



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

205 515

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 09 78
(21) PV 2737-79

(51) Int. Cl. A 01 N 1/00

(40) Zveřejněno 29 08 80
(45) Vydáno 01 09 83

(75)

Autor vynálezu

HOVORKA JAROSLAV MVDr., SEDLČANY

(54)

Ředidlo pro konzervaci semene kančů

1

Vynález řeší konzervaci kančího semene se zaměřením na zdravotní aspekty této problematiky.

V současné době se při zpracování semene plemenných kančů používá technologie, která zajišťuje konzervaci semene při 15 až 16 °C po dobu 24 h bez poklesu březosti a plodnosti. V podstatě se používají dva typy ředidel: a) bez žloutku, podle Pliška, b) se žloutkem, podle Sadovnikové a podle Serdžuka. Ředidlo podle Pliška je užíváno při nižších poměrech ředění, jeho nevýhodou je, že neobsahuje vaječný žloutek, který zabraňuje shlukování spermií, a tím prodlužuje i použitelnost takto ředěného semene. Procento přežívajících spermií se však i při použití tohoto ředidla po 24 h významně snižuje a nezajišťuje podmínky pro dobrou březost a plodnost. Nevýhody bezžloutkového ředidla do značné míry odstraňují ředidla podle Sadovnikové a podle Serdžuka, která umožňují podstatné prodloužení přežitelnosti spermií. Tato ředidla se liší ve způsobu pufrování a možnosti zvýšeného obsahu žloutku v ředidle dle Serdžuka. Ani jedno z těchto ředidel neřeší optimálně osmotické poměry v ředěném semeni při nižších stupních ředění. Ve všech třech případech uváděných dosud užívaných ředidel je použito k antibiotikování penicilinu a streptomycinu. Tento způsob antibiotikování nesplňuje požadavky a potřeby současné praxe.

Výše uvedené nedostatky jsou odstraněny ředidlem pro konzervaci semene kančů podle

205 515

vynálezu, které obsahuje na 1 000 ml redestilované vody, 1,8 g natriumcitrátu dihydrátu, 1,6 g chelatonu III, 0,5 g hydrogenuhlíčitanu sodného, 50 až 60 g glukózy pro analýzi, 20 až 50 ml vaječného žloutku a antibiotickou směs, která je tvořena 200 až 300 mg ampicilinu a 500 mg streptomycinu. Respektuje fyziologické požadavky spermií v ředěném semeni z hlediska osmotických poměrů podle stupně ředění, kvality a osmotické úrovně získaných ejakulátů, což má praktický význam při použití po 24 h konzervace a déle. Možnost zvýšeného obsahu žloutku umožňuje v závislosti na jeho kvalitě prodloužení přežitelnosti spermií. Zásadní otázkou je však způsob antibiotikování, který se významnou měrou podílí na zajištění zdravotní nezávadnosti inseminační dávky. Tím je dána nejen úroveň výsledků reprodukce, ale i úroveň zdravotního stavu vyprodukovaného potomstva.

U varianty I zvýšením osmotického tlaku ředidla dojde k tomu, že se vyrovnají osmotické poměry v ředěném semeni k hranici blízké fyziologickému optimu. Tím se zamezí možnosti bobtnání až svlékání akrosomů a tím i unikání akrosomálních enzymů do semenné plasmy, což je spojeno se snížením fertility takto ředěného semene. Snižuje se i možnost použití po 24 hodinách konzervace z toho důvodu, že se dostavuje snížení březosti a plodnosti. Snižuje se pohyblivost ředěného semene a kvalita tohoto pohybu. Tato varianta má své plné opodstatnění při použití ředění do 1:5.

Varianta II je na úrovni osmotických poměrů ředidla dle Sadovnikové a dle Serdžuka, přičemž nejvhodnější ředění jsou z hlediska osmotických poměrů ředění nad 1:5. Je však nutno počítat s tím, že při ředěních nad 1:10 může dojít ke snížení počtu selat ve vrhu.

Vyřešením zvýšené účinnosti antibiotikování ředidla pro přípravu inseminačních dávek je dána možnost cíleně zasáhnout a ovlivňovat mikrofloru se vztahem k reprodukčnímu aparátu jak ze strany kance, tak i prasnice, zábrana přenosu zárodků k antibiotikům citlivých prostřednictvím inseminační dávky. Speciálně je to použití antibiotik, které likvidují zárodky ze skupiny Mycoplasmat, které dnes používaná antibiotika nepotlačují. Nelze opomenout účinný zásah proti zárodkům, působícím hnisavé endometritidy, které jsou převážně k dosud používaným antibiotikům necitlivé. Instilace těchto účinných nespermicidních antibiotik do dělohy prasnice v inseminační dávce vede k eliminaci veškeré podmíněně patogenní mikroflory k antibiotikům citlivé, což má příznivý vliv na reprodukční ukazatele, zejména na březost a plodnost. Použití nespermicidního streptomycinu má své místo v případech výskytu mikroflory k tomuto antibiotiku citlivé.

