



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

239480

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.⁴

A 01 N 1/00

(22) Přihlášeno 23 05 84
(21) PV 3858-84

(40) Zveřejněno 15 05 85

(45) Vydáno 15 04 87

(75)

Autor vynálezu

BERNATSKÝ ČESTMÍR ing., OLOMOUC; BAZALA EMIL ing., LITOVEL;
PÁCOVÁ JAROSLAVA ing., BRNO; DUPAL JOSEF ing., HUSTOPEČE;
KOVÁČ ŠTEFAN MVDr.; SZÉCHENYI ŠTEFAN RNDr.; SPIŠÁK MICHAEL MVDr.;
DUBAJ MARIÁN PhMr., NITRA

(54) Ředidlo kančího spermatu

Veterinární přípravek pro inseminaci prasat. Ředidlo kančího spermatu obsahuje glukózu, hydrogen uhličitý sodný, terciární citronan sodný, sodnou sůl etylendiamin-tetraoctové kyseliny, D α aminobenzylpenicilin a vodu.

Ředidlo je baktericidní a není spermicidní takže zředěný ejakulát je použitelný dva až tři dny.

Vynález se týká ředidla pro kančí sperma pro umělou inseminaci prasnic. Inseminace prasnic a prasniček je významným plemenářským opatřením, které významně ovlivňuje produkci selat a výrobu jatečných prasat požadovaného užitkového typu. Další kvantitativní a kvalitativní rozvoj této biotechnické metody je mimo jiné podmíněn zdokonalováním konzervace spermatu kanců s cílem zajistit vysokou kvalitu inseminační dávky v době osemenění plemene.

V poslední době se používají ke konzervaci kančího spermatu ředidla BL 1 (Pursel, V.G. et al, J. Anim. Sci. 1973, 37, s. 352), IVT (du Mesnil du Buisson, F. et al, Comp. Rend. Acad. Sci. 1958, 274, s. 2472), mléčné ředidlo (Waide, Y. et al, Japanese J. Anim. Prod. 1977, 99, s. 23), ředidlo podle Sadovnikové (Sadovniková, M. T., Svinovodstvo, 1966, 5, s. 28) a GCHC (Pliško, N. T. Svinovodstvo 1965, 6, s. 37).

Problematika konzervace kančího spermatu je bezprostředně spojena s poklesem fertility spermií uchovávaných in vitro. Pokusy porovnávající účinnost různých konzervačních roztoků jsou předmětem řady prací. Tak např. Meding, J. H. (Nord. Vet. Med. 1976, 28, s. 221) zjistil pokles oplozovací schopnosti semene konzervovaného roztokem IVT již po jednodenním uchování. Johnson, L. A. et al (J. Anim. Sci. 1982, 54, 1, s. 132) uvádí pokles počtu všech narozených selat na 1 vrh u spermatu konzervovaného jak ředidlem BL 1 tak i ředidlem podle Pliška, a to již po 24 hodinách konzervace o 0,6 resp. 0,5 selate. Heydorn, K. P. et al (Der Tierzuchter, 1981, 11, s. 472) uvádí pokles natality o 0,4 selate na 1 vrh u plemenic inseminovaných dárkami s ředidlem podle Pliška a uchovávanými po dobu 72 hodin. Při použití ředidla podle Sadovnikové k ředění kančích ejakulátů a k přípravě inseminačních dávek jsou tyto dávky s obsahem $3,5 \times 10^9$ aktivních spermií s převážně částí spotřebovány do 24 hodin. Použití inseminačních dávek s tímto ředidlem po uplynutí 24 hodin je možné pouze ve výjimečných případech, vzhledem k docilovaným horším výsledkům v natalitě.

Lze tedy konstatovat, že s dosud známými ředidly je možné konzervovat kančí sperma jen do 24 až 48 hodin bez výrazného poklesu zabřezávání a plodnosti.

