

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Kateřina Mojžišová

Fyziologické a hormonální mechanismy ovlivňující kvalitu ejakulátu u ptáků

Physiological and hormonal mechanisms influencing ejaculate quality in birds

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: MVDr. Oldřich Tomášek, Ph.D.

Praha 2013

Poděkování:

Chtěla bych touto cestou poděkovat svému školiteli MVDr. Oldřichu Tomáškoví, Ph.D. za jeho cenné rady a připomínky a za jeho nekonečnou trpělivost při vedení mé bakalářské práce. V neposlední řadě patří mé poděkování rodině, která mě v průběhu studia podporovala.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 6. 8. 2013

Podpis:

Abstrakt

Pohlavní výběr je důležitým mechanismem evolučního vývoje. Kromě předkopulačního výběru, kdy většinou samci soupeří o partnerky, existuje ještě pokopulační výběr mezi spermii (tzv. kompetice spermii) v případě, že samice kopulují s více samci. I když je většina druhů ptáků sociálně monogamních, značná část z nich je také částečně promiskuitní. U těchto druhů je pokopulační výběr důležitým mechanismem zvyšujícím variabilitu v reprodukční úspěšnosti mezi samci. Kvalita ejakulátu, rozhodující

o úspěšnosti samce v kompetici spermii, je určena především koncentrací a celkovým počtem spermii, jejich morfologií a pohyblivostí.

Moje bakalářská práce shrnuje dosavadní poznatky o hormonálních a fyziologických mechanismech, které mohou ovlivnit kvalitu ejakulátu. Jedná se především o vliv pohlavních a jiných hormonů, fyziologického a oxidativního stresu, vnějších podmínek, antioxidačních mechanismů a složení buněčných membrán spermii. Kromě jejich vlivu na kvalitu ejakulátu na vnitrodruhové úrovni jsou v práci hodnoceny také jejich odlišnosti mezi ptačími druhy, především ve vztahu k různé intenzitě pokopulačního pohlavního výběru.

Klíčová slova: pohlavní výběr, kompetice spermii, spermie, promiskuita, rozmnožování, mastné kyseliny, karotenoidy, vitamíny, oxidativní stres, pohlavní a stresové hormony, ptáci

Abstract

Sexual selection is an important mechanism of evolution. In addition to precopulatory sexual selection, arising when males compete for female partners, there is also postcopulatory sexual selection (sperm competition), when females copulate with more males. Even though most avian species are socially monogamous, most of them are also partially promiscuous. In such species, sperm competition is an important factor increasing variability in reproductive success between males. Male's success in sperm competition is primarily determined by sperm concentration, total sperm count and morphology and motility of spermatozoa.

My bachelor thesis summarizes knowledge about the hormonal and physiological mechanisms that influence semen quality. This is especially the effect of sex and other hormones, physiological and oxidative stress, environmental conditions, antioxidant mechanism and composition of sperm cell membrane. Besides evaluating their influence on ejaculate quality on intraspecific level, I also describe their differences between avian species with respect to the differences of sperm competition.

Key words: sexual selection, sperm competition, spermatozoa, promiscuity, reproduction, fatty acids, carotenoids, vitamins, oxidative stress, sex and stress hormones, birds

Seznam zkratek

ARA	kyselina arachidonová (arachidonic acid)
ABP	androgen-vázající protein (androgen-binding protein)
ACTH	adrenokortikotropní hormon
ALA	kyselina alfa-linolenová (alpha linoleic acid)
ATP	adenosin trifosfát
cAMP	cyklický adenosin monofosfát
CAT	kataláza (catalase)
CRH	kortikoliberin (corticotropine-releasing hormone)
DEX	dexamethason
DHA	kyselina dokosahexaenová (docosahexaenoic acid)
DHT	dihydrotestosteron
DTA	kyselina dokosatetraenová (docosatetraenoic acid)
E2	estradiol
EPA	kyselina eikosapentaenová (eicosapentaenoic acid)
FSH	folitropin, folikuly-stimulující hormon
GH	růstový hormon (growth hormone)
GHR	receptor pro růstový hormon (growth hormone receptor)
GnRH	gonadotropiny-uvolňující hormon (gonadotropine-releasing hormone)
GPx	glutathion peroxidáza
GR	glutathion reductáza
HPA osa	hypotalamus-hypofýza-adrenální osa (hypothalamic pituitary adrenal axis)
HSP	proteiny teplotního šoku (heat shock proteins)
IBV	virus infekční bronchitidy (infectious bronchitis virus)
IGF	inzulínový růstový faktor (insuline growth factor)
LH	luteinizační hormon
MDA	malonyl dialdehyd
MUFA	mononasyčená mastná kyselina (monounsaturated fatty acid)
PUFA	polynenasycená mastná kyselina (polyunsaturated fatty acid)
ROS	reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)
SOD	superoxid dismutáza
SQI	index kvality spermií (sperm quality index)
SST	skladovací tubuly pro spermie (sperm storage tubules)
T	testosteron
TAG	triacylglycerol
UVJ	uterovaginální spojení (uterovaginal junction)
VIP	vazoaktivní střevní peptid (vasoactive intestinal peptide)

OBSAH

1	ÚVOD.....	1
2	SPERMIE	2
2.1	FUNKCE A STAVBA.....	2
2.2	SPERMATOGENEZE.....	3
2.3	HORMONÁLNÍ REGULACE SPERMATOGENEZE	3
2.4	OPLODNĚNÍ.....	4
2.5	ENERGETIKA SPERMÍÍ	4
3	FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ KVALITU SPERMÍÍ.....	5
3.1	VZTAHY MEZI MORFOLOGICKÝMI A FUNKČNÍMI ZNAKY SPERMÍÍ.....	5
3.2	HORMONÁLNÍ VLIVY	5
3.2.1	<i>Stres a stresové hormony.....</i>	<i>5</i>
3.2.2	<i>Pohlavní hormony.....</i>	<i>6</i>
3.2.3	<i>Růstový hormon</i>	<i>7</i>
3.2.4	<i>Vazoaktivní střevní peptid a prolaktin.....</i>	<i>8</i>
3.3	OXIDATIVNÍ STES	8
3.3.1	<i>Antioxidační mechanismy</i>	<i>9</i>
3.3.1.1	<i>Antioxidační enzymy</i>	<i>9</i>
3.3.1.2	<i>Složení fosfolipidových membrán</i>	<i>10</i>
3.3.1.3	<i>Vitamín E</i>	<i>13</i>
3.3.1.4	<i>Vitamín C</i>	<i>14</i>
3.3.1.5	<i>Karotenoidy.....</i>	<i>15</i>
3.4	MINERÁLY	16
3.4.1	<i>Selen.....</i>	<i>16</i>
3.4.2	<i>Mn, Zn.....</i>	<i>17</i>
3.5	IMUNITA.....	17
3.6	VĚK.....	18
3.7	PROSTŘEDÍ.....	18
3.7.1	<i>Světlo.....</i>	<i>19</i>
3.7.2	<i>Teplota</i>	<i>19</i>
4	ZÁVĚR	20
5	SEZNAM LITERATURY	20

1 Úvod

Rozmnožování je jedním ze znaků určujících živý organismus a nutná podmínka zachování života na Zemi. Vznik pohlavního rozmnožování vedl k mnoha fyziologickým a morfologickým změnám a především k vytvoření vysoce specializovaných buněk: vajíček a spermií (Birkhead *et al.* 2009).

Pohlavní výběr lze rozdělit na fázi předkopulační, ve které dochází k soupeření mezi jedinci stejného pohlaví o sexuální partnery a fázi pokopulační, během které může docházet ke kompetici spermií (Birkhead & Moller 1998). K té dochází v pohlavním traktu samic polyandrických druhů nebo u promiskuitních samic sociálně monogamních druhů, kdy při kopulaci s více samci během určité časové periody dochází k soupeření jejich spermií o oplození vajíček (Birkhead 1998). Kompetice spermií byla poprvé potvrzena u hmyzu (Parker 1970) a od té doby byla dokumentována jak u dalších bezobratlých, tak mnoha druhů obratlovců (Birkhead & Moller 1998). U ptáků je promiskuita samic poměrně častý jev, který se vyskytuje přibližně u 90 % druhů, a i mezi sociálně monogamními druhy pochází průměrně 11 % potomků z mimopárových kopulací (Griffith *et al.* 2002). Promiskuita se hojně vyskytuje například u strnadů rákosních (Dixon *et al.* 1994), sýkory modřinky (Kempnaers *et al.* 1997), vlaštovky obecné (Moller & Tegelstrom 1997) a u mnoha dalších druhů (Griffith *et al.* 2002).

Mechanismy evoluce promiskuity nejsou zatím zcela objasněny a prozatím není možné rozhodnout, jestli je promiskuita stejně výhodná pro obě pohlaví (Eliassen & Kokko 2008). Je pravděpodobné, že samci se snaží zplodit co největší počet mláďat kopulací s více samicemi (Trivers 1972). Na rozdíl od samců jsou však samice v počtu zplozených mláďat silně limitované velikostí své snůšky a kopulací s více samci jejich počet dále nezvýší. Samice se podle jedné hypotézy snaží získat potomky s různými geny, aby alespoň část potomstva mělo výhodné geny, a proto kopuluje s více samci (Trivers 1972; Kempnaers *et al.* 1997). Podle jiné hypotézy si tím samice zajišťují oplodnění snůšky pro případ, že by byly v páru s neplodným samcem (Krokene *et al.* 1998). Existuje i názor, že promiskuita samic může být pouze geneticky nevyhnutelným vedlejším produktem evoluce promiskuity samců (Forstmeier *et al.* 2011).

Intenzita pokopulačního výběru má velký vliv na evoluci fenotypových vlastností spermií. Pokud má každý druh určitý optimální fenotyp spermií, měla by se zvyšující se intenzitou pokopulačního výběru vzrůstat stabilizující selekce na tento optimální fenotyp (Calhim *et al.* 2007). To bylo pozorováno u ptáků v případě délky spermií, kdy samci druhů s vyšší promiskuitou mají méně variabilní spermie (Lifjeld *et al.* 2010).

Vlastnosti ejakulátu, které rozhodují o reprodukčním úspěchu samce v pokopulačním výběru, jsou v současné době intenzivně studovány. Důležitými vlastnostmi jsou zejména koncentrace a celkové množství spermií v ejakulátu (Moller 1988), délka a tvar spermií (Briskie & Montgomerie 1992; Calhim *et al.* 2007), procento pohyblivých spermií a jejich rychlost (Birkhead *et al.* 1999) a jejich odolnost proti oxidativnímu poškození (Partyka *et al.* 2012). Důležitá je také trvanlivost těchto vlastností, protože pro ptáky je typické, že samice skladují spermie v rozmnožovacím traktu po delší dobu, která může být např. u krocana divokého (*Meleagris gallopavo*) až 117 dní (Birkhead & Moller, 1993). Na skladování spermií mají ptačí samice

v utero-vaginálním spojení speciální výchlípky zvané skladovací tubuly (SST), jejíž délka může být jedním z hlavních faktorů určující optimální délku spermií (Briskie & Montgomerie 1992; Birkhead *et al.*, 2008). Jak již bylo zmíněno, význam uvedených fenotypových vlastností spermií a celkové kvality ejakulátu vzrůstá s intenzitou pokopulačního pohlavního výběru. Přestože jsou dnes již nejdůležitější vlastnosti ejakulátu rozhodující o reprodukčním úspěchu samce známé, ekologický výzkum fyziologických a hormonálních mechanismů určujících tyto vlastnosti a tím i kvalitu ejakulátu je zatím v počátcích. Většina poznatků v této oblasti byla zatím získána studiem domestikovaných a hospodářsky významných druhů.

Ve své bakalářské práci shrnuji dosavadní poznatky o mechanismech ovlivňující kvalitu ejakulátu, a tím i reprodukční úspěšnost ptačích samců, jak u domestikovaných druhů, tak i u některých volně žijících.

2 Spermie

2.1 Funkce a stavba

Spermie jsou funkčně a strukturně vysoce specializované samčí buňky sloužící k oplodnění vajíčka (Birkhead *et al.* 2009). Svým tvarem a membránovým složením se ptačí spermie výrazně liší od těch savčích (Surai *et al.* 1998). Velikost spermií je velmi různorodá a pohybuje se od 42,7 μm u tůňka obecného (*Lanius collurio*) přes 90 μm u kura domácího (*Gallus gallus domesticus*) až po 291 μm u strnada rákosního (*Emberiza schoeniclus*; Thurson & Hess 1987; Briskie *et al.* 1997; Dixon & Birkhead 1997).

Ptačí spermie se skládají se ze tří částí: hlavičky, střední části a bičíku. Jejich velikost, stavba, poměr jednotlivých částí a složení se mezi druhy výrazně liší. Velikost hlavičky je mezi pěvci podobná a pohybuje se mezi 10,9 a 20,6 μm (Lüpold *et al.* 2009). Tvar hlavičky je většinou podlouhlý a u většiny pěvců má spirálovitý tvar (Birkhead *et al.* 2007). Nese genetickou informaci uloženou v DNA ve formě vysoce kondenzovaného chromatinu v jádře, které je nejčastěji protáhlé (Jamieson, 2007). Spermie je haploidní, a proto na rozdíl od somatických buněk nese jen polovinu genetické informace. U ptáků je na rozdíl od savců samčí pohlaví homogametické, mají tedy dva chromozómy ZZ a samice jsou heterogametní, mají dva rozdílné chromozómy ZW (Ellegren 2000). Spermie tedy vždy nesou pouze Z chromozóm. Na vrcholku hlavičky se nachází akrozomální váček, jehož velikost je mezi druhy proměnlivá a který je například u kura domácího velký 2 μm a více (Thurston & Hess 1987).

Střední část má velmi variabilní délku. Jednu z nejdelších má například spermie křepelky, která má střední část dlouhou 161 μm (Woolley 1995). U většiny druhů obsahuje proximální a distální centriolu. Centrioly se podílejí na mitotickém dělení buněk a účastní se tvorby bičíku. Obě centrioly se nemusí ve spermiích vždy vyskytovat, například tinama argentinská (*Eudromia elegans*) má pouze jednu dlouhou centriolu (Asa *et al.* 1986). Stejně je tomu u pěvců, u kterých chybí proximální centriola a distální centriola se sekundárně zmenšila (Jamieson 2007). Střední část slouží jako energetické centrum, které obsahuje přibližně 30 mitochondrií, které mají spirálovité uspořádání (Bakst & Howarth 1975). Výjimku tvoří pěvci, kteří mají ve střední části pouze jednu velkou mitochondrii obtáčející se okolo axonemy (Jamieson, 2007).

Bičík uvádí do pohybu spermií pomocí axonemy: komplexu 9 párů mikrotubulů, které se napojují na centrální pár mikrotubulů (Nagano 1962). Ptačí spermie se od savčích liší ve způsobu pohybu. Jejich pohyb se děje rotací celé spermie kolem své osy z pohledu zepředu po směru hodinových ručiček, pravděpodobně díky spirálovitému pohybu bičíku (Vermon & Woolley 1999).

2.2 Spermatogeneze

Tvorba spermií probíhá ve varlatech, párovém orgánu, který se na rozdíl od savců nachází v břišní dutině a mimo hnízdní sezónu má vzhledem k hmotnosti těla jen malou velikost, která se v době rozmnožování může mnohonásobně zvětšit (Calhim & Birkhead 2006). Jejich velikost pozitivně ovlivňuje některé parametry ejakulátu, jako jsou objem ejakulátu a koncentrace spermií (Moller 1988). Varlata se skládají převážně ze semenotvorných kanálků, které obsahují Sertoliho buňky a spermatogonie. Spermatogonie jsou buňky, které se množí a diferencují na primární spermatocyty. Tyto buňky pak dozrávají v sekundární spermatocyty, ze kterých vznikají spermatidy, tedy nezralé spermie. Během vývoje spermatocytů do spermatid dochází k meiotickému dělení. Jedná se o buněčné dělení, při kterém dceřiné buňky získají polovinu genetické informace mateřské buňky a jsou tedy haploidní. Při vývoji spermatid do zralých spermií už nedochází k žádnému dělení, ale pouze k morfologickým změnám. Děj se skládá z několika kroků, během kterých probíhá prodlužování jádra, kondenzace chromatinu, vytváří se akrozóm a axonema (Lin & Jones. 1993).

Mezi semennými kanálky varlat se nacházejí Leydigovy buňky, které produkují testosteron. Na varlata se eferentním kanálkem napojuje nadvarle, které je u ptáků v porovnání se savci výrazně menší (Sturkie & Opel 1976). Nadvarle dále přechází v kanálek nadvarlete, na který se napojuje chámovod, v kterém se skladují spermie (Sturkie & Opel 1976). Chámovody končí v kloace (Hess *et al.* 1976). U ptačích spermií neprobíhá kapacitace jako u savců, protože ptáci nemají některé přídatné pohlavní žlázy, jako jsou prostata a bulbouretrální žláza (Whittow 2000).

2.3 Hormonální regulace spermatogeneze

Spermatogeneze je komplexní proces, který je závislý na produkci hormonů a aktivitě Leydigových a Sertoliho buněk. Produkce spermií je centrálně řízená přes hypotalamus, který produkuje gonadotropiny uvolňující hormon (GnRH). Tvorba GnRH je stimulována delší světelnou částí dne, naopak s ubývající délkou světla produkce hormonu klesá (Dawson *et al.* 2001). GnRH je přenášen cévním systémem do adenohipofýzy, kde se váže na specifický receptor a stimuluje produkci luteinizačního hormonu (LH) a folikuly stimulujícího hormonu (FSH). Leydigovy buňky ve varlatech reagují na LH tvorbou testosteronu (Maung & Follett 1977), který pak ovlivňuje spermatogenezi působením na Leydigovy buňky, zárodečné buňky a spermatidy (Fragoso *et al.* 2013). Kromě aktivace spermatogeneze hraje testosteron u ptáků důležitou roli při projevu sekundárních pohlavních znaků, řízení zpěvu a agrese (Wingfield 1994).

S přibývajícím věkem jeho koncentrace stoupá a ke stáří se jeho hladina postupně snižuje (Fragoso *et al.* 2013). FSH působí ve varlatech na Sertoliho buňky, které produkují androgen-vázací protein (ABP, androgen-binding protein). Tento protein obsahuje vysoce afinitní vazebná místa pro dihydrotestosteron a testosteron a podílí se na jejich zakoncentrování okolo zárodečných buněk, a tím zvyšuje jejich efekt na buňky.

2.4 Oplodnění

Spermie jsou při kopulaci přeneseny do distální části pochvy, ze které pokračují dál do samičího pohlavního ústrojí s cílem oplodnit vajíčka (Bakst 2011). Spermie jsou u samic uchovávány především ve skladovacích tubulech (SST) po určitou dobu, než dojde k oplodnění (McDaniel *et al.* 1997), protože samice ptáků snášejí vejce průběžně po dobu několika dnů. Skladovací tubuly jsou jednoduché trubicovité vchlípeniny epitelu uterovaginálního spojení (UVJ) tvořeného jednoduchými cylindrickými buňkami (Bakst & Vinyard 2002). UVJ funguje jako bariéra, kterou projdou jen některé spermie (Bakst *et al.* 1994). Počet tubulů se mezi druhy liší, u slepic je jich průměrně 4900 a u krůt přibližně 30600. Tento rozdíl může být vysvětlen částečně tím, že krůty mají delší dobu skladování a uvolňují spermie pomaleji (Bakst 2011). Mechanismus, kterým jsou spermie uvolňovány z SST, není zatím příliš dobře znám a není ani jasné, jestli se spermie v SST pohybují. Jedno z novějších vysvětlení je, že uvolnění je řízeno nervovým mechanismem, který zahajuje kontrakci aktinu na apikální straně SST epitelu (Freedman *et al.* 2001). Nebo se může jednat o proudění tekutiny ven z SST díky akvaporinům. Spermie pak zůstane v lumen SST jen tak dlouho, dokud je její rychlost pohybu větší než proudění tekutiny (Zaniboni & Bakst 2004). Protože je zjištěno, že spermie nejsou v kontaktu s epiteliálními buňkami a jejich hlavičky jsou natočené k slepému konci tubulu, je pravděpodobné, že se spermie v SST doopravdy pohybují (Froman 2003).

Po uvolnění z SST pokračují spermie směrem k vaječníkům a k oplodnění vajíčka dochází v horním konci vejcovodu nazývaném infundibulum (Olsen & Neher 1948). Vajíčko je obaleno glykoproteinovým obalem nazývaným vnitřní perivitellinní membrána odpovídající savčí *zona pellucida* (Stewart *et al.* 2004). Na membráně se nachází proteiny, které vážou spermie, označují se jako ZP1 a ZP3 a bylo dokázáno, že tyto proteiny nejsou mezidruhově příliš rozdílné, a nevzniká tak silná druhově specifická bariéra (Stewart *et al.* 2004). Po kontaktu spermie s obalem vajíčka, dojde k takzvané akrozomální reakci, při níž se uvolní enzymy z akrozómu, které vytvoří hydrolytický pór, jímž může spermie proniknout do vajíčka (Bakst & Howarth 1977; Horrocks *et al.* 2000). Perivitellinní membránou ptačího vajíčka především v oblasti terminálního disku může na rozdíl od savčího projít více spermií, ale pouze jedna splyne s vaječným prvojádem (Olszanska & Stepinska 2008).

2.5 Energetika spermií

Energie potřebná pro pohyb bičíku spermie je získávána oxidativním metabolismem, což je proces, při

kterém se tvoří molekuly ATP procesem oxidativní fosforylace. Většina energie potřebné pro tvorbu ATP se získává v dýchacím řetězci na vnitřní mitochondriální membráně, při kterém se přenáší elektrony z NADH na kyslík. Energie přenosu elektronů v dýchacím řetězci je využita k čerpání protonů přes membránu, díky čemuž vzniká elektrochemický potenciál. Ten umožňuje průchod protonů ATP syntázou po koncentračním spádu a tato energie je využita pro tvorbu ATP. Část ATP vzniká též substrátovou fosforylací při glykolýze, která může probíhat i za anaerobních podmínek (Birkhead *et al.* 2009). Energie vzniklá z následné hydrolýzy ATP na dyneinových raménkách mezi mikrotubuly je využita na posun dvojic mikrotubulů vůči sobě v axonemě, a tím se rozpohybuje bičík spermie (Satir *et al.* 1981).

Dýchací řetězec se skládá ze 4 komplexů, které mohou generovat ROS. I když je oxidativní fosforylace vysoce řízený proces, dochází v určité míře k úniku elektronů, které reagují s dalšími molekulami a tvoří ROS. K úniku elektronů dochází především v komplexu I (Kushnareva *et al.* 2002) a v komplexu III (Chen *et al.* 2003). ROS poškozují důležité biomolekuly, jako jsou proteiny, fosfolipidy a DNA, a proto mohou mít zásadní vliv na kvalitu spermií (Surai 2010).

3 Faktory ovlivňující kvalitu spermií

3.1 Vztahy mezi morfologickými a funkčními znaky spermií

Velikost a poměry jednotlivých částí spermií ovlivňují jejich rychlost a životnost. Délka střední části se zvyšuje se vzrůstající délkou bičíku a s celkovou délkou spermie (Immler & Birkhead 2007). Čím delší je střední část nebo bičík, tím je spermie rychlejší. Pokud má spermie kratší hlavičku v poměru k bičíku, je tato spermie rychlejší a má přímější pohyb (Lüpold *et al.* 2009). Kratší spermie mají delší životnost oproti dlouhým, které jsou rychlejší, ale ty dříve hynou (Helfenstein *et al.* 2010).

V budoucích studiích by bylo možné zkoumat souvislost mezi morfologickými znaky spermií a intenzitou pohlavního výběru, popřípadě vztah k velikosti snůšky, a tím i k délce skladování spermií v rozmnožovacím traktu samic.

3.2 Hormonální vlivy

3.2.1 Stres a stresové hormony

Fyziologický stres je přirozenou reakcí těla na zatěžující a ohrožující vnější podmínky a okolnosti (Boonstra 2013). Jeho krátkodobé zapojení je nezbytné pro přežití organismu a pro udržení jeho homeostázy při působení škodlivých vlivů nebo nepříznivých podmínek prostředí (Siegel 1980). Dlouhodobý stres vede k mnoha patofyziologickým změnám jako je imunosuprese, snížení příjmu potravy a potlačení reprodukce (Raberg *et al.* 1998; Boonstra 2013).

Sresová reakce je řízena nervovým a endokrinním systémem. Při aktivaci nervového systému se

z dřene nadledvin do krve uvolňují adrenalin a noradrenalin, které zvyšují krevní tlak, glukogenezi a svalové napětí. Katecholaminy aktivují a regulují endokrinní systém hypotalamus-hypofýza-adrenální osa (HPA). Hypotalamus zvýší pomocí kortikoliberinu (CRH) sekreci adenokortikotropního hormonu (ACTH) z hypofýzy, který stimuluje uvolňování a produkci glukokortikoidů z cholesterolu z kůry nadledvin (Tsigos & Chrousos 2002). Spuštění této dráhy může být dále aktivována například cytokiny (Mastorakos *et al.* 1993), serotoninem (Calogero *et al.* 1990) a vnějšími stresovými stimuly, které aktivují limbický systém, který pak aktivuje hypotalamus (Patel *et al.* 2004). Mezi stresové hormony patří kortikosteroidy tvořené kůrou nadledvin. Hlavním stresovým hormonem jsou kortizol a kortikosteron (Romero 2004).

Množství kortikosteronu může být ovlivněno hmotností zvířete. Staří jedinci s nízkou hmotností měli vyšší hladinu kortikosteronu než jedinci s nadváhou (Fragoso *et al.* 2013). Stres způsobuje pokles koncentrace GnRH v krvi, a tím i snížení množství uvolňovaných gonadotropinů LH a FSH, kvůli čemuž dojde i ke snížení množství testosteronu (Sapolsky *et al.* 2000).

Dlouhodobě zvýšená hladina kortikosteronu vede k většímu počtu abnormalit na spermiích (Végi *et al.* 2009). S rostoucí sociální kompeticí mají agresivní dominantní samci zebříček zvýšenou hladinu kortikosteronu a spermie mají delší střední část a kratší bičík. Pravděpodobně změnou množství kortikosteronu se může změnit morfologie spermií, což může být adaptací na zvýšenou kompetici mezi jedinci a na stresové podmínky, protože spermie s delší střední částí mají pravděpodobně větší vytrvalost a životaschopnost ve skladovacích tubulech samic (Immler *et al.* 2010; Immler & Birkhead 2007).

Stresová reakce snižuje investici do rozmnožování, a pravděpodobně tak ovlivňuje i množství spermií a jejich kvalitu. Přesto, že se často uvádí obecný negativní vliv na rozmnožování, existuje pouze studie zkoumající vliv teplotního stresu na kohoutech, kdy stresovaní jedinci měli nižší plodnost. Působení stresu na další vlastnosti spermií, jako jsou množství, koncentrace a fenotyp spermií, nebyl prozatím zkoumán, a jedná se proto o oblast, která by si zasloužila v budoucnu více pozornosti.

3.2.2 Pohlavní hormony

Přesto, že je testosteron z velké části zodpovědný za udržování spermatogeneze ve varlatech (Tan *et al.* 2005), vyskytuje se ve větších koncentracích v krevní než v seminální plazmě (Zeman *et al.* 1986). V seminální plazmě naopak převažuje progesteron. Jeho zvýšení vede k poklesu schopnosti spermií proniknout membránou vajíčka a prozatím nebylo zjištěno, jakou má v ejakulátu funkci (Anderson & Navara 2011).

Nárůst koncentrace testosteronu stimulací GnRH u kohoutů vede ke zvýšení koncentrace spermií a k jejich lepší pohyblivosti (Végi *et al.* 2009). Spermie samců zebříček s vysokou hladinou testosteronu měly delší střední část a kratší bičík (Immler *et al.* 2010). Větší rychost a linearita pohybu spermií jsou spojeny s délkou střední části, kdy při jejím prodlužování se zvyšuje pohyblivost spermie (Lüpold *et al.* 2009). Jiní autoři (Immler *et al.* 2005) uvádějí pozitivní korelaci mezi délkou střední části a životaschopností spermií ve skladovacích tubulech samic. Při zvýšení hladiny testosteronu během reprodukčního období

u kachen dochází k nárůstu produkce spermií a ke snížení jejich morfologických abnormalit (Penfold *et al.* 2000). Testosteron může být metabolizován na účinnější dihydrotestosteron (DHT) a na estradiol (E2), který zvyšuje hladinu volných lipoproteinů v krvi, které slouží k přenosu karotenoidů (Casagrande *et al.* 2011). Ty se jeví jako důležité ukazatele odolnosti jedince a jeho spermií proti oxidativnímu stresu (Helfenstein *et al.* 2010). Z výše uvedených studií vyplývá, že testosteron zvyšuje produkci a kvalitu spermií. Pravděpodobně se jedná o adaptaci na zvýšenou intenzitu pohlavního výběru, protože při větší kompetici samci mají vyšší hladinu testosteronu a produkují spermie s delší střední částí, která se díky přítomnosti mitochondrií zásadně podílí na metabolismu a díky tomu možná ovlivňuje i pohyb spermií a jejich vytrvalost během skladování v rozmnožovacím traktu samic (Immler *et al.* 2010).

U tropických ptačích druhů je během hnízdní sezóny nižší hladina testosteronu v krvi než u druhů mírného pásma. Souvisí to pravděpodobně s tím, že ptáci mírného pásma zimují v nižších zeměpisných šířkách a pak musí migrovat zpět na místo hnízdění. Kvůli tomu mají kratší hnízdní sezónu a mají synchronizovanější rozmnožovací období, během kterého dochází k intenzivnější vnitropohlavní kompetici (Garamszegi *et al.* 2008). Ptáci s kratší hnízdní sezónou (což odpovídá druhům mírného pásma) mají vyšší hladinu testosteronu (Hau *et al.* 2010). Protože u většiny tropických druhů ptáků není hnízdění synchronní, kompetice spermií proto probíhá v menší míře než u druhů mírného pásma (Stutchbury & Morton 1995; Albrecht *et al.* 2013). Vzhledem k tomu, že množství spermií pozitivně koreluje s mírou kompetice spermií (Moller & Briskie 1995), je možné, že tropické druhy nepotřebují tak vysoké množství testosteronu, který by zvyšoval množství spermií a případně zlepšoval jejich další vlastnosti.

