,89
	LIN	<b>0,42</b>	0,05	0,01	12,49	0,33	0,57
	WOB	<b>0,55</b>	0,03	0,00	5,78	0,50	0,65
	ALH	<b>4,51</b>	0,84	0,12	18,63	2,69	5,76
	BCF	<b>28,02<sup>C</sup></b>	4,55	0,66	16,25	21,41	38,65
<b>SB</b>	MOT	<b>65,11</b>	13,34	1,93	20,49	37,77	87,65
	PRO	<b>47,54<sup>C</sup></b>	16,71	2,41	35,15	17,77	78,62
	DAP	<b>19,18<sup>C</sup></b>	3,81	0,55	19,84	12,42	24,93
	DCL	<b>38,49</b>	9,47	1,37	24,61	25,86	70,42
	DSL	<b>13,61<sup>C</sup></b>	2,72	0,39	19,98	8,68	19,41
	VAP	<b>43,13<sup>C</sup></b>	9,37	1,35	21,73	26,99	58,37
	VCL	<b>86,01<sup>B</sup></b>	21,17	3,06	24,62	56,81	151,10
	VSL	<b>30,67<sup>C</sup></b>	6,78	0,98	22,11	19,71	45,63
	STR	<b>0,71</b>	0,05	0,01	7,26	0,58	0,81
	LIN	<b>0,36</b>	0,06	0,01	16,18	0,16	0,44
	WOB	<b>0,50</b>	0,07	0,01	13,20	0,27	0,58
	ALH	<b>3,97</b>	0,97	0,14	24,47	2,22	5,46
	BCF	<b>22,07<sup>C</sup></b>	2,28	0,33	10,35	17,76	26,52

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001



**Tabuľka 11:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 4

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>79,27<sup>C</sup></b>	10,47	1,51	13,21	56,00	93,83
	PRO	<b>71,52<sup>C</sup></b>	8,92	1,29	12,47	52,00	86,30
	DAP	<b>28,07<sup>C</sup></b>	4,14	0,60	14,76	21,59	38,44
	DCL	<b>51,92<sup>C</sup></b>	11,03	1,59	21,25	35,56	82,33
	DSL	<b>21,29<sup>C</sup></b>	2,88	0,42	13,51	16,05	27,70
	VAP	<b>65,03<sup>C</sup></b>	9,13	1,32	14,03	49,03	86,58
	VCL	<b>119,93<sup>C</sup></b>	24,49	3,54	20,42	83,79	185,05
	VSL	<b>49,35<sup>C</sup></b>	6,21	0,90	12,59	37,08	62,70
	STR	<b>0,76<sup>B</sup></b>	0,06	0,01	7,85	0,68	0,91
	LIN	<b>0,42<sup>C</sup></b>	0,07	0,01	16,01	0,31	0,62
	WOB	<b>0,54</b>	0,04	0,01	8,18	0,46	0,68
	ALH	<b>4,84<sup>C</sup></b>	0,93	0,13	19,17	2,50	5,97
	BCF	<b>27,07<sup>C</sup></b>	5,04	0,73	18,62	21,69	39,69
<b>SA</b>	MOT	<b>56,09<sup>C</sup></b>	16,53	2,39	29,46	29,68	84,73
	PRO	<b>34,68<sup>C</sup></b>	22,66	3,27	65,33	2,63	72,59
	DAP	<b>14,82<sup>C</sup></b>	3,28	0,47	22,15	10,15	22,39
	DCL	<b>30,69<sup>C</sup></b>	5,26	0,76	17,15	21,01	40,92
	DSL	<b>9,74<sup>C</sup></b>	2,60	0,37	2ž,67	5,09	15,03
	VAP	<b>33,07<sup>C</sup></b>	8,20	1,18	24,79	22,10	51,43
	VCL	<b>67,76<sup>C</sup></b>	12,56	1,81	18,53	46,87	92,00
	VSL	<b>21,82<sup>C</sup></b>	6,33	0,91	29,01	10,54	34,59
	STR	<b>0,65<sup>B</sup></b>	0,05	0,01	8,39	0,46	0,76
	LIN	<b>0,32<sup>C</sup></b>	0,07	0,01	21,27	0,15	0,43
	WOB	<b>0,48</b>	0,08	0,01	16,11	0,29	0,59
	ALH	<b>3,45<sup>C</sup></b>	0,82	0,12	23,69	2,23	5,14
	BCF	<b>18,63<sup>C</sup></b>	2,22	0,32	11,90	13,37	27,20

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 12:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 4

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>77,14</b>	12,08	1,74	15,66	52,54	98,20
	PRO	<b>66,88<sup>A</sup></b>	14,29	2,06	21,37	38,75	92,21
	DAP	<b>25,09<sup>C</sup></b>	2,49	0,36	9,93	18,68	29,79
	DCL	<b>47,44</b>	6,82	0,98	14,38	30,48	65,21
	DSL	<b>19,35<sup>C</sup></b>	2,42	0,35	12,50	13,90	24,53
	VAP	<b>58,08<sup>C</sup></b>	5,81	0,84	10,00	44,16	69,96
	VCL	<b>109,41</b>	15,28	2,20	13,96	72,08	154,83
	VSL	<b>44,80<sup>C</sup></b>	5,26	0,76	11,74	33,08	59,58
	STR	<b>0,77</b>	0,05	0,01	7,11	0,67	0,88
	LIN	<b>0,41</b>	0,04	0,01	9,56	0,32	0,50
	WOB	<b>0,53</b>	0,04	0,01	8,12	0,43	0,61
	ALH	<b>4,57</b>	0,84	0,12	18,46	2,66	5,85
	BCF	<b>28,74<sup>C</sup></b>	5,96	0,86	20,74	21,75	44,04
<b>SB</b>	MOT	<b>69,41</b>	14,40	1,92	20,75	38,61	91,53
	PRO	<b>51,73<sup>A</sup></b>	18,60	2,49	35,96	11,88	80,00
	DAP	<b>19,20<sup>C</sup></b>	3,90	0,52	20,33	10,90	25,81
	DCL	<b>39,15</b>	6,65	0,89	16,99	26,80	55,35
	DSL	<b>13,81<sup>C</sup></b>	3,19	0,43	23,10	7,09	20,69
	VAP	<b>43,65<sup>C</sup></b>	9,61	1,28	22,02	23,32	59,21
	VCL	<b>88,38</b>	16,07	2,+t	18,19	55,81	129,34
	VSL	<b>31,42<sup>C</sup></b>	7,73	1,03	24,61	14,75	47,19
	STR	<b>0,71</b>	0,04	0,01	6,27	0,59	0,80
	LIN	<b>0,35</b>	0,06	0,01	16,54	0,22	0,43
	WOB	<b>0,49</b>	0,07	0,01	13,74	0,31	0,58
	ALH	<b>4,15</b>	0,88	0,12	21,14	2,33	5,42
	BCF	<b>23,17<sup>C</sup></b>	3,02	0,40	13,03	16,64	29,59

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 13:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 5

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>76,72<sup>C</sup></b>	9,77	1,41	12,73	55,03	93,33
	PRO	<b>66,51<sup>C</sup></b>	11,55	1,67	17,37	44,96	90,90
	DAP	<b>27,31<sup>C</sup></b>	3,22	0,46	11,80	19,55	34,36
	DCL	<b>54,14<sup>C</sup></b>	7,80	1,13	14,41	34,83	71,99
	DSL	<b>18,40<sup>C</sup></b>	2,43	0,35	13,21	12,81	24,26
	VAP	<b>64,61</b>	8,34	1,20	12,91	45,90	82,36
	VCL	<b>127,37<sup>C</sup></b>	18,85	2,72	14,80	80,88	168,11
	VSL	<b>45,53<sup>C</sup></b>	5,58	0,81	12,82	30,28	58,40
	STR	<b>0,67<sup>B</sup></b>	0,05	0,01	7,29	0,59	0,78
	LIN	<b>0,34</b>	0,03	0,00	8,03	0,27	0,38
	WOB	<b>0,50</b>	0,03	0,00	6,13	0,45	0,57
	ALH	<b>5,72<sup>C</sup></b>	0,85	0,12	14,84	3,75	7,60
	BCF	<b>23,82<sup>C</sup></b>	3,84	0,55	16,10	18,01	32,05
<b>SA</b>	MOT	<b>15,38<sup>C</sup></b>	9,80	1,41	63,71	1,63	45,16
	PRO	<b>3,67<sup>C</sup></b>	3,50	0,50	95,36	0,00	13,33
	DAP	<b>11,38<sup>C</sup></b>	8,72	1,26	76,66	0,00	28,11
	DCL	<b>18,95<sup>C</sup></b>	14,78	2,13	77,99	0,00	47,96
	DSL	<b>7,66<sup>C</sup></b>	5,63	0,81	73,48	0,00	18,42
	VAP	<b>26,42<sup>C</sup></b>	20,03	2,89	75,81	0,00	63,43
	VCL	<b>43,44<sup>C</sup></b>	33,18	4,79	76,37	0,00	103,69
	VSL	<b>17,99<sup>C</sup></b>	13,25	1,91	73,65	0,00	48,06
	STR	<b>0,49<sup>B</sup></b>	0,34	0,05	69,30	0,00	0,90
	LIN	<b>0,31</b>	0,23	0,03	74,12	0,00	0,71
	WOB	<b>0,44</b>	0,30	0,04	67,76	0,00	0,80
	ALH	<b>2,94<sup>C</sup></b>	2,15	0,31	73,01	0,00	7,20
	BCF	<b>12,88<sup>C</sup></b>	9,73	1,40	75,75	0,00	33,42

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 14:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 5