Inseminační dávky konzervované jmenovanými ředidly jsou uchovávány při teplotě 15 až 20 °C. Tato teplota dává předpoklad k množení mikroorganismů, kterými je kančí ejakulát kontaminován. Proto je třeba do ředících roztoků přidávat látky, které tlumí množení mikroorganismů (antibiotika, sulfonamidy) a přitom nepůsobí na spermie toxicky. Ke jmenovaným ředidlům se přidává penicilin G spolu se streptomycinem. Penicilin G je tolerantní ke spermiím, zatím co streptomycin inhibuje motilitu spermií a snižuje obsah dezoxynukleotidových kyselin až o 11 % (Van Duijn, C., VII. Ing. Kongr. für Tierische Fortpflanzung, München, 1972, s. 1 270). S přihlédnutím k negativním účinkům streptomycinu muselo být toto antibiotikum vyloučeno z používání. K ředěnému spermatu kanců se přidává pouze penicilin G, který však nepůsobí účinně na celé spektrum mikroorganismů nacházejících se v ejakulátu.

K širšímu uplatnění inseminace prasat je nezbytné prodloužit konzervační účinnost ředidel v tekutém stavu na delší dobu. Zde se jeví jako velmi nadějné výsledky dosažené na experimentální bázi s ředidly SCK 7 (Hooper, P., Pig International 1981, 11, 9, s. 16) a Zorlesco ZM 2 (Gottari, L. et al, Proc. 9 th Int. Congr. on Anim. Reprod. and Artif. Insem. Madrid, Spain, 1980, III, s. 275). Velmi dobré výsledky nebyly potvrzeny ve větších provozních pokusech. Uplatnění těchto medií v inseminační praxi mimo to omezuje jejich vysoká cena a malá dostupnost komponentů.

Ve snaze zlepšit dosavadní stav v konzervaci spermatu přistoupilo se k ověřování ředidla podle Pliška. Prodloužení použitelnosti inseminační dávky a udržení její vysoké kvality až do doby použití k inseminaci je podmíněno nejenom vhodným ředícím roztokem, ale i přípravkem nespermicidního účinného antibiotika a koncentrací spermií v jednom ml konzervovaného semene.

Předmětem vynálezu je ředidlo kančího spermatu na bázi glukózy a ústojného roztoku s přísávkem antibiotik, který obsahuje 55 až 65 dílů hmotnostních glukózy, 1,0 až 1,5 dílu hmotnostního hydrogenuhličitanu sodného, 3,3 až 4 díly hmotnostní terciárního citronanu sodného krystalického, 3,3 až 4 díly hmotnostní sodné soli etylendiamin tetraoctové kyseliny, 0,2 až 1,0 díl hmotnostní D- α -aminobenzyl penicilinu a 1 000 dílů hmotnostních vody.

Předpokládá se, že výrobce veterinárních přípravků vyrobí koncentrát ředidla kančího spermatu nebo jen směs práškových komponent a spotřebitel připraví před použitím ředidlo přidáním potřebného množství vody.

Koncentrát ředidla kančího spermatu podle vynálezu se připraví ze složek smícháním a mletím, které zaručí dokonalou homogenizaci.

Ve spermatu kanců se nachází převážně mikrokoky, pseudomonás, korynobakterie, koliformní typy a proteus. Tyto zárodky se přestanou vyvíjet po přidání penicilinu G a streptomycinu. Pouze pseudomonás je k oběma antibiotikům méně citlivý. Vzhledem k již dříve uvedeným negativním účinkům streptomycinu a nedostatečnému bakteriostatickému působení samotného penicilinu obsahuje ředidlo podle vynálezu k antibiotikování ředěného spermatu kanců ampicilin (D- α -aminobenzyl penicilin). Ampicilin v podstatě nahrazuje z hlediska antibakteriálního účinku kombinaci streptomycinu a penicilinu G. Navíc není spermicidní ani ve vyšších koncentracích a v roztoku při pH 6,5 až 7,1 je zcela stabilní až do 72 hodin.

Životaschopnost spermií ovlivňuje i jejich koncentrace v 1 μ l konzervovaného semene. Doporučuje se koncentrace 60 000 až 160 000 spermií v 1 μ l naředěného ejakulátu. Těchto doporučených koncentrací i nižších koncentrací lze dosáhnout při dvoustupňovém ředění (předředění spermatu a uchovávání s doředěním až před inseminačním úkonem).