Pohlavní hormon testosteron se podílí nejen na spermatogenezi, ale i na kvalitě ejakulátu. Jedná se proto o významný hormon, jehož množství může ovlivnit některé vlastnosti spermií, jako jsou množství, koncentrace spermií a jejich pohyblivost, které určují výslednou úspěšnost spermie v vnitropohlavní kompetici. Výsledky studií zkoumajících vliv testosteronu a dalších pohlavních hormonů a jejich metabolitů na motilitu spermií jsou však zatím spíše rozporuplné a bude zapotřebí dalšího výzkumu k jeho objasnění. Vzhledem k tomu, že samotné podání testosteronu vede negativní zpětnou vazbou k potlačení produkce FSH a LH (Davies & Bicknell 1976), a tím produkce spermií, bude pravděpodobně nutné vliv pohlavních hormonů studovat pomocí experimentálního podávání GnRH. V posledních letech se začíná zkoumat i případný imunosupresivní vliv testosteronu, jehož účinky by mohly ovlivňovat vývoj a kvalitu spermií (Folstad & Karter 1992).

3.2.3 Růstový hormon

Růstový hormon (GH) existuje v několika strukturních formách (Aramburo *et al.* 2000) a je produkován především hypofýzou. GH se společně s dalšími hormony podílí na růstu jedince (Scanes *et al.* 1984). GH funguje přes vazbu na receptor (GHR) nebo prostřednictvím inzulínových růstových faktorů (IGF-1 a IGF-2). U skotu přítomnost IGF receptorů ve spermiích zvýšila pohyblivost spermií (Henricks *et al.* 1998) a jejich dopředný pohyb (Selvaraju *et al.* 2009). U člověka má IGF-1 pozitivní vliv na počet nepoškozených spermií a na koncentraci spermií (Glander *et al.* 1996). Nedostatek receptoru IGF-1 má za

následek zpomalení růstu jedince, ale nemá vliv na parametry spermií u trpasličích kurů, jako jsou jejich pohyblivost, koncentrace, životaschopnost a podíl mrtvých spermií (Zheng *et al.* 2007). GH se vyskytuje ve všech fázích spermatogeneze u kohoutů, a to především ve spermatogoniích a primárních spermatocytech (Martinez-Moreno *et al.* 2011).

Přesto, že se růstový hormon vyskytuje v různých fázích vývoje spermií, jeho vliv na kvalitu spermií u ptáků prozatím nebyl studován. Pouze se předpokládá, že se podílí na vývoji spermií a možná ovlivňuje i kvalitu spermií, jako je tomu u savců, ale zatím jediná studie na ptácích, která toto téma studovala, tuto domněnku nepotvrdila (Martinez-Moreno *et al.* 2011).

3.2.4 Vazoaktivní střevní peptid a prolaktin

LH a FSH jsou ovlivněny regulátory, mezi které patří vazoaktivní střevní peptid (VIP). VIP je produkován gastrointestinálním traktem a také se vytváří v nervových vláknech, a nachází se proto i v mozku, kde slouží jako neuromodulátor. VIP funguje u ptáků jako faktor aktivující sekreci prolaktinu, který zastavuje snášení vajec a produkci spermií, spouští inkubační chování a ovlivňuje chování jedinců při hnízdění, jako je například délka inkubace a krmení mláďat (Maney *et al.* 1999; Kulick *et al.* 2005, Avital-Cohen *et al.* 2011). Aktivní imunizací proti VIP dochází ke snížení genové exprese VIP a prolaktinu a zároveň ke zvýšení genové exprese GnRH, FSH a LH a následně k nárůstu koncentrace spermií (Avital-Cohen *et al.* 2011). Potlačení tvorby LH působením VIP je doloženo i u savců (Weick & Stobie 1995). Vliv VIP na pohlavní hormony u ptáků je však zatím sporný a bylo navrženo, že jeho účinky se mohou v průběhu sezóny lišit. Prodlužování délky světelného dne časně na jaře způsobuje produkci VIP, který v té době patrně zvyšuje množství uvolňovaného LH z adenohipofýzy. Později v hnízdní sezóně pak VIP spouští sekreci prolaktinu, který naopak produkci pohlavních hormonů tlumí a spouští inkubační chování (Teruyama & Beck 2001).

Tím, že VIP a prolaktin ukončují období páření a spouští inkubační chování, tedy jejich koncentrace negativně ovlivňují množství produkovaných spermií. Vliv jejich různých koncentrací na fenotyp spermií však dosud pravděpodobně studován nebyl.

3.3 Oxidativní stres

Vznik vysoce reaktivních molekul (ROS) je běžný jev, který vzniká jako nevyhnutelný vedlejší produkt aerobního metabolismu a dalších fyziologických pochodů, jako je například likvidace patogenů fagocyty při imunitní reakci, a probíhá po celý život jedince (Sies 1997). Volné radikály jsou druhy atomů nebo molekul, které obsahují jeden nebo více nepárových elektronů. Mezi ROS patří volné kyslíkové radikály, především superoxidový $O_2^{\cdot-}$, hydroxylový OH^{\cdot} , peroxylový RO_2^{\cdot} a hydroxyperoxylový HO_2^{\cdot} a další oxidační činidla, jako jsou peroxid vodíku H_2O_2 a kyselina chlorná $HOCl$ (Bayr 2005). Díky volnému elektronu mohou ROS přijmout elektrony z jiných atomů, a tím je přetvořit na sekundární volné

radikály. ROS jsou vysoce nestabilní a schopné poškodit důležité biologické molekuly, jako jsou DNA, proteiny a fosfolipidové membrány (Surai 2010). Podle jedné z mnoha teorií vysvětlující stárnutí jsou příčinou stárnutí volné radikály, které se podílejí na poškozování buněčné DNA, proteinů a lipidů, jejichž změny se pak v průběhu let hromadí a jsou zodpovědné za zhoršování až kolapsu funkce tkání (Gutowski & Kowalczyk 2013). Poškození genetické informace může navíc vést až k rakovinnému bujení (Ashok & Ali 1999). Oxidativní stres bývá spojován i s neurodegenerativními chorobami, jako je například Parkinsonova choroba (Jenner *et al.* 1992). Negativní vliv ROS na ptačí spermie byl poprvé popsán již v padesátých letech minulého století, kdy byl pozorován toxický účinek H₂O₂ na kohoutí spermie (Wales *et al.* 1959). Při laboratorním podání dexamethasonu (DEX), který patří mezi syntetické glukokortikoidy (t. j. stresové hormony), dochází ke zvýšení lipidové peroxidace a v důsledku toho ke snížení počtu spermií, jejich pohyblivosti a ke zvýšení množství mrtvých spermií (Eid *et al.* 2006). ROS, vznikají ve zvýšené míře při působení nejrůznějších stresových faktorů, jako jsou infekce, vysoké teploty a stres, se zabývalo mnoho vědců. Jejich vliv bude prezentován dále v odpovídajících podkapitolách.

U savců hrají ROS navíc důležitou roli při kapacitaci spermií (Langlais & Roberts 1985). Vzhledem k tomu, že u ptáků ke kapacitaci nedochází, ROS tento pozitivní význam u ptáků nemají, protože již spermie uskladněné v chámovodu jsou schopny oplodnit vajíčko.

3.3.1 Antioxidační mechanismy

Organismus se brání proti tvorbě a účinkům ROS několika způsoby. Jedním z nich je zvýšení odolnosti lipidových membrán, proteinů a DNA proti oxidativnímu poškození. Například snížení množství metioninu v proteinech jakožto aminokyseliny, která je nejsnáze oxidována ROS, zvýší jejich odolnost k oxidaci (Stadtman *et al.* 2004). V DNA je nejvíce náchylný k oxidaci guanin, a proto snížením jeho zastoupení se sníží riziko oxidativního poškození DNA (Bjelland & Seeberg 2003). Membrány jsou odolnější proti ROS, pokud mají v sobě obsaženo méně polynenasycených mastných kyselin (PUFA), které jsou kvůli svým dvojným vazbám náchylnější k peroxidaci. Jejich zastoupení v membránách je však nezbytné, protože zvyšují tekutost membrán, která je důležitá pro efektivní průběh metabolických a transportních procesů na membránách (Hulbert *et al.* 2007). Ochranou před už vzniklými ROS je působení antioxidačních mechanismů, mezi které patří enzymy, jako je glutathion peroxidáza, kataláza nebo superoxid dismutáza a další antioxidanty glutathion, vitamíny C a E.

3.3.1.1 Antioxidační enzymy

Antioxidační enzymy, mezi které patří glutathion peroxidáza, superoxid dismutáza a další, jsou důležitou složkou ochrany těla před nežádoucími účinky oxidativního stresu.

Superoxid dismutáza (SOD) je považována za hlavní součást první antioxidační ochrany v buňkách (Surai 2000a). Antioxidační princip SOD spočívá v přeměně iontu superoxidu do méně reaktivní formy

peroxidu vodíku, který je potom převeden do vody pomocí GPx a kataláz (Krinski 1992). U obratlovců existují 2 formy SOD podle závislosti na druhu kofaktoru a to mitochondriální forma (Mn-SOD) a cytoplazmatická forma (Cu, Zn-SOD). Proč se jednotlivé formy vyskytují na různých místech a jaký to má případný vliv na antioxidační ochranu, není doposud příliš jasné.

Kataláza (CAT) je tetramerní enzym obsahující hem skupiny, který chrání buňku před poškozením peroxidem vodíku, který přemění na vodu a kyslík (Keilin & Hartree 1938). Podílí se také na apoptóze a zánětu (Putnam *et al.* 2000) a nachází se též ve speciálních organelách-peroxizómech, kde oxiduje fenoly, alkoholy a další látky, a tím je odstraňuje z těla (Alberts *et al.* 2002).

Glutathion peroxidáza (GPx) je významným antioxidačním enzymem, který detoxikuje hydroxyperoxydy lipidů a přeměňuje peroxid vodíku na vodu (Surai *et al.* 1998). Také GPx se vyskytuje ve více formách lišících se kofaktorem, přičemž u ptáků je většinou zastoupena GPX, která má jako kofaktor selen.

Glutathion reductáza (GR) je enzym, který redukuje oxidovaný disulfid glutathionu (GSSG) na jeho redukovanou formu (GSH). Využívá při tom NADPH, které poskytuje glutathionu vodík (Pai & Schulz 1982). Nepodílí se tedy přímo na odstraňování volných radikálů, ale obnovuje glutathion, který se podílí na odstraňování peroxidů vodíku v organismu.

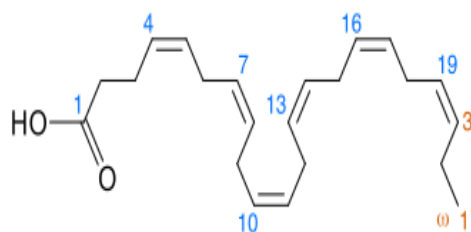
Antioxidační enzymy byly nalezeny jak ve spermiích, tak v seminální plasmě ptáků a jejich aktivity jsou druhově odlišné. Ve srovnání s kurem a krocanem je ve spermiích hus a kachen vyšší aktivita SOD a GPx (Surai *et al.* 1998; Partyka *et al.* 2012). To pravděpodobně souvisí s vysokým podílem 22:4n-6 a 22:6n-3 (PUFA), které zvyšují náchylnost membrány k peroxidaci (Cerolini *et al.* 2006). Opačně je tomu v seminální plasmě, kde byla GPx a SOD nejvyšší u krocana a perličky a aktivita SOD nejnižší u kachen (Surai *et al.* 1998). Mezidruhové rozdíly byly pozorovány také v zastoupení různých forem SOD. U spermií slepic, krůt, křepelek a kachen je hlavní formou Mn-SOD, u hus převažuje Cu,Zn-SOD. V seminální plasmě všech těchto druhů se vyskytovala pouze Cu,Zn-SOD (Surai *et al.* 1998).

3.3.1.2 Složení fosfolipidových membrán

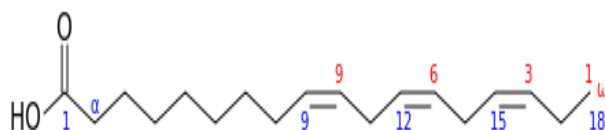
Biologické membrány jsou fosfolipidové dvojvrstvy, které ohraničují orgány a buňky a ve kterých se nacházejí receptory důležité pro signalizaci, kanály pro nejrůznější ionty a vodu a v neposlední řadě na mitochondriálních membránách probíhá oxidativní fosforylace a tvorba ATP.

Zásadní složkou biologických membrán, která ovlivňuje jejich vlastnosti, jsou mastné kyseliny. Mastné kyseliny rozdělujeme podle počtu dvojných vazeb na nasycené a nenasycené mastné kyseliny. Mastné kyseliny jsou nasycené, pokud neobsahují ve svém řetězci dvojnou vazbu. Mezi nasycené mastné kyseliny patří například kyseliny myristová (14:0), palmitová (16:0) a stearová (18:0). Nenasycené mastné kyseliny obsahují jednu a více dvojných vazeb. Podle jejich počtu se dělí na mono- a poly-nenasycené mastné kyseliny (MUFA a PUFA). V závislosti na první poloze dvojných vazeb se PUFA dělí na n-3 a n-6 (také označované jako ω -3 a ω -6; počítáno od konce s methylovou skupinou). Mezi n-3 PUFA patří kyseliny dokosaheptaenová (DHA, 22:6n-3), eikosapentaenová (EPA, 20:5n-3) a alfa-linolenová (ALA, 18:3n-3).

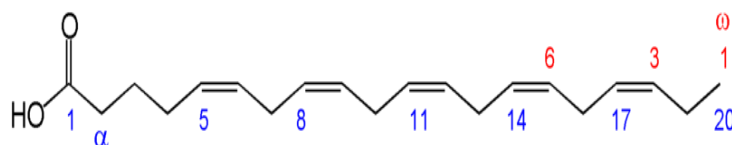
Mezi n-6 PUFA patří kyseliny arachidonová (ARA, 20:4n-6), linolová (18:2n-6) a dokosatetraenová (DTA, 22:4n-6). (Vzorce jsou tvořeny tak, že první číslo udává počet uhlíků v molekule, další počet dvojných vazeb a poslední vzdálenost první dvojně vazby od methylové skupiny viz obr.).



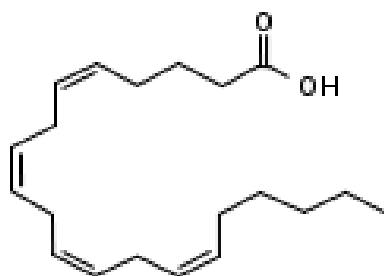
Obr. 1: Kyselina dokosahehexaenová (22:6n-3)



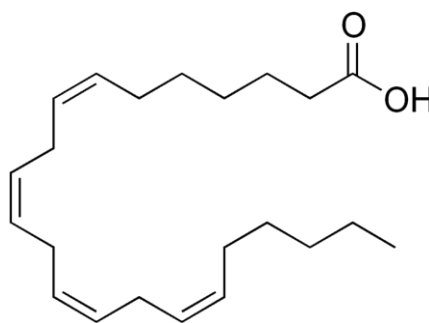
Obr. 2: Kyselina α -linolenová (18:3n-3)



Obr. 3: Kyselina eikosapentaenová (20:5n-3)



Obr. 4: Kyselina arachidonová (20:4n-6)



Obr. 5: Kyselina dokosatetraenová (22:4n-6)

Různé zastoupení nenasycených mastných kyselin ve fosfolipidových membránách má výrazný vliv na jejich odolnost k oxidačnímu poškození. Vysoký podíl PUFA má však na druhou stranu pozitivní účinky na tekutost fosfolipidových membrán, a tím i na rychlost spermií (Cerolini *et al.* 2005). Vzhledem k významnému působení mastných kyselin na vlastnosti fosfolipidových membrán se složení membrán jeví jako důležitý ukazatel kvality spermií.