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>76,60<sup>C</sup></b>	11,66	1,68	15,23	51,23	94,73
	PRO	<b>65,79<sup>C</sup></b>	13,29	1,92	20,20	39,68	88,28
	DAP	<b>26,25<sup>C</sup></b>	3,24	0,47	12,33	18,63	36,49
	DCL	<b>51,48<sup>C</sup></b>	8,47	1,22	16,46	33,71	81,39
	DSL	<b>18,19<sup>C</sup></b>	2,03	0,29	11,17	12,65	21,60
	VAP	<b>60,81<sup>C</sup></b>	6,74	0,97	11,09	47,05	79,06
	VCL	<b>118,66<sup>C</sup></b>	17,21	2,48	14,51	80,23	174,97
	VSL	<b>42,20<sup>C</sup></b>	4,29	0,62	10,16	31,77	50,30
	STR	<b>0,69</b>	0,06	0,01	8,12	0,57	0,82
	LIN	<b>0,35</b>	0,04	0,01	12,19	0,25	0,42
	WOB	<b>0,51</b>	0,04	0,01	8,18	0,45	0,62
	ALH	<b>5,24<sup>A</sup></b>	0,78	0,11	14,92	3,37	6,89
	BCF	<b>25,62<sup>B</sup></b>	4,17	0,60	16,28	19,17	36,24
<b>SB</b>	MOT	<b>34,78<sup>C</sup></b>	27,48	4,35	79,02	2,98	93,00
	PRO	<b>22,47<sup>C</sup></b>	27,32	4,32	121,61	0,00	80,23
	DAP	<b>16,44<sup>C</sup></b>	6,63	1,05	40,34	0,00	26,97
	DCL	<b>28,77<sup>C</sup></b>	11,47	1,81	39,86	0,00	45,53
	DSL	<b>11,17<sup>C</sup></b>	4,81	0,76	43,01	0,00	22,82
	VAP	<b>37,88<sup>C</sup></b>	15,47	2,45	40,84	0,00	64,23
	VCL	<b>65,82<sup>C</sup></b>	26,18	4,14	39,77	0,00	103,91
	VSL	<b>25,81<sup>C</sup></b>	11,35	1,80	43,99	0,00	54,15
	STR	<b>0,61</b>	0,22	0,04	36,66	0,00	0,84
	LIN	<b>0,35</b>	0,14	0,02	39,36	0,00	0,56
	WOB	<b>0,51</b>	0,18	0,03	35,87	0,00	0,67
	ALH	<b>3,85<sup>A</sup></b>	1,53	0,24	39,71	0,00	6,66
	BCF	<b>18,86<sup>B</sup></b>	7,22	1,14	38,27	0,00	31,30

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 15:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 6

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>79,11<sup>C</sup></b>	12,65	1,83	15,99	49,49	95,38
	PRO	<b>67,37<sup>C</sup></b>	12,85	1,85	19,08	41,41	83,82
	DAP	<b>25,84<sup>C</sup></b>	2,62	0,38	10,13	18,54	31,83
	DCL	<b>53,24<sup>C</sup></b>	5,97	0,86	11,22	39,97	65,82
	DSL	<b>16,54<sup>C</sup></b>	1,46	0,21	8,84	13,86	19,62
	VAP	<b>60,39<sup>C</sup></b>	6,56	0,95	10,87	43,45	75,14
	VCL	<b>123,84<sup>C</sup></b>	14,20	2,05	11,47	92,98	151,45
	VSL	<b>38,55<sup>C</sup></b>	3,37	0,49	8,75	32,55	45,15
	STR	<b>0,64<sup>C</sup></b>	0,05	0,01	8,12	0,53	0,75
	LIN	<b>0,31</b>	0,02	0,00	7,76	0,26	0,35
	WOB	<b>0,48</b>	0,03	0,00	5,55	0,43	0,55
	ALH	<b>5,97<sup>C</sup></b>	0,74	0,11	12,48	3,81	7,50
	BCF	<b>23,27<sup>C</sup></b>	2,76	0,40	11,84	18,84	29,03
<b>SA</b>	MOT	<b>18,08<sup>C</sup></b>	14,08	2,03	77,91	0,00	44,95
	PRO	<b>7,00<sup>C</sup></b>	8,56	1,24	122,22	0,00	31,19
	DAP	<b>10,12<sup>C</sup></b>	9,20	1,33	90,93	0,00	25,65
	DCL	<b>16,86<sup>C</sup></b>	15,89	2,29	94,27	0,00	41,12
	DSL	<b>6,67<sup>C</sup></b>	5,91	0,85	88,59	0,00	17,40
	VAP	<b>22,72<sup>C</sup></b>	20,69	2,99	91,07	0,00	53,08
	VCL	<b>37,64<sup>C</sup></b>	35,41	5,11	94,08	0,00	92,11
	VSL	<b>15,02<sup>C</sup></b>	13,39	1,93	89,16	0,00	36,00
	STR	<b>0,41<sup>C</sup></b>	0,35	0,05	84,77	0,00	0,89
	LIN	<b>0,26</b>	0,22	0,03	87,59	0,00	0,64
	WOB	<b>0,37</b>	0,31	0,04	82,81	0,00	0,71
	ALH	<b>2,37<sup>C</sup></b>	2,11	0,30	88,76	0,00	5,20
	BCF	<b>11,47<sup>C</sup></b>	9,80	1,41	85,44	0,00	26,66

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 16:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 6

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>75,03<sup>C</sup></b>	13,64	1,97	18,19	42,16	96,25
	PRO	<b>62,72<sup>C</sup></b>	15,16	2,19	24,17	30,76	90,00
	DAP	<b>24,77<sup>C</sup></b>	4,46	0,64	18,02	19,07	38,51
	DCL	<b>49,82</b>	12,31	1,78	24,70	33,22	83,75
	DSL	<b>16,33<sup>C</sup></b>	2,43	0,35	14,89	12,08	24,36
	VAP	<b>57,76<sup>A</sup></b>	10,68	1,54	18,48	44,89	91,61
	VCL	<b>115,33<sup>C</sup></b>	27,70	4,00	24,02	77,22	189,21
	VSL	<b>38,01<sup>C</sup></b>	5,45	0,79	14,35	28,02	54,97
	STR	<b>0,66</b>	0,05	0,01	7,73	0,55	0,76
	LIN	<b>0,33</b>	0,04	0,01	11,41	0,23	0,43
	WOB	<b>0,50</b>	0,05	0,01	9,46	0,39	0,59
	ALH	<b>5,51<sup>A</sup></b>	0,95	0,14	17,34	3,55	7,41
	BCF	<b>23,54</b>	3,34	0,48	14,17	18,12	30,82
<b>SB</b>	MOT	<b>26,86<sup>C</sup></b>	15,92	2,52	59,29	2,50	60,91
	PRO	<b>14,77<sup>C</sup></b>	13,69	2,17	92,73	0,00	45,97
	DAP	<b>24,77<sup>C</sup></b>	4,46	1,09	36,13	19,07	38,51
	DCL	<b>32,46</b>	13,35	2,11	41,14	0,00	60,56
	DSL	<b>11,45<sup>C</sup></b>	3,43	0,54	29,93	0,00	18,31
	VAP	<b>43,47<sup>A</sup></b>	14,30	2,26	32,90	0,00	79,89
	VCL	<b>73,46<sup>C</sup></b>	27,87	4,41	37,93	0,00	125,30
	VSL	<b>26,34<sup>C</sup></b>	7,89	1,25	29,97	0,00	43,96
	STR	<b>0,59</b>	0,17	0,03	28,83	0,00	0,78
	LIN	<b>0,36</b>	0,12	0,02	34,33	0,00	0,57
	WOB	<b>0,57</b>	0,16	0,02	27,31	0,00	0,77
	ALH	<b>4,06<sup>A</sup></b>	1,24	0,20	30,57	0,00	6,13
	BCF	<b>17,91</b>	5,63	0,89	31,42	0,00	27,61

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 17:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 7

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>77,30<sup>C</sup></b>	11,07	1,58	14,33	56,75	94,54
	PRO	<b>64,37<sup>C</sup></b>	13,10	1,87	20,35	35,44	85,38
	DAP	<b>26,49<sup>C</sup></b>	3,03	0,43	11,42	21,19	31,16
	DCL	<b>54,61<sup>C</sup></b>	6,05	0,86	11,08	41,85	65,82
	DSL	<b>16,70<sup>C</sup></b>	1,75	0,25	10,47	12,90	20,64
	VAP	<b>61,85<sup>C</sup></b>	7,66	1,09	12,39	46,45	74,87
	VCL	<b>126,91<sup>C</sup></b>	14,71	2,10	11,59	95,23	157,58
	VSL	<b>39,04<sup>C</sup></b>	4,25	0,61	10,89	31,12	48,25
	STR	<b>0,63<sup>C</sup></b>	0,05	0,01	7,96	0,53	0,75
	LIN	<b>0,30</b>	0,02	0,00	7,54	0,26	0,36
	WOB	<b>0,48</b>	0,04	0,01	7,65	0,39	0,57
	ALH	<b>5,96<sup>C</sup></b>	0,75	0,11	12,57	4,71	7,05
	BCF	<b>23,24<sup>C</sup></b>	3,00	0,43	12,90	18,53	31,60
<b>SA</b>	MOT	<b>17,75<sup>C</sup></b>	18,29	2,64	103,01	0,00	63,15
	PRO	<b>9,63<sup>C</sup></b>	14,25	2,06	147,94	0,00	43,80
	DAP	<b>10,39<sup>C</sup></b>	8,67	1,25	83,47	0,00	25,83
	DCL	<b>18,07<sup>C</sup></b>	15,64	2,26	86,57	0,00	42,68
	DSL	<b>6,88<sup>C</sup></b>	5,80	0,84	84,33	0,00	18,80
	VAP	<b>23,61<sup>C</sup></b>	19,42	2,80	82,27	0,00	53,45
	VCL	<b>40,54<sup>C</sup></b>	34,27	4,95	84,53	0,00	88,31
	VSL	<b>15,77<sup>C</sup></b>	13,22	1,91	83,81	0,00	38,90
	STR	<b>0,42<sup>C</sup></b>	0,34	0,05	81,54	0,00	0,99
	LIN	<b>0,26</b>	0,23	0,03	91,35	0,00	0,90
	WOB	<b>0,37</b>	0,30	0,04	81,84	0,00	0,94
	ALH	<b>2,35<sup>C</sup></b>	1,91	0,28	81,41	0,00	4,58
	BCF	<b>12,64<sup>C</sup></b>	11,33	1,64	89,69	0,00	44,57

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 18:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 7

