

Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь

Главное управление образования, науки и кадровой политики

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины

Г. Ф. Медведев, Н. И. Гавриченко, И. А. Долин, О. Н. Кухтина

АКУШЕРСТВО И РЕПРОДУКЦИЯ СЕЛЬСКОХО- ЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ. ИСКУССТВЕННОЕ ОСЕМЕНЕНИЕ

Рекомендовано учебно-методическим объединением
по образованию в области сельского хозяйства
в качестве учебно-методического пособия
для студентов учреждений высшего образования,
обучающихся по специальности 1-74 03 04 «Зоотехния»

Витебск
ВГАВМ
2022

УДК 619:618(07)

ББК 48.761

А44

Рекомендовано учебно-методическим объединением по образованию в области сельского хозяйства в качестве учебно-методического пособия для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальности 1-74 03 04 «Зоотехния» от _____ 2022 г. (протокол № __)

Авторы:

доктор ветеринарных наук, профессор *Г. Ф. Медведев*; доктор сельскохозяйственных наук, доцент *Н. И. Гавриченко*; кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *И. А. Долин*; старший преподаватель *О. Н. Кухтина*.

Рецензенты:

кандидат ветеринарных наук, доцент *Белявский В.Н.*; кандидат сельскохозяйственных наук, доцент *А. И. Будевич*.

Акушерство и репродукция сельскохозяйственных животных.

А44 Репродуктивная функция. Искусственное осеменение. 2-е изд., перераб. и дополн. : учебно- методическое пособие / Г. Ф. Медведев [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2022. – 260 с.

Описаны строение и функция репродуктивных органов сельскохозяйственных животных и птиц, механизм естественного контроля репродуктивной функции и физиология осеменения. Подробно изложены современные технологии искусственного осеменения, включающие: методы получения спермы от производителей, оценку ее качества, состав сред для разбавления, расфасовку и хранение спермы, производство и использование сексированной спермы; организацию выявления животных в охоте, способы и технику искусственного осеменения самок сельскохозяйственных животных и птиц, а также систему учета при использовании искусственного осеменения в животноводстве. По всем темам занятий приведены цель, материалы и оборудование, порядок подготовки и использования инструментов, посуды и материалов для искусственного осеменения и порядок освоения методов.

Для студентов учреждений высшего образования, обучающихся по специальностям 1-74 03 01 «Зоотехния», 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по зооветеринарным специальностям.

УДК 619:618(07)

ББК 48.761

© УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2022

Предисловие ко второму изданию

В последние годы в нашей стране развитию животноводства и повышению его экономической эффективности уделяется огромное внимание. Разрабатываются и внедряются в практическую деятельность молочного и мясного скотоводства и свиноводства новые технологии содержания, кормления и воспроизводства животных. Это требует от специалистов непрерывного повышения квалификации в своей конкретной деятельности. На смену уходящим с производства животноводам с большим опытом и знаниями приходят молодые специалисты.

Естественно для них необходимы современные новейшие источники информации для постоянного совершенствования и развития своих знаний и возможностей. И хотя во всем мире информационные ресурсы электронных систем по различным вопросам неограниченны, но не всегда бывают доступны из-за языковых барьеров или во многих случаях требуют серьезных пояснений. Поэтому печатные издания с проверенной и абсолютно достоверной информацией были, являются и будут всегда незаменимыми.

Первое издание настоящего учебно-методического пособия, выпущенное относительно большим тиражом, разошлось в течение года. Особенно востребовано людьми, проходящими подготовку в различных учебных заведениях и осваивающими профессию специалистов по искусственному осеменению крупного рогатого скота и свиней, а также студентами по специальности зоотехния и ветеринарная медицина.

Во второе издание внесено дополнение в вопросы использования разделенной по полу спермы, физиологические основы осеменения животных, переработан 10 раздел «Учет и отчетность на племпредприятиях и пунктах искусственного осеменения сельскохозяйственных животных», заменены или улучшено качество ряда цветных рисунков.

ВВЕДЕНИЕ

Большое достижение в репродукции животных, в особенности крупного рогатого скота и свиней, связано непосредственно с разработкой и использованием метода искусственного осеменения. Этот метод позволяет получать и сохранять сперму вне организма, а затем использовать для осеменения в подходящее время. При этом коровам, овцам и козам, а также кобылам вводить сперму не обязательно в тот участок половых путей, в который она попадает при естественном осеменении, а в шейку матки или матку (у коров), тем самым уменьшать количество вводимых сперматозоидов и максимально использовать генетический потенциал выдающихся самцов. Это позволяет многократно уменьшить количество самцов-производителей. Так, для получения быков-производителей в молочном скотоводстве используется менее 1% матерей, и только 1–3% полученных от них быков оставляется для воспроизводства [1]. В мясном скотоводстве эти достижения менее значимы, однако и здесь селекционный процесс осуществляется значительно быстрее, чем при естественном осеменении. Быстрее улучшается племенная ценность и продуктивные качества животных. При искусственном осеменении регистрация всех фаз репродуктивного периода является абсолютно точной, а оплодотворяемость самок остается такой же, как и при естественном осеменении.

Развитие метода искусственного осеменения происходило в течение 20-го столетия и продолжается поныне. И если в первые годы большое значение имело предупреждение бактериальных инфекций (у крупного рогатого скота – трихомоноза, кампилобактериоза, бруцеллеза и др.), то в настоящее время много внимания уделяется длительному хранению спермы, сохранению ее потенциальной оплодотворяющей способности и повышению результативности осеменения. Особое внимание обращено на генетическое исследование будущих быков-производителей, своевременное выявление у них генов, ответственных за патологические признаки у потомства, а также создание новых линий и пород скота.

Особое значение имеет использование спермы из различных стран. Это во многом заменяет непосредственное передвижение животных, позволяет быстрее решать проблемы акклиматизации и приобретения устойчивости к доминирующим в регионах инфекциям.

При искусственном осеменении снижается риск инбридинга, следовательно, достигается уменьшение числа случаев трудных родов, снижения репродуктивной способности и преждевременного выбытия животных, что особо оказалось актуальным при уменьшении численности пород в связи с доминированием голштинского скота.

Однако при искусственном осеменении требуется осуществление жесткого контроля состояния здоровья производителей, чтобы предупредить перенос классических бактериальных и вирусных инфекций со спермой при осеменении. Возникают проблемы и с выявлением половой охоты и выбором оптимального времени осеменения. Но эти и другие возникающие проблемы решаются на более высоком уровне созданием электронных систем контроля поведения и физиологического состояния животных.

1. РЕПРОДУКТИВНАЯ СИСТЕМА ЖИВОТНЫХ

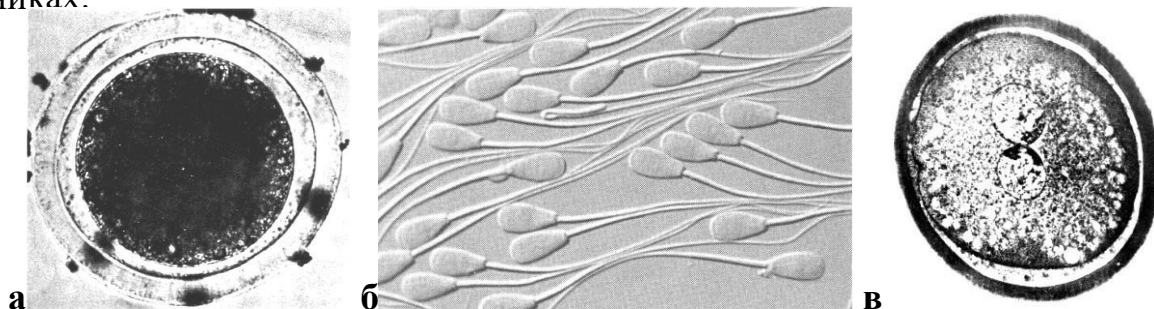
1.1. Развитие репродуктивных органов

Репродукция (воспроизведение) животных – важнейший технологический элемент отраслей животноводства. Снижение репродуктивной способности ограничивает рост продуктивности животных и рентабельности отрасли. Для реализации животными свойственного им уровня плодовитости необходимы: полноценное кормление, оптимальные условия содержания и ухода, постоянный мониторинг репродуктивной функции и применение современных методов ее регулирования. Наладить грамотное управление воспроизводства животных и достигнуть желаемых результатов по силам лишь квалифицированным специалистам.

Определение и дифференцировка пола. Для размножения животных характерно: наличие дифференцированных половых клеток (*гамет*) и последующее их соединение в *зиготу* в процессе оплодотворения. Дифференциация гамет определяется существованием двух полов. У каждого пола свои половые железы (*гонады*), которые вырабатывают половые клетки и гормоны.

Женские гаметы ооциты (*яйцеклетки*) крупные, богаты питательным материалом, неподвижные.

Мужские гаметы – спермии (*сперматозоиды*) имеют меньшую величину, обладают подвижностью, способны достигнуть яйцеклетки, проникнуть внутрь и оплодотворить ее. В результате оплодотворения образуется зигота. Хромосомный набор ее диплоидный, в отличие от гаплоидного набора у обеих половых клеток. Гаплоидным хромосомный набор у гамет становится в результате *мейоза*, который происходит в семенниках и яичниках.



а – яйцеклетка коровы; б – спермии быка [2]; в – процесс оплодотворения (слияние пронуклеусов [3])

Рисунок 1.1 – Половые клетки

Таким образом, два важнейших процесса: оплодотворение (*сингамия*) и мейоз взаимно дополняют друг друга и делают возможным наследование родительских признаков. После оплодотворения из зиготы развивается новый организм мужского или женского пола. В формировании полов можно выделить два этапа – определение и дифференцировку пола.

Определение пола – механизм, по которому распределяются половые хромосомы согласно первому закону Менделя.

У животных решающим фактором в определении пола является спермий. Если яйцеклетка будет оплодотворена спермием с Х-половой хромосомой, то зигота получит две таких хромосомы (ХХ) и из нее станет развиваться самка. При участии в оплодотворении спермия с Y-половой хромосомой зигота получит Х и Y хромосомы, и будет развиваться самец. Определение пола заканчивается при оплодотворении.

У птиц пол определяется яйцеклеткой.

Дифференцировка пола – цепь процессов развития, в результате которых генетически обусловленный пол находит свое выражение в виде характерных структур, функций, систем поведения. Дифференцировка тянется на протяжении внутриутробного периода и в первое время после рождения.

Половые органы развиваются из *полового зачатка*, одинакового у эмбрионов обоих полов. В состав зачатка входят: две недифференцированные (нейтральные) гонады, которые находятся в верхней части брюшной полости, две первичные почки с *Вольфовыми* протоками, они расположены рядом с гонадами, и два *Мюллеровых* протока.

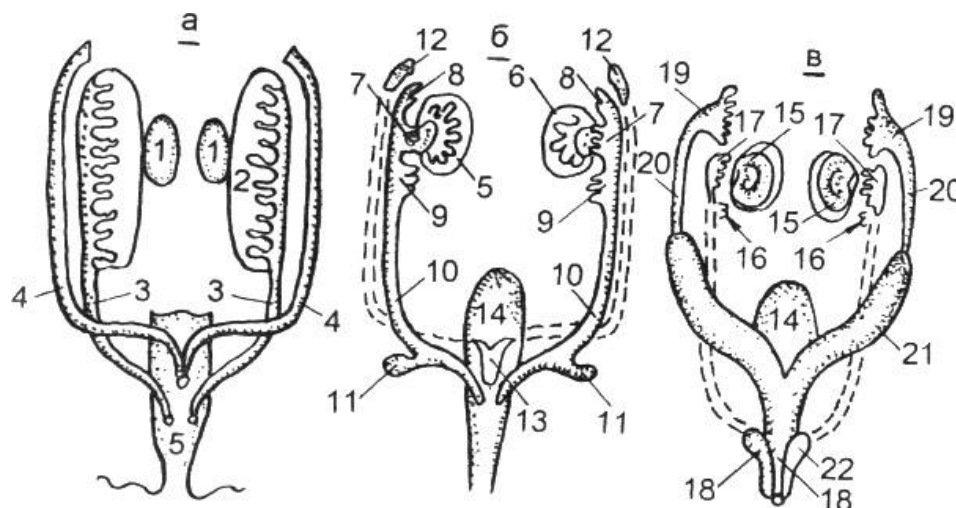
В нейтральные гонады внедряются первичные половые клетки. Они вступают в контакт с опорными (фолликулярными) клетками. В яичнике фолликулярные клетки окружают каждую половую клетку или несколько клеток (оогониев) и формируют эпителиальный пузырек (*фолликул*). В семеннике они вместе с сперматогониями образуют стенку семенных канальцев.

Эндокринная функция зачатков половых желез начинается до морфологической дифференцировки. У коров прогестерон синтезируется 13–14-дневными бластоцистами, затем недифференцированными железами обоих полов. С 1,5-месячного возраста у эмбрионов половые железы дифференцируются морфологически и функционально и вырабатывают тестостерон или 17β-эстрадиол. У эмбрионов свиней дифференцировка половых желез начинается с 27-дневного возраста и завершается к 30-му дню.

Дифференцировка половых органов самцов. У эмбриона с ХY-половыми хромосомами внутренняя (*медулярная*) часть гонады расширяется и дифференцируется, корковая часть почти исчезает, и нейтральная гонада превращается в семенник. Остатки корковой части сморщиваются и преобразуются в систему связок. Задняя (*направляющая*) связка соединяет гонаду с брюшной стенкой.

Начальный участок связки превращается в *специальную связку*, а конечный участок – в *паховую связку*. Паховая связка семенника укорачивается и оттягивает семенник вместе с серозной оболочкой вниз в брюшную полость и через отверстие в брюшной стенке (*паховый канал*) – в мошонку.

Остатки первичных почек дают начало придаткам семенников, а Вольфовы протоки преобразуются в семяпроводы; из них также образуется семенной пузырек. Мюллеровы каналы дегенерируют.



1 – нейтральные гонады; 2 – первичная почка; 3 – Вольфов проток;
 4 – Мюллеров проток; 5 – *Sinus urogenitalis*; 6 – семенник;
 7 – придаток семенника; 8 – *Appendix epididymis*; 9 – *Paradidymis*;
 10 – семяпроводы; 11 – семенные пузырьки; 12 – *Appendix testis*;
 13 – *Utero-vagina masculina*; 14 – мочевого пузырь; 15 – яичник;
 16 – *Paroophoron*; 17 – *Epoophoron*; 18 – Гартнеров канал;
 19 – *Infundibulum*; 20 – яйцепровод; 21 – матка; 22 – влагалище [4]
Рисунок 1.2 – Схематическое изображение полового зачатка (а) и дифференциации половых органов у самцов (б) и самок (в)

Соединение семенника и придатка семенника происходит за счет прораствания клеточных тяжей. Тяжи становятся полыми и растут навстречу друг другу. Они соединяются в единую систему, состоящую из извитых и прямых канальцев, сети семенника и семявыносящих канальцев. Если в тяжах образование каналов не происходит, то это может послужить причиной застоя спермиев. Причиной развития патологии может явиться и нарушение кровоснабжения, что приводит к повреждению эпителия семявыносящих канальцев, парализует движения спермиев и вызывает образование очагов застоя спермиев. В итоге вся система канальцев становится непроходимой.

Дифференцировка половых органов самок. У эмбриона с половыми хромосомами XX корковая часть гонады развивается очень сильно, а медулярная часть становится малозаметной, и нейтральная гонада превращается в яичник. Мюллеровы каналы преобразуются в трубчатые половые органы: яйцеводы, рога, тело и шейку матки, и влагалище. Вольфовы каналы дегенерируют. Их остатки находят у половозрелого животного между яичником и яйцеводом. Очень часто, особенно у крупного рогатого скота, в стенке влагалища встречаются рудименты дистальных отделов Вольфовых протоков – Гартнеровы ходы. Наружные отверстия их находятся в преддверии влагалища с боков от отверстия мочеиспускательного канала.

Параллельно с внутренними органами развиваются из специального зачатка наружные половые органы. Зачаток возникает из элементов мезобласта и состоит из полового бугорка (возвышение возле клоачного отвер-

ствия) и полового валика (выпуклость мезодермы вокруг полового бугорка). Внутри полового валика расположены две половые складки, между которыми открывается отверстие мочеполового синуса (мочеиспускательного канала). Мюллеровы и Вольфовы каналы у зародышей сначала открываются в клоачный отрезок прямой кишки. В последующем в результате продвижения мезенхимы в пространство между прямой кишкой и мочеполовым синусом клоака разделяется на прямую кишку и мочеполовой синус. Половой бугорок у самцов превращается в половой член, у самок – в клитор, а из половых валиков образуется соответственно кожа мошонки или вульвы.

Дифференцировка половых органов у самок разных видов происходит по-разному. У птиц правый Мюллеровый канал и нейтральная гонада атрофируются. Левый канал преобразуется в примитивную матку и влагалище, которое открывается в прямую кишку. Вместе с ней влагалище образует клоаку. У млекопитающих в дифференцировке участвует весь половой зачаток.

У грызунов Мюллеровы каналы образуют два яйцевода, две матки с двумя шейками, а задние участки каналов сливаются с общим влагалищем. Матка грызунов относится к разновидности двойных – *uterus duplex*.

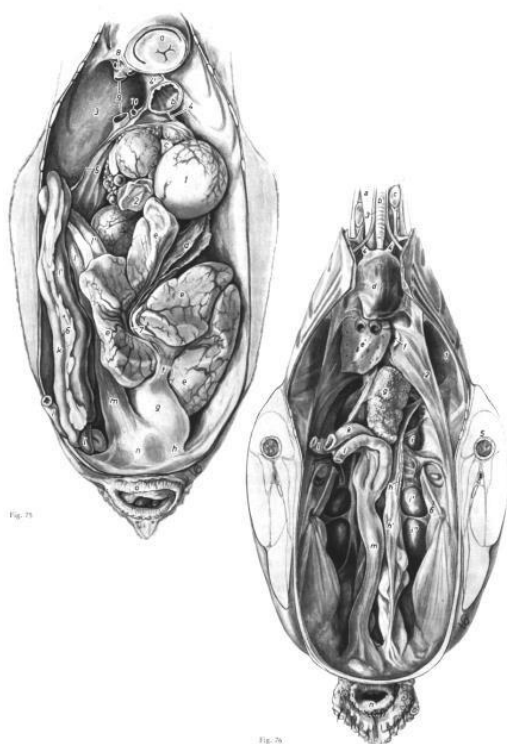
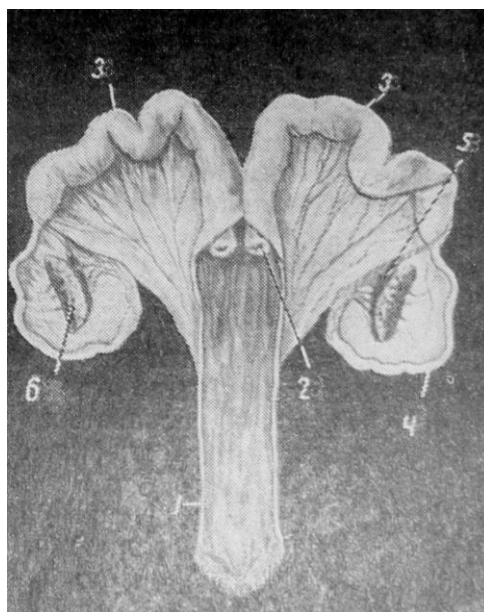


Рисунок 1.3 – Внутренние органы курицы в периоды яйцекладки и покоя [6]



1 – влагалище; 2 – влагалищная часть шейки матки;
3 – двойная матка; 4 – яйцевод;
5 – воронка яйцевода; 6 – яичник
Рисунок 1.4 – Репродуктивные органы грызунов

У крупного и мелкого рогатого скота, буйволиц и всеядных Мюллеровы каналы сливаются на большем протяжении, образуя влагалище, шейку матки, небольшой величины тело матки и два рога. Основания рогов

матки сращены между собой на более или менее значительном расстоянии. Такая матка называется двураздельной – *uterus biparticus*. У кобылы и ослицы основания рогов матки сливаются в единую полость (тело матки) и только их передние участки раздваиваются, образуя рога матки. Такую матку рассматривают как типично двурогу – *uterus bicornis*.

У приматов сращение мюллеровых каналов еще более полное. Матка представляет собой единый мускульный мешок, имеющий самостоятельные ответвления Мюллеровых каналов в виде маточных труб – яйцеводов. Это простая матка – *uterus simplex*.

В отдельных случаях не происходит необходимое сращение Мюллеровых каналов, и тип матки оказывается нехарактерным для данного вида. Так, вместо простой матки у женщины образуется двурога матка, а у животных с двурогой маткой развивается двойная матка с двумя шейками. У крупного рогатого скота частота удвоения шейки матки достигала 3,7% (Ван Лоэн, 1961). У этого вида животных выделяются следующие аномалии:

- двойная матка (*uterus didelphys*) – два яйцевода, два маточных рога, два тела и две шейки матки;
- двойная шейка матки (*complete double cervix*) – два яйцевода, два маточных рога, одно тело матки и две шейки;
- неполная двойная шейка матки (*incomplete double cervix*) – два яйцевода, два маточных рога, одно тело матки, один цервикальный канал в передней части и два канала в задней части шейки; иногда один канал слепо заканчивается, но чаще спустя одну треть длины шейки сливается в общий канал;
- двойное наружное отверстие (*double os uteri externum*) – два яйцевода, два маточных рога, одно тело и одна шейка матки с вертикально расположенной полоской ткани у наружного отверстия; иногда передняя часть влагалища полностью закрыта стенкой толщиной 3–4 мм, в ней находятся на расстоянии 4–6 см друг от друга два отверстия; за стенкой сплошное пространство и шейка матки начинается без характерного для нее выступа.

Аномалии обусловлены генетическими факторами и не снижают существенным образом плодовитости таких особей.

У кобыл также наблюдаются случаи полного разделения матки и две шейки матки. Плодовитость таких животных не нарушена.

Недоразвитие Мюллеровых каналов встречается еще реже, чем их раздельное существование, но оно приводит к серьезным аномалиям половых органов. Случаи полного недоразвития протоков (аплазии) редки. У телок при клиническом исследовании вместо матки находят два тяжа толщиной с вязальную спицу. При частичной (сегментальной) аплазии отсутствует какой-либо участок половых путей. Чаще это проявляется отсутствием одного из рогов матки. Обнаруживается у свиней и крупного рогатого скота, более часто у телок шортгорнской породы (болезнь белых телок). Выявляются телки (редко коровы) с однорогой маткой и среди животных черно-пестрой породы. У таких особей только один рог матки имеет полость, а второй очень узкий, в виде ленты с отложением жировой тка-

ни. Другие органы нормальные, и животные могут оплодотвориться в случае овуляции в яичнике на стороне нормального рога матки. Иногда рог матки с полостью очень короткий или же отсутствует какой-либо участок рога. При недоразвитии обоих рогов матки особи бесплодны.

1.2. Морфология и топография репродуктивных органов самок

Цель занятий: изучение студентами морфологических и функциональных особенностей и топографии половых органов самок сельскохозяйственных животных и приобретение практических навыков исследования их с использованием современных методов.

Объекты исследования, материалы и оборудование. Животные: корова, кобыла, коза (овца), свинья. Случная шлея (повал), носовые щипцы, веревки для фиксации животных. Ультразвуковой диагностический сканер FF sonic UF-750XT и EasyScan; влагалищные зеркала и осветители к ним. Половые органы убитых самок; муляжи, рисунки, диаграммы, слайды, гистопрепараты. Перчатки резиновые и одноразовые полиэтиленовые; анатомические и хирургические пинцеты, анатомические ножи; скальпели брюшистые, остроконечные и глазные; ножницы прямые и Купера, и хирургические зонды. Микроскопы МБР и МБС-9(10), BestScope, МБИ-11 с телевизионной камерой, предметные и покровные, часовые стекла. Чашки Петри (маркированные), стеклянные палочки и трубочки диаметром 2–3 мм. Красители (Романовского-Гимза), физиологический раствор, среда Дюльбекко, спирт этиловый 96%-ный; шприцы и иглы, пипетки глазные, весы, измерительные линейки и ленты, штангенциркули, лупы, кюветы, тазы.

Методические указания. Сначала студенты изучают на муляжах, рисунках и слайдах, диаграммах и гистопрепаратах структуру, топографию, внешние свойства и гистологическое строение половых органов самок. Затем под контролем преподавателя осматривают подготовленные на отдельных столиках половые органы убитых самок и препарируют их в такой последовательности:

- наружные половые органы;
- влагалище;
- матка (шейка, тело, рога), слои стенки матки;
- яйцеводы (истмическая и ампулярная часть, воронка);
- яичники (форма, величина, наличие желтых тел и фолликулов), оболочки и слои яичника; из полостных крупных фолликулов извлекают фолликулярную жидкость и исследуют под микроскопом для обнаружения ооцита; при обнаружении в яичниках овуляции промывают яйцевод и матку физиологическим раствором (средой Дюльбекко) и промывную жидкость также исследуют под микроскопом. При отсутствии крупных полостных фолликулов путем разрезов стенки яичника извлекают ооциты.

После изучения свежих препаратов половых органов (убитых животных) приступают к исследованию небеременных самок. Сначала следует

осмотреть наружные половые органы, а затем с помощью влагалищного зеркала – влагалище и шейку матки (у свиньи с помощью специальной стеклянной вагинальной трубки). Готовят мазок-отпечаток со слизистой оболочки преддверия влагалища коровы, окрашивают и рассматривают под микроскопом. У коровы и у кобылы с помощью ультразвукового сканера исследуют яичники.

Половые органы самок разделяют на наружные и внутренние. К **наружным** органам (*genitalia externa*) относят половые губы, преддверие влагалища и клитор; к **внутренним** (*genitalia interna*) – яичники, яйцеводы, матку и влагалище. В зависимости от вида животных и физиологического состояния внутренние половые органы расположены в тазовой или брюшной полости (рис. 1.5).

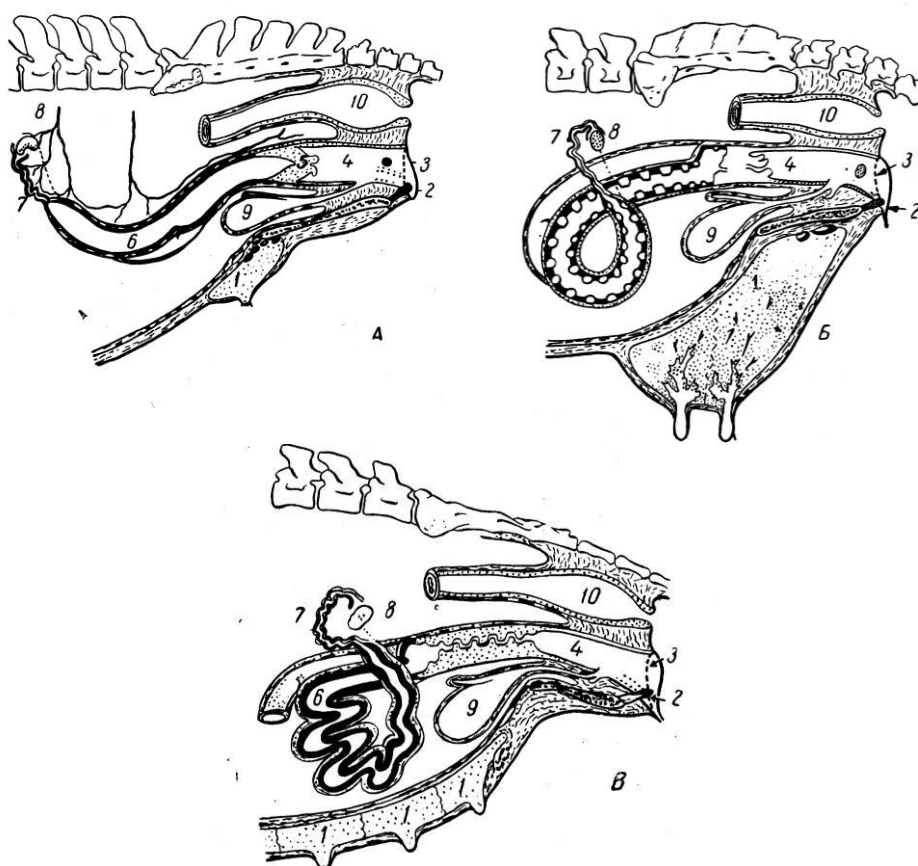


Рисунок 1.5 – Схема строения полового аппарата кобылы (А), коровы (Б), свиньи (В)

1 – вымя; 2 – клитор; 3 – вульва; 4 – влагалище; 5 – шейка матки;
6 – рог матки; 7 – яйцевод; 8 – яичник; 9 – мочевого пузырь;
10 – прямая кишка. Левый яйцевод и рог, шейка матки и влагалище даны в разрезе; правый рог виден снаружи. Выделены: в яичнике кобылы овуляционная ямка, подвешивание рогов матки, влагалищная часть шейки с наружным отверстием, вульва с тупым нижним углом и округлым клитором; у коровы – закрученные рога матки и карункулы; у свиньи – извитость рогов матки и длинная шейка матки без выступающей влагалищной части [4]

Удерживаются они с помощью *широких маточных связок (ligamenta lata uteri)*. Связки представляют собой удвоение брюшины, идущее от поясничной области. В связках проходят сосуды и нервы (рис. 1.6). Яичники, яйцеводы и матка снабжаются кровью парных семенной внутренней, маточной средней и задней артерий.

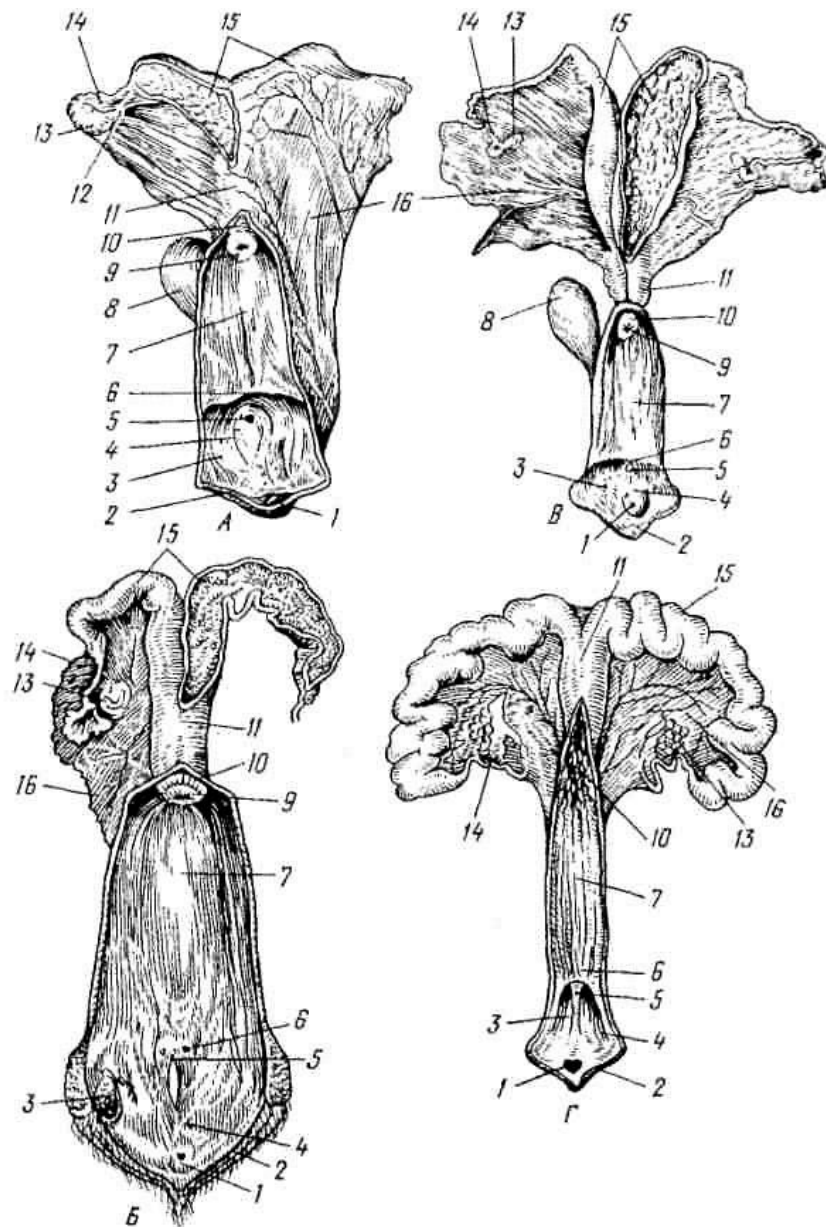


Рисунок 1.6 – Органы размножения самок домашних животных

А – лошади; Б – коровы; В – овцы; Г – свиньи;

1 – клитор; 2 – половые губы; 3 – отверстия вентральных и дорсальных желез; 4 – преддверие влагалища; 5 – отверстие мочеиспускательного канала; 6 – девственная плева; 7 – влагалище; 8 – мочевого пузыря; 9 – влагалищное отверстие шейки матки; 10 – шейка матки; 11 – тело матки; 12 – специальная связка яичника; 13 – яичник; 14 – яйцепровод; 15 – рога матки (у лошади вскрыт левый рог, у коровы и овцы – правый); 16 – широкая маточная связка с проходящими в ее толще артериями

Внутренняя семенная артерия (*a. spermatica interna*) отходит от аорты в области 4-го поясничного позвонка, разделяется на *яичниковую ветвь* (*ramus ovaricus*) и *переднюю маточную* (*a. uterina cranialis*). Артерия извилистая в области верхушки маточного рога и тесно прилегает к маточной вене. Это обуславливает попадание ряда веществ (простагландинов) из матки непосредственно в кровь артерии и затем в яичник. *Средняя маточная артерия* (*a. uterina media*) отходит от *наружной тазовой* (*a. iliaca externa*) у кобыл и от *пупочной* (*a. umbilicalis*) у коров. Эта артерия хорошо развита и ее ветви образуют анастомозы между собой и с ветвями передней и задней маточных артерий.

Задняя маточная артерия (*a. uterina caudalis*) отходит от *геморройдальной* (*a. haemorrhoidalis*) у кобыл и от *мочеполовой* (*a. urogenitalis*) у коров; снабжает кровью заднюю часть матки и влагалище. Преддверие влагалища и часть влагалища снабжаются кровью *внутренней срамной* (*a. pudenda interna*) и *запирательной* (*a. abturatoria*) артерий.

Отток крови из половых органов осуществляется по одноименным венам. У овец средние маточные вены отсутствуют, а кровь оттекает по передним пузырным и задним маточным венам.

Иннервируются половые органы симпатическими и парасимпатическими нервными стволами. У кобыл, коров, свиней и сук источником симпатических нервных стволов, идущих к половым органам, является *каудальный брыжеечный узел*. Он соединен со спинномозговыми нервами белыми соединительными ветвями и, следовательно, через спинной мозг поясничной области и через нервные сплетения брюшной полости проводящими путями с центральными отделами нервной системы. Парасимпатические нервные ветви отходят от крестцовых нервов.

Лимфатическая система полового аппарата представлена: капиллярами, которые залегают во всех оболочках половых органов, и интраорганными и афферентными экстра-органными сосудами; крупно-петлистыми сосудистыми сплетениями, расположенными в маточных связках; крупными магистральными афферентными экстра-органными сосудами, впадающими в региональные лимфатические узлы, а также эфферентными лимфатическими сосудами и протоками, которые соединяются и впадают в поясничный проток.

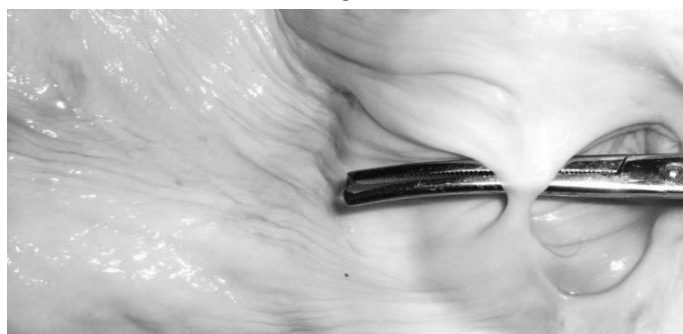
Половые органы коров и телок. *Половые губы* (*labium pudendi*) представляют собой два валиковидных выпячивания, расположенных над

седалищными буграми. Соединяясь, половые губы образуют верхний и нижний углы половой щели (*commissura labiorum superior et inferior*). Верхний угол закругленный, нижний – острый, имеет пучок длинных волос. У нормальных животных пучок волос клиновидный, а у телок фримартинов – веерообразный. Наружная поверхность половых губ покрыта нежной пигментированной или непигментированной кожей, в которой находятся потовые и сальные железы; внутренняя поверхность покрыта плоским многослойным эпителием. В толще губ содержатся мышечные волокна сжимателя вульвы (*m. constrictor vulvae*) и соединительная ткань.

В верхней части мышечные волокна переходят в промежность и сливаются со сфинктером ануса, внизу окружают клитор, а впереди переходят в стенку преддверия влагалища.



а



б

- 1 – тело матки; 2-3 – рога матки; 4 – яйцепроводы;
 5 – яичниковый карман; 6 – воронка яйцевода; 7 – яичники;
 8 – влагалище; 9 – отверстие мочеиспускательного канала;
 10 – преддверие влагалища; 11 – клитор; 12 – половые губы;
 13 – мочеполовой клапан; 14 – мочевого пузыря;
 15 – бартолиниевы железы

Рисунок 1.7 – Половые органы:

а – коровы [3], вид сбоку; б – интактной телки;

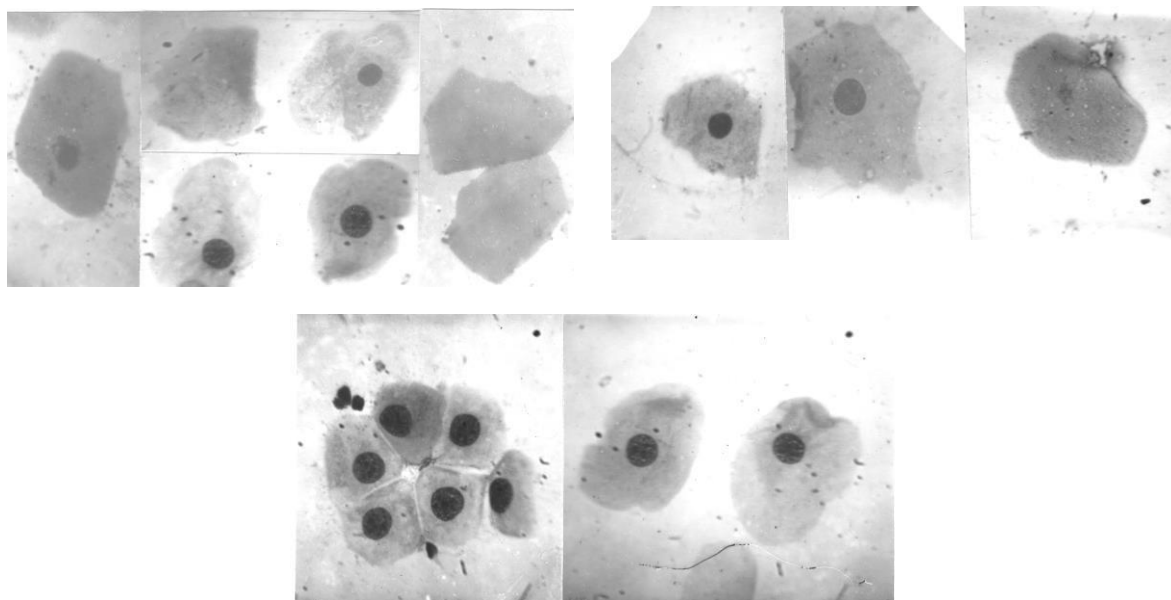
в – мочеполовой клапан

Клитор (*clitor*) – гомолог полового члена, расположен внизу преддверия влагалища. Начинается в виде двух пещеристых тел на седалищных буграх. Вместе они образуют тело клитора, которое покрыто плотной оболочкой. Заканчивается клитор заостренной головкой в нижнем углу половой щели.

Преддверие влагалища (*vestibulum vaginae*) представляет собой узкий участок вагинальной трубки длиной 4–8 см. В норме оно сжато с боков и на разрезе представляет вертикальную щель. От половой щели по направлению к влагалищу канал преддверия направлен снизу вверх и вперед. На границе с влагалищем открывается отверстие мочеиспускательного канала,

нижняя стенка которого имеет *слепой мешок* (*diverticulum suburethrale*) глубиной 2 см. По бокам от отверстия и кзади от него находятся выводные протоки *Бартолиновых желез* (больших желез преддверия, *gl. vestibulares major*). У коров эти железы величиной с крупный боб. На нижней стенке преддверия возле клитора расположены отверстия слабо развитых *малых желез преддверия* (*gl. vestibulares minores*).

Стенка преддверия влагалища состоит из слизистой, мышечной и соединительно-тканной оболочек. *Слизистая* оболочка толстая, образует продольные складки; покрыта многослойным плоским эпителием. В течение цикла эпителиальные клетки этой оболочки, как и клетки влагалища, подвергаются изменениям. В мазке-отпечатке с задней боковой стенки преддверия влагалища в фазу *проэструс* обнаруживаются малые и большие промежуточные эпителиальные клетки, эритроциты, иногда лейкоциты (рис. 1.8).



Верхний ряд:

слева – большие промежуточные эпителиальные клетки и безъядерные вакуолизированные; *справа* – большая и средняя ядерные и вакуолизированная с исчезающим ядром большая клетка.

Нижний ряд –

большие и малые промежуточные клетки, и лейкоциты

Рисунок 1.8 – Эпителиальные клетки мазка-отпечатка с преддверия влагалища коров

В фазу *эструс* преимущественно большие промежуточные эпителиальные клетки, безъядерные клетки или клетки вакуолизированные с небольшим пикнотическим ядром, и эритроциты. Лейкоциты встречаются редко, только в начале эструса, а в конце этой стадии доминируют безъядерные эпителиальные клетки. В фазу *метэструс* в мазке обнаруживается много полиморфно-ядерных лейкоцитов, исчезают безъядерные клетки,

уменьшается число больших промежуточных клеток, появляются пара–базальные клетки и малые промежуточные эпителиальные клетки, которые в последующем становятся вакуолизированными.

Мышечная оболочка содержит гладкие волокна, но в заднем участке преддверия влагалища имеется значительное количество пучков поперечнополосатых мышц. В боковой стенке преддверия, ближе к половой щели, расположено венозное сплетение (*bulbus vestibuli*), напоминающее пещеристое тело уретры самцов. *Наружная оболочка* преддверия влагалища состоит из соединительной ткани, которая переходит в ткань промежности и прямой кишки.

Между анусом и половой щелью находится *промежность (perineum)*, представленная в основном рыхлой соединительной тканью. Она простирается вглубь между прямой кишкой и половым каналом и сходит на клин. От анального отверстия до верхнего угла половой щели кожа промежности образует небольшое валиковидное возвышение – шов промежности.

Влагалище (vaginae, colpos) – дистальная часть внутренних половых органов, представляет собой широкую трубку длиной до 22 см. Начинается от шейки матки и сзади переходит в более узкое преддверие влагалища. Расположено влагалище в тазу и является органом совокупления. В норме влагалище сжато сверху вниз и на разрезе представляет собой горизонтальную щель. Передняя часть влагалища снаружи покрыта *серозной оболочкой*. Простирается она по верхней стенке на 7–12 см и затем с влагалища переходит на прямую кишку. Внизу влагалище почти по всей длине прочно сращено с мочеиспускательным каналом. С боков между стенками влагалища и каналом таза находится соединительнотканная адвентиция. *Мышечная оболочка* влагалища состоит из двух слоев гладких мышц: наружного слоя продольных волокон и внутреннего слоя, представленного поперечными волокнами.

Слизистая оболочка влагалища покрыта плоским многослойным эпителием и не имеет желез. Она образует большое количество глубоких продольных и слабо выраженных поперечных складок. Возле шейки матки слизистая влагалища состоит из многослойных, вырабатывающих слизь клеток и тонких эпителиальных клеток. По направлению к преддверию влагалища число слизееобразующих клеток резко уменьшается. В этом участке слизистая оболочка утолщена, и ее поверхностный эпителий может ороговеть. У телок в месте перехода влагалища в преддверие влагалища отмечается сужение полового канала. Примерно на сантиметр впереди отверстия мочеиспускательного канала находится перегородка – *мочеполовой клапан (hymen)*. Перегородка имеет вид продольной связки различной ширины и толщины. У взрослых телок толщина перегородки варьирует от 1 до 2,5 мм, ширина – от 2 до 4–6 мм. В месте отхождения перегородки от верхней и нижней стенки влагалища ширина ее значительно увеличивается. Здесь она плавно переходит в продольные складки влагалища. Высота перегородки не превышает 8–10 мм.

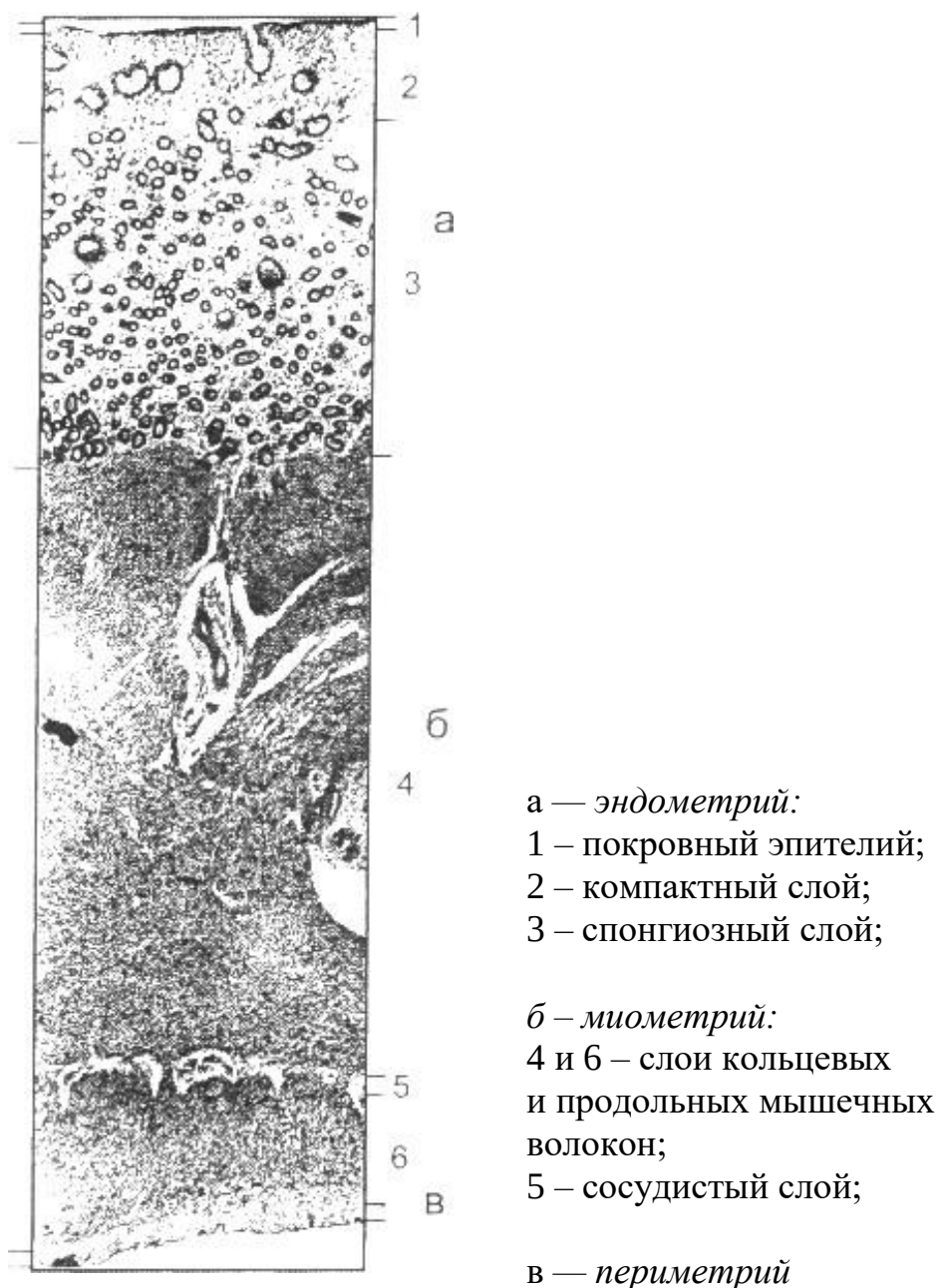


Рисунок 1.9 – Слои стенки матки

Впереди влагалище расширяется и обхватывает со всех сторон влагалищную часть шейки матки. Здесь между шейкой матки и стенками влагалища образуются боковые, верхний и нижний карманы. Наиболее хорошо выражен верхний карман – *свод влагалища (fornix vaginae)*.

В стенке влагалища по бокам от отверстия мочеиспускательного канала в краниальном направлении у многих животных идут два слепо заканчивающихся канала – остатки вольфовых протоков – *Гартнеровы ходы (ductus Gartneri)*. Нередко имеется только один канал.

Матка (uterus, hystera, metra) служитместилищем для плода, обеспечивает рост и развитие его, а затем и выведение через родовые пути. У телок и небеременных молодых коров матка находится в тазовой полости, в ложбине лонного сращения. У многорожавших коров в расслабленном

состоянии она смещается в брюшную полость. *Шейка матки (cervix)* длиной – 5–10 см, толщиной – 3–4,5 см, расположена в тазу и лишь в середине беременности перемещается в брюшную полость. Она плотная, с толстыми стенками, четко ограничена и хорошо прощупывается рукой через прямую кишку.

Задняя часть шейки матки на 2–3 см выдается во влагалище, образуя ясно выраженную влагалищную часть, в которой находится наружное отверстие – устье шейки матки (*orificium externum*).

Тело матки (corpus uteri) сравнительно мягкое, длиной 2–5 см, впереди разделяется на два рога (*cornua uteri*). На протяжении 10–15 см рога сращены между собой. В этом месте между ними снаружи хорошо заметна межроговая борозда (желоб). После раздвоения (бифуркации) рога расходятся в стороны, затем загибаются вниз и назад, а конечная часть их приподнимается вверх к яичникам и переходит в яйцепроводы. В месте расхождения рога имеют диаметр 2–3,5 см, но по направлению к верхушке сильно истончаются. В среднем длина рогов небеременных телок составляет 28 см, ширина – 2,4 см, а у взрослых коров соответственно – 32,5 и 3,4 см. Толщина стенок тела и рогов матки у коров – 8–12 мм.

Стенка матки состоит из трех оболочек: серозной, мышечной и слизистой (рис. 3). *Серозная оболочка (perimetrium)* покрывает матку снаружи. С боков тела и шейки и по малой кривизне рогов матки серозная оболочка переходит в широкие маточные связки (*ligamenta lata uteri*), на которых она и подвешена. *Мышечная оболочка (myometrium)* состоит из трех слоев гладких мышц. Слой наружных продольных волокон отделен сосудистым слоем от двух других слоев циркулярных и продольных волокон. В области шейки матки мышечные слои толще, особенно циркулярный слой. *Слизистая оболочка матки (endometrium)* имеет трубчатые железы, которых насчитывается около 1 миллиона, изнутри покрыта псевдомногослойным призматическим мерцательным эпителием. В области тела и рогов матки в эндометрии имеются особые образования – карункулы. В каждом роге 4 ряда карункулов, по 10–14 в ряду, всего – 80–112.

