



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

205 506

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 15 09 78
(21) PV 5977-78

(51) Int. Cl.³A 01 H 1/00

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

(75)
Autor vynálezu

HOVORKA JAROSLAV MVDr., SEDEČANY

(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 - dle Pliška, b) se žloutkem - dle Sadovnikové a dle Serdžuka. Ředidlo dle 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 dle Sadovnikové a dle Serdžuka, která umožňují podstatné prodloužení přežitelnosti spermií. Tato ředidla se liší ve způsobu puřování 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

205 508

VÝNÁLEŠK, které obsahuje na 1 000 ml redestikované 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, která je tvořena 500 000 m. j. draselné soli penicilinu, 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 h 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 dle 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, 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. 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
Glukosa pro analýzi	60 g	50 až 51 g
Natriumcitrát dihydrát	1,8 g	1,8 g
Hydrogenuhličitan 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

Při použití při poměru ředění do 1:5 nad 1:5

antibiotikování:

Penicilin draselná sůl	500 000 m. j.
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 nutno provést zkoušku na spermičnost. 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 glukosa 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 zpracováván 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.

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	60	50
		60	50
Bit 71	1:6	80	80
		60	50
Př 4	1:10	80	80
		40	30
Kom 9	1:6	80	80
		40	20
Jac 7	1:10	90	90
		60	50
Kom 43	1:10	60	50
		65	55
Jac 19	1:10	50	30
		60	50

205 508

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

Tabulka II uvádí vliv koncentrace glukózy v ředidle podle vynálezu na počet vzorků se sbobtnalými akrosomy ve větším než 10 % počtu spermií. Semeno bylo fixováno roztokem dle Hankocka a barveno metodou dle Giemsa.

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 při použití ředidla podle vynálezu zajištěna morfologická neporušenost akrosomu při dávce 60 g glukózy, při vyšších ředěních nad 1:5 při 60 g i 51 g.

Tabulka III uvádí výsledky bakteriologického vyšetření semene neředěného a semene ředěného po 24 až 96 hodinách konzervace. Pro srovnání jsou uvedeny výsledky bakteriologického vyšetření při použití způsobu antibiotikování podle současného stavu.

Tabulka III

Státní registr kance	Semeno neředěné	Semeno ředěné
AA 61	Proteus	bez nálezu
OA 27	Proteus	bez nálezu
Ost 8	Proteus	bez nálezu
Jak 20	Proteus, Pseudom.aerug.	bez nálezu
Mil 50	E.coli, enterokoky	bez nálezu
Ler 97	Proteus	bez nálezu
Ntl 19	Proteus	bez nálezu
Bit 123	Proteus	bez nálezu
Vso 90	E.coli,	bez nálezu
Bit 122	E. coli, Proteus	bez nálezu
Ler 93	mikrokoky, Acinetobacter	bez nálezu
Al 8	Proteus	bez nálezu
Jac 19	coliformní zárodky	bez nálezu

Mil 51	Pseudom.aerug., coliformní zárodky, Flavobacter	bez nálezu
Ntl 20	bez nálezu	bez nálezu
Hap 4	bez nálezu	bez nálezu
Sh 30	Proteus	bez nálezu
Celkem vzorků	17	17
bez nálezu vzorků	2	17

Statistickým vyhodnocením bylo zjištěno, že došlo k statisticky vysoce průkaznému snížení kontaminovaných vzorků v ředěném semeni.

Srovnání se současným stavem:

při antibiotikování penicilinem ze 74 vzorků neředěných bylo 14 bez nálezu
ze 68 vzorků ředěných bylo 17 bez nálezu

nelze prohlásit, že má vliv na bakteriologický nález

při antibiotikování penicilinem a streptomycinem ve specialitě

Penstrepten ze 74 vzorků neředěných bylo 14 bez nálezu

ze 32 vzorků ředěných bylo 6 bez nálezu

po statistickém vyhodnocení nelze prohlásit, že má vliv na bakteriologické nálezy.

Využití ředidla podle vynálezu je možné na inseminačních stanicích. Doba použitelnosti je minimálně do 72 h po odběru, s možností poměru ředění i více než 1:10. Motilita ředěného semene byla zjišťována i po 8 dnech. Zajišťuje ve dvou variantách podle stupně ředění velmi dobrou přežitelnost a morfológickou neporušenost spermií. Účinné antibiotikování zajišťuje vysoké procento ejakulátů bez bakteriologického nálezu po 72 až 96 hodinách a 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 plemeno 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. Lze touto cestou 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. Tímto způsobem by bylo možné dosáhnout značných úspor na cestovním, které je dnes z důvodů denního zásobování chovů inseminačními dárkami velmi vysoké. Při použití ředidla podle vynálezu by postačilo zásobování chovů pouze 3krát nebo 2krát týdně.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Ředidlo pro konzervaci semene kanců, 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 obsahuje 500 000 m.j. draselné soli penicilinu, 200 až 300 mg erytromycinu a 500 mg streptomycinu.