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>75,75<sup>C</sup></b>	14,61	2,13	19,29	30,76	93,52
	PRO	<b>63,83<sup>C</sup></b>	15,91	2,32	24,93	23,07	84,89
	DAP	<b>25,21<sup>A</sup></b>	3,06	0,45	12,13	19,28	31,64
	DCL	<b>50,75<sup>C</sup></b>	8,58	1,25	19,91	37,10	70,92
	DSL	<b>16,08<sup>A</sup></b>	1,58	0,23	9,84	13,25	21,49
	VAP	<b>57,97<sup>B</sup></b>	7,01	1,02	12,08	44,14	71,91
	VCL	<b>116,13<sup>C</sup></b>	18,11	2,64	15,59	88,10	153,82
	VSL	<b>37,06</b>	3,58	0,52	9,66	29,66	48,98
	STR	<b>0,64</b>	0,08	0,01	12,92	0,46	0,79
	LIN	<b>0,32</b>	0,05	0,01	14,46	0,22	0,40
	WOB	<b>0,50</b>	0,04	0,01	8,07	0,40	0,57
	ALH	<b>5,65<sup>A</sup></b>	0,83	0,12	14,75	3,80	6,75
	BCF	<b>23,24</b>	3,65	0,53	15,70	17,31	32,50
<b>SB</b>	MOT	<b>30,75<sup>C</sup></b>	17,80	2,81	57,87	6,38	69,23
	PRO	<b>20,63<sup>C</sup></b>	16,84	2,66	81,63	1,52	54,62
	DAP	<b>19,49<sup>A</sup></b>	3,84	0,61	19,73	9,98	25,54
	DCL	<b>34,68<sup>C</sup></b>	9,21	1,46	26,56	13,89	51,37
	DSL	<b>12,70<sup>A</sup></b>	2,14	0,34	16,86	7,93	16,89
	VAP	<b>44,57<sup>B</sup></b>	8,68	1,37	19,49	24,54	60,69
	VCL	<b>78,91<sup>C</sup></b>	20,58	3,25	26,08	33,44	118,83
	VSL	<b>29,10</b>	4,97	0,79	17,10	17,83	40,68
	STR	<b>0,66</b>	0,09	0,01	14,26	0,33	0,86
	LIN	<b>0,38</b>	0,09	0,01	23,12	0,17	0,62
	WOB	<b>0,57</b>	0,06	0,01	11,08	0,48	0,79
	ALH	<b>4,37<sup>A</sup></b>	0,97	0,15	22,29	1,78	7,08
	BCF	<b>20,86</b>	5,80	0,92	27,80	4,00	43,28

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001



**Tabuľka 19:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 8

Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CA</b>	MOT	<b>43,94</b>	27,06	4,78	61,58	13,97	92,07
	PRO	<b>34,29<sup>C</sup></b>	25,68	4,54	74,87	3,40	80,30
	DAP	<b>22,22<sup>C</sup></b>	3,91	0,69	17,61	15,17	34,44
	DCL	<b>40,88<sup>C</sup></b>	9,51	1,68	23,26	18,65	57,60
	DSL	<b>13,22</b>	2,32	0,41	17,54	6,93	17,72
	VAP	<b>50,89<sup>C</sup></b>	9,52	1,68	18,72	32,15	75,40
	VCL	<b>93,56<sup>C</sup></b>	23,22	4,10	24,81	39,25	135,40
	VSL	<b>30,46</b>	6,03	1,07	19,80	14,54	42,14
	STR	<b>0,60</b>	0,07	0,01	10,98	0,42	0,69
	LIN	<b>0,33</b>	0,04	0,01	12,01	0,25	0,43
	WOB	<b>0,55</b>	0,06	0,01	11,62	0,47	0,81
	ALH	<b>4,91</b>	1,10	0,20	22,48	2,15	6,67
	BCF	<b>19,72</b>	2,41	0,43	12,23	12,59	23,24
<b>SA</b>	MOT	<b>22,00</b>	15,92	2,81	72,33	3,33	50,90
	PRO	<b>8,20<sup>C</sup></b>	12,21	2,16	148,82	0,00	42,65
	DAP	<b>10,69<sup>C</sup></b>	7,18	1,27	67,20	0,00	20,71
	DCL	<b>20,27<sup>C</sup></b>	15,11	2,67	74,57	0,00	43,16
	DSL	<b>7,48</b>	4,86	0,86	64,91	0,00	16,45
	VAP	<b>25,99<sup>C</sup></b>	16,82	2,97	64,70	0,00	46,30
	VCL	<b>48,15<sup>C</sup></b>	33,87	5,99	70,35	0,00	95,99
	VSL	<b>18,30</b>	11,65	2,06	63,65	0,00	34,04
	STR	<b>0,53</b>	0,33	0,06	61,31	0,00	0,96
	LIN	<b>0,31</b>	0,24	0,04	76,49	0,00	0,97
	WOB	<b>0,43</b>	0,29	0,05	67,88	0,00	1,00
	ALH	<b>3,15</b>	2,10	0,37	66,50	0,00	6,73
	BCF	<b>15,15</b>	11,94	2,11	78,80	0,00	48,46

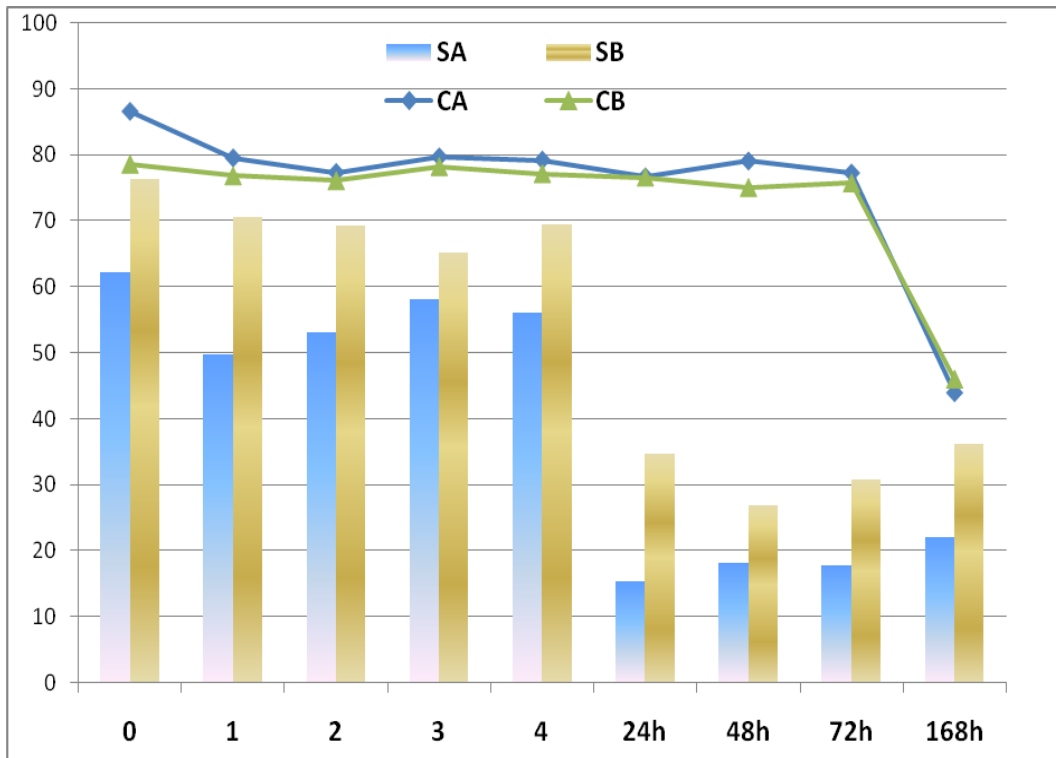
x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

**Tabuľka 20:** Pohyblivosť spermií po pridaní kyseliny salicylovej v časovom období – ČAS 8

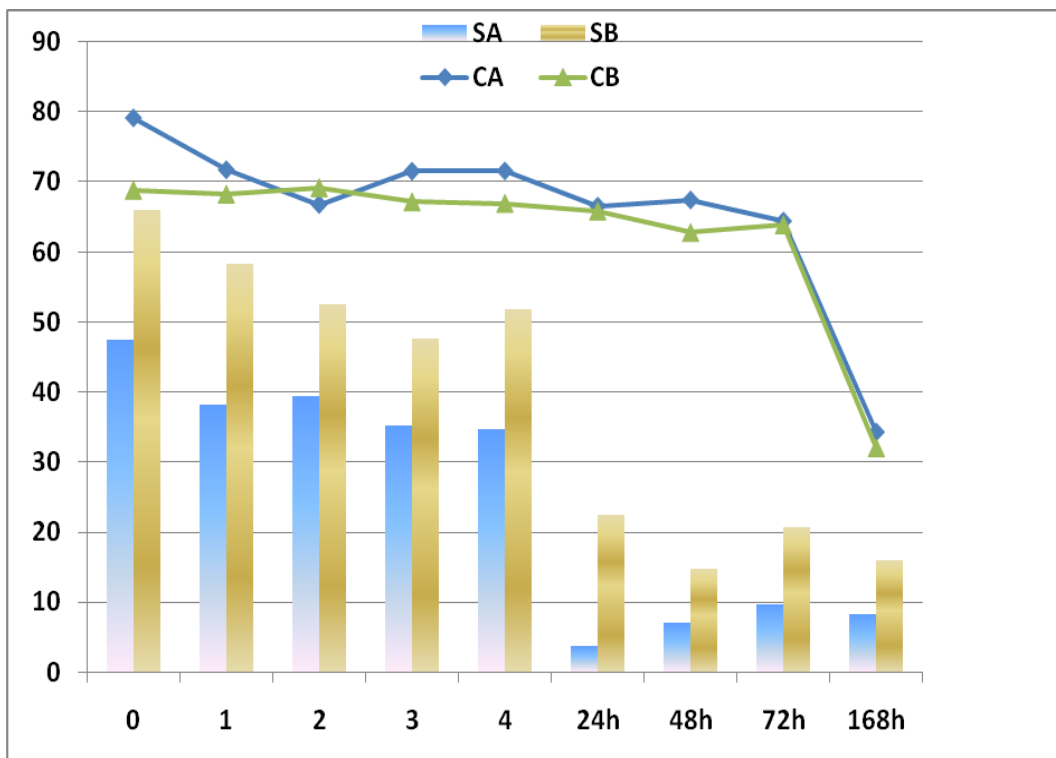
Skupina	Parameter	x	sd	se	cv	minimum	maximum
<b>CB</b>	MOT	<b>46,08</b>	14,93	2,64	31,40	23,52	79,31
	PRO	<b>32,00</b>	14,00	2,48	43,75	8,19	60,97
	DAP	<b>21,28</b>	3,35	0,59	15,73	10,59	28,21
	DCL	<b>39,51</b>	7,45	1,32	18,85	18,11	51,88
	DSL	<b>13,55</b>	1,94	0,34	14,35	7,39	18,22
	VAP	<b>49,24<sup>A</sup></b>	7,64	1,35	15,52	23,19	71,64
	VCL	<b>90,77</b>	15,94	2,82	17,56	39,70	123,77
	VSL	<b>31,41</b>	4,37	0,77	13,90	16,26	44,04
	STR	<b>0,64</b>	0,04	0,01	6,06	0,55	0,70
	LIN	<b>0,34</b>	0,04	0,01	10,35	0,28	0,43
	WOB	<b>0,54</b>	0,03	0,01	6,16	0,45	0,62
	ALH	<b>4,88</b>	0,47	0,08	9,61	3,61	5,93
	BCF	<b>20,20</b>	2,31	0,41	11,43	15,67	23,98
<b>SB</b>	MOT	<b>36,15</b>	18,16	3,21	50,23	6,34	75,00
	PRO	<b>15,91</b>	11,89	2,10	74,76	0,00	39,36
	DAP	<b>15,62</b>	6,89	1,22	44,12	0,00	27,71
	DCL	<b>29,38</b>	13,66	2,42	46,50	0,00	53,48
	DSL	<b>10,08</b>	4,83	0,85	47,97	0,00	20,89
	VAP	<b>35,50<sup>A</sup></b>	15,70	2,77	44,21	0,00	62,87
	VCL	<b>66,47</b>	31,08	5,49	46,75	0,00	119,90
	VSL	<b>23,01</b>	10,95	1,94	47,58	0,00	47,53
	STR	<b>0,56</b>	0,23	0,04	41,75	0,00	0,95
	LIN	<b>0,31</b>	0,17	0,03	54,91	0,00	0,98
	WOB	<b>0,48</b>	0,21	0,04	43,10	0,00	1,02
	ALH	<b>3,54</b>	1,60	0,28	45,22	0,00	6,70
	BCF	<b>16,60</b>	7,56	1,34	45,56	0,00	25,00