Слизистая оболочка шейки матки образует многочисленные мелкие продольные и толстые поперечные складки или кольца. Противоположные складки заходят одна за другую, образуя извилистый цервикальный канал (*canalis cervicis*), который открывается внутренним отверстием (*orificium internum*) в тело матки. В области влагалищной части шейки мощно развитые поперечные складки слизистой оболочки (верхняя и нижняя) образуют отчетливо выраженную розетку. Поверхностный эпителий слизистой оболочки шейки матки имеет многочисленные слизеобразующие (бокаловидные) клетки. Они постоянно выделяют слизь, закупоривающую цервикальный канал.

Яйцеводы (oviductus, tuba uterina, salpinx) – две извитые трубочки, служат местом оплодотворения яйцеклеток и обеспечивают проведение их в рога матки. Располагаются яйцеводы в складках брюшины, простирающихся от верхушки рогов матки до яичника. Канал яйцевода начинается от

верхушки соответствующего рога матки узким маточным отверстием. В зависимости от возраста животных длина яйцеводов колеблется от 20 до 35 см. Наименьший диаметр (1–3 мм) яйцеводы имеют в области перешейка (*istmus*), который примыкает к рогу матки и составляет около половины всей длины. Средняя часть – ампула, имеет диаметр 3–5 мм, а конечная часть – воронка – 5–7 мм. Воронка открывается отверстием в брюшную полость. Свободный длинный край воронки называют бахромкой (*fimbriae tubae*). Бахромка тесно прилегает к поверхности яичника, и это обеспечивает попадание овулировавших яиц в отверстие яйцевода. Стенка яйцевода состоит из трех оболочек: серозной, мышечной и слизистой. *Серозная оболочка* представлена в основном эпителиальным слоем брюшины и частично двумя слоями широкой маточной связки. *Мышечная оболочка* состоит из трех слоев гладких мышц: мощного внутреннего кольцевого и двух более тонких продольных поверхностных слоев. Наиболее толстая мышечная оболочка – в месте соединения яйцепровода с маткой. *Слизистая оболочка* покрыта псевдомногорядным мерцательным эпителием, который в узкой части яйцепровода образует 4–8 низких продольных складок, а в воронке – до 20–40 более высоких складок. Движение ресничек эпителия направлено в сторону матки.

Яичники (*ovaria, oophoron*) – половые железы, продуцируют яйцеклетки и половые гормоны. Расположены на границе тазовой и брюшной полости. У небеременных коров они чаще находятся у края подвздошной ямки на границе с лонным сращением, реже между подвздошной ямкой и концом маточного рога. К верхушкам рогов матки яичники прикреплены с помощью яичниковой связки, которая является частью широкой маточной связки. Яичниковая связка образует две складки: яйцеводную (*mesosalpinx*), в которую заключен яйцевод, и яичниковую (*lig. ovarii proprium*), более толстую и содержащую пучки гладких мышечных волокон. Складки, соединяясь, образуют открытый *яичниковый карман*. В нем располагается яичник.

Типичная форма яичников – яйцевидная или округлая, но иногда они могут быть плоскими или иметь неправильную форму, что зависит от наличия в них фолликулов или желтых тел. Длина яичника – 32–42 мм, ширина – 19–32 мм и толщина – 13–19 мм. Масса каждого яичника составляет 10–19 г. Вся поверхность яичника за исключением прикрепленного края покрыта однослойным кубическим эпителием. Под ним располагается *собственная белочная оболочка*. Она придает яичнику соответствующую форму. Вся остальная масса яичника состоит из двух слоев: периферического коркового и центрального мозгового. *Мозговой слой* содержит кровеносные сосуды, нервы и рыхлую соединительную ткань. *Корковый (паренхиматозный)* слой занимает большую часть яичника и состоит из клеток соединительной ткани, желтых тел и фолликулов на различных стадиях развития.

Половые органы овцы. Половой аппарат овцы аналогичен половому аппарату коров и отличается лишь размерами. Длина *преддверия* влагали-

ща овец составляет 4–5 см, *влагалища* – 8–12 см, *шейки матки* – 5–7 см, *тела* – 3–5 см, *рогов матки* – 10–20 см, *яйцеводов* – 10–15 см. *Яичники* имеют овальную или яйцевидную форму, относительно крупные (в период диэструса – 1,3×1,1×0,8 см) массой от 0,6 до 3 г.

Половые органы свиньи. *Половые губы* выделяются в виде треугольника, нижний угол которого образован их заостренной спайкой. *Клитор* тонкий, длинный, оканчивается продолговатой головкой.

Преддверие влагалища – длиной 5–8 см, имеет хорошо выраженные продольные складки слизистой оболочки. В глубине ее продольными рядами заложены малые вестибулярные железы. В нижней части боковых стенок преддверия имеются пещеристые образования.

Влагалище с преддверием влагалища имеет длину 15–23 см, при соотношении их 2:1. Влагалище узкое, длиной 10–15 см. На границе с преддверием у intactных свинок заметно сужение полового канала, что создает впечатление наличия кольцевой складки. Впереди отверстия мочеиспускательного канала обнаруживается такая же перегородка, как и у телок.

Матка – двурогая двураздельная. *Шейка матки* – длиной 10–15 см, без резких границ переходит сзади во влагалище, а впереди – в короткое (2–3 см) *тело матки*. *Рога матки* – в правой половине брюшной полости расходятся на обе стороны от тела матки и образуют большое число петель, которые у молодых свинок располагаются недалеко от тазовой полости, а у приносящих приплод – глубоко в брюшной полости. Длина рогов матки у половозрелых свинок составляет 50–75 см, у взрослых свиноматок достигает 90–200 см. Левый рог – на 3–8 см длиннее правого. Задние участки рогов срастаются своими стенками на протяжении 4–6 см. Диаметр рогов достигает 6 см, толщина стенок – 2–4 мм. Слизистая оболочка матки темно-красного цвета, сильно складчатая. В области шейки складки в виде многочисленных (15–20) треугольных выступов расположены с боков. Верхушки их не совпадают, в результате чего канал шейки матки образует кривую штопорообразную линию. По направлению к телу матки и особенно влагалищу складки сглаживаются.

Яйцеводы у свиньи выделяются отчетливо; длина их – 15–28 см. Истмическая часть узкая, диаметром до 2–3 мм, составляет четвертую часть длины яйцевода, средняя часть – ампула, толщиной 3–5 мм и воронка 5–6 мм. Конечная часть воронки очень расширена.

Яичники у половозрелых животных похожи на ягоду малины, имеют неправильную форму и размеры 4×3×3 см. У взрослых свиноматок яичники округлой формы, диаметром около 5 см; поверхность их бугристая, что связано с наличием большого количества крупных фолликулов и желтых тел. Расположены в брюшной полости на уровне 4–5-го поясничного позвонка в хорошо выраженных яичниковых карманах и тесно прилегают к мощно развитой бахромке яйцевода.

Половые органы кобылы. *Половые губы* вверху образуют заостренный край, переходящий в шов промежности; нижний край их закругленный, прикрывает полушаровидную головку клитора. По бокам головки

имеются хорошо выраженные складки слизистой оболочки преддверия влагалища.

Преддверие влагалища длиной 8–16 см. По бокам его под слизистой оболочкой и отчасти под суживателем половой щели имеются два пещеристых тела. В верхней части преддверия на 1,5–2,5 см впереди половой щели расположены выводные протоки *Бартолиниевых желез*, а по бокам его в толще слизистой оболочки расположены два ряда трубчатых желез, открывающихся в просвет преддверия несколькими выводными протоками.

Влагалище – длиной 15–30 см. У молодых кобылок в задней части по всей окружности влагалища имеется хорошо выраженная поперечная складка (мочеполовой клапан) толщиной 2–3 мм с центральным отверстием.

Матка кобылы типично двурогая. *Шейка матки* длиной 4–8 см, диаметром 3–5 см, сзади выдается в полость влагалища. Эта часть ее имеет форму втулки; в центре ее расположено устье шейки матки. **Тело матки** представляет собой большой полый орган длиной 8–15 см и шириной 7–12 см. Впереди разделяется на *два рога*, длина их – 8–15 см и ширина – 4–7 см. Рога расходятся в стороны, несколько вперед и вверх. Слизистая оболочка тела и рогов матки образует много продольных складок, сверху покрыта высоким цилиндрическим мерцательным эпителием; в толще ее расположены ветвящиеся трубчатые железы.

Яйцеводы имеют вид сильно извитых трубочек, длиной 15–30 см. Расширенный брюшной конец яйцепровода (воронка) имеет неровные края, тесно прилегает к яичнику в области *овуляционной ямки*. Широкий край ее – *бахромка* полностью прикрывает овуляционную ямку.

Яичники чаще бобовидной, иногда округлой или неправильной овальной формы, длиной 6 см, толщиной 4 см и шириной 3 см. Подвижные, находятся в поясничной части брюшной полости вблизи верхушек рогов матки, несколько выше их. Правый яичник расположен на уровне третьего поясничного позвонка, на ладонь ниже от почек и в сторону тазовой полости, а левый – на уровне четвертого поясничного позвонка. Снаружи яичники покрыты *серозной* оболочкой. Под ней расположена плотная фиброзного типа *белочная* оболочка, покрывающая почти весь яичник, за исключением овуляционной ямки (*ovulation fossa*), свободной от серозной оболочки и выстланной зародышевым эпителием. Расположена овуляционная ямка по малой кривизне над *корковым* слоем и имеет бархатистый вид. *Мозговой* слой яичника расположен по большой кривизне. В этом месте прикрепляется яичниковая связка и здесь начинается серозный покров яичника.

Исследование наружных половых органов и влагалища. Для клинического исследования коровы и кобылы их помещают в станок или надежно фиксируют. Корову коротко привязывают (в стойле, манеже, загоне) и дополнительно фиксируют одной рукой за складку кожи в области коленного сустава, а другой – за складку кожи на спине. Беспокойных животных фиксируют за рога и носовую перегородку. Кобылу удобнее исследовать в хорошо освещенном манеже; тазовые конечности ее фиксируют

случной шлеей. Козу или овцу удерживают за поводок; свинью осматривают без фиксации в узком станке. Мелких животных помещают на стол и при необходимости фиксируют.

Сначала осматривают наружные половые органы и промежность, а также корень хвоста и седалищные бугры. Затем левой рукой, обращенной ладонью к животному и повернутой пальцами вниз, приоткрывают половую щель. Обращают внимание на величину вульвы и клитора, пучок волос в нижней спайке половых губ, цвет и состояние слизистой оболочки преддверия влагалища, целостность кожи и шерсти на крестце и седалищных буграх; определяют наличие и внешние свойства слизи или воспалительного экссудата.

У здоровых животных в зависимости от физиологического состояния и фазы полового цикла отсутствуют повреждения вульвы и промежности, слизистая оболочка – бледно-розового или желтоватого цвета, покрыта небольшим слоем слизи. В период течки половые губы отечные, увеличены, кожа гладкая, складки расправлены, слизистая оболочка ярко-красного цвета, блестящая, обильно покрыта прозрачным секретом. Слизь можно обнаружить и на ягодицах, седалищных буграх. Волос на крестце и седалищных буграх вследствие садок других животных может быть стертым, а эти места болезненны.

При осмотре могут выявляться аномалии наружных половых органов (недоразвитая вульва, увеличенный клитор, наличие повреждений и рубцов), признаки воспаления, полосчатые или точечные кровоизлияния на слизистой оболочке, а также узелки красноватого или желтоватого цвета, или пузырьки прозрачные или мутноватые, различного характера воспалительный экссудат.

Влагалище исследуют рукой или путем осмотра с помощью влагалищных зеркал (расширителей). Перед исследованием наружные половые органы самки тщательно обмывают теплой водой (при сильном загрязнении с мылом) и дезинфицируют раствором фурацилина. На руку с коротко остриженными ногтями надевают мягкую полиэтиленовую перчатку и смачивают ее физиологическим раствором. Перед введением влагалищное зеркало увлажняют теплым физиологическим раствором или раствором натрия гидрокарбоната и к нему прикрепляют специальный осветитель. При использовании трубчатого стеклянного расширителя пользуются внутренним источником освещения или налобной лампой. Однако более эффективно вагинальное исследование при хорошем дневном освещении. Вводят зеркало в половые пути плавно и осторожно, при этом бранши его должны быть сомкнуты, а ручки направлены в сторону. После введения зеркала его поворачивают так, чтобы ручки были направлены вниз. Затем нажимают медленно на ручки и раздвигают бранши, добиваясь нужного расширения полового канала. Для осмотра должны быть доступны полость влагалища и шейка матки.

1.3. Морфология и топография репродуктивных органов самцов

Цель занятий: изучение морфологических и функциональных особенностей и топографии репродуктивных органов самцов сельскохозяйственных животных и приобретение студентами практических навыков исследования их с использованием современных методов.

Объекты исследования, материалы и оборудование: животные (бык, баран, жеребец, хряк) и половые органы убитых самцов; муляжи, рисунки, диаграммы, слайды, гистопрепараты; перчатки резиновые и полиэтиленовые одноразовые, анатомические и хирургические пинцеты, анатомические ножи, скальпели, ножницы прямые и Купера; микроскопы, предметные и покровные стекла, стеклянные палочки; шприцы и иглы, измерительные линейки и ленты, весы, штангенциркули, лупы, кюветы, тазы.

Методические указания. Сначала студенты изучают на муляжах, рисунках и слайдах, диаграммах, гистопрепаратах топографию, внешние свойства, гистологическое строение и функцию половых органов быков, хряков и других животных. Затем под контролем преподавателя осматривают подготовленные на отдельных столиках половые органы убитых самцов и препарируют их в такой последовательности:

- мошонка: форма, величина и оболочки;
- семенники и придатки семенников: форма, величина (длина, толщина и ширина) и масса, консистенция, строение на разрезе, связь придатка с семенником; содержимое канала придатка рассматривают под микроскопом;
- семенные канатики: место прикрепления к семеннику, составные части (семяпроводы и их конечная часть – ампулы, кровеносные сосуды и нервы, внутренний подниматель семенника);
- тазовая часть мочеполового канала и придаточные половые железы – пузырьковидные, предстательная (тело и рассеянная часть) и куперовы – расположение относительно тазовой части уретры, величина и форма, выводные протоки;
- половой член (пенис) и пенисовая часть мочеполового канала;
- препуций (препуциальный мешок).

После изучения по наглядным пособиям и свежим препаратам половых органов убитых животных целесообразно исследовать самцов. Сначала осматривают и пальпируют их половые органы: семенниковый мешок с семенниками, тело и S-образный изгиб пениса, головку пениса и препуций. У быков определяют внешние промеры семенникового мешка, а при ректальном исследовании – состояние пузырьковидных желез.

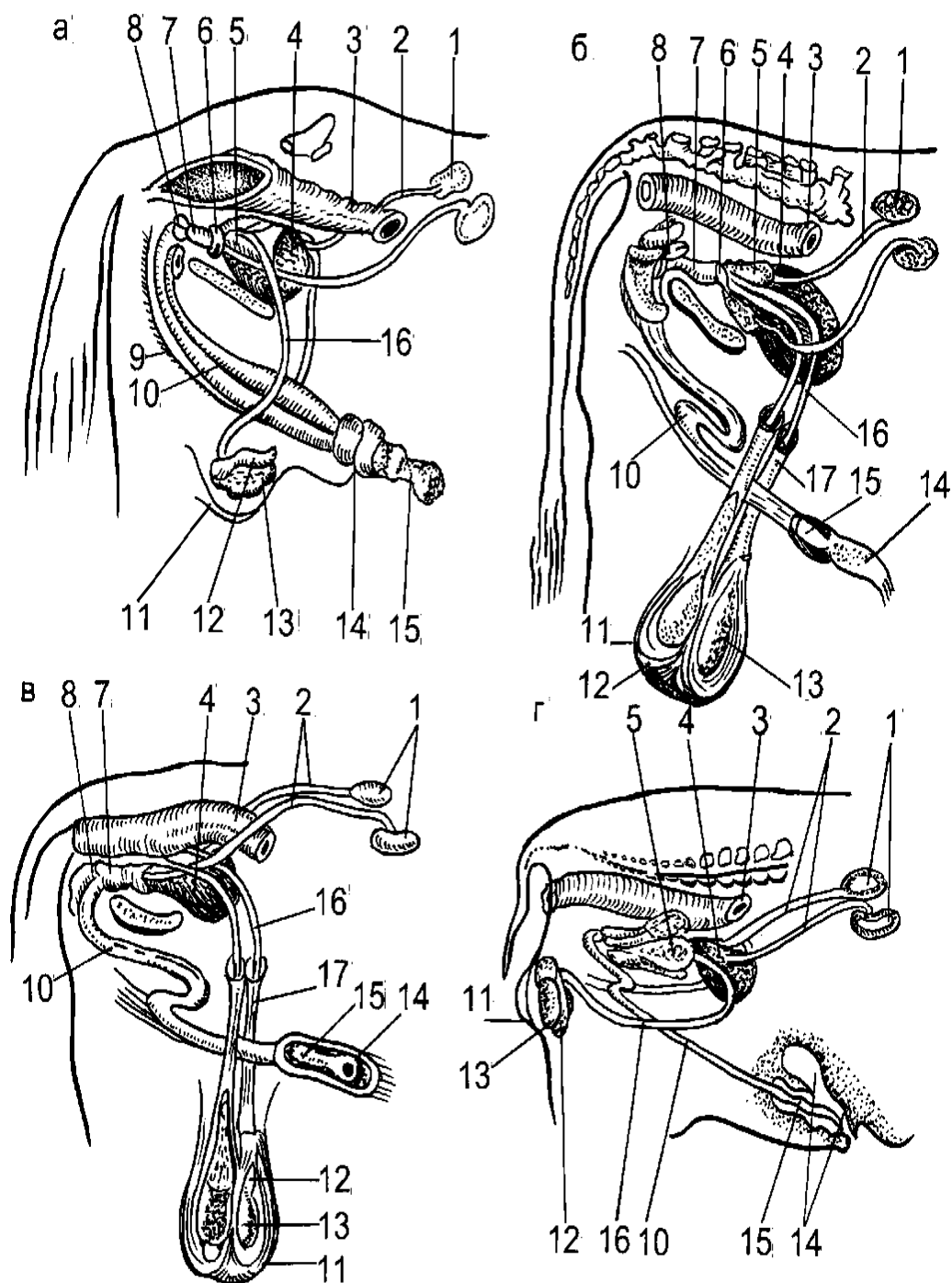
Половые органы самцов состоят из двух половых желез – семенников с придатками и семяпроводов, которые включают в себя внутренние половые протоки; семенного мешка (мошонки), в котором находятся

семенники; полового члена с наружным половым протоком – мочеполовым каналом (уретрой); придаточных половых желез: пузырьковидных, предстательной и куперовых (луковичных).

Мошонка (*scrotum*) представляет собой мешок, состоящий из двух полостей; расположена в паховой области между бедрами позади рудиментарных сосков. Снаружи мошонка разделена в медианной плоскости вертикальной бороздой на две половины (*raphe scroti*). У быков, баранов и козлов она несколько сплюснута спереди назад и имеет отчетливо выраженную *шейку*. У жеребцов мошонка занимает почти горизонтальное положение, а шейка выражена слабо. У хряка мошонка находится позади бедер, имеет косое направление, шейка отсутствует. В каждой полости мошонки располагается семенник, к которому основанием прикреплен семенной канатик.

Стенка мошонки состоит из трех слоев: кожи, мускульно-эластической оболочки и общей влагалищной оболочки. *Кожа* (*cutis scroti*) покрыта нежными волосами и содержит потовые и сальные железы. Она тесно связана с *мускульно-эластической оболочкой* (*tunica dartos*). Эта оболочка, заворачиваясь внутрь, делит семенной мешок на две половины, а в верхней части разделяется на два листка, между которыми располагается половой член. На дне мошонки мускульно-эластическая оболочка срастается с *общей влагалищной оболочкой* (*tunica vaginalis communis*), которая является продолжением париетального листка и поперечной брюшной фасции. Общая влагалищная оболочка образует *узкие паховые каналы*, затем расширяется и выстилает обе полости мошонки (*cavum vaginale*). Она выделяет смазывающую жидкость. К внешней стенке оболочки с задней и наружной стороны прикрепляется *наружный подниматель семенника* (*m. cremaster externus*). Этот поперечнополосатый мускул берет начало от внутреннего отверстия пахового канала; он подтягивает семенники.

Мошонка с ее мышцами поддерживает семенники, защищает их от внешних воздействий и обеспечивает постоянную температуру, обычно ниже температуры тела, что важно для сперматогенеза. Относительно постоянная температура семенников у самцов поддерживается благодаря терморегулирующему действию *наружного поднимателя семенника*. В холодную погоду этот мускул сокращается, подтягивает мошонку ближе к брюшной стенке. Мошонка сморщивается, уменьшается испарение влаги с ее поверхности и отдача тепла во внешнюю среду. Внутренняя семенная артерия с окружающим ее сплетением из ветвей семенной вены укорачивается и расширяется, что способствует притоку к семенникам более теплой крови. В жаркую погоду наружный подниматель семенника расслабляется, и мошонка с семенниками далеко отвисает от тела, увеличивается испарение влаги и отдача тепла во внешнюю среду, удлиняется и суживается семенная артерия с венозным сплетением, что способствует охлаждению притекающей к семенникам крови.



- А – жеребца; Б – быка; В – барана; Г – хряка;
 1 – почка; 2 – мочеточники; 3 – прямая кишка; 4 – мочевого пузырь;
 5 – пузырьковидные железы; 6 – предстательная железа; 7 – тазовая часть мочеполового канала; 8 – луковичные (куперовы) железы;
 9 – пенисная часть мочеполового канала; 10 – половой член (пенис);
 11 – мошонка; 12 – придаток семенника; 13 – семенник;
 14 – препуциальный мешок пениса; 15 – головка ии концевая часть пениса;
 16 – спермиопровод; 17 – семенной канатик

Рисунок 1.10 – Половые органы самцов сельскохозяйственных животных

У хряков отвисание мошонки слабое. Терморегулирующее действие мошонки контролируется андрогенами и осуществляется после полового созревания. Если же окружающая температура настолько высока, что необходимый перепад температур тела и семенников не может сохраниться, то нарушается сперматогенез вследствие дистрофии генеративного эпителия. И чем длительнее воздействие температуры, тем больше степень поражения. Искусственным нагреванием мошонки в воде или посредством теплоизоляции ее вызывали полное бесплодие у баранов, быков, морских свинок. У баранов временное бесплодие может быть вызвано при содержании их зимой в теплом помещении.

У отдельных быков, которые имеют слишком крупные семенники и маленькую мошонку, затрудняется терморегуляция, и сперматогенез нарушается, отмечается бесплодие.

Обычно температура семенников является средней между температурой тела и поверхности мошонки. У быков температура на поверхности нижней части мошонки на 3–7°C, а семенников – на 1,5–5°C ниже температуры тела. У козла и барана разница между температурой тела и семенников более значительная и достигает 5–7°C. Чем выше температура окружающей среды, тем меньше перепад температур тела и семенников и наоборот.

Мошонка снабжается кровью наружной семенной артерией (*a. spermaticae externa*). Иннервация осуществляется наружным семенным нервом (*n. spermaticus externus*), а также ветвями подвздошно-подчревного и подвздошно-пахового нервов (*n. iliohypogastricus, n. ilioinguinalis*).

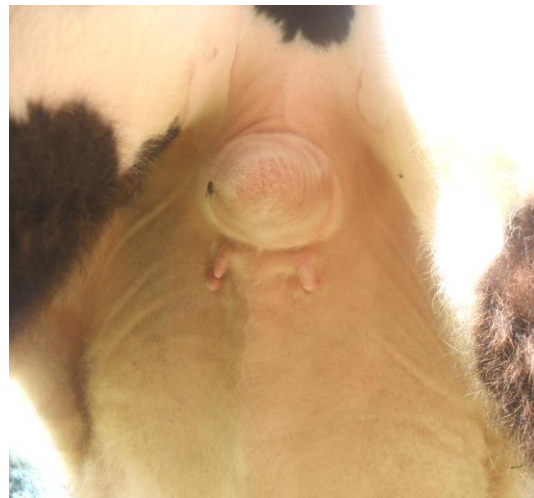
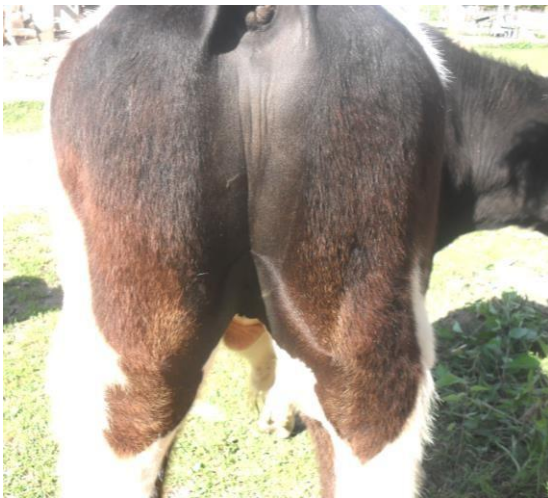
Семенники (*testis, orhis, didymis*) вырабатывают мужские половые клетки и половые гормоны (тестостерон). Каждый семенник представляет собой овальное, вытянутое тело, подвешен в мошонке на семенном канатике. У жвачных продольная ось семенника расположена вертикально, хвост придатка обращен книзу назад. У жеребца семенники расположены почти горизонтально, хвост придатка находится сверху сзади. У хряка расположение семенников косое, вблизи анального отверстия, хвост придатка находится спереди, сверху. У быка длина семенника варьирует от 10 до 15 см, ширина – 5–6 см, масса – 300–500 г, у барана – 9–11 х 6 см, масса – 200–500 г, у жеребца – 10–12 х 5–6 см, масса – 200–250 г.

Семенник и придаток семенника покрыты *собственно влагалищной оболочкой* (*tunica vaginalis propria*), являющейся висцеральным листком брюшины. Она тесно сращена с *белочной оболочкой* (*tunica albuginea testis*). Белочная оболочка заходит внутрь семенника со стороны головки придатка и образует средостение. От средостения отходят соединительнотканые перегородки, которые делят семенник на дольки. Перегородки соединяются с поверхностной частью белочной оболочки.

К семеннику в составе *семенного канатика* (*funiculus spermaticus*) подходят кровеносные сосуды и нервы. Иннервация осуществляется внутренним семенным нервом (*n. spermaticus internaе*), отходящим от заднего брыжеечного узла.

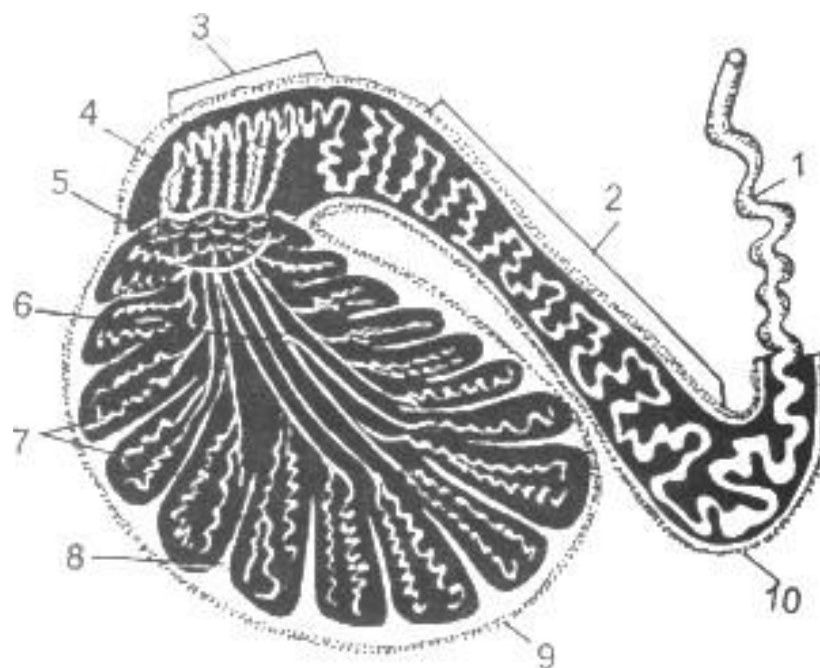


а **б**
а – половые железы молодого бычка;
б – половые железы быка голштинской породы
с аномалиями придатков семенников
Рисунок 1.11 – Половые железы быка



а **б**
а – вид сзади;
б – мошонка без семенников (вид снизу)
Рисунок 1.12 – Бычок-крипторх

Кровоснабжение обеспечивается внутренней семенной артерией (*a. spermaticae internae*). Этот сосуд в месте соприкосновения с верхним краем семенника немного расширяется, идет дальше по заднему краю и разветвляется под оболочками, образуя систему извилистых артерий, хорошо просматриваемых снаружи. Концевые артерии разветвляются, входят в семенник вдоль средостения и питают ткань семенника.

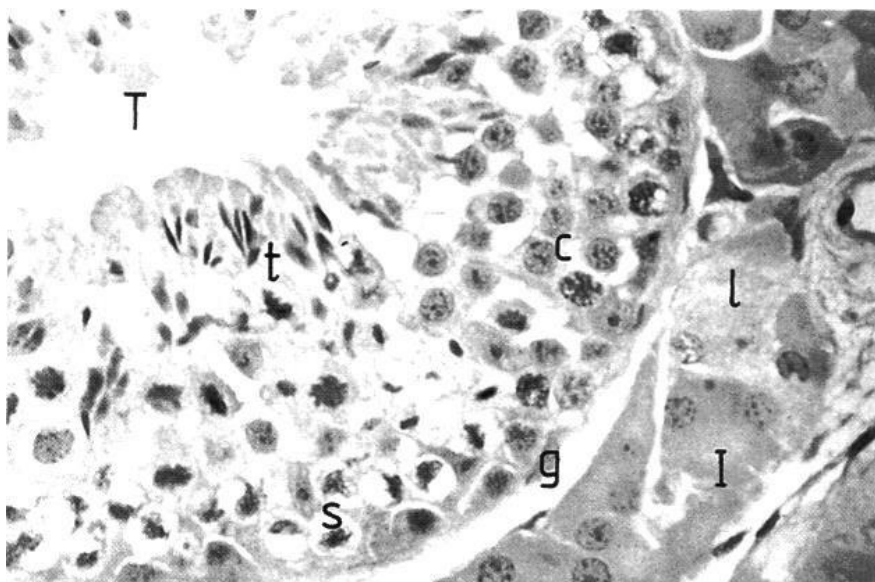


1 – спермиопровод; 2 – тело придатка; 3 – головка придатка;
 4 – семявыносящие канальцы; 5 – сеть семенника; 6 – прямые канальцы;
 7 – семенные (извитые) канальцы; 8 – соединительно-тканые перегородки;
 9 – семенник; 10 – хвост придатка

**Рисунок 1.13 – Схема строения семенника
и придатка (разрез)**

Паренхима семенника представляет собой мягкую массу желтоватого цвета у быка, беловатого – у козла и барана, темно-бурого – у жеребца и серовато-коричневого или коричневого – у хряка и кобеля. Состоит из многочисленных долек (300–400). В каждой доле имеется один или несколько *семенных канальцев (seminiferous tubule)*. Промежутки между канальцами заполнены соединительной тканью, в которой имеются клетки Лейдига, продуцирующие андрогены, а также кровеносные сосуды и нервы.

Образование сперматозоидов происходит в *семенных (извитых) канальцах*. Диаметр канальцев – 100–200 мкм, длина – около 70 см. Общая протяженность их у быка достигает 5 км, у хряка – 4–6 км, у кобеля – до 1,2 км. Снаружи канальцы покрыты тонкой мембраной. На ней располагается зародышевый эпителий. Он представлен двумя типами клеток: *клетками Сертоли* и первичными половыми клетками – *сперматогониями*. Клетки Сертоли расположены радиально на равных расстояниях друг от друга. Ядра их находятся у основания клеток, а цитоплазма тянется до просвета канальцев. Промежутки между клетками заполнены *сперматогониями, сперматоцитами и сперматидами*. Клетки Сертоли играют важную роль в питании сформированных, но еще незрелых сперматозоидов. Извитые канальцы направляются к средостению семенника и впадают в *прямые канальцы*, а последние образуют *сеть семенника (rete testis)*.



интерстициальная ткань (I), содержащая клетки Лейдига (I), кровеносные и лимфатические сосуды и нервную ткань, располагается между семенными канальцами (T); в стенке канальцев клетки Сертоли (s) и сперматогонии (g); при формировании сперматозоидов, сперматогонии последовательно превращаются в сперматоциты (c) и сперматиды (t) и приближаются к просвету канальца [5]

Рисунок 1.14 – Гистология семенника

Придаток семенника (*appendix testis, epididymis*) представляет собой трубку различной ширины, идущую по всей длине семенника. Состоит из головки, тела и хвоста. *Головка придатка* образована *семявыносящими канальцами* (efferent ducts) и начальной частью канала придатка (*canalis epididymidis*). Всего семявыносящих канальцев – от 6 до 20; длина их – 10–20 см. Отходят они от сети семенника в месте связи семенника с придатком и, сильно извиваясь, образуют сосудистый конус. Последний составляет большую часть придатка и соединен с длинным каналом придатка. В области *головки* (*head epididymidis*) канал придатка зигзагообразно извивается. Извилины окружены белочной оболочкой и вместе с ней придают головке придатка вид большой плоской трубки. В области *тела придатка* (*body epididymidis*) амплитуда извилины канала уменьшается, суживается оболочка, и это придает телу вид более узкой и прямой трубки. По направлению к нижней части семенника канал расширяется, размах его извилины увеличивается, и вместе с окружающей оболочкой он образует массивный *хвост* (*tail epididymidis*). Хвост придатка связан с семенником и фиксирован в нижней части мошонки направляющей связкой семенника.

Семявыносящие канальцы и начальная часть канала придатка выстланы изнутри цилиндрическим эпителием с ресничками, причем в канале придатка эпителий многослойный. Реснички эпителия колеблются по ходу выносящего протока. На остальной части канал придатка выстлан цилин-

дрическим эпителием с секреторными клетками. В основании клеток имеются внутриэпителиальные железы. Просвет канала придатка достигает 0,3–1 мм, при этом диаметр его увеличивается от головки к хвосту. Длина канала составляет у быка около 35 м, у хряка – 64 м и у жеребца – 80 м.

Образовавшиеся в семеннике сперматозоиды продвигаются по каналу придатка, созревают, покрываются липидной оболочкой и накапливаются в нем.

Семяпровод (*ductus deferens*) без ясной границы отходит от придатка и тянется вдоль семенника вверх. Вначале он извилист, затем становится более прямым. В составе семенного канатика проходит через паховый канал, а при попадании в брюшную полость отделяется от артерий, вен и нервов и направляется в тазовую полость, где располагается с соответствующей стороны над шейкой мочевого пузыря. В этом месте он ампулообразно расширяется (*ампула семяпровода*). Вместе с пузырьковидной железой ампула *семяпровода* открывается общим протоком на семенном холмике, расположенном вверху начальной части мочеполового канала.

Ампулы семяпроводов тесно связаны между собой складкой брюшины. У хряка и кобеля ампулы отсутствуют. Семяпровод снаружи покрыт брюшиной, а в толще своей имеет продольный и кольцевой слои мышц; изнутри он выстлан многослойным цилиндрическим мерцательным эпителием с наличием клеток, обладающих секреторной функцией. В слизистой оболочке конечной части ампул семяпроводов у жеребца, быка, барана и кобеля имеются трубчатые железы. Они выделяют фруктозу, лимонную кислоту и пигмент липохром, который придает сперме некоторых быков светло-желтый цвет. В ампулах семяпроводов сперматозоиды скапливаются перед эякуляцией. У быков ампулы хорошо пальпируются при ректальном исследовании. Длина их достигает 10–15 см, толщина – около 10 мм (с мизинец).

Семенной канатик (*funiculus spermaticus*) представляет собой сдавленный с боков конус, основание которого прикреплено к семеннику и придатку семенника, а вершина доходит до внутреннего пахового кольца. Снаружи покрыт серозной оболочкой, в которую заключены *семяпровод*, внутренняя семенная артерия и одноименные вена и нерв, лимфатические сосуды и слабо развитый внутренний подниматель семенника.

Мочеполовой канал (*urethra*) является общим протоком для секретов семенников и придаточных половых желез и для выделения мочи. Начинается от шейки мочевого пузыря, тянется вдоль тазовой полости (*тазовая часть*) и в области большой седалищной вырезки поворачивается вниз вперед и по желобу направляется к головке полового члена, где и заканчивается мочеполовым отверстием (*пенисовая часть*). Изнутри выстлана уретра в начальной части переходным эпителием, а в конечном участке – плоским многослойным эпителием. В толще эпителия имеется много мелких уретральных желез. Средний слой уретры – сосудистый, представлен густым сплетением сильно извитых вен и соединительной тканью с гладкими и эластическими волокнами, которые формируют пещеристое тело

мочеполового канала. Располагается оно, главным образом, снизу. Вены в нем расширены, образуют каверны и при наполнении их кровью обеспечивается зияние канала. Снаружи уретра прикрыта мочеполовым (*m. urogenitalis*) и луковично-пещеристым (*m. bulbocavernosus*) мускулами, сокращения которых способствуют выведению спермы и мочи.

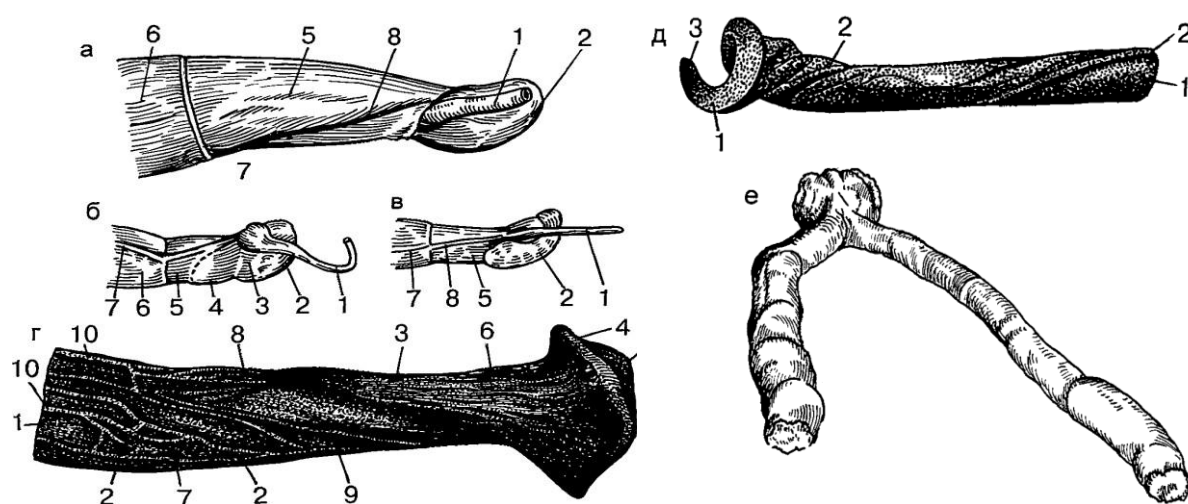
Придаточные половые железы – пузырьковидные, предстательная и куперовы – расположены по ходу тазовой части мочеполового канала. Секрет этих желез составляет жидкую часть спермы.

Пузырьковидные железы (*glandulae vesiculares*) у быка имеют грушевидную форму и бугристую поверхность, расположены по одной с обеих сторон возле ампул семяпроводов и открываются общими с семяпроводами отверстиями в начальную часть мочеполового канала. Длина желез составляет 10 см или более, толщина – 2,5 см. Они разделены на дольки; выделяют секрет, содержащий фруктозу и лимонную кислоту. У мелкого рогатого скота пузырьковидные железы также имеют бугристую поверхность. У барана длина их 5 см, ширина – 2,5 см и толщина – 1,3 см. Величина желез у козла несколько меньше. У жеребца пузырьковидные железы мешковидные, с ровной поверхностью и центральной полостью, в длину достигают 13–15 см. Самые крупные пузырьковидные железы у хряка: длина – до 12 см, ширина – 7 см и толщина – 3 см; поверхность их гладкая. У кобеля этих желез нет.

Предстательная железа (*gl. prostata*) состоит из тела и рассеянной части. Расположена в месте соединения шейки мочевого пузыря с мочеполовым каналом. У быка тело железы состоит из двух слитых воедино частей, имеет вид узкой полоски длиной 4 см, лежащей поперек уретры. Рассеянная часть железы окружает мочеполовой канал сверху и снизу и открывается в него несколькими отверстиями. Эта часть железы прикрыта мочеполовым мускулом и труднее обнаруживается. У барана и козла имеется только рассеянная часть. У жеребца и кобеля тело предстательной железы наиболее хорошо развито, а рассеянная часть выражена слабо или совсем отсутствует. У хряка тело железы крупное, имеет бугристую поверхность; рассеянная часть хорошо выражена. Выделяет предстательная железа жидкий секрет, который богат минеральными веществами и антаглютинином.

Куперовы железы (*gl. bulbourethralis*) расположены по одной с каждой стороны мочеполового канала. У быков они находятся на расстоянии 10–12 см кзади от предстательной железы и частично прикрыты луковично-пещеристым мускулом. Снаружи они окружены толстым слоем волокнистой ткани и имеют вид небольших эллипсоидных тел беловатого цвета; длина их составляет 2,3 см, толщина – 1 см. Протоки открываются одним отверстием в мочеполовой канал. Вырабатывают вязкое слизеподобное вещество. У барана и козла куперовы железы в 2–2,5 раза меньше, у кобеля они отсутствуют. У хряка железы сильно развиты, имеют вид толстых (2–3 см) продолговатых (до 15 см) пластинок шириной 3–4 см. У жеребца они величиной с грецкий орех.

Половой член (penis) – орган совокупления. Имеет прикрепленную часть – *корень*, основную часть – *тело* и свободный конец – *головку*. Основу полового члена составляет пещеристое тело. Оно берет начало от седалищных бугров двумя ножками, которые вскоре сходятся и образуют тело пениса. Пещеристое тело представляет собой трубчатую систему несимметричных кровеносных сосудов, которые при половом возбуждении наполняются кровью при высоком давлении. Этому способствует задержка оттока крови по глубоко расположенным венам вследствие сдавливания их набухающей эректильной тканью. Питание половой член получает от внутренней срамной (*a. pudenda interna*) и наружной семенной (*a. spermatica externa*) артерий. Снизу пещеристое тело имеет углубление (*желобок*). В нем располагается мочеполовой канал. Снаружи половой член покрыт соединительно-тканной (*белочной*) оболочкой.



- а – быка; б – барана; в – козла; г – жеребца;
 д – хряка (1 – отросток мочеполового канала с отверстием;
 2 – колпачок головки; 3 – венчик головки; 4 – бугорок с левой стороны;
 5 – шейка головки; 6 – препуций; 7 – шов препуция; 8 – шов головки);
 е – двойной пенис быка с препуциями

Рисунок 1.15 – Головка полового члена

У быка пенис цилиндрической формы длиной около 90 см и 2,5–3 см в диаметре. По направлению к свободному концу он несколько суживается. Пещеристая ткань слабо развита, за исключением корня. В расслабленном состоянии пенис образует S-образный изгиб, который расположен непосредственно сзади мошонки. Выпрямляющий мускул вытягивает пенис вперед, сжимает вены полового члена, тем самым способствует эрекции. За счет выпрямления изгиба длина полового члена увеличивается. Втягивающие (отводящие) мускулы прикреплены к передней части S-образного изгиба и при сокращении придают пенису изогнутое положение. Тело пениса полностью скрыто в области промежности и двуслойной мускульно-эластической оболочке; удерживается подвешивающей связкой пениса.

Головка пениса быка имеет более 7 см в длину, приплюснута и снабжена острым концом. На головке различают: шейку, отросток мочеполового канала и чехол (колпачок). На *шейке головки* имеется шов, закрученный по ходу головки в левую сторону. Во время эякуляции шов натягивается, и конечная часть полового члена заворачивается в сторону, описывая почти полный круг. *Отросток мочеполового канала* не доходит до конца полового члена. В головке пещеристой ткани немного и во время эрекции увеличивается она несильно, но становится более твердой. Однако и при расслаблении консистенция головки твердая. Покрыта головка пениса тонким многослойным плоским эпителием, образующим много впячиваний в соединительно-тканый слой. Обильно снабжена чувствительными нервными окончаниями из симпатической и парасимпатической нервной системы. Рецепторы, воспринимающие холод (*тельца Краузе, генитальные*) и осязательные (*Мейснеровы тельца*), расположены поверхностно. Более глубоко в эпителии находятся чувствительные к давлению нервные окончания – *Фатер-Пачиниевы тельца*.

У хряка, барана и козла половой член, как и у быка, имеет S-образный изгиб. В выпрямленном состоянии пенис достигает длины у хряка 50–70 см, у барана и козла – 40–50 см. У этих животных головка пениса слабо выражена, заострена, причем у хряка она штопорообразно закручена. Мочеполовой отросток у козла и барана продолжается за пределы пениса на 3–4 см; у барана он изогнут, а у козла – прямой. У кобеля в передней части пениса заложена кость длиной 8–10 см; головка утолщена, а в задней части ее имеется пещеристое образование (луковица), которая набухает во время эрекции. У жеребца пенис прямой и в состоянии напряжения достигает длины 90 см или более; головка хорошо развита и содержит много эректильной ткани, которая сильно набухает в процессе совокупительных движений и придает головке грибовидную форму. Отросток мочеполового канала находится в ямке головки.

Головка полового члена располагается в ***препуциальном мешке (praeputium)***. У быка препуций – длиной около 38 см. Внутренняя оболочка препуция имеет два листка: *париетальный*, выстилающий полость препуция, и *висцеральный*, переходящий на половой член. Оболочка сильно складчатая, покрыта плоским многослойным эпителием, при выдвигении полового члена складки расправляются и прикрывают тело пениса. В толще своей слизистая оболочка имеет особые сальные железы, которые выделяют препуциальную смегму, способствующую скольжению пениса. Снаружи препуций покрыт кожей; заканчивается отверстием, расположенным позади пупка. Отверстие снабжено пучком длинных волос. У хряка полость препуция разделена кольцевой складкой на широкую переднюю и узкую заднюю части. В верхней стенке передней части находится небольшое отверстие, которое ведет в дивертикул препуция (*diverticulum praeputii*). У жеребца препуций сложный, образует двойной кожный мешок. В нем различают наружный и внутренний препуции, состоящие в свою очередь из наружного и внутреннего листков.

Андрологическое исследование быка. *Андрологическое исследование быка* включает физическое (телесное) исследование всех компонентов его половой системы, в том числе и расположенных в тазовой полости, наблюдение за поведением его в присутствии самки в охоте или других быков, а также наблюдение за половым актом. В заключение исследуют качество выделенной спермы.

Проводят исследование в спокойной обстановке. При контакте быка с другим животным обращают внимание на проявление эрекции, а при выдвигании пениса – на состояние его и целостность. Обязательно учитывают время, в течение которого достигается полная эрекция и появляется у быка стремление к садке на другое животное. Высокая половая активность у быков, как правило, связана с высокой плодовитостью. Поэтому изучению поведения быка в период контакта с другими животными придают большое значение.

Внутреннее исследование (ректальное) не должно предшествовать получению спермы в искусственную вагину или случке с коровой.

Для проведения клинического исследования животное размещают в хорошо освещенном манеже (или на открытой площадке), фиксируют, затем осматривают половые органы и тщательно их пальпируют. При осмотре обращают внимание на величину и симметричность обеих половин мошонки, целостность кожи ее и препуция. При пальпации семенников (сзади или сбоку) определяют степень подвижности их в полости мошонки, величину и консистенцию.

У здоровых быков семенники эластичные, имеют гладкую поверхность, легко смещаются по направлению к паховому каналу. Головка придатка у быка прощупывается на верхнем конце семенника в виде широкого, изогнутого плоского возвышения; хвост придатка внизу семенника эластичной консистенции округлый, массивный. Случаи закупорки канала придатка семенника («застой спермы»), связанные с отсутствием протоков в семявыносящих канальцах или с нарушением продвижения в них сперматозоидов, у быков редки. У таких животных в области головки придатка пальпируются утолщения в виде узелков различной величины (до небольшого грецкого ореха); семенники имеют более плотную консистенцию. Изменяется консистенция семенников и с возрастом животных – они становятся более плотными.

Величина семенников у молодых половозрелых быков в значительной степени влияет на объем и качество эякулятов. Во многих работах подтверждалось наличие корреляционной связи между величиной семенников и показателями спермопродукции производителя и указывалось на возможность с высокой точностью прогнозировать воспроизводительную способность производителей и, что очень важно, оплодотворяющую способность спермы.

В семенниках с большей массой паренхима занимает в них большую долю. В ряде работ была установлена корреляционная связь между массой семенников и абсолютным числом клеток Сертоли и количеством образу-

емых сперматид. Чем больше содержалось в семенниках клеток Сертоли, тем выше были показатели дневной спермопродукции производителей. Масса семенников половозрелых быков иногда достигает 550–600 г, что обуславливает продуцирование свыше 8 млрд клеток в сутки.

Величина семенников прямо коррелирует с основными показателями спермопродукции производителя. У быков и хряков о морфологическом развитии их половых желез можно судить по промерам семенникового мешка. Снимают промеры при помощи мягкой сантиметровой ленты. У быков рекомендуется определять:

– *окружность мошонки по горизонтали* (во фронтальной плоскости) в наиболее широком месте семенникового мешка;

– *поперечный обхват мошонки*, начиная с верхней, латеральной границы правого семенника, по наружной стенке семенникового мешка (в сегментальной плоскости), заканчивая у верхней, латеральной границы левого семенника;

– *обхват мошонки по сагиттальной линии*, начиная с верхней, краниальной границы семенников по медианной линии семенникового мешка (в сагиттальной плоскости), заканчивая у верхней, каудальной границы семенников.

Взятие промеров (*in vivo*) должно производиться при полном опускании обоих семенников в полость мошонки. Для быков черно-пестрой и голштинской пород разработаны критерии оценки морфологического развития половых желез (табл. 1.1).

Таблица 1.1 – Минимальные требования к морфологическому развитию половых желез у быков-производителей в различном возрасте (по Г.Ф. Медведеву, С.О. Турчанову)

Промеры семенного мешка	Возраст производителей, лет					
	1	1,5	2	3	4	6
Окружность, мм	315	330	350	360	360	370
Поперечный обхват, мм	325	345	365	385	385	410
Обхват по сагиттальной линии, мм	235	260	260	260	275	300

Препуций и половой член осматривают сначала в спокойном состоянии, а затем – в момент садки самца на самку (чучело, другого самца). Обращают внимание на состояние слизистой оболочки препуция и полового члена, величину отверстия препуция, полноту выдвижения пениса и отсутствие или наличие уздечки, повреждений и новообразований на головке пениса.

Придаточные половые железы у быков исследуют рукой через прямую кишку. У них легко пальпируются возле шейки мочевого пузыря ампулы спермиопроводов и пузырьковидные железы.

1.4. Анатомо-топографические особенности половых органов птиц

Цель занятий: приобретение студентами глубоких знаний морфо-функциональных особенностей и топографии половых органов домашних птиц.

Объекты исследования, материалы и оборудование: половые органы убитых самок и самцов птиц; муляжи, рисунки, диаграммы, слайды, гистопрепараты; перчатки резиновые; анатомические и хирургические пинцеты, скальпели, ножницы прямые и Купера; весы, измерительные линейки, штангенциркули, лупы, кюветы, тазы.

Половые органы самок птиц. Половая система самок птиц (рис. 1.16) включает яичник и яйцевод. В эмбриональный период закладываются они как парные органы, но правосторонняя часть редуцируется и только левосторонняя достигает у половозрелых самок полного развития. Иногда могут быть развиты и правосторонние половые органы.

