



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

205 513

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 09 78
(21) PV 2729-79

(51) Int. Cl.³ A 01 H 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 zabranuje 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 pufování 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

205 513

vynálezu, které obsahuje na 1 000 ml redestilované vody, 1,8 g natriumcitrátu dihydrátu, 1,6 g ohelatonu III, 0,5 g hydrogenuhličitanu sodného, 50 až 60 g glukózy pro analýzi, 20 až 50 ml vaječného žloutku a antibiotickou směs, která je tvořena 500 000 m. j. drasel-
né soli penicilinu, 100 až 200 mg Tylosinu a 500 mg Streptomycinu. Respektuje fyziologic-
ké 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 dále. Možnost zvýšeného obsahu žloutku umožňuje v závislosti na je-
ho kvalitě prodloužení přežitelnosti spermií. Zásadní otázkou je však způsob antibiotiko-
vání, který se významnou měrou podílí na zajištění zdravotní nezávadnosti inseminační dáv-
ky. Tím je dána nejen úroveň výsledků reprodukce, ale i úroveň zdravotního stavu vyprodu-
kovaného potomstva.

U varianty I zvýšením esmotického tlaku ředidla dojde k tomu, že se vyrovnají osmo-
tické poměry v ředěném semeni k hranici blízké fyziologickému optimu. Tím se zamezí mož-
nosti bobtnání až svlékání akrosomů, a tím i unikání akrosomálních enzymů do semenné plas-
my, což je spojeno se snížením fertility takto ředěného semene. Snižuje se i možnost pou-
žití 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 podle Sadovnikové a podle Serdžu-
ka, 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 apará-
tu jak ze strany kance, tak i prasnice, zábrana přenosu zárodků k antibiotikům citlivých
prostřednictvím inseminační dávky. Speciálně je to použití antibiotik, které likvidují zá-
rodky 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 ne-
spermicidních 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
Aqua redestillata	1000 ml	1000 ml
Glukóza pro analýzi	60 g	50 až 51 g
Natriumcitrát dihydrát	1,8 g	1,8 g

Hydrogenuhlíčitán 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.
Tylosin	100 až 200 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, bicarbonát 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. Byla použita koncentrace tylosinu 200 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	60
		50	40
Ter 10	1:6	70	70
		60	50
Bit 71	1:6	90	90
		60	50
Pt 4	1:10	60	60
		40	30
Kom 9	1:6	70	60
		40	20
Jac 7	1:10	60	50
		60	50

205 513			
Kom 43	1:10	60	60
		65	55
Jac 19	1:10	50	50
		60	50
Jac 9	1:10	50	50
		50	40
Te 1	1:10	50	40
		50	30
Mlk 17	1:16	70	
		65	
Celkem vzorků		10	10
nevyhovuje ČSN			
kontrolních		2	5
pokusných		0	1

Tabulka II uvádí výsledky bakteriologického vyšetření semene neředěného a semene ředěného podle vynálezu. Pro srovnání jsou uvedeny výsledky bakteriologického vyšetření při použití antibiotikování podle současného stavu. Ejakuláty byly po naředění uchovávány po dobu 24 až 96 hodin do bakteriologického vyšetření. Byla použita koncentrace Tylosinu 100 mg na 1 litr ředidla, poměr ředění 1:1 až 1:2.

Tabulka II

Státní registr kance	semeno neředěné	semeno ředěné
Ter 9	směs přerostlá Proteem	bez nálezu
Jac 12	směs přerostlá Proteem	bez nálezu
Ter 10	coliformní zárodky	bez nálezu
Jac 11	směs přerostlá Proteem	bez nálezu
Lík 17	coliformní zárodky	bez nálezu
Te 1	coliformní zárodky, Proteus	bez nálezu
Pt 4	Proteus rettgeri	bez nálezu
Jac 19	coliformní zár., mikrokoxy	bez nálezu
Mlk 20	směs přerostlá Proteem	bez nálezu
Hr 13	coliformní zárodky	bez nálezu
Rr 128	coliformní zárodky	bez nálezu
Rr 88	Pseudomonas aeruginosa	bez nálezu
Jac 17	Proteus rettgeri	bez nálezu
Bit 25	Enterobacter aerogenes	bez nálezu
Kom 39	Proteus, coliformní zár.	bez nálezu
Jac 9	Proteus, coliformní zár.	bez nálezu
Mlk 18	coliformní zárodky	bez nálezu
Rr 90	směs přerostlá Proteem	bez nálezu
Mlk 10	coliformní zárodky	bez nálezu
Kom 9	E.coli, Pseudomonas aerug. Proteus	bez nálezu
Celkem vzorků	20	20
bez nálezu	0	20

Statistické vyhodnocení bylo provedeno chí kvadrátem, přičemž 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.

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 zbožtnalými akrosomy ve větším procentu než 10 % počtu spermií. Semeno bylo fixováno roztokem podle Hankocka, 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 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 spermií. 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 Mycoplasmat, které zpravidla nebývají z ejakulátů 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

205 513

výši průměrných denních přírůstků a průměrné spotřeby krmiva na 1 kg přírůstků. Lze touto cestou preventivně ovlivňovat výskyt respiračních onemocnění a sčpavky, 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. Použití tohoto ředidla by bylo možné dosáhnout značných úspor na cestovním, které je dnes z důvodu denního zásobování chovů inseminacími 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 1000 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 sestává z 500 000 m. j. draselné soli Penicilinu, 100 až 200 mg Tylosinu a 500 mg Streptomycinu.