x – priemer; sd – smerodajná odchýlka; se – štandardná chyba; cv – variačný koeficient (v %); minimum – minimálna hodnota; maximum – maximálna hodnota  
<sup>A</sup> – p<0,05; <sup>B</sup> – p<0,01; <sup>C</sup> – p<0,001

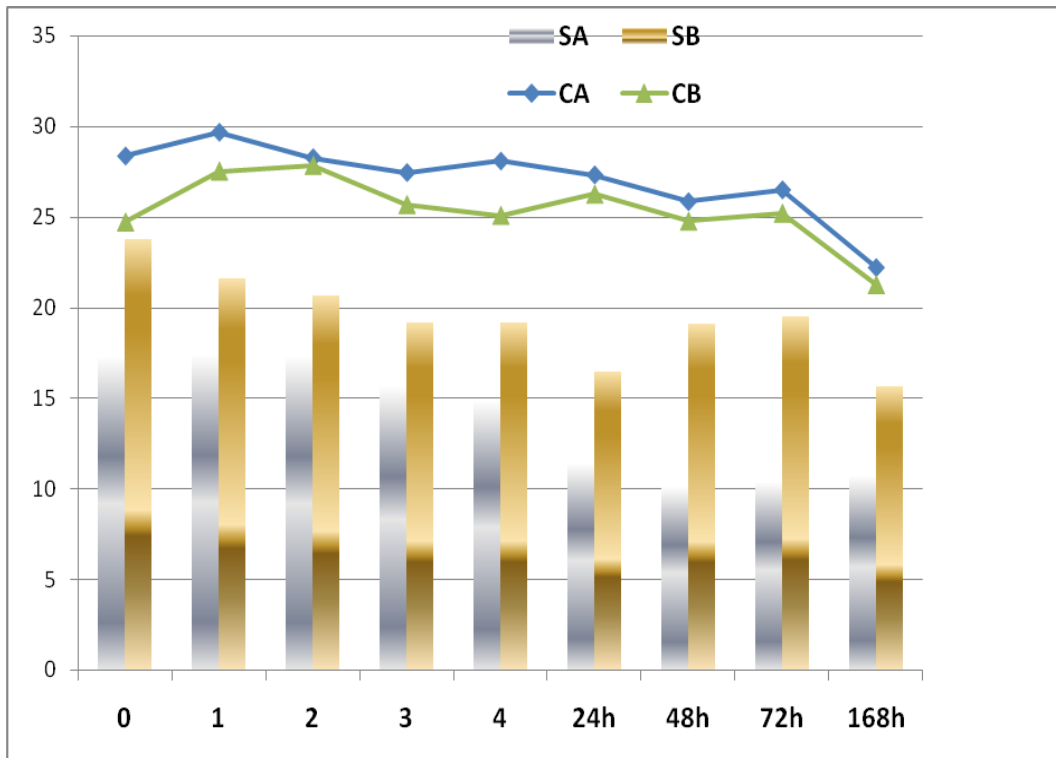
**Graf 1:** Pohyblivosť spermíí (v %) po pridaní kyseliny salicylovej



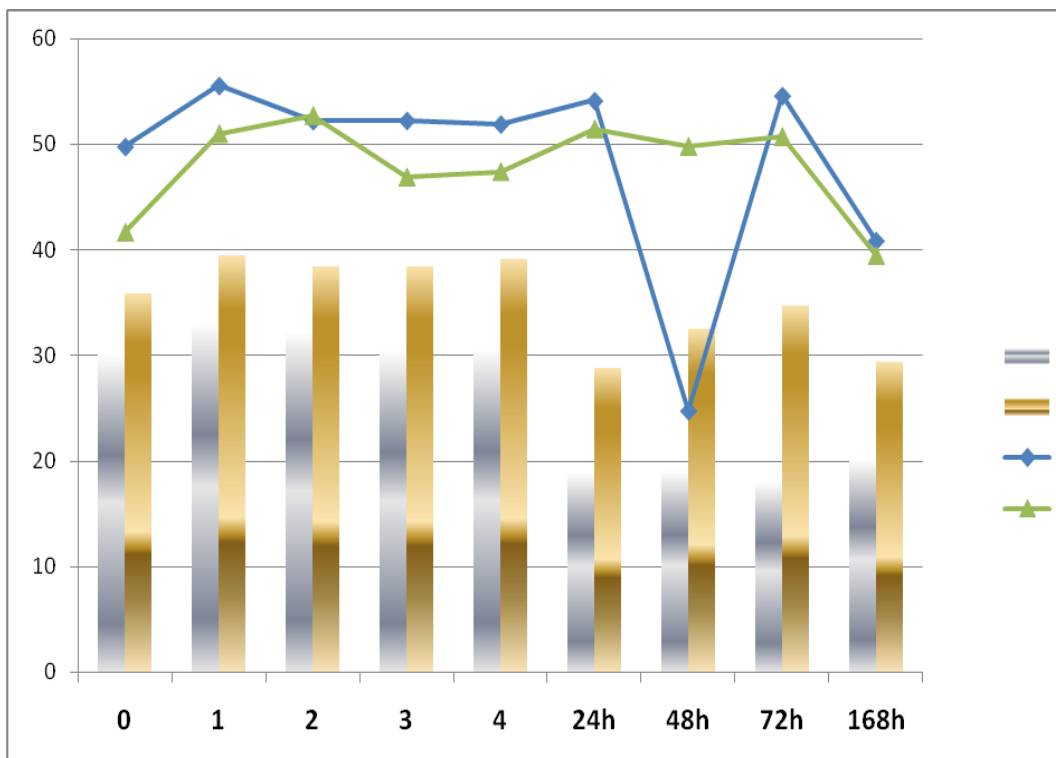
**Graf 2:** Progressívna pohyblivosť spermíí (v %) po pridaní kyseliny salicylovej



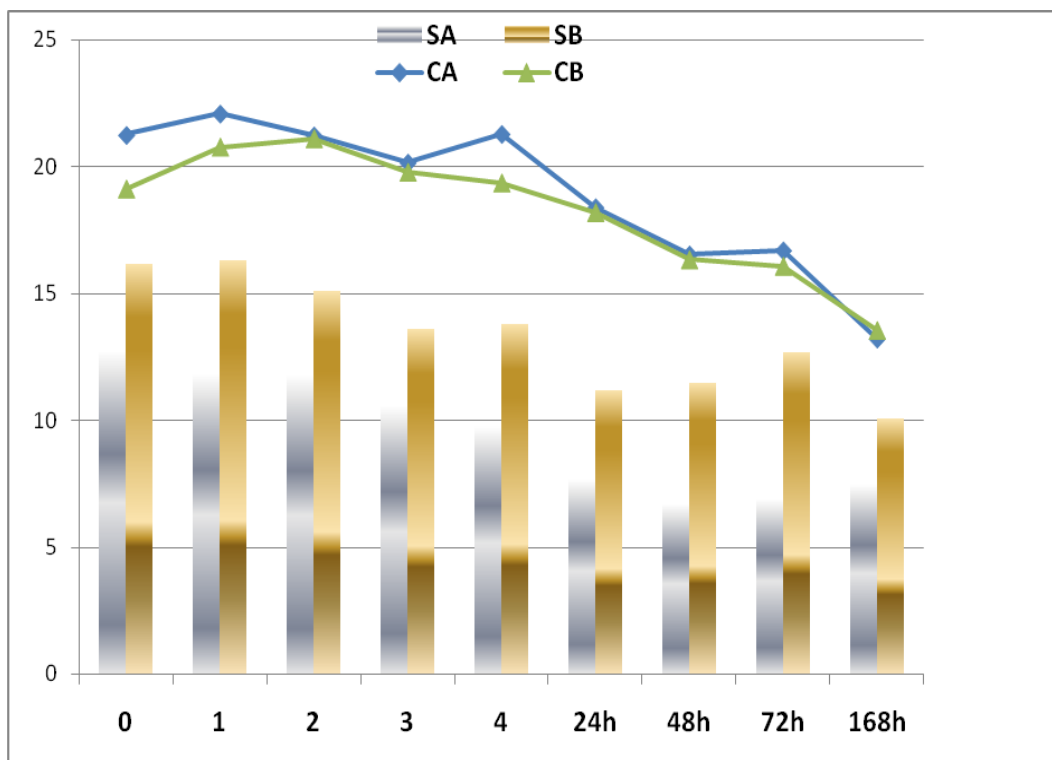
**Graf 3:** Priemerná prejdená dráha spermií (v  $\mu\text{m}$ ) po pridaní kyseliny salicylovej