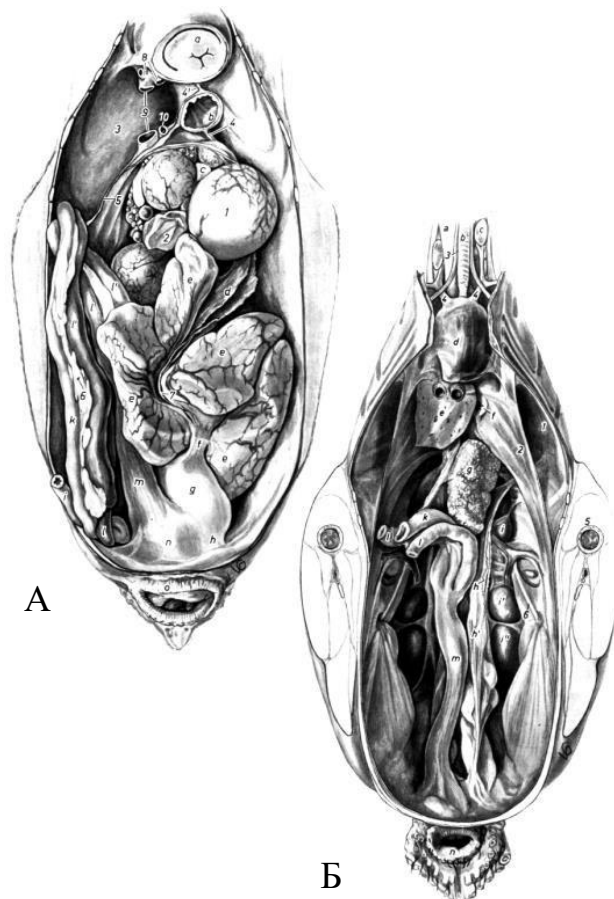
Яичник у половозрелых несушек гроздевидной формы массой 50–60 г удерживается в верхней части тела короткой *брыжейкой*, в которой проходят сосуды и нервы. Располагается яичник на передней доле левой почки и полностью закрывает надпочечник.

В яичнике различают две зоны: корковую и мозговую. Корковое вещество образовано рыхлой соединительной тканью и интерстициальными клетками и содержит большое количество мелких белых или сероватых фолликулов с ооцитами 1-го порядка в стадии малого и медленного роста и несколько крупных желтых фолликулов с ооцитами 1-го порядка в стадии быстрого роста. Встречаются и пигментные клетки, содержащие гемосидерин.

Во время активной яйцекладки в яичнике видно несколько крупных фолликулов, находящихся в периоде быстрого роста, несколько овулировавших фолликулов на разной стадии дегенерации, большое количество мелких фолликулов в периоде малого и медленного роста, а также атретические фолликулы, погибшие и подвергающиеся перерождению. Чем крупнее фолликул, тем сильнее он выступает за пределы корковой зоны; наиболее крупные фолликулы подвешены на длинных ножках, соединяющих их с яичником.

Граница между корковой и мозговой зонами неровная и нечеткая. Соединительная ткань мозговой зоны более плотная, с большим количеством коллагеновых волокон.

Между пучками их залегают группы интерстициальных клеток, проходят сосуды разного диаметра – разветвления яичниковой артерии и нервные волокна, образующие у входа в яичник яичниковое сплетение. Сосуды и нервы из мозговой зоны переходят в корковую зону и разветвляются в стенках фолликулов.



А: а – сердце в перикарде, поперечный разрез правого и левого желудочка; б – преджелудок, начальная часть; с – фолликулы в различных стадиях развития; d – воронка яйцевода; е, е, е, е – магнум (вторая удлинённая и более извитая часть яйцевода с многочисленными кровеносными сосудами); f – истмус яйцевода; g – матка; h – вагина; i – конечная часть тощей кишки в месте ее перехода в подвздошную кишку; k – подвздошная кишка; l, l – правая и l¹, l¹ – левая слепая кишка; m – ободочная кишка; n – клоака; o – анус. 1 – фолликул близок к разрыву; 2 – чашевидная полость; 3 – правый гепатоперитонеальный мешок и дорзальный к правому краниальному грудному воздушному мешку; 4, 4¹ – дорзальная и вентральная связка преджелудка; 5 – краниальная двойная серозная пластинка висцероперитонеального мешка; 6 – подвздошно-слепокишечная связка с жировой тканью; 7 – вентральная перитонеальная складка яйцевода; 8 – печеночная вена, впадающая в заднюю полую вену; 9 – задняя полая вена; 10 – артерия coeliaca.

Б: а – пищевод; б – трахея; с – щитовидная железа; d – сердце в перикарде; е – часть печени с печеночной веной; f – краниальная часть преджелудка; g – яичник; h – воронка яйцевода и h¹ – яйцевод со связкой; i – передняя, i¹ – средняя и i¹¹ и задняя доли почки; k – подвздошная кишка; l, l¹ – слепая кишка; m – ободочная кишка; n – анус. 1 – горизонтальная перегородка; 2 – косая перегородка; 3 – мускул *upsilotrachealis*; 4 – артерия брахиоцефалика; 5 – бедро; 6 – запирающий нерв.

Рисунок 1.16 – Половые органы и часть пищеварительного тракта в раскрытой полости тела курицы в период яйцекладки (А) и покоя (В) [6].

Яйцевод – трубкообразный и складчатый орган с утолщенными стенками, расположен в левой половине брюшной полости. Удерживается на двух широких связках, которые простираются от четвертого ребра до клоаки. В период полового созревания длина яйцевода составляет у курицы 40–60 см, у индейки – 75–100, у утки – 55–85, у гусыни – 60–110 см. В яйцеводе хорошо выражены следующие участки: *воронка*, *белковый отдел*, *перешеек*, *матка*, *влагалище*. С прекращением яйцекладки происходит инволюция яйцевода, уменьшается его величина, стираются границы между частями. При следующей яйцекладке он вновь достигает полного развития.

Стенка яйцевода представлена слизистой, мышечной и серозной оболочками. *Слизистая оболочка* складчатая, состоит из покровного эпителия собственной пластинки, образованной рыхлой соединительной тканью. В покровном эпителии имеются реснитчатые и бокаловидные клетки. В собственной пластинке встречаются плазматические клетки, лимфоциты, эластические волокна и мышечные клетки, много сосудов. В ней на протяжении почти всего яйцевода, кроме воронки и влагалища, залегают простые трубчатые железы, выделяющие секрет белкового характера.

Мышечная оболочка состоит из двух слоев гладких мышечных волокон: внутреннего – кольцевого и наружного – продольного. Эта оболочка утолщается в каудальном направлении.

Серозная оболочка состоит из тонкого слоя соединительной ткани, покрытой однослойным плоским эпителием. У кур и индеек эта оболочка в области воронки складчатая, у уток складки имеются и в перешейке, а у гусыни – по всему яйцеводу. Конечный отдел влагалища покрыт рыхлой соединительной тканью (адвентицией).

Яйцевод снабжается кровью яичниковой, седалищной и внутренней подвздошной артерий. Иннервируется вегетативной нервной системой. Ветви симпатических нервов идут к нему из яичникового и других сплетений. Парасимпатическая иннервация осуществляется в основном тазовым внутренностным нервом.

Воронка (передний отдел яйцевода) широким раструбом примыкает к области яичника. В ней выделяют тонкостенную, конусовидную, открытую в сторону гонады *собственно воронку* и *шейку*. Края воронки снабжены *бахромками* – *фимбриями*. Слизистая образует мелкие беспорядочные складки, не содержит желез. В покровном эпителии преобладают реснитчатые клетки. В мышечной оболочке нет четкого деления на слои.

Шейка воронки узкая, слизистая оболочка ее имеет крупные ветвящиеся складки. На дне складок открываются трубчатые железы, выделяющие белок для градинок – халаз, отчего этот участок еще называют халазообразующим участком воронки. Затем яйцевод расширяется и переходит в *белковый отдел*.

Белковый участок (в нем образуется белок) – самый длинный и широкий в яйцеводе. Длина его у курицы и утки – 25–40 см, у индейки – 36–50, у гусыни – 30–55 см. Толщина стенки этого участка у разных видов птиц

колеблется от 200 до 1000 мкм и определяется в основном толщиной слизистой оболочки; толщина мышечной оболочки не превышает 40–300 мкм. Слизистая оболочка образует 20–25 крупных продольных, слегка спиральнообразных складок высотой до 5 мм и шириной 2–3 мм, изрезанных многочисленными вторичными и третичными складками. В покровном эпителии белкового отдела чаще чем в других участках яйцевода встречаются бокаловидные клетки, вырабатывающие овомуцин. На дне и боковых сторонах складок слизистой оболочки открываются многочисленные железы с разветвленными концевыми отделами. В собственно пластинке слизистой оболочки встречаются скопления плазматических клеток и лимфоцитов, выполняющих защитную функцию. Железы образованы однослойным призматическим эпителием высотой 10–15 мкм.

К концу белкового отдела складки уменьшаются, затем исчезают, и яйцевод переходит в узкий полупрозрачный безжелезистый участок длиной 5–10 мм.

Перешеек – отдел яйцевода, в котором образуются подскорлупные оболочки. Длина перешейка у курицы – 10–12 см, у индейки – 14–20, у утки – 9–17, у гусыни – 9–20 см. Диаметр меньше, чем у белкового отдела, но стенка несколько толще за счет увеличения мышечной оболочки до 100–700 мкм. Складки слизистой оболочки продольные, более низкие (до 4 мм) и тоньше (до 1,5 мм). Покровный эпителий низкий. Реснитчатые и бокаловидные клетки встречаются в равных количествах. Железы расположены рыхло, диаметр железистых трубок несколько больше. Без видимой границы перешеек переходит в матку.

Матка (скорлуповый отдел) – самая широкая мешкообразная часть яйцевода. Длина ее у домашних птиц – 5–8 см, толщина стенки – до 4 мм. Хорошо развита мышечная оболочка, особенно внутренний кольцевой слой. Слизистая оболочка собрана в многочисленные (от 60 до 140) листообразные продольные складки, на которых имеются вторичные складки. В покровном эпителии преобладают реснитчатые клетки. В собственно пластинке слизистой оболочки залегает большое количество разветвленных трубчатых желез. Диаметр их не превышает 25 мкм. Клетки низкие призматические, с длинными микроворсинками.

На границе с влагалищем матка сужается, образуя маточно-влагалищное сочленение, или шейку матки, длиной 1–3 см. Шейка представляет собой маточно-влагалищный сфинктер, который закрывает выход из матки во влагалище и способный выдерживать давление находящегося в матке яйца. Сфинктер имеет вид спирали, закрученной и сложенной гармошкой. Позади него находится участок длиной 2–5 мм, покрытый реснитчатыми клетками и содержащий простые, трубчатые спермонакопительные железы. Благодаря движению ресничек эпителиальных клеток в просветах желез скапливается до 40% сперматозоидов, которые располагаются хвостами наружу, головками к железистым клеткам.

Влагалище представляет собой мускульную трубку, открывающуюся в клоаку. Длина его у курицы и гуся колеблется от 3 до 8 см, у индейки и ут-

ки – от 3 до 5 см. Толщина стенки влагалища у разных видов колеблется от 2 до 5 мм и зависит в основном от мышечной оболочки. Слизистая оболочка образует узкие продольные складки, на которых у всех домашних птиц (кроме индейки), имеются вторичные складки, покрытые высокопризматическим эпителием с преобладанием реснитчатых клеток. Собственно пластинка слизистой оболочки образована плотной неоформленной (у индейки рыхлой) соединительной тканью, не содержит желез. На границе между влагалищем и клоакой у молодой не несущейся птицы имеется запирающая пластинка, которая прорывается либо при снесении первого яйца, либо немного раньше.

Половые органы самцов птиц. Половая система самцов птиц (рис. 1.17) состоит из двух семенников и их придатков, спермиопроводов, открывающихся в уростом клоаки половыми сосочками. Придатки семенника слабо развиты. Придаточные половые железы отсутствуют. Половой член у многих видов отсутствует или рудиментарен.

Семенники у птиц расположены в брюшной полости. Они овальной или бобовидной формы. Находятся в полости тела и удерживаются на коротких связках, простирающихся между сердечной сумкой и почками. Соприкасаются с вентральной поверхностью передних долей почек и в период половой активности закрывают собой надпочечники. Передний конец семенников доходит до легких, задний – прилежит к брюшному воздухоносному мешку. Вогнутые края, от которых отходят придатки семенников, обращены друг к другу.

У неполовозрелых особей и у взрослых самцов в период покоя семенники желтоватого или розоватого цвета. У молодых петушков и индюков передняя часть семенников бывает сильно пигментирована. У половозрелых особей в период половой активности цвет семенников белый. У взрослых петухов семенники составляют 1–2%, у индюков – 0,5–1, у гусак – 0,3, у селезней – 2–2,5% массы тела. Левый и правый семенники у петуха различаются незначительно, а у самцов других видов домашних птиц левый семенник заметно больше правого (у индюка и селезня – примерно в 2 раза).

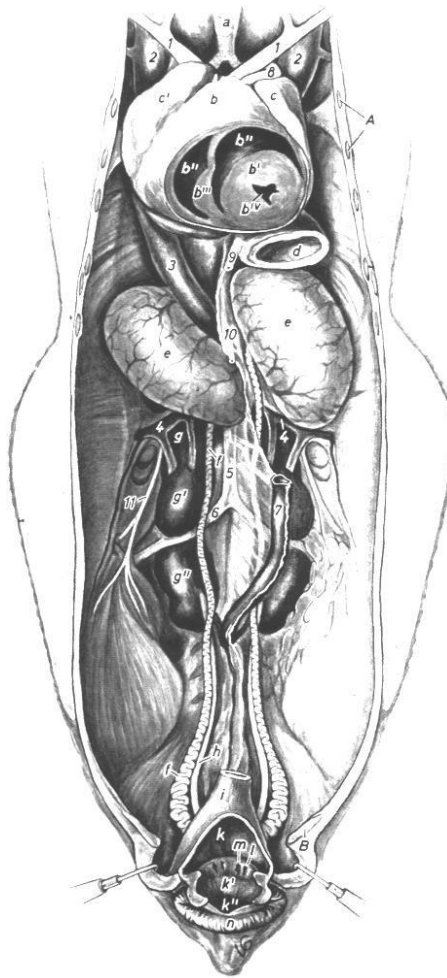


Рисунок 1.17 - Топография полости тела петуха (вид с вентральной стороны): А – ребра; В – лобок; а – трахея; b – сердце с межжелудочковой перегородкой (b^I), правым желудочком (b^{II}), правым атрио-вентрикулярным клапаном (b^{III}) и левым желудочком (b^{IV}); c – левое, c^I – правое предсердие; d – преджелудок; e, e – семенники; f, f – семяпровод; g – передняя, g^I – средняя и g^{II} – задняя доли почки; h – мочеточник; i – толстая кишка; k– k^{II} – клоака с копродеум (k), уродеум (k^I) и проктодеум (k^{II}); l – отверстие левого семяпровода; m – отверстие левого мочеточника; n – анус; 1. 1 – артерия брахиоцефалика; 2, 2 – яремная вена; 3 – полая вена каудальная; 4, 4 – наружная подвздошная вена; 5 – аорта брюшная; 6 – седалищная артерия; 7 – внутренняя подвздошная вена; 8 – легочной синус; 9 – артерия чревная; 10 – краниальная брыжеечная артерия; 11 – запирательный нерв [6].

Снаружи семенник покрыт *белочной оболочкой* толщиной 36–60 мкм. Она содержит тонкие коллагеновые и эластические волокна и большое количество фибробластов. В белочной оболочке проходят кровеносные сосуды. Внутри органа от этой оболочки перегородки почти не отходят, а лишь очень тонкие тяжи сопровождают сосуды, проходящие внутрь органа. В связи с этим у птиц в семеннике средостение не развито.

В соединительнотканых прослойках находятся *клетки Лейдига*, лежащие поодиночке или небольшими группами.

Основную массу семенников составляют *извитые канальцы*, в которых происходит сперматогенез. Они не оканчиваются слепо, как у млекопитающих, а соединены между собой в единую сеть. Такое строение извитых канальцев способствует полному и быстрому выведению зрелых сперматозоидов в период невысокой половой активности (в начале или конце периода спаривания).

Оболочка извитого канальца состоит из тонкого слоя соединительной ткани с сильно уплощенными фибробластами, с небольшим количеством коллагеновых и эластических волокон. Снаружи к этому слою примыкают миоэпителиальные клетки. *Сперматогенный эпителий* отделен от оболочки канальца базальной мембраной. У половозрелого петуха диаметр извитых канальцев 250–300 мкм, а общая длина их составляет 250 м.

У медиального края семенника извитые канальцы переходят в *сеть семенника*. Это система очень коротких собирательных канальцев, выстланных однослойным эпителием, в котором имеются клетки Сертоли. Подходя к медиальной стенке семенника, собирательные канальцы сети переходят в *семявыносящие канальцы*, входящие в состав придатка семенника.

Придаток семенника располагается вдоль заднего края семенника, покрыт общей с семенником капсулой, имеет яркую желтую окраску. В придатке находится сильно извитый проток, в который на разных уровнях впадает до 7–10 семявыносящих канальцев. Отдельные канальцы идут параллельно протоку придатка и впадают непосредственно в спермиопровод. Длина и извитость выносящих канальцев и протока придатка увеличиваются в период гона. Стенка их образована многорядным цилиндрическим эпителием с железистыми и мерцательными клетками.

В придатке семенника сперматозоиды не созревают, как у млекопитающих, чем, возможно, объясняется быстрая гибель (в течение первого часа) их во внешней среде.

Семяпровод – извитый трубкообразный орган, отходит от протока придатка на уровне срединной линии заднего края семенника. Диаметр его – 0,4–0,9 мм. Тянется назад по вентральной поверхности почки сбоку от мочеточника. Перед впадением в клоаку сначала выпрямляется, превращаясь в семяизвергательный канал, затем мешкообразно расширяется и, наконец, открывается *половыми сосочками* в уростом клоаки сбоку от отверстия мочеточника. У петуха и индюка половые сосочки куполообразной формы, высотой 2–3 мм, у гусака и селезня – веретеновидной.

Стенка спермиопровода образована слизистой, мышечной и соединительнотканной оболочками. Эпителий слизистой оболочки многорядный, высокопризматический. Собственная пластинка слизистой оболочки образована плотной соединительной тканью. В ней имеются гладкомышечные клетки, которые могут собирать слизистую в невысокие продольные складки. Диаметр спермиопровода постепенно увеличивается за счет увеличения просвета и утолщения слизистой и мышечной оболочек.

В передней части спермиопровод часто имеет коллатерали – боковые ответвления, которые тянутся параллельно ему, заканчиваясь слепо или вновь впадая в него. По-видимому, эти дополнительные каналы служат резервуаром для спермы в период наивысшей половой активности, так как в это время они заполнены спермиями. В другое время запустевают и частично редуцируются.

Органы совокупления (рис. 1.18) располагаются в проктодеуме клоаки. У петуха они представлены тремя пенисными телами – медиальным (белым телом) величиной 2–3 мм в спокойном состоянии и двумя латеральными (овальными складками) диаметром по 3–4 мм, окружающими их лимфатическими складками и пещеристыми телами. Пенисные тела лежат на вентральной стенке проктодеума у входа в клоаку. У индюка медиальное пенисное тело не развито.

Органы совокупления получают кровь от срамной артерии. Капилляры срамных артерий и вены вместе с лимфатическими капиллярами и синусами образуют сосудистые тела, залегающие в стенке уродеума. При половом возбуждении кровь и лимфа приливают к пещеристым полостям пенисных тел, они напрягаются, между ними становится заметен эякуляторный желоб, по которому стекает сперма.

При копуляции у куриных, клоаки самца и самки тесно соприкасаются, и сперма по эякуляторному желобу поступает во влагалище, минуя клоаку. При искусственном клоакальном осеменении оплодотворяемость не превышает 12%, тогда как при влагалищном – достигает 95%.

У гусиных, особенно у селезня, хорошо развит половой член. Он представляет собой складку слизистой оболочки вентральной стенки клоаки, пронизанную пещеристыми телами. По его поверхности винтообразно проходит, делая четыре оборота, эякуляторный желоб. При эрекции половой член селезня может достигать в длину 8 см, края эякуляторного желоба смыкаются, превращая его в канал, по которому сперма попадает в яйцевод утки.

Такое строение пениса является приспособительной реакцией организма, направленной на сохранение спермы при спаривании в воде. Через несколько секунд после эякуляции кровь оттекает из пещеристых тел, и половой член втягивается обратно с помощью эластической связки и мышц стенки клоаки.



а



б

- 1 – латеральное пенисное тело; 2 – медиальное пенисное тело;
 3 – лимфатические складки; 4 – мочеточник; 5 – прямая кишка;
 6 – отверстие мочеточника; 7 – копродеум;
 8 – сосочек спермиоизвергательного канала; 9 – уродеум;
 10 – проктодеум; 11 – половой член; 12 – эякуляторный желоб

**Рисунок 1.18. Схема строения органов совокупления
 (а – индюка, б – гуся)**

Контрольные вопросы

1. Какую функцию выполняют яичники, яйцеводы, матка, влагалище, клитор, преддверие влагалища?
2. Какие имеются особенности в строении яичников коровы, свиньи, кобылы?
3. Какие половые гормоны выделяют яичники? Их биологическое действие на организм самки?
4. Как происходит созревание фолликулов в яичниках, какие изменения претерпевает половая клетка и на какой стадии развития находится она перед овуляцией?
5. Какие эпителиальные клетки покровного эпителия влагалища и какая характерная картина вестибулярного мазка-отпечатка коровы в различные фазы полового цикла?
6. В каких участках половых путей эпителиальные клетки (или железы) продуцируют слизь?

6. К какому типу относят матку коровы и овцы, свиньи, кобылы?
7. Где располагаются матка и яичники у коровы, кобылы, свиньи?
8. Каков мочеполовой клапан у intactных телок, свинок, кобылок?
9. Какие основные половые органы самок птиц? Каковы принципиальные отличия их от органов млекопитающих?
10. Что собой представляет яичник у половозрелых несушек?
11. Какой формы, величины и какого цвета имеются фолликулы в яичнике птиц? Как располагаются они в корковом слое по мере созревания?
12. Какие отделы (участки) выделяют в яйцеводе птиц? Какие отличия в строении слизистой оболочки различных участков яйцевода?
13. В каком участке яйцевода накапливаются сперматозоиды после осеменения самцом, как они располагаются?
14. Какие основные половые органы самцов птиц? Каковы принципиальные отличия их от органов млекопитающих?
15. Что собой представляют семенники и придатки семенников у половозрелых самцов? Где они располагаются?
16. Каково строение органов совокупления у самцов и у всех ли видов они имеются?

2. РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ЖИВОТНЫХ

2.1. Репродуктивная функция самок

Цель занятий: изучение студентами особенностей проявления репродуктивной функции у самок сельскохозяйственных животных и приобретение навыков работы с их половыми клетками (ооцитами), полученными из яичников убитых животных.

Объекты исследования, материалы и оборудование. Животные: корова, кобыла, коза (овца), свинья. Случная шлея (повал), носовые щипцы, веревки для фиксации животных. Ультразвуковой диагностический сканер FF sonic UF-750XT и EasyScan; влагиалищные зеркала и осветители к ним. Перчатки латексные и одноразовые полиэтиленовые. Яичники убитых животных. Микроскопы МБР и МБС-9(10), МБИ-11 с телевизионной камерой или BestScore, предметные и покровные, часовые стекла. Чашки Петри (маркированные), стеклянные палочки и трубочки диаметром 2–3 мм. Среда Дюльбекко, спирт этиловый 96%-ный; шприцы и иглы, лупы, кюветы, тазы.

Методические указания. Сначала студенты знакомятся с особенностями фолликулогенеза у самок сельскохозяйственных животных, характером их половой цикличности, а затем осматривают подготовленные яичники убитых самок, изучают их форму, величину, наличие желтых тел и фолликулов, оболочки и слои яичника. Из полостных крупных фолликулов извлекают фолликулярную жидкость и исследуют под микроскопом для обнаружения ооцита; при обнаружении в яичниках овуляции промывают яйцевод и матку физиологическим раствором (средой Дюльбекко) и промывную жидкость также исследуют под микроскопом. При отсутствии крупных полостных фолликулов путем разрезов стенки яичника извлекают ооциты.

У коровы и у кобылы с помощью ультразвукового сканера исследуют яичники.

2.1.1. Половое созревание

Способность к воспроизведению гипофиза. Гипофиз начинает секретировать гонадотропные гормоны (*ФСГ и ЛГ*). Под их влиянием увеличиваются размеры и масса яичников и диаметр фолликулов в них. Созревающие фолликулы вырабатывают *половые гормоны*, которые обуславливают рост, развитие влагиалища и матки. Половой аппарат самки приобретает способность выполнять свои функции; наступает *половая зрелость*. Внешним проявлением половой зрелости является течка и половая охота; в яичниках происходит овуляция.

Половая зрелость наступает: у *кобылиц* – в возрасте 15–24 мес., живая масса 250–310 кг; у *ярок* – в 5–8 мес., живая масса 27–34 кг; у *коз* – в 5–7 мес., живая масса 10–30 кг; у *свинок* – в 5–8 мес. при достижении живой

массы 68–90 кг. У *телок* молочных пород первая половая охота наблюдается в 8–13 мес. (6–18 мес.), живая масса около 270 кг, у *телок* мясных пород – в 10–15 мес.

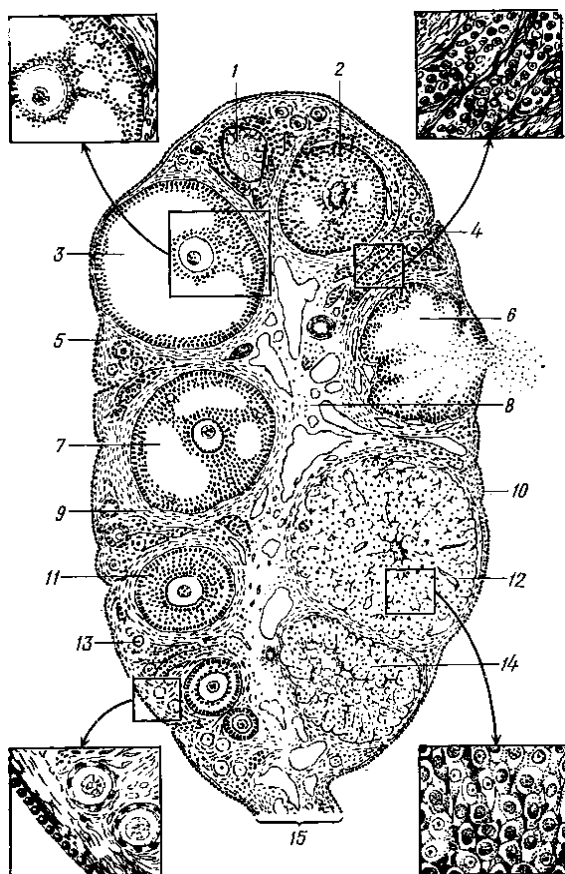
Сроки полового созревания зависят от уровня кормления, условий содержания, породы животных, сезона рождения и других факторов. Повышение уровня кормления *телок* ускоряет половое созревание, при этом происходит увеличение и живой массы. Обильное кормление и, как следствие, ожирение в раннем возрасте отрицательно влияет на развитие вымени. Рекомендуемый среднесуточный прирост живой массы в течение 15 мес. для черно-пестрого скота 600–900 г. Осеменяют их с 13–15-месячного возраста при достижении живой массы 363 кг.

Созревание фолликулов, овуляция, образование желтого тела. У эмбрионов-самок в яичниках закладывается несколько десятков тысяч фолликулов. Каждый *первичный* фолликул состоит из *оогония* и слоя фолликулярных клеток. Располагаются фолликулы в корковом слое. В процессе роста оогоний увеличивается и превращается в *первичный ооцит*; вокруг него образуется прозрачная оболочка. Одновременно разрастаются эпителиальные (фолликулярные) клетки; количество слоев их увеличивается до трех и более. Между клетками образуются полости, в которых накапливается жидкость. Полости объединяются в одну большую полость. Ооцит оттесняется к стенке фолликула. Он располагается в скоплении эпителиальных клеток, в *яйцевом бугорке* (*cumulus oophorus*, рис. 2.1). Клетки, которые непосредственно окружают ооцит, образуют кольцо – *лучистый венец* (*corona radiata*). Ободок клеток, выстилающих полость фолликула, называют *гранулезой*. Содержащаяся в полости *фолликулярная жидкость* вязкая, богата эстрогенами. Она способствует увеличению и растяжению фолликула и выходу его из коркового слоя на поверхность яичника.

Гранулезные клетки окружены мембраной. Вокруг нее расположены два слоя клеток, которые образуют оболочку фолликула. Внутренний слой (*theca interna*) окружает фолликул с момента роста ооцита до овуляции. Клетки внутреннего слоя играют большую роль в продуцировании половых гормонов и в образовании желтого тела. Их ядра округлые, в отличие от удлинённых, расположенных концентрическими слоями вокруг фолликула, ядер клеток наружной оболочки (*theca externa*).

Состоит наружная оболочка преимущественно из соединительной ткани и гладких мышечных волокон, обильно снабжена кровеносными сосудами.

Созревающий фолликул становится округлым и набухшим и возвышается над поверхностью яичника. Внутренняя оболочка его приближается и соприкасается с оболочкой яичника. Обе они истончаются, появляется конусовидный выступ, на вершущке которого образуется разрыв. Яйцевой бугорок (с ооцитом) теряет связь со стенкой фолликула и вместе с жидкостью выходит через разрыв; происходит *овуляция*.



- 1 – беловатое тело,
- 2 – атретический фолликул,
- 3 – граафов пузырь (фолликул),
- 4 – интерстициальная ткань,
- 5 – белочная оболочка,
- 6 – разорвавшийся фолликул,
- 7 – зреющий фолликул,
- 8 – мозговой слой,
- 9 – первичные фолликулярные клетки,
- 10 – зародышевый эпителий,
- 11 – растущий фолликул,
- 12 – желтое тело,
- 13 – первичный фолликул,
- 14 – рассасывающееся желтое тело,
- 15 – хилус (ворота органа).

**Рисунок 2.1 – Модель
яичника млекопитающих**

Стимулирует овуляцию лютеинизирующий гормон (ЛГ). Раздражение рецепторов полового тракта способствует выделению этих гормонов. У верблюдицы, крольчихи, кошки, хомяка овуляция происходит после полового акта. У других видов овуляция не зависит от коитуса. Перед овуляцией происходит редукционное деление первичного ооцита и образование первого полярного тельца.

После овуляции стенка фолликула спадается, становится складчатой. В центре складок формируется капиллярная сеть, которая обеспечивает кровоснабжение формирующегося желтого тела. Клетки его (*лютеальные*) развиваются из клеток гранулезы и внутренней оболочки. Желтое тело имеет дольчатое строение и желтый цвет; оно вырабатывает гормон *прогестерон*. Если животное не было осеменено или же после осеменения не оплодотворилось, то желтое тело подвергается обратному развитию. Это *желтое тело полового цикла*. При оплодотворении и наступлении беременности желтое тело остается; это *желтое тело беременности*.

Развитие фолликулов в яичниках происходит постоянно. Но до наступления половой зрелости они не достигают зрелости и подвергаются обратному развитию (атрезии) без выхода яйцеклетки. У половозрелых животных многие фолликулы также подвергаются атрезии.

Яичники исследуют трансректально с помощью ультразвукового сканера. Все манипуляции с яичниками проводят рукой с зондом, введенным в прямую кишку.

Извлечение ооцитов из яичников. Для изучения ооцитов можно использовать яичники всех видов животных. В корковом слое яичников имеется большое количество *первичных (primordial)* фолликулов.

Если при анатомическом исследовании в яичниках обнаруживают крупные полостные фолликулы, то можно из них извлечь ооциты. Если установлено, что овуляция уже произошла, то следует попытаться извлечь яйцеклетки из яйцеводов и матки. В зависимости от предполагаемых сроков овуляции промывают различные участки половых путей. У овец в первые трое суток промыванию подвергают яйцеводы, а иногда – и конечную часть рогов матки; на 5–7-й день делают смывы из большей части рогов матки, а после 9-го дня промывают всю матку. У коров на 3–4-й день промывают яйцеводы, а в последующем – яйцеводы и матку. У свиней яйцеводы промывают в течение первых 2 дней после овуляции.

Для извлечения зародышей из яйцеводов в воронку его вводят стеклянную трубочку (внутренний диаметр 2 мм) на глубину 3–5 см, и свободный конец ее помещают в маркированную чашку Петри. Физиологический раствор (среду Дюльбекко) 2–3 мл вводят при помощи шприца с иглой в яйцевод в месте соединения с маточным рогом и всю жидкость собирают. Если извлекают зародыши из рога матки (овца, корова), тогда тупой иглой прокалывают стенку на расстоянии 4–6 см от соединения его с яйцеводом и через прокол вставляют стеклянную трубочку (канюлю) в рог матки, а свободный конец ее помещают в емкость (чашку Петри) для зародышей. В просвет матки в месте соединения с яйцеводом шприцем с иглой вводят несколько миллилитров раствора. Чтобы раствор не терялся, рог матки за канюлей пережимают хирургическим пинцетом.

Если зародыши (овца) извлекают на 5–7-й день от начала охоты, то используют 5–10 мл раствора и делают смывы из большей части рогов матки. А для получения бластоцист через 9 дней после начала охоты промывают всю матку. При этом шейку матки пережимают зажимом, раствор вводят в верхушку одного рога матки, а собирают его через канюлю, вставленную в противоположный яйцевод. Собранный после промывания раствор исследуют под микроскопом МБС-9 или МБС-10.

Для получения ооцитов из зрелых фолликулов их вместе с фолликулярной жидкостью осторожно отсасывают шприцем с иглой. Фолликулярную жидкость помещают в небольшую чашку Петри и исследуют под микроскопом.

Ооциты из мелких полостных фолликулов извлекают путем измельчения коркового слоя яичников. Для этого используют лезвие безопасной бритвы. Его разламывают и одну часть фиксируют пинцетом Кохера. Над чашкой Петри, которую предварительно заполняют физиологическим раствором, по всей поверхности яичника делают частые и неглубокие надрезы вдоль и поперек. Измельченный яичник окунают в раствор, дают возможность отстояться и верхнюю часть его сливают, а в оставшейся части отыскивают ооциты.

2.1.2. Половой цикл, фазы полового цикла

С достижением половой зрелости у самок проявляется инстинкт спаривания. В их яичниках периодически созревают фолликулы, происходит овуляция, формируются желтые тела. Внешними проявлениями этих процессов являются *течка* и *половая охота*. Периодичность изменений в половых органах самок определяется термином «*половой цикл*».

Половой цикл – это комплекс структурных и функциональных изменений, происходящих в половом аппарате, эндокринной и других системах самки от одной половой охоты до другой (или от одной овуляции до другой). Интервал между двумя половыми охотами (или овуляциями) составляет продолжительность полового цикла.

Дикие животные – *моноциклические*, на протяжении года у них один половой цикл. Время года, когда проявляется половая активность, называют *половым сезоном*.

Корова и свинья проявляют половую цикличность на протяжении всего года – это *полициклические* животные. Кобылы, овцы и козы – *полициклические* животные с выраженным половым сезоном. У них отмечается несколько половых циклов, после чего половая функция ослабевает.

В половом цикле различают четыре фазы (стадии, периоды): проэструс, эструс, метэструс и диэструс.

Про-эструс – подготовительный период, характеризуется началом роста отдельных фолликулов в яичниках. Крупные фолликулы вырабатывают эстрогены. Под их влиянием усиливается кровоснабжение половых органов, половые губы набухают, слизистая влагалища становится толще и приобретает красный цвет. Секреция слизи клетками влагалища и шейки матки возрастает. Матка увеличивается, слизистая оболочка ее наполняется кровью и становится отечной.

Эструс – в эту фазу животное стремится к спариванию с самцом, допускает на себя садку и стоит спокойно под ним (*половая охота*). Половые губы опухают еще более заметно, покраснение слизистых оболочек половых путей усиливается. Клетки шейки матки и влагалища вырабатывают много слизи. Канал шейки матки расслабляется, слизь вытекает из половых органов (*течка*). Матка увеличивается, сократительная функция ее повышается. Завершается созревание фолликулов в яичниках, происходит овуляция.

Метэструс – послетечковая фаза. У коров завершение созревания фолликулов и овуляция происходит в эту фазу. После разрыва фолликулов клетки гранулезы и внутренней оболочки увеличиваются и превращаются в лютеальные; формируется желтое тело. В эндометрии разрастаются кровеносные сосуды, железы его вырабатывают секрет (маточное молоко). Секреция слизи ослабевает, канал шейки матки закрывается. Уменьшается приток крови к наружным половым органам, прекращается половая охота.

Диэструс – период между двумя циклами. Характеризуется доминированием желтых тел. Железы матки активны, мускулатура ее расслаблена,

а шейка закрыта. Количество слизи в шейке матки небольшое, консистенция ее вязкая. Слизистая оболочка влагалища бледная.

Анэструс – длительный период полового покоя, в течение которого функция яичников ослаблена. Развитие фолликулов не происходит или слабо выражено. У полициклических животных анэструс после окончания послеродового периода считается состоянием патологическим.

Явления (феномены) полового цикла – течка, половая охота, половое возбуждение – проявляются в связи с созреванием в яичниках фолликулов.

Половой цикл коровы. У телок и коров половые циклы проявляются регулярно во все сезоны года. Продолжительность их у телок в среднем 20 дней (18–22 дня), у коров – 21 день (18–24 дня). Длительность проэструса 3 дня, эструса – около 16 ч (2–30 ч), метэструса – 3–4 дня и диэструса – 10–14 дней. Половая охота продолжается в среднем 16 ч (от 10 до 23 ч), чаще она длится 13–17 ч (В.С. Шипилов, 1977). Возможны колебания от 2 до 30 ч. У телок половая охота (эструс) длится дольше и проявляется ярче, чем у коров.

В течение цикла наблюдается две или три волны роста фолликулов в яичниках, редко – одна или четыре волны. У голштинских телок и коров циклов с двумя волнами развития фолликулов значительно больше (55,6% и 78,6%), чем с тремя волнами (33,3% и 14,3%; Sartori et al). Сокращение или увеличение продолжительности половых циклов связано с числом волн развития фолликулов и сроками регрессии желтого тела. В течение каждой волны роста появляется доминантный фолликул, отличающийся от других более крупными размерами.

При двух волнах первая волна начинается на 3–4-й день, а вторая – на 11–14-й день полового цикла. Соответственно крупный (доминантный) фолликул диаметром 9–15 мм присутствует в яичнике в течение 5–11-го дня, после которого начинается его атрезия (рассасывание); максимальный диаметр более крупного второстепенного фолликула до 10 мм. Второй доминантный фолликул диаметром 9–15 мм присутствует в яичниках с 15-го по 20-й день. Начинает он выделяться среди других фолликулов за три дня до овуляции; диаметр его перед овуляцией – $17,1 \pm 1,0$ мм.

В циклы с тремя волнами развития фолликулов начало волн на 2-й, 7–11-й и 14–16-й день. Максимальный диаметр доминантных фолликулов или такой же, или может быть несколько меньше, чем при двух волнах развития. Но это в большей мере зависит от индивидуальных особенностей коров. У низко плодовитых животных независимо от числа волн диаметр доминантных и овуляторных фолликулов меньше.

Начало каждой волны роста фолликулов инициируется слабым увеличением фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). Если увеличение ФСГ задерживается или не происходит, тогда задерживается или не начинается рост фолликулов. В начале волны один из фолликулов вследствие несколько большей величины и лучшего кровоснабжения сильнее реагирует на действие ФСГ и больше продуцирует половых гормонов (эстрадиола и андрогенов), что является абсолютно необходимым для превращения его в

доминантный фолликул. Однако решающее значение в селекции доминантного фолликула имеет система инсулин-подобных факторов роста (включающая IGF-1 и IGF-2, два типа рецепторов и шесть связывающих протеинов). Действуя синергично с ФСГ, эта система стимулирует размножение клеток гранулезы (внутренней стенки) фолликула и его рост.

В течение диэструса (с 5-го по 18-й день цикла) в яичниках можно обнаружить фолликулы диаметром 0,7–1,0 см или более (рис. 2.2).

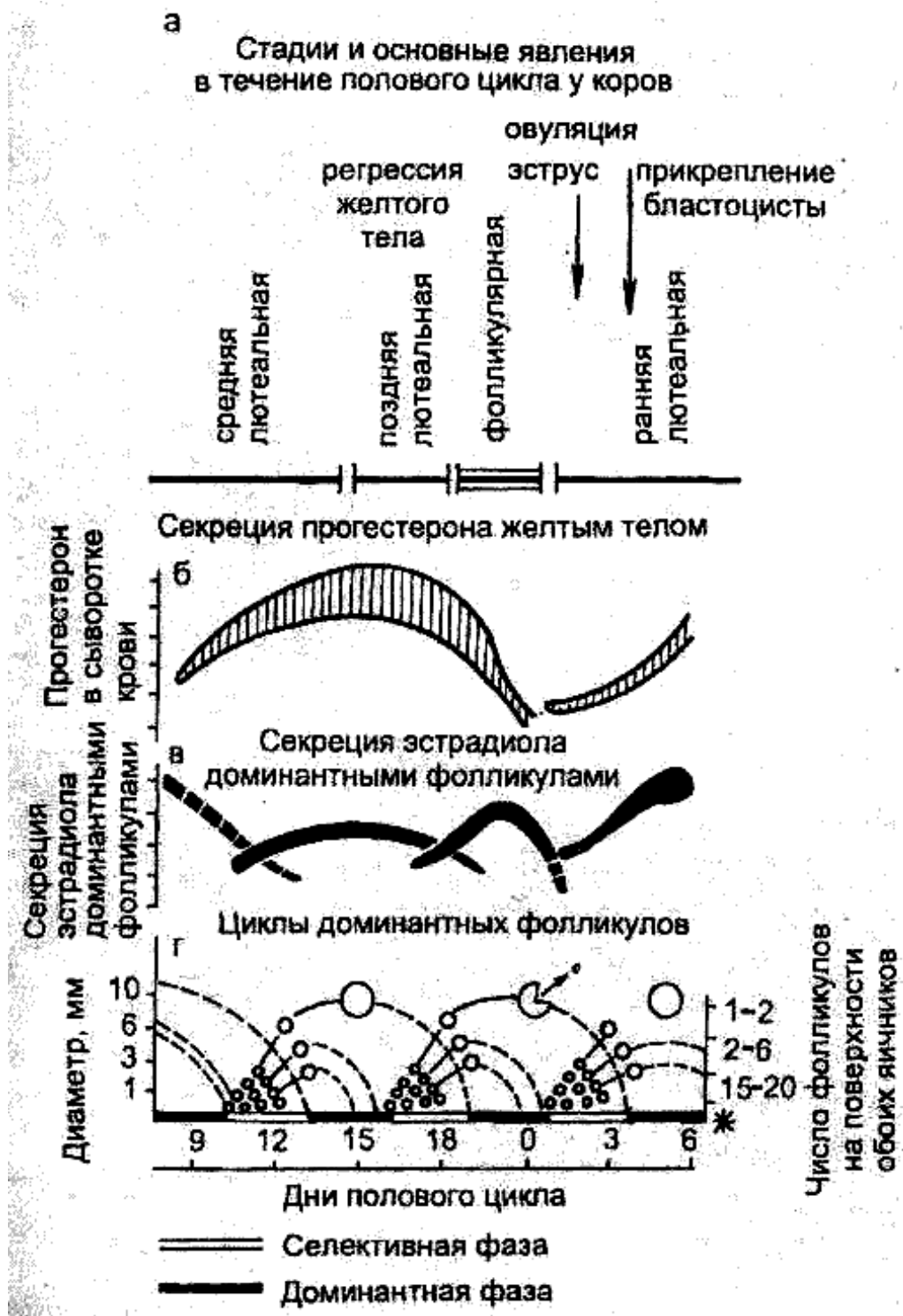


Рисунок 2.2 – Фолликулогенез в яичниках коров

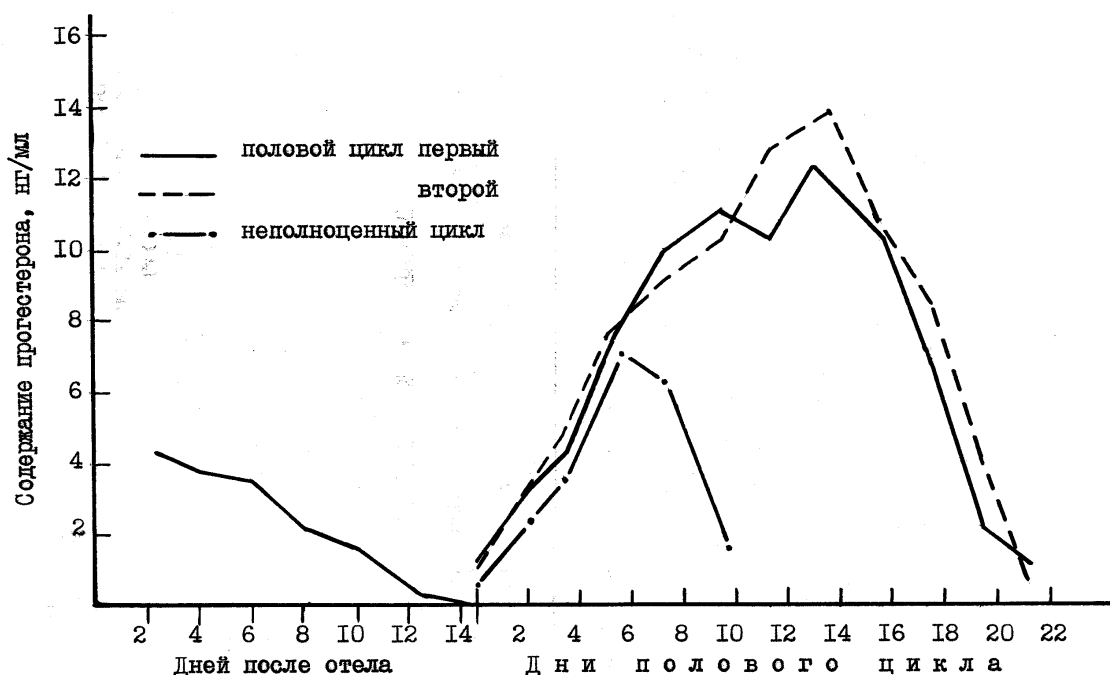


Рисунок 2.3 – Динамика содержания прогестерона в молоке коров после отела и в течение первых двух половых циклов

Во время охоты доминантный фолликул увеличивается до 1,5 см и свободно пальпируется через прямую кишку. Завершается созревание фолликула после охоты. В момент овуляции величина его 16–19 мм, иногда меньше. У 4–18% коров овулирует два или более фолликулов.

После отела в связи с быстрым увеличением концентрации ФСГ с 7–10-го дня отмечается рост фолликулов в яичниках, и в конце второй недели может произойти овуляция. Повышение ФСГ в основном зависит от уровня и полноценности кормления. В такой же мере от кормления зависит и содержание метаболитических гормонов инсулина и системы инсулин-подобных факторов роста. Ярко выражена зависимость повышения ФСГ и инсулин-подобных факторов роста (следовательно, и активности фолликулогенеза) от кормления у скота голштинской селекции.

После начала волны роста прогрессирующее развитие фолликулов зависит от частоты выделения лютеинизирующего гормона (пульса ЛГ), необходимой для достижения преовуляторного состояния доминантного фолликула, и высоты пика, т. е. наивысшей его концентрации, необходимого для овуляции фолликула. Содержание ЛГ также зависит от кормления, а механизм восстановления уровня его более длительный, чем ФСГ. При низком уровне ЛГ доминантный фолликул не секретирует необходимое количество эстрадиола, полное развитие его и овуляция не происходят. Поэтому у многих коров первая послеродовая волна роста фолликулов не завершается овуляцией (неполноценный цикл). Но она приводит к кратковременному повышению в крови (молоке) содержания прогестерона

(рис. 2.3). Нередко отмечается два или даже три таких подъема гормона, соответствующих последующим второй или третьей волнам развития фолликулов.

В среднем интервал от отела до первой овуляции составляет 20–38 дней (от 17 до 42 дней), а при благоприятных условиях – 21 день. Происходит овуляция через 12,5 ч после окончания охоты, или через 29 ч после ее начала (В.С. Шипилов, 1994). У коров овуляция может наступить за 2 ч до окончания охоты – через 26 ч после окончания, у телок – от 2,2 до 22 ч после окончания (Г.У. Солсбери и Н.Л. ВанДемарк, 1966). В 85% случаях овуляция происходит в вечерне-ночное время; наличие самца и акта спаривания ускоряет ее.

Через 4 дня после овуляции формирующееся желтое тело можно пальпировать через прямую кишку. С этого времени секреция прогестерона резко возрастает. К 10-му дню желтое тело окончательно сформировано, становится оранжевым или желтым. Диаметр желтого тела 2–2,5 см. В период с 11 по 17-й день цикла и во время беременности цвет его светло-оранжевый или светло-желтый (рис. 2.4). В 16–25% случаев желтое тело внутри имеет небольшую полость с желтоватой жидкостью (рис. 2.5).



Рисунок 2.4 – Желтое тело беременности в разрезе

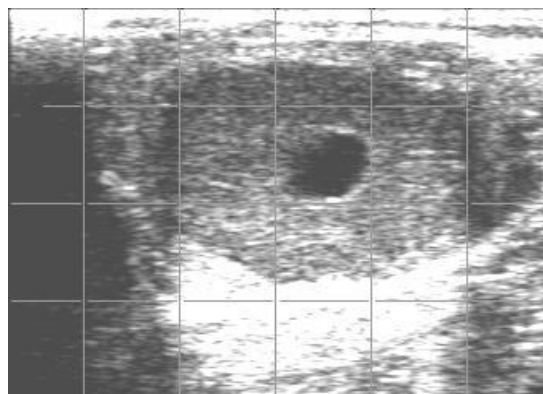


Рисунок 2.5 – Желтое тело с полостью

Как правило, яичник с желтым телом больше по величине, чем другой. Хорошо заметна эта разница у телок. У них желтое тело обычно сильно выступает из яичника. У коров оно полностью погружено в яичник, и его можно обнаружить по месту (точке) овуляции. Эта точка в виде углубления находится в возвышении диаметром около 1 см. Иногда желтые тела возвышаются в виде сосочка или же место возвышения их диффузно разлиты.

Уровень секреции прогестерона желтым телом достигает максимума на 10–14-й день и быстро понижается с 18-го дня. За 24–30 ч до следующей охоты желтое тело начинает быстро уменьшаться в величине. Во время охоты диаметр его около 1,5 см, а через 10–11 дней не превышает 0,5 см; в это время выступающая часть его немного больше булавочной головки.

При оплодотворении желтое тело функционирует в течение всего срока стельности; удаление его до 200–220-го дня вызывает аборт. В последующем прогестерон накапливается в жировой ткани и постепенно используется. И для поддержания беременности оказывается достаточно прогестерона, секретируемого плацентой; энуклеация желтого тела аборта не вызывает.

Половой цикл свиньи. У свиней продолжительность полового цикла 20–21 день (от 11 до 42 дней). Проэструс – 2–3 дня, эструс – 2–3 дня, метэструс – 7 дней и диэструс – 8 дней. Половая охота (время допуска хряка) длится 40–60 ч (от 12 до 120 ч). У старых маток охота продолжительнее, чем у молодых. Наблюдается индивидуальная повторяемость длительности охоты. Наступает охота на 4–7-й день после отъема поросят. У свиноматок с низкой молочностью и длительным периодом лактации охота может наступить до отъема поросят. Нередки случаи наступления охоты и через 2–6 дней после опороса, но овуляция до 9-го дня не происходит.