Ředidlo kančího spermatu podle vynálezu je obzvláště vhodné k použití ve dvou fázích. První ředění na inseminační stanici kanců, druhé ředění v zemědělském podniku. Na inseminační stanici se získaný ejakulát naředí ředidlem podle vynálezu v takovém poměru, aby jedna inseminační dávka o objemu 50 ml obsahovala minimálně $3,5 \times 10^9$ aktivních spermií. Ředění spermatu se musí uskutečnit nejpozději do 60 minut od odběru. Naředěné semeno se naplní do láhve, s výhodou z polyethylenu, o obsahu 200 ml až 500 ml. Naplněné láhve se ukládají do chladniček seřízených na teplotu 15 až 18 °C ke zchlazení. Pokles teploty u zchlazovaného spermatu nesmí být vyšší než 3 až 4 °C za 1 hodinu.

Inseminační dávky v lahví se expedují spolu s druhým ředidlem adjustovaným v inseminačních sáčcích po 50 ml do zemědělských závodů v termoboxech. Předředěné semeno i doředovací roztok v inseminačních sáčcích se uchovávají v zemědělském závodě v chladničkách při teplotě 15 až 18 °C.

Jako druhé ředidlo lze použít ředidlo podle vynálezu nebo jiná známá ředidla spermat, obsahující ústoje a energetický zdroj, jako je například ředidlo 2 uvedené v tabulce.

Doředění inseminačních dávek se provede vždy až před vlastní inseminací následujícím způsobem: předředěné semeno se mírným kývavým pohybem láhve promíchá. Nástavec uzávěru láhve se spermatem se seříznutím nebo propíchnutím otevírá, vsune se do spojovací hadičky inseminačního sáčku s druhým ředidlem a 50 ml semene se mírným tlakem vpraví do doředovacího roztoku, takže celkový objem inseminační dávky činí 100 ml.

Vynález osvětlí následující příklad.

P ř í k l a d

Ředidlem kančího spermatu, jehož složení je uvedeno v tabulce jako ředidlo 1, bylo kančí sperma na inseminační stanici předředěno tak, aby koncentrace spermií v 1 μ l konzervovaného semene byla 70 000. Doředění spermatu na dvojnásobný objem se provedlo až v zemědělském podniku ředidlem 2. Touto technologií se dosáhlo zvýšení počtu živě narozených selat na prvně inseminovanou plemenič ve srovnání s ředidlem podle Sadovnikové o 0,621 při použití inseminačních dávek do 50 hodin od jejich přípravy a o 0,367 při použití dávek do 72 hod. Ředidlo podle Sadovnikové bylo použito do 24 hodin.

Tabulka

Komponenty	Ředidlo 1	Ředidlo 2
glukóza bezvodá, Čsl 3	60,0 g	3,2 g
hydrogenuhličitan sodný, Čsl 3	1,2 g	2,1 g
citronan sodný terc. x H ₂ O Čsl 3	3,7 g	24,3 g
etylendiamintetraoctová kys. na sůl chelaton 3, p.a.	3,7 g	
chlorid draselný, Čsl 3		0,4 g
destilovaná voda převařená	1 000,0 ml	1 000,0 ml
Ampicilin Spofa	250 mg	

Výhodou ředidla kančího spermatu podle tohoto vynálezu je to, že prodlužuje oplozovací schopnost spermií, což usnadňuje organizaci práce na inseminačních stanicích. Zabřezávání a plodnost je i po 72 hod. vyšší než když se použije ředidlo podle Sadovnikové.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Ředidlo kančího spermatu na bázi glukózy, ústojného a fyziologického roztoku s přidavkem antibiotik, vyznačené tím, že obsahuje 55 až 65 dílů hmotnostních glukózy, 1,0 až 1,5 dílu hmotnostního hydrogenuhličitanu sodného, 3,3 až 4 díly hmotnostní terciárního citronanu sodného krystalického, 3,3 až 4 díly hmotnostní sodné soli etylendiamintetraoctové kyseliny, 0,2 až 1,0 díl hmotnostní D- α -aminobenzylpenicilinu a 1 000 dílů hmotnostních destilované převařené vody.