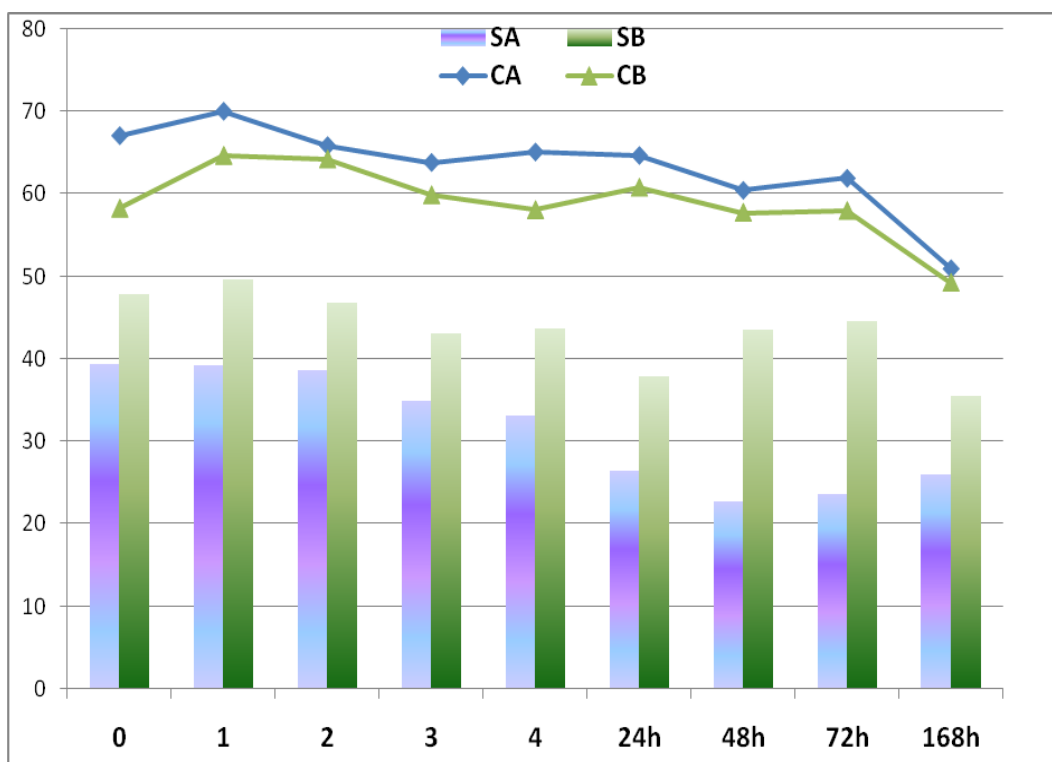
**Graf 4:** Krivočiarová dráha pohybu spermií (v  $\mu\text{m}$ ) po pridaní kyseliny salicylovej



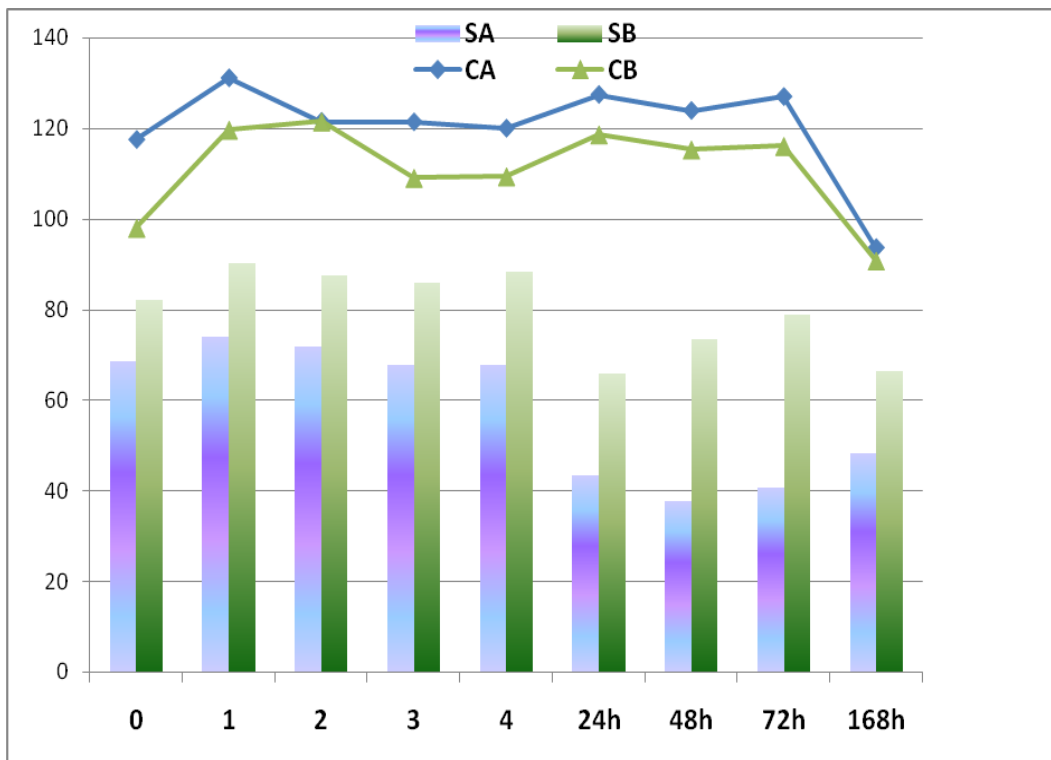
**Graf 5:** Priama dráha spermií (v  $\mu\text{m}$ ) po pridaní kyseliny salicylovej



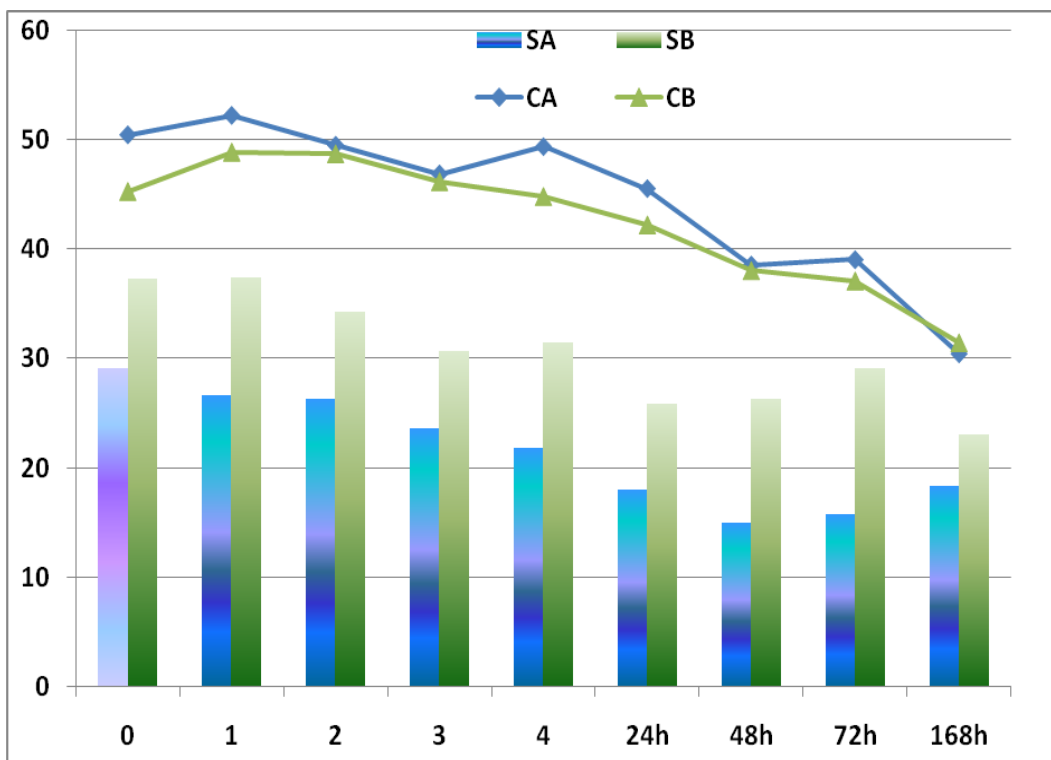
**Graf 6:** Priemerná dráhová rýchlosť spermií (v  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) po pridaní kyseliny salicylovej



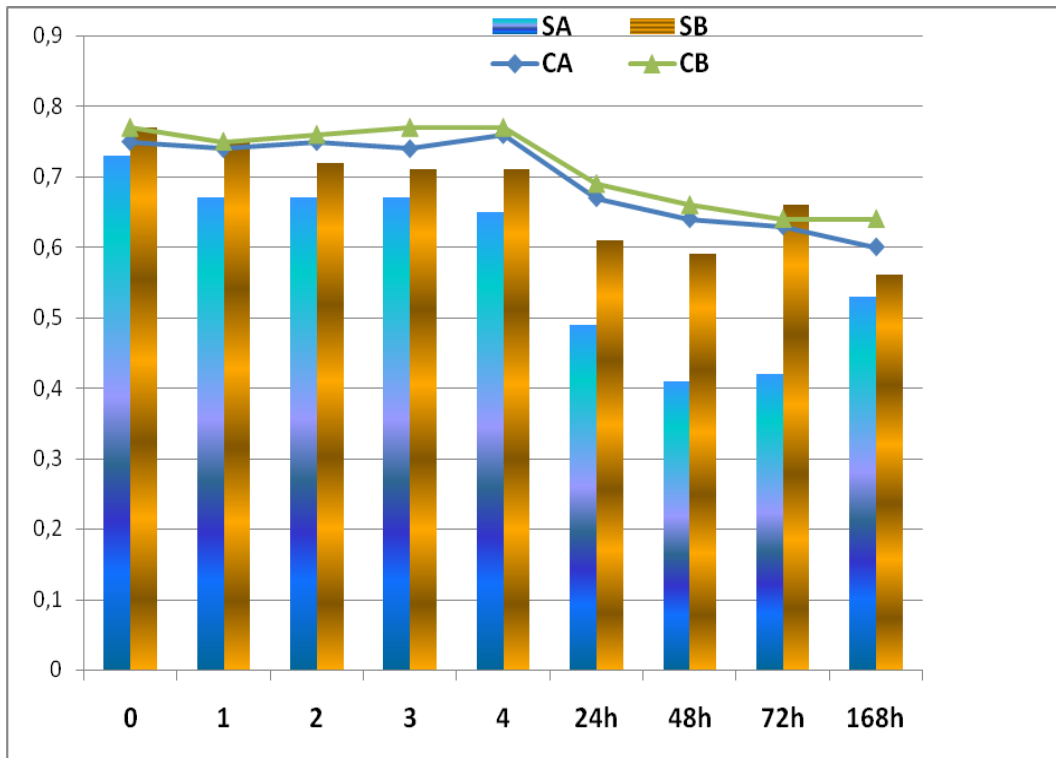
**Graf 7:** Krivočiarová rýchlosť spermíí ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) po pridaní kyseliny salicylovej