В течение полового цикла в яичниках одновременно созревает и овулирует 8–20 фолликулов (иногда до 30–40). Рост фолликулов начинается в стадии проэструс. Число их в это время 30–50, диаметр 2–7 мм. Во время охоты многие мелкие фолликулы атрезируют, а преовуляторные (перед овуляцией) достигают 8–10 мм в диаметре. Овуляция начинается через 30–36 ч и длится 4 ч (иногда до 7 ч). После овуляции остаются фолликулы диаметром 4 мм, часть из них постепенно увеличивается до 0,9 см к 18-му дню цикла.

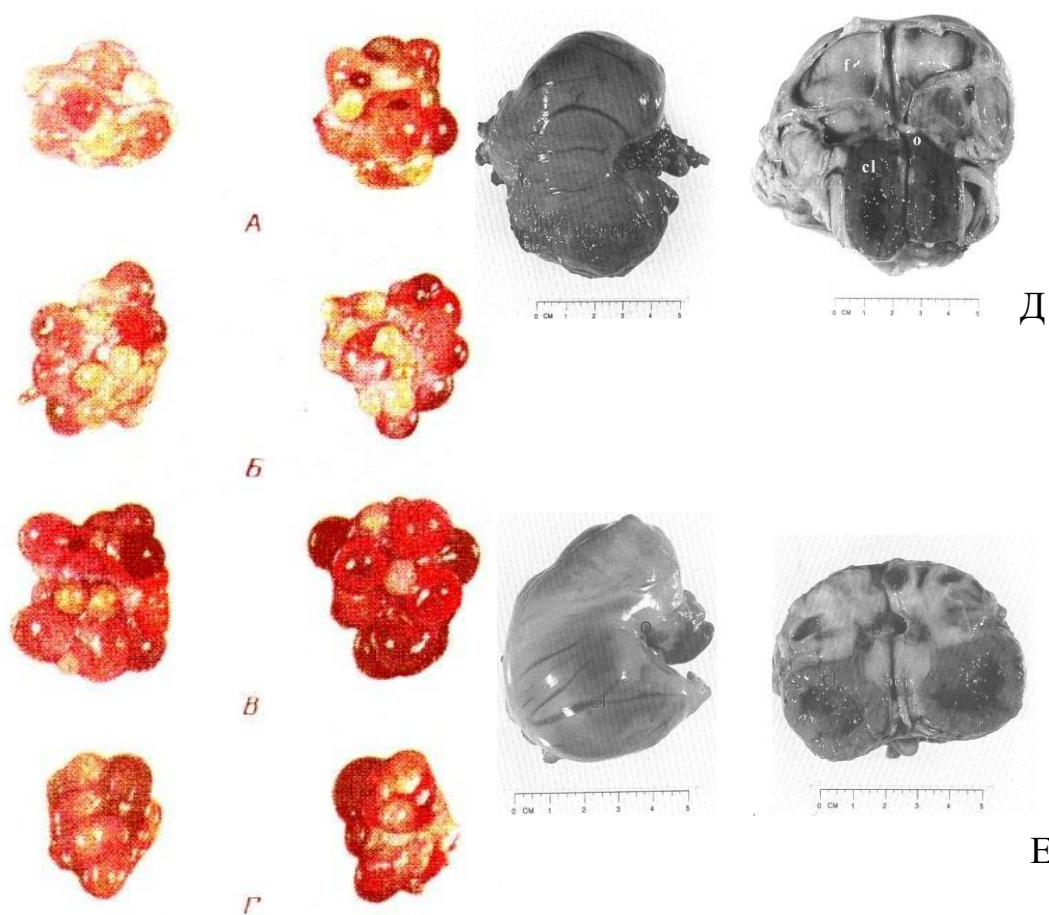


Рисунок 2.6 – Яичники свиньи в последние часы перед овуляцией: постепенное уменьшение васкуляризации оболочки (А, Б и В) непосредственно перед разрывом (Г).

Яичники кобылы [11]: Д – в ранний диэструс (на разрезе желтое тело, в центре которого кровяной сгусток; крупный фолликул и несколько мелких); Е – в середине диэструса (на разрезе желтое тело возле овуляционной ямки, фолликулов крупных нет)

После разрыва полость фолликула спадается и после образования кровяного сгустка приобретает коническую форму. Клетки гранулезы фолликулов (внутренней стенки) гипертрофируются, формируются желтые тела. К третьему дню они имеют темно-красный цвет, затем изменяются до винно-красного цвета. Кровяной сгусток к шестому дню замещается соединительнотканной пробкой или светло-желтоватой жидкостью. Пробка может сохраняться до 12-го, а жидкость – до 18-го дня. Максимальной величины (1–1,3 см) желтые тела достигают на 12–15-й день. Регрессия их происходит с 15 по 18-й день.

В это время изменяется цвет от винно-красного до желтого, затем – кремово-желтого или светлого. К середине диэструса следующего цикла желтые тела превращаются в маленькие светло-желтые тела, а еще через цикл выглядят как сероватые пятнышки. Связана регрессия желтых тел с выделением ПГ- $\text{Ф}_{2\alpha}$ эндометрием, начиная с 12–16-го дня цикла, и внедрением макрофагов, продуцируемых опухолевым некротическим фактором (TNF), который может угнетать синтез эстрадиола. Инъецированный экзогенный простагландин до 12-го дня после овуляции не влияет на желтые тела.

При оплодотворении желтые тела сохраняются до конца беременности. После родов происходит быстрое уменьшение их величины, и с 9-го дня они не обнаруживаются на поверхности яичника. Масса яичников уменьшается до 18-го дня. Развитие фолликулов в это время происходит, но половая охота и овуляция во время лактации (подсоса) обычно не наступает. При раннем отъеме период до наступления охоты может удлиняться, увеличивается частота кист яичников. При отъеме в 21–28 дней и оптимальных условиях кормления и содержания фактор времени оказывается малосущественным. Однако нередко констатируют обратную корреляционную зависимость сроков проявления половой охоты от длительности лактации. То есть с увеличением периода от опороса до отъема поросят период до проявления половой охоты уменьшается.

Половой цикл овцы. Овцы – полициклические животные с выраженным половым сезоном. Начинается половая активность с уменьшением светового дня и продолжается в течение всего короткого дня (с августа до декабря-февраля). Уменьшение света стимулирующим образом действует на

гипофиз. Это действие осуществляется через гормон эпифиза – мелатонин.

Половой цикл длится 16–17 дней (от 8–10 до 20–25 дней). Проэструс длится 2–3 дня, эструс – 24–38 ч, метэструс – 2–3 дня и диэструс – 10–12 дней. После родов охота может наступить в первый месяц, но это зависит от сезона родов: весной охота наступает позднее, чем осенью. Продолжительность охоты 24–38 ч (от 12 до 72 ч). Сопровождается охота выделением специфических, пахучих веществ – феромонов, которые легко воспринимаются самцами. После наступления охоты быстро растут и созревают фолликулы. Один или несколько из них достигает 0,7–1 см в диаметре. До овуляции на поверхности фолликула появляется небольшой сосочек, кото-

рый и разрывается. У 80% животных овуляция происходит через 31–32 ч после начала охоты, а у остальных – через 22–30 ч. При множественной овуляции все фолликулы разрываются в течение 3–4 ч. На 5-й день после овуляции образовавшееся желтое тело имеет в диаметре 0,6 см и достигает максимальной величины (0,7–0,9 см) к середине цикла. Цвет изменяется от красного до бледно-розового; внутри имеется центральная полость. Регрессия желтого тела начинается на 15-й день.

Течка у овец непродолжительна; проявляется она гиперемией слизистой оболочки, иногда точечными кровоизлияниями, усилением секреции слизи клетками шейки матки. Слизь в начале охоты прозрачная, затем становится мутной и в конце охоты приобретает консистенцию, похожую на топленое сало. В отаре овцы, находящиеся в охоте, стучат копытами, помахивают хвостом, стремятся приблизиться к производителю, иногда группой ходят за бараном. Овца считается в охоте, если спокойно допускает садку барана.

У *коз* много общего с овцами в проявлении половой функции. Но продолжительность цикла у них больше – 19–21 день. Охота длится 22–33 часа.

Половой цикл кобылы. Кобылы – полициклические животные. При полноценном кормлении и содержании в теплых светлых помещениях половая охота у них может наступить в любое время года. Однако чаще половые циклы проявляются с февраля по июль-август. Затем следует длительный период анэструса, в течение которого функция яичников понижена. Они небольшие, бобовидной формы, иногда могут содержать фолликулы диаметром до 1,5 см.

Конец зимы – переходный период к регулярной половой цикличности. В это время созревают фолликулы медленно, охота длится до 1–2 мес., признаки ее нетипичны и с трудом могут быть замечены. Такая длительная охота бывает в холодные весны, у слабо упитанных кобыл и не заканчивается овуляцией. После первой овуляции половая цикличность становится регулярной.

После выжеребки охота наступает на 8–10-й день (5–14-й день). Продолжительность первой охоты 2–4 дня, а последующие длятся 6 дней. Продолжительность полового цикла 20–23 дня (7–37 дней), чаще – 22 дня. Проэструс длится 3 дня, эструс – 2–3 дня, метэструс – до 10 дней и диэструс – 8 дней. Овуляция происходит за 1–2 дня до окончания охоты.

У кобыл двухфазное пульсирующее выделение ФСГ с промежутком в 10–12 дней. Один пик гормона наблюдается после овуляции, а второй – за 10 дней до следующей овуляции. ФСГ стимулирует развитие новой генерации фолликулов. В проэструс диаметр их увеличивается до 1–3 см. Усиливается кровоснабжение половых органов, слизистая оболочка влагалища становится слегка покрасневшей, блестящей. Слизь мало, она соломенно-желтого цвета.

В первый день эструса один из фолликулов увеличивается до 2,5–3,5 см в диаметре. В последующие дни увеличение еще более заметное. К мо-

менту овуляции в яичниках кобылы может находиться 2–3 фолликула диаметром до 3–7 см. У них не наблюдается пика ЛГ перед овуляцией: содержание гормона постепенно повышается и поддерживается на высоком уровне в течение 5–6 дней (до и после нее). Непосредственно перед овуляцией напряжение в фолликулах падает, и через прямую кишку они пальпируются в виде флюктуирующих образований. Вскрываются в области овуляционной ямки.

На месте разорвавшегося фолликула отмечается кровоизлияние, и в течение 24 часов образуется сгусток; формируется желтое тело. Максимальной величины оно достигает на 4–5-й день. Цвет вначале коричневый, затем желтый; форма коническая или треугольная, вершина направлена к овуляционной ямке. В центре желтого тела находится темно-коричневый фибрин. Функционирует желтое тело до 12–14-го дня, после чего начинается функциональная и морфологическая регрессия.

В фазу эструс усиливается кровоснабжение половых органов, канал шейки приоткрывается, шейка матки укорачивается по длине и принимает по отношению к влагалищу центральное положение. Количество слизи увеличивается, она становится водянистой и прозрачной. К концу охоты слизь приобретает мутноватый цвет и вязкую консистенцию. Кобыла поднимает хвост, открывает и закрывает половую щель, выпячивает клитор и выпускает небольшое количество мочи и слизи. На протяжении охоты кобылы возбуждены, непослушны, часто ржут. Услышав или увидев жеребца, принимают позу для спаривания.

В метэструс признаки течки и охоты угасают, животное не допускает садки. Уменьшается отечность вульвы, исчезает гиперемия слизистых половых органов. В фазу диэструс у кобыл слизистая оболочка влагалища бледная, часто желтоватого цвета, покрыта небольшим количеством вязкой, мутноватой слизи; шейка матки закрыта. Выявляют охоту у кобыл с помощью жеребца-пробника.

2.1.3. Механизм естественного регулирования полового цикла

Основная роль в регуляции репродуктивной функции принадлежит гипоталамусу, гипофизу и половым железам. Эти органы формируют гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось. Один конец оси находится под влиянием *коры головного мозга, зрительного бугра и среднего мозга*, воспринимающих свет, обоняние и осязание. На другой конец оси – *влияние матки* на яичники.

Гипоталамус регулирует деятельность всей эндокринной системы.

Гормоны гипоталамуса и гипофиза. В гипоталамусе секретируется *гонадотропин-релизинг-гормон* (ГнРГ). Этот гормон стимулирует выделение *гонадотропных гормонов* – ФСГ (фолликулостимулирующего) и ЛГ (лютеинизирующего). Секреция ФСГ и ЛГ контролируется двумя системами. Соответственно имеются два гипоталамических центра. *Тоническая эпизодическая система* обеспечивает продолжительную базальную секре-

цию гонадотропинов, стимулирует рост зародышевой и эндокринной ткани яичника. *Пульсаторная система* контролирует непродолжительные массивные выделения ФСГ и ЛГ, необходимых для созревания и овуляции фолликулов.

В регулировании выделения гонадотропинов участвуют и другие субстанции. *Норадреналин* стимулирует выделение ФСГ и ЛГ; при его отсутствии блокируется вызываемое эстрадиолом выделение ЛГ, которое необходимо для овуляции. *Серотонин* угнетает базальную секрецию ЛГ. Эти вещества обнаружены в высоких концентрациях в гипоталамусе и крови гипофизарной портальной системы.

Контролируют деятельность гипофиза и эндогенные опиоидные пептиды, выделяемые мозговой тканью (β -*эндорфин*, *мет-энкефалин*). Они предотвращают выделение ГнРГ из нервных окончаний в ножку гипофиза. ГнРГ не попадает в кровь портальной системы и в переднюю долю гипофиза, и выделение ФСГ и ЛГ не происходит. Инъекция опиоидных пептидов угнетает секрецию ФСГ и ЛГ, но стимулирует выделение пролактина. Введение налоксона (*naloxone*), специфического опиоидного ингибитора, вызывает повышение концентрации и частоты эпизодического выделения гонадотропных гормонов.

Клетки гипоталамуса секретируют и окситоцин. Этот гормон скапливается в клетках задней доли гипофиза. Окситоцин стимулирует сокращение гладких мышц матки, инициирует роды, а при половом акте (осеменении) способствует продвижению спермиев в половых путях самки. Окситоцин вызывает также сокращение миоэпителиальных клеток вымени и обеспечивает выведение молока из альвеол в молочные протоки и цистерну (припускание молока).

Чувствительность матки к окситоцину определяется концентрацией в эндометрии рецепторов к этому гормону. Прогестерон уменьшает количество рецепторов, понижает чувствительность матки к гормону. Под влиянием эстрогенов содержание рецепторов возрастает; чувствительность матки к окситоцину повышается. Инъекция эстрадиола за 12–24 ч до введения окситоцина вызывает увеличение рецепторов.

Передняя доля гипофиза секретирует пролактин (ЛТГ), ФСГ и ЛГ. ФСГ и ЛГ не обладают половой или видовой специфичностью и проявляют свое действие в комплексе. У самок ФСГ стимулирует развитие фолликулов и выработку ими эстрогенов. Лютеинизирующий гормон вызывает овуляцию зрелых фолликулов и синтез прогестерона желтым телом; он также поддерживает функцию желтого тела. Пролактин стимулирует рост протоков и образование альвеол и долек в вымени. Вместе с гормоном роста (соматотропином) и кортикостероидами этот гормон вызывает и поддерживает лактацию.

У жеребых кобыл в возвышениях эндометрия (чашах) образуется гонадотропин сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК, eCG), обладающий действием,

похожим на комбинированное действие ФСГ и ЛГ с преобладанием ФСГ. Максимальная концентрация его в сыворотке крови на 3-м месяце.

В плаценте человека и обезьян образуется вещество, обладающее действием, сходным с ЛГ (*хорионический гонадотропин*, ХГТ, hCG); выделяется с мочой.

В регуляции функции яичников участвует и гормон роста, а также лептин. Гормон роста действует прямо или посредством стимуляции синтеза и секреции инсулин-подобного фактора роста (ИФР-1, IGF-1) в печени.

Лептин синтезируется белыми клетками жировой ткани. Действует на уровень ЛГ через гипоталамус и переднюю долю гипофиза, в которых имеются рецепторы к этому гормону. Влияет на потребление корма, начало полового созревания.

Мелатонин и другие пептиды эпифиза. Эпифиз играет важную роль в контроле репродукции у сезонно полициклических животных и в период полового созревания самок. Действие его осуществляется посредством *индолеамина мелатонина* на выделение ФСГ, ЛГ и пролактина. Мелатонин может действовать не прямо на гипоталамус–переднюю долю гипофиза, но через другие эпифизарные пептидные гормоны. У овец мелатонин проявляет действие в соответствии с фото-периодом. Введение мелатонина подобно эффекту увеличения часов темноты, вызывающему начало случного сезона у овец. Изменение содержания пролактина в их крови подобно изменениям при сокращении светового дня.

Половые (гонадальные) гормоны: прогестины, андрогены и эстрогены. Основным метаболитом прогестинов является *прогестерон*. Этот гормон секретируется желтым телом, в небольших количествах – фолликулом перед овуляцией, надпочечниками и плацентой. Прогестерон действует на матку, увеличивает активность желез эндометрия, и они выделяют маточное молоко, что способствует прикреплению и питанию зародыша; шейка матки выделяет густую слизь, которая закупоривает ее канал; сократительная функция матки и чувствительность ее к раздражителям понижаются, происходит растяжение матки растущим плодом. Прогестерон тормозит развитие фолликулов и овуляцию, стимулирует развитие альвеол и долек в вымени.

Прогестерон превращается в андрогены. В семенниках клетками Лейдига и Сертоли секретируется *тестостерон*. Совместно с ФСГ, этот гормон стимулирует размножение сперматогоний и образование спермиев. Тестостерон влияет на развитие и функции придатка семенника, семяпроводов, уретры, придаточных половых желез. Андрогены посредством влияния на обмен веществ стимулируют рост волос, характерное телосложение и развитие у самцов голосовых связок, обуславливающее более низкий голос (вторичные половые признаки). Половое влечение (*libido*) у самцов и самок и агрессивность у самцов зависят от андрогенов.

Андрогены превращаются в *эстрогены*: эстрон, 17 β - и 17 α -эстрадиол, эстриол. Секретируются эти гормоны фолликулами, плацентой, в неболь-

ших количествах – надпочечниками и семенниками. Накапливаются эстрогены в фолликулярной жидкости и из нее попадают к половым органам.

Эстрогены усиливают кровообращение в половых органах, стимулируют рост слизистых оболочек матки и влагалища и секрецию слизи, способствуют разрастанию миометрия и усиливают сократительную функцию его; повышают устойчивость матки к инфекции; вызывают половую охоту; играют важную роль в наступлении предродовых изменений в половых органах; стимулируют развитие молочных протоков вымени.

Простагландины (ПГ) – биологически активные липиды. Содержатся в небольших количествах в каждой ткани тела. Высокое содержание их в пузырьковидных железах барана. ПГ-Е₁ и ПГ-Е₂ стимулируют сокращения матки и маточной части яйцеводов, но расслабляют другие участки их. Тем самым они облегчают продвижение спермиев к яйцеклетке и задерживают продвижение ее в полость матки до оплодотворения. ПГ-Е₃ угнетает сокращения яйцеводов и матки.

В животноводстве широко используется ПГ-Ф₂. У самок ПГ-Ф₂ стимулирует сокращения яйцеводов и матки, регулирует передвижение спермиев и зигот и играет первостепенную роль в родовом процессе, инициируя сокращения матки. ПГ-Ф₂ выделяется эндометрием в конце полового цикла, вызывает рассасывание желтого тела (лютеолитическое действие) и обуславливает наступление охоты.

2.2. Репродуктивная функция самцов

2.2.1. Сперматогенез

Сперматогенез можно разделить на две четко различающиеся фазы: сперматоцитогенез и спермиогенез. *Сперматоцитогенез* охватывает период размножения сперматогоний, превращения их в сперматоциты и заканчивается образованием сперматид. В течение *спермиогенеза* сперматиды в результате ряда различных новообразований и дифференцировок изменяют свою форму и превращаются в сформированные спермии.

Сперматоцитогенез. У неполовозрелых животных в семенниках сперматогонии расположены одним слоем между клетками Сертоли вдоль базальной мембраны семенных канальцев.

С наступлением полового созревания сперматогонии начинают интенсивно размножаться, заполняют периферию канальцев и продвигаются в просвет их. У быка и барана различают три класса сперматогоний: А, промежуточный и В. С учетом морфологии и степени дифференциации в каждом классе выделяют один или несколько типов: А₀, А₁, А₂, А₃, промежуточный, В₁ и В₂. Сперматогонии класса А менее дифференцированы и формируют резерв стволовых клеток. Пополняется он благодаря ассиметричному делению наиболее ранних типов клеток А: при делении одна дочерняя клетка остается как несовершенная стволовая клетка, а другая совершенствуется путем последующего митоза и мейоза. Образующиеся

клетки типа B_2 увеличиваются, затем также делятся митотически и в результате этого образуются два первичных сперматоцита. Этим заканчивается фаза «размножения», на которую уходит 13–14 дней.

Все сперматогонии контактируют с базальной мембраной канальца, но после последнего митотического деления цитоплазма клеток Сертоли внедряется между мембраной и первичным сперматоцитом («приподнимает его»). При этом цитоплазма соседних сертолиевых клеток соединяется между собой, образуя своеобразный «тестикулярный барьер». Он препятствует непосредственному контакту клеток, подвергающихся мейозу, с кровью, тем самым препятствует элементам иммунной системы распознавать их как чужеродных или влиять на них другим веществам крови.

Клетки Сертоли играют важную роль в питании формирующихся сперматозоидов. Они секретируют эстрогены, ингибин, ГнРГ, протеины андроген-связывающий и регулирующий секрецию ФСГ, жидкость канальцев. Промежутки между клетками Сертоли заполнены сперматогониями, сперматоцитами и сперматидами.

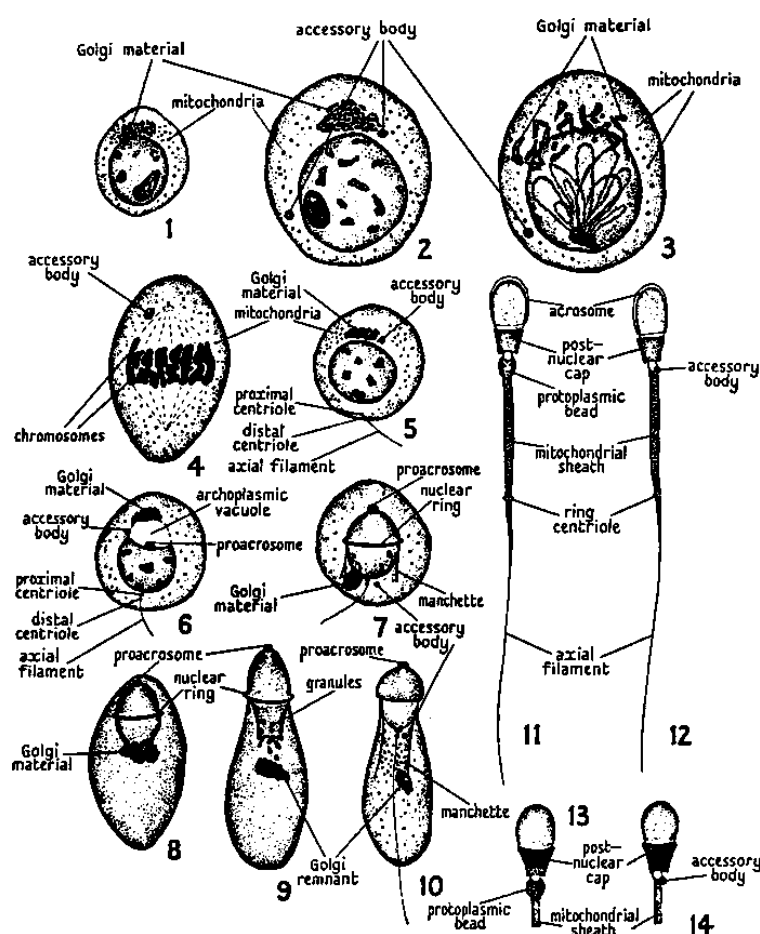
После следующей фазы «роста», в течение которой сперматоциты увеличиваются в размере, следуют два деления *мейоза*: образуются вначале два вторичных сперматоцита, а затем из каждого из них – по две сперматиды. В итоге из каждого первичного сперматоцита образуется 4 сперматиды (а из активной сперматогонии – 64); число хромосом в сперматиде уменьшается вдвое. В течение мейоза клетки продвигаются глубже в эпителий канальца и тесно соединяются с клетками Сертоли.

Сперматиды имеют округлую форму (рис. 2.7) и относительно крупное светлое ядро. В теле молодой сперматиды находится клеточный центр, состоящий из центриоли, аппарата Гольджи и митохондрий. Центриоль представляет собой цилиндрическое тельце; стенка его состоит из девяти парных микротрубочек, а в середине имеется еще две трубочки. На одном из концов центриоли находится образование, напоминающее колесо. Аппарат Гольджи представлен отдельными диктиосомами, имеющими форму прямых или изогнутых палочек и крупных зернышек. Митохондрии имеют вначале форму гранул, а в последующем – палочек и нитей. В них хорошо окрашивается периферическая часть и плохо – центральная.

Спермиогенез. Вначале в теле сперматиды происходит перемещение отдельных компонентов клеточного центра и других составных частей. Центриоль перемещается к заднему полюсу ядра, сюда же смещаются и митохондрии. Аппарат Гольджи, напротив, мигрирует к переднему полюсу ядра, но после образования акросомы отходит в заднюю часть клетки, а в последующем отделяется от нее вместе с невключенной в спермий частью цитоплазмы.

Ядро в сперматиде располагается в передней части клетки, ближе к периферии канальца. Аппарат Гольджи после миграции в переднюю часть клетки приобретает вид округлого почковидного тела, состоящего из плоских мешочков и большого количества различной величины вакуолей. В одной из них возникает темное зернышко – проакросомальная гранула.

Вакуоль увеличивается за счет мелких и передвигается к переднему полюсу ядра. Часть цитоплазмы перемещается в заднюю часть сперматиды, после чего полость акросомальной поверхности ядра, к которой прилегает пузырек, временно уплощается, а пузырька – суживается, стенки его спадаются и он принимает форму двухслойной шапочки. Края ее далеко заходят за передний полюс ядра, образуя капюшон (акросому). Ядро снова принимает округлые контуры, а затем удлиняется с общим удлинением сперматиды и формирует большую часть головки спермия. После отхода цитоплазмы назад цитоплазматическая мембрана приходит в тесное соприкосновение со стенками акросомы.



- а – сперматогоний; б – первичный сперматоцит; в – первичный сперматоцит (ранняя профаза); г – первичный сперматоцит (ранняя анафаза); д – молодая сперматид; е, ж, з – сперматиды; и, к – более развитые сперматиды; л – сперматозоид; м – сперматозоид, несущий добавочное тельце (цитоплазматическая капля не показана); 1 – аппарат Гольджи; 2 – митохондрии; 3 – добавочное тельце; 4 – проксимальная центриоля; 5 – дистальная центриоля; 6 – осевая нить; 7 – проакросома; 8 – акросома; 9 – ядерное кольцо; 10 – манжета; 11 – послеядерная чаша; 12 – цитоплазматическая капля; 13 – митохондриальная оболочка; 14 – кольцевая центриоля

Рисунок 2.7 – Схематическое изображение образования сперматозоидов [8]

Оставшаяся масса аппарата Гольджи, не участвующая в образовании акросомы, передвигается в заднюю часть клетки. Сюда же перемещается и центриоль. При этом она делится на две части, которые представляют собой два аргентофильных зернышка. Располагаются одно за другим перпендикулярно к поверхности клетки. В связи с этим различают *проксимальную* и *дистальную* центриоли. Обе они погружены в глубь цитоплазмы и прикреплены к заднему полюсу ядра. При этом две центральные фибриллы дистальной центриоли размещаются на уровне поверхности клетки у базальной пластинки (аксиального зерна), а периферические трубочки несколько углублены в цитоплазму, образуя здесь базальное тельце (кинетосому). От дистальной центриоли отрастает осевая нить.

Митохондрии группируются кольцом вокруг центриолей непосредственно позади ядра сперматиды. Они удлиняются, соединяются концами друг с другом и образуют одну или несколько длинных нитей, которые спирально обвивают осевую нить, формируя среднюю часть – тело спермия. В цитоплазме удлиняющейся сперматиды временно обнаруживается тонкая широкая трубка – хвостовая манжетка. Идет она от заднего сегмента ядра и заключает в себя осевую нить и часть цитоплазмы. Цитоплазма вне хвостовой трубки вместе с аппаратом Гольджи позднее исчезает.

Постепенно сперматида вытягивается, осевая нить удлиняется и в итоге формирует тело и хвост спермия. В области тела осевую нить обвивает спиральная нить из митохондрий. Последующая часть осевой нити покрыта слоем из плотных фибрилл. Они имеют вид полукружных ребрышек и своими концами соприкасаются и сливаются с двумя узкими продольными колонками, расположенными по противоположным сторонам хвостика.

На шейке полностью сформированного спермия остаются зернистые тельца Гольджи. Они исчезают вместе с невключенной в клетку цитоплазмой. Но в этом месте появляется цитоплазматическая капелька. Она обнаруживается до тех пор, пока спермий связан с сертолиевыми клетками и исчезает в период прохождения его по каналу придатка семенника.

Образование спермиев у самцов после достижения половой зрелости происходит непрерывно. Активность сперматогенеза волнообразно перемещается по семенным канальцам. Между двумя последовательно появляющимися группами однотипных клеток в одном участке канальца проходит: у хряка – 8,6 дней, у барана – 10,3 дня, у жеребца – 12,2 дня и у быка – 13,5 дней. *Это семенной эпителиальный цикл.* В нем различают 8 стадий (Ortavant, 1977). У быка для полного формирования спермиев из сперматогоний необходимо около 60 дней. Для продвижения по каналу придатка семенника требуется еще 8–14 дней. Головку и тело придатка спермий проходят за 5 дней, а хвост придатка – за 5–9 дней, в зависимости от интенсивности полового использования производителя.

Передвижение спермиев по внутренним протокам осуществляется за счет: положительного давления в канальцах вследствие постоянного вхож-

дения в их просвет новых клеток; отрицательного давления в семявыносящих канальцах и канале придатка семенника, которое создается в результате эякуляций и всасывания жидкости, поступающей в больших количествах из семенника; движения ресничек, выстилающих канальцы и начальную часть канала придатка и, наконец, давления на семенники, возникающего в процессе движения животного. Попад в канал придатка, спермии продвигаются дальше за счет перистальтических движений его стенок.

В извитых канальцах семенника впервые спермии могут быть обнаружены в возрасте около 5 месяцев у баранов и хряков, 7,5 мес. – у быков и 13 мес. – у жеребцов. Способность же к воспроизведению у них появляется несколько позднее и связана с началом образования спермы, содержащей достаточное количество нормальных спермиев, а также с проявлением полового влечения. Факторы внешней среды (температура, продолжительность светового дня, кормление и содержание, болезни) оказывают большое влияние на сроки достижения половой зрелости у самцов.

2.2.2. Эндокринный контроль сперматогенеза

Образование и продвижение спермиев по половым протокам находится под влиянием гормонов гипофиза и семенников. Определенную роль играют также гормоны надпочечников и щитовидной железы.

Еще до наступления половой зрелости семенники подвергаются воздействию ФСГ и ЛГ. Лютеинизирующий гормон (*гормон, стимулирующий интерстициальные клетки*) воздействует на рост и функцию клеток Лейдига, повышает секрецию и выделение андрогенов. Действие осуществляется через аденилат циклазу, путем сокращения до минимума периодов стероидогенеза. У быков интенсивность секреции и выделения половых гормонов повышается с 4–6-месячного возраста. Вскоре начинается и выделение фруктозы придаточными половыми железами.

У половозрелых животных выделение ЛГ происходит нерегулярно эпизодически, с промежутками в 2–4 часа (3–7 раз в течение дня). Характер выделения ФСГ расшифрован недостаточно полно.

Примерно через 40 мин. после каждого пика ЛГ следует пик тестостерона, затем содержание андрогена снижается до исходного уровня через 40–80 мин. Андрогены повышают чувствительность сперматогенного эпителия семенных канальцев к ФСГ. Этот гормон, вызывая размножение сперматогоний, дает начало сперматогенезу.

ФСГ воздействует и на клетки Сертоли, стимулирует секрецию андрогенсвязывающего протеина (АСП) и превращение тестостерона в эстрогены. Секреция ФСГ регулируется половыми гормонами и ингибином, а также регуляторным протеином, секретируемыми клетками Сертоли.

Андрогены воздействуют на весь половой аппарат самца, стимулируют рост и функционирование придаточных половых желез, тем самым влияя на состав спермы, обеспечивают оптимальные условия для сперма-

тогенеза, продвижения и созревания спермиев в канале придатка семенника. После превращения в мозге в эстрогены, тестостерон регулирует выделение ЛГ и влияет на поведение самца.

В семенных канальцах тестостерон превращается в 5-дигидро-тестостерон, который более устойчив к метаболическим превращениям. Здесь оба этих метаболита связываются с андрогенсвязывающим протеином. АСП обеспечивает высокую концентрацию тестостерона в извитых канальцах и канале придатка семенника (в 100-300 раз выше, чем в периферической крови), что важно для нормального сперматогенеза. Абсорбируется протеин в канале придатка семенника. Высокая концентрация тестостерона поддерживается также в сети семенника, семявыносящих канальцах и проксимальной части придатка.

Для поддержания постоянного нормального сперматогенеза требуется совместное воздействие ФСГ и андрогенов, вырабатываемых под влиянием ЛГ. В связи с этим должно быть строго определенное соотношение между этими гормонами. Уменьшение секреции гонадотропных гормонов тормозит продукцию андрогенов и ослабляет сперматогенез. Понижение уровня андрогенов стимулирует дополнительное выделение гонадотропинов, которые снова повышают секрецию андрогенов и образование спермиев.

У самцов, используемых в течение года, постоянный уровень секреции гонадотропинов. У сезонно используемых животных секреция ФСГ и ЛГ уменьшается вскоре после окончания случного сезона и остается низкой до следующего сезона. С наступлением его внешние факторы (продолжительность светового дня, температура и др.) дают толчок к выделению гипоталамусом ГнРГ, который, в свою очередь, стимулирует секрецию и выделение ФСГ и ЛГ гипофизом. У баранов в регуляции сперматогенеза важную роль играет щитовидная железа. Введение им тироксина летом, когда тормозится образование спермиев и увеличивается число их с различными аномалиями, способствует снижению таких клеток и повышению образования нормальных спермиев.

Образовавшиеся в процессе сперматогенеза спермии продвигаются по внутренним половым протокам и скапливаются в канале придатка семенника, который представляет собой значительную емкость. У быка в каждом придатке содержится до 4 мл сливочно-белого цвета вязкой жидкости с концентрацией спермиев от 2,5 до 5 млрд/мл. Половые клетки занимают примерно половину объема этой жидкости. Всего оба придатка у быка могут вмещать до 20 и даже до 40 млрд спермиев, у барана – до 40–60 млрд. Секреторная функция придатка семенника и передвижение спермиев по половым протокам регулируется тестостероном и окситоцином.

Поступающие в канал придатка семенника спермии имеют в месте соединения головки и тела цитоплазматическую капельку. По мере прохождения их по каналу капелька продвигается по направлению к хвосту и затем теряется. С цитоплазматической капелькой связывают приобретение спермиями липопротеидного покрова (оболочки).

В канале придатка спермии приобретают подвижность и оплодотворяющую способность. У большинства видов половые клетки, взятые из семенников самца, неспособны к движению, хотя они живые и могут совершать слабые колебательные движения хвостиком. У быка спермии из проксимальной и средней части головки также неподвижные, но подвижность появлялась в участках придатка вблизи семенников и уже хорошо проявлялась у спермиев из хвоста придатка. У быков нормальная подвижность и биологическая полноценность спермиев в канале сохраняется в течение 30–35 дней, а отдельные спермии могут сохранять подвижность до 2–3 мес. Спермии кроликов сохраняют жизнеспособность 38 дней.

2.2.3. Сперма: состав и свойства

Семенная жидкость (сперма) состоит из двух основных частей: *спермиев* и *жидкой части – плазмы*. Семенники вырабатывают спермиев, а также являются источником различных клеточных фрагментов и жидкости, не всасавшейся при прохождении по внутренним половым протокам. Одним из компонентов этой жидкости является тестостерон. Жидкая часть является продуктом деятельности придаточных половых желез, канала придатка семенника и ампул семяпроводов.

Внешние свойства спермы. Количество и внешний вид спермы, соотношение жидкой части и сперматозоидов и многие другие свойства спермы варьируют в зависимости от вида животных и их индивидуальных особенностей (табл. 2.1). Жвачные выделяют небольшие эякуляты с высокой концентрацией сперматозоидов. Жеребец, хряк и кобель, наоборот, дают большие эякуляты, но с низким содержанием половых клеток. У птиц объем эякулятов небольшой, а концентрация сперматозоидов очень высокая.

Таблица 2.1 – Объем эякулята и концентрация спермиев в спермепроизводителях

Производитель	Объем эякулята, мл	Концентрация спермиев, млрд/мл
Бык	4 (2-10)	1,0
Баран	1 (0,6-2)	3,0
Хряк	200 (100-500)	0,15
Жеребец	75 (20-300)	0,15
Кобель	3 (2-30)	0,15
Кролик	0,5 (0,2-2)	0,2
Петух	0,5 (0,2-0,6)	3,8
Индюк	0,3 (0,2-0,4)	7,5
Гусак	0,5 (0,2-1,3)	0,5

Цвет и консистенция спермы зависят в основном от концентрации спермиев. Чем выше их концентрация, тем более вязкая консистенция спермы, тем более белый цвет ее. Сперма быка и барана обычно сливочно-белого цвета, но отдельные быки выделяют сперму желтого цвета. Сперма птиц молочно-белого или слегка желтоватого цвета, сливообразной консистенции. Сперма жеребца и хряка серовато-белого цвета, водянистой, иногда вязкой консистенции.

Состав спермы. Соотношение отдельных составных частей спермы у различных видов животных различное. У барана объем эякулируемой жидкости из придатков семенников достигает 0,86 мл с концентрацией спермиев более 5 млрд/мл. Половые клетки составляют 30% объема всей спермы, секрет придатков – 50–60%; остальная часть спермы представлена секретами придаточных половых желез.

Придатки семенников быка выделяют 0,6 мл жидкости с содержанием спермиев 4,9 млрд/мл и общим количеством их около 3 млрд. Спермии с секретом придатков составляют 15% объема эякулята, секрет пузырьковидных желез – до 40%, предстательной железы – 5–6% и куперовых и уретральных желез – 35–40%.

У хряка спермии с секретом каналов придатков семенников составляют 3% (2–5%) объема эякулята, причем основная доля из этого приходится на половые клетки. Пузырьковидные железы выделяют до 26% объема семенной жидкости, куперовы – 19% (10–25%), предстательная железа – более 50%. Желеобразная фракция составляет в среднем 18% всего эякулята.

У жеребца эякулят формируется в основном за счет секрета придаточных половых желез, и в особенности предстательной. У кобеля секрет семенников и придатков семенников составляет 0,5–3,5 мл, уретральных желез – 0,25–5 мл и предстательной железы – 2–30 мл.

В целом сперма содержит 85–98% воды и 2–15% сухого вещества. Секрет придатка семенника имеет кислую реакцию (рН 5,8–6,2 у быка, 5,6–6,6 – у хряка), высокое парциальное давление углекислого газа и высокое осмотическое давление, содержит мало электролитов, особенно ионов натрия и хлора. Фруктозы также содержится немного или она вообще отсутствует. Такой состав секрета благоприятствует длительному (до 30 дней или более) сохранению оплодотворяющей способности спермиев, находящихся в канале придатка в состоянии относительного покоя. Секрет придатка богат веществом липидного характера – лицерилфосфорилхолином (у кролика – фосфорилхолин). Особенно много его в плазме барана. Под влиянием фермента фосфатазы фосфорилхолин распадается с образованием свободной фосфорной кислоты и холина. Фосфорная кислота используется в процессе гликолиза. Глицерилфосфорилхолин – более стойкое соединение. Секрет придатка содержит также общий белок и белок, связанный с андрогеном, андрогены, фосфолипиды, значительное количество свободных аминокислот и аминосахаров, инозитол, прогненолон (у барана), в небольшом количестве – лимонную кислоту и эрготионин (у хряка).

Секрет ампул спермиопроводов имеет слабокислую реакцию; содержит небольшие количества фруктозы и лимонной кислоты, а у быков – и липохром, который придает сперме желтоватый цвет.

У хряка и кобеля спермиопроводы не имеют ампулообразных расширений. Эякуляция у них происходит медленно, и спермии поступают в уретру небольшими порциями непосредственно из канала придатка семенника.

Секрет пузырьковидных желез имеет слабокислую реакцию. У жвачных он водянистый и прозрачный, хотя у быков иногда приобретает желтоватый цвет; у хряка и жеребца секрет мутный и сильно слизистый, особенно у жеребца. Главными компонентами секрета пузырьковидных желез являются лимонная кислота и фруктоза. Выделение их регулируется тестостероном. У хряка редуцирующие вещества (сахара) представлены не фруктозой, а серосодержащим основанием – эрготионином и инозитолом. В секрете содержатся также аскорбиновая кислота, липиды, белки и свободные аминокислоты – аланин, глицин, серин, тирозин. Из минеральных веществ в секрете много калия, меньше натрия, очень мало хлора. У барана в секрете содержится простагландин.

Секрет предстательной железы водянистый, имеет слабокислую (рН 6,5) или нейтральную реакцию. Содержит много протеолитических ферментов и свободных аминокислот, особенно глютаминовой кислоты; чрезвычайно богат электролитами – натрием, калием, хлором, кальцием, бикарбонатом, цитратом, причем преобладает хлористый натрий (у кобеля – до 90%); содержит секрет и лимонную кислоту, простагландины и антагглютинин – вещество, предохраняющее спермиев от агглютинации. У кролика секрет предстательной железы насыщен форменными элементами и имеет вид мутновато-белой жидкости, похожей на сперму.

Куперовы железы выделяют щелочной секрет (рН 7,8–8), прозрачный и тягучий, альбуминоидной природы. Выделяется в начале эякуляции, промывает уретру. У хряка он выделяется в конце семяизвержения и, смешиваясь с секретом пузырьковидных желез, образует крупные, быстро набухающие зерна, препятствующие вытеканию спермы из половых путей свиньи. У барана секрет этих желез жидкий, богат фруктозой.

В целом секрет придаточных половых желез и канала придатка семенника (плазма спермы) имеет реакцию слабокислую (рН 6,5–6,7 у барана и быка) или слабощелочную (рН 7,2–7,3 у хряка и жеребца). Величина рН различных образцов спермы заметно отличается от средних показателей и при хранении неразбавленной спермы не является стабильной. Так, рН спермы быка и барана понижается в результате образования и накопления молочной кислоты.

В процессе эякуляции секрет придаточных половых желез смешивается с секретом придатка семенника, разбавляет его и активизирует движения спермиев.

Важными свойствами плазмы спермы является буферность и осмотическое давление.

Буферность (свойство устойчиво сохранять свою реакцию) спермы обусловлена в основном солями слабых кислот – карбонатами, цитратами и фосфатами. Эти соли могут передавать свой металл более сильным кислотам и таким образом заменять их на более слабые, которые дают во много раз меньше ионов водорода. Определенную роль в обеспечении буферности спермы играют и белки. Буферность спермы слабее буферности крови. Наиболее сильная она в сперме быка и барана.

Осмотическое давление спермы определяется количеством растворенных в плазме веществ: минеральных и органических. У различных видов животных значение веществ различно. Например, у хряка основными элементами, создающими осмотическое давление, являются инозитол и калия цитрат. У кобеля большое значение имеет натрий хлористый. Выражается осмотическое давление в миллиосмомолях ($\square 325$) или атмосферах (6,7–8,7 атм.). Определяется на основании точки замерзания, которая для спермы животных равна минус 0,6°C, и, исходя из правила, что раствор, содержащий в 1 л грамм-молекулу неэлектролита замерзает при минус 1,86°C. Это и есть осмомоля. Миллиосмомоля равна минус 0,00186°C. Современное надежное исчисление осмотического давления – определение точки замерзания спермы и затем деление полученного числа на 0,00186 (например, $0,6 : 0,00186 = 322$ миллиосмомолей).

Для получения равных по осмотическому давлению сперме растворов (изотонических) необходимо брать $\frac{1}{3}$ грамм-молекулы неэлектролита на 1 л дистиллированной воды. Если берется электролит, то количество вещества уменьшается во столько раз, на сколько ионов диссоциирует его молекула. Например, для приготовления изотонического раствора хлористого натрия необходимо взять не одну треть, а одну шестую грамм-молекулы, т.е. 58,5 : 6.

Морфология и химический состав спермиев. Наиболее важной составной частью спермы являются спермии. От их качества зависит оплодотворяющая способность семенной жидкости, а также жизнеспособность и наследственные свойства получаемого потомства. Однако и плазма спермы может в значительной степени обуславливать качество спермы в целом и главным образом ее оплодотворяющую способность.

Впервые спермиев обнаружил Иоган Гамм. О его наблюдениях сообщил Левенгук в 1677 г. С тех пор эти клетки стали предметом многих научных исследований, в результате которых были выяснены ультраструктура, химический состав и основные свойства их, хотя до настоящего времени знания о спермиях далеко не полные.

Спермии сельскохозяйственных животных представляют собой небольшие подвижные клетки, длиной от 0,05 до 0,08 мм. Величина их не зависит от величины животных. Они состоят из головки, шейки, тела (средней части) и хвоста. У быка общая длина клетки 70 мкм, в т. ч. головки – 8–10 мкм, шейки – 1 мкм, тела – 8–10 мкм и хвоста – 50 мкм. Спермии ба-

рана имеют длину 69 мкм (66–72), жеребца – 59 мкм (58–60) и хряка – 56 мкм (55–57).

Головка плоская и при фиксации на предметном стекле обращена к нам одной из плоских сторон. Ширина ее около 4 мкм, толщина – 1 мкм. Одна из плоских поверхностей головки слегка вогнута (имеет ложкообразное углубление) и это обуславливает поворачивание спермиев вокруг своей оси при движении вперед. По происхождению головка представляет собой ядро зародышевой клетки и в основном заполнена хроматиновым материалом. Этот материал выглядит сконцентрированным в нижней части головки, почти отсутствует в средней части и как бы соединен в цепочки в передней части. В головке имеются нити, которые играют роль опорных («скелетных») образований. Различают продольные и спиральные нити. Продольные нити обуславливают длину и изгиб головки, а спиральные (две или три) определяют размеры головки в поперечнике. Передняя часть головки на 2/3 прикрыта акросомой, которая образуется из акросомного зернышка и вакуоли. Акросома плотно прилегает к ядерной оболочке и прочно держится на головке.

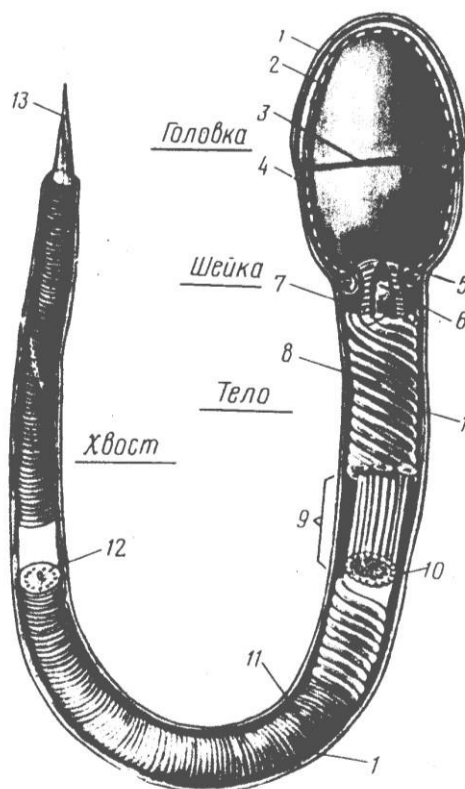


Рисунок 2.8 – Схема строения сперматозоида [8]

Передний конец акросомы утолщен и загнут в одну сторону, как и сама головка. Задний край акросомы прикреплен в виде довольно широкой полосы – ядерного кольца. Если хранить сперму при температуре 16...37°C, то уже через несколько часов отмечаются дегенеративные изменения в акросоме. У некоторых спермиев она набухает, отделяется (кроме ядерного кольца) и ее можно рассмотреть как отдельное тело. При повреждении акросомы спермий теряет способность к оплодотворению.

Шейка, тело и хвостик спермиев представляют собой единую двигательную систему. Внутри их находится осевая нить, которая образуется из дистальной центриоли. Состоит осевая нить из двух центральных фибрилл, окруженных тонкими двойными фибриллами. В теле спермия имеется еще девять грубых фибрилл. Тонкие и грубые фибриллы окружают две центральные в виде двух концентрических колец. Продольные фибриллы окружены спиральной нитью.

Тонкие фибриллы, состоящие из двух трубочек, по диаметру сходных с центральными, расположены на некотором расстоянии вокруг центральных. Каждая пара тесно сращена между собой, образует дуплет. Одна из пары – субфибрилла В кажется прозрачной внутри, также как и центральные, вторая – субфибрилла А заполнена непрозрачной массой и несет на наружной стороне, обращенной к другой паре, два выступа – ручки. Субфибриллы А соединяются с центральными фибриллами тонкими нитями – спицами. Пять субфибрилл А соединены с одной центральной и четыре – с другой. Стенки двух центральных фибрилл состоят из 13 рядов глобулярных белковых молекул. Периферические дуплеты из двух соединенных между собой трубочек имеют общий участок стенки. В них молекулы расположены в 23 ряда. Белок – спактин (тубулин), сходен по своему составу с актином. Отростки (ручки) состоят из молекулы белка спермозина (денеина), который, как и миозин, способен при определенной концентрации ионов кальция и магния действовать как фермент, расщепляющий АТФ, и высвобождать энергию.

В области шейки, внутри так называемой имплантационной ямки, девять грубых фибрилл соединяются одна с другой, образуя косо поставленную рамку с отверстием внутри. Несколько ниже в глубине их располагаются верхние концы тонких фибрилл. Грубые фибриллы первая, пятая и шестая в диаметре больше других. Положение их такое, что ось симметрии проходит от первой между двумя центральными и между 5 и 6-й грубыми. Грубые фибриллы имеются только в области шейки и тела спермия и затем постепенно истончаются и исчезают. Грубые фибриллы окружены митохондриальным слоем. Этот слой состоит из отдельных удлиненных митохондрий, соединенных между собой концами и закрученных по спирали вокруг продольных фибрилл. Число витков варьирует от 12 до 80. Внутри каждой митохондрии находятся 2–3 продольные перегородки – кристы, а пространство между ними заполнено липидами. В митохондриях сосредоточены ферментные системы спермиев и в них вырабатывается энергия для движения. В хвостовой части спермия кольцо из 9 пар тонких фибрилл окружено тонкой спиральной нитью немитохондриального происхождения. Она связывает фибриллы, препятствует распаду их при движении. Только самый кончик хвоста не обвит этой нитью и в стареющем спермии нередко образует кисточку из разделившихся фибрилл. Снаружи спермий покрыт полупроницаемой тонкой оболочкой (мембраной), имеющей липидный слой. Появление его связано с продвижением вдоль осевой нити цитоплазматической капельки. Увеличение в эякуляте числа спермиев,

имеющих в области шейки такую капельку, обуславливает понижение плодовитости самца.

Повреждения головки, которые проявляются неравномерностью формы ядра и многочисленными пальцевидными впячиваниями мембраны ядра у переднего края, а также наличие в акросоме кист и пузырьковидных структур и образований в виде выростов также могут быть причиной бесплодия отдельных особей. У спермиев кобелей грушевидная форма и другие дефекты спермиев нередко сопровождаются нарушениями акросомы и обуславливают бесплодие.