Složení ředidla

Komponenty	Varianta I	Varianta II
Aqua redestillata	1000 ml	1000 ml
Glukóza pro analýzi	60 g	50 až 51 g
Natriumcitrát dihydrát	1,8 g	1,8 g
Hydrogenuhlíčitan sodný	0,5 g	0,5 g

Chelaton III	1,6 g	1,6 g
Vaječný žloutek	30 až 50 ml	20 až 40 ml

Použití při poměru ředění	do 1:5	nad 1:5
antibiotikování:		
Ampicilin	200 až 300 mg	
Streptomycin	500 mg	

Příprava ředidla

Destilovaná voda se nechá přejít varem a zchladí se na 35 °C. Přidá se navážené množství citrátu, bicarbonátu, chelatonu, glukózy, nechá se rozpustit (takto připravený roztok se může uchovávat při 15 °C ve tmě po dobu 24 hodin). Těsně před použitím se přidá vaječný žloutek a antibiotika. Antibiotika se předem rozpustí v malém objemu připravovaného ředidla, potom v celém objemu. Před zařazením každé nové šarže antibiotik nutno provést zkoušku na spermicidnost. Sterilně připravený vaječný žloutek se před použitím řádně rozmixuje. Ředidlo se po přidání chelatonu nesmí zahřát na teplotu vyšší než 35 °C. Připravené ředidlo musí mít pH 6,6 až 6,9, teplota uchování ředěného semene je 14 až 16 °C.

Vaječné žloutky zdravotně nezávadné by bylo možné použít i mražené. Ředidlo by bylo možné vyrábět i centrálně tak, že jako 1. komponenta by byl citrát, bikarbonát a chelaton, 2. komponenta glukóza a 3. komponentou antibiotika. Další dvě komponenty, tj. vaječný žloutek a redestilovaná voda by byly dodávány až na plemenářské stanici.

Výsledky zkoušek

Tabulka I uvádí výsledky vyšetření motility v procentech živých spermíí po 48 a 72 hodinách konzervace v ředidle v současné době používaném (spodní číslo) a v ředidle novém (horní číslo). Získaný ejakulát byl zpracován obvyklou technologií, která je používána na plemenářských stanicích. Před vlastním ředěním byl rozdělen na část, která byla zpracována používaným ředidlem a část, která byla zpracována ředidlem podle vynálezu. Poměr ředění vyjadřuje 1 díl semene a počet dílů ředidla. Bylo použito koncentrace ampicilinu 300 mg na 1 litr vody v ředidle.

Tabulka I

Státní registr kance	poměr ředění	motilita	
		po 48 h	po 72 h
RR 88	1:6	60 50	50 40
Ter 10	1:6	90 60	90 50
Bit 71	1:6	90 60	90 50
Pt 4	1:10	70 40	60 30
Kom 9	1:6	90 40	80 30
Jac 7	1:10	90 60	90 50
Kom 43	1:10	80 65	70 55
Jac 19	1:10	50 60	40 50

205 515

Jac 9	1:10	80	70	
		50	40	
Te 1	1:10	70	60	
		50	30	
Celkem vzorků		10	10	
nevyhovuje ČSN pokusných		0	1	
nevyhovuje ČSN kontrolních		2	5	

Tabulka II uvádí výsledky bakteriologického vyšetření semene neředěného a semene ředěného ředidlem podle vynálezu. Byla použita dávka 200 mg ampicilinu. Pro srovnání uvádím výsledky bakteriologického vyšetření při použití antibiotikování podle současného stavu. Ejakuláty byly po naředění uchovávány po dobu 24 až 96 hodin do bakteriologického vyšetření. Poměr ředění byl 1 díl semene a 1 až 2 díly ředidla.

Tabulka II

St. registr kance	semeno neředěné	semeno ředěné
Ler 97	coliformní zár., enterokoky	bez nálezu
Nik 59	směs přerostlá Proteem	Alcaligenes
Ler 93	směs přerostlá Proteem	Alcaligenes, Flavobacter
Vso 89	směs přerostlá Proteem	Alcaligenes
Sh 30	směs přerostlá Proteem	Alcaligenes
Egt 176	směs přerostlá Proteem	Alcaligenes, Pseudomonas
Bit 122	coliformní zár.	Alcaligenes
Bit 132	Alcaligenes	bez nálezu
11	Proteus	Alcaligenes
13	coliformní zár.	
15	Alcaligenes	
Jak 20	coliformní zár., Pseudomonas	bez nálezu
OA 28	Proteus	bez nálezu
OSK 57	Proteus	bez nálezu
Al 8	Proteus	bez nálezu
Sh 29	Proteus	bez nálezu
Vso 87	Proteus	bez nálezu
Mg 69	Proteus	bez nálezu
AA 61	Proteus	bez nálezu
Ori 17	Proteus	bez nálezu
Ost 11	Proteus	bez nálezu
11	coliformní zár.	Flavobacter
Celkem vzorků	22	19
bez nálezu	0	11

Statistické vyhodnocení bylo provedeno chí kvadrátem, kdy byl hodnocen počet vzorků bez nálezu u neředěného a ředěného semene. Bylo zjištěno, že došlo ke statisticky vysoce prů-

kaznému snížení počtu kontaminovaných vzorků.

Srovnání se současným stavem

při použití ředidla s penicilinem

ze 74 vzorků neředěných bylo 14 bez nálezu

ze 68 vzorků ředěných bylo 17 bez nálezu

na základě statistického vyhodnocení nelze prohlásit, že má vliv na bakteriologické nálezy

při použití ředidla antibiotikovaného penicilinem a streptomycinem ve sp. vet.

Penstrepten

ze 74 vzorků neředěných bylo 14 bez nálezu

ze 32 vzorků ředěných bylo 6 bez nálezu

na základě statistického vyhodnocení nelze prohlásit, že má toto antibiotikování vliv na bakteriologické nálezy.

Tabulka III uvádí vliv koncentrace glukózy v ředidle na počet vzorků se zbobtnalými akrosomy ve větším procentu než 10 % počtu spermií. Semeno bylo fixováno roztokem podle Hancocka, barveno podle Giemsa.

Tabulka III

při použití ředidla s 60 g glukózy	počet vzorků	nevyhovujících	
		neředěných	ředěných
při poměru ředění do 1:5	21	1	2
při poměru ředění nad 1:5	20	0	1
při použití ředidla s 51 g glukózy			
při poměru ředění do 1:5	38	16	28
při poměru ředění nad 1:5	24	15	12

Do ředění 1:5 je zajištěna morfologická neporušenost akrosomu při koncentraci glukózy 60 g, při vyšších ředěních než 1:5 při 60 g i 51 g.

Využití ředidla podle vynálezu je možné na inseminačních stanicích. Doba použitelnosti minimálně 72 hodin po odběru, s možností poměru ředění i více, než 1:10. Zajišťuje ve dvou variantách podle stupně ředění velmi dobrou přežitelnost a morfologickou neporušenost spermií. Účinné antibiotikování zajišťuje vysoké procento ejakulátů bez bakteriologického nálezu po 24 až 96 hodinách konzervace, velmi dobrou motilitu do 72 hodin i déle. Antibiotická směs je rovněž účinná proti zárodkům ze skupiny Mykoplasmat, které zpravidla nebývají z ejakulátu vykultivovány.

Zabráněním vertikálního přenosu infekčních zárodků k antibiotikům citlivých z plemene na plemeni lze dosáhnout lepších výsledků v reprodukci i v celkovém zdravotním stavu potomstva, což má další dopady na výkrmovou schopnost a konverzi živin, projevující se vyšší průměrných denních přírůstků a průměrné spotřeby krmiva na 1 kg přírůstku. Touto cestou lze preventivně ovlivňovat výskyt respiračních onemocnění, průjmových onemocnění naroze-

205 515
ných selat, hnisavých a nehnisavých endometritid sekundárně způsobených podmíněně patogen-
ními zárodky původem z genitálního traktu prasnice. Podmínkou je vždy citlivost výše uve-
dených zárodků k antibiotikům. Použití tohoto ředidla by bylo možné dosáhnout značných ú-
spor na cestovním, které je dnes z důvodu denního zásobování chovů inseminačními dávkami
vysoké. Při použití ředidla podle vynálezu by postačilo zásobování chovů pouze 2x nebo
3x týdně.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Ředidlo pro konzervaci semene kančů, obsahující na 1 000 ml redestilované vody
1,8 g natriumcitrátu dihydrátu, 1,6 g chelatonu III, 0,5 g hydrogenuhličitanu sodného,
50 až 60 g glukózy pro analýzi, 20 až 50 ml vaječného žloutku a antibiotickou směs, vyzna-
čující se tím, že antibiotická směs sestává z 200 až 300 mg ampicilinu a 300 mg streptom-
ycinu.