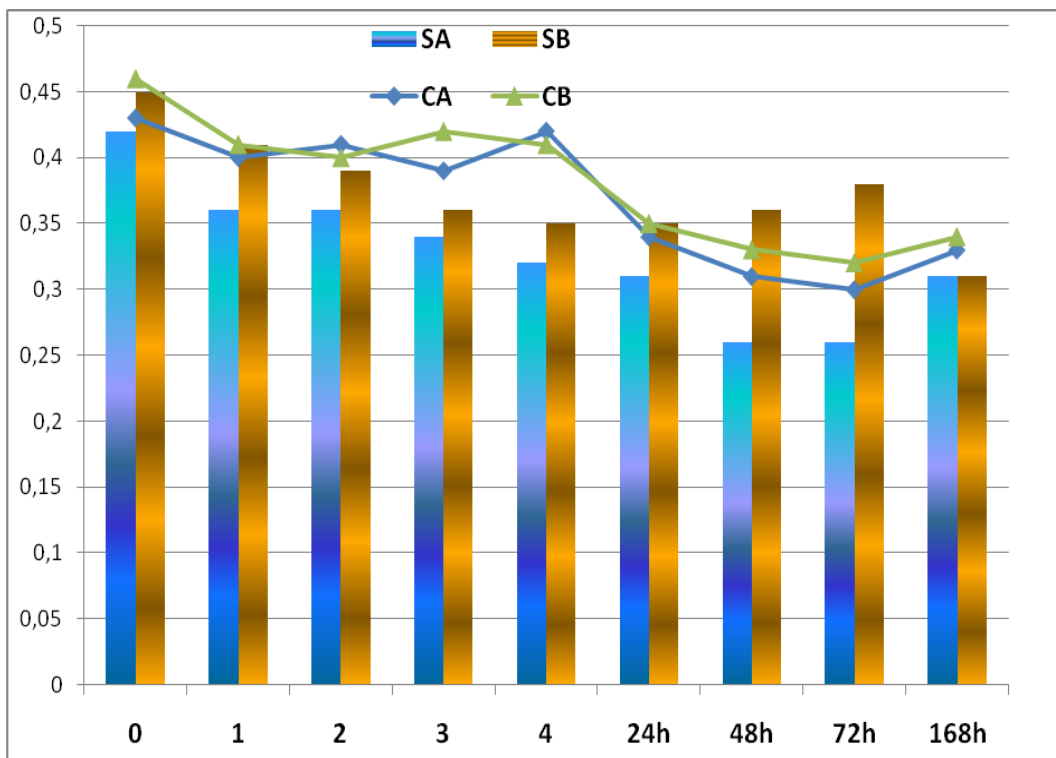
**Graf 8:** Rýchlosť prejdenej priamej dráhy spermíí ( $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) po pridaní kyseliny salicylovej



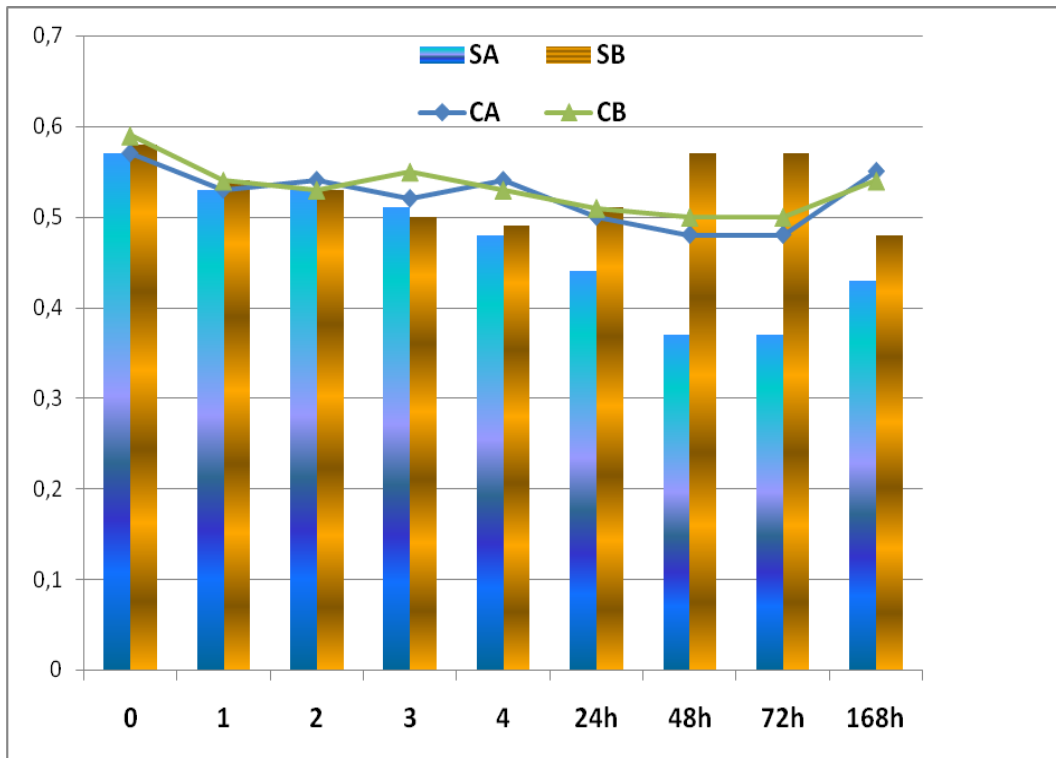
**Graf 9:** Priamosť pohybu spermií po pridaní kyseliny salicylovej



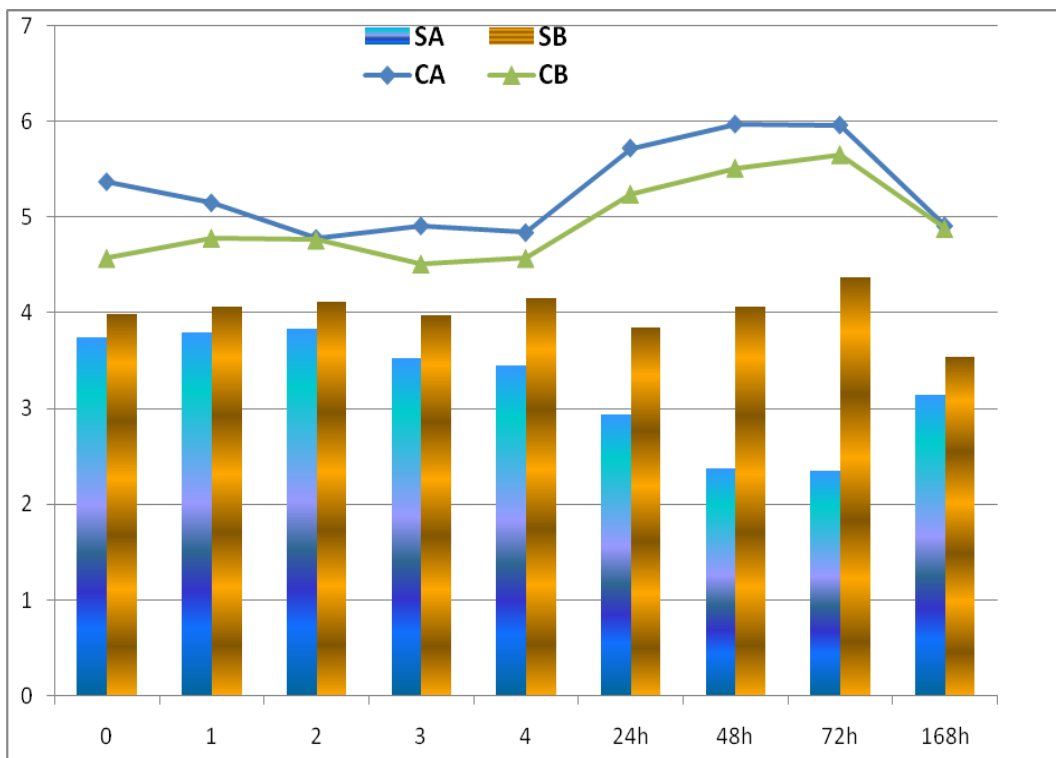
**Graf 10:** Linearita pohybu spermií po pridaní kyseliny salicylovej