U savců bylo prokázáno, že zastoupení PUFA ovlivňuje motilitu spermií (Ladha 1998). Ptačí spermie obecně obsahují oproti savcům vyšší podíl PUFA. Zároveň je složení typické pro každý druh a liší se i mezi jedinci jednoho druhu. Mezi nejhojněji zastoupené mastné kyseliny patřící mezi PUFA se řadí kyselina

dokosatetraeická a kyselina arachidonová (Surai *et al.* 1998b). První jmenovaná kyselina byla navržena jako ukazatel reprodukční úspěšnosti u kohoutů, protože pozitivně ovlivňuje množství pohyblivých spermií, jejich dopředný pohyb a plodnost (Cerolini *et al.* 2006). Rozdíl ve složení je patrný i mezi spermiemi a seminální plasmou, která obsahuje více nasycených mastných kyselin (Blesbois *et al.* 1997).

Negativním rysem vysokého podílu PUFA je vyšší náchylnost membrán k peroxidaci lipidů. V důsledku tvorby převážně reaktivních forem kyslíku dochází k peroxidaci lipidů a tvorbě dalších radikálů, které negativně ovlivňují oplodňovací schopnosti spermií a kladou vyšší nároky na antioxidační systémy. Tento poznatek o složení membrán je využit například při kryoprezervaci spermií hospodářské drůbeže, kdy tekutost membrán ovlivňuje přežití spermií (Blesbois *et al.* 2005). Rovnováha mezi tvorbou ROS a ochranou před nimi je proto jedním z hlavních faktorů určující kvalitu spermií, která může záviset na typu stravy a na změnách vnějších podmínek.

Mezidruhové rozdíly ve složení membrán spermií jsou nejvíce prostudovány u hospodářsky využívané drůbeže, kde jsou vidět rozdíly v antioxidační kapacitě a v zastoupení jednotlivých PUFA. Kachní spermie oproti krocaním a kohoutím spermiím obsahují vysoký podíl PUFA. Celková vyšší aktivita SOD a GPx u kachen oproti krocanům a kohoutům slouží pravděpodobně jako kompenzace vyšší náchylnosti membrán k peroxidaci lipidů (Surai *et al.* 1998). Vysoký podíl PUFA u kachen může být dán tím, že u kachen dochází k intenzivní kompetici spermií a nejvyšší míru plodnosti mají ty spermie, které jsou nejrychlejší (Denk *et al.* 2005).

Membránové složení může být ovlivněno typem a skladbou potravy. Některé oleje, jako je například rybí olej, obsahují vysoký podíl n-3 nenasycených mastných kyselin, kukuřičný olej zase obsahuje více n-6 nenasycených mastných kyselin. Při pokusech s manipulací složení potravy se během podávání rybího oleje podle očekávání zvýšilo množství kyseliny dokosahexaenové, která patří mezi n-3 PUFA a zároveň došlo k poklesu kyseliny arachidonové a dokosatetraenoické, které patří mezi n-6 PUFA (Cerolini *et al.* 2005). Kvůli většímu množství n-3 došlo ke zvýšení poměru n-3/n-6 PUFA (Zaniboni *et al.* 2006). V důsledku změny poměru n-3/n-6 ve prospěch n-3 se začalo tvořit více produktu lipidové peroxidace: malonyldialdehydu. To mělo za následek pokles koncentrace spermií (Cerolini *et al.* 2006). Díky vyšší tekutosti membrán s n-3 PUFA jsou spermie rychlejší a mohou mít výhodu v kompetici se spermiemi jiných samců, ale nemění se počet spermií na ejakulát ani jeho množství a koncentrace (Blesbois *et al.* 1997). Jedná se o zlepšení dopředného (progresivního) pohybu na rozdíl od pohybu neprogresivního, jako je pohyb na místě nebo do kruhu, jehož výskyt se při vyšším zastoupení n-3 PUFA naopak snížil (Cerolini *et al.* 2006). Jiný stav nastává při zvýšení stravy s n-6 PUFA. Tam dochází ke zvýšení zastoupení cholesterolu a dokosatetraenoické kyseliny (DTA) a k celkovému zvýšení podílu PUFA. Spermie jsou sice méně pohyblivé, ale jsou méně náchylné k peroxidaci a mají vyšší koncentraci (Zanini *et al.* 2003).

Vliv složení stravy se projevuje i na koncentraci důležitého lipofilního antioxidantu, vitamínu E. Na význam potravy pro kvalitu a množství spermií lze usuzovat například ze studií hodnotící její vliv na velikosti varlat. Pokud strava obsahuje vyšší množství n-3 PUFA, dojde ke zvýšení hmotnosti varlat a sníží se množství vitamínu E v krevní plasmě a ve spermatu oproti stravě s n-6 PUFA. Protože vitamín E je důležitý antioxidant, jeho snížení je pravděpodobně způsobeno jeho vyšší spotřebou v důsledku zvýšení

náchylnosti membrán s n-3 PUFA k peroxidaci. Přidání vitamínu E do stravy s n-3 PUFA zvýší hladinu vitamínu E na původní hodnoty (Surai *et al.* 2000).

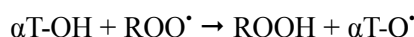
Při změně množství jednotlivých mastných kyselin nenastane výraznější změna mezi poměry nasycených, mononenasycených a polynenasycených mastných kyselin. Přesto, když dojde ke zvýšení zastoupení DTA ve spermích,lepší se jejich pohyblivost (Cerolini *et al.* 1997). Pouze při zvýšení množství n-3 a konstantním podílu n-6 dojde ke změně podílu mezi n-3/ n-6 PUFA.

Nasycenost mastných kyselin ve spermích a trade-off mezi efektivitou metabolismu a membránových procesů na jedné straně a odolností k oxidačnímu poškození na straně druhé je zásadním faktorem, který ovlivňuje kvalitu spermií a jejich oplodňovací schopnosti. Evoluční rozdíly mezi druhy ve složení membrán spermií mohou být ovlivněny typem stravy, který daný druh preferuje. Podle toho, jestli je pták zrnožravý, hmyzožravý nebo rybožravý, se liší zastoupení mastných kyselin jak ve stravě, tak výsledně i v těle jedince.

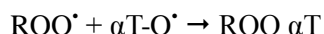
3.3.1.3 Vitamín E

Vitamín E, také označovaný jako tokoferol, je v tukách rozpustný (lipofilní) vitamín. Díky své hydrofóbnosti se vyskytuje uvnitř membrán nebo na rozhraní tuk/voda, proto ho více najdeme například ve spermích než v seminální plasmě. Jedná se o důležitý přírodní antioxidant, sloužící k obraně před peroxidací lipidů (Freisleben & Packer 1993). Přirozeně se vyskytující tokoferoly se dělí na α , β , γ , δ , z nich je nejvíce biologicky aktivní α -tokoferol (Brigelius-Flohe & Traber 1999).

Antioxidační funkce α -tokoferolu spočívá v tom, že dokáže zastavit řetězovou reakci peroxidace lipidů, když lipidům poskytne svůj vodík a sám se stane radikálem podle rovnice (převzato a upraveno podle Burton *et al.* 1983):



a může být odstraněn reakcí s druhým peroxylovým radikálem:



nebo může být neenzymaticky obnoven vitamínem C (Chan 1993), který mu poskytne vodík, a stane se tak radikálem, který je obnoven buď GSH-závislou dehydroaskorbát reduktázou (Halliwell & Gutteridge 1989) nebo neenzymaticky pomocí dihydrolipoové kyseliny (Constantinescu *et al.* 1993). Další možností obnovy vitamínu E je enzymaticky pomocí glutationu (Packer 1991). Dále vitamín E kooperuje s antioxidačním enzymem GSH-Px a zvyšuje jeho aktivitu.

Za hlavní vitamín E ve spermích je považován α -tokoferol, jehož výskyt v ptačím ejakulátu byl poprvé popsán u krůt (Surai *et al.* 2001). Při stresových podmínkách jeho přidání prokazatelně snižuje negativní dopady oxidativního stresu a zvyšuje kvalitu spermií. Za těchto podmínek zvyšuje jejich pohyblivost, množství a snižuje procento mrtvých spermií (Eid *et al.* 2006). Při fyziologických podmínkách nebyla naopak pohyblivost spermií během prvních týdnů podávání vitamínu ovlivněna a ke zvýšení

pohyblivosti došlo až po delším působení (Lin *et al.* 2005). Bylo zjištěno, že pokud překročí dávka vitamínu E v potravě určitou hranici, tak se jeho obsah ve spermiích a v seminální plasmě nezvyšuje, protože došlo k jejich úplné saturaci (Surai *et al.* 1997).

Vitamin E zvětšuje velikost kloakální žlázy, a tím i množství sekretu produkované touto žlázou, který je se spermiemi transportován do rozmnožovacího traktu samic (Biswas *et al.* 2007). Ačkoliv fyziologický význam sekretu není zatím příliš dobře prozkoumán, existují důkazy naznačující jeho možný pozitivní vliv na některé parametry spermií. Například bylo pozorováno zvýšení pohyblivosti spermií (Singh *et al.* 2011) a plodnosti (Fujihara 1991; Chelmonska *et al.* 2006).

Vitamín E tedy má jak přímý pozitivní vliv na množství spermií a jejich odolnost proti oxidačnímu poškození, tak může kvalitu spermií a úspěšnost oplození ovlivňovat nepřímo, zlepšením množství přídatných samčích pohlavních sekretů. Tyto efekty vitamínu E nabývají na významu především ve stresových podmínkách.

3.3.1.4 Vitamín C

Vitamín C neboli kyselina askorbová je ve vodě rozpustný vitamín. Obecně je u savců a ptáků vitamín C syntetizován v játrech a v ledvinách, ale například u primitivních druhů ptáků se tvoří převážně v ledvinách (Chatterjee *et al.* 1961). Tvorba vitamínu C neprobíhá pouze u několika druhů ptáků, kteří během své evoluce ztratili enzym L-gulonolakton oxidázu potřebný pro syntézu vitamínu C (Chatterjee *et al.* 1961; Chaudhuri & Chatterjee 1969; del Rio 1997). Jeho antioxidační vlastnosti fungují přes dva mechanismy. Prvním z nich je schopnost kyseliny askorbové oxidovat se dvěma kroky na dehydroaskorbovou kyselinu a druhým je poskytnutí vodíku kyslíkovému radikálu a vytvoření askorbylového radikálu, který je ve srovnání s kyslíkovým radikálem méně reaktivní (Whitehead & Keller 2003). Vitamín C tak dokáže účinně likvidovat superoxidové (1.) a hydroxylové (2.) radikály (Bodannes & Chan 1979; Rose 1990) následujícím mechanismem (převzato z Beyer 1994):



Obnovení dehydroaskorbové kyseliny zpět na kyselinu askorbovou probíhá za pomoci glutation-závislé reduktázy (Meister 1994). Pozitivní vliv vitamínu C je vidět při snižování toxicity některých kovů. Při indukci oxidačního stresu kadmiem dokázal vitamín C snížit jeho hromadění v ledvinách křepelek a slepic o 50 % (Rambeck & Weiser 1992), obnovil aktivitu SOD a snížil hladinu malonyl dialdehydu (MDA), produktu peroxidace lipidů (Erdogan *et al.* 2005).

U širokého spektra zvířat se vitamín C vyskytuje rovnoměrně ve spermiích a seminální plasmě ve velkých koncentracích. Během stresových podmínek má pozitivní účinky na kvalitu spermií. Objem ejakulátu, počet a množství pohyblivých spermií na ejakulát se za teplotního stresu při přidání vitamínu C zvětšují (Monsi & Onitchi 1991). Naopak za běžných podmínek nebyly tyto parametry nijak ovlivněny (Neuman *et al.* 2002).

Vitamíny jsou důležité složky potravy, které jsou během fyziologických podmínek potřebné v malém množství. Při větší oxidativní zátěži jejich normální hladiny nejsou dostačující a je jim potřeba ve větším množství. Pozitivní vliv vitamínu C je vidět především při teplotním stresu. Vitamin E na rozdíl od vitamínu C funguje jako antioxidant, tak i zprostředkovaně přes GPx. Oba vitamíny mají pozitivní vliv na pohyblivost spermií a jejich množství. Zároveň podle typu stravy, kterou se ptáci živí, se může kvalita spermií lišit jak mezi druhy, tak mezi jedinci stejného druhu. Kombinace stravy obohacené o n-3 PUFA a vitamin E se jeví jako ideální varianta, protože vitamin E dokáže potlačit negativní následky vyšší náchylnosti k oxidaci lipidů vyvolané vlivem n-3 PUFA, a tím zvýšit pohyblivost a pronikavost spermií (Zanini *et al.* 2003). Záleží však na množství přijímaného vitamínu E. Nízké hladiny tohoto vitamínu nejsou dostatečně účinné, a dokonce vliv n-3 PUFA je tak velký, že sníží množství vitamínu E ve tkáních (Surai *et al.* 2000). Naopak vysoké dávky nemusí už tkáně přijímat a zároveň se ukazuje, že mají negativní vliv na kvalitu spermií. Dochází ke snižování množství spermií a zvyšování množství poškozených spermií, a to především deformací hlavičky, zlomením nebo ohnutím střední části a bičíku spermie (Danikowski *et al.* 2002). Oba vitamíny fungují navíc v kombinaci, neboť vitamin C regeneruje radikál vitamínu E, čímž dochází k posílení jeho účinku. Podobně jako u mastných kyselin mohou mezidruhové rozdíly v potravě ovlivňovat evoluci fenotypu spermií, a být tak důležitým faktorem zasahujícím do pokopulačního pohlavního výběru.

3.3.1.5 Karotenoidy

Karotenoidy jsou přírodní pigmenty nacházející se v rostlinách, mikroorganismech a zvířatech. Slouží jako inhibitory mutagenese, posilují imunitu, podílejí se na ornamentaci a část z nich slouží jako prekurzory vitamínu A (Bendich & Olson 1989) a fungují jako antioxidanty, protože obsahují dvojnásobné vazby, díky kterým mohou odstraňovat peroxylové radikály (Burton 1989). V předkopulačním výběru slouží trade-off mezi využitím karotenoidů v imunitním systému a jejich využitím v ornamentaci pravděpodobně jako mechanismus určení kvality jedinců při pohlavním výběru (Lozano 1994). Tato hypotéza byla dále rozšířena o předpokládané antioxidační vlastnosti karotenoidů, a tudíž jeho trade-off mezi využitím v ornamentech nebo pro antioxidační obranu (Schantz *et al.* 1999). Antioxidační vlastnosti karotenoidů byly metaanalýzou dosavadních studií zpochybněny (Constantini & Moller 2008). Zda mají karotenoidy antioxidační účinky či ne, nebo zda mají dokonce ve vysokých koncentracích, které se nacházejí u druhů s karotenoidními ornamenty, škodlivé prooxidační účinky (Vinkler & Albrecht 2010), je zásadní otázka i vzhledem k jejich možnému vlivu na kvalitu spermií.

Karotenoidy byly nalezeny v seminální plasmě střízlíků (Rowe & McGraw 2008) a ve varlatech zebříček (Rowe *et al.* 2012). Ornamentace by mohla mít spojitost s kvalitou spermií a bylo navrženo, že by karotenoidní ornamenty mohly samicím signalizovat plodnost svého nositele (Blount *et al.* 2001). Ve shodě s touto hypotézou bylo zjištěno, že samci sýkor koňader (*Parus major*) s bledším vybarvením opeření mají při zvýšené námaze vyšší ukazatele oxidačního poškození v ejakulátu a mají méně pohyblivých spermií než samci výrazněji zbarvení (Helfenstein *et al.* 2010). Pozitivní vliv karotenoidů byl pozorován také u kohoutů

v podobě zvýšené koncentrace spermií a jejich vyšší životaschopností (Mangiagalli *et al.* 2010).

Tyto studie naznačují, že alespoň v případě ejakulátu by karotenoidy mohly opravdu působit jako antioxidanty. V budoucnu však bude ještě nutné potvrdit univerzalitu tohoto efektu na více druzích ptáků.

3.4 Minerály

Minerály jsou anorganické látky, které jsou pro živočichy nepostradatelné. Většina z nich funguje jako kofaktory enzymů a často mají oxido-redukční vlastnosti. Dělí se na makro- a mikro-minerály. Makrominerály (makroprvky) jsou ty, které musí být přijímány ve větším množství. Patří mezi ně například vápník, sodík a draslík. Mikrominerály (mikroprvky) jsou naopak zapotřebí v malých množstvích pod 100 mg/den, a proto se také někdy označují jako stopové prvky. Řadí se mezi ně například měď, selen, zinek a železo (Murray 2002).

3.4.1 Selen

Pro zvířata je selen esenciálním mikrominerálem, který se nejčastěji vyskytuje v organismech jako součást aminokyselin selenocysteinu a selenomethioninu. Selen hraje důležitou roli v antioxidantním systému a při vývoji spermií. Je totiž kofaktorem GPx a působí společně s vitamínem E. Větší aktivita tohoto enzymu snižuje náchylnost k peroxidaci, a tím výrazně přispívá ke zvýšení kvality spermií (Surai *et al.* 1998c). Organický selen ve formě aminokyselin nebo proteinů má větší antioxidantní efekt a je pro tělo dostupnější než anorganický (Felipe *et al.* 2010). Je prokázáno, že selen je důležitou součástí spermatogeneze u savců a jeho nedostatek vede k abnormalitám spermií (Watanabe & Endo 1991). U ptáků při nedostatku selenu obsahovala varlata méně Sertolliho buněk, které produkují testosteron, a jsou proto potřebné pro spermatogenezi (Edens & Sefton 2002). Selen, ať už organický nebo anorganický, indukuje expresi genů, které řídí morfologii buněk, a je tak důležitý pro udržení správné struktury buněk ve varlatech (Brennan *et al.* 2012). Kromě toho byl také pozorován pozitivní efekt na množství a pohyblivost spermií v ejakulátu u kohoutů, zatímco změna objemu ejakulátu či koncentrace vápníku v seminální plasmě pozorována nebyla (Ebeid 2009). Kladné vlivy selenu byly prokázány i při krátkodobém skladování spermií ve vodní lázni. Spermie jedinců s přidaným selenem měly po skladování větší fertilizační schopnosti než spermie jedinců bez selenu (Dimitrov *et al.* 2006). Tento pozitivní vliv může být alespoň zčásti zprostředkován antioxidantními vlastnostmi selenu.

Při vyšším podílu selenu v potravě dochází ke zvýšení aktivity GPx ve spermiích, v seminální plasmě a varlatech a to především přes Se-závislou GPx, která se podílí na celkové aktivitě GPx ve varlatech přes 50 % (Surai *et al.* 1998c). Za teplotního stresu bylo u kohoutů pozorováno dvojnásobné zvýšení aktivity GPx v seminální plasmě oproti kontrolním jedincům (Ebeid 2009).

3.4.2 Mn, Zn

Mangan a zinek jsou nepostradatelné mikrominerály, které jsou kofaktory mnoha enzymů. Jejich nedostatek zhoršuje reprodukční schopnosti hospodářských zvířat (Smith & Akinbamijo 2000). Zároveň i jejich nadměrné množství má negativní vliv a prvky se stávají pro tělo toxické. Například velké dávky anorganického manganu a zinku zastavují pohyb spermií (Barber *et al.* 2005). Po přidání zinku spermiím *in vitro* dochází ke snížení jejich schopnosti vychytávat kyslík (Bakst 1985).

Minerály jsou nepostradatelné látky, které jsou prospěšné jen v určitém množství. Ve větších dávkách mohou být toxické, a tím mají spíše negativní vliv na kvalitu spermií. Naopak nedostatek minerálů způsobuje mnohé zdravotní problémy, jako je tomu například při nedostatku selenu u krys, u kterých dochází k peroxidaci lipidů (Fraga *et al.* 1987) a u slepic, které produkovaly méně vajec (Combs & Combs 1984).

3.5 Imunita

Imunitní systém, který chrání tělo proti infekcím, má pro organismus nezastupitelný význam (Hanssen *et al.* 2004). Aktivace imunitní obrany proti patogenům je nákladný proces, který stojí organismus velké množství živin a energie, které by mohl investovat do ostatních nákladných procesů, jako je vývoj nebo rozmnožování (Sheldon & Verhulst 1996). Vzniklé trade-off mezi investicí do imunitního systému a rozmnožování má zásadní vliv na fitness nejen u ptáků (Norris & Evans 2000), ale obecně u všech obratlovců (Lochmiller & Deerenberg 2000). Při aktivaci a proliferaci imunitních buněk také dochází ke zvýšení pro-oxidantů a celkovému snížení antioxidační obrany, imunitní systém je proto považován za významný zdroj oxidačního stresu (Constantini & Dell’Omo 2006). Fagocyty, tvořící složku nespecifické imunity, cíleně produkují ROS k likvidaci patogenů, a tím v organismu zvyšují význam imunitního systému jako důležitého zdroje oxidativního stresu (Sorci & Faivre 2009).

Imunitní aktivace vyvolává u sýkor koňader pokles rychlosti spermií, která je důležitá pro jejich konkurenceschopnost a efektivitu oplodnění. Podle autorů to však nebylo způsobeno oxidativním stresem, protože nedošlo k poklesu antioxidační kapacity v krevní plasmě (Losdat *et al.* 2011). Vysvětlení tohoto jevu by mohlo být tím, že se antioxidační obrana soustředila v jiných částech těla než v reprodukčních orgánech, ve kterých mohl vzniknout nedostatek antioxidačních látek a enzymů.

Některé infekční viry mohou mít navíc přímý vliv na varlata a produkci spermií. Infekční virus bronchitidy (IBV) kromě toho, že způsobuje onemocnění dýchacích cest a ledvin, také působí na nadvarlata, kde se tvoří vápenaté kaménky. Tyto kaménky mohou ucpat chámovody, podílejí se na zakřívání semenných kanálků, a dochází tak ke snížení koncentrace životaschopných spermií (Villarreal *et al.* 2007), ke zmenšení varlat, poklesu denní produkce spermií a snížení plasmatické koncentrace testosteronu (Boltz *et al.* 2004).

Na jedné straně je tedy aktivace imunitní obrany nákladný proces, který stojí organismus mnoho

energie a živin, je však pro organismus nezbytná, neboť následky infekcí varlat a pohlavních vývodů by bez imunitní obrany byly pro úspěšné rozmnožení fatální. Nadměrná aktivace imunitního systému zvyšuje oxidativní stres a může poškozovat spermie. Organismus proto musí neustále řešit trade-off mezi investicí do sebeobrany a rozmnožování, s cílem dosáhnout co možná nejvyššího fitness. Toto trade-off je řízeno pravděpodobně především testosteronem, který pravděpodobně snižuje aktivitu imunitního systému a přesměrovává zdroje k rozmnožovacím funkcím (Folstad & Karter 1992).

3.6 Věk

Stárnutí je nevyhnutelný fyziologický proces, při kterém dochází ke změnám stavby a zhoršování funkce většiny tkání těla, včetně rozmnožovacích orgánů. Ptáci jsou pozoruhodní tím, že i přes svůj rychlý metabolismus, vyšší tělesnou teplotu a vysokou hladinu glukózy v krvi, žijí přibližně 3x déle, než je tomu u savců podobné velikosti (Austad 2011). Mezi ptačími druhy jsou výrazné rozdíly v délce života a zdá se, že životnost je ovlivněna tělesnou hmotností, typem stravy, sociálností a izolovaností prostředí (kontinent x ostrov), ve kterém žijí (Wasser & Sherman 2010).

Vliv věku na reprodukční znaky je poměrně dobře znám u hospodářsky významných druhů. Ke konci života klesá u kohoutů podíl živých spermií, jejich koncentrace a snižuje se jejich metabolická aktivita (Kelso *et al.* 1996). U spermií starších jedinců dochází ke změně složení membrán: zvyšuje se množství triacylglycerolů (TAG) a volných mastných kyselin, klesá podíl fosfolipidů v celkovém množství lipidů a klesá zastoupení PUFA a to především AA a DTA (Kelso *et al.* 1997). AA a DTA patří mezi n-6 PUFA, a tak jejich větší zastoupení zvyšuje náchylnost k peroxidaci lipidů (viz kapitola složení membrán). Věk také ovlivňuje hladinu hormonů v krvi. Stárnoucí kohouti mají nižší objem a koncentraci spermií, nižší hladinu testosteronu, FSH a LH v krvi než mladší jedinci (Avital-Cohen *et al.* 2013). Výše uvedené příklady se týkají hospodářsky využívaných druhů, a je proto diskutabilní, jestli tyto charakteristiky platí i u volně žijících druhů. Studie na vlaštovkách ukazuje, že i u volně žijících druhů věk negativně ovlivňuje kvalitu spermií, kdy s přibývajícím věkem klesá podíl spermií s přímým pohybem (Moller *et al.* 2009). Bylo by vhodné rozšířit pokusy i na další druhy, ve kterých by se zkoumaly případné negativní vlivy stárnutí.

Z výše uvedených poznatků vyplývá, že věk a stárnutí má neoddiskutovatelný vliv na fyziologii organismů. Poznatky na hospodářských druzích dokumentují pokles plodnosti v průběhu stárnutí samců, projevující se jak sníženým množstvím produkovaných spermií, tak zhoršováním jejich vlastností.

3.7 Prostředí

U mnoha ptačích druhů dochází ke změnám ve velikosti varlat a intenzitě produkce spermií v závislosti na ročním období. Nejdůležitější sezónou je období rozmnožování, kdy dochází k maximálnímu vývoji a zvětšování varlat (Whittow 2000). Sezónalita se projevuje hlavně ve vyšších zeměpisných šířkách,

kde mají ptáci kratší hnízdní období a synchronanější rozmnožování (Garamszegi *et al.* 2008), které se projevuje například zvýšenou hladinou testosteronu (Hau *et al.* 2010).

3.7.1 Světlo

Světlo je jedním z faktorů, kterým se v průběhu roku mění podle roční doby. Světlo především ovlivňuje pohlavní vývoj a velikost varlat. Jeho vliv na tyto znaky je nepřímý a probíhá především přes změny v sekreci hormonů, jako jsou LH a T, které mají periodickou sekreci přibližně každé dvě hodiny (Wilson & Sharp 1975). Po světelné stimulaci dochází k nárůstu tvorby testosteronu a FSH (Vizcarra *et al.* 2010). Měnicí se světelná perioda během sezóny také ovlivňuje produkci VIP, který spouští sekreci prolaktinu, a ovlivňuje tak hnízdění a délku inkubace vajec (Teruyama & Beck 2011). Delší světelná perioda má za následek rychlejší nástup puberty u krocanů a větší produkci spermií (Bacon *et al.* 2000). Naopak při dlouhotrvající tmě dochází u krocanů k poklesu množství spermií (Noirault *et al.* 2006).

V první části života dochází také k ovlivnění růstu varlat u perliček. Varlata jedinců s kratší dobou světla rostla pomaleji, ale na konci vývoje byla mnohem větší než varlata jedinců s delší dobou světla (Brillard & de Reviers 1981). Tito jedinci by tedy měli mít teoreticky v pokopulačním výběru výhodu, protože velikost varlat pozitivně koreluje s objemem ejakulátu a koncentrací spermií (Moller 1988).

3.7.2 Teplota

Teplota je jeden z nejdůležitějších faktorů prostředí, se kterým se musí jedinci vyrovnávat každý den. Vysoký environmentální tlak je kladen na jedince žijící v podmínkách, kde je například vysoká teplota a vlhkost, které mohou překročit termoneutrální zónu jedince, a tím ho vystavit teplotnímu stresu. Vysoké teploty negativně ovlivňují příjem jídla, imunitu, produkci vajec a kvalitu spermií (Lin *et al.* 2005). Přírodní i lidskou selekcí jsou proto v těchto podmínkách upřednostňováni jedinci s větší teplotní tolerancí, kteří mají ať už lepší genetickou výbavu nebo lepší behaviorální strategii.

Akutní teplotní stres vyvolává ve varlatech aktivaci exprese genů pro proteiny teplotního šoku (HSP, *heat shock proteins*) a pro regulátory buněčného cyklu, apoptózy a opravy DNA. Tyto geny pravděpodobně stojí za tolerancí některých kohoutů proti teplotnímu stresu (Wang & Edens 1998).

Podle jedné studie (McDaniel *et al.* 1995) vysoké teploty snížily u kohoutů množství spermií, které dokázaly proniknout perivitellinní membránou vajíčka, ale neovlivnily objem a počet mrtvých spermií. O rok později stejní autoři potvrdili, že při zvýšení teploty dojde ke snížení plodnosti (McDaniel *et al.* 1996). Dále zjistili, že negativní vliv na spermie je vratný a po snížení teploty prostředí došlo k obnovení plodnosti, to se potvrdilo i při *in vitro* pokusech (Ashizawa *et al.* 2000) V jiné práci bylo pozorováno snížení objemu, koncentrace a pohyblivosti spermií (Joshi *et al.* 1980). Další autoři měřili kvalitu spermií podle SQI. SQI, nebo-li index kvality spermií, je používán pro předpovídání kvality spermií, který je vztažen na koncentraci, životaschopnost a pohyblivost spermií (Parker & McDaniel 2007). Z jejich výsledků je patrné, že vysoká

teplota měla negativní vliv na kvalitu a plodnost především u jedinců s nízkým a hlavně s vysokým SQI. Tedy u těch, kteří měli nejnižší a nejvyšší kvalitu spermií (Karaca *et al.* 2002). Pohyblivost spermií za vysokých teplot je rozdílná mezi druhy. Spermie kohoutů byly nejnáchylnější ke zvýšení teploty a při 40 °C se nepohybovaly. Při této teplotě poklesl podíl pohyblivých krocaních spermií a u křepelky a dropa nedošlo k žádné změně (Wishart & Wilson 1999).

Působení teplotního stresu a jeho negativní vlivy jsou ovlivněny délkou působení, teplotou a genotypem zvířat. Kromě toho, že vystavení vysokým teplotám má za následek snížení pohyblivosti a koncentrace spermií, poškozují vysoké teploty také samotnou genetickou informaci spermií, které nemusí být schopny oplodnit vajíčko. Poškození DNA může také vést ke špatnému mitotickému dělení během spermatogeneze (McDaniel *et al.* 2004).

4 Závěr

Pohlavní výběr jako jeden z důležitých evolučních mechanismů, které se podílejí na evoluci fenotypu spermií, zásadně ovlivňuje reprodukční úspěšnost ptačích samců. Protože je poměrně značná část ptačích druhů nevěrná, a dochází tudíž k pokopulačnímu pohlavnímu výběru ve formě kompetice spermií, je na kvalitu spermií kladen vysoký důraz. Spermie jako vysoce specializované buňky mají jedinečnou morfologii a složení membrán. Pro ptačí spermie je typický vysoký podíl PUFA, které zvyšují pohyblivost membrány, ale ty jsou kvůli tomu náchylnější k oxidativnímu poškození. Vyšší podíl PUFA tedy musí být kompenzován jinými antioxidačními mechanismy, jako jsou antioxidační enzymy nebo vitamíny. Strava a vnější podmínky, jako jsou světlo a teplota, ovlivňují spermatogenezi, a tedy i množství spermií, včetně jejich funkčních vlastností (především motilitu). To je pravděpodobně důležité jak pro rozdíly mezi samci na úrovni vnitrodruhové, tak mezi druhy. Podle dosavadních poznatků je patrné, že oxidativní stres je pravděpodobně jedním z hlavních důvodů, proč dochází ke snížení produkce a kvality spermií. Některé faktory, jako jsou stresové a pohlavní hormony a složení lipidových membrán, by si zasloužily důkladnější zkoumání a mezidruhové porovnání a chtěla bych se jimi zabývat ve své diplomové práci.

5 Seznam literatury

- AIRE, T. A. The ductuli efferentes of the epididymal region of birds. *Journal of anatomy*. 1980, 130(4): 707-723.
- ALBRECHT, T., O. KLEVEN, J. KREISINGER, T. LASKEMOEN, T. C. OMOTORIOGUN, U. OTTOSSON, J. REIF, O. SEDLACEK, D. HORAK, R. J. ROBERTSON a J. T. LIFJELD. Sperm competition in tropical versus temperate zone birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological*

Sciences. 2012, 208(1752): 20122434

- ANDERSON, E. M. a K. J. NAVARA. Steroid hormone content of seminal plasma influences fertilizing ability of sperm in White Leghorns. *Poultry Science*. 2011, 90(9): 2035-2040.
- ANDERSON, M. E. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chemico-Biological Interactions*. 1998, 111-112: 1-14.
- ARÁMBURO, C., M. LUNA, M. CARRANZA, M. REYES, H. MARTÍNEZ-CORIA a C. G. SCANES. Growth hormone size variants: changes in the pituitary during development of the chicken. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 2000, 223(67-74): 67-74.
- ASA, Ch., D. M. PHILLIPS a J. STOVER. Ultrastructure of spermatozoa of the crested tinamou. *Journal of Ultrastructure and Molecular Structure Research*. 1986, 94(2): 170-175.
- ASHIZAWA, K., G. J. WISHART a Y. TSUZUKI. Avian sperm motility: environmental and intracellular regulation. *Avian and Poultry Biology Reviews*. 2000, 11(3): 161-172.
- ASHOK, B. T a R. ALI. The aging paradox: free radical theory of aging. *Experimental Gerontology*. 1999, 34(3): 293-303.
- AUSTAD, S. N. Candidate bird species for use in aging research. *ILAR Journal*. 2011, 52(1): 89-96.
- AVITAL-COHEN, N., R. HEIBLUM, N. ARGOV, A. ROSENSTRAUCH, Y. CHAISEHA, N. MOBARKEY a I. ROZENBOIM. The effect of active immunization against vasoactive intestinal peptide (VIP) and inhibin on reproductive performance of aging White Leghorn roosters. *Poultry Science*. 2011, 91(1): 161-174.
- AVITAL-COHEN, N., R. HEIBLUM, N. ARGOV-ARGAMAN, A. ROSENSTRAUCH, Y. CHAISEHA, N. MOBARKEY a I. ROZENBOIM. Age-related changes in gonadal and serotonergic axes of broiler breeder roosters. *Domestic Animal Endocrinology*. 2013, 44(3): 145-150.
- BACON, W. L., B. A. KURGINSKI-NOONAN a J. YANG. Effects of environmental lighting on early semen production and correlated hormonal responses in turkeys. *Poultry science*. 2000, 79(11):1669-1678.
- BAKST, M. R. a B. HOWARTH. The head, neck and midpiece of cock spermatozoa examined with the transmission electron microscope. *Biology of Reproduction*. 1975, issue 5, s. 632-640.
- BAKST, M. R. a B. HOWARTH. Hydrolysis of the hen's perivitelline layer by cock sperm in vitro. *Biology of Reproduction*. 1977, 17(3): 370-379.
- BAKST, M. R. Zinc reduces turkey sperm oxygen uptake in vitro. *Poultry Science*. 1985, 64(3): 564-566.
- BAKST, M. R., G. WISHART a J. P. BRILLARD. Oviducal sperm selection, transport, and storage in poultry. *Poultry Science Reviews*. 1994, 5(3): 117-143.
- BAKST, M. R. a B. T. VINYARD. Oviducal sperm storage in turkeys: spatial distribution of sperm within the uterovaginal junction sperm-storage tubules. *Journal of Experimental Zoology*. 2002, 292(2): 206-209.
- BAKST, M. R. Physiology and endocrinology symposium: role of the oviduct in maintaining sustained fertility in hens. *Journal of Animal Science*. 2011, 89(5): 1323-1329.
- BARBER, S. J., H. M. PARKER a C. D. MCDANIEL. Broiler breeder semen quality as affected by trace minerals in vitro. *Poultry science*. 2005, 84(1): 100-105.
- BAYR, H. Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*. 2005, 33(12): 498-501.

- BENDICH, A. a J. A. OLSON. Biological actions of carotenoids. *The FASEB Journal*. 1989, 3(8): 1927-1932.
- BEYER, R. E. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. 1994, 26(4): 349-358.
- BIRKHEAD, T. R. a A. P. MØLLER. Sexual selection and the temporal separation of reproductive events: sperm storage data from reptiles, birds and mammals. *Biological Journal of the Linnean Society*. 1993, 50(4): 295-311.
- BIRKHEAD, T. R. a F. FLETCHER. Sperm storage and the release of sperm from the sperm storage tubules in Japanese quail *Coturnix japonica*. *Ibis*. 1994, 136(1): 101-105.
- BIRKHEAD, T. R., J. G. MARTINEZ, T. BURKE a D. P. FROMAN. Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1999, 266(1430): 1759-1764.
- BIRKHEAD, T. R., F. GIUSTI, S. IMMLER a B. G. M. JAMIESON. Ultrastructure of the unusual spermatozoon of the Eurasian bullfinch (*Pyrrhula pyrrhula*). *Acta Zoologica*. 2007, 88(2): 119-128.
- BISWAS, A., J. MOHAN, K. V. H. SASTRY a J. S. TYAGI. Effect of dietary Vitamin E on the cloacal gland, foam and semen characteristics of male Japanese quail. *Theriogenology*. 2007, 67(2): 259-263.
- BJELLAND, S. a E. SEEBERG. Mutagenicity, toxicity and repair of DNA base damage induced by oxidation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 2003, 531(1-2): 37-80.
- BLESBOIS, E., M. LESSIRE, J. M. HALLOUIS a D. HERMIER. Effect of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. *Biology of Reproduction*. 1997, 56(5): 1216-1220.
- BLESBOIS, E. Membrane fluidity and the ability of domestic bird spermatozoa to survive cryopreservation. *Reproduction*. 2005, 129(3): 371-378.
- BODANNES, R. S. a P. C. CHAN. Ascorbic acid as a scavenger of singlet oxygen. *FEBS Letters*. 1979, issue 105(2): 195-196.
- BOLTZ, D. A., M. NAKAI a J. M. BAHR. Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Diseases*. 2004, issue 48(4): 909-915.
- BOONSTRA, R. Reality as the leading cause of stress: rethinking the impact of chronic stress in nature. *Functional Ecology*. 2013, 27(1): 11-23.
- BRENNAN, K. M., J. L. PIERCE, A. H. CANTOR, A. J. PESCATORE, R. XIAO a R. F. POWER. Source of selenium supplementation influences testis selenium content and gene expression profiles in single comb White leghorn roosters. *Biological Trace Element Research*. 2012, 145(3): 330-337.
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R. a M. G. TRABER. Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal*. 1999, 13(10): 1145-1155.
- BRILLARD, J. P. a M. DE REVIERS. Testis development and daily sperm output in guinea-fowl raised under constant daily photoperiods. *Reproduction Nutrition Développement*. 1981, 21(6B): 1105-1112.
- BRISKIE, J. V. a R. MONTGOMERIE. Sperm size and sperm competition in birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1992, 247(1319): 89-95.
- BRISKIE, J. V., R. MONTGOMERIE a T. R. BIRKHEAD. The evolution of sperm size in birds. *Evolution*. 1997, 51(3): 937-945.

- BURTON, G. W. Antioxidant action of carotenoids. *The Journal of nutrition*. 1989, 119(1): 109-111.
- BURTON, G. W., L. HUGHES a K. U. INGOLD. Antioxidant activity of phenols related to vitamin E. Are there chain-breaking antioxidants better than alpha-tocopherol?. *Journal of the American Chemical Society*. 1983, 105(18): 5950-5951.
- CALHIM, S. a T. R. BIRKHEAD. Testes size in birds: quality versus quantity-assumptions, errors, and estimates. *Behavioral Ecology*. 2006, 18(1): 271-275.
- CALHIM, S., S. IMMLER, T. R. BIRKHEAD a T. PIZZARI. Postcopulatory sexual selection is associated with reduced variation in sperm morphology. *PLoS ONE*. 2007, 2(5): 413.
- CALOGERO, A. E., G. BAGDY, K. SZEMEREDI, M. E. TARTAGLIA, P. W. GOLD a G. P. CHROUSOS. Mechanisms of serotonin receptor agonist-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Endocrinology*. 1990, 126(4): 1888-1894.
- CANAL, D., R. JOVANI a J. POTTI. Male decisions or female accessibility? Spatiotemporal patterns of extra pair paternity in a songbird. *Behavioral Ecology*. 2012, 23(5): 1146-1153.
- CASAGRANDE, S., C. DIJKSTRA, J. TAGLIAVINI, V. C. GOERLICH a T. G. G. GROOTHUIS. Differential effects of testosterone, dihydrotestosterone and estradiol on carotenoid deposition in an avian sexually selected signal. *Journal of Comparative Physiology A*. 2011, 197(1): 1-13.
- CEROLINI, S., K. A. KELSO, R. C. NOBLE, B. K. SPEAKE, F. PIZZI a L.G. CAVALCHINI. Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chickens. *Biology of Reproduction*. 1997, 57(5): 976-980.
- CEROLINI, S., P. F. SURAI, B. K. SPEAKE a N. H. C. SPARKS. Dietary fish and evening primrose oil with vitamin E effects on semen variables in cockerels. *British Poultry Science*. 2005, 46(2): 214-222.
- CEROLINI, S., L. ZANIBONI, A. MALDJIAN a T. GLIOZZI. Effect of docosahexaenoic acid and α -tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Theriogenology*. 2006, 66(4): 877-886.
- COMBS, G. F. a S. B. COMBS. The Nutritional Biochemistry of Selenium. *Annual Review of Nutrition*. 1987, 4(1): 257-280.
- CONSTANTINESCU, A., D. HAN a L. PACKER. Vitamin E recycling in human erythrocyte membranes. *The Journal of Biological Chemistry*. 1993, 268(15): 10906-10913.
- COSTANTINI, D. a G. DELL'OMO. Effects of T-cell-mediated immune response on avian oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular*. 2006, 145(1): 137-142.
- COSTANTINI, D. a A. P. MØLLER. Carotenoids are minor antioxidants for birds. *Functional Ecology*. 2008, 22(2): 367-370.
- DALE, S., T. SLAGSVOLD, H. M. LAMPE a J.T. LIFJELD. Age-related changes in morphological characters in the pied flycatcher *Ficedula hypoleuca*. *Avian science*. 2002, 2(3): 153-166.
- DANIKOWSKI, S., H.-P. SALLMANN, I. HALLE a G. FLACHOWSKY. Influence of high levels of vitamin E on semen parameters of cocks. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2002, 86(11-12): 376-382.
- DAVIES, D. T. a R. J. BICKNELL. The effect of testosterone on the responsiveness of the quail's pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) during photoperiodically induced testicular growth. *General and Comparative Endocrinology*. 1976, 30(4): 487-499.
- DAWSON, A., V. M. KING, G. E. BENTLEY a G. F. BALL. Photoperiodic control of seasonality in birds.

- Journal of Biological Rhythms*. 2001, 16(4): 365-380.
- DEL RIO, C. M. Can Passerines synthesize vitamin C?. *The Auk*. 1997, 114(3): 513-516.
- DENK, A. G., A. HOLZMANN, A. PETERS, E. L. M. VERMEIRSEN a B. KEMPENAERS. Paternity in mallards: effects of sperm quality and female sperm selection for inbreeding avoidance. *Behavioral Ecology*. 2005, 16(5): 825-833.
- DIMITROV, S. G., V. K. ATANASOV, P. F. SURAI a S. A. DENEV. Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. *Animal Reproduction Science*. 2007, 100(3): 311-317.
- DIXON, A. a T. R. BIRKHEAD. Reproductive anatomy of the Reed bunting: a species which exhibits a high degree of sperm competition through extra-pair copulations. *The Condor*. 1997, 99(4): 966-969.
- EBEID, T. A. Organic selenium enhances the antioxidative status and quality of cockerel semen under high ambient temperature. *British Poultry Science*. 2009, 50(5): 641-647.
- EDENS, F. W. a A. E. SEFTON. Selenomethionine supplementation to diets of broiler breeders improves performance. *Poultry science*. 2002, 80(1): 91-.
- EID, Y., T. EBEID a H. YOUNIS. Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. *British Poultry Science*. 2006, 47(3): 350-356.
- ELIASSEN, S. a H. KOKKO. Current analyses do not resolve whether extra-pair paternity is male or female driven. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 2008, 62(11): 1795-1804.
- ELLEGREN, H. Evolution of the avian sex chromosomes and their role in sex determination. *Trends in Ecology*. 2000, 15(5): 188-192.
- ERDOGAN, Z., S. ERDOGAN, S. CELIK a A. UNLU. Effects of ascorbic acid on cadmium-induced oxidative stress and performance of broilers. *Biological Trace Element Research*. 2005, 104(1): 19-32.
- FELIPE, L., E. C. SANTOS, A. F. TAVIAN, P. A. A. GÓES, V. M. B. MORAES, H. TONHATI, I. C. BOLELI, E. B. MALHEIROS, V. H. BARNABÉ a S. A. QUEIROZ. Effect of crude protein levels and organic selenium supplementation in the diets fed during the breeding season on reproductive parameters of red-winged tinamous (*Rhynchotus rufescens*). *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. 2010, 12(1): 63-71.
- FOLSTAD, I. a A. J. KARTNER. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *The American Naturalist*. 1992, 139(3): 603-622.
- FORMAN, H. J., H. ZHANG a A. RINNA. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*. 2009, 30(1): 1-12.
- FORSTMEIER, W., K. MARTIN, E. BOLUND, H. SCHIELZETH a B. KEMPENAERS. From the cover: Female extrapair mating behavior can evolve via indirect selection on males. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011, 108(26): 10608-10613.
- FRAGA, C. G., R. F. ARIAS, S. F. LLESUY, O. R. KOCH a A. BOVERIS. Effect of vitamin E and selenium-deficiency on rat liver chemiluminescence. *Biochemical Journal*. 1987, 242(2): 383-386.
- FRAGOSO, J. S., M. P. DÍAZ, J. C. ABAD MORENO, P. C. INFESTA, A. RODRIGUEZ-BERTOS a K. BARGER. Relationships between fertility and some parameters in male broiler breeders (body and testicular weight, histology and immunohistochemistry of testes, spermatogenesis and hormonal levels). *Reproduction in Domestic Animals*. 2013, 48(2): 345-352.
- FREEDMAN, S. Evidence for the innervation of sperm storage tubules in the oviduct of the turkey (*Meleagris gallopavo*). *Reproduction*. 2001, 121(5): 809-814.

