



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

205 508

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 09 78
(21) PV 2717-79

(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 kanou

1

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

V současné době se při zpracování semene plemenných kanou 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 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 kanou podle

205 508

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 Linkomycinu, 200 až 300 mg Erythromycinu 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 plasmy, což je spojeno se snížením fertility takto ředěného semene. Snižuje se i možnost použití po 24 h 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 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 ředěních nad 1:10 může dojít ke snížení počtu selat ve vrhu.

Vyřešením účinného 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 v dnešní době převážně k používaným antibiotikům necitlivé. Instalace 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:		
Linkomycin	200 až 300 mg	
Erythromycin	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 podle vynálezu by bylo možné vyrábět i centrálně tak, že jako 1. komponenta by byl citrát, bikarbonát a chelaton, 2. komponentou 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.

Státní registr kance	poměr ředění	motilita	
		po 48 h	po 72 h
RR 88	1:6	60 50	60 40
Ter 10	1:6	60 60	50 50
Bit 71	1:6	80 60	80 50
Pt 4	1:10	80 40	80 30
Kom 9	1:6	80 40	80 20
Jac 7	1:10	90 60	90 50
Kom 43	1:10	60 65	50 55
Jac 19	1:10	50 60	30 50
Jac 9	1:10	50 50	40 40
Te 1	1:10	70 50	50 30

205 508

Celkem vzorků	10	10
nevyhovuje ČSN pokusných	0	2
nevyhovuje ČSN kontrolních	2	5

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

Tabulka II

při použití 60 g glukózy	počet vzorků	nevyhovujících	
		neředěných	ředěných
poměr ředění do 1:5	21	1	2
nad 1:5	20	0	1
při použití 51 g glukózy			
poměr 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 i 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 se uvádějí výsledky bakteriologického vyšetření při použití antibiotikování podle současného stavu.

Tabulka III

Státní reg. kance	semeno neředěné	semeno ředěné
Nik 59	bez nálezu	bez nálezu
Ntl 44	E.coli	bez nálezu
Ntl 45	E.coli	bez nálezu
Vso 90	E.coli, mikrokoky	bez nálezu
Mg 51	E. coli, mikrokoky	bez nálezu
Mg 67	E.coli	bez nálezu
Jor 65	E.coli, Proteus	bez nálezu
Hap 5	E.coli, Proteus	bez nálezu
Ori 17	coliformní zár.	bez nálezu
Sh 29	coliformní zár. Proteus	bez nálezu
Ost 11	coliformní zár.	bez nálezu
Mks 14	coliformní zár. Proteus	bez nálezu
Zak 112	coliformní zár. Proteus	bez nálezu
Mg 69	coliformní zár. Proteus	bez nálezu
Vso 87	coliformní zár. Proteus	bez nálezu

Al 5	coliformní zár. Proteus	bez nálezu
Me 1	colif. zár. Flavobacter	bez nálezu
Ost 7	Pseudomonas aerug. colif. z. Flavobact., mikrokoky	bez nálezu
Bil 2	E.coli	bez nálezu
OA 25	coliformní zár. Proteus	bez nálezu
Kom 43	Proteus, E.coli	bez nálezu
Pl 198	Proteus, E.coli	bez nálezu
Celkem	22 vzorků	22 vzorků
bez nálezu	1 vzorek	22 vzorků

Statistické vyhodnocení: $\chi^2_{(1)} = 40,17$ - vysoce statisticky průkazné snížení počtu kontaminovaných vzorků po ředění navrženým ředidlem

Srovnání se současným stavem:

Ředidlo s penicilinem - ze 68 vzorků ředěných 17 bez nálezu

ze 74 vzorků neředěných bylo 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 zřejmě 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 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 a sýpavky, 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 inseminací.

205 508

načnými dávkami značně vysoké. Při použití ředidla podle vynálezu by postačilo zásobování chovů pouze 3krát nebo 2krát týdně.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Ředidlo pro konzervaci semene kanců, 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 200 až 300 mg linkomycinu, 200 až 300 mg erytromycinu a 500 mg streptomycinu.