**Graf 11:** Kmitanie spermií po pridaní kyseliny salicylovej

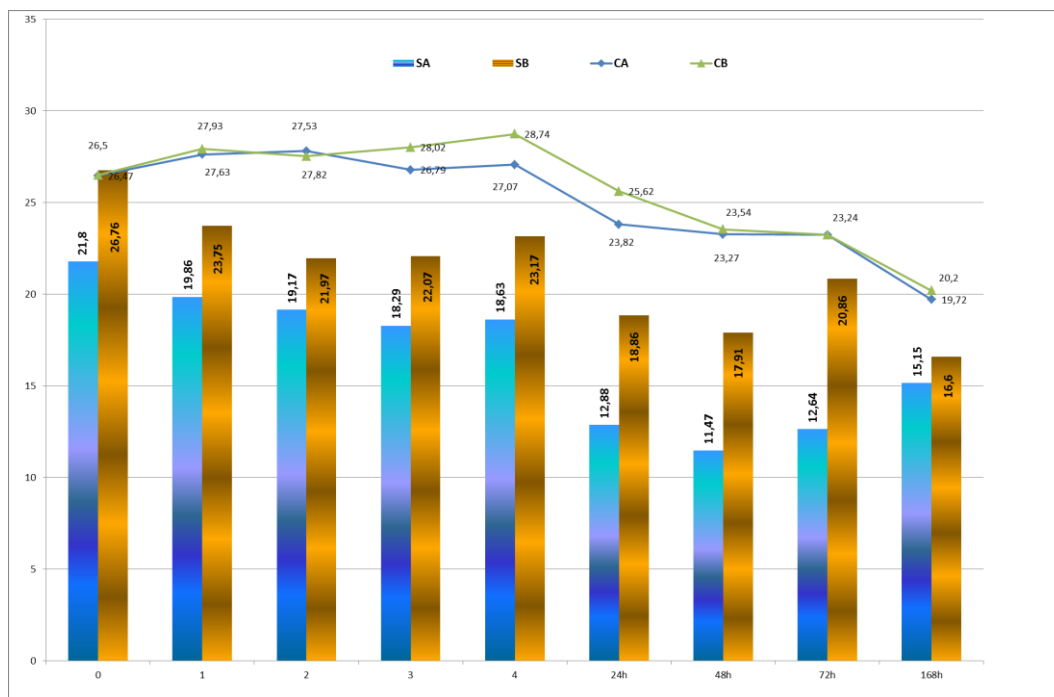


**Graf 12:** Amplitúda laterálneho posunu hlavičky (v  $\mu\text{m}$ ) po pridaní kys. salicylovej





**Graf 13:** Frekvencia úderov spermií (v Hz) po pridaní kyseliny salicylovej



---

## 5 Diskusia

V práci popisujeme vplyv kyseliny salicylovej na parametre pohyblivosti (CASA parametre) spermií býkov pri odlišných teplotách a časoch. Od týchto parametrov faktorov sa odvíja fertilizačná schopnosť spermií. Hlavným cieľom diplomovej práce bolo zistiť parametre pohyblivosti spermií býkov po pridaní kyseliny salicylovej pomocou CASA analýzy, ktoré by mohli preukázať ich fertilizačnú schopnosť.

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

Senger et al. (1983) zisťovali motilitu spermií pomocou fázového kontrastu a percento spermií s intaktným akrozómom bolo určené interferenčnou kontrastnou mikroskopiou. Věžník (1973) testom propulzivity stanovoval strednú hodnotu rýchlosti pohybu spermií. Fotogrametrickým vyšetrením bola stanovená priemerná rýchlosť pohybu spermií. Porovnávaním výsledkov oboch metód bolo zistené, že veličiny časového faktoru testu propulzivity zodpovedajú metrickým údajom fotometódy v exponenciálnej závislosti. Zistený polčas zníženia rýchlosti spermií, vzhľadom k pôvodným hodnotám bol 2 hodiny, zatiaľ čo v tom istom čase dosahoval pokles živých spermií necelých 20%. Môžeme predpokladať, že rozdiely medzi vizuálnym hodnotením pohybu a percentom živých spermií sú ovplyvňované rýchlosťou pohybu spermií.

Je množstvo faktorov, ktoré majú účinok na pohyblivosť 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 osmolarite a v termorezistetnom teste spermií. Taktiež zistili rozdiel v množstve živých spermií v ejakuláte.

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 využívané liečivá, ktoré obsahovali kyselinu salicylovú. Predovšetkým sa aplikovali u psov na liečbu bolesti a artritídy, hoci v súčasnosti sa pre tento účel neodporúčajú, pretože sú dostupné nové, moderné liečivá, ktoré majú menej nežiadúcich účinkov. 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 glukoronidové konjugáty, preto je viac než pravdepodobné, že budú pre ne jedovaté. Môžu byť používané len pod priamym dohľadom veterinára (Lappin, 2001).

V súvislosti s účinkom kyseliny salicylovej na parametre pohyblivosti spermií zvierat v literatúre kompletne chýbajú. Skúmal sa účinok kyseliny salicylovej na pohyblivosť spermií mužov (Porat–Soldin a Soldin, 1992). Podobne ako v našej práci, avšak pri koncentráciách 50 – 200 mg.l<sup>-1</sup> zistili pokles pohyblivosti spermií za 24 hodín na 48 – 75% a po 48 hodinách na 33 – 61% v porovnaní s kontrolou. Predpokladá sa, že tento jav je spôsobený skôr priamou inhibíciou motility ako poškodením spermií. Autori avšak jasne preukázali podobný obraz útlmu pohyblivosti spermií ako v našej práci. Môžeme konštatovať, že naše dosiahnuté výsledky sú originálne a zatiaľ podobné vo vzťahu k hospodárskym zvieratám publikované neboli.

---

Samotné meranie pohyblivosti spermí bolo už obsahom viacerých prác. Objektívne hodnotenie narážalo na mnohé ťažkosti, ktoré pramenili hlavne z toho, že zriedčovací roztoky, rôzne riedenie, teplota, časový faktor alebo hĺbka pozorovacej vrstvy môže ľahko ovplyvniť pohyblivosť spermí. Do úvahy treba brať aj to, že hodnotenie motility komputrovou technikou síce úplne chyby nevyklučuje, ale tie môžu prameniť hlavne z rozpoznania objektov, zvyrazňuje sa však relatívny porovnávajúci faktor hodnotenia. Jednotliví autori dochádzajú k rôznym výsledkom, pričom rozdiely mohli vychádzať nielen z predtým uvedených problémov, ale aj z rôznych použitých metód hodnotenia.

Všetky prístroje zo skupiny CASA sú akreditované WHO. Väčšina prístrojov udáva tie isté parametre, no medzi cenovými reláciami a náročnosťou obsluhy sú veľké rozdiely. Moderné analytické metódy ejakulátov sú závislé od kvalifikovaného laboratórneho personálu a od kvalitného prístrojového vybavenia laboratórií.

---

## 6 Návrh na využitie výsledkov

Predpokladom toho, aby bola inseminácia úspešná, je potrebná kvalitná inseminačná dávka. Kvalitatívne hodnotenie pohyblivosti spermií sa pokladá za nevyhnutný krok v objektivizácii selekcie ejakulátov pre umelú insemináciu. Pri hodnotení pohyblivosti spermií treba brať do úvahy skutočnosť, že hoci motilita je známkou vysokého stupňa integrity bunky, nemusí byť v každom prípade zárukou fertilizačnej schopnosti spermií. Na druhej strane niektorí autori prišli k záveru, že znalosť rýchlosti pohybu spermie je ukazovateľ, ktorý určuje omnoho výraznejšiu kvalitu ejakulátu, ako napríklad pokles percenta živých spermií. V súčasnej dobe sa preto viaceré výskumy zameriavajú na zvyšovanie kvality spermií a ich fertility.

Hlavným cieľom našej práce bolo zistiť parametre pohyblivosti spermií býkov po pridaní kyseliny salicylovej pomocou CASA analýzy, ktoré by mohli preukázať ich fertilizačnú schopnosť.

Kyselina salicylová bola zistená vo väčšine druhov zeleniny, v ovocí a hriboch ale najvýraznejšie vo vŕbovej kôre. Odtiaľto bola extrahovaná a používaná ako aspirín. Patrí medzi antioxidanty, ktorých využite predpokladá pozitívne vlastnosti na organizmus živočíchov, resp. priamo na bunky, medzi ktoré patria aj spermie.

Na základe výsledkov našej experimentálnej práce však môžeme konštatovať, že koncentrácie kyseliny salicylovej použité v práci pôsobia na motilitu spermií nepriaznivo. Keďže kyselina salicylová patrí do kategórie fenolových fytohormónov a zistil sa jej úloha v raste a vývoji rastlín, chovatelia zvierat, najmä byľinožravcov, by sa mali zamerať na zloženie kŕmnych dávok. Práca totiž jasne odhalila negatívne účinky na pohybové parametre spermií a naznačuje potenciálne zníženie kvalitatívnej schopnosti ejakulátov, resp. inseminačných dávok používaných v chovateľskej praxi.

---

## 7 Záver

V diplomovej práci sme sledovali pohyblivosť spermií býkov po pridaní kyseliny salicylovej pomocou CASA analýzy pri teplote 37°C v piatich časových intervaloch s jedn hodinovým odstupom (0, 60, 120, 180 a 240 minút) a pri teplote 5°C v štyroch časových intervaloch (24, 48, 72 a 168 hodín).

Z každého zriedeného ejakulátu sme pripravili osem vzoriek a tie sme rozdelili na dve skupiny – skupina SA s pridaním 2 mg.ml<sup>-1</sup> kyseliny salicylovej a skupina SB s pridaním 1 mg.ml<sup>-1</sup> kyseliny salicylovej. Celková pohyblivosť spermií sa pohybovala medzi 15,38 - 62,16% (SA skupina) a 26,86 – 76,30% (SB skupina). Preukazne najnižšie percento pohyblivosti spermií sme zaznamenali v skupine SA po 24 hodinách, kedy boli vzorky kultivované v chlade (15,38 – 18,08%). V skupine SB sme zaznamenali podobné tendencie. Pri parametri progresívna pohyblivosť spermií boli zistené podobné hodnoty. Pri sledovaní dráhových parametrov sme zistili preukazne nízke hodnoty v skupine SA už pri prvom meraní. Výrazný pokles nastal po 24 hodinách a najnižšou hodnotou tohto parametra je hodnota po 48 hodinách. V skupine SB môžeme pozorovať preukazné postupné znižovanie sa hodnôt a to v rozpätí 16,28 – 11,17 μm. V skupine rýchlostných parametrov sme zistili podobné tendencie, ako u parametrov dráhových. Celkovo nízke, štatisticky preukazné hodnoty sme zaznamenali po 24 hodinách a pri teplote 5°C. Pri parametri amplitúda laterálneho posunu hlavičky sme zistili, že výraznejší vplyv na laterálny pohyb hlavičky spermie má vyššia koncentrácia kyseliny salicylovej. Dosiahnuté výsledky podporuje aj analýza frekvencie krížových úderov, kde dochádza k preukaznému poklesu v pokusných skupinách v porovnaní s kontrolou.

Môžeme teda zhodnotiť, že pridaním kyseliny salicylovej do ejakulátov sme značne znížili parametre pohyblivosti spermií. Najvýraznejší preukazný vplyv však mala vyššia koncentrácia kyseliny salicylovej a to najmä pri vzorkách, ktoré boli kultivované v chlade. Dosiahnuté hodnoty oproti kontrolnej skupine nabrali významný klesajúci charakter. Aj keď je kyselina salicylová považovaná za antioxidant, ktorý je využívaný v rôznych priemyselných odvetviach, výsledky našej štúdie hovoria, že jej vyššie koncentrácie majú na živočíšne bunky, akými spermie sú, negatívny účinok, ktorý má za následok pokles pohyblivosti spermií.

---

## 8 Zoznam použitej literatúry

- ALBERTS, B. – BRAY, D. – JOHNSON, A. – LEWIS, J. – RAFF, M. – ROBERTS, K., WALTERS, P. 1998. *Essential cell biology*. New York : Garland Publishing, Inc., 1998, 630 p. ISBN 8090290604.
- ALVARINO, J.M.R. 1993. *Control de la reproducción en el conejo*. MAP Mundiprensa, Madrid, 1993, s. 137.
- AMELAR, R.D. 1980. Sperm motility. In *Fertility and Sterility*, roč. 34, 1980, s. 197–214.
- ANIMAL REPRODUCTION. [online], 1999. [cit. 2009–02–12]. Dostupné na internete: <http://porpax.bio.miami.edu/~cmallery/150/devel/46x11.jpg>
- BIRKHEAD, T. R. – HOSKEN – D. J., PITNICK, S. 2009. *Sperm biology: An evolutionary perspective*. Burlington : Academic Press. Elsevier, 2009. 642 s. ISBN 9780123725684.
- BOZKURT, H. H. – WOOLLEY, D. M. 1993. Morphology of nexis links in relation to interdouplet sliding in the sperm flagellum. In *Cell Motility and the Cytoskeleton*, roč. 24, 1993, s. 109–118.
- BÓZNER, A. – BOBÁK, M. – DAVID, H. – SMETANA, K. 1992. *Cytológia*. In Osveta, Martin, 1992, 260 s. ISBN 8021701684.
- BUDWORTH, P.R. – AMANN, P.R. – HAMMERSTEDT, R.H. 1987. A microcomputer photographic method for evaluating of motility and velocity of bull sperm. In *Journal of Dairy Science*, roč. 70, 1987, s 1927–1936.
- BYSTRICKÁ, J. 2003. *Úroda a kvalita mrkvy obvyčajnej po aplikácii vybraných fenolických a terpenoidných zlúčenín*: Dizertačná práca. Nitra : SPU Nitra, 2003. s. 52–53.
- CAMBRIDGE, P. – LEES, R. E. – HOOKE, C. S. – RUSSELL, H. 2010. Antithrombotic actions of aspirin in the horse. In *Equine Veterinary Journal*, roč. 23, 2010, s. 123–127.
- CIGÁNKOVÁ, V. – CIGÁNEK, J. – TOMAJKOVÁ, E. 1993. Postirradiation morphological changes in the testes of adult dogs. In *Folia Veterinaria*, roč. 37, 1993, s. 103–109.

- 
- CIGÁNKOVÁ, V. – CIGÁNEK, J. – TOMAJKOVÁ, E. 1996. Postirradiation morphological changes in the testes of sexually immature dogs. In *Folia Veterinaria*, roč. 40, 1996, s. 5–6.
- CHRENEK, P. – TRANDZÍK, 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*, roč. 99, 2007, s. 127–134.
- COLE, H.H. – CUPPS, P.T. 1969. *Reproduction in domestic animals*. New York and London, Academic Press, 1969, 500 s.
- DOUARD, V. et al. 2003. Reproductive period affects lipid composition and quality of fresh and stored spermatozoa in Turkeys. In *Theriogenology*, roč. 59, 2003, s. 753–764.
- GAMČÍK, P. – KOZUMPLÍK, J. – MESÁROŠ, P. – SCHVARC, F. – VLČEK, Z. – ZIBRÍN, M. 1992. *Andrológia a inseminácia hospodárskych zvierat*. Bratislava : Príroda, 1992, 299 s. ISBN 8007005404.
- GIBBONS, B. H. – ROWE, A.J. 1965. Dynein: A protein with adenosine triphosphatase activity from cilia. In *Science*, 1965, roč. 149, s. 424.
- GIBBONS, B. H. 1975. *Mechanism of flagellar motility*. In: The functional anatomy of the spermatozoon. B.A. Afzelis, Oxford, Pergamon Press, 1975, 345 s.
- 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*, roč. 45, 2003, s. 23.
- HAYAT, S. – AMHAD, A. 2007. *Salicylic acid – A Plant Hormone*. Springer. Dordrecht, 2007, 401 s. ISBN 1402051832.
- INABA, K. 2003. Molecular architecture of the sperm flagella: molecules for motility and signaling. In *Zoological Science*, roč. 20, 2003, s. 1043–1056.
- JELÍNEK, P. et al 2003. *Fyziologie hospodárskych zvierat*. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. 414 s. ISBN 8071576441.
- JEYENDRAN, R.S. 2002. *Protocols for semen analysis in clinical diagnosis*. Taylor & Francis, 2002, 94 s. ISBN 1842142054.
- JOHNSON, M.H. – EVERIT, B.J. 2000. *Essential reproduction*. In Blackwell Publishing, 2000, 285 p. ISBN 0632042877.



- 
- KASKER, H.T. 1994. The relationship between morphology, motility and zone pellucida binding potential of human spermatozoa. In *Andrologia*, roč. 22, 1994, s. 4–9.
- KOTLOWSKA, M. et al. 2006. Effects of liquid storage on amidase activity, DNA fragmentation and motility of turkey spermatozoa. In *Theriogenology*, roč. 67, 2006, s. 276–286.
- KRUGER, T.F. 1996. *Human spermatozoa in assisted reproduction*. In Taylor & Francis, 1996, 518 p. ISBN 1850705909.
- KULÍŠEK, V. – HLUCHÝ, S. – TOMAN, R. 2006. *Cytológia, histológia a embryológia*. Nitra : SPU, 2006, 196 s. ISBN 80–8069–764–7.
- LAPPIN, M. R. 2001. *Feline internal medicine secrets*. Philadelphia : Hanley & Belfus, Medical Publishers, 2001, s. 479. ISBN 1560534613.
- LINCK, R. W. 2001. *Cilia and flagella*. In Encyclopedia of life science. London : Nature Publishing Group. 1–12 s. ISBN 9781561592746.
- LUKÁČ, N., – BULLA, J. – CIGÁNKOVÁ, V. et al. 2007. *Stopové prvky a kvalita spermií*. Nitra : SPU, 2007, 118 s. ISBN 9788080699048.
- MASSÁNYI, L. 1989. Hodnotenie pohyblivosti spermií komputrovou technikou. In *Veterinárni Medicina Praha*, roč. 34, 1989, s. 163–170.
- MASSÁNYI, P. – TRANDŽÍK, J. 1991. Analyzovanie pohyblivosti býčich spermií v čerstvých ejakulátoch komputrovou technikou. In *Veterinárni Medicina Praha*, roč. 36, 1991, s. 79–92.
- MASSÁNYI, L. 1991. *Funkčná morfológia spermie*. Bratislava : Veda, 1991. 188 s. ISBN 8022401498.
- MASSÁNYI, P. – TRANDŽÍK, J. – LUKÁČ, N. – TOMAN, R. – HALO, M. – STRAPÁK, P. 2002. *Hodnotenie pohyblivosti spermií komputrovou technikou*. Nitra : SPU, 2002, s. 70 ISBN 808069–1177.
- MASSÁNYI, P. – TOMAN, R. – LUKÁČ, N. – TRANDŽÍK, J. – CHRENEK, P. – FABIŠ, M. 2004. *Fyziológia bunky*. Nitra : SPU, 2004, s. 137 ISBN 8080694435.
- MATHUR, S. – CARLTON, M. – ZIEGLER, J. – RUST, P.F. – WILLIAMSON, H.O. 1986. A computerized sperm motion analysis. In *Fertility and Sterility*, roč. 46, 1986, s. 484–488.

- 
- PLUMB, D. C. 2008. *Veterinary drug handbook*. Iowa State University Press, Ames, 1999, 1136 s. ISBN 9780813810973.
- PORAT–SOLDIN, O. – SOLDIN, S.J. 1992. Preliminary studies on the in vitro and in vivo effect of salicylate on sperm motility. In *Therapeutic Drug Monitoring*, roč. 14, 1992, s. 366–370.
- 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*, roč. 62, 2006, s. 538.
- SATIR, P. 1965. Studies on cilia. II. Examination of the distal region of the ciliary shaft and the role of the filaments on motility. In *Journal of Cell Biology*, roč. 26, 1965, s. 805–815
- SATIR, P. 1974. How cilia move. In *Animal Science*, roč. 231, 1974, s. 44.
- SATIR, P. 1976. *Introduction: Cilia, eucariotic flagella and an introduction to microtubules*. In GOLDMAN, R.D. – POLARD, T.D. (Ed.): *Cell motility*. Cold Springs Harbour Laboratory, NY, 1976.
- SENGER, P.L. – MITCHEL, J.R. – ALMGUIST, J.O. 1983. Influence of cooling rates and extenders upon postthaw viability of bovine spermatozoa packed in 0,25 and 0,5 ml French straws. In *Journal of Animal Science*, roč. 56, 1983, s. 1261–1268.
- SMITH, E.F. – YANG, P. 2004. The radials spoken and central apparatus: mechanochemicals transducers that regulate flagellar motility. In *Cell Motility and the Cytoskeleton*, roč. 57, 2004, s. 8–17.
- SUMMER, K.E. – GIBBONS, I.R. 1973: Effects of trypsin digestion on flagellar structures and their relationship to motility. In *Journal of Cell Biology*, roč. 58, 1973, s. 618–624.
- 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 Medicicne*, roč. 61, 2005, s. 877–880.
- TOMÁŠ, J. – HRUŠKOVIČOVÁ, A. – MUSILOVÁ, J. – BYSTRICKÁ, J. – TREBICHALSKÝ, P. 2009. *Organická chémia*. Nitra : SPU Nitra, 2009. 208 s. ISBN 97855201825.
- TURNER, R. M. 2003. Tales from the tail: what do we really know about sperm motility. In *Journal od Andrology*, roč. 24, 2003, s. 86–94.
-

---

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*, roč. 51, 1989, s. 156–161.

VELÍŠEK, J. 2002. *Chemie potravin*. Tábor, 2002. 343 s. ISBN 808665902X.

VĚZNÍK, Z. 1973. Diagnostický význam stanovení rychlosti pohybu spermií býků fotogrammetricky a testem propulsivity. In *Veterinární Medicina Praha*, roč. 18, 1973, s. 291–302.