- FREISLEBEN, H. J. a L. PACKER. Free-radical scavenging activities, interactions and recycling of antioxidants. *Biochemical society transactions*. London: Biochemical Society, 1993, 21(2): 325-330.
- FROMAN, D. Deduction of a model for sperm storage in the oviduct of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Biology of Reproduction*. 2003, 69(1): 248-253.
- FUJIHARA, N. Accessory reproductive fluids and organs in male domestic birds. *World's Poultry Science Journal*. 1992, 48(1): 39-56.
- GARAMSZEGI, L. Z., K. HIRSCHENHAUSER, V. BÓKONY, M. EENS, S. HURTREZ-BOUSSÈS, A. P. MØLLER, R. F. OLIVEIRA a J. C. WINGFIELD. Latitudinal distribution, migration, and testosterone levels in birds. *The American Naturalist*. 2008, 172(4): 533-546.
- GLANDER, H. J., J. KRATZSCH, Ch. WEISBRICH a G. BIRKENMEIER. Andrology: insulin-like growth factor-I and α 2-macroglobulin in seminal plasma correlate with semen quality. *Human reproduction*. 1996, 11(11): 2454-2460.
- GOLZAR ADABI, S. H., R. G. COOPER, M. A. KAMALI a A. HAJBABAEI. The influence of inclusions of vitamin E and corn oil on semen traits of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Animal Reproduction Science*. 2011, 123(1): 119-125.
- GRIFFITH, S. C., I. P. F. OWENS a K. A. THUMAN. Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology*. 2002, 11(11): 2195-2212.
- GUTOWSKI, M. a S. KOWALCZYK. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochim Pol*. 2013, 60(1): 1-16.
- HALLIWELL, B. a J. M. C. GUTTERIDGE. The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1990, 208(1): 1-8.
- HANSEN, S. A., D. HASSELQUIST, I. FOLSTAD a K. E. ERIKSTAD. Costs of immunity: immune responsiveness reduces survival in a vertebrate. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2004, 271(1542): 925-930.
- HAU, M., R. E. RICKLEFS, M. WIKELSKI, K. A. LEE a J. D. BRAUN. Corticosterone, testosterone and life-history strategies of birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2010, 277(1697): 3203-3212.
- HELFENSTEIN, F., M. PODEVIN a H. RICHNER. Sperm morphology, swimming velocity, and longevity in the house sparrow *Passer domesticus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 2010, 64(4): 557-565.
- HELFENSTEIN, F., S. LOSDAT, A. P. MØLLER, J. D. BLOUNT a H. RICHNER. Sperm of colourful males are better protected against oxidative stress. *Ecology Letters*. 2010, 13(2): 213-222.
- HENRICKS, D. M. Identification of insulin-like growth factor I in bovine seminal plasma and its receptor on spermatozoa: influence on sperm motility. *Biology of Reproduction*. 1998, 59(2): 330-337.
- HESS, R. A., R. J. THURSTON a H. V. BIELLIER. Morphology of the epididymal region and ductus deferens of the turkey (*Meleagris gallopavo*). *Journal of anatomy*. 1976, 122(2): 241-252.
- HORROCKS, A.J., S. STEWART, L. JACKSON a G. J. WISHART. Induction of acrosomal exocytosis in chicken spermatozoa by inner perivitelline-derived N-linked glycans. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2000, 278(1): 84-89.
- HUANG, R. P., J. X. WU, Y. FAN a E. D. ADAMSON. UV activates growth factor receptors via reactive oxygen intermediates. *The Journal of Cell Biology*. 1996, 133(1): 211-220.

- HULBERT, A. J., R. PAMPLONA, R. BUFFENSTEIN a W. A. BUTTEMER. Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals. *Physiological Reviews*. 2007, 87(4): 1175-1213.
- CHAN, A. C. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1993, 71(9): 725-731.
- CHATTERJEE, I. B., N. C. KAR, N. C. GHOSH a B. C. GUHA. Biosynthesis of L-Ascorbic acid: missing steps in animals incapable of synthesizing the vitamin. *Nature*. 1961, 192(4798): 163-164.
- CHAUDHURI, C. R. a I. B. CHATTERJEE. L-Ascorbic acid synthesis in birds: phylogenetic trend. *Science*. 1969, 164(3878): 435-436.
- CHELMONSKA, B., A. JERYSZ a E. LUKASZEWICZ. The effect of proctodeal gland foam, and depth and frequency of artificial insemination on fertility and hatchability of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Turkish Journal of Veterinary & Animal*. 2007, 31(3): 171-178.
- CHEN, Q. Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. *Journal of Biological Chemistry*. 2003, 278(38): 36027-36031.
- IMMLER, S. a T. R BIRKHEAD. Sperm competition and sperm midpiece size: no consistent pattern in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2007, 274(1609): 561-568.
- JENNER, P., A. H. V. SCHAPIRA a C. D. MARSDEN. New insights into the cause of Parkinson's disease. *Neurology*. 1992, 42(12): 2241-2241.
- JONES, D. P. Redefining oxidative stress. *Antioxidants*. 2006, 8(9-10): 1865-1879.
- JOSHI, P. C., B. PANDA a B. C. JOSHI. Effect of ambient temperature on semen characteristics of White Leghorn male chickens. *Indian Veterinary Journal*. 1980, 57(1): 52-56.
- KARACA, A. G., H. M. PARKER, J. B. YEATMAN a C. D. MCDANIEL. The effects of heat stress and sperm quality classification on broiler breeder male fertility and semen ion concentrations. *British Poultry Science*. 2002, 43(4): 621-628.
- KEILIN, D. a E. F. HARTREE. On the mechanism of the decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *Proceedings of the Royal Society of London*. 1938, 124(522-524): 397-405.
- KELSO, K. A., S. CEROLINI, R. C. NOBLE, N. H. C SPARKS a B. K. SPEAKE. Lipid and antioxidant changes in semen of broiler fowl from 25 to 60 weeks of age. *Reproduction*. 1996, 106(2): 201-206.
- KELSO, K. A., S. CEROLINI, B. K. SPEAKE, L. G. CAVALCHINI a R. C. NOBLE. Effects of dietary supplementation with alpha-linolenic acid on the phospholipid fatty acid composition and quality of spermatozoa in cockerel from 24 to 72 weeks of age. *Reproduction*. 1997, 110(1): 53-59.
- KEMPENAERS, Bart, Geert R. VERHEYEN a André A. DHONDI. Extrapair paternity in the blue tit (*Parus caeruleus*): female choice, male characteristics, and offspring quality. *Behavioral Ecology*. 1997, 8(5): 481-492.
- KLEVEN, O., T. LASKEMOEN, F. FOSSØY, R. J. ROBERTSON aj. T. LIFJELD. Intraspecific variation in sperm length is negatively related to sperm competition in Passerine birds. *Evolution*. 2008, 62(2): 494-499.
- KRINSKI, N. I. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proceedings of the Society for Experimental medicine*. 1992, 200(2): 248-252.
- KROKENE, C, K. RIGSTAD, M. DALE a J. T. LIFJELD. The function of extrapair paternity in blue tits and great tits: good genes or fertility insurance?. *Behavioral Ecology*. 1998, 9(6): 649-656.

- KULICK, R. S., Y. CHAISEHA, S.W. KANG, I. ROZENBOIM a M. E. EL HALAWANI. The relative importance of vasoactive intestinal peptide and peptide histidine isoleucine as physiological regulators of prolactin in the domestic turkey. *General and Comparative Endocrinology*. 2005, 142(3): 267-273.
- KUSHNAREVA, Y., A. N. MURPHY a A. ANDREYEV. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)⁺ oxidation–reduction state. *Biochemical Journal*. 2002, 368(2): 545-553.
- LADHA, S. Lipid heterogeneity and membrane fluidity in a highly polarized cell, the mammalian spermatozoon. *Journal of Membrane Biology*. 1998, 165(1): 1-10.
- LANGLAIS, J. a K. D. ROBERTS. A molecular membrane model of sperm capacitation and the acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Gamete Research*. 1985, 12(2): 183-224.
- LIFJELD, J. T., T. LASKEMOEN, O. KLEVEN, T. ALBRECHT, R. J. ROBERTSON a T. TREGENZA. Sperm length variation as a predictor of extrapair paternity in passerine birds. *PLoS ONE*. 2010, 5(10): 13456.
- LIFJELD, J. T., T. LASKEMOEN, O. KLEVEN, A. T. M. PEDERSEN, H. M. LAMPE, G. RUDOLFSSEN, T. SCHMOLL a T. SLAGSVOLD. No evidence for pre-copulatory sexual selection on sperm length in a passerine bird. *PLoS ONE*. 2012, 7(2): 32611.
- LIN, M. a R. C. JONES. Spermatogenesis and spermiation in the Japanese-quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of anatomy*. 1976, 183(3): 525-535.
- LIN, Y. F., S. J. CHANG, J. R. YANG, Y. P. LEE a A. L. HSU. Effects of supplemental vitamin E during the mature period on the reproduction performance of Taiwan Native Chicken cockerels. *British Poultry Science*. 2005, 46(3): 366-373.
- LIN, H., H. C. JIAO, J. BUYSE a E. DECUYPERE. Strategies for preventing heat stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*. 2006, 62(1): 71-85.
- LOCHMILLER, R. L. a Ch. DEERENBERG. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity?. *Oikos*. 2000, 88(1): 87-98.
- LOSDAT, S., H. RICHNER, J. D. BLOUNT, F. HELFENSTEIN a K. MCGRAW. Immune activation reduces sperm quality in the Great Tit. *PLoS ONE*. 2011, 6(7): 22221.
- LOZANO, G. A. Carotenoids, parasites, and sexual selection. *The American Naturalist*. 1994, 70(3): 309-311.
- LÜPOLD, S., S. CALHIM, S. IMMLER a T. R BIRKHEAD. Sperm morphology and sperm velocity in passerine birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009, 276(1659): 1175-1181.
- MANEY, D. L., S. J. SCHOECH, P. J. SHARP a J. C. WINGFIELD. Effects of vasoactive intestinal peptide on plasma prolactin in passerines. *General and Comparative Endocrinology*. 1999, 113(3): 323-330.
- MANGIAGALLI, M.G., P. A. MARTINO, T. SMAJLOVIC, L. GUIDOBONO CAVALCHINI a S.P. MARELLI. Effect of lycopene on semen quality, fertility and native immunity of broiler breeder. *British Poultry Science*. 2010, 51(1): 152-157.
- MARTÍNEZ-MORENO, C.G., L. PALMA, M. CARRANZA, S. HARVEY, C. ARÁMBURO a M. LUNA. Cellular and intracellular distribution of growth hormone in the adult chicken testis. *General and Comparative Endocrinology*. 2011, 172(3): 344-357.
- MASTORAKOS, G., G. P. CHROUSOS a S. J. WEBER. Recombinant interleukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans. *Journal of Clinical Endocrinology*. 1993, 77(6): 1690-

1694.

- MAUNG, Z. W. a B.K. FOLLETT. Effects of chicken and ovine luteinizing hormone on androgen release and cyclic AMP production by isolated cells from the quail testis. *General and Comparative Endocrinology*. 1977, 33(2): 242-253.
- MCDANIEL, C. D., R. K. BRAMWELL, J. L. WILSON a B. HOWARTH. Fertility of male and female broiler breeders following exposure to elevated ambient temperatures. *Poultry Science*. 1995, 74(6): 1029-1038.
- MCDANIEL, C. D., R. K. BRAMWELL a B. HOWARTH. The male contribution to broiler breeder heat-induced infertility as determined by sperm-egg penetration and sperm storage within the hen's oviduct. *Poultry Science*. 1996, 75(12): 1546-1554.
- MCDANIEL, C. D., R. K. BRAMWELL a B. HOWARTH. Development of a novel fluorescence technique for quantifying the total number of spermatozoa stored in the uterovaginal junction of hens. *Reproduction*. 1997, 109(1): 173-179.
- MCDANIEL, C. D., J. E. HOOD a H. M. PARKER. An attempt at alleviating heat stress infertility in male broiler breeder chickens with dietary ascorbic acid. *International Journal of Poultry Science*. 2004, 3(9): 593-602.
- MEISTER, A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *Journal of biological chemistry*. 1994, 269(13): 9397-9400.
- MONSI, A. a D. O. ONITCHI. Effects of ascorbic acid (vitamin C) supplementation on ejaculated semen characteristics of broiler breeder chickens under hot and humid tropical conditions. *Animal Feed Science and Technology*. 1991, 34(1): 141-146.
- MØLLER, A. P. Testes size, ejaculate quality and sperm competition in birds. *Biological Journal of the Linnean Society*. 1988, 33(3): 273-283.
- MØLLER, A. P. a T. R. BIRKHEAD. Validation of the heritability method to estimate extra-pair paternity in birds. *Oikos*. 1992, 64(3): 485-488.
- MØLLER, A. P. a J. V. BRISKIE. Extra-pair paternity, sperm competition and the evolution of testis size in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 1995, 36(5): 357-365.
- MØLLER, A. P. a H. TEGELSTRÖM. Extra-pair paternity and tail ornamentation in the barn swallow *Hirundo rustica*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 1997, 41(5): 353-360.
- MØLLER, A. P., T. A. MOUSSEAU, G. RUDOLFSSEN, J. BALBONTÍN, A. MARZAL, I. HERMOSELL a F. DE LOPE. Senescent sperm performance in old male birds. *Journal of Evolutionary Biology*. 2009, 22(2): 334-344.
- NEUMAN, S. L., J. I. ORBAN, T. L. LIN, M. A. LATOUR a P. Y. HESTER. The effect of dietary ascorbic acid on semen traits and testis histology of male turkey breeders. *Poultry science*. 2002, 81(2): 265-268.
- NOIRAUULT, J., J. P. BRILLARD a M. R. BAKST. Effect of various photoperiods on testicular weight, weekly sperm output and plasma levels of LH and testosterone over the reproductive season in male turkeys. *Theriogenology*. 2006, 66(4): 851-859.
- NORRIS, K. a M. R. EVANS. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology*. 2000, 11(1): 19-26.
- OLSEN, M. W. a B. H. NEHER. The site of fertilization in the domestic fowl. *Journal of Experimental Zoology*. 1948, 109(3): 355-366.

- OLSZANSKA, B. a U. STEPINSKA. Molecular aspects of avian oogenesis and fertilisation. *The International Journal of Developmental Biology*. 2008, 52(2-3): 187-194.
- PAI, E. F. a G. E. SCHULZ. The catalytic mechanism of glutathione reductase as derived from x-ray diffraction analyses of reaction intermediates. *Journal of molecular biology*. 1983, 258(3): 1752-1757.
- PARKER, G. A. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological Reviews*. 1970, 45(4): 525-567.
- PARKER, H. M. a C. D. MCDANIEL. Correlation of the sperm quality index with ATP utilization, gas exchange and ionic balance of broiler breeder semen. *International Journal of Poultry Science*. 2007, 6(12): 928-932.
- PARTYKA, A., E. ŁUKASZEWICZ a W. NIŻAŃSKI. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in avian semen. *Animal Reproduction Science*. 2012, 134(3): 184-190.
- PATEL, S., C. T. ROELKE, D. J. RADEMACHER, W. E. CULLINAN a C. J. HILLARD. Endocannabinoid signaling negatively modulates stress-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology*. 2004, 145(12): 5431-5438.
- PENFOLD, L. M., D. E. WILDT, T. L. HERZOG, W. LYNCH, L. WARE, S. E. DERRICKSON a S. L. MONFORT. Seasonal patterns of LH, testosterone and semen quality in the Northern pintail duck (*Anas acuta*). *Reproduction, Fertility and Development*. 2000, 12(4): 229-235.
- PUTNAM, Ch. D., A. S. ARVAI, Y. BOURNE a J. A. TAINER. Active and inhibited human catalase structures: ligand and NADPH binding and catalytic mechanism. *Journal of Molecular Biology*. 2000, 296(1): 295-309.
- RABERG, L., M. GRAHN, D. HASSELQUIST a E. SVENSSON. On the adaptive significance of stress-induced immunosuppression. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1998, 265(1406): 1637-1641.
- RAMBECK, W. A. a H. WEISER. Reduction of tissue cadmium retention by L-ascorbic acid. *Proceedings of 19th World's Poultry Congress*. 1992, 2: 259-261
- ROMERO, L. M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology*. 2004, 19(5): 249-255.
- ROSE, R. C. Ascorbic acid metabolism in protection against free radicals: A radiation model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1990, 169(2): 430-436.
- ROWE, M. a K. J. MCGRAW. Carotenoids in the seminal fluid of wild birds: interspecific variation in fairy-wrens. *The Condor*. 2008, 110(4): 694-700.
- ROWE, M., E. A. TOURVILLE a K. J. MCGRAW. Carotenoids in bird testes: Links to body carotenoid supplies, plumage coloration, body mass and testes mass in house finches (*Carpodacus mexicanus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 2012, 163(3-4): 285-291.
- SAPOLSKY, R. M., L. M. ROMERO a A. U. MUNCK. How do glucocorticoids influence stress responses? integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*. 2000, 21(1): 55-89.
- SATIR, P., J. WAIS-STEIDER, S. LEBDUSKA, A. NASR a J. AVOLIO. The mechanochemical cycle of the dynein arm. *Cell Motility*. 1981, 1(3): 303-327.
- SCANES, C. G., S. HARVEY, J. A. MARSH a D. B. KING. Hormones and growth in poultry. *Poultry*

Science. 1984, 63(10): 2062-2074.

- SELVARAJU, S., I.J. REDDY, S. NANDI, S.B.N. RAO a J.P. RAVINDRA. Influence of IGF-I on buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa motility, membrane integrity, lipid peroxidation and fructose uptake in vitro. *Animal Reproduction Science*. 2009, 113(1): 60-70.
- SHELDON, B. C. a S. VERHULST. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology*. 1996, 11(8): 317-321.
- SCHANTZ, T. v., S. BENSCH, M. GRAHN, D. HASSELQUIST a H. WITZELL. Good genes, oxidative stress and condition-dependent sexual signals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1999, 266(1414): 1-12.
- SIEGEL, H. S. Physiological stress in birds. *BioScience*. 1980, 30(8): 529-534
- SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*. 1997, issue 2.
- SINGH, R. P., K.V.H. SASTRY, N. SHIT, N. K. PANDEY, K.B. SINGH, J. MOHAN a R. P. MOUDGAL. Cloacal gland foam enhances motility and disaggregation of spermatozoa in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Theriogenology*. 2011, 75(3): 563-569.
- SMITH, O. B. a O. O. AKINBAMIJO. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal Reproduction Science*. 2000, 60(61): 549-560.
- SORCI, G. a B. FAIVRE. Inflammation and oxidative stress in vertebrate host-parasite systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009, 364(1513): 71-83.
- STADTMAN, E. R., J. MOSKOVITZ a R. L. LEVINE. Oxidation of methionine residues of proteins: biological consequences. *Antioxidants*. 2003, 5(5): 577-582.
- STEWART, S. G., N. BAUSEK, F. WOHLRAB, W. J. SCHNEIDER, A. JANET HORROCKS a G. J. WISHART. Species specificity in avian sperm: perivitelline interaction. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular*. 2004, 137(4): 657-663.
- STUTCHBURY, B. J. a E. S. MORTON. The effect of breeding synchrony on extra-pair mating systems in songbirds. *Behaviour*. 1995, 132(9): 675-690.
- SURAI, P. F., E. KUTZ, G. J. WISHART, R. C. NOBLE a B. K. SPEAKE. The relationship between the dietary provision of alpha-tocopherol and the concentration of this vitamin in the semen of chicken: effects on lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Reproduction*. 1997, 110(1): 47-51.
- SURAI, P. F., E. BLESBOIS, I. GRASSEAU, T. CHALAH, J.-P. BRILLARD, G. J.. WISHART, S. CEROLINI a N. H. C. SPARKS. Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 1998, 120(3): 527-533.
- SURAI, P. F., G. J. WISHART, B. K. SPEAKE, R. C. NOBLE a N. H. C. SPARKS. Lipid and antioxidant composition of chicken semen and its susceptibility to peroxidation. *Poultry avian biology reviews*. 1998b, 9(1): 11-23.
- SURAI, P., I. KOSTJUK, G. WISHART, A. MACPHERSON, B. SPEAKE, R. NOBLE, I. IONOV a E. KUTZ. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. *Biological Trace Element Research*. 1998c, 64(1-3): 119-132.
- SURAI, P.F., J-P. BRILLARD, B.K. SPEAKE, E. BLESBOIS, F. SEIGNEURIN a N.H.C. SPARKS. Phospholipid fatty acid composition, vitamin e content and susceptibility to lipid peroxidation of duck

- spermatozoa. *Theriogenology*. 2000, 53(5): 1025-1039.
- SURAI, P., R. C. NOBLE, N. H. SPARKS a B. K. SPEAKE. Effect of long-term supplementation with arachidonic or docosahexaenoic acids on sperm production in the broiler chicken. *Reproduction*. 2000, 120(2): 257-264.
- SURAI, P. F. Natural antioxidants in poultry nutrition: new developments. *Proceedings of the 16th European symposium on poultry nutrition*. 2010, 669-676.
- TAN, K.A.L., J. K. TURNER, P.T.K. SAUNDERS, G. VERHOEVEN, K. DE GENDT, N. ATANASSOVA a R. M. SHARPE. Androgen regulation of stage-dependent cyclin D2 expression in sertoli cells suggests a role in modulating androgen action on spermatogenesis. *Biology of Reproduction*. 2005, 72(5):1151-1160.
- TERUYAMA, R. a M. M. BECK. Double immunocytochemistry of vasoactive intestinal peptide and cGnRH-I in male quail: photoperiodic effects. *Cell and Tissue Research*. 2001, 303(3): 403-414.
- THURSTON, R. J. a R. A. HESS. Ultrastructure of spermatozoa from domesticated birds: comparative study of turkey, chicken and guinea fowl. *Scanning microscopy*. 1987, 1(4): 1829-1838.
- TSIGOS, C. a G. P. CHROUSOS. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*. 2002, 53(4): 865-871.
- VÉGI, B., E. VARADI a S. Z. FERENCZINE. Relationship between steroid hormone changes and spermatological parameters in broiler breeder males. *Magyar allatorvosok lapja*. 2009, 131(8): 489-493.
- VERMON, G. . G. a D. M. WOOLLEY. Three-dimensional motion of avian spermatozoa. *Cell motility and the cytoskeleton*. 1999, 42(2): 149-161
- VILLARREAL, L. Y. B., P. E. BRANDÃO, J. L. CHACÓN, M. S. ASSAYAG, P. C. MAIORKA, P. RAFFI, A. B. S. SAIDENBERG, R. C. JONES a A. J. P. FERREIRA. Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus infections. *Avian Diseases*. 2007, 51(4): 900-904.
- VINKLER, M. a T. ALBRECHT. Carotenoid maintenance handicap and the physiology of carotenoid-based signalisation of health. *Naturwissenschaften*. 2010, 91(1): 19-28.
- VIZCARRA, J. A., J. D. KIRBY a D. L. KREIDER. Testis development and gonadotropin secretion in broiler breeder males. *Poultry Science*. 2010, 89(2): 328-334.
- WALES, R. G., I. G. WHITE a D. R. LAMOND. The spermicidal activity of hydrogen peroxide in vitro and in vivo. *Journal of Endocrinology*. 1959, 18(3): 236-244.
- WANG, S. Y. a F. W. EDENS. Heat conditioning induces heat shock proteins in broiler chickens and turkey poults. *Poultry science*. 1998, 77(11): 1636-1645.
- WASSER, D. E. a P. W. SHERMAN. Avian longevities and their interpretation under evolutionary theories of senescence. *Journal of Zoology*. 2010, 280(2): 103-155.
- WATANABE, T. a A. ENDO. Effects of selenium deficiency on sperm morphology and spermatocyte chromosomes in mice. *Mutation Research Letters*. 1991, 262(2): 93-99.
- WEICK, R. F. a K. M. STOBIE. Role of VIP in the regulation of LH secretion in the female rat. *Neuroscience*. 1995, 19(2): 251-259.
- WHITEHEAD, C. C. a T. KELLER. An update on ascorbic acid in poultry. *World's Poultry Science Journal*. 2003-06-01, 59(2): 161-184.
- WILSON, S. C. a P. J. SHARP. Episodic release of luteinizing hormone in the domestic fowl. *Journal of*

Endocrinology. 1975, 64(1): 77-86.

WISHART, G.J. a Y.I. WILSON. Temperature-dependent inhibition of motility in spermatozoa from different avian species. *Animal Reproduction Science*. 1999, 57(3): 229-235.

WOOLLEY, D. M. The structure of the spermatozoon of the japanese-quail, *Coturnix-Coturnix L*, var. *Japonica*. *Acta Zoologica*. 1995, 76(1): 45-50

ZANIBONI, L. a M. R. BAKST. Localization of aquaporins in the sperm storage tubules in the turkey oviduct. *Poultry science*. 2004, 83(7): 1209-1212.

ZANIBONI, L., R. RIZZI a S. CEROLINI. Combined effect of DHA and α -tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology*. 2006, 65(9): 1813-1827.

ZANINI, S. F., C. A. A. TORRES, N. BRAGAGNOLO, J. M. TURATTI, M. G. SILVA a M. S. ZANINI. Evaluation of the ratio of $\omega 6$: $\omega 3$ fatty acids and vitamin e levels in the diet on the reproductive performance of cockerels. *Archives of Animal Nutrition*. 2003, 57(6): 429-442.

ZAVALETA, D. a F. OGASAWARA. A review of the mechanism of the release of spermatozoa from storage tubules in the fowl and turkey oviduct. *World's Poultry Science Journal*. 1987, 43(2): 132-139.

ZEMAN, M., J. KOSUTZKY a E. BOBAKOVA. Testosterone concentration in the seminal plasma of cocks. *British Poultry Science*. 1986, 27(2): 261-266.

ZHENG, J. X., Z. Z. LIU a N. YANG. Deficiency of growth hormone receptor does not affect male reproduction in Dwarf chickens. *Poultry science*. 2007, 86(1): 112-117

Učebnice:

ALBERTS, B. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science, 2002. ISBN 10: 0-8153-4072-9.

BIRKHEAD, T. R. a A. P. MØLLER. *Sperm competition and sexual selection*. San Diego: Academic Press, 1998. ISBN 00-805-4159-3

BIRKHEAD, T. R. a A. P. MØLLER. *Sperm competition in birds : evolutionary causes and consequences*. SAN DIEGO, CA (USA): Academic Press, 1992. ISBN 0121005410

BIRKHEAD, T. R; HOSKEN, D. J. a PITNICK, S.: *Sperm biology: an evolutionary perspective*. 1st ed. Amsterdam: Academic Press, 2009. ISBN 9780123725684.

JAMIESON, B. G. M. *Reproductive biology and phylogeny of birds*. Enfield (NH): Science Publishers, 2007, s. 350-398. ISBN 1578085020.

LAKE, P. E. *Physiology and biochemistry of the domestic fowl: The male reproduction*. Academic Press, 1971, s. 1411-1447. ISBN 0120850036.

MURRAY, R. K. *Harperova biochemie*. 23. vyd. Jinočany: H H, 2002, 872 s. ISBN 80-731-9013-3.

STURKIE, P. D. a H. OPEL. *Reproduction in the Male, Fertilization, and Early Embryonic Development*. Berlin Heidelberg: Springer, 1976, s. 331-347. ISBN 978-3-642-96274-5.

TRIVERS, R. L. *Parental investment and sexual selection*. In 'Sexual Selection and the Descent of Man'. (Ed. B. Campbell.), 1972, 136–179. Aldinc: Chicago.

WHITTOW, G. C. *Sturkie's avian physiology*. 5th ed. San Diego: Academic Press, 2000, s. 597-634. ISBN

0080542085.

WINGFIELD, J. C. *The differences between the sexes ; edited by R.V. Short; E. Balaban*. Cambridge: Cambridge University Press, 1994, kapitola 13. ISBN 0521448786.

Obrázky:

Obr. 1: DHA numbers. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-. Dostupné z: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:DHA_numbers.svg?uselang=cs

Obr. 2: ALAnumbering. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-. Dostupné z: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:ALAnumbering.svg?uselang=cs>

Obr. 3: EPAnumbering. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-. Dostupné z: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:EPAnumbering.png?uselang=cs>

Orb. 4: Arachidonic_acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-. Dostupné z: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/44/Arachidonic_acid.svg

Orb. 5: Adrenic acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-. Dostupné z: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Adrenic_acid.png?uselang=cs