У бесплодных жеребцов в спермиях обнаруживали увеличение числа микротрубочек. В отличие от нормальных микротрубочек дефектные отличались сильной извитостью, не были связаны между собой и на 20% были тоньше в диаметре.

Спермии содержат примерно 75% воды и 25% белков и жиров. Главными химическими компонентами являются: дезоксирибонуклеопротеид (в головке спермия), протеинсвязанный мукополисахарид (в акросоме), белки, липопротеиды и фосфолипиды (в теле и хвостике), кератиноподобный протеин (в мембране и фибриллах). Кроме того, в спермии содержатся минеральные вещества, разнообразные ферменты и коферменты.

Дезоксирибонуклеопротеид состоит из ДНК и протеида. ДНК половых клеток различных видов отличаются друг от друга соотношением главных составных частей: аденина, гуанина, цитозина и тимина. Протеин (гистон) содержит 17 аминокислот, и, хотя в спермиях всех видов богат аргинином, но также имеет значительные видовые различия. Отклонения от нормального содержания и состава дезоксирибонуклеопротеида в клетках приводит к понижению оплодотворяющей способности спермы.

Мукополисахарид входит в состав сложного липогликопротеинового комплекса. Содержится главным образом в акросоме и играет важную роль в проникновении спермия через лучистый венец яйца. Причем такая способность половой клетки связана с гликопротеидами, которые появляются в акросоме в хвосте придатка. Главными компонентами мукополисахарида являются сиаловая кислота, метилпентоза, галактоза, манноза, гексозамин. В акросоме содержатся и фруктоза, липиды.

Шейка, тело и хвост спермиев состоят из простых белков, сложного белка липопротеида, свободных липидов и солей. Из простых белков, которые содержатся в фибриллах, можно выделить спактин и спермозин. Липопротеиды составляют значительную часть сухого вещества тела ихвоста спермия. Свободных жиров в этих частях клетки содержится 10–14%. Основным из них является плазмоген. Это альдегидной природы, холиносодержащий жир. Он может служить субстратом для эндогенного дыхания спермиев. Вторая часть свободных жиров приходится на лецитин. Помимо азотистого основания холина, в лецитине и плазмогене содержится фосфорная кислота. Липиды содержатся в основном в хвостике, меньше – в средней части и головке. В спермиях содержится также небольшое количество обычных жиров (триглицеридов) и немного холестерина.

Цитоплазматическая мембрана спермиев состоит в основном из белковой субстанции, обладающей многими свойствами кератина. Она богата цистином, гистидином и аргинином и имеет высокое содержание серы. Оболочка устойчива к разлагающему действию пепсина и трипсина, а также к щелочным и кислым растворам.

Ферменты и коферменты находятся в основном в головке и средней части и в меньших количествах – в хвостике. В области головки (в акросоме) содержатся гиалуронидаза, которая может свободно выделяться в окружающую среду, и три формы (альфа, бета и гамма) акрозина, по своему действию напоминающего трипсин. Ферменты гидролитического и окислительного характера связаны со структурой спермиев и размещены на кристах или на поверхности митохондриальных нитей. Гликолитические ферменты (щелочная и кислая фосфатазы) участвуют в гликолитическом цикле. Они содержатся и в плазме спермы; вырабатываются в предстательной и пузырьковидных железах. Цитохромная система (цитохромоксидаза, аминокислотная оксидаза, различные типы дегидрогеназ и др.) играет важную роль в окислительном метаболизме (дыхании) и концентрируется в митохондриальной оболочке средней части спермиев.

Половые клетки содержат много фосфора и серы. В их головках фосфор связан с ДНК.

Спермии обладают подвижностью. Подвижность чрезвычайно важна и необходима для распределения их в половых путях самки, где находится яйцеклетка. В результате активных движений спермиев происходит встреча их с яйцом и проникновение через его оболочки. Движение осуществляется за счет сокращений средней части и хвоста, в которых функционирует сократительный комплекс: спермозин-спактин, АТФ и фосфатаза. Поступательное движение спермиев обеспечивается в результате ритмичных сокращений хвостовой нити, происходящих в плоскости головки, и вследствие вращения головки вокруг своей продольной оси. Начало сокращения возникает в шейке и захватывает последовательно парные периферические осевые фибриллы по кругу с последующим их расслаблением. Две центральные фибриллы дают импульсы, координирующие такие последовательные сокращения и расслабления по всей длине каждой пары осевых фибрилл. Ввиду того, что головка имеет с одной стороны небольшую вогнутость, при движении вперед она поворачивается вокруг своей продольной оси. Под микроскопом это проявляется вспышками света, отраженного головкой, когда она обращена то плоской поверхностью, то узкой стороной. Вследствие вращения головки хлыстообразные удары хвоста, происходящие в плоскости головки, приходятся на разные стороны, и это обеспечивает прямолинейно-поступательное движение.

В свежей сперме благодаря наличию отрицательного заряда спермии не склеиваются, располагаются параллельно и удары их хвостиков происходят ритмично и в такт. Это способствует одновременному направленному в одну сторону передвижению половых клеток и создает сильное вихревое движение жидкости, которое может уносить их самих, если оно вы-

ше собственной их скорости. Вихревое движение заметно невооруженным глазом в густых эякулятах барана. Скорость движения спермиев быка в среднем составляет 6 мм в минуту. Зависит она от температуры, рН и вязкости среды и других факторов. Отдельные спермии быков проявляют прямолинейное движение со скоростью 21 мм. В образцах спермы с исключительно высокой подвижностью скорость их движения составляет в среднем 15 мм в минуту.

Важной особенностью спермиев является способность их к реотаксису, т.е. к ориентированному движению против тока жидкости. Медленное течение жидкости не только определяет направление их движения, но и стимулирует возрастание его скорости. В связи с этим многие полагают, что приобретение таких свойств спермиями обусловлено особенностями осеменения млекопитающих, в частности, характером тока жидкости (слизи) в половом тракте самок (В.К. Милованов, 1962).

Обмен веществ в спермиях. Для совершения сократительных движений хвостиком спермиям требуется энергия. Ее они получают за счет распада аденозинтрифосфата. АТФ из митохондрий спиральной нити, обвивающей тело и шейку спермия, переходит на фибриллы и разлагается с высвобождением энергии.

АТФ состоит из аденина и рибозы (аденозина) и трех молекул фосфорной кислоты. Связи последних двух фосфатных групп богаты энергией и могут быть осуществлены только путем затраты больших количеств энергии. Под воздействием фосфатазы АТФ разлагается с образованием АДФ и фосфорной кислоты и высвобождением энергии.

3. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОСЕМЕНЕНИЯ ЖИВОТНЫХ

3.1. Половой акт. Видовые особенности полового акта

Половые рефлексы самцов и самок. Для воспроизведения новой особи необходимо, чтобы сперматозоид и яйцеклетка встретились в половых путях самки. В естественных условиях встреча их происходит в результате полового акта (коитуса).

Половой акт (*coitus*) – это комплекс условных и безусловных половых рефлексов, обеспечивающих выделение спермы из половых органов самца и введение ее в половые пути самки. Для осуществления полового акта необходим контакт самца с самкой (спаривание). Контакт достигается за счет рефлекса преследования. Стимулируют проявление рефлекса: обонятельные, слуховые и зрительные восприятия. Обоняние сильно развито у кобеля, козла, барана. У быков большую роль играет зрение. При вольной случке бык в стаде нередко подолгу преследует одну и ту же корову.

У самок рефлекс преследования проявляется в пассивной форме, т.е. они не препятствуют контакту с самцом. У свиней, коз, овец и коров бывает и активный рефлекс движения к самцу.

После спаривания половые рефлексы протекают в такой последовательности: эрекции, обнимательный (садка, покрытие), совокупительный и эякуляции. Все они взаимосвязаны и взаимообусловлены.

Рефлекс эрекции заключается в сильном наполнении кровью (у птиц – лимфой) пещеристого тела полового члена. Проявляется при восприятии раздражителей, действующих на органы слуха, обоняния, зрения. Раздражители стимулируют высвобождение в тканях окиси азота, которая путем образования специфического фермента воздействует на кровеносные сосуды полового члена, расширяет их и способствует большему притоку крови. Сокращения седалищно-кавернозных мускулов периодически сдавливают ножки полового члена и выталкивают порции крови. Кровь продвигается по двум стволам глубокой артерии полового члена, а после слияния этих сосудов – дорсальному продольному сосудистому каналу. От него кровь по спиралевидным артериям заполняет пещеристое тело пениса. Это приводит к сдавливанию глубоко расположенных вен и задержке оттока крови. Пещеристое тело сильно наполняется кровью, что обеспечивает состояние упругости пениса и возможность введения его во влагалище.

В момент совокупления максимальное давление в пещеристом теле в десятки раз выше артериального давления. В последующем фосфодиэстераза 5 типа мышц полового члена нейтрализует стимулирующее действие окиси азота.

Очевидно, существует и прямой путь передачи раздражения из коры головного мозга к центру эрекции, который расположен в крестцовой части спинного мозга, а затем – к половым органам, обеспечивающий быструю сосудистую и мышечную реакцию.

У самок рефлекс эрекции проявляется гиперемией половых органов, набуханием пещеристых тел клитора и преддверия влагалища. Это способствует зиянию половой щели и облегчает коитус.

Обнимательный рефлекс (садка, покрытие) – вскакивание самца на самку (самца или чучело) и обхватывание ее боков передними конечностями. У самок этот рефлекс проявляется непротивлением коитусу или вскакиванием на других самок или самца. Способность к садкам особенно проявляется у коров и свиней.

Совокупительный рефлекс. После садки производитель делает искательные движения пенисом до тех пор, пока головка пениса подвергается действию более холодного окружающего воздуха и не коснется преддверия влагалища, после чего следуют совокупительные движения. Для их осуществления большую роль играют тепловые и осязательные импульсы. В зависимости от вида животных совокупительный рефлекс проявляется одним или несколькими толкательными движениями, способствующими раздражению полового члена и обуславливающими эякуляцию.

У самок совокупительный рефлекс сводится к комплексу движений мышц туловища и половых органов, опусканию крупа, расширению тазовых конечностей, поднятию хвоста.

Рефлекс эякуляции (эякуляция, семяизвержение) – выделение спермиев и секретов придаточных половых желез из половой системы самца. Эякуляция – следствие мышечных сокращений, начинающихся в семявыносящих канальцах и продолжающихся в придатках семенников, семяпроводах, придаточных половых железах. Конечное выделение спермы происходит в результате ритмичных сокращений мышц пениса и уретры. Сокращения происходят в виде последовательных волн, выбрасывающих сперму из наружного отверстия уретры.

Стимулируют эякуляцию раздражения Фатер-Пачиниевых нервных окончаний головки полового члена. Возникающие здесь импульсы передаются по внутреннему срамному нерву в спинной мозг, в центр эякуляции. Из центра импульсы возвращаются к подчревному сплетению и отсюда – к мышцам. Эякуляция контролируется корой головного мозга; сопровождается общим нервным возбуждением – оргазмом.

У самок рефлекс эякуляции заключается в выведении секрета вестибулярных желез, в сокращении мышц матки и шейки.

Половой акт у крупного рогатого скота. Для возникновения полового возбуждения у быков важную роль играет зрительное восприятие. Темный контур на светлом фоне бык воспринимает как круп коровы и поэтому охотно делает садку на другого быка или чучело. Эрекция полового члена начинает проявляться при контакте с самкой (манекеном, чучелом). В отверстии препуция показывается головка пениса, из уретры выбрызгивается водянистая жидкость, или она стекает по каплям с головки пениса.

Во время предварительной игры быки обнюхивают половые органы коровы, трутся головой об их зад. Непосредственно перед вскакиванием производитель часто делает резкое движение головой над задней частью

тела коровы. Молодые бычки могут вскакивать на самку раньше, чем наступит полная эрекция. В этом случае их необходимо несколько при- дер- жать, иначе эякулят окажется низкого качества. Для возникновения со- во- купительного рефлекса большую роль играют тепловые и осязательные импульсы. После садки и нескольких поисковых движений пениса и попа- дания во влагалище бык делает энергичный толчок, во время которого происходит эякуляция. Сперма из половых путей выбрасывается мгновен- но (1–2 сек.), при этом происходит смешивание секретов всех желез. Дли- тельность всего полового акта 0,5–1,5 мин.



Рисунок 3.1 – Половой акт у крупного рогатого скота

Кратковременность эякуляции связана с тем, что уже в момент поло- вого возбуждения и эрекции сперматозоиды из канала придатка семенника перемещаются в ампулы семяпроводов, и оттуда быстро выталкиваются сокращением мышц вместе с секретами придаточных половых желез. В ре- зультате волнообразных сокращений мышечного слоя тазовой части урет- ры и луковично-кавернозного мускула происходит наполнение венозной кровью пещеристого тела полового члена, что вызывает расширение про- света уретры. Это способствует быстрому продвижению спермы в момент совокупительного толчка.

Важным показателем плодовитости быков является половая актив- ность. От степени проявления ее зависит, прежде всего, возможность их использования. Известно также, что чем выше половая активность произ- водителя, тем обычно больше он продуцирует спермы, а качество ее луч- ше. Под половой активностью (половой потенцией) понимают характер и степень проявления половых рефлексов, в результате которых производи- тель выделяет сперму.

Все половые рефлексы взаимообусловлены и взаимосвязаны. Слабое или неполное проявление одного из них приводит к ослаблению или задержке последующих рефлексов, в результате чего от производителя получают сперму низкого качества или же он вообще не выделяет сперму. Поэтому при оценке половой потенции быка следует учитывать характер проявления каждого рефлекса в отдельности и в целом всего комплекса половых рефлексов.

Половой акт у мелкого рогатого скота. У коз и овец половой акт протекает в основном также, как и у крупного рогатого скота. Баран после спаривания с самкой нередко стоит некоторое время, ожидая эрекции. Затем следует садка и после нескольких поисковых движений пенисом – совокупительный толчок, во время которого происходит эякуляция.

Половой акт у свиней. Стимулы, вызывающие половую активность хряка, исходят от самки. Хряк находит маток в стадии эструса скорее по их поведению, чем по таким пассивно издаваемым сигналам, как запах или звуки. При приближении к матке хряк часто мочится, делает жевательные движения челюстями, при этом в ротовой полости у него появляется пена. В ней содержится стероидное вещество, стимулирующее проявление половых рефлексов у самки.



Рисунок 3.1 – Половой акт у свиней

Общение с самкой начинается обычно с контакта нос к носу, или нос – наружные половые органы. Если самка останавливается, самец касается носом ее боков, трется о них, обнюхивает область ануса и наружных половых органов или голову, затем делает попытку вспрыгнуть на нее. Если же самка уклоняется от садки самца или убегает от него, то хряк догоняет ее и опять начинает тереть носом бока, обнюхивать наружные половые органы или становится в позу голова к голове. В это время могут наблюдаться притворные драки: хряк ходит вокруг свиньи, пытается слегка укусить ее за уши, иногда сильным толчком подбрасывает зад свиньи. Однако преследование и притворные драки наблюдаются нечасто.

Следует отметить, что при контакте с любой самкой хряк проявляет реакции ухаживания. Но если самка находится в стадии эструса, то продолжительность обнюхивания, трения носом и число садок уменьшается, так как у нее быстро проявляется состояние неподвижности. Самка в анэструсе убегает от хряка после его попытки к садке, обнюхивания и трения носом, очевидно, для того, чтобы ориентировать его реакцию. И путем неудачных попыток ухаживания в период контакта с такой самкой хряк распознает ее отрицательную половую реакцию.

Рефлексы эрекции и садки возникают у хряка легче, чем у других домашних животных. Хряк делает садку немедленно, если самка находится в стадии эструса. Средний период до садки составляет 40–45 с. При виде чучела свиноматки хряки, особенно молодые, также реагируют очень быстро и сразу вскакивают на него. Это связано с тем, что половая реакция хряков обуславливается главным образом визуальными и тактильными сигналами, причем основными раздражителями являются общий вид самки и неподвижность ее. Другая визуальная, обонятельная и звуковая информация, получаемая хряком от самки в охоте, не играет большой роли. Иногда хряк вспрыгивает на матку (чучело) сбоку или со стороны головы.

После вскакивания на самку хряк долго производит поисковые движения пенисом, при этом он много раз вращательным движением вводит половой член во влагалище и выводит его обратно. После таких глубоких поисковых движений пенис остается во влагалище, но его конечная часть продолжает вращаться. При этом он все глубже и глубже вводится в половые пути, пока головка его не проникнет в канал шейки матки. Возникающее раздражение от давления на головку пениса вызывает рефлекс эякуляции.

Таким образом, совокупление у свиней происходит в форме фрикционного коитуса; длится в среднем около 10 мин. Эякуляция продолжительная, составляет в среднем 5 минут.

Эякулят хряка состоит из трех фракций. Вначале выделяется слабоокрашенная мочой вязкая жидкость с очень малым количеством сперматозоидов. Затем выделяется фракция молочно-белого цвета, богатая половыми клетками. Последняя фракция представляет собой водянистый секрет, в котором содержатся студенистые сгустки, напоминающие зерна каши, сваренной из крупы саго. Из этой фракции формируется желатинообразная

масса, которая в виде пробки заполняет канал шейки матки и препятствует вытеканию спермы.

При мануальном получении спермы от хряков трех пород (белорусской крупной белой и черно-пестрой и дюрок) длительность выделения первой фракции составила в среднем (49 ± 3) с., второй – (139 ± 8) с. и третьей фракции – (118 ± 12) с. В целом продолжительность эякуляции составила (305 ± 12) с., а объем всего эякулята составил (192 ± 13) мл. Концентрация спермиев в самом начале эякуляции (*первая проба*) сильно колебалась в зависимости от индивидуальных особенностей хряка и других факторов и составила в среднем 0,201 млрд/мл, в начале и в конце сбора основной (используемой) фракции – соответственно 0,49 и 0,026 млрд/мл и в конце выделения спермы – 0,013 млрд/мл. Средний показатель по используемой фракции – 0,175 млрд/мл.

Половой акт у лошадей. Половой акт начинается с так называемой предварительной игры. В момент, когда жеребец слышит или видит кобылу, у него проявляется рефлекс эрекции. Половой член выдвигается из препуция и постепенно наполняется кровью; при этом зрительные стимулы играют важнейшую роль. Сначала жеребец приближается к голове кобылы, захватывает зубами складки кожи на ее шее, в паху, в области скакательных суставов, обнюхивает половые органы, которые во время течки имеют специфический запах, возбуждающий самцов. При обнюхивании жеребец, как правило, приподнимает голову и своеобразно загибает верхнюю губу к ноздрям. Состояние эрекции усиливается, половой член приподнимается к брюху, после чего жеребец делает садку на кобылу. Горячие чистокровные производители готовы к садке уже при наложении уздечки и после подвода к кобыле немедленно вспрыгивают на нее. Флегматичные жеребцы тяжелых пород могут значительное время оставаться возле кобылы. Если обнимательный рефлекс проявляется до наступления полной эрекции, то жеребца следует некоторое время удерживать. Это приведет к усилению состояния возбуждения и эрекции.

После вскакивания жеребца кобыла искривляет спину и опускает зад. Когда головка пениса попадет во влагалище, жеребец делает несколько толчкообразных движений пенисом вперед и назад. Во время этих движений он переступает с ноги на ногу. Через 5–10 секунд или более начинается эякуляция. Распознается она по ритмичным движениям хвоста. Совокупительные движения прекращаются. Иногда жеребец стонет.

Весь половой акт длится несколько минут. После завершения эякуляции жеребец медленно «сползает» с кобылы.

При проведении случки следует учитывать, что у лошадей индивидуальные предрасположенности играют более значительную роль, чем у других животных. Необычная масть кобылы, присутствие людей, шум и другие факторы могут отрицательно влиять на течение коитуса. Поэтому для случки нужно выбирать тихое, лучше крытое место. Предварительно хвост кобылы забинтовывают марлевым или резиновым бинтом, чтобы волосы не попали в половые пути, а после садки производителя отводят его в сто-

рону. При необходимости конюх должен помочь жеребцу направить половой член во влагалище, чтобы не допустить попадания его в прямую кишку.

3.2. Физиология сперматозоидов в половых путях самок

У свиней, сук и кобыл во время полового акта сперма попадает в матку (маточный тип естественного осеменения). У самцов этих животных объем эякулята большой, концентрация сперматозоидов в сперме – низкая. Сначала выделяется секрет придаточных половых желез, затем – смесь сперматозоидов с большим количеством секрета и в конце – почти свободная от половых клеток семенная жидкость.

У свиней влагалище узкое и половой член самца с заостренной винтообразной головкой входит глубоко в канал шейки матки. Сперма извергается постепенно непосредственно в матку. Через 10–20 мин. после начала коитуса она находится у верхушек рогов матки и вскоре сперматозоиды обнаруживаются уже в яйцеводах.

У сук богатая сперматозоидами фракция еще в период выделения ее самцом с влагалища попадает в рога матки и через 0,5 мин. забрасывается в верхушки рогов ритмическими сокращениями их стенок.

У кобыл во время коитуса происходит уменьшение свода влагалища, стенки его напрягаются и плотно обхватывают головку пениса, которая увеличивается в 4 раза, приобретает грибовидную форму и к концу коитуса закупоривает переднюю часть влагалища. Выступающая часть уретры размещается в расширенном устье шейки матки и значительная часть спермы сильной струей вводится в канал шейки матки. Сокращенные во время оргазма стенки матки и ее рогов начинают расслабляться и засасывают сперму. Способствует перемещению спермы и то, что отодвинутая вперед половым членом матка возвращается в исходное положение. Опыты с введением взвеси угля в шейку матки до начала коитуса показали, что уже через 10–15 мин. сперма с углем находится в конце рога матки, на стороне которого в яичнике происходит овуляция. Большое физиологическое значение имеет и высокая концентрация простагландина E_2 в сперме жеребца (24,1 мг/мл, тогда как у хряка только 0,3–1,1 мг/мл). Считается, что этот простагландин способствует сокращению гладкой мускулатуры половых путей самок.

У овец, коз и коров сперма вводится в переднюю часть влагалища и скапливается в складках шейки матки и в углублении влагалища под выступающей частью шейки (влагалищный тип естественного осеменения). Объем эякулята у самцов этих видов животных небольшой, концентрация сперматозоидов в сперме высокая; эякуляция происходит очень быстро и половые клетки выделяются одновременно с секретами придаточных половых желез.

У коров во время половой охоты влагалищная часть шейки матки сильно увеличивается, продольные складки слизистой оболочки углубляются. При коитусе половой член быка вводится вверх во влагалище, и вы-

деляемая сперма заполняет складки шейки и стекает в нижний свод влагалища. Из складок шейки матки сперма попадает в цервикальный канал.

У овец и коз сперма также попадает в переднюю часть влагалища, причем ввиду наличия у самцов длинного отростка мочеполового канала и кругового движения его, эякулят распределяется вокруг отверстия шейки матки. Ампутация отростка может снижать оплодотворяемость самок.

Передвижение сперматозоидов в половых путях самок жвачных происходит почти также быстро, как и у животных с маточным типом естественного осеменения.

В механизме передвижения половых клеток важную роль играет мышечная активность матки и всасывающая функция ее, а также капиллярная функция цервикального канала, отрицательное внутрибрюшное давление, движение ресничек эпителия яйцепроводов, специфические свойства цервикального секрета, собственная подвижность сперматозоидов и способность их реотаксису. Но главным из этих факторов у всех видов является сократительная функция матки и яйцеводов.

В выяснении механизма передвижения сперматозоидов в половых путях коров большую роль сыграли исследования А.В. Бесхлебного, Д. Хэммонда, Н.Л. ВанДемарка, А.Н. Меллера и других ученых.

А.В. Бесхлебнов в 1938 году сообщил, что введенные в передний участок влагалища сперматозоиды появлялись в матке коров через 40 мин. и достигали верхней трети яйцеводов через 100 мин.; мертвые половые клетки, введенные в шейку матки, также были обнаружены в яйцеводах.

Н.Л. ВанДемарк и А.Н. Меллер (1950), усовершенствовав методику изучения передвижения сперматозоидов, показали, что после введения спермы в канал шейки матки сперматозоиды достигали яйцеводов за 2,5 мин. у коров во время охоты и за 5 мин. – у животных на 4–8-й день цикла. Мертвые сперматозоиды оказывались в верхних участках яйцеводов через 4,3 мин.

Длина выпрямленного полового тракта у взрослых коров равна в среднем 65 см, у телок – 53 см, а скорость собственного движения сперматозоидов составляет 2–7,5 мм/мин. Чтобы достигнуть сперматозоидам яйцеводов, если они будут передвигаться за счет собственных движений, потребовалось бы много времени. Их передвижение осуществляется в основном за счет сокращений матки, которые стимулируются гормоном окситоцином. Наблюдениями Д. Хэммонда и других ученых было показано, что этот гормон выделяется у кобыл и коров во время случки. Это основной гормон, вызывающий и выделение молока. Вот почему у многих лактирующих животных в этот момент из вымени вытекает молоко.

Стимулируя сокращения матки и других участков половых путей, окситоцин способствует быстрому переносу сперматозоидов из шейки матки в яйцеводы. Это достигается в результате последовательных сокращений и расслаблений матки, уменьшения и увеличения ее полости и засасывания спермы в верхушки рогов матки и затем в яйцеводы. Благоприятствует этому внутрибрюшное отрицательное давление и капиллярность канала

яйцеводов. Собственная подвижность сперматозоидов имеет значение только в шейке матки и в месте соединения матки с яйцеводом и при проникновении через оболочки яйцеклетки в процессе оплодотворения.

Так как окситоцин выделяется и перед доением животного, то это послужило основанием рекомендовать осеменять коров до доения. Выделившийся во время дойки гормон может усилить сокращения матки и это обеспечит быстрый перенос сперматозоидов в яйцеводы, а, следовательно, по общепринятому мнению, и более высокую оплодотворяемость. Однако и различные манипуляции с репродуктивным трактом (массаж вульвы и анального отверстия, вдувание воздуха во влагалище и др.), присутствие быка, обнюхивание, холостые прыжки и садка с последующей копуляцией и эякуляцией, а также искусственное осеменение приводят к повышению сократительной функции матки. Поэтому эффективность задержки доения, как одного из дополнительных стимулов выделения окситоцина, может оказаться не такой уж и высокой.

Данные в отношении передвижения сперматозоидов в половых путях овец противоречивы. Наиболее раннее время, когда они обнаруживались в верхних участках яйцеводов, составляет 8–15 минут. Период охоты или стадия полового цикла могут значительно влиять на скорость передвижения половых клеток. Быстрее достигают яйцеводов сперматозоиды тогда, когда осеменение производится в конце охоты и медленнее – при раннем осеменении. А.И. Лопырин (1971) считает, что у овец поступление сперматозоидов в яйцеводы регулируется сфинктером, расположенным в месте соединения яйцевода с рогом матки. Расслабление этого сфинктера происходит за 15–20 час. до наступления овуляции. Вот почему при более позднем осеменении сперматозоиды быстрее достигают яйцеводов.

Несмотря на то, что часть сперматозоидов, введенных во влагалище или шейку матки, быстро продвигается к яйцеводам, попадает сюда их небольшое число. В яйцеводе овцы поблизости места оплодотворения обнаруживается несколько сотен клеток, в перешейке (истмической части яйцевода) – около 4 тыс., всего в яйцеводе их – до 6 тыс. У коров лишь немногие сперматозоиды оказываются в яйцеводах, несколько больше – в верхушках рогов матки, а основная масса их остается в месте введения.

Продолжительность жизни сперматозоидов в различных участках половых путей самок различна.

У овец в шейке матки сперматозоиды сохраняют жизнеспособность максимум в течение 56 ч. Обычно же способность их к оплодотворению сохраняется 26–27 ч. Во влагалище сперматозоиды погибают уже через 6 ч.

Недолго они живут и во влагалище коров – 1–6 ч. В матке коров продолжительность жизни сперматозоидов значительно выше: максимально оплодотворяющая способность их может сохраняться в течение 51–56 ч, а подвижность – до трех суток. Но в большинстве случаев сперматозоиды выживают не более 24–30 ч, причем спустя 15 ч после введения в половые пути самки резко увеличивается число поврежденных половых клеток.

При наличии воспалительных процессов в половых органах продолжительность жизни сперматозоидов сокращается.

В матке свиней живые сперматозоиды обнаруживаются через 24–48 ч, иногда даже через 70–72 ч после покрытия. При использовании для искусственного осеменения сохраняемой спермы выживаемость сперматозоидов сокращается до 12–14 ч. У кобыл во влагалище сперматозоиды сохраняют жизнеспособность не более 5 ч, а в матке значительно дольше – иногда до 72–120 ч.

Продолжительность жизни сперматозоидов необходимо учитывать при выборе сроков осеменения самок. Предпочтительнее, если осеменение близко по времени к овуляции, но не совпадает с ней. Коров или телок необходимо осеменять по крайней мере не позднее, чем за 6–8 ч до овуляции. За это время сперматозоиды приобретают готовность к оплодотворению. Процесс подготовки (*капацитации*) длится от 3 часов (у хряка) до 8 ч (у быка).

В механизме капацитации главным является активация ферментных систем сперматозоида, которые содержатся в акросоме и играют важную роль в оплодотворении. Одна группа ферментов (гиалуронидаза и др.) разъединяет клетки лучистого венца, другая ($\square$ -, $\square$ - и $\square$ -акрозин) – обеспечивает прохождение сперматозоидов через прозрачную оболочку. Высвобождение этих ферментов важно для начала оплодотворения. Но в момент эякуляции активность их подавляется секретами придаточных половых желез. Таким образом предупреждается немедленная *акросомная реакция* и расходование ферментов.

Капацитация представляет процесс внутриклеточных изменений, происходящих в сперматозоидах. Он необходим для акросомной реакции и начала оплодотворения. Протекает этот процесс в матке, а затем в яйцеводах. Эстрогены стимулируют, а прогестерон тормозит капацитацию. Плазма спермы подавляет оплодотворяющую способность капацитированных сперматозоидов (декапацитация). В процессе капацитации резко увеличивается подвижность сперматозоидов и отмечается вхождение в них ионов кальция. Происходит это после присоединения к сперматозоидам высокомолекулярных полисахаридов (глюкозаминоглюкансов). Эти вещества находятся в репродуктивном тракте самок. Основными из них являются гепарин, гиалуроновая кислота и др. Наивысшая концентрация их обнаруживается в шейке матки, более низкая – в матке и яйцепроводах. В период эструса концентрация их выше, чем в стадию диэструса. Сперматозоиды высоко плодовитых быков обладают более высокой связывающей способностью по отношению к этим веществам, чем сперматозоиды низко плодовитых быков.

Присоединение к сперматозоидам полисахаридов повышает их чувствительность к ионам кальция. После вхождения кальция начинается *акросомная реакция*. Наружная мембрана акросомы сливается с плазматической мембраной сперматозоида. Формируется пузырек, в котором накапливаются ферменты, необходимые для проникновения сперматозоидов че-

рез оболочки яйцеклетки. При прохождении сперматозоидов через оболочки акросома теряется и остается на них только внутренняя мембрана акросомы.

Введенные в половые пути излишние сперматозоиды после гибели разрушаются и поглощаются лейкоцитами. Как любой чужеродный белок, они могут служить антигеном и вызывать выработку соответствующих антител. Болгарским ученым К. Братановым было установлено, что при осеменении коров с повреждениями слизистой оболочки матки (незавершенная инволюция, эндометриты) погибшие сперматозоиды всасываются и вызывают образование спермоагглютининов. Осеменение оказывается неплототворным. Обусловлено это тем, что спермоагглютинины блокируют ферментные системы акросомы и препятствуют оплодотворению. При осеменении в следующий половой цикл под влиянием образовавшихся ранее антител сперматозоиды агглютинируются, рассасываются, способствуя тем самым увеличению количества антител. При этом шансы на оплодотворение с каждым последующим осеменением уменьшаются, так как сильно возрастает титр антител. При осеменении животных со здоровой слизистой оболочкой увеличения титра антител не происходит, и коровы сохраняют хорошие шансы на оплодотворение даже в случае повторного осеменения.

4. ПОЛУЧЕНИЕ СПЕРМЫ ОТ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Цель занятий: приобретение студентами навыков обращения с производителями сельскохозяйственных животных и птиц и получение спермы различными методами.

Объекты исследования и оборудование: искусственные вагины для животных; спермоприемники и фильтры; штативы для спермоприемников и искусственных вагин; поролоновая (капроновая) протирка для вагин, кружка Эсмарха; физиологический раствор, 2–3% раствор натрия гидрокарбоната и 0,02% раствор фурацилина; 70% спирт этиловый; тампоны, пропитанные 96% спиртом-ректификатом, марлевые салфетки, вата; стерильный вазелин или репрогель; компрессор или шары Ричардсона, термометры, стеклянные воронки, пинцеты, корнцанг; бык, баран (козел), хряк, жеребец, чучело свиньи, животное-манекен для получения спермы от быка; овца (коза) и кобыла в охоте; станки для получения спермы от быка и барана, палка-водила для быка; самцы птиц; стеклянная посуда (цилиндры мерные и мензурки емкостью 100, 200, 500 мл), весы; тазы эмалированные, кастрюля эмалированная на 3–5 л, ерши и щетки для рук; резиновые или поролоновые губки для рук; полотенца, бумага фильтровальная, пищевая алюминиевая фольга; перчатки резиновые и полиэтиленовые одноразовые; электроэякуляторы для быка и барана; автоклав, сушильный шкаф, термостат для вагин, простой и электрический стерилизатор, бактерицидная лампа; газовая или электрическая плита.

Методические указания. Занятия проводятся в лаборатории и ветеринарной клинике кафедры, на пункте искусственного осеменения свиней (овец, кобыл). На первом занятии студенты должны познакомиться с устройством искусственной вагины, правилами сборки и подготовки и затем под контролем преподавателя научиться собирать и готовить приборы для получения спермы от производителей всех сельскохозяйственных животных.

После этого преподаватель объясняет студентам правила обращения с производителями (быком, хряком, жеребцом, бараном), методы подготовки их для получения спермы. Особое внимание уделяется соблюдению техники безопасности при использовании горячих жеребцов и буйных быков. Студенты, которые не имеют навыков обращения с этими животными, должны строго следовать указаниям преподавателя и действовать только совместно с ним. При этом наибольшую осторожность необходимо проявлять при фиксации производителя в месте его размещения, а также во время подвода к самке (манекену) и первых попытках садки. При работе с хряками следует узнать их норы. Подготовив быка и манекена, один или два студента под контролем преподавателя получают сперму (1–2 эякулята) и определяют ее внешние свойства. На последующих занятиях сперму получают от барана, жеребца, хряка, а также – от самцов птиц.

4.1. Получение спермы от производителей в искусственную вагину

4.1.1. Устройство и подготовка искусственной вагины

Искусственная вагина состоит из следующих частей:

- *Цилиндра или корпуса*, изготавливаемого из толстой вулканизированной резины (для быка и хряка), эбонита (для барана), оцинкованного железа или алюминия (для быка, жеребца, хряка).
- *Тонкостенной резиновой камеры*, поверхность которой с одной стороны – гладкая, с другой – несколько шероховатая. Диаметр камеры для быка и жеребца равен диаметру корпуса, для барана – меньше диаметра корпуса, а для жеребца – несколько шире диаметра узкой части корпуса (табл. 4.1).

Таблица 4.1 – Размеры цилиндров и резиновых камер искусственных вагин

Производитель, модель вагины	Цилиндр		Камера	
	длина, см	диаметр, см	длина, см	диаметр, см
Бык:				
российская	30	8	55 – 65	6,2
европейская	20, 30, 35, 41	8	48, 65	6,8
Баран	20	4,8 – 5,5	30 – 40	3,3
Хряк	26 – 41	8	70	6,2
Жеребец	54	13	90	9,3

- *Резиновых колец*, которые используются для крепления камеры на корпусе искусственной вагины для быка, хряка и жеребца; для вагины барана кольца не предусмотрены.
- *Краника эбонитового или полиэтиленового* (его вставляют в отверстие патрубка на корпусе для регулирования давления при нагнетании воздуха в вагину быка, хряка и барана).
- *Семяприемника* – резервуара, в который попадает сперма после эякуляции. Для вагины быка применяется полиэтиленовый одноразовый семяприемник; в европейской модели прибора в качестве семяприемника используется градуированная пробирка. Для барана – семяприемник одностенный или двустенный стеклянный. В искусственной вагине для жеребца – семяприемник резиновый в виде широкого стакана, а для хряка – стеклянные (банки, стаканы емкостью 0,5–1,0 л) или специальные пластмассовые стаканы; при мануальном способе получения спермы от хряка используются сосуды изотермические со специальными мешками с фильтрами (голубой мешок);
- *Вкладыша полиэтиленового* – имеется только в вагине для хряка. Вставляется в вагину со стороны спермоприемника и служит для предотвращения полного смыкания стенок резиновой камеры.

Кроме того, имеются *эбонитовая палочка* для смазывания поверхности резиновой камеры вазелином и поролоновая или капроновая *протирка* для мытья вагин, а также *защитный теплоизолирующий (утеплительный) чехол* для обеспечения необходимой температуры (38°C) при использовании полиэтиленового спермоприемника и градуированной пробирки в европейской модели.

Для быка имеются несколько моделей искусственных вагин, отличающихся размерами и конструктивными особенностями (рис. 4.1). Чаще используют искусственную вагину укороченную (длина 30 см). На резиновом корпусе таких вагин (диаметр 8 см) имеется воронкообразный патрубок с отверстием для подачи воды и воздуха.



а



б



в

Рисунок 4.1. Вагина для быка:

- а – классическая с двустенным водоналивным семяприемником;
- б – укороченная с одноразовым полиэтиленовым семяприемником;
- в – европейская модель в собранном виде, прикрытая чехлом; не бьющийся термометр, камера, палочка для смазывания, силиконовый конус и РепроГель (MINITUBE)

В европейской модели вагины для быка (MINITUBE) – корпус длиной 20, 30, 35 и 41 см. Камера из латексной резины, коричневатого цвета; поверхность гладкая или шероховатая. Предлагаются и рулоны камеры длиной 200 м. Патрубок в корпусе металлический, вместо краника – металлическая закручивающаяся пробка с отверстием для нагнетания воздуха и устройством для герметизации.

В качестве семяприемника используется градуированная пластиковая или стеклянная пробирка емкостью 15 мл; присоединяется семяприемник

при помощи направляющего латексного или силиконового конуса. Семяприемник и конус прикрываются утеплительным чехлом. Чехол неопреновый голубой длиной 58 см для вагины с семяприемником. Зеленый чехол длиной 18, 35 и 45 см. Для смазывания камеры используется не токсичный для спермиев РепроГель.

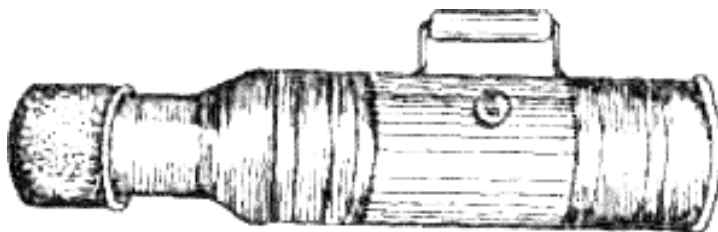
Искусственная вагина для барана конструктивно подобна вагине для быка и отличается лишь размерами и устройством патрубка. Для герметичной фиксации в патрубке эбонитовый краник сначала вставляют в отрезок сложенной вдвое толстой резиновой трубки или в резиновую пробку с отверстием и затем в патрубок вагины. Отверстие в пробке для краника легко сделать при помощи специального прибора. Он состоит из набора заточенных трубок различного диаметра. В верхней (укрепленной) части трубок имеется отверстие для металлического стержня, посредством которого вращают трубку и вырезают отверстие в пробке.



а



б



в

Рисунок. 4.2. Искусственная вагина:

а – для барана; б – для хряка; в – для жеребца

Для хряка чаще применяют искусственную вагину, предназначенную для быка, но в зависимости от величины полового члена производителя ее укорачивают на 10–25 см.

В различных странах (Япония, США и др.) предложен ряд более удобных и совершенных моделей вагин для хряка (рис. 4.2 в).

Однако в связи с повсеместным внедрением мануального способа получения спермы от хряков классические искусственные вагины в настоящее время используются редко.

Корпус искусственной вагины для жеребца (длина 54 см) имеет суженную часть (горловину), и на нем укреплена скоба для фиксирования

рукой при получении спермы. На патрубок для подачи воды навинчивают пробку (возможно с клапаном для выхода воздуха).

Сборка искусственной вагины. Использованные или новые части искусственной вагины (корпус, камеру, фиксирующие резиновые кольца и держатель спермоприемника) тщательно моют горячим 2–3% раствором натрия гидрокарбоната, многократно ополаскивают чистой горячей водой и высушивают. Перед сборкой убеждаются в целостности корпуса вагины и резиновой камеры, в соответствии диаметров отверстия патрубка и краника для подачи воздуха и исправности краника. Если краник проворачивается туго, его слегка смазывают вазелином. Для обнаружения повреждений камеры ее растягивают двумя руками за концы и осматривают каждую сторону; в момент растяжения повреждения хорошо заметны. Неиспользованные новые резиновые камеры выворачивают гладкой поверхностью внутрь. Удобнее это сделать следующим образом: через всю камеру проводят корнцанг и захватывают противоположный конец, затем постепенно выворачивают ее.

Камеру вставляют в корпус, заворачивают ее концы и поочередно натягивают на концы цилиндра. Чтобы не было перекосов, после натяжения одного конца камеры вагину переворачивают вниз и приподнимают за свободный конец камеры, выравнивают ее и натягивают на цилиндр. При натяжении камеры сначала отвернутые ее края двумя руками натягивают на цилиндр, а затем ладонью руки выравнивают просвет. При правильном натяжении камеры диаметр внутреннего просвета искусственной вагины должен быть на всем протяжении одинаковый и не иметь складок. Завернутые концы камеры должны быть примерно одинаковой величины; их закрепляют с каждой стороны резиновыми кольцами.

В искусственную вагину для хряка рекомендуется вставить (со стороны спермоприемника) полиэтиленовый вкладыш. Он способствует свободному передвижению спермы в спермоприемник. В качестве спермоприемника используется полулитровая (литровая) банка или другая подходящая емкость. Ее присоединяют к вагине при помощи отрезка резиновой камеры; в верхней части отрезка делают небольшое отверстие для выхода воздуха во время эякуляции хряка.

В вагине для барана вследствие разницы в диаметрах резиновой камеры и цилиндра камера натягивается с трудом. Но на цилиндре удерживается прочно и не требует дополнительной фиксации кольцами. При выполнении этой процедуры не следует растягивать камеру, чтобы не допустить образования воронкообразного расширения; камера должна загибаться внутрь под прямым углом.

Порядок подготовки искусственной вагины к работе. Подготовка искусственной вагины включает выполнение следующих последовательных работ.

Мытье искусственной вагины производится после каждого получения спермы с помощью протирки 2–3%-ным раствором натрия углекислого или 1–1,5% раствором кальцинированной соды. После этого вагину тща-

тельно ополаскивают чистой горячей водой для удаления остатков соды, затем – дистиллированной и высушивают или насухо вытирают полотенцем.

Стерилизация искусственной вагины. Автоклавирование искусственных вагин проводят при температуре 105°C и давлении 0,3–0,5 избыточных атмосфер в течение 15–20 мин. Перед автоклавированием на оба конца искусственной вагины надевают полотняные колпаки или закрывают ее концы пергаментной бумагой.

При кипячении искусственные вагины стерилизуют в кипящей дистиллированной воде не менее 20 мин.

MINITUBE предлагает стерилизаторы (автоклавы) с температурой до 100 °C и максимальным давлением до 0,02 бар вместимостью 15 вагин. В нем можно стерилизовать и конусы (рис. 4.3).



Рисунок 4.3 – Стерилизатор для искусственных вагин

Стерилизация 96%-ным спиртом-ректификатом применяется как дополнительный способ. Спиртовой тампон при этом зажимают корнцангом или пинцетом, вводят инструмент в середину искусственной вагины и тщательно протирают внутреннюю поверхность камеры по направлению к одному концу, затем поворачивают вагину и обрабатывают другую часть камеры.

Стерилизация стеклянных спермоприемников проводится кипячением или автоклавированием при таких же условиях, что и искусственных вагин.

Стерилизация сухим жаром проводится при температуре 160–180°C в течение 40–60 мин. (спермоприемник предварительно закрывают крышкой и заворачивают в бумагу). *Стерилизация спиртом*: в спермоприемник наливают 3–4 мл 70% спирта, увлажняют им все участки внутренней поверхности, а затем сливают в банку с отработанным спиртом; наружную поверхность протирают спиртовым тампоном. Для удаления капель спирта спермоприемник 3–4 раза промывают 1% раствором двууглекислой соды или 2,9% раствором натрия лимоннокислого. *Стерилизация фламбированием* производится над некоптящим пламенем спиртовки или зажженного спиртового тампона. Сухой чистый спермоприемник захватывают пинцетом, осторожно подносят к пламени и тщательно обжигают наружную и внутреннюю поверхность. Таким же образом обеззараживают и крышку спермоприемника. *Стерилизация полиэтиленовых спермоприемников* проводится с помощью бактерицидных ламп. Спермоприемники раскладывают в один ряд и выдерживают под лампами в течение 40–50 минут.

Заполнение искусственной вагины водой. Вода перед заполнением вагины должна иметь температуру около 60°C, а к моменту получения спермы – 43–45°C. В вагину для быка образца 1942 г. заливают 450–500 мл воды, в укороченную – 200–300 мл; в вагину для хряка – 300–400 мл, для барана 150–180 мл, для жеребца – 1,5–2,0 л.

Заполнение спермоприемника водой. В спермоприемнике для быка вода должна иметь температуру 30–35°C, для барана – 25–30°C; заливают воду температуры соответственно 35–40 и 30–35°C.

Смазывание резиновой камеры. Внутренняя поверхность резиновой камеры смазывается стерильным вазелином или синтетической средой (РепроГель) с помощью эбонитовой палочки, которую предварительно обеззараживают спиртовым тампоном, смоченным в 96%-ном спирте-ректификате. Для обеззараживания конец палочки обхватывают тампоном и несколькими движениями назад и вперед тщательно обрабатывают ту часть ее, которая будет соприкасаться с внутренней поверхностью камеры, затем концом палочки берут вазелин из банки и круговыми движениями, начиная с конца вагины, равномерно смазывают поверхность камеры. Отрезок ее (длиной 2–3 см в вагине для барана, 4–6 см – для быка и хряка и 8–10 см – для жеребца) со стороны спермоприемника не смазывается для предупреждения попадания вазелина в сперму.

Присоединение спермоприемника. При использовании одноразового полиэтиленового спермоприемника для быка корпус вагины со стороны семяприемника обворачивают полоской стерильной фильтровальной бумаги для предупреждения попадания вазелина в сперму. Полоску выдвигают на 1–1,5 см за край корпуса, сверху на корпус вагины надевают семяприемник и закрепляют его кольцами. В европейской модели вагины семяприемник в виде стеклянной пробирки прочно укрепляется в узкой части латексной конической трубки, присоединенной к вагине.

В вагине для барана семяприемник не крепится, но при получении спермы придерживается пальцами. К вагине для жеребца семяприемник

присоединяется одеванием его на узкий конец (горловину); в момент совокупительных движений производителя он удерживается в таком положении рукой. К искусственной вагине для хряка семяприемник присоединяется при помощи обеззараженного отрезка резиновой камеры с отверстием; отрезок укрепляют на корпусе вагины резиновыми кольцами.

Нагнетание воздуха в искусственную вагину. Воздух в вагину нагнетается с помощью баллона, двойных шаров Ричардсона или специального компрессора до смыкания стенок камеры и образования щели или треугольной складки. В искусственную вагину для жеребца воздух не нагнетается, давление создается перемещением в ней воды. В жестяную вагину для хряка воздух нагнетают через тонкий патрубок в пространство между внутренней стенкой корпуса и резиновой камерой. Шары Ричардсона посредством стеклянного тройника соединяют длинными резиновыми трубками с патрубком и манометром (ртутным или водяным). По показаниям манометра во время получения спермы следят за давлением в вагине и при необходимости понижают или увеличивают его до необходимого уровня: 15–20 мм ртутного или 40–50 см водяного столба. Устройство для нагнетания воздуха имеется и в ряде зарубежных моделей искусственной вагины для хряка. Оно остается присоединенным к кранику в процессе получения спермы. Это необходимо для регулирования давления, к которому очень чувствительны хряки.

Измерение температуры в искусственной вагине. Температуру в вагине проверяют непосредственно перед взятием спермы. Перед измерением вагину несколько раз покачивают для равномерного обогрвания ее стенок, поворачивают ее семяприемником вверх, обеззараживают термометр ватным тампоном, смоченным 96% спиртом-ректификатом и вставляют его в открытый конец вагины. Температура в вагине должна быть не ниже 40°C и не выше 42°C. Но при использовании укороченной вагины с одноразовым семяприемником или европейской модели температуру устанавливают не ниже 42°C и не выше 55°C.

В лабораториях племпредприятий после стерилизации к вагине присоединяют семяприемник, заливают в нее воду и помещают в термостат при необходимой температуре. Перед получением вагину смазывают вазелином, затем в нее нагнетается воздух.

4.1.2. Получение спермы от быка

Условия и место получения спермы. Сперму от быка получают на корову, другого быка, вола или же на чучело. Использование быков-производителей в качестве подставных животных неблагоприятно отражается на качестве их спермы, поэтому практикуется редко. Взятие спермы с использованием механических установок более целесообразно по сравнению с подставными животными: снижается микробная контаминация эякулятов, улучшаются условия работы техников, повышаются технологические свойства спермы и удлиняются сроки эксплуатации произведе-

лей. Наиболее совершенное механическое чучело с амортизирующим устройством и подвижное чучело (рис. 4.4).



а



б

Рисунок 4.4 – Чучела для быка с внутренним седлом для оператора, гидравлической регулировкой высоты для быков разного возраста, стимулирующие быка контролируемыми движениями вперед и назад, разъединенной гладкой задней частью, высококачественной обивкой и одноразовыми санитарными чехлами:

а) передвижное; б) стационарное

Получают сперму в манеже, а в теплое время года на подвижное чучело – и на открытой площадке (рис. 4.5).

Манеж должен быть просторным, высотой не менее 4 м, площадью – 70 м² или более. В нем устанавливается одно или несколько чучел и станки (устройства) для фиксации животных-манекенов. Сзади станка или чучела пол покрывают прочными резиновыми матами или ковриками из другого эластичного материала. Возле стенок манежа устанавливают защитные барьеры, обеспечивающие безопасность работы с животными.



Рисунок 4.5 – Получение спермы от быка с использованием подвижного чучела

В США некоторые компании в помещениях станций устраивают очень просторные манежи, площадью 150–200 м² и даже 500 м². В них оборудовано несколько мест (до 6) для получения спермы на корову, другого быка или чучело, а также для фиксации и выдержки производителей перед взятием спермы (рис. 4.6).

Такая разнообразная обстановка усиливает половое возбуждение у быков и способствует более быстрому получению спермы хорошего качества. Пол в таких манежах покрыт резиновыми ковриками, но чаще земляной (глинобитный), следовательно, более благоприятный для конечностей быков. Взятие спермы может вестись на быка, не зафиксированного в станке.



Рисунок 4.6 – Манеж для получения спермы от быков

Взятие спермы проводят в утренние часы до кормления производителей. Именно такая очередность производственных процессов необходима потому, что одновременно сочетание акта кормления и взятия спермы является одним из факторов, предрасполагающих к развитию импотенции.

Получение высококачественной спермы возможно лишь при условии хорошей подготовки быков непосредственно перед ее взятием. При этом важное место должно отводиться функциональной подготовке. Целостная эффективная система подготовки их к получению спермы должна включать следующие мероприятия.

1. Гигиена манекена (животного, чучела). До начала работы животных, на которых получают сперму, необходимо тщательно почистить, чтобы в момент садки производителя микроорганизмы с частицами грязи и пыли с них не попадали в воздух, на половой член производителя и в искусственную вагину. Если используют чучело, то его моют теплой водой с мылом, высушивают и обеззараживают 2% раствором хлорамина. Можно использовать для мытья и обеззараживания раствор перекиси водорода.

Обработку чучела проводят обычно сразу после окончания получения спермы.

2. Гигиена быка-производителя – чистка, подмывание препуция и высушивание. Наружную поверхность препуция обмывают теплым раствором фурацилина и насухо вытирают бумажной салфеткой или туалетной бумагой. Можно использовать индивидуальные полотенца. Если препуций сильно загрязнен, то его моют теплой водой с мылом, а затем обмывают раствором фурацилина. Полностью животное моют за день до получения спермы или не ранее, чем за 1–1,5 ч до получения, и тщательно высушивают.

3. Подвязывание стерильного фартука.

4. Функциональная подготовка к взятию спермы быков молочных пород: ввод в манеж, подвод к манекену, одна холостая садка, выдержка после манекена 2,5 мин., две холостые садки и получение эякулята. Такая же подготовка и перед получением второго эякулята. При отсутствии фартука во время холостых садок половой член производителя необходимо отводить в сторону, чтобы он не касался манекена или чучела. Быков мясных пород после подвода к манекену не сдерживают, а позволяют сделать три холостых садки, затем берут первый эякулят; второй эякулят обычно получают без предварительных холостых садок.

5. Температура в искусственной вагине с одноразовым полиэтиленовым семяприемником устанавливается в пределах 45–46°C (возможно до 55°C).

6. Проводка производителя и получение второго эякулята не позднее, чем через 10–15 мин.

7. Регулярная смена манекена, замена чучела на манекена или наоборот, смена места получения спермы, присутствие других животных в манеже.

Техника получения спермы от быка. В манеж для взятия спермы вводят быка с помощью палки–водила длиной около 2 м, зафиксированной за носовое кольцо. Производителя подводят к животному-манекену или чучелу, выдерживают 1–2 мин. (не более 3 мин.) и допускают садку.

В момент прыжка быка оператор, расположенный справа и сзади подставного животного или чучела, левой рукой осторожно смещает за препуциальный мешок половой член производителя в правую сторону и направляет его в искусственную вагину, продольная ось которой в этот момент должна совпадать с направлением полового члена. Прикосновение или обхватывание рукой непосредственно пениса быка может затормозить рефлекс эрекции, а в начале совокупительного движения вызвать даже преждевременную эякуляцию.

После совокупительного толчка вагине придают горизонтальное положение, но не снимают с полового члена производителя, а опускают по мере движения быка вниз (пока он передними конечностями не коснется пола). После этого, отняв искусственную вагину, ее переворачивают семяприемником вниз, открывают краник, чтобы выпустить из межстенного пространства воздух и дать стечь эякуляту в семяприемник. От вагины стеклянный семяприемник отделяют постепенно и осторожно, затем закрывают крышкой. В современной модели прибора полиэтиленовый семя-

приемник оставляют на цилиндре вагины и при помощи прибора «Молния» герметизируют в нем полученный эякулят, после чего ножницами отделяют эту часть и передают в лабораторию.

4.1.3. Получение спермы от барана

Сперму от барана (козла) получают в манеже, а в теплое время года и на открытой площадке. В качестве подставного животного используют овцу в охоте. Особенно это необходимо в начале приучения производителя к искусственной вагине. В последующем, когда будут выработаны условные рефлексы на обстановку и время, можно пытаться получить сперму и на овцу не в охоте, а то и на валуха или другого малоценного барана, или даже на чучело. Перед получением спермы брюхо барана (козла) козла и препуций необходимо почистить.

Сперму от барана получают так же, как и от быка. Половой акт у овец продолжается недолго. Поэтому оператор должен быть наготове и находиться справа от зафиксированной в станке овцы. При подходе барана к овце (манекену) оператор немедленно должен опуститься на корточки и следить за его поведением. В момент садки барана левой рукой необходимо отвести половой член за препуций в сторону и направить в вагину. После совокупительного толчка баран соскакивает с овцы и в это время вагину отнимают и поворачивают семяприемником вниз. Затем открывают краник, выпускают воздух, отделяют семяприемник от вагины, накрывают крышечкой и передают в лабораторию.

Когда нет возможности или не удастся получить сперму от барана в искусственную вагину, применяют метод электроэякуляции.

4.1.4. Получение спермы от хряка

От хряков сперму получают в манеже пункта искусственного осеменения. В качестве манекена используют чучело свиньи. Конструкции чучел разнообразны, но все они имеют сплошную гладкую поверхность, что позволяет легко мыть и дезинфицировать ее. Классическая модель – это деревянное чучело. По внешнему виду оно похоже на свинью, и это способствует более быстрой выработке у хряков условных половых рефлексов и обеспечивает в последующем хорошее их проявление. Искусственная вагина фиксируется внутри чучела. Наружная поверхность задней его части имеет воронкообразное углубление с отверстием в центре. Оно совпадает с просветом искусственной вагины. Для обеспечения скольжения и попадания полового члена хряка в вагину углубление в стенке чучела делают гладким и скользким. Это достигается путем нанесения на деревянную поверхность кисточкой раствора органического стекла в ацетоне или дихлорэтаноле. При получении спермы в холодном помещении внутрь чучела помещается электрическая лампочка. Включают ее в сеть в момент получе-

ния спермы. Это предотвращает снижение температуры в искусственной вагине. На семяприемник надевают чехол.

Применение искусственной вагины у свиней имеет ряд особенностей. Хряки менее чувствительны, чем быки, к температуре в вагине, но для них очень важным является давление. При коитусе необходимое давление создается после введения головки пениса в складчатый цервикальный канал. В зависимости от состояния мышечной оболочки шейки матки давление в нем периодически изменяется. В обычной искусственной вагине подобные условия отсутствуют. Однако предложены и такие модели чучел, в которых имеется пульсатор и суживающаяся латексная трубка с конической стальной спиралью, имитирующая шейку матки свиньи. Можно симулировать соответствующие условия путем обхватывания выдвинутого пениса пальцами руки, на которую одета теплая, латексная перчатка. Давление, создаваемое рукой, легко вызывает эякуляцию.

Этот прием, названный мануальным методом, широко используется для взятия спермы повсеместно. При этом методе после вскакивания хряка на чучело или свиноматку в охоте и первых начальных движениях полового члена на него осторожно кладут левую руку в перчатке, обращенную ладонью вниз. Когда совокупительные движения хорошо проявятся и половой член окажется выдвинутым полностью, обхватывают его головку и плавным движением назад пытаются как бы распрямить естественную ее извитость. Давление усиливают. И это вызывает более энергичные совокупительные движения, а вскоре начинается и эякуляция.

После начала эякуляции конечную часть полового члена необходимо направить вниз. Сперму собирают в семяприемник, подогретый до температуры 30°C. На него кладут фильтр, не впитывающий сперму, чтобы отделить густую желеобразную фракцию. Первые порции спермы содержат небольшие количества желатиноподобного вещества, которое остается вблизи головки полового члена, и сразу же выделяется прозрачная или слегка мутноватая фракция. Длительность выделения первой фракции – около 50 с. (24–79 с.). Ее не собирают, а собирают только последующую фракцию, которая имеет молочно-белую окраску и богата сперматозоидами. Длительность выделения этой фракции – 140 с (от 92 до 195 с). Концентрация сперматозоидов в начале выделения фракции достигает 0,33 – 0,48 млрд/мл, но к концу уменьшается до 0,01 – 0,03 млрд/мл. После основной фракции выделяется в течение 106 с (с колебаниями от 39 до 161 с) третья фракция сероватого цвета; ее также не собирают. К концу эякуляции хряк опять начинает делать совокупительные движения и выделяется при этом желеобразная фракция спермы. Объем фракций составляет соответственно $8,6 \pm 2,0$ мл, $185,7 \pm 21,9$ мл и $116,1 \pm 20,0$ мл. В целом объем эякулята равен $310,4 \pm 30,0$ мл (Медведев Г.Ф., Ходыкин Д.С., 2007). В целом эякуляция длится около 5 минут.

Для получения спермы этим методом предложена искусственная вагина фоам типа, длиной 75 мм с наружным диаметром 55 мм. Рука через вагину фиксирует головку пениса (рис. 4.7). Это позволяет получить

больше эякулятов в течение часа. Используя этот способ, можно уверенно распознать и отделить основную фракцию спермы от остальных, снизить микробную загрязненность спермы, объективно и точно оценить весь процесс эякуляции.



Рисунок 4.7 – Искусственная вагина для хряка *фоам* типа

При получении спермы от хряков следует строго соблюдать правила гигиены. Даже при хороших условиях содержания хряки часто бывают загрязнены, и при садке их на чучело поднимается много пыли. Больше всего загрязнена кожа живота и препуция. Поэтому незадолго до получения спермы хряка необходимо помыть под душем либо в специальной установке, где кожа не только смачивается, но и механически очищается щетками и затем высушивается теплым воздухом.

Нередко используются чучела, представляющие собой простые лавки. На расстоянии примерно 60 см от задней части чучела прикрепляют опоры для передних конечностей хряка. Лавку обивают мягким материалом, а сверху – кожей. При получении спермы на такое чучело искусственную вагину техник держит в руке или же получает сперму мануальным способом.

В помещении чучело размещается так, чтобы хряк подходил к нему сзади и с боков, но не спереди. Особое внимание обращают на высоту задней части чучела и наличие удобной для хряка поверхности пола (не скользкой, ребристой).

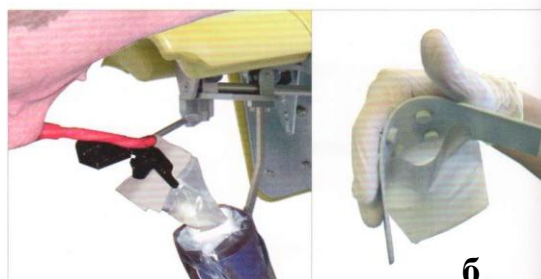
Более удобные для мануального способа чучела укороченные со скошенным снизу к верхней задней частью и устройством для регулирования высоты и наклона (рис. 4.8 а).



а



б



в

в

Рисунок 4.8. Чучела свиньи для получения спермы от хряка:

а – регулируемое по высоте;

б, в – с интегрированным механизмом автоматического получения спермы



Рисунок 4.9 – Получение спермы от хряка

Компания MINITUBE предлагает несколько усовершенствованных моделей чучел свиньи. Чучело простое, регулируемое по высоте газонаполненным амортизатором, оборудовано массивной плитой для надежной фиксации и надежными подставками для ног. Поверхность гладкая, легко очищаемая, со сменным элементом покрова. Такое чучело может быть доукомплектовано системой автоматического получения спермы BoarMatic (рис. 4.8 б).

В нижней части его встроены подвижные салазки, а внутри – держатель емкости для семяприемника и зажим для фиксации искусственной вагины, которая является точной копией шейки матки, как по материалу, так и по внутренней поверхности. Складчатость за счет резиновых подушечек обеспечивает устойчивое давление на головку пениса и его удержание. Иницируется эрекция и эякуляция давлением рукой в перчатке на коллектор (рис. 4.8 в). В процессе эякуляции хряк свободно двигается вперед и назад. После начала эякуляции первые порции спермы попадают в отрывной внутренний мешочек вагины, а основная часть эякулята по трубочке стекает в емкость для спермы. После эякуляции хряк сползает с чучела, а салазки с емкостью для спермы автоматически перемещаются на роликах в безопасное положение под чучело (рис. 4.9).

В последнее время в качестве семяприемника от момента получения спермы до ее расфасовки используется голубой мешочек (Blue Bag, рис. 4.10). Он обеспечивает быструю и чистую подготовку сосуда для сбора спермы при отсутствии соприкосновения с фильтром и внутренней поверхностью мешочка. Нет необходимости в его стерилизации, значительно улучшается рабочая гигиена. Разбавление спермы проводится в мешке и с него проводится ее расфасовка.

Имеются различные варианты сосудов (емкостей) для спермы и мешочков (рис. 4.11). US BAG – универсальный мешок для сбора спермы. Объем мешка 3,5 л. Имеет впаянный фильтр, не впитывающий сперму, из нетканого материала (вискозы) для фильтрования спермы, который отделен перфорированной линией отрыва после использования. Мешок стерильный, и это позволяет быстро подготовить сосуд для получения спермы. Сосуд изотермический, емкостью до 1 л.

При получении спермы в искусственную вагину после садки на чучело хряк делает поисковые движения пенисом, при этом все глубже и глубже вводит его в вагину. После нескольких глубоких совокупительных движений он успокаивается и начинает выделять сперму.

Хвост у него в это время закручивается кверху, семенники подтягиваются ближе к анальному отверстию, мошонка становится слабо напряженной и несколько отвисшей. После окончания эякуляции хряка удаляют из манежа, искусственную вагину вынимают из чучела, отсоединяют от нее семяприемник и передают его в лабораторию.



Рисунок 4.10 – Голубой мешочек и сосуд для сбора спермы:

- а – вставление мешочка в сосуд для спермы;
- б – сбор эякулята в мешочек и затем отделение части мешочка с фильтром;
- в – осмотр эякулята и взвешивание на весах;
- г – сосуд для сбора спермы и упаковка с перчатками



Рисунок 4.11 – Универсальный мешок для сбора спермы US BAG с фильтром для фильтрования спермы из нетканого материала, изотермические сосуды и перчатки

4.1.5. Получение спермы от жеребца

Сперму от жеребца получают на открытой ровной площадке среди двора или под навесом. В холодную дождливую погоду получать сперму лучше в закрытом помещении (манеже) с высоким потолком. Получают

сперму на кобылу в охоте. Тазовые конечности ее фиксируют случной шлеей, хвост забинтовывают.

После подготовки кобылы два человека выводят жеребца на поводьях. Спокойных жеребцов может выводить один человек. Как только у производителя хорошо проявится эрекция (пенис приподнимается к брюху), его сразу же пускают на кобылу. Оператор по взятию спермы находится с правой стороны кобылы, в нескольких шагах; вагину удерживает в правой руке. Один из его помощников находится с другой стороны и в момент садки жеребца должен быстро отвести хвост кобылы в сторону и постоянно удерживать его. Оператор в момент начала садки жеребца быстро приближается к животным, искусственную вагину прижимает к крупу кобылы, а левой рукой берется за половой член жеребца вблизи головки (ладонь руки обращена вниз) и направляет его в вагину. Касание рукой полового члена не тормозит половых рефлексов у жеребцов. Не следует только дотрагиваться до головки пениса. Как только половой член производителя попадет в искусственную вагину, ее необходимо прижать обеими руками к крупу кобылы. При этом левая рука фиксирует скобу корпуса, а правая располагается сверху семяприемника; угол наклона вагины семяприемником вверх – 30–35°.

При получении спермы от крупных жеребцов технику помогает удерживать вагину помощник. Жеребец делает мощные совокупительные движения, и чтобы вагина не отходила вперед, необходимо особый упор делать на семяприемник. Эякуляция проявится быстрее, если головка пениса будет достигать суженной части горловины. Здесь возникает необходимое для выделения спермы давление. Во время совокупительных движений необходимо следить за состоянием резиновой камеры вагины. Если возникает опасность срыва ее с цилиндра или нарушения целостности, то немедленно ослабляют пробку патрубка и выпускают немного воздуха; затем опять пробку плотно закручивают. При разрыве камеры воздух и вода выходят из цилиндра, и жеребец немедленно прекращает садку.

Садка у лошадей продолжается 1–1,5 мин., эякуляция происходит в течение 10–20 с. Об эякуляции можно судить по ритмичному сокращению мускулатуры корня хвоста, вследствие чего он поднимается и опускается, а также путем ощущения продвижения спермы по мочеполовому каналу вблизи мошонки. Совокупительные движения во время выделения спермы прекращаются.

В конце эякуляции жеребец медленно опускается (сползает) с кобылы. Вместе с ним опускают искусственную вагину семяприемником вниз, а затем медленно и осторожно, чтобы не потерять часть эякулята, снимают с полового члена. Следует учитывать, что головка пениса в это время сильно увеличена и грубое и быстрое снятие вагины может причинить боль производителю. Если садка по какой-то причине не получилась, то жеребцу делают проводку в течение нескольких минут и затем опять подводят к кобыле.

4.1.6. Использование других методов для получения спермы от производителей

Получение спермы от быка с помощью электроэякулятора. В практике иногда возникает необходимость применить метод электроэякуляции. Обычно этим методом получают сперму от молодых, не приученных к искусственной вагине быков для оценки качества их спермы, а в центрах по искусственному осеменению – и от старых, хромым быков, которые не могут сделать садку.

Перед получением спермы производителя фиксируют в станке, прямую кишку освобождают от каловых масс и подмывают препуций. При наличии современного прибора зонд с электродами вставляют в прямую кишку и прижимают книзу. После этого делают электрические стимулы в соответствии с рекомендованным инструкцией режимом, при этом напряжение тока постепенно повышают. Вначале при невысоком напряжении происходит выделение секрета луковичных желез, затем следует обильное выделение секрета пузырьковидных и предстательной желез, и наконец семенная жидкость по каплям стекает по волосам препуция или из отростка уретры выдвинутого полового члена.

Обычно сперма выделяется спонтанно, пассивно, но иногда отмечается эрекция пениса и оргазм. В таких случаях эякулят нередко теряется. Оргазм часто сопровождается поворотом головки полового члена вокруг продольной оси. Это же можно наблюдать и при массаже, и при получении спермы в искусственную вагину. В момент электроэякуляции сперму собирают, как и при ректальном массаже. Объем эякулята чаще больше стандартного.

Получение спермы от быка методом массажа. Известно, что во время полового возбуждения сперматозоиды из канала придатка семенника перемещаются в ампулы семяпроводов и сохраняются там до момента эякуляции. Массажем можно вызвать сокращение ампул и выделение половых клеток наружу.

Перед получением спермы быка выдерживают возле коровы в охоте, чтобы вызвать у него половое возбуждение. Затем руку вводят в прямую кишку на глубину 25–35 см; при необходимости освобождают ее от каловых масс. В момент расслабления находят твердый червеобразный орган – мочеполовой канал. Двигая по нему рукой вперед, отыскивают мягкую шейку мочевого пузыря с лежащими на ней ампулами семяпроводов в виде эластичных трубок толщиной почти с палец, а по бокам от них – грушевидные пузырьковидные железы. Проводят осторожный массаж желез спереди назад и таким же образом массируют ампулы семяпроводов. Обычно двухминутного массажа бывает достаточно для того, чтобы выделилась сперма. Если массировать только пузырьковидные железы, то, как правило, выделяется семенная жидкость без сперматозоидов.

Так как пенис при массаже часто не выдвигается и не наступает эрекция, то для предотвращения загрязнения спермы волос вокруг отверстия

препуция тщательно подмывают и вытирают насухо. Сперму собирают в чистый стаканчик, поставленный к отверстию препуция, или специальное приспособление, входящее в комплект электроэякулятора.

Полученная этим методом сперма нередко загрязняется мочой, имеет более высокое содержание секрета пузырьковидных желез и вообще худшее, чем в нормально эякулированной жидкости соотношение отдельных компонентов. При грубом и неумелом массаже возможны травмы семяпроводов и пузырьковидных желез. Этот метод используют лишь иногда для получения спермы от тех быков, которые по какой-либо причине не в состоянии выделить сперму в искусственную вагину (слабые или больные задние конечности, слишком вялое проявление половых рефлексов и др.).

4.1.7. Режим получения спермы от производителей

От молодых бычков (начиная с 10-месячного возраста) получают 1–2 эякулята в неделю. С 18-месячного возраста от быков обычно получают по два эякулята в день с промежутком в 5–15 мин; интервалы между взятием спермы – 3–4 дня или более (в зависимости от половой потенции производителя). При получении трех эякулятов в день промежутки между взятием составляют 4–5 дней (3 раза за две недели).

От взрослых баранов сперму получают во время случного сезона ежедневно или через день по 3–4 эякулята (2 раза утром с промежутком в 5–10 мин. и 1–2 раза вечером); молодых производителей используют реже (1–2 эякулята в день).

От козла сперму берут 2–3 раза в неделю.

У жеребца сперму также получают во время случного сезона по одному эякуляту 5–6 дней подряд с последующим перерывом в 1–2 дня для отдыха.

У хряка при умеренном режиме использования получают один эякулят через 3–4 дня.

4.2. Получение спермы у самцов птиц

Для получения спермы от самцов птиц предложены различные методы (спермособирателя, электроэякуляции, искусственной вагины), однако наиболее удобным и эффективным оказался метод массажа живота.

Получение спермы от петухов. Петухов изолируют от самок и через 15–20 дней начинают приучать к ручному массажу. Перед получением спермы клоаку освобождают от каловых масс и протирают стерильной марлевой салфеткой. Затем помощник ставит петуха на стол, придерживая левой рукой в области груди. Одновременно ладонью правой руки поглаживает несколько раз спину от последних шейных позвонков до корня хвоста (на поглаживание петух реагирует подниманием хвоста). После этого левой рукой фиксирует конечности петуха и берет его под мышку. Пра-

вой рукой нажимает на заднюю часть брюшной стенки петуха, что приводит к выпячиванию клоаки. Техник подставляет стерильный семяприемник (флакон, широкую короткую пробирку) к клоаке петуха, а другой рукой слегка надавливает на нее с обеих сторон и делает массирующие движения. Это вызывает эрекцию копуляторного органа и эякуляцию. Сперма медленно стекает в подставленный семяприемник.

Получают сперму от петухов один раз в день или через день. Объем эякулята у самцов различных пород колеблется от 0,2 до 0,9 мл, чаще – 0,2–0,5 мл. Концентрация сперматозоидов в сперме – 3,0–3,5 млрд в мл.

Получение спермы от индюков. Подготовку самцов начинают за 1,5 месяца до намеченного срока осеменения. Их переводят на рационы племенного периода; продолжительность светового дня увеличивают с 7–8 ч до 14 ч в сутки. Используют индюков с 8-месячного возраста. Получают сперму методом ручного массажа. Индюка помещают на специальный столик (станок) в горизонтальном положении. Оператор-массажист левой рукой фиксирует его так, чтобы кисть руки была свободной; потом кистями обеих рук в течение нескольких секунд делает легкий двусторонний массаж вдоль лонных костей по направлению от грудной клетки к хвостовой части. Техник по взятию спермы в это время при помощи анатомического пинцета проводит обработку клоаки и области вокруг нее стерильным ватыным тампоном, смоченным 0,02% раствором фурацилина, а после – сухим тампоном. Затем оператор-массажист ребром правой ладони делает 8–10 легких ударов по задней мягкой части живота. Техник в это время большим и указательным пальцами правой руки поглаживает вокруг клоаки самца, а затем сжимает с боковых сторон кольцо клоаки до появления копуляторного органа и извержения спермы.

На ряде птицефабрик сперму получают на специальном столике, который на роликах передвигается вдоль рядов клеток, где содержатся самцы. Плоскость столика находится на уровне пола клетки. Перед взятием спермы индюка извлекают из клетки и ставят на стол. При легком поглаживании мягкой части живота у приученного, натренированного индюка появляется половое возбуждение, эрекция и эякуляция. Чтобы получить большие эякуляты, техник по взятию спермы должен производить пальцами движения вокруг копуляторного органа имитирующее выдавливание. На получение спермы от одного самца затрачивается около одной минуты.

Более часто для получения спермы от индюков используют специальные станки. В станке, используемом на птицефабриках СНГ, имеется углубление длиной 25 см, шириной – 22 см, глубиной – 12 см. В углублении фиксируют индейку и накрывают ее щитком (30×30 см, высотой 12 см), изготовленным из проволочной сетки. Щиток прикреплен к столу одной из боковых сторон и свободно откидывается. Он предохраняет индейку от травм, которые может нанести самец в момент проявления рефлекса топтания. На столик помещают индюка. При виде самки индюк возбуждается и делает попытку к спариванию. После этого у него слегка массируют мягкую часть живота или вокруг клоаки. Это способствует под-

готовке половых органов к эякуляции. В момент эрекции и появления копуляторного органа техник большим и указательным пальцами левой руки надавливает на него с боков. В правой руке он удерживает вакуумный или обычный стеклянный семяприемник, в которые собирается сперма при эякуляции. Выделение спермы происходит обычно через 35–40 с после начала подготовки самца.

Вакуумный семяприемник состоит из термостабильной пробирки (сосуда), резиновой пробки с двумя отверстиями, двух термостабильных стеклянных трубок, изогнутых под углом 90°, резинового шланга длиной 70 см и стеклянного мундштука.

После 2–3 процедур у самцов вырабатывается условный рефлекс на массаж и для получения спермы достаточно манипуляций, связанных с обработкой клоаки. Сначала от самца получают 0,05–0,15 мл спермы, а после выработки условного рефлекса – 0,3–0,4 мл. Максимальный объем одного эякулята достигает 1,25 мл.

Индюков, у которых не удается выработать условного рефлекса на массаж, стимулирующий эякуляцию (3–5%), а также выделяющих сперму низкого качества, выбраковывают. Сперму получают не более двух раз в неделю.

Сперму у гусаков получают так же, как и у индюков. Гусаки выделяют 0,1–1,3 мл спермы с концентрацией 0,3–0,9 млрд сперматозоидов в 1 мл.

Контрольные вопросы

1. Принципы устройства искусственной вагины, какие условия необходимо создать в ней, чтобы обеспечить рефлекс эякуляции у самца?
2. Правила и последовательность подготовки искусственной вагины для получения спермы.
3. Какие животные и чучела используются при получении спермы от быков?
4. В чем заключается подготовка быков-производителей для получения спермы? Каковы основные мероприятия по стимуляции у них половой функции?
5. В каких случаях применяют методы массажа и электроэякуляции для получения спермы от быков?
6. Правила обращения со спермой после получения. Как проводится предварительная оценка спермы?
7. Какие методы применяют для получения спермы от хряков? Особенности эякуляции у них.
8. Какой основной метод получения спермы у жеребца?
9. Каких животных используют в качестве манекена при получении спермы от жеребца, хряка, барана?
10. Оптимальный режим получения спермы от быка, хряка, барана и жеребца?

11. Какие факторы влияют на объем и качество получаемой от самцов спермы?

12. Какой основной метод получения спермы от самцов птиц? Какой оптимальный режим использования петухов, индюков, гусakov?

5. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СПЕРМЫ

Из предложенных и используемых методов оценки качества спермы выделяют **обязательные** и **дополнительные**. Обязательной оценке подвергается каждый взятый эякулят. Дополнительными методами оценивают свежеполученную сперму периодически (1 раз в 3–6 мес.) в зависимости от технологии и условий работы племпредприятия.

К обязательным методам относят:

- 1) *оценку внешних свойств спермы,*
- 2) *оценку спермы по густоте и подвижности сперматозоидов и*
- 3) *определение концентрации сперматозоидов в сперме.*

Дополнительные методы, используемые для более полной характеристики качества спермы, включают:

- 1) *определение процента морфологически ненормальных сперматозоидов;*
- 2) *определение процента живых сперматозоидов путем дифференциальной окраски;*
- 3) *определение метаболической активности сперматозоидов (по скорости обесцвечивания метиленовой сини, индексу фруктолиза, показателю рН и др.);*
- 4) *определение абсолютного показателя живучести сперматозоидов и др.*

Методические указания. Занятия (два или три по 2–4 ч) по оценке качества спермы сочетают с получением спермы от различных производителей. Если в клинике кафедры есть возможность получить сперму от самцов нескольких видов сельскохозяйственных животных и птиц, то студенты должны использовать это для приобретения практических навыков обращения с производителями, изучения техники получения спермы и применения обязательных методов оценки ее качества. Дополнительные методы оценки качества спермы могут изучаться поочередно на различных занятиях. Студентам следует внимательно отнестись и к просмотру фильмов по тем темам, которые не обеспечены соответствующим видом животных. На отдельном занятии можно освоить методы оценки сохраняемой спермы. Особое внимание следует уделить оценке подвижности сперматозоидов и выяснению частоты повреждений акросом.

5.1. Обязательные методы оценки качества спермы

Цель занятий: приобретение студентами навыков оценки внешних свойств спермы, определения подвижности и концентрации сперматозоидов в сперме.

Объекты исследования, материалы и оборудование: животные – бык и корова (манекен) или самец и самка другого вида; оборудование, материалы и инструменты для получения спермы (соответствующего вида животных); термостат для микроскопа; микроскопы МБР (МБИ-1, МБИ-3,

МБИ-4 или БИОЛАМ) с осветителями ОИ-35 либо МКИ-11, микроскоп МБИ-11 (МБИ-14) с телевизионной камерой; конденсор светлого и темного поля марки ОИ-10 производства ЛОМО или фазово-контрастный микроскоп; обогревательные столики; дозаторы пипеточные, градуированные микропипетки на 0,1 мл и пипетки на 1, 2, 5 и 10 мл; пипетки глазные, палочки стеклянные; предметные и покровные стекла; марлевые салфетки; мерные цилиндры; камеры Горяева; лейкоцитарный и эритроцитарный меланжеры (смесители); 96% этиловый спирт, эфир, дистиллированная вода, 3% раствор натрия хлорида; шары Ричардсона или резиновый баллон (для продувания смесителей); наборы стандартов для определения концентрации сперматозоидов в сперме; спектрофотометр или фотоэлектрический колориметр; система автоматического компьютерного анализа спермы.

5.1.1. Оценка внешних свойств спермы

Оценка внешних свойств свежеполученной спермы проводится по цвету, консистенции, запаху и объему эякулята.

Цвет спермы зависит от вида животных и насыщенности сперматозоидами. Чем выше содержание сперматозоидов в сперме, тем более белый ее цвет. Сперма барана белого цвета с желтоватым оттенком, быка – белого или желтоватого, жеребца и хряка – серовато-белого цвета. При наличии буроватого или розового (примеси крови), зеленоватого (примеси гноя) или желтого цвета (примеси мочи) сперма выбраковывается.

Запах нормальная сперма сельскохозяйственных животных не имеет. Гнилостный или другой запах в ней может быть результатом воспалительного процесса в половых путях, и это дает основание для выбраковки эякулята.

Консистенция, как и цвет спермы, зависит от концентрации сперматозоидов. Сперма барана сливко- или сметанообразной консистенции, быка – молочной, жеребца и хряка – водянистой.

Объем эякулята быка измеряют в смесителе перед разбавлением, а если сперма получена в полиэтиленовый одноразовый семяприемник – путем взвешивания. Взвешивают на точных весах (типа ВЛК-20, ВЛК-500, Kern440-47N, 2000 г или др.). Масса 1 г спермы принимается за 1 мл. В табл. 5.1 показан типичный объем эякулятов животных и птиц.

Таблица 5.1 – Объем эякулятов самцов сельскохозяйственных животных и птиц

Вид производителя	Объем эякулята, мл		
	минимальный	средний	максимальный
Баран	0,6	1	2
Бык	2	4–6	10
Жеребец	20	70–75	300

Продолжение таблицы 5.1

Хряк	100	250 – 350	500
Кролик	0,2	0,5	2,0
Петух	0,2	0,5	0,6
Индюк	0,2	0,3	0,4
Гусак	0,2	0,5	1,3

В европейской модели вагины объем эякулята определяют по шкале градуированного семяприемника. При получении спермы в стеклянный двустенный семяприемник ее предварительно разбавляют 1:1 (добавляют 5 мл среды) и затем переливают в специальный градуированный смеситель и определяют объем. Объем эякулята барана измеряют с помощью пипетки или по делениям одностенного семяприемника. Объем (массу) профильтрованных через специальный фильтр эякулятов жеребца и хряка определяют в мерных мензурках или цилиндрах, или взвешиванием на весах. Мерная посуда должна быть сухой, стерильной и подогретой до температуры свежеполученной спермы.

5.1.2. Оценка спермы по густоте и подвижности сперматозоидов

Эта оценка проводится путем просматривания спермы под микроскопом при увеличении в 120–400 раз. На чистое подогретое предметное стекло дозатором пипеточным (стерильной стеклянной палочкой или пипеткой) наносят капельку спермы и накрывают ее покровным стеклом. Желательно, чтобы каждый раз величина капельки была одинаковой, так как от этого в значительной мере зависит объективность и точность оценки. Это условие в полной мере можно выдержать при использовании дозатора пипеточного регулируемого или калиброванного на 0,03 мл. Чтобы капля равномерно растеклась под покровным стеклышком (без пузырьков воздуха) и не выходила за его края, поступают следующим образом. Держа двумя пальцами за грани (ребрышки) покровное стеклышко, касаются одной его гранью предметного стекла возле края капли под углом 45–50°. Когда капля расплывется по всей ширине стеклышка, медленно его опускают. Покровное стеклышко должно быть тщательно вытерто. Протирают его марлевой салфеткой между большим и указательным пальцами, поворачивая за ребрышки пальцами другой руки.

Исследование проводят при температуре 38–40°C, для чего пользуются специальными термостатами или обогревательными столиками с автоматическим регулированием температуры, помещенными на предметном столике микроскопа. При помощи макровинта приближают объектив (увеличение 80–120х) к предметному столику микроскопа на расстояние 4–5 мм и устанавливают необходимое освещение. Обычно пользуются электрическим осветителем ОИ-35, либо МКИ-11, а при отсутствии осветителя

– осветительным зеркалом. В таких случаях микроскоп необходимо расположить напротив хорошего источника света (окно помещения, лампа дневного света и т. д.). Равномерность и сила освещения достигаются за счет приподнимания или опускания конденсора микроскопа и прикрытия диафрагмы. Для улучшения видимости сперматозоидов желательно использовать конденсор темного поля ОИ-10, в поле зрения отчетливо просматриваются ярко светящиеся контуры половых клеток на темном фоне.

После подготовки микроскопа готовят мазок и помещают его на обогревательный столик. Глядя в окуляр, при помощи макровинта медленно приподнимают тубус до появления изображения в поле зрения. Затем, вращая микровинт в ту или другую сторону, добиваются четкого изображения.

Густота спермы определяется по количеству сперматозоидов, наблюдаемых в поле зрения микроскопа. Такая оценка проводится с целью получения предварительных данных о содержании половых клеток в сперме и о необходимости дальнейшей ее оценки. Наиболее хорошо она разработана для спермы быка и барана. Имеет самостоятельное значение лишь в том случае, когда по какой-либо причине не определяют концентрацию сперматозоидов. Классифицируют сперму как густую, среднюю и редкую (табл. 5.2).

Таблица 5.2 – Взаимосвязь густоты спермы и концентрации сперматозоидов

Вид производителя	Концентрация сперматозоидов в сперме, млрд/мл		
	в густой	в средней	в редкой
Баран	> 2	1–2	< 1,0
Бык	> 1	0,7–1	< 0,7
Жеребец	> 25	0,15–0,25	< 0,15
Хряк	> 0,2	0,1–0,2	< 0,1
Кролик		0,2	
Петух		3,8	
Индюк	> 8,0	6 – 8	< 6
Гусак		0,5	

Густая сперма – все поле зрения заполнено сперматозоидами без промежутков между ними (обозначается буквой Г). *Средняя сперма* – промежутки между сперматозоидами имеются, но они не превышают размеров одного сперматозоида (обозначается буквой С). *Редкая сперма* – промежутки между сперматозоидами превышают размеры спермия (обозначается буквой Р). *Олигоспермия* – в поле зрения имеются единичные сперматозоиды (обозначается буквой О). *Аспермия* – в поле зрения сперматозоиды отсутствуют (обозначается буквой А). По густоте спермы приблизительно судят о концентрации сперматозоидов. К использованию допуска-

ется сперма быка, жеребца и хряка с оценкой «густая» и «средняя», сперма барана – только «густая».

Подвижность (активность) сперматозоидов. Различают три вида движения сперматозоидов: прямолинейно-поступательное, маневренное и колебательное. Нормальным для сперматозоидов движением является *прямолинейное поступательное*. Сперматозоиды с *маневренным, колебательным* движением или *неподвижные* неспособны к оплодотворению. Подвижность сперматозоидов оценивают по 10-балльной шкале или выражают в процентах. Если около 90% сперматозоидов движутся прямолинейно поступательно, то такой сперме ставится оценка 9 баллов, если 80% – 8 баллов и т.д. *Некроспермия* – все сперматозоиды в поле зрения неподвижны; обозначается буквой *Н*. Свежеполученная сперма допускается к использованию по подвижности, если она не ниже 8 баллов у барана и быка, не ниже 7 баллов – у хряка, не ниже 6 – у жеребца.

Результат оценки по густоте и подвижности сперматозоидов обозначается двумя знаками, например, Г-9, С-10, Р-7 и т.д.

В ряде стран (США и др.) иногда допускается использование спермы, в которой не менее 50% клеток обладают поступательным движением. При оценке по подвижности большое внимание уделяется характеру движения половых клеток, а также образованию в мазке из свежеполученной спермы вихрей и завихрений и их силе. В густой сперме энергичнодвигающиеся в одном направлении сперматозоиды образуют своеобразные потоки («струи»). Когда такие струи сталкиваются, в поле зрения возникают темные завихрения, которые быстро исчезают.

В 5 баллов оценивается сперма, если в мазке сперматозоиды проявляют очень быстрое и энергичное поступательное движение, за счет которого чрезвычайно быстро возникают вихреобразное движение и небольшие завихрения, постоянно изменяющиеся в поле зрения.

4 балла – быстрое поступательное движение сперматозоидов и внезапное формирование вихреобразного движения и завихрений в просматриваемом мазке.

3 балла – устойчивое, средней силы поступательное движение сперматозоидов; вихревое движение и небольшие завихрения продвигаются более медленно через поле зрения.

2 балла – слабое поступательное движение, отмечаются остановки и возобновление движения сперматозоидов. Вихреобразное движение и завихрения отсутствуют.

1 балл – слабое волнообразное или колебательное движение сперматозоидов.

0 баллов – отсутствие в мазке подвижных сперматозоидов.

Для предприятий по искусственному осеменению Республики Беларусь инструкцией (1998 г.) рекомендуется при оценке спермы быка по подвижности не сразу выбраковывать густые эякуляты, в которых сперматозоиды проявляют слабое движение. Возможно, что в момент эякуляции половые клетки не успевают полностью выйти из состояния анабиоза. По-

этому капельку такой спермы необходимо разбавить одной–двумя каплями натрия цитрата, подогретого до 38–40°C, затем провести оценку в нескольких полях зрения и сделать окончательное заключение о пригодности спермы к использованию.

В крупных центрах по искусственному осеменению многих стран используют компьютерные программы, позволяющие определять концентрацию и подвижность сперматозоидов (включая прямолинейное поступательное и маневренное движение), а также их морфологию и другие свойства (CASA – компьютерный автоматический анализ спермы и др.). Использование этих систем позволяет повысить точность оценки качества спермы и ее оплодотворяющую способность.

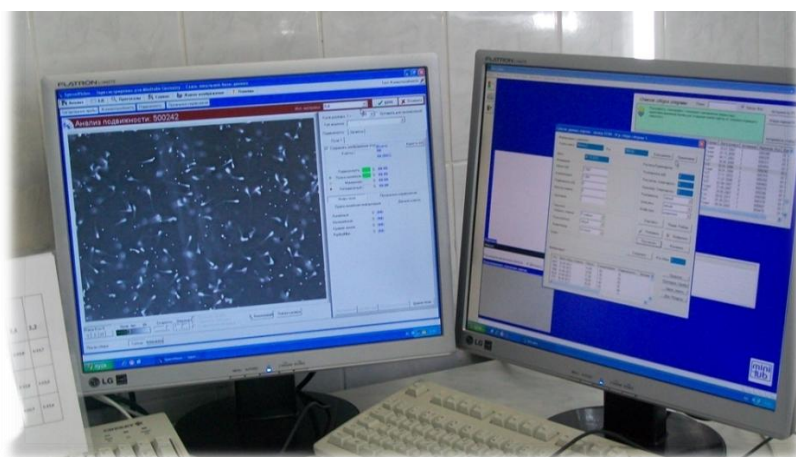


Рисунок 5.1 – Определение качества эякулята, включая подвижность сперматозоидов с помощью компьютерной программы SpermVision

5.1.3. Определение концентрации сперматозоидов в сперме

Концентрацию сперматозоидов можно определить: 1) путем подсчета в счетной камере, 2) методом сравнения со стандартами, 3) с помощью фото-электроколориметра или специальных электронных счетчиков.

Определение концентрации сперматозоидов путем подсчета в счетной камере. Счетная камера Горяева представляет собой пластинку из толстого стекла, поделенную желобами на поля: центральное и два опорных. Центральное поле разделено средним поперечным желобом на две части. Это поле на 0,1 мм ниже опорных полей; на каждой половине его нанесена сетка. При помещении на опорные поля покровного стекла над сетками образуется камера 0,1 мм глубиной. Чтобы шлифованное покровное стекло прочно держалось, его помещают на чистую и обезжиренную спиртом камеру и, прижимая пальцами к опорным полям, притирают до появления радужных колец.

Исследуемую сперму необходимо разбавить дистиллированной водой или 3%-ным раствором натрия хлорида. Для этого используются смесители (меланжеры). Смесители должны быть чистыми и сухими. Поэтому после использования их промывают многократно дистиллированной водой,

а затем 96%-ным спиртом и эфиром (1:1) и высушивают путем продувания воздуха резиновым баллоном или шарами Ричардсона. Для удобства в работе каждый смеситель присоединяют к резиновой трубке (15–20 см), к другому концу которой присоединен кусочек зашлифованной стеклянной трубки. Перед использованием кончик пипетки смесителя обеззараживают спиртовым тампоном. Обеззараженную часть пипетки слегка погружают в сперму, берут в рот кончик резиновой трубки (отрезок стеклянной трубки) и осторожно набирают сперму до нужной метки.

Для спермы быка и барана применяют эритроцитарный смеситель (с красным шариком), для спермы жеребца и хряка – лейкоцитарный (с белым шариком).

Сперму барана разбавляют в 200 раз, набирая сперму до метки 0,5, а воду – до 101.

Сперму быка разбавляют в 100 раз, набирая ее до метки 1,0, а воду – до 101.

Сперму жеребца и хряка разбавляют в 20 раз, набирая ее до метки 0,5, а воду – до метки 11.

Смеситель зажимают пальцами с обеих сторон и встряхивают в течение 2–3 минут до полного смешения спермы с дистиллированной водой. После перемешивания первые 3–4 капли из смесителя сливают отдельно и заряжают камеру, поднеся кончик смесителя к центральному полю у края покровного стекла. Смесь при этом заполняет пространство между центральным полем и покровным стеклом. Если часть капли останется у края покровного стеклышка, ее необходимо осторожно снять комочком сухой ваты или фильтровальной бумаги. Другую сетку можно заполнить другим образцом спермы. Камеру помещают на предметном столике микроскопа (*строго горизонтальное расположение!*), устанавливают увеличение 200х, подбирают необходимое освещение и осторожно наводят микроскоп. Сперматозоидов подсчитывают в пяти больших квадратах сетки (по диагонали), каждый из которых поделен на 16 малых квадратов.

Концентрацию сперматозоидов вычисляют по формуле:

$$C = \frac{N \times D \times 4000 \times 1000}{n}, \quad (5.1)$$

где С – концентрация сперматозоидов;

Н – количество подсчитанных сперматозоидов;

Д – степень разбавления спермы водой;

п – количество малых квадратов, в которых производился подсчет (80);

4000 – количество малых квадратов в одном мм³;

1000 – мм³ в одном см³.

Удобнее пользоваться упрощенными формулами, которые получены из приведенной выше:

а) формула для расчета концентрации спермы барана $C = N/200$;

б) формула для расчета концентрации спермы быка $C = N/100$;

в) формула для расчета концентрации спермы жеребца и хряка:

$$C = N/1000, \quad (5.2)$$

где C – концентрация сперматозоидов в сперме, млрд/мл;

N – количество сперматозоидов, подсчитанных в пяти больших (80 малых) квадратах.

Определение концентрации сперматозоидов методом сравнения со стандартами. Стандарты представляют собой запаянные пробирки, в которых находится похожая на сперму жидкость (раствор сернистого бария). Содержимое каждой пробирки имеет внешний вид и оптическую плотность, соответствующие сперме различной концентрации. В наборе стандартов для спермы быка имеются образцы, соответствующие концентрации 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 и 1,4 млрд/мл, для жеребца – 10, 50, 100, 200, 300 и 500 млн/мл.

Пустую пробирку такого же диаметра, как и стандарты, заполняют исследуемой спермой и сравнивают с ними. Пробирки просматривают на свет, подбирая стандарт, близкий по прозрачности к исследуемой сперме. Указанная на стандарте концентрация принимается за концентрацию данной спермы.

Определение концентрации сперматозоидов с помощью фотоэлектроколориметра (ФЭК) или специальных электронных счетчиков.

Электрофотоколориметрический метод основан на способности спермы ослаблять проходящий через нее пучок света пропорционально концентрации сперматозоидов. Величина ослабления света регистрируется фотоэлементами прибора ФЭК, позволяющего определить оптическую плотность спермы. Оптическая плотность различных образцов спермы при стандартном разбавлении повышается прямо пропорционально концентрации половых клеток.

Сперму необходимо исследовать сразу же после ее получения. Для этого из свежеполученного эякулята отбирают пробу спермы и разбавляют 2,9%-ным раствором натрия цитрата.

Сперму быка разбавляют в 100 раз, взяв 0,1 мл спермы и 10 мл цитрата натрия; барана – в 400 раз, взяв 0,025 мл спермы и 10 мл натрия цитрата; хряка – в 30 раз, взяв 0,4 мл спермы и 12 мл натрия цитрата.

Разбавление производят во флаконе емкостью 10–20 мл. Необходимо до получения спермы приготовить столько флаконов, сколько планируется получить эякулятов, и в них заранее внести раствор натрия цитрата. В современных приборах предусмотрен автоматический отбор пробы спермы и разбавление ее в кювете для исследования (рис. 5.2).

При взятии проб спермы необходимо стремиться к высокой точности. Пробы следует отбирать только микропипетками или пипеточными дозаторами из середины свежеполученных эякулятов, не допуская попадания пены или вазелина. Перед внесением пробы спермы в раствор микропипетки следует вытирать снаружи чистой марлевой салфеткой для удаления

излишней спермы. Температура 2,9%-ного раствора цитрата натрия должна быть в пределах $+20-25^{\circ}\text{C}$.



Рисунок 5.2 – Прибор для определения концентрации сперматозоидов в сперме: фотометр SDM-5

Для исследования необходимы две кюветы с рабочей толщиной 10 мм. Одну из них наполняют (до метки) спермой, разбавленной 2,9%-ным цитратом натрия, вторую – только 2,9%-ным цитратом натрия.

Кюветы ставят в кюветодержатель прибора и сначала располагают на пути пучка света (с длиной волны около 550 нанометров, красный светофильтр) кювету с цитратом натрия (без спермы). Стрелка гальванометра при этом смещается. Ручками грубой и тонкой настройки ее устанавливают на «0». Затем перемещают кюветодержатель, располагая на пути пучка света кювету со спермой. В результате стрелка гальванометра укажет величину, соответствующую оптической плотности спермы.

Далее оптическую плотность спермы необходимо пересчитать в концентрацию. Для этого необходимо тщательно определить концентрацию сперматозоидов в сперме в 10–20 пробах эякулятов в счетной камере Горяева и одновременно исследовать их на приборе. Подсчет концентрации сперматозоидов в сперме в камере Горяева должен проводиться четырехкратно по каждому эякуляту путем заправки сразу двух меланжеров и двукратного подсчета в камере с каждого меланжера. При этом берется среднеарифметический результат из всех четырех подсчетов. Подсчеты одного и того же эякулята не должны отличаться между собой более чем на 10%. Нужно стремиться, чтобы отобранные для выведения калибровочной кривой эякуляты были по возможности различной концентрации – от редких до самых густых.

Определив концентрацию отобранных эякулятов и исследовав их на приборе, строят калибровочную кривую. Для этого откладывают в опреде-

ленном масштабе (лучше на миллиметровой бумаге) по горизонтальной оси известные показатели концентрации, а по вертикальной оси – соответствующие им величины оптической плотности, выявленные по прибору. На месте пересечения этих величин ставят точки, затем проводят калибровочную кривую с таким расчетом, чтобы она охватила большинство точек (рис. 5.3).



Рисунок 5.3 – Калибровочная кривая для определения концентрации спермы быков на фотоэлектроколориметре

Калибровочную кривую следует выводить для каждого прибора в отдельности и время от времени ее проверять. При массовых исследованиях можно пользоваться коэффициентами-множителями (это возможно при прямолинейной зависимости между величиной концентрации и величиной отсчета прибора). Для этого необходимо среднеарифметическую концентрацию (15–20) эякулятов разделить на соответствующую ей среднеарифметическую величину оптической плотности тех же эякулятов.

Имея коэффициент-множитель и зная величину оптической плотности исследуемого эякулята, установленную на приборе, можно легко определить его концентрацию. Для этого необходимо перемножить эти величины.

Наиболее точно определить концентрацию сперматозоидов в сперме можно *с помощью специальных электронных счетчиков*. В этих приборах разбавленная сперма пропускается через капилляр так, что между электродами проходит только один сперматозоид. Головка его вызывает резкое увеличение сопротивления, и это регистрируется счетчиком. Такие счетчики необходимы и при оценке качества разбавленной спермы путем фильтрации через сфадекс гель/стекловату. Приготовленный сфадекс гель укладывается поверх пробки из стекловаты на дно пластикового шприца, используемого в качестве фильтрационной колонки. Фильтр ко-

лонки промывается буфером, и в нее вносится небольшое количество спермы. Затем система промывается большим количеством буфера и в фильтрате подсчитывается число сперматозоидов. Мертвые или поврежденные клетки, а также отдельные формы абнормальных клеток остаются в фильтрационной колонке, тогда как живые проходят через нее. Считают, что целостность мембраны и поверхности сперматозоидов определяет возможность продвижения их через такую систему. Отмечена высокая степень зависимости оплодотворяющей способности спермы от соотношения живых и мертвых сперматозоидов.

В сохраняемой сперме можно определить количество сперматозоидов (в единице объема или дозе) *по содержанию ДНК*. Для определения ее необходим буфер, специальный краситель и флуорометр. В каждом сперматозоиде содержится 3,3 пкг ДНК.

5.2. Дополнительные методы оценки качества спермы

Цель занятий: приобретение студентами навыков лабораторной оценки качества спермы с использованием дополнительных методов.

5.2.1. Определение процента живых сперматозоидов путем дифференциальной окраски

Объекты исследования, материалы и оборудование: свежеполученная сперма; микроскопы МБР (МБИ или БИОЛАМ) с осветителями, МБИ-11 или МБИ-14 с телевизионной камерой; дозаторы пипеточные и накопники к ним, пипетки глазные, палочки стеклянные, петля платиновая; предметные стекла, стекла со шлифованными краями; ванночки; фильтровальная бумага, марлевые салфетки; красители: эозин, берлинская лазурь; соли KH_2PO_4 и Na_2HPO_4 для приготовления фосфатного буфера; дистиллированная вода, смесь спирта этилового с эфиром (1:1); обогревательный столик, устройство для сушки мазков.

Метод, предложенный В.А. Морозовым (1938 г.), основан на свойстве эозина проникать через мембрану мертвых сперматозоидов и окрашивать их; мембрана живых клеток не пропускает краску, и они остаются неокрашенными. Использование других красителей в сочетании с эозином может повышать точность метода за счет создания фона, на котором лучше просматриваются окрашенные и неокрашенные сперматозоиды.

На край обезжиренного предметного стекла наносят дозатором пипеточным (стеклянной палочкой, глазной пипеткой) маленькую капельку свежеполученной спермы и рядом с ней – капельку 5%-ного водного раствора эозина. Обе капли быстро смешивают стеклянной палочкой (уголком шлифованного стекла) и делают тонкий мазок. Для этого прижимают торцевой гранью шлифованное стеклышко к предметному стеклу и подводят его под углом 35–40° к капле так, чтобы она растеклась сзади него на всю ширину грани. Придерживая в наклонном положении шлифо-

ванное стеклышко большим и указательным пальцами, быстро, но плавно тянут каплю вдоль предметного стекла к другому краю; при этом капля равномерно размазывается сзади стеклышка. Мазок получается ровным, если указательный палец, фиксирующий шлифованное стеклышко, опустить несколько ниже грани предметного стекла и двигать по ней. Важно, чтобы мазок был тонким (заканчивался на расстоянии 0,5–1 см от края предметного стекла), в таких случаях он быстро высохнет. Чтобы ускорить высыхание, его следует положить на обогревательный столик или пластину (45–55°) и обдуть потоком теплого воздуха (можно использовать электрофен бытовой).

Высушенный мазок просматривают под микроскопом при увеличении 900х (иммерсионный объектив); увеличение 300–400х менее подходящее для этого метода. Подсчитывают минимум 100 сперматозоидов. К окрашенным (*мертвым*) клеткам относят тех, у которых окрашена полностью головка или задняя ее часть. После подсчета выводят процент неокрашенных (*живых*) клеток.

Зарубежные организации по искусственному осеменению используют следующий рецепт красителя. Растворяют 1 г эозина синеватого (содержание краски) и 4 г берлинской лазури (анилин голубой (спирто- или водорастворимого, 88% водорастворимый) в 100 мл М/8 фосфатного буфера. Для приготовления буфера растворяют 1,702 г KH_2PO_4 в 100 мл дистиллированной воды и 1,776 г безводного Na_2HPO_4 в 100 мл дистиллированной воды. Смешивают 28,5 мл раствора KH_2PO_4 и 71,5 мл раствора Na_2HPO_4 . Краситель растворяют в буфере и прогревают в водяной бане при 85°С в течение 10 мин. Финальный показатель рН красителя должен быть 6,6. Хранить буфер можно в холодильнике при 5°С.

Для приготовления мазков берут дозатором пипеточным или градуированной пипеткой 0,03 мл красителя, подогретого до комнатной температуры, и капельку спермы. Смешивают платиновой петлей (толщина проволоки 1–3 мм) или тоненькой стеклянной палочкой и делают мазок. Процедура приготовления мазка (после смешивания спермы с красителем) до помещения его на теплую пластину не должна превышать 15 с., а высыхание – более 30 с. Высушенный мазок просматривают под микроскопом при увеличении 900х.

5.2.2. Определение процента патологических (морфологически ненормальных) сперматозоидов

Объекты исследования, материалы и оборудование: свежеполученная сперма; микроскопы МБР (МБИ или БИОЛАМ) с осветителями, МБИ-11 или МБИ-14 с телевизионной камерой; конденсор светлого и темного поля марки ОИ-10 производства ЛОМО или фазово-контрастный микроскоп; дозаторы пипеточные и наконечники к ним, пипетки глазные, палочки стеклянные; предметные стекла, стекла с шлифованными краями, пробирки, ванночки; фильтровальная бумага; красители: эозин, берлинская ла-

зурь, кристаллвиолет, анилин, основной фуксин; карболовая кислота, спирт этиловый; калий хлорид, натрий фтористый, KH_2PO_4 и Na_2HPO_4 для приготовления фосфатного буфера; 2,9%-ный раствор натрия цитрата, дистиллированная вода, смесь спирта этилового с эфиром (1:1), марлевые салфетки; термостат, обогревательный столик, устройство для сушки мазков.

Для сперматозоидов каждого вида животных характерна своя структура и величина; не исключены и некоторые индивидуальные особенности. Появление в эякуляте значительного числа клеток с явными отклонениями в их структуре (*тератоспермия*) сопровождается понижением плодовитости производителя. Это может быть обусловлено тем, что продвижение ненормальных сперматозоидов в половом тракте самки к месту оплодотворения нарушено и не накапливается там необходимое число половых клеток (в половом тракте есть места, которые не пропускают ненормальных сперматозоидов), или же с неспособностью таких клеток вызвать оплодотворение и последующее развитие зародыша.

Ненормальности головки имеют большее значение, чем ненормальности в области хвоста. В связи с этим классифицируют ненормальности сперматозоидов как: первичные (главные), вторичные и третичные. *Первичные* связаны с головкой или акросомой клетки, *вторичные* – с наличием цитоплазматической капельки в средней части хвоста и *третичные* – с другими дефектами хвоста.

В предприятиях по искусственному осеменению необходимо периодически (один–два раза в год) тщательно просматривать образцы спермы от каждого производителя и при выявлении повышенного числа ненормальных клеток внимательно обследовать животное.

При наличии фазово-контрастного микроскопа или конденсора ОИ-10 готовят сырой неокрашенный мазок. На обезжиренное предметное стекло наносят капельку спермы и капельку 0,35 М раствора калия хлорида или 40,0 mM натрия фтористого, приготовленных на 2,9%-ном растворе натрия цитрата. После смешивания делают тонкий мазок. Просматривают с использованием иммерсионного объектива 100 клеток. Можно исследовать свежеполученную и оттаянную сперму.

Более надежно исследование производить в окрашенных сухих мазках. Самый простой способ – это использование мазка, окрашенного смесью эозина и анилина голубого при определении процента живых и мертвых сперматозоидов. Однако можно готовить и окрашивать мазок непосредственно для определения патологических форм сперматозоидов.

При приготовлении мазка следует предотвратить температурный шок, в результате которого хвостики сперматозоидов закручиваются и невозможно отличить такие клетки от тех, которые образовались в семенниках. Попадание воды (например, влажное предметное стекло) также вызывает этот артефакт. Свежеполученные сперматозоиды легко разламываются в области шейки, что приводит к увеличению процента бесхвостых головок. Чтобы предотвратить такую опасность, можно до исследования сперму

выдержать при комнатной температуре (сохраняемые сперматозоиды менее чувствительны к разломам).

Перед приготовлением мазка сперму разбавляют изотоническим раствором натрия хлорида или натрия цитрата. В пробирку вносят 1 мл раствора и добавляют одну каплю спермы быка. Степень разбавления спермы барана должна быть большей, а спермы хряка и жеребца – меньшей. Температура раствора и спермы перед смешиванием должна быть одинаковой. Смешивание проводят осторожно путем легкого постукивания пальцем по нижнему концу пробирки. Каплю приготовленной смеси помещают на обезжиренное предметное стекло и делают мазок.

Если сперма хранилась несколько часов, то можно нанесенную на предметное стекло каплю спермы накрыть вторым таким же стеклом, плавно и ровно протянуть его по первому. Мазки высушивают при температуре 36–37°C в термостате, а затем фиксируют на пламени или погружением на 1–2 мин. в стаканчик с 96%-ным этиловым спиртом. После фиксации производят окрашивание. Используют различные красители. Хорошие результаты получают при двойном окрашивании анилиновым генцианвиолетом и карболовым фуксином Циля. Фиксация мазков после высушивания не требуется.

Анилиновый генцианвиолет (Эрлиха)

Раствор:

кристаллвиолет (85% красящего вещества) – 2,5 г; этиловый спирт (96%-ный) – 12 мл.

Раствор:

анилин – 2 мл; дистиллированная вода – 98 мл.

После полного растворения оба раствора смешивают вместе и хранят во флаконе со стеклянной пробкой.

Карболовый фуксин Циля

Раствор А:

основной фуксин (90% красящего вещества) – 3 г; этиловый спирт (96%-ный) – 10 мл.

Раствор Б:

фенол (карболовая кислота) – 5 г; дистиллированная вода – 95 мл.

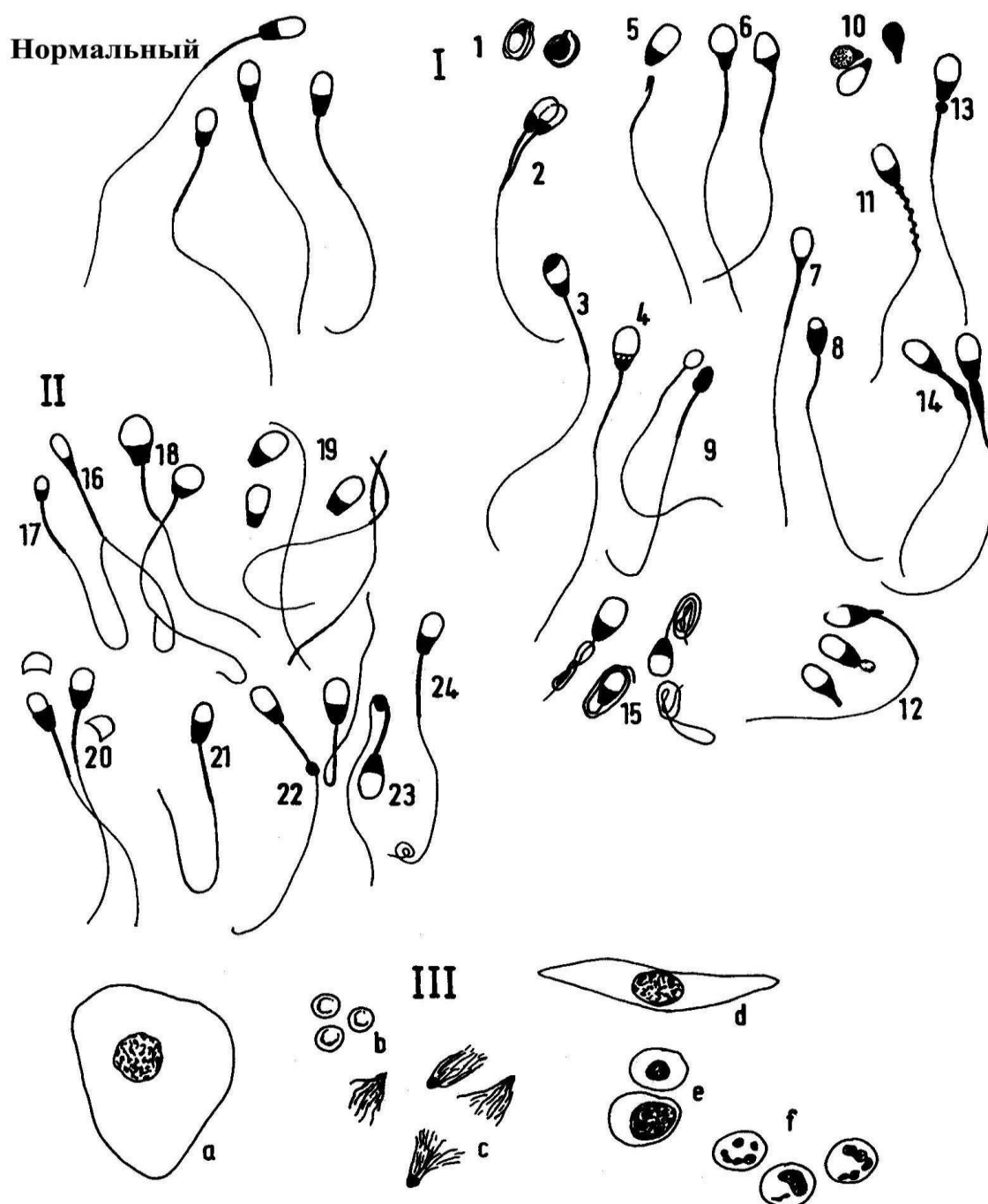
Раствор А добавляют в *раствор Б*, смешивают и хранят во флаконе со стеклянной пробкой.

Для получения лучших результатов карболовый фуксин надо время от времени фильтровать. Хранить обе краски можно бесконечно.

Высушенные мазки окрашивают в течение 2 мин. анилиновым генцианвиолетом и сразу же промывают проточной, затем – дистиллированной

водой и высушивают. После этого дополнительно окрашивают карболовым фуксином в течение 10–15 с. или дольше, в зависимости от желательной интенсивности окрашивания; промывают проточной водой, потом — дистиллированной и высушивают.

Из каждого образца спермы готовят 2–3 мазка, исследуют под микроскопом с иммерсионной системой и в каждом из них просматривают 100–200 сперматозоидов. Это дает более надежные результаты, чем просмотр большего количества клеток (до 500) в одном мазке. При подсчете ненормальных сперматозоидов придерживаются какой-либо классификации. Проще всего аномалии в структуре сперматозоидов классифицировать по измененным частям их: аномалии в области головки, шейки, средней части (тела) и хвоста (рис. 5.4).



Главные дефекты (I):

1 – несформировавшиеся клетки; 2 – сдвоенные; 3 – дефект акросомы (шишковидный сперматозоид); 4 – «корона» дефект; 5 – отделенная головка (хвост активный); 6 – грушевидные формы; 7 – головка с суживающимся основанием; 8 – головка с ненормальными очертаниями; 9 – маленькая ненормальная головка; 10 – отделенные ненормальные головки; 11 – штопорообразное тело; 12 – дополнительный хвост, культевидное тело; 13 – проксимальная цитоплазматическая капелька; 14 – псевдокапелька, утолщение тела; 15 – извитой или сильно сложенный хвостик, «даг» дефект (клок свалывшейся шерсти).

Второстепенные дефекты (II):

16 – узкая головка; 17 – маленькая нормальная головка; 18 – гигантская и короткая широкая головка; 19 – отделенные нормальные головки; 20 – отделенные акросомы; 21 – асимметричное прикрепление тела и хвоста; 22 – дистальная цитоплазматическая капелька; 23 – правильно изогнутый хвост; 24 – закрученный кончик хвоста.

Другие клеточные элементы (III):

a – эпителиальные клетки; b – эритроциты;
c – медузоподобные образования; d – ладьевидные клетки;
e – мононуклеарные лейкоциты; f – нейтрофилы

Рисунок 5.4 – Классификация патологических форм сперматозоидов в зависимости от степени влияния их на плодовитость [12]

Головки могут быть двойными, конусообразными и грушевидными, круглыми, сморщенными, большими, узкими, удлинёнными, уменьшенными, асимметричными. Наиболее частые *аномалии шейки*: сломанные шейки, бесхвостые головки. *Аномалии тела*: изогнутые, разорванные, удлинённые, утолщенные, двойные, нитевидные и рудиментарные, а также ненормальное прикрепление тела к головке. *Аномалии хвостика*: извитые, двойные, сломанные, изогнутые, закрученные и срезанные.

В сперме барана и быка содержание морфологически ненормальных сперматозоидов не должно превышать 7–14%, в сперме хряка и жеребца – 20%.

5.2.3. Определение метаболической активности сперматозоидов

Объекты исследования, материалы и оборудование: свежеполученная сперма, желток куриных яиц, 2,9% и 3,6%-ный раствор натрия цитрата;

дозаторы пипеточные и наконечники к ним, пипетки глазные, палочки стеклянные; предметные стекла с луночками, стеклянные трубки с внутренним диаметром 0,8–1 мм, бактериологические пробирки; цилиндры мерные на 10, 100 и 1000 мл, колбы емкостью 100 мл и 1 л, банка из темного стекла с притертой пробкой; марлевые салфетки; водяная баня, метиленовая синька, физиологический раствор, минеральное (вазелиновое) масло; секундомер или часы, аналитические (точные) весы.

Предложены следующие методы определения метаболической активности сперматозоидов: измерение поглощения кислорода из расчета на стандартное число клеток, определение скорости обесцвечивания метиленовой сини, определение индекса фруктолиза и величины рН и др. Каждый из этих способов объективно отражает активность метаболических процессов, происходящих в сперматозоидах при температуре выше 20–25°C. Поэтому в большинстве случаев отмечают корреляционную связь данных, полученных с помощью этих методов, с основным показателем качества спермы – ее оплодотворяющей способностью. В практике обычно используют способ, основанный на способности сперматозоидов при отсутствии источника кислорода обесцвечивать метиленовую синьку.

Определение качества спермы по скорости обесцвечивания метиленовой синьки. В процессе гликолиза при окислении фосфоглицеринового альдегида выделяется водород, который переносится на пировиноградную кислоту, превращая ее в молочную. Метиленовая синь является хорошим акцептором водорода. При присоединении двух ионов водорода этот краситель теряет свой темно-синий цвет и превращается в лейкометиленовый синий, представляющий собой белый порошок. Водород фруктоза отдает под воздействием внутриклеточного фермента дегидрогеназы. Реакция должна происходить без доступа воздуха, так как кислород воздуха быстро окисляет лейкометиленовый синий в метиленовый.

По методу Н.П. Шергина на предметное стекло с луночкой дозатором пипеточным (глазной пипеткой) наносят каплю свежеполученной спермы быка или барана и добавляют каплю 0,01%-ного раствора метиленовой синьки. Быстро перемешивают обе капли стеклянной трубкой с внутренним диаметром 0,8–1 мм и набирают в нее смесь так, чтобы образовался столбик длиной около 2 см без пузырьков воздуха (пены). Трубку кладут на белую бумагу при температуре 20–22°C и наблюдают, через какое время голубой столбик обесцветится. По концам, где мениски смеси соприкасаются с воздухом, окраска обычно не изменяется. Оценивают сперму исходя из сроков обесцвечивания смеси: *хорошее качество* – для быка 5–10 и для барана 3–7 мин., *среднее* – соответственно 11–30 и 8–12 мин., *плохое* – более 30 мин. для быка и более 12 мин. для барана.

Раствор метиленовой синьки необходимо приготовить заранее. Для этого сначала готовят 1000 мл физиологического раствора на дистиллированной воде, затем растворяют в нем 100 мг краски. Краску переливают в банку из темного стекла с притертой пробкой и хранят в закрытом шкафу.

В качестве стеклянных трубочек можно использовать кусочки разбитых шприцев-катетеров для осеменения коров. Концы таких трубочек шлифуют наждаком или напильником.

Метод Бека и Солсбери (Beck G.H., Salisbury G.W.). В бактериологическую пробирку (объем 10 мл) вносят 0,2 мл свежеполученной спермы и 0,8 мл желточно-цитратной среды (40 мл 2,9%-ного раствора натрия цитрата и 10 мл желтка); тщательно смешивают. Добавляют 0,1 мл раствора метиленовой синьки, приготовленного из 50 мг красителя и 100 мл 3,6%-ного раствора натрия цитрата ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Содержимое пробирки смешивают и покрывают слоем минерального (вазелинового) масла толщиной 1,25 см.

Затем пробирку помещают в водяную баню с температурой 43–46°C. При такой температуре восстановление метиленовой синьки происходит наиболее быстро. Бактерии, попавшие в образец при получении или обработке спермы, не оказывают влияния на результаты, так как многие из них погибают. Лучшие по качеству эякуляты быка обесцвечивают краситель в течение 3–6 мин.

5.2.4. Определение абсолютного показателя выживаемости (живучести) сперматозоидов вне организма

Объекты исследования, материалы и оборудование: свежеполученная сперма, среда для разбавления спермы, оттаянная сперма; дозаторы пипеточные и наконечники к ним, пипетки глазные, палочки стеклянные; предметные и покровные стекла; термостат, микроскопы МБР (МБИ-1, МБИ-3, МБИ-4 или БИОЛАМ) с осветителями ОИ-35 либо МКИ-11, микроскоп МБИ-11 (МБИ-14) с телевизионной камерой; конденсор светлого и темного поля марки ОИ-10 производства ЛОМО или фазово-контрастный микроскоп; термостат для микроскопа, обогревательные столики; марлевые салфетки.

Установлена зависимость оплодотворяющей способности спермы от степени сохранения подвижности сперматозоидов при стандартных условиях (например, при температурах, близких к 0°C). В.К. Миловановым был предложен метод, который позволяет одновременно проследить за характером снижения подвижности сперматозоидов в течение всего срока хранения, определить максимальную продолжительность жизни отдельных сперматозоидов и найти оптимальную степень разбавления. В настоящее время степень разбавления спермы варьирует в более узких пределах, чем было предусмотрено автором, поэтому метод этот в полном объеме не используется. Достаточно исследовать сперму после стандартного разбавления: от 100–125 до 150–187 млн. сперматозоидов в мл из расчета получения 10–15 млн подвижных клеток в солоmine после оттаивания.

Для исследования 1–2 мл разбавленной спермы оставляют в холодильнике при 2–4°C и ежедневно определяют подвижность сперматозоидов при температуре 38–40°C до полной их гибели. Суммируя все произве-

дения времени (в часах), в течение которого наблюдалась та или иная подвижность, на активность сперматозоидов (в баллах), вычисляют абсолютный показатель живучести (табл. 5.3). Для спермы барана высокого качества он должен быть не ниже 1600, для спермы быка – 1000–1400, для спермы жеребца – 400–730. Максимальная продолжительность жизни для сперматозоидов (в часах) – для быка не менее 200, для барана – 250 и жеребца – не менее 300. В сперме хряка, разбавленной средой для долгосрочного хранения при температуре 17–18°C, сперматозоиды могут сохранять подвижность в течение двух–трех недель.

Для определения выживаемости сперматозоидов в замороженных эякулятах применяют экспресс-методику. Из каждого дуплетного эякулята по 2 соломинки (гранулы) оттаивают и помещают в термостат при 38°C.

Фиксируют время оттаивания и одновременно определяют исходную подвижность сперматозоидов. Через 5 часов оценку повторяют. Пригодной для осеменения считают сперму (быка), начальная подвижность которой не менее 4 баллов и через 5 ч хотя бы единичные сперматозоиды проявляли движение.

Таблица 5.3 – Образец записи результатов исследования спермы

Дата исследования	Время исследования	Подвижность, баллов (а)	Время сохранения подвижности, ч (t)	Произведение подвижности на время (at)
7.02	8 ⁰⁰	8	12	96
8.02	8 ⁰⁰	7	24	168
9.02	8 ⁰⁰	6	24	144
10.02	8 ⁰⁰	5	24	120
11.02	8 ⁰⁰	4	24	96
12.02	8 ⁰⁰	3	36	108
14.02	8 ⁰⁰	1	36	36
15.02	8 ⁰⁰	1	24	24
16.02	8 ⁰⁰	0	-	0
				792

5.2.5. Определение сперматозоидов с поврежденной акросомой

Объекты исследования, материалы и оборудование: замороженная в соломинах сперма быка; 10%-ный раствор желатины (рН 7,0); фазово-контрастный микроскоп или микроскопы БИОЛАМ (МБИ-3 или МБИ-4) с осветителями ОИ-19 (ОИ-35, МКИ-11) и конденсор светлого и темного поля марки ОИ-10 производства ЛОМО; дозаторы пипеточные и наконечники к ним или Пастеровские пипетки; предметные и покровные стекла; фильтровальная бумага, марлевые салфетки; термостат.

Акросома сперматозоидов содержит две группы ферментов, которые играют важную роль в процессе оплодотворения. Различные дефекты ее или повреждения структуры в процессе обработки и хранения спермы приводят к потере сперматозоидами оплодотворяющей способности. Такие повреждения, как правило, возникают в процессе замораживания и оттаивания спермы. При этом большое значение имеют индивидуальные особенности производителей. Высокая частота повреждений акросомы может существенным образом повлиять на результаты осеменения. Поэтому целесообразно оценивать замороженную сперму не только по подвижности, но и по числу сперматозоидов с поврежденной акросомой. Для этой оценки используют интерференционный или фазово-контрастный микроскоп. При отсутствии их достаточно иметь микроскоп БИОЛАМ (МБИ-3 или МБИ-4) и конденсор темного поля ОИ-10.

Сперматозоиды по окраске почти не отличаются от окружающей среды. Они не адсорбируют свет, не изменяют ни интенсивность, ни цвет прошедшего через них луча, поэтому микроскопия их затруднена. Однако они изменяют фазу волны света. Для обнаружения сдвига фаз используют интерференционные или фазово-контрастные микроскопы.

В фазово-контрастном микроскопе освещение устроено по методу светлого поля. Но в нем имеются: 1) дополнительная (кольцевая) осветительная диафрагма, которая помещается под конденсором (в его передней фокальной плоскости) и 2) фазовая пластинка из вещества, поглощающего свет и вносящего определенный сдвиг фаз; фазовая пластинка помещается в задней фокальной плоскости объектива, где изображается и кольцевая диафрагма. Изображения диафрагмы и фазовой пластинки (вследствие соответствия их размеров) совмещаются. Весь свет, не прошедший через объект, проходит через фазовую пластинку. Луч, прошедший через объект, распадается (подвергается дифракции) на пучки света (убывающей интенсивности), выходящие из объекта под разными углами. Этот дифрагированный свет проходит через весь зрачок объектива, в основном вне изображения кольцевой диафрагмы. Два пучка лучей – один от объекта, другой от среды, в которой находится объект, – соединяются, преобразуя при этом фазовые изменения, обусловленные объектом, в амплитудные (различной интенсивности). В результате получается видимое, фазово-контрастное изображение структуры объекта, в котором распределение яркостей (амплитуд) воспроизводит фазовый рельеф.

Экспресс-метод определения оплодотворяющей способности сперматозоидов (разработанный под руководством Соколовской И.И.). Этот метод позволяет определять состояние акросом непосредственно у движущихся сперматозоидов в неразбавленной или оттаянной сперме быка, а также соотношение подвижных и неподвижных клеток.

Замороженную сперму быка оттаивают и разбавляют 10%-ным раствором желатины в отношении 1:1 для создания повышенной вязкости и снижения интенсивности движения сперматозоидов. Каплю разбавленной спермы (0,03 мл) наносят на предметное стекло дозатором пипеточным (Пастеров-

ской пипеткой) и накрывают покровным стеклом. Сперму за пределами стекла удаляют при помощи фильтровальной бумаги. Приготовленные мазки медленно исследуют под микроскопом БИОЛАМ, оснащенном окуляром 15х и объективом 40х и конденсором ОИ-10. Необходимый уровень освещения обеспечивается при помощи осветителя ОИ-19.

Для получения четкого изображения прикрывают диафрагму конденсора и опускают его кремальеру до упора; находят изображение сперматозоидов в светлом поле конденсора, затем наводят фокус, полностью открывают диафрагму конденсора и вводят в ход лучи темного поля. Следя за изображением, медленно перемещают кремальеру кверху до появления ярко светящихся контуров половых клеток на темном фоне.

На этом фоне можно отчетливо различить три категории клеток:

– сперматозоидов с ярким свечением всего контура головки, иногда с утолщенным передним краем – это биологически полноценные клетки с неповрежденной акросомой; у таких сперматозоидов ярко светятся также тело и хвост (рис. 5.5);

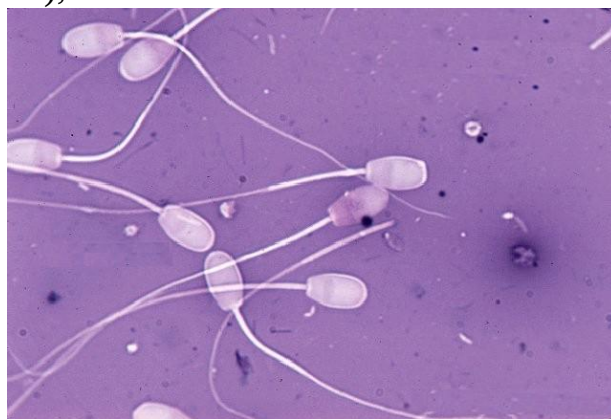


Рисунок 5.5 – Сперматозоиды быка

– сперматозоидов с отчетливо заметным задним ядерным кольцом и хвостом, но слабо заметным контуром передней половины головки – это неполноценные половые клетки с разбухшей акросомой;

– сперматозоидов с полностью отсутствующими контурами всей передней части головки – это клетки с полностью разрушенной или утерянной акросомой.

Просматривают в препарате 100 сперматозоидов, обладающих прямолинейным поступательным движением, и вычисляют процент клеток с поврежденной акросомой. Каждый образец спермы исследуют сразу после ее оттаивания и спустя 1 и 2 ч (по И.И. Соколовской – однократно). В период исследований сперму выдерживают в термостате при температуре 37°C.

В сперме *хорошего* качества через 2 ч после оттаивания не должно содержаться более 7% дефектных сперматозоидов (из всех подвижных). В сперме *удовлетворительного* качества число таких клеток может быть от 8 до 11%. При содержании 12% или более дефектных сперматозоидов сперма оценивается как *низкого* качества (Медведев Г.Ф., Турчанов С.О., 2000).

5.2.6. Определение подвижности сперматозоидов в оттаянной сперме по способу БелНИИЖ

Объекты исследования, материалы и оборудование: замороженная в соломинах сперма быка; 2,9%-ный раствор натрия цитрата в ампулах; 7%-ный раствор глюкозы или 9%-ный раствор лактозы; микроскопы БИО-ЛАМ (МБИ-3 или МБИ-4) с осветителями ОИ-19 (ОИ-35, МКИ-11) и конденсор ОИ-10 или фазово-контрастный микроскоп; биотермостат, обогревательные столики, дозаторы пипеточные и наконечники к ним, глазные палочки; предметные и покровные стекла; фильтровальная бумага, марлевые салфетки; термостат.

Оттаянную в соломинке сперму выливают в ампулу с 2,9%-м раствором натрия цитрата (1 мл, $t = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$), содержимое осторожно смешивают. В небольшой (5–10 мл) флакон наливают 1 мл 7%-ного раствора глюкозы медицинской безводной или 9%-ного раствора лактозы и добавляют 0,2 мл разбавленной после оттаивания спермы; температура спермы и раствора – 18–20 $^{\circ}\text{C}$. Небольшую каплю вторично разбавленной спермы наносят стеклянной глазной палочкой (дозатором пипеточным) на подогретое ($t = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$) предметное стекло и накрывают ее покровным стеклом, помещают на обогревательном столике микроскопа и просматривают при увеличении 600–800. Подсчитывают всех сперматозоидов в пяти полях зрения, причем в каждом из них сначала учитывают подвижных. Подсчитывают общее количество просмотренных сперматозоидов и вычисляют процент подвижных.

5.2.7. Оценка качества спермы птиц

Для оценки спермы определяют ее внешние свойства (цвет, консистенцию), объем, густоту, подвижность и концентрацию сперматозоидов. Объем эякулята определяют по верхнему мениску градуированного спермоприемника или градуированной пипеткой. Цвет и густоту спермы определяют визуально.

У индюка *густая сперма* имеет консистенцию сметаны, в 1 мл содержит 8 млрд сперматозоидов или более. Она почти не стекает по желобку копуляторного органа, в массе своей имеет выпуклую форму. *Средняя сперма* с консистенцией густых сливок, медленно стекает по желобку толстым слоем, в 1 мл – 6–8 млрд клеток. *Редкая сперма* с консистенцией густого молока или редких сливок тонким слоем стекает быстро по желобку, в 1 мл содержит 3–5 млрд сперматозоидов.

Подвижность сперматозоидов оценивают под микроскопом, нередко в смешанных эякулятах (от 7–10 самцов), а концентрацию – путем подсчета в счетной камере и с помощью ФЭК или спектрофотометра. Вследствие высокой концентрации оценка подвижности сперматозоидов по 10-балльной системе затруднена.

Н. Канарейкин (1975) использовал 6-балльную систему оценки качества спермы индюков:

1 балл – движение сперматозоидов настолько энергично, что едва можно различить отдельные клетки;

2 балла – движение сперматозоидов энергичное, но можно различить отдельные клетки;

3 балла – движение спокойное поступательное;

4 балла – слабое (ленивое) замирающее движение;

5 баллов – слабое колебательное движение;

6 баллов – сперматозоиды неподвижные.

Для осеменения рекомендует использовать сперму индюков с оценкой 1 и 2 балла.

5.2.8. Компьютерное автоматизированное исследование качества спермы

В крупных организациях по искусственному осеменению при оценке качества спермы используют высокоэффективные автоматизированные системы компьютерного анализа. Наиболее совершенная современная система, предлагаемая MINITUBE, сочетаема с классическим анализом CASA (компьютерный автоматизированный анализ спермы).

Для интегрированного всестороннего функционального анализа спермы AndroVision необходимы фазово-контрастный микроскоп бинокулярный или тринокулярный с объективом 10х, 40х, 100х, нагревательной системой с блоком управления HT 50 и цифровым температурным дисплеем, цифровая цветная камера для микроскопов, монитор 10" с HDMI-соединением (рис. 5.6).



Рисунок 5.6 – Фазово-контрастный микроскоп MBL 2000 с блоком управления, цифровой камерой и монитором

Система AndroVision включает 6 модулей, для применения которых необходим ряд красителей (рис. 5.7).

Программные модули AndroVision следующие.

1. Модуль для автоматической идентификации проксимальных и дистальных цитоплазматических капель (AutoMorph), интегрированный в анализ подвижности и концентрации спермиев в сперме. Наличие спермиев с цитоплазматическими капельками указывает на нарушение процесса созревания спермиев вследствие заболеваний или стрессового состояния. Эти аномалии снижают качество спермы и ее оплодотворяющую способность.

2. Модуль морфологии и морфометрии является интерактивной системой для морфологического и морфометрического анализа спермиев, позволяющей классифицировать их по большому числу морфологических аномалий (рис. 5.8).



Краситель Spermac для контрастного окрашивания проб спермы нативной и разбавленной – 4 компонента



Краситель Farelly для контрастного окрашивания проб, состоит из 3 компонентов



Краситель Eosin G для одношагового окрашивания проб при анализе жизнеспособности

Краситель Nigrosin применяется в комбинации с эозином для создания темного фона при анализе жизнеспособности

**Рисунок 5.7 – Красители для спермы
исполнения программных модулей**

3. Модуль жизнеспособности обеспечивает автоматический подсчет процентного содержания спермиев с неповрежденной мембраной.

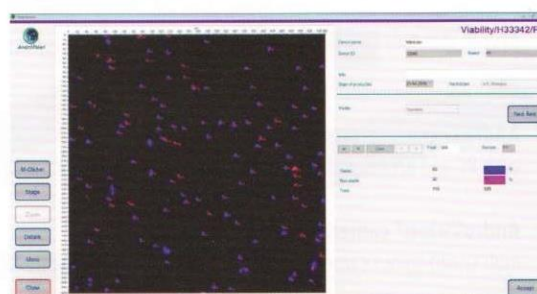
4. Модуль целостности акросомы позволяет определить процент спермиев с поврежденной акросомой.

5. Модуль активности митохондрий – автоматический подсчет процентного содержания спермиев с активными митохондриями.

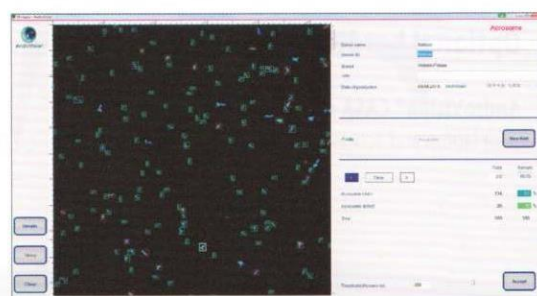
Модуль морфологии и морфометрии: определение окрашенных и неокрашенных головок спермиев, их длины, ширины и формы; ассиметрии средней части; большого ранга морфологических аномалий.



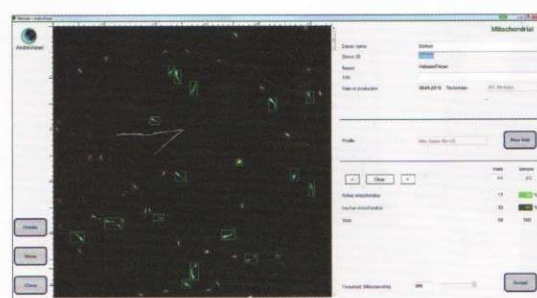
Модуль жизнеспособности (Module Viability): определение процента спермиев с неповрежденной мембраной на основе метода двойного флуоресцентного окрашивания.



Модуль целостности акросом (Acrosome integrity): определение процента спермиев с поврежденной акросомой на основе метода двойного флуоресцентного окрашивания.



Модуль активности митохондрий (Mitochondrial Activity): автоматический подсчет процента спермиев с активными митохондриями. Основан модуль на двойном окрашивании флуоресцирующими красителями



Целостность ДНК (DNA integrity): автоматическое определение процента спермиев с дефектной ДНК, основанное на галотехнике в комбинации с флуоресцентным окрашиванием

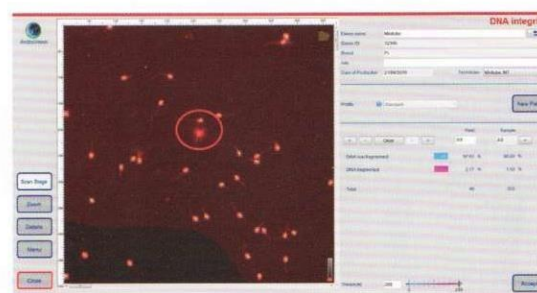


Рисунок 5.8 – Программ

Третий, четвертый и пятый модули (рис. 5.8) выполняются на основе метода двойного флуоресцентного окрашивания.

6. Модуль целостности ДНК – автоматический расчет процентного содержания спермиев на основе использования гало-эффекта в сочетании с флуоресцентным окрашиванием (рис. 5.8).

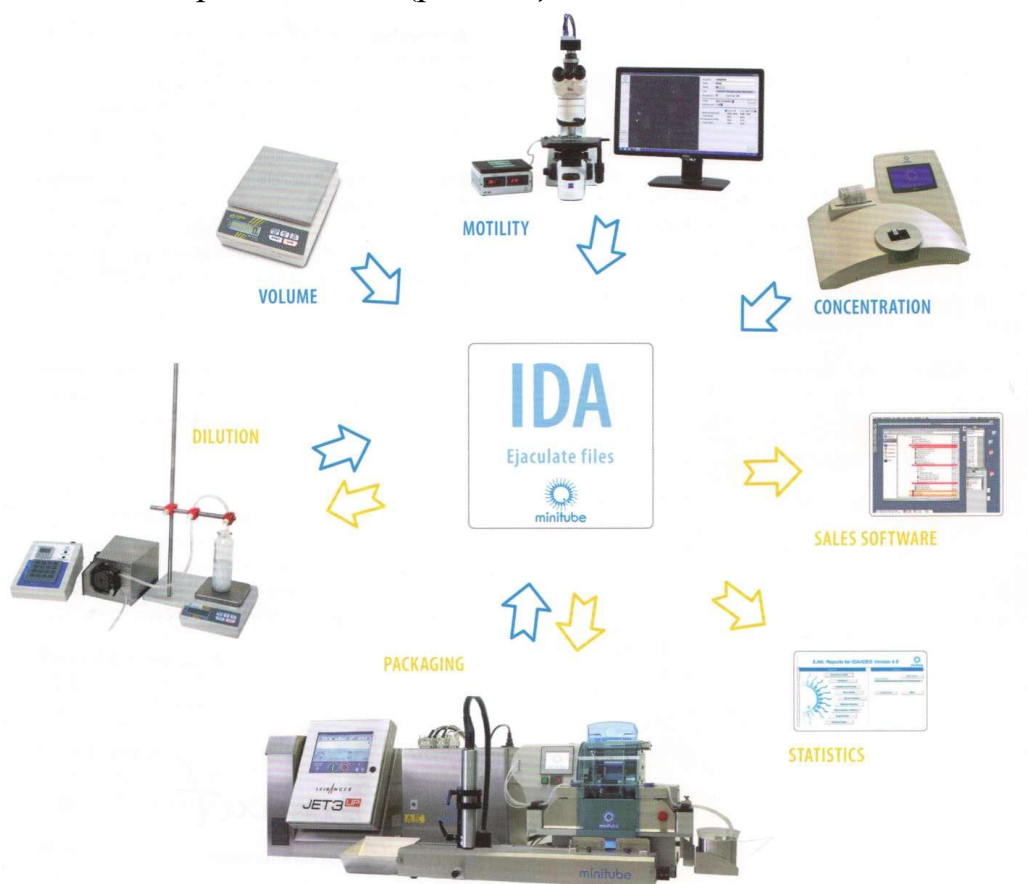


Рисунок 5.9 – Программное обеспечение для лабораторий по искусственному осеменению крупного рогатого скота (IDA) и свиней (IDEE)

Для лабораторий, использующих системы автоматизированной оценки качества спермы, разработано программное обеспечение рабочего процесса (IDA – для крупного рогатого скота, IDEE – для свиней) (рис. 5.9). IDA – многопрофильная модульная компьютерная программа, основанная на базе данных Access. Она интегрирует все данные по эякуляторам и объединяет все процессы: процедуру взятия и анализа спермы, ведение учета образцов эякулятов, управление процессом разбавления и фасовки спермы в соломины, производственную статистику. Подсоединенное лабораторное оборудование (весы, фотометр, AndroVision) быстро и надежно передает данные на лабораторный компьютер. Автоматический расчет необходимого объема разбавителя, автоматическое разбавление спермы с использованием дозатора Smart Dispenser и передача данных на фасовочно-упаковочное устройство существенно упрощает работу в лаборатории. Весь процесс стандартизирован, каждый шаг документирован и поддается контролю. Обеспечивается статистический анализ всех производственных

данных. Программное обеспечение iMail (электронная идентификация быка) может быть использовано как дополнение к IDA.

5.3. Влияние на сперматозоиды физических и химических факторов

Цель занятия: изучить действие физических и химических факторов на подвижность и выживаемость сперматозоидов.

Объекты исследования, материалы и оборудование: животные – бык, корова (чучело) или самец и самка другого вида; оборудование, материалы и инструменты для получения спермы (соответствующего вида животных); термостат для микроскопа; микроскопы с осветителями, микроскоп МБИ-11 (БИОЛАМ–М) с телевизионной камерой; обогревательные столики, металлическая пластина; дозаторы пипеточные и наконечники к ним, пипетки глазные, палочки стеклянные; предметные и покровные стекла; марлевые салфетки, полотенца; растворы натрия хлорида: физиологический, 0,5%-ный и 3%-ный; 1%-ный раствор молочной кислоты; лед, поваренная соль; ртутный термометр; прибор для измерения pH, раствор универсального индикатора (или бумажные индикаторные полоски).

Методические указания. Занятия проводят в ветеринарной клинике и лаборатории кафедры или в учебном пункте. Сначала преподаватель объясняет студентам действие на сперматозоиды некоторых факторов, знакомит их с методами контроля физических и химических свойств сред для разбавления спермы. Затем студенты готовят искусственную вагину для получения спермы (от быка или самца другого вида животных), получают сперму; одновременно приготавливают и среду для разбавления спермы. Разделившись на группы (по 2 человека за столом), изучают действие температуры, растворов с различным осмотическим давлением, молочной кислоты на подвижность и выживаемость сперматозоидов. В конце занятия преподаватель демонстрирует студентам определение осмотического давления среды для разбавления спермы методом криоскопии и pH среды потенциометрическим методом.

Изучение действия высокой и низкой температуры. В выделенной сперме, имеющей температуру 38,5°C, сперматозоиды проявляют высокую метаболическую активность и подвижность. При повышении температуры до 41–43°C подвижность их возрастает, а скорость гликолиза в сперме быка достигает максимума при 43–46°C. При температуре около 50°C происходит денатурация белка и другие необратимые изменения, которые приводят к гибели клеток. Продолжительность жизни сперматозоидов при температуре выше 20°C ограничена несколькими часами. Это связано с быстрым расходом ими ряда химических соединений и неспособностью восстанавливать или поглощать их из внешней среды.

При понижении температуры интенсивность движения сперматозоидов уменьшается, а при температуре 7°C они приостанавливают свои движения. Интенсивность метаболических процессов снижается, но полностью они не прекращаются и протекают еще на достаточно высоком

уровне (состояние анабиоза). Продолжительность сохранения оплодотворяющей способности сперматозоидов при таких температурах (0–5°C) увеличивается до нескольких дней.

После подогревания охлажденной спермы подвижность сперматозоидов восстанавливается. Однако это наблюдается в том случае, если охлаждалась сперма медленно. В других случаях охлаждение может вызвать у сперматозоидов необратимые изменения и их гибель. Это происходит вследствие «холодового удара» (температурного шока) в результате резкого охлаждения. Температурный шок наблюдается при температурах выше 0°C, но возможен и при отрицательных температурах, когда сохраняется жидкая фаза и имеются условия для протекания осмотических процессов.

Наиболее чувствительны к быстрому снижению температуры сперматозоиды хряка. В неразбавленной сперме быка температурный шок у сперматозоидов возможен при температуре ниже 24°C. В разбавленной желточно-цитратной или молочной средой сперме действие температурного шока может проявиться при резком снижении температуры ниже 16°C. В связи с этим в практике должны обращать внимание на скорость охлаждения разбавленной спермы до момента замораживания.

Для изучения действия различных температур на сперматозоидов из полученной спермы готовят три мазка; предметные стекла предварительно подогревают до температуры спермы. *Один мазок* помещают поочередно на два подготовленные обогревательные столики с температурой 38°C и 43–45°C и определяют под микроскопом подвижность сперматозоидов; затем мазок снимают с обогревательного столика и оставляют при комнатной температуре на 5–7 мин. *Второй мазок* помещают на лед и охлаждают несколько минут. После охлаждения вначале определяют под микроскопом состояние сперматозоидов при комнатной температуре, а затем кладут на обогревательный столик и определяют их подвижность при температуре 38°C.

Также поступают и с уже исследованным первым мазком: просматривают его при комнатной температуре, а потом – после подогревания до 38°C.

При комнатной температуре в первом мазке сперматозоиды будут проявлять заметную подвижность, а после подогревания исходная подвижность восстановится. Во втором мазке при комнатной температуре только отдельные сперматозоиды проявят слабые движения, а после подогревания немногие из них восстановят подвижность; большинство же клеток будут неподвижными – они погибнут вследствие температурного шока.

В третьем мазке определяют подвижность сперматозоидов сначала при температуре 38°C, а затем мазок помещают на подогретую до 55°C пластину и оставляют на ней несколько минут. После этого опять определяют подвижность сперматозоидов. Все клетки погибнут и не проявят подвижность.

Изучение действия растворов (сред) с различным осмотическим давлением. По осмотическому давлению растворы могут быть равные осмотическому давлению сперме (изотонические), с более высоким (гипертонические) или низким (гипотонические) давлением.

Если поместить сперматозоиды в *гипотонический* раствор или дистиллированную воду, то они быстро погибнут вследствие повышения внутреннего давления. Под влиянием гипотонического раствора хвостики сперматозоидов набухают и закручиваются. В *гипертоническом* растворе сперматозоиды погибают от обезвоживания. Они сморщиваются, а хвостики их приобретают зигзаговидную форму. Особенно губительно для сперматозоидов быстрое изменение осмотического давления. В *изотоническом* растворе (физиологический раствор, среда Дюльбекко и др.) сперматозоиды будут проявлять высокую подвижность в течение достаточно продолжительного периода времени.

Для изучения действия на сперматозоиды растворов с различной концентрацией солей из полученной спермы (или оттаянной) готовят три мазка. Для этого на подогретое предметное стекло наносят дозатором пипеточным или глазной пипеткой три капельки спермы и рядом с каждой из них капельку одного из трех растворов натрия хлорида: изотонического, 0,5%-ного и 3%-ного. Каждую пару капелек (сперму и раствор) осторожно накрывают покровным стеклом так, чтобы они соединились под покровным стеклом, но граница между ними четко просматривалась. Все три мазка исследуют под микроскопом и наблюдают за состоянием сперматозоидов на границе раствора и спермы, а также в растворе и в сперме.

Изучение действия рН среды. Если сперму быка или барана хранить при комнатной температуре, то в результате гликолиза накапливается молочная кислота, буферные свойства спермы ослабевают, а затем показатель рН начинает снижаться. Подвижность сперматозоидов замедляется, а затем приостанавливается полностью вследствие наступления состояния анабиоза. Тормозится подвижность сперматозоидов и в гипертонических солевых растворах. При повышении рН и температуры среды, или при добавлении воды в гипертонический раствор сперматозоиды восстанавливают свою подвижность.

Для перевода клеток в активное состояние температура должна быть тем выше, чем ниже рН. Так, в слабощелочной среде (рН 7,6) сперматозоиды двигаются при температуре 15–20°C, а при рН 6,0 движение их проявляется только при 35–40°C. При рН 4,5 одного повышения температуры уже недостаточно, чтобы вывести сперматозоидов из анабиоза, требуется одновременное повышение температуры и подщелачивание среды. Длительное воздействие на сперматозоиды среды с более низким значением рН приводит к их гибели. Слабые органические кислоты проявляют губительное действие и при рН выше 5,0. Так, при температуре 4°C молочная кислота может необратимо иммобилизовать сперматозоидов уже при рН 6,0.

Сразу же после получения из неразбавленной спермы готовят несколько мазков. На одном предметном стекле помещают две капельки спермы. Рядом с одной капелькой помещают капельку 1%-ного раствора молочной кислоты и обе капельки накрывают покровным стеклышком. На другую капельку спермы наносят такую же капельку кислоты и обе капли смешивают стеклянной палочкой. При помощи универсального индикато-

ра определяют pH смеси: оранжевая или желто-оранжевая окраска капли свидетельствует о том, что pH ниже 6,0. После этого просматривают под микроскопом мазок на границе раствора кислоты и спермы и наблюдают за гибелью сперматозоидов после попадания их в раствор кислоты.

На другое предметное стекло также наносят две капли спермы. Рядом с одной помещают капельку подкисленного физиологического раствора (к 10 мл 1%-ного раствора натрия хлорида приливают 2 мл 1%-ного раствора молочной кислоты) и обе капли накрывают покровным стеклом. На другую капельку спермы наносят каплю подкисленного физиологического раствора и обе капельки смешивают. При помощи индикатора определяют pH смеси – показатель pH около 6,0. Мазок исследуют под микроскопом сначала при температуре 20–25°C, а затем – на обогревательном столике при 38°C. При комнатной температуре сперматозоиды будут неподвижны, но после подогревания некоторые из них могут возобновлять движения.

На третье предметное стекло также наносят две капли спермы. Рядом с ними помещают по капельке подкисленного физиологического раствора и по 1–2 капельки натрия цитрата. Первые три (четыре) капельки смешивают, накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом, а другие три (четыре) капельки после смешивания используют для определения pH смеси. После добавления натрия цитрата pH смеси приобретает щелочную реакцию (желто-зеленая или зеленая окраска). Подвижность сперматозоидов в такой смеси может быть достаточно активной.

Изучение действия антисептических растворов. Пункты (лаборатории) по искусственному осеменению нередко расположены вблизи ветеринарных аптек, где могут храниться различные дезинфицирующие вещества. На сперматозоиды они действуют губительно. Это относится и к моющим средствам: даже следы мыла на руках или на посуде проявляют на половые клетки губительное действие.

В процессе занятия целесообразно изучить действие на сперматозоидов ряда дезинфицирующих средств. Из неразбавленной или разбавленной спермы готовят несколько мазков. На одно предметное стекло наносят 2–3 капельки спермы. Рядом с каждой капелькой ее помещают по одной капельке какого-либо раствора: марганцовокислого калия 1:2000, лизола 1%-ного, спирта 70%-ного, йода 5%-ного, мыльной воды (и т.д.) и каждую пару капелек накрывают покровным стеклышком. Все три мазка исследуют под микроскопом и наблюдают за состоянием сперматозоидов на границе раствора и спермы, а также в растворе и в сперме.

Контрольные вопросы

1. В какие сроки должна быть проведена оценка полученной спермы? При какой температуре хранят ее до разбавления?
2. От чего зависят внешние свойства спермы – цвет и консистенция? Каковы характерные цвет и консистенция спермы хорошего качества у различных производителей животных и птиц?

3. Чем может быть загрязнена сперма? Что делают со спермой, загрязненной или с измененными цветом, консистенцией?
4. Можно ли ограничиться оценкой внешних свойств спермы?
5. Как влияет понижение температуры на подвижность сперматозоидов в свежеполученной сперме? При какой температуре следует определять их подвижность?
6. Влияют ли толщина мазка и процент подвижных сперматозоидов на результаты оценки спермы при микроскопическом исследовании? Как оценивают подвижность сперматозоидов в различных странах?
7. С какой целью определяют концентрацию сперматозоидов в сперме?
8. Какой метод наиболее часто используется для определения концентрации сперматозоидов? Какие факторы влияют на этот показатель?
9. Какие наиболее типичные отклонения встречаются в морфологии сперматозоидов? Как их классифицируют?
10. Какие факторы могут вызвать появление в сперме повышенного числа ненормальных сперматозоидов?
11. Какие аномалии сперматозоидов обусловлены генетически и какие связаны с факторами внешней среды? Какие аномалии наиболее сильно влияют на плодовитость производителя?
12. Какие тесты можно использовать для оценки интенсивности метаболических процессов в сперме? Их сущность.
13. Существует ли корреляционная связь между концентрацией сперматозоидов в сперме и индексом фруктолиза, величиной pH, скоростью обесцвечивания метиленовой сини?
14. Как изменяется pH свежеполученной спермы при хранении при комнатной температуре?
15. Каковы стандартные показатели качества спермы быков, баранов, хряков, жеребцов, кроликов и индюков?
16. Какие показатели качества спермы подвержены наибольшим изменениям?
17. Возможно ли улучшение качества спермы после ее получения?
18. Какие методы оценки качества спермы позволяют наиболее объективно и точно прогнозировать ее оплодотворяющую способность?
19. Результаты какой оценки спермы: до замораживания (охлаждения) или после оттаивания более важны при искусственном осеменении?
20. Как определить состояние акросом у подвижных сперматозоидов? Сохраняют ли сперматозоиды способность к оплодотворению при повреждении акросомы?
21. Какие факторы влияют на результаты оценки качества спермы?
22. Почему необходимо постоянно регистрировать показатели качества эякулятов у одного и того же производителя?
23. Какие автоматизированные системы оценки качества спермы используются в крупных организациях по искусственному осеменению?
24. Какие модули оценки качества спермы включает система *Andro-Vision*?

6. РАЗБАВЛЕНИЕ СПЕРМЫ

Цель занятий: приобретение студентами навыков приготовления синтетических сред и разбавления спермы производителей сельскохозяйственных животных с учетом условий и срока хранения.

Объекты исследования, материалы и оборудование. Самцы животных, животные-манекены или чучела (для быка и хряка). Сперма свежеполученная и разбавленная; инструменты, оборудование и материалы для получения спермы. Термостат, холодильник, водяная баня, магнитная мешалка, биологический термостат; спектрофотометр (электрический фотокolorиметр), микроскопы МБР (МБИ-1, МБИ-3, МБИ-4 или БИОЛАМ) с осветителями, микроскоп МБИ-11 или БИОЛАМ-М с телевизионной камерой; обогревательные столики, предметные и покровные стекла. Посуда – колбы, мерные цилиндры и мензурки, смесители для спермы; градуированные пипетки, стеклянные палочки. Фильтры бумажные и марлевые, спиртовые тампоны. Компоненты сред: вода дистиллированная; куриные яйца и глицерин; глюкоза, лактоза, фруктоза, раффиноза, сахароза или вещества не электролиты; натрия цитрат, KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, натрия хлорид, натрия гидрокарбонат, калия хлорид, аммония сульфат, магния сульфат, хелатон-3, капроновая кислота, токоферол (25–30%-ный масляный раствор), ди-трет-бутил-крезол (ДТБК), декстрин, гуммиарабик, трис-буфер, лимонная кислота, ксилит и др. Антибиотические вещества фертилизил К и фертилизил С, полиген и др.

Методические указания. Занятия проводятся в клинике и лаборатории кафедры (учебном пункте). Сначала студентам необходимо четко уяснить цель и значение разбавления спермы, затем познакомиться с составом наиболее распространенных синтетических сред для разбавления спермы производителей и правилами их приготовления. Особое внимание следует обратить на требования к компонентам сред, сроки хранения сред после приготовления, условия разбавления (температура и др.), степень разбавления спермы с учетом количества подвижных сперматозоидов в одной дозе для осеменения.

При использовании готовых коммерческих сред и компьютерной системы оценки (программа SpermVision, AndroVision) и разбавления спермы студенты должны познакомиться с последовательностью и сущностью отдельных технологических операций.

После этого студенты должны самостоятельно приготовить одну из синтетических сред. После приготовления среды (возможно одновременно с приготовлением ее) можно приступить к получению спермы от производителя. Полученную сперму оценивают и затем разбавляют. Перед разбавлением обязательно необходимо проверить качество приготовленной среды. Разбавленную сперму оставляют для изучения выживаемости сперматозоидов.

6.1. Значение разбавления спермы. Состав разбавителей

Значение разбавления спермы. Разбавление спермы позволяет увеличить объем эякулята и осеменить больше самок, а также сохранить жизнеспособность и оплодотворяющую способность сперматозоидов вне организма на протяжении срока хранения. После разбавления одного эякулята быка (при минимальном объеме дозы спермы 0,2 мл) можно осеменить до 500 коров и телок, барана (по 0,05–0,1 мл) – 20–30 овцематок, хряка (80–100 мл на животное) – 8–12 свиноматок и жеребца (по 20–25 мл) – до 10–15 кобыл. Разбавленную сперму в зависимости от типа синтетической среды и метода хранения можно выдерживать в течение нескольких дней и даже многих лет.

Требования к средам для разбавления спермы. Для разбавления используют специальные среды, биологические и синтетические. Они должны отвечать следующим требованиям:

- поддерживать оптимальное равновесие минеральных веществ, необходимых для жизнедеятельности сперматозоидов, и иметь осмотическое давление, равное (изотоническое) крови самца;
- предохранять сперматозоиды от температурного шока и предотвращать или ослаблять губительное влияние на них процессов, происходящих в замораживаемой или оттаиваемой сперме;
- способствовать сохранению генетического материала, плазматической мембраны и акросомы, препятствовать агглютинации сперматозоидов;
- снижать активность метаболических процессов в сперматозоидах при хранении при относительно высоких температурах (4–17°C);
- защищать сперматозоиды от токсических продуктов, образующихся в процессе метаболизма;
- предупреждать развитие микроорганизмов, которые губительно действуют на сперматозоиды и половой тракт самок.

Вещества, используемые для приготовления сред. Для приготовления сред применяют компоненты (реактивы) в заводской упаковке: в стеклянных банках с притертыми пробками (или с корковыми пробками, залитыми сверху парафином), а также в запаянных полиэтиленовых мешочках. На упаковке должна быть этикетка с обозначением названия препарата и его химической формулы и предприятия, выпустившего реактив, степени чистоты реактива (ЧДА – чистый для анализа, ХЧ – химический чистый) и номера контрольного анализа. Хранят реактивы в шкафах в сухом теплом помещении.

В состав сред включают следующие группы веществ.

Углеводы: Д-глюкоза, лактоза, фруктоза, раффиноза, сахароза или вещества не электролиты (глицин).

Минеральные вещества: натрия цитрат, трех замещенный, пяти- или двухводный; калия фосфат, однозамещенный; натрия бикарбонат; магний

серноокислый; натрия хлорид; калия хлорид; аммоний серноокислый; лимонная кислота; трилон Б (хелатон); трис-буфер и др.

Желток куриных яиц. *Глицерин*.

Сульфаниламиды и антибиотики.

Ферменты, аминокислоты, загустители или другие вещества (молоко).

Вода дистиллированная (би-дистиллированная) является растворителем всех веществ.

Глюкоза (виноградный сахар, $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$). Белый гигроскопичный порошок сладкого вкуса.

Фруктоза (гексоза, $C_6H_{12}O_6$). Белый порошок сладкого вкуса.

Сахароза (тростниковый сахар, $C_{12}H_{22}O_{11}$). Представляет собой белые кристаллы, сладкие на вкус.

Лактоза (молочный сахар – $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$). Белые кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, со слабым сладким вкусом, растворимы в воде. Хранят в бытовом холодильнике при температуре $5^{\circ}C$.

Глицин (аминоуксусная кислота, NH_2CH_2COOH). Белый мелкокристаллический порошок слабого специфического запаха и сладковатого вкуса.

Введение в среды сахаров или глицина (гликокола) понижает их электропроводность и защищает сперматозоиды от агглютинации (склеивания их головками или всем телом в результате потери отрицательного электрического заряда). Сахара (глюкоза, фруктоза) могут быть использованы сперматозоидами для метаболических процессов.

Благоприятное действие сахаров на сперматозоиды связано не только с участием их в метаболических процессах. Сахара являются источником редуцирующих веществ. Воспринимая кислород и окисляясь, они могут служить антиоксидантами и предохранять антагглютинин и ферменты, содержащие сульфгидрильную группу, от окисления. Сахара увеличивают вязкость среды и препятствуют развитию гнилостных микроорганизмов. Кроме того, они способны задерживать воду или заменять ее в структурах, чувствительных к дегидратации.

Натрия цитрат ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 5H_2O$ – трехзамещенный, пятиводный). Белые прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок слабощелочного, солоноватого вкуса. Обладает хелатными свойствами (активно связывает ионы кальция и тяжелых металлов и уменьшает содержание их в среде) и понижает набухание и проницаемость мембраны сперматозоидов, предохраняя их от потери электрического заряда и агглютинации; рассеивает жировые шарики в желтке так, что при оценке разбавленной спермы под микроскопом можно наблюдать за отдельными сперматозоидами; вместе с другими компонентами создает необходимое осмотическое давление и pH среды.

Натрия цитрат ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ – трехзамещенный двухводный), идентичен $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 5H_2O$.

Калия фосфат (однозамещенный – KH_2PO_4). Большие прозрачные кристаллы или кристаллический порошок, слабокислый на вкус.

Натрия фосфат ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – двузамещенный двенадцативодный). Белые крупные кристаллы.

Натрия гидрокарбонат (NaHCO_3). Белый порошок, щелочной на вкус.

Магния сульфат ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Бесцветные кристаллы.

Аммония сульфат $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$. Бесцветный кристаллический порошок, возможен легкий желтоватый оттенок.

Трилон Б (хелатон-3, динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_2\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Белые кристаллы; сберегают в темном месте.

Все эти соли подобно натрий цитрату связывают ионы кальция и оказывают благоприятное действие на состояние и целостность мембран сперматозоидов, создают необходимое осмотическое давление и pH среды.

Кислота лимонная ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Белый кристаллический порошок, хорошо растворим в воде.

Натрия хлорид (NaCl). Мелкокристаллический порошок или таблетки массой 0,9 г.

Калия хлорид (KCl). Белый мелкокристаллический порошок.

Трис-буфер (2-амино-2-гидроксиметил-1,3-пропандиол). Мелкокристаллический белый порошок. Устойчиво удерживает первоначальную величину pH среды, обладает осмотическим действием, хорошо проникает через клеточную мембрану. Он способен соединяться с H^+ и CO_2 и устранять явления дыхательного ацидоза клеток и может заменить в средах глюкозу и натрия цитрат.

Желток куриных свежих (1–2 дня!) яиц. Содержит: глюкозу, которая используется сперматозоидами раньше, чем фруктоза плазмы спермы, различные протеиды, водорастворимые и жирорастворимые витамины, каротин, холестерин и другие вещества, стимулирующие активность дегидрогеназ сперматозоидов. Лецитин желтка защищает сперматозоиды от температурного шока, а ряд других веществ и соединений могут служить в качестве окислительных субстратов, предохраняющих сульфгидрильные группы ферментов и антагглютинин от разрушения. Желток имеет слабокислую реакцию (pH 6,0–6,3). Обычно она нейтрализуется введением в среду лимоннокислого натрия. В среды для спермы быка и барана желтка включают 12,5–20,0%. Оптимальным количеством для спермы хряка и кролика является 3–5%, а для жеребца – менее 1% желтка.

Глицерин ($\text{CH}_2\text{OH} \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}_2\text{OH}$). Простейший трехатомный спирт; представляет собой густую, прозрачную, бесцветную, гигроскопичную жидкость. Легко смешивается с водой или этиловым спиртом в любых пропорциях. При охлаждении до -196°C затвердевает без образования кристаллов льда. Таким же свойством обладают и растворы с концентрацией его 70% или более. Точка замерзания растворов даже с небольшим содержанием глицерина понижается, а объем их уменьшается. Введенный в среды для замораживания спермы глицерин уменьшает опасность образования кристаллов льда и механического повреждения ими сперматозоидов,

способствует снижению давления на клетки и препятствует сильному повышению концентрации растворенных веществ при образовании кристаллов льда из воды. Глицерин используется сперматозоидами путем окисления для образования энергии, а в аэробных условиях восполняет содержание фруктозы. Вносится он в количестве от 3 до 10 мл на 100 мл среды.

Антибиотические вещества – пенициллин, стрептомицин, неомицин, гентамицин, тилозин, линкомицин, спектиномицин, стрептоцид белый растворимый или комплексные препараты (полиген, комбиспермосан ЛАП, фертилифил К, фертилифил С и др.).

Для разбавителей спермы быков наиболее подходящим является препарат «Фертилифил К». Это сложный порошок белого цвета, расфасованный в стеклянные флаконы вместимостью 10 см³ по 4 дозы (1,5 г), предназначен для повышения оплодотворяемости низко плодовитых коров и в качестве санирующего средства в разбавители для спермы быков. В одной дозе содержится мг: линкомицина гидрохлорида моногидрата 75, спектиномицина сульфата тетрагидрата 150 мг, тилозина тартрата 25 и гентамицина сульфата 125. В разбавитель препарат вносится в количестве 4 дозы на 1 л после растворения всех других компонентов.

Для разбавителей спермы хряков рекомендуется фертилифил С. Препарат, сложный порошок, содержащий в одной дозе бензилпенициллина 300 тыс. ЕД, линкомицина гидрохлорида 210 мг, спектиномицина сульфата 265 тыс. МЕ, гентамицина сульфата 210 тыс. МЕ, стрептомицина сульфата 225 тыс. МЕ и неомицина сульфата 140 тыс. МЕ. Вводится из расчета одна доза на 1 л разбавителя. Кроме того, этот препарат может быть использован для повышения оплодотворяемости повторивших охоту свиноматок и для предупреждения или устранения воспалительного процесса в матке после опороса.

Все антибиотики должны быть проверены на безвредность для сперматозоидов.

При хранении спермы возможно развитие в ней микроорганизмов. Попадают они в момент получения или обработки спермы. Размножаясь, микроорганизмы выделяют в среду продукты обмена, которые отрицательно сказываются на выживаемости сперматозоидов. При осеменении внесенные со спермой в половые пути самки микроорганизмы могут препятствовать оплодотворению или развитию беременности. Особенно большую опасность представляет загрязнение спермы возбудителями специфических половых инфекций. Для предупреждения размножения микроорганизмов в сперме и инфицирования спермы вносят антибиотические вещества.

Среды готовят на *дистиллированной (желательно дважды дистиллированной)* воде. Проводить дистилляцию необходимо в цельностеклянном дистилляционном аппарате, чтобы вода не соприкасалась металлическими деталями. Хранят в закрытых стеклянных сосудах.

6.2. Среда для разбавления спермы быка

Сперму быка хранят при температуре -196°C (в жидком азоте), иногда при $2-5^{\circ}\text{C}$ и при комнатных температурах. Разбавляют сперму средами, состав которых зависит от технологии расфасовки и хранения. Многие среды запатентованы.

В племпредприятиях Беларуси при замораживании спермы (в соломинах) разбавление проводят ЛЖГ (*лактозо-желточно-глицериновой*) средой или ЛЖЦГ (*лактозо-желточно-цитратно-глицериновой*). В ее составе:

Вода дистиллированная	100 мл	100 мл
Лактоза	11,5 г	10,5 г
Натрия цитрат	—	0,2 г
Желток куриных яиц	20 мл	20 мл
Глицерин	5 мл	5 мл
Полиген	50 тыс. ед.	50 тыс. ед.

Многие организации по искусственному осеменению используют двухфракционные среды и сперму разбавляют дважды. Не содержащая глицерина *фракция А* используется для начального разбавления и охлаждения спермы, вторая *фракция Б* с удвоенным содержанием глицерина добавляется после того, как сперма охлаждена до $+5^{\circ}\text{C}$. Введение второй фракции после охлаждения уже разбавленной спермы предотвращает возможные повреждения сперматозоидов и обеспечивает проявление действия антибиотиков. Наиболее простая среда – *желточно-цитратно-глицериновая (ЖЦГ)*, состоящая из двух фракций:

Ф р а к ц и я А

Цитратный буфер 2,9%-ный	400 мл
Желток свежих (1–2 дня) куриных яиц.....	100 мл

Ф р а к ц и я Б

Цитратный буфер	330 мл
Желток.....	100 мл
Глицерин	70 мл

Финальное соотношение фракции А + сперма и фракции В – 1:1. При таком соотношении содержание компонентов (в %) в смеси: *буфер цитратный* – 73, *желток* – 20 и *глицерин* – 7. В эту среду (в одну или обе фракции) можно включать фруктозу или глюкозу; конечная концентрация в среде – от 1 до 1,25%. ЖЦГ среда должна иметь рН 6,8–6,9 и осмотическое давление 285–300 миллиосмомолей.

Медведев Г. Ф. и Гуминская Е. Ю. (2005) предложили модифицированную *цитратно-лактоза-желточно-глицериновую среду (ЦЛЖГ)*. В состав этой среды входят: натрия цитрат 3-замещенный 2-водный ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), лактоза (химически чистая $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$), желток куриных яиц (1–2 дня) и глицерин.

Фракция А Цитрат-
ный буфер с концентрацией 2,9% – 100 мл Лакто-
за – 3,58 г
Желток куриных яиц – 25 мл
Смесь антибактериальных веществ – 2 мл

Фракция Б
Цитратный буфер с концентрацией 2,9% – 82,5 мл
Лактоза – 3,58 г
Желток куриных яиц – 25 мл
Глицерин – 17,5 мл.

В двух мл стерильного водного раствора антибактериальных веществ должно содержаться 10 мг тилозина тартрата, 50 мг гентамицина, 30 мг линкомицина и 60 мг спектиномицина. Осмотическое давление среды – 335–380 миллиосмолей, рН 6,9–7,0. При приготовлении 0,25 л, 0,5 л или 1 л разбавителя вносится соответственно одна, две или четыре дозы Фертифила К вместо указанных по отдельности антибиотиков.

В предыдущие годы широко использовалась *молочная среда*. Так, в США в 1992 г. 1/4 часть всей спермы была разбавлена молочной средой. Единственный серьезный недостаток этой среды – это наличие оптически различных жировых шариков, которые затрудняют оценку подвижности сперматозоидов.

Готовят две фракции среды.

Фракция А

Прогретое молоко.....500 мл

Фракция Б

Прогретое молоко..... 430 мл

Глицерина 70 мл

Молочная среда должна иметь рН 6,5–6,6 и осмотическое давление 260–290 миллиосмомолей.

Для замораживания спермы MINITUBE выпускает готовый буфер Steridyl[®], содержащий стерилизованный яичный желток. В буфер необходимо добавить только воду. Предлагается несколько вариантов. 1. Объем концентрата 500 мл с антибиотиками для 1250 мл разбавителя. 2. Для одно- и двухэтапного разбавления – Steridyl[®] CSS. При одноэтапном разбавлении концентрат 500 мл доводится до объема 1000 мл. При двухэтапном: фракция 1 – 500 мл и фракция 2 – 500 мл для разбавителя общим объемом 1000 мл.

Надежными являются также среды с антибиотиками (Triladyl[®]) или без антибиотиков (Triladyl[®] CSS), и концентраты для разбавителей (Biladyl[®]) для одномоментного и двухмоментного разбавления.

Для замороженной и жидкой спермы предлагается разбавитель, не содержащий яичного желтка AndroMed[®], концентрат 200 мл с антибиотиками для разбавителя общим объемом 1000 мл. Второй вариант – AndroMed[®] CSS 200 мл для одноэтапного разбавления, общий объем разбавителя – 1000 мл.

Сперму быка можно хранить при температуре от 2 до 5 °С в течение 72 ч, разбавив простой по составу *глюкозо-цитрато-желточной средой*.

Вода дистиллированная.....	100 мл
Глюкоза	3 г
Натрий лимоннокислый	1,4 г
Желток куриных яиц.....	20 мл
Фертилифил К	0,375 мг.

В США для хранения спермы при температуре 2–5°С широко использовалась *желточно-фосфатная среда*: фосфатный буфер и желток куриных яиц в соотношении 1:1. Фосфатный буфер (pH 6,7–6,8) содержит в 100 мл дистиллированной воды 0,2 г KH_2PO_4 и 2,0 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Смесь подогревается в кипящей водяной бане до растворения солей. Хранится при температуре 15°С. Перед использованием добавляется необходимое количество желтка.

Рекомендуется и другая среда – *Cornell University Extender*: буфер – 80% (объема), желток – 20% (объема). В одном литре среды:

Натрия лимоннокислого ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	14,5 г
Натрия бикарбоната	2,1 г
Калия хлорида	0,4 г
Глюкозы	3,0 г
Глицина	9,4 г
Лимонной кислоты.....	0,9 г
Сульфаниламида (стрептоцида)	3,0 г

Дополнительно к сульфаниламиду в эту среду добавляются пенициллин и стрептомицин.

В Новой Зеландии практикуется хранение спермы в течение трех дней при комнатных температурах (18–24°С). Осеменение скота сезонное – с середины сентября до декабря. Осеменяют ежегодно до 1,8 млн животных. В 1991 г. спермой быка голштинской породы Crocketts Trevor было проведено в течение трех месяцев 380000 осеменений.

Для разбавления спермы используют *желточно-цитратную среду*, в основу которой положен цитратный буфер. Среду насыщают азотом и добавляют капроновую кислоту.

Натрия лимоннокислого ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	14,5 г
Глюкозы	0,3%
Глицина	1,0%
Глицерина	1,25%

Капроновой кислоты..... 0,03125%
 Сульфацида 0,01%
 Воды дважды дистиллированной до 100 мл

Желток, пенициллин и стрептомицин добавляют в среду перед использованием. Содержание желтка после разбавления – 5%. Сперма разбавляется нередко из расчета 2 млн сперматозоидов в дозе (0,5 мл), но чаще ее расфасовывают в соломины объемом 0,25 мл. Добавление каталазы 20 мкг на 1 мл среды повышает оплодотворяемость на 1–2%. Каталаза разрушает образующуюся в процессе метаболизма сперматозоидов перекись водорода.

MINITUBE рекомендует для хранения жидкой спермы жвачных животных разбавитель *Bovidyl*, расфасованный по 270 мл с антибиотиками. Перед употреблением необходимо добавление 30 мл желтка.

6.3. Среда для разбавления спермы барана и козла

Для хранения спермы при температуре +2...+4°C в течение одного–двух дней применяют *глюкозо-цитрато-желточную* среду в составе:

Вода дистиллированная – 100 мл
 Глюкоза – 0,8 г
 Натрий лимоннокислый – 2,8 г
 Желток куриных яиц – 20 мл
 Спермосан-3 – 50–75 тыс. ед.

В США для разбавления спермы используют желточно-цитратный или желточно-фосфатный буфер. *Цитратный буфер* готовят из расчета 36 г трехзамещенного пятиводного ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) или 30 г двухводного ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) цитрата натрия в 1 л дистиллированной (ультрачистой) воды. *Фосфатный буфер* готовят растворением 2 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ и 0,2 г KH_2PO_4 в 100 мл дистиллированной (ультрачистой) воды. Раствор стерилизуют и добавляют к нему 20% (к объему) желтка свежего куриного яйца (в момент разбавления спермы).

Замораживание спермы барана практикуется реже, чем спермы быка. Это связано с недостаточно стабильными результатами осеменения маток замороженной спермой, а также с особенностями организации искусственного осеменения в овцеводстве и сроков его проведения. Для разбавления и замораживания рекомендуется ряд синтетических сред.

Состав лактозо-желточной (ЛЖ) среды

Вода дистиллированная..... 100 мл
 Лактоза 12 г
 Желток..... 20 мл

Состав ЛЖГТЦГ-среды

Лактоза	14,5 г
Гуммиарабик.....	6,0 г
Желток.....	20 мл
Глицерин	17,0 мл
Трис-(оксиметил)-аминометан	0,6 г
Лимонная кислота	0,27 г
Спермосан-З.....	25 тыс. ед.
Вода дистиллированная.....	100 мл

Состав среды ВИКА

Сахароза	9,84 г
Натрий-кальциевая соль ЭДТА	0,84 г
Желток.....	10 мл
Глицерин	5,0 мл
Токоферол (25-30%-ный масляный раствор)	2,0 мл или
Ди-трет-бутил-крезол (ДТБК).....	0,05 г
Спермосан-З.....	25 тыс. ед.
Вода дистиллированная.....	до 100 мл

Состав ГЖУК-трис-буферной среды

Лактоза	8,4 г
Ксилит	0,26 г
Хелатон-З	0,135 г
Желток.....	20 мл
Глицерин	6,0 мл
Трис-(оксиметил)-аминометан	0,105 г
Декстрин.....	5 г
Спермосан-З или ППК.....	25 тыс. ед.
Вода дистиллированная.....	100 мл

6.4. Среды для разбавления спермы хряка

Хранят сперму хряка при температуре +17...+18°C в течение 3–10 суток (максимально – до 14 суток). Для этого используют среды для краткосрочного, среднесрочного и долгосрочного хранения (табл. 6.1).

Таблица 6.1 – Среда для разбавления и хранения спермы хряка в течение 3–14 дней

Класс разбавителя	Название разбавителя	Срок хранения, дней
Краткосрочный	Beltsville Thawing Solution, BTS	3
	Guelph (= Киев)	3
	V.S.P.	3
	Модифицированный BTS	3
Среднесрочный	Модифицированный Киев (ГХЦ) / SpermAid	3 – 5
	Modena	3 – 5
	VITAL [®]	4 – 5
	Merck III TM / Киев/EDTA	4 – 6
	Androhep [®] Plus	
	M III	4
Долгосрочный	Модифицированный Modena	5 – 7
	MR-A	6 – 7
	Androhep [®]	6 – 7
	Androstar [®] PREMIUM	6
	Androhep [®] Plus	7
	Androstar [®] Plus	7
	ACROMAX	7 – 8
Сверхсрочный	Zorlesko	12
	Mulberry III	7 – 14

В свиноводческих комплексах Республики Беларусь нередко используются два разбавителя для краткосрочного хранения (до 3-х суток) ГХЦС и ГХЦ (Киев).

Состав разбавителей ГХЦС и ГХЦ (Киев)

Вода дистиллированная.....	1000 мл	100 мл
Глюкоза.	40 г	60 г
Хелатон.....	2,6 г	3,7 г
Натрий лимоннокислый	3,8 г	3,56 г
Сульфат аммония.	1,8 г	—
Натрий двууглекислый	0,5 г	1,2 г

В качестве санирующего средства для разбавителей спермы хряка может быть использован сульфат гентамицина из расчета 0,25 г на 1 л разбавителя или комплексный антибиотический препарат – Фертилифил С. Действующими веществами препарата являются (мг на 1 г препарата): линкомицина гидрохлорида моногидрат 120, спектомицина сульфата тетрагидрат 240, гентамицина сульфат 200, неомицина сульфат 130, стрептомицина сульфат 180 и бензилпенициллин (натриевая или калиевая соль) 130.

Таблица 6.2 – Состав разбавителей для спермы хряка

Компоненты	Guelph, г/л	BTS, г/л	Zorpva, г/л	Zorlesco	Androhep
Глюкоза	60,0	37,0	11,50	11,5	26,0
Натрий лимоннокислый трех-замещенный	3,70	6,0	11,65	11,7	8,0
Трилон Б (EDTA)	3,70	1,25	2,35	2,3	2,4
Натрий гидрокарбонат	1,20	1,25	1,75	1,25	1,2
Поливиниловый спирт (тип II)	—		1,00		
Трис-буфер	—		5,50	5,50	
Лимонная кислота	—		4,10	4,10	
Цистеин	—		0,07	0,1	
Пенициллин, тыс. ЕД	500		600		
Стрептомицин	0,5		1,0		
Буфер HEPES					9,0
Сывороточный альбумин bovine					2,5

После получения сперму выдерживают в течение 20–30 мин. при комнатной температуре и разбавляют в 2–10 раз; концентрация сперматозоидов в неразбавленной сперме – не менее 100 млн в мл, подвижность – не ниже 7 баллов. После разбавления в 1 мл спермы должно содержаться около 50 млн. сперматозоидов, а в дозе для осеменения (80-100 мл) – не менее 3 млрд клеток.

6.5. Среда для разбавления спермы жеребца

Для разбавления и хранения спермы жеребца при температуре +2...+4°C в течение 48 ч применяется *лактозо-хелато-цитратно-желточная среда (ЛХЦЖ)*.

Вода дистиллированная.....100 мл
 Лактоза 11,0 г
 Натрий двууглекислый..... 8,0 г
 Натрий лимоннокислый 89,0 мг
 Хелатон.....100 мг
 Желток куриных яиц.....1,6 мл
 Спермосан-3.....24–30 тыс. ед.

Эта же среда, но с добавлением 3,5 мл глицерина применяется для разбавления и замораживания спермы.

6.6. Приготовление сред и технологии разбавления спермы

Приготовление сред. Среды готовят в день разбавления спермы. Работу по разбавлению спермы проводят в стерильной камере или в специально оборудованной лаборатории, облученной бактерицидными лампами. Температуру (18–20°C) в лаборатории поддерживают бытовыми кондиционерами.

Среды для краткосрочного хранения спермы быка и барана (ГЦЖ) готовят следующим образом. В химическую колбу наливают дистиллированную (бидистиллированную) воду, закрывают колпачком из пергаментной бумаги и стерилизуют кипячением в течение 5–7 мин.; затем охлаждают до 35°C.

На точных весах отвешивают глюкозу и натрия цитрат и высыпают их в другую стерильную колбу. Стерильной мензуркой или цилиндром отмеривают нужное количество прокипяченной воды, переливают ее в колбу с реактивами и размешивают до полного их растворения. Раствор фильтруют через бумажный фильтр и стерилизуют в водяной бане 5–10 мин. Охлаждают до 35°C и добавляют антибиотическое средство и желток.

Свежие (1–2 дня) куриные яйца моют теплой водой с детергентом, затем промывают теплой и дистиллированной водой, обеззараживают 70%-ным этиловым спиртом и высушивают. Стерильным скальпелем яйцо раскалывают пополам и, оставляя желток в одной половинке скорлупы, сливают в чашку белок; при этом следят, чтобы оболочка желтка не была повреждена острым краем скорлупы. Осторожно наклоняя скорлупу, перемещают желток на стерильную фильтровальную бумагу. Для освобождения желтка от оставшейся части белка край бумаги приподнимают, поворачивают в разные стороны и скатывают медленно желток к другому ее краю. Поддерживая желток на несколько сжатой бумаге, стерильным пинцетом или скальпелем разрушают его оболочку и выливают в подготовленную мензурку (цилиндр). Один желток имеет объем 10–20 мл. Приготовленная среда должна быть использована в течение 3–4 ч. В это время ее можно хранить при температуре 32–35°C в термостате или водяной бане.

Среда ЛХЦЖ для разбавления спермы жеребца. Отвешивают согласно рецепту лактозу и хелатон и высыпают в стерильную колбу. В эту колбу добавляют 0,2 мл 4,2-ного стерильного раствора натрия гидрокарбоната и 0,25 мл 35,7%-ного стерильного раствора натрия цитрата (из расчета на каждые 100 мл среды) и приливают необходимое количество прокипяченной охлажденной дистиллированной воды. Содержимое растворяют, фильтруют через стерильный бумажный фильтр и добавляют желток.

Среду ГХЦС для разбавления спермы хряка в форме сухих заготовок, выпускаемых лабораториями научно-исследовательских институтов, готовят согласно наставлению по применению «Глюкозо-хелато-цитратно-сульфатно-бикарбонатной смеси в порошке».

Среда ГХЦ для разбавления спермы хряка также выпускается в форме сухих заготовок, или же ее готовят в лаборатории пункта. Для этого стерильным мерным цилиндром или мензуркой отмеривают необходимый объем прокипяченной дистиллированной воды и переливают ее в химическую стерильную колбу. Сюда же вносят взвешенные на точных весах необходимые компоненты, кроме saniрующих препаратов. Приготовленную среду кипятят в водяной бане 5–10 мин., охлаждают до 40–45°C и добавляют антибиотическое средство. Колбу закрывают стерильной пергаментной бумагой и фиксируют резиновым кольцом.

При использовании ЛЖГ и ЛЖЦГ сред для спермы быка в чистую стерильную колбу наливают необходимый объем бидистиллированной (дистиллированной) воды, закрывают колпачком из пергаментной бумаги и кипятят 10–15 мин. В горячую (90–95°C) воду вносят лактозу и перемешивают до полного растворения порошка; добавляют глицерин и содержимое еще раз тщательно перемешивают, а затем охлаждают до 20–30°C.

В охлажденную среду добавляют saniрующий препарат, растворяют его, добавляют желток и натрия цитрат (в среду ЛГЦЖ, в которой лактозы 10,5 г и натрия цитрата 0,2 г). Колбу плавно покачивают до полного растворения и размешивания всех компонентов. После приготовления часть среды (20%), предназначенную для первичного разбавления спермы, помещают в термостат при $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Другую часть оставляют при комнатной температуре (18–20°C) и используют для окончательного разбавления. Приготовленная среда должна быть использована в течение 3–4 ч.

При использовании *желточно-цитрато-глицериновой* среды сначала готовят цитратный буфер. На аналитических или других точных весах отвешивают 29 г натрия цитрата ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ХЧ или ЧДА. Навеску вносят в мерную колбу вместимостью 1000 и добавляют 500–600 мл дистиллированной воды. С помощью магнитной мешалки растворяют навеску, затем добавляют воды до метки. Раствор переливают в колбу для стерилизации. Колбу закрывают пергаментной бумагой и помещают в автоклав. Выдерживают в автоклаве в течение 30 мин. при давлении 0,2 атм. Допускается стерилизация в кипящей водяной бане в течение 10 мин. Можно стерилизовать буфер и путем фильтрации его через мембранный фильтр с величиной пор 0,45 мкм в стерильную посуду. После стерилизации раствор должен иметь осмотическое давление 285–300 mOsm и pH 6,8–6,9. Хранят в течение 1–2 недель при 5°C до использования.

Для приготовления *молочной среды* используют свежее или пастеризованное, гомогенизированное цельное молоко жирностью около 3,5% (или гомогенизированные сливки + обрат из расчета получения смеси, жирностью 3,5%). Такое молоко содержит вредные для сперматозоидов энзимы, но при нагревании его в течение 10 минут при 92–95°C они разрушаются. Прогревают молоко в закрытом двойном стеклянном бойлере или в водяной бане; затем охлаждают до комнатной температуры. Переливают охлажденное молоко в стерильную колбу, оставляя пену в бойлере

или при необходимости фильтруют через стерильный фильтр. Разделяют на две фракции. При использовании гомогенизированных сливок и обраты после стерилизации и охлаждения смеси к ней приливают стерильный раствор фруктозы и дистиллированную воду, а затем разделяют на две фракции. В фракцию А молочных сред добавляют антибиотики, в фракцию Б – глицерин. Первую фракцию оставляют при температуре 32–35°C, а фракцию Б охлаждают до температуры 4°C.

При приготовлении *среды ВИКА для спермы барана* токоферол может быть заменен 0,05 г ди-трет-бутил-крезолом (ДТБК). Раствор сахарозы и натрий-кальциевую соль ЭДТА стерилизуют в водяной бане в течение 15 мин. Желток эмульгируют с токоферолом в стерильном мерном стакане в водяной бане при температуре 37°C в течение 5–7 мин., постоянно помешивая стеклянной палочкой (удобнее пользоваться магнитной мешалкой). Затем в этот стакан вносят последовательно стерильный раствор сахарозы с солью ЭДТА, спермосан-3 и глицерин. Техника приготовления ЛЖГТЦГ-среды более сложная, что обусловлено требованиями длительной стерилизации в водяной бане (30 мин. для ЛЖ-среды и 60 минут для ЛЖГТЦГ-среды) всех компонентов, кроме желтка и санирующего средства, контроля испарения воды в процессе стерилизации путем взвешивания колбы с содержимым и восполнения воды при значительных ее потерях.

Разбавление спермы быка. Технология разбавления зависит от свойств и состава среды. При использовании *однофракционных сред* признанную годной после предварительной оценки сперму быка вначале разбавляют 1:1 непосредственно в спермоприемнике; перед разбавлением температура среды и спермы должна быть одинаковой ($27 \pm 1^\circ\text{C}$). Для этого посуду со средой хранят в термостате или на подогреваемой магнитной мешалке. Через 15–20 мин. после предварительного разбавления проводят финальное разбавление при температуре 18–20°C. Разбавляют сперму так, чтобы в дозе спермы после оттаивания содержалось 10–15 млн подвижных сперматозоидов.

При разбавлении используют шприц непрерывного действия. Разбавляют сперму средой постепенно. Для этого среду приливают к предварительно разбавленной сперме небольшими порциями в полиэтиленовый спермоприемник, осторожно смешивают после добавления каждой порции среды.

При использовании градуированного смесителя разбавленную в спермоприемнике 1:1 сперму быка переливают в смеситель и небольшими порциями по стенке добавляют среду. После добавления каждой порции смеситель наклоняют так, чтобы сперма оставалась внизу его расширенной части; вращая смеситель, смешивают сперму.

Современные технологии предусматривают автоматизированное разбавление спермы с контролем температуры и выбором степени разбавления с учетом подвижности и концентрации сперматозоидов в сперме,

а также количества подвижных сперматозоидов в дозе (пайете) для осеменения (например, SmartDispenser) (рис. 6.1).



Рисунок 6.1 – Комбинированное устройство для дозировки разбавителя: блок управления SmartDispenser, весы СВ 3К0.5N, насос Ismatec ecoline, подогреваемый столик с магнитной мешалкой Heidolph MR Hei-Tec

При использовании *двухфракционных сред ЖЦГ и ЦЛЖГ* перед разбавлением спермы буфер подогревают до 32–35°C, разделяют на две фракции, добавляют в каждую из них необходимое количество желтка и глицерина (в фракцию Б). В фракцию А вносят из расчета на каждый миллилитр среды 100 мкг тилозина, 500 мкг гентамицина, 300 мкг линкомицина и 600 мкг спектиномицина, растворенных в 0,02 мл бидистиллированной стерильной воды. Весовые количества антибиотиков необходимо приводить в соответствие с их активностью, которая может различаться в зависимости от партии препарата. Все антибиотики должны быть проверены на безвредность для сперматозоидов. Гентомицин и тилозин могут сохраняться в растворе при 5°C в течение 8 дней, а в парах жидкого азота – до 6 месяцев.

Сначала из полученного и оцененного по внешним свойствам эякулята берут пробы для определения подвижности и концентрации сперматозоидов в сперме. Если эякулят пригоден для использования, то проводится санация неразбавленной спермы. В спермоприемник вносят пипеточным дозатором смесь антибиотиков. На каждый миллилитр спермы добавляют 0,02 мл раствора, в котором содержится 100 мкг тилозина, 500 мкг гентамицина и 300/600 мкг линкоспектина. После осторожного смешивания сперму выдерживают 5 мин. при температуре 30°C, затем ее оценивают по подвижности сперматозоидов.

Если используется полиген, то он вносится в необходимых количествах в обе фракции сред, а в сперму не добавляется.

После выдержки в течение 5 мин. сперму разбавляют фракцией А ЖЦГ или ЦЛЖГ-среды. Среду приливают аккуратно и медленно в спермоприемник (или по стенкам стеклянного смесителя со спермой) во избежание сильных отрицательных осмотических явлений. Эта не содержащая глицерина фракция добавляется из расчета, чтобы объем спермы и среды составил половину запланированного объема разбавленной спермы (с учетом получения в одном миллилитре 200 миллионов сперматозоидов). Температура спермы и среды – 30°C.

Предварительно разбавленная фракцией А сперма помещается в холодильник и охлаждается в течение 2 ч до 5°C. Для того чтобы охлаждение проходило равномерно, колбу с разбавленной спермой помещают в стакан с водой, температура которой 30°C. Фракцию Б среды, содержащую глицерин, также помещают в холодильник, где она охлаждается до момента использования. Эта фракция может содержать 5–10% концентрации антибиотиков, определенной для фракции А.

Через 2 ч начинается второй этап разбавления спермы. В предварительно разбавленную фракцией А сперму вносят охлажденную глицериновую фракцию Б в соотношении 1:1, т. е. к одному объему разбавленной спермы прибавляют равный объем охлажденной (до 5°C) среды. Фракцию Б вносят не сразу, а делят на три равные части и прибавляют через 10–15-минутные интервалы медленно и постепенно. Этот этап разбавления производится в холодильнике при температуре 5°C на протяжении 30–45 мин. После финального разбавления в 1 мл разбавленной спермы должно содержаться 100 млн сперматозоидов.

После завершения разбавления сперму расфасовывают в пайеты, которые размещают в планшеты. В каждой пайете должно содержаться 25 млн сперматозоидов.

Если расфасовывают сперму в гранулах (0,2 мл), тогда после финального разбавления фракцией Б в 1 мл спермы должно содержаться 125 млн сперматозоидов.

Для достижения выравнивания концентрации глицерина с наружной и внутренней сторон клеточной мембраны достаточно 4 ч (время эквilibрации). В течение этого времени окончательно разбавленную сперму выдерживают при температуре 5°C, а затем замораживают по стандартной технологии.

Сперму быка разбавляют с расчетом получения 10–15 млн сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением при подвижности не менее 40% (4 баллов). Для расчета степени разбавления используют формулу:

$$P = \frac{C \cdot A \cdot V}{0,010 \cdot 10}, \quad (6.1)$$

где P – количество разбавителя для 1 мл спермы;

C – концентрация сперматозоидов в сперме, млрд мл;

A – подвижность сперматозоидов после размораживания (4 балла);

V – объем дозы спермы, мл.

0,010 – подвижных сперматозоидов в дозе, млрд.

10 – перевод баллов (4) в количество подвижных сперматозоидов.

Разбавление спермы барана и козла. После получения сперму постепенно охлаждают до 25–30°C. В момент разбавления сперма и среда должны иметь одинаковую температуру. Разбавляют сперму в спермоприемнике. На 1 мл спермы добавляют 1–2 мл среды. Охлаждают разбавленную сперму постепенно до 2–4°C в течение 2–3 ч. Желательно флаконы со спермой поместить в химический стакан с водой температуры 25–30°C и поместить в холодильник на 2 часа.

При использовании сред для замораживания и длительного хранения после получения сперму выдерживают не более 15 мин. Средой ВИКА разбавляют в один прием в соотношении 1:2 при концентрации сперматозоидов 2,5–3,3 млрд в мл и 1:3 при концентрации их выше 3,3 млрд в мл. Среду (температуры 30°C) добавляют в сперму осторожно по стенкам спермоприемника.

При использовании ЛЖГТЦГ-среды сперму разбавляют в два приема: сначала ЛЖ-средой в соотношении 1:0,5 при температуре 28±2°C, а затем добавляют один объем ЛЖГТЦГ-среды при температуре 20±2°C.

ГЖУК- трис-буферной средой свежеполученную сперму разбавляют в один прием в соотношении 1:3 при концентрации сперматозоидов 3–4 млрд. в мл и 1:4 при концентрации их свыше 4 млрд. в мл.

Сперму козла разбавляют в 5–20 раз. Из одного эякулята можно получить до 40 доз, а в неделю от одного самца во время полового сезона – до 300 доз.

Разбавление спермы хряка. После получения сперму выдерживают в течение 10–20 мин. при комнатной температуре и разбавляют в 2–10 раз. В неразбавленной сперме должно содержаться не менее 100 млн сперматозоидов, подвижность – не ниже 70% (7 баллов). В одной дозе объемом 100 мл должно быть 2,5 млрд подвижных сперматозоидов.

Пример расчета количества доз и количества разбавителя. Процент сперматозоидов с нормальной подвижностью – 70% (0,7), концентрация – 134 миллиона в 1 мл, масса эякулята – 233 г.

Количество доз – $233 \cdot 0,134 \cdot 0,7 : 2,5 = 8$ доз.

$8 \cdot 100 - 233 = 567$ мл разбавителя.

В небольших предприятиях приготовление разбавителей, разбавление и расфасовка спермы выполняются вручную с использованием мешка универсального для сбора спермы US Bag, в котором дополнительная перфорация позволяет отделить носик для простой разливки в тубики или бутылочки (рис. 6.2).

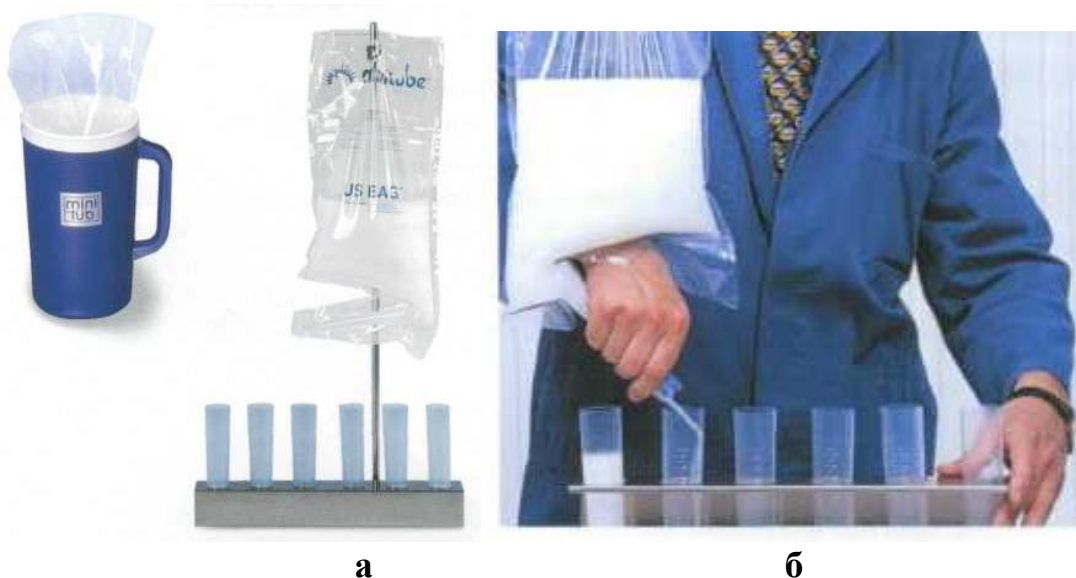


Рисунок 6.2:
а – емкость с мешком для сбора спермы, мешок с разбавленной спермой и магазин с 6 флекси-тюбиками; б – процесс разливки спермы

Для крупных организаций – производителей спермы хряков MINITUBE разработал и производит ряд сложных устройств для обработки разбавителей. Наиболее совершенная - передвижная станция HyVat (рис. 6.3). В комплексе с SmartDispenser XL или L она обеспечивает высочайшую точность разбавления спермы.



Рисунок 6.3 – Станция HyVat для разбавителей спермы хряков

Бак станции емкостью 100 л из нержавеющей стали с брызгозащитными крышками. В нем двойные дно и стенки, имеются блок УФ-С для стерилизации внутренней поверхности и устройство контроля температуры, встроенные весы и контрольный клапан для автоматизированного заполнения. Процедура добавления воды в бак и смешивание с компонентами производится через сенсорный экран. Стерилизация, наполнение и подогрев воды можно запрограммировать так, чтобы теплая вода для подготовки разбавителя была готова к началу рабочего дня.

Станция включает функцию SmartDispenser (рис. 6.4), который имеет электронный блок управления и весы и соединен с насосом, посредством которого комбинируется с баком HyVat или другим нагреваемым баком для разбавителя. Наличие постоянной обратной связи между насосом и блоком управления обеспечивает точность измерения (± 5 г).



Рисунок 6.4 – Устройство для разбавления спермы SmartDispenser (блок управления с весами и насосом), водяная баня с терморегулятором и циркуляцией воды, лабораторные весы Kern440-47N, 2000 г.

Имеются и более простые емкости для приготовления и хранения разбавителей: темперирующий бак для разбавителя на 100 и 200 л и 20-литровый бак для разбавителя с подогревом.

Разбавление спермы жеребца. Разбавляют сперму, если концентрация сперматозоидов не менее 150 млн в мл и подвижность не ниже 6 баллов. Степень разбавления – 1:2 – 1:3. Среду приливают к сперме небольшими порциями и осторожно смешивают после добавления каждой порции среды.

Разбавление спермы птиц. Оплодотворяющая способность свежеполученной спермы птиц сохраняется недолго. Сперму петухов и индюков можно использовать в течение 30 мин., но, чтобы обеспечить стабильно

высокие результаты выводимости цыплят и индюшат, ее используют в течение 15–20 мин. После разбавления сперму можно хранить до 2–3 ч.

Для разбавления используют несколько сред (табл. 6.3). Разбавляют сперму 1:1 – 1:3.

Таблица 6.3 – Состав сред для разбавления спермы птиц

Наименование реактива	ВИРГЖ-2	Лейка	Тироде
Натрия хлорид	–	–	0,8
Калия хлорид	–	–	0,02
Кальция хлорид	–	–	0,02
Магния хлорид	–	0,0676	0,01
Натрия ацетат	–	0,613	0,1
Натрий двузамещенный фосфорнокислый	–	–	0,005
Калия цитрат	–	0,128	–
Натрий глутаминовокислый	2,8	1,92	–
Фруктоза	–	1,0	1,0
Глюкоза	1,8	–	–
Дистиллированная вода	100 мл	100 мл	100 мл

6.3. Контроль осмотического давления и pH сред для разбавления спермы

Осмотическое давление определяют методом криоскопии, pH –потенциометрическим методом с помощью соответствующего прибора.

Криоскоп имеет внутреннюю пробирку (цилиндр на 100 мл без основания, с плоским дном), в которую вставляется резиновая пробка. Пробка имеет центральное отверстие для термометра Бекмана и небольшое отверстие в боковой части с металлической втулкой, через которую проходит проволоочная мешалка; в процессе работы втулку смазывают каплей машинного масла. Внутренняя пробирка с термометром Бекмана и мешалкой вставляется в более широкую пробирку (цилиндр на 250 мл без основания, с плоским дном) и укрепляется в ней посредством широкого (4–5 см) толстого резинового манжета. Широкая пробирка служит воздушной рубашкой для внутренней пробирки. Собранный прибор погружают через отверстие в крышке с резиновой втулкой в толстостенный стакан (высота - 200 мм, внутренний диаметр - 115–120 мм). Предварительно стакан заполняют охлаждающей смесью, состоящей из мелко раздробленного льда или снега и соли в весовом отношении 5:1. Температура охлаждающей смеси должна поддерживаться на 3–5°C ниже температуры заморозания синтетической среды путем добавления льда или снега. При этом смесь льда (снега) и соли периодически перемешивается проволоочной мешалкой, которая вставляется через боковое отверстие в крышке сосуда.

Термометр Бекмана имеет два резервуара ртути: основной нижний и дополнительный в верхней части; оба резервуара соединены между собой капилляром; при необходимости можно ртуть перемещать из одного в другой. Возможность перераспределения ртути в резервуарах позволяет настроить термометр так, чтобы температура замерзания растворителя (воды) лежала в верхней части шкалы.

Основная шкала термометра длинная – около 25 см и разделена на 5–6°C, цена деления – 0,01°C. На шкале с помощью лупы можно делать отсчет с точностью до 0,001–0,002°C.

Перед работой необходимо настроить термометр, т. е. установить измеряемую температуру замерзания дистиллированной воды таким образом, чтобы при 0°C ртуть находилась в верхней части шкалы, примерно между делением 3 и 5. До начала настройки следует убедиться в том, что нижний резервуар при комнатной температуре полностью заполнен ртутