



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

205 512

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 09 78
(21) PV 2725-79

(51) Int. Cl.³ 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 puřování 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

205 512

vynálezu, které obsahuje na 1 000 ml redestilované vody, 1,8 g natriumoitrátu 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 Linkomycinu, 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 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 opodstatnění při použití ředění do 1:5.

Varianta II je na úrovni osmotických poměrů ředidla podle Sadovnikové a Serdžuka, přičemž nejvhodnější je 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 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, zabráněním přenosu zárodků k antibiotikům citlivých prostřednictvím inseminační dávky. Speciálně je to použití antibiotik, která 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. Instalace těchto účinných nespermicidních antibiotik do dělohy prasnice v inseminační dávce vede k eliminaci veškeré pomíněné 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:	V I	V II
Agua redestillata	1000 ml	1000 ml
Glukóza pro analýzi	60 g	50 až 51 g
Natriumoitrát 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
Doporučené antibiotikování:		
Linkomycin	200 až 300 mg	
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
Jac 19	1:10	50	40
		60	50

205 512

Jac 9 1:10

60

60

Te 1 1:10

50

40

70

70

50

30

Celkem vzorků 11

Celkem vzorků 10 10

nevyhovuje ČSN

nevyhovuje ČSN

kontrolních 0

kontrolních 2 5

pokusných 1

pokusných 0 1

Tabulka II uvádí výsledky bakteriologického vyšetření semen neředěného a semene ředěného ředidlem podle vynálezu. 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.

Tabulka II

Státní registr kance	semeno neředěné	semeno ředěné
Mrk 20	coliformní zár.	bez nálezu
Jac 19	Proteus	bez nálezu
Mrk 17	Proteus	bez nálezu
Mrk 19	coliformní zár.	bez nálezu
Jac 7	colif.zár.enterokoky, aer.sporul.	colif. zár. Pseudomonas aerug.
RR 88	Proteus	bez nálezu
Bit 123	coliformní zár.	coliformní zár.enterokoky
RR 128	E.coli	bez nálezu
Ter 10	Proteus	coliformní zár., Flavobacter
Bit 24	coliformní zár.	bez nálezu
Ter 9	coliformní zár.	bez nálezu
Lík 17	coliformní zár.	coliformní zár.
Pl 198	Proteus	bez nálezu
Hr 13	coliformní zár.	coliformní zár.
Celkem vzorků	14	14
bez nálezu	0	9

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 průkaznému snížení počtu kontaminovaných vzorků.

Srovnání se současným stavem

při použití ředidla s penicilinem

ze 74 vzorků neředěných bylo 14 bez nálezu

ze 60 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. Penstrepren ze 74 vzorků neředěných bylo 14 bez nálezu
ze 32 vzorků ředěných bylo 6 bez nálezu
na základě statistického vyhodnocení nelze prohlásit, že má vliv na bakteriologické nálezy.

Tabulka III uvádí vliv koncentrace glukózy v ředidle podle vynálezu na počet vzorků se zbožtnalými akrosomy ve větším procentu než 10 % spermíí. Semeno bylo fixováno roztokem podle Hankocka, barveno podle Giemsky.

Tabulka III

při použití 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 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 dávce 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 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 spermíí. Účinné antibiotikování zajišťuje vysoké procento ejakulátů bez bakteriologického nálezu po 24 až 96 hodinách konzervace, velmi dobrou motilitu do 72 h i déle. Antibiotická směs je rovněž účinná proti zárodkům ze skupiny Mykoplasmat, které zpravidla nebývají v ejakulátech prokázány.

Zabráněním vertikálního přenosu infekčních zárodků k antibiotikům citlivých z plemene na plemenici 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 přírůstků. Lze touto cestou preventivně ovlivňovat výskyt respiračních onemocnění a sípavky, průjmových onemocnění narozených selat, hnisavých a nehnisavých endometritid, sekundárně způsobených 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 důvodu denního zásobování chovů inseminačními dávkami vysoké. Při použití ředidla podle vynálezu by postačilo zásobování chovů pouze 2x nebo 3x týdně.

205 512

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Ředidlo pro konzervaci semene kanců, obsahující na 1 000 ml redestilované vody 1,8 natriumcitrátu, 1,6 g chelatonu III, 0,5 g hydrogenuhličitanu sodného, 50 až 60 g glukósy pro analýzi, 20 až 50 ml vaječného žloutku a antibiotickou směs, vyznačující se tím, že antibiotická směs sestává z 200 až 300 mg Linkomycinu, 200 až 300 mg Spiramycinu, 500 mg Colistinu.