



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

205 510

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 09 78
(21) PV 2721-79

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

(40) Zveřejněno 29 08 78
(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 zabráňuje 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 podle 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

205 510

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 500 000 m. j. draselné soli penicilínu, 200 až 300 mg Spiramycinu 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 hodinách konzervace a déle. Možnost zvýšeného obsahu žloutku umožňuje v závislosti na jeho kvalitě prodloužení přežitelnosti spermií. Zásadní otázkou však je 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 plazmy, 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 i pohyblivost ředěného semene a kvalita tohoto pohybu. Tato varianta má své plné opodstatnění při použití do ředění 1:5.

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

Vyřešením účinného antibiotikování ředidla pro přípravu inseminačních dávek je dána možnost ovlivnit zásáhnout 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 v ředidlech používaná antibiotika nepotlačují. Nelze opomenout účinný zásah proti zárodkům, působícím hnisavé endometritidy, které jsou v dnešní době převážně k 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 březost a plodnost. Použití nespermicidního Streptomycinu má své místo v případech výskytu mikroflory k tomuto antibiotiku citlivé.

Složení ředidla:

Komponenty:	Varianta I	Varianta II
Agua 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:

Penicilin draselná sůl	500 000 m. j.
Spiramycin	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 a 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 spermií 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.

Tabulka I

Státní registr kance	Poměr ředění	motilita	
		po 48 h	po 72 h
RR 88	1:6	60	60
		50	40
Ter 10	1:6	70	60
		60	50
Bit 71	1:6	90	90
		60	50
Pt 4	1:10	70	60
		40	30
Kom 9	1:6	90	90
		40	20
Jac 7	1:10	70	60
		60	50
Kom 43	1:10	60	50
		65	55

203 510

Jac 19	1:10	50	40
		60	50
Te 1	1:10	70	70
		50	30
Celkem vyšetřeno		10	10
nevyhovuje ČSN vzorků pokusných		0	1
nevyhovuje ČSN vzorků kontrolních		2	5

Tabulka II uvádí vliv rozdílné koncentrace glukózy v ředidle podle vynálezu na počet vzorků se zbobtnalými akrosomy ve větším procentu než u 10 % spermií. Semeno bylo fixováno roztokem podle Hankocka a barveno metodou podle Giemsa. Nátěry byly zhotoveny ze semene neředěného a ředěného po 24 h konzervace při použití ředidla s obsahem 60 g a 51 g glukózy.

Tabulka II

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

Do ředění 1:5 je zajištěna morfologická neporušenost akrosomu při dávce glukózy 60 g, při vyšších ředěních nad 1:5 při 60 g a 51 g, při 51 g a ředění nad 1:5 nedochází k nárůstu dalšího poškození akrosomu.

Tabulka III uvádí výsledky bakteriologického vyšetření semene neředěného a semene ředěného. Pro srovnání uvádím výsledky bakteriologického vyšetření při použití antibiotikování podle současného stavu.

Tabulka III

Státní registr kance	semeno neředěné	semeno ředěné
Jac 8	Proteus	coliformní zár.
Jac 14	coliformní zár.	Pseudom. aer.
RR 90	coliformní zár.	colif.zár. Pseudom. aer.
Mlk 13	Proteus	colif. zár. mikrokoky
Ig 85	coliformní zár., Aeromonas	bez nálezu
Hr 13	coliformní zár.	colif. zár. enterokoky
Mlk 16	E.coli	bez nálezu
Cla 13	Proteus	bez nálezu
Bit 25	coliformní zár.	bez nálezu
Mlk 10	Pseudom. Proteus, colif. zár.	Pseudom. aer., colif. zár.
Jac 11	colif. zár., Aeromonas hydr.	bez nálezu

Mlk 15	Pseudomonas aer., Proteus	bez nálezu
Kom 43	Proteus	colif. zár.
Mlk 18	colif. zár.	bez nálezu
Pl 15	Flavobacter	bez nálezu
Jac 12	Proteus	bez nálezu
Jac 17	bez nálezu	bez nálezu
Kom 9	coliformní zár.	bez nálezu
Celkem vzorků	18	18
bez nálezu	1	10

Statistické vyhodnocení: $\chi^2_{(1)} = 10,60$

Srovnání se současným stavem:

Ředidlo s penicilinem - ze 60 vzorků ředěných 17 bez nálezu
ze 74 vzorků neředěných 14 bez nálezu

$\chi^2_{(1)} = 0,77$ nelze prohlásit, že má vliv na bakteriologické nálezy.

Ředidlo s penicilinem a streptomycinem

ze 74 vzorků neředěných bylo 14 bez nálezu
ze 32 vzorků ředěných bylo 6 bez nálezu

$\chi^2_{(1)} = 0,00$ nelze prohlásit, že má vliv na bakteriologické nálezy

Rozdílné výsledky jsou dány citlivostí zárodků k použitému antibiotiku, která není vždy stejná.

Využití ředidla podle vynálezu je možné na inseminačních stanicích. Doba použitelnosti je minimálně do 72 hodin po odběru, s možností poměru ředění i více než 1:10. Motilita ředěného semene byla zjištěna i po 8 dnech. Zajišťuje ve dvou variantách podle stupně ředění velmi dobrou přežitelnost a morfologickou neporušenost spermií. Účinné antibiotikování zajišťuje vysoké procento ejakulátů bez bakteriologického nálezu po 72 až 96 hodinách konzervace a velmi dobrou motilitu. Antibiotická kombinace je rovněž účinná proti zárodkům ze skupiny Mycoplasmat, které zpravidla nebývají v ejakulátech kultivačně prokazatelné.

Zabráněním vertikálního přenosu infekčních zárodků k antibiotikům citlivých z plemníka na plemnici lze dosáhnout lepších výsledků v reprodukci i v celkovém zdravotním stavu potomstva, což má další dopady na výkrmovou schopnost a konversi živin, projevující se vyšší průměrných denních přírůstků a průměrné spotřeby krmiva na 1 kg přírůstku. Touto cestou lze preventivně ovlivňovat výskyt respiračních onemocnění a sípavky, průjmových onemocnění narozených selat, hnisavých a nehnisavých endometritid, sekundárně působených podmíněně patogenními zárodky původem z genitálního traktu prasnice. Podmínkou je vždy citlivost výše uvedených zárodků k antibiotikům. Použitím tohoto ředidla by bylo možné dosáhnout značných úspor na cestovním, které je dnes z důvodů denního zásobování chovů inseminačními dávkami značně vysoké. Při použití ředidla podle vynálezu by postačilo zásobová-

205 510

ní chová pouze třikrát nebo dvakrát 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, vyznačující se tím, že antibiotická směs obsahuje 500 000 m. j. draselné soli penicilinu, 200 až 300 mg spiramycinu a 500 mg streptomycinu.

O P R A V A

popisu vynálezu k autorskému osvědčení č.205 510
Int.Cl.³ A 01 N 1/00

V popisu vynálezu u autorského osvědčení č.205 510 je chybné
datum zveřejnění.

Místo: 29 08 78

Správně: 29 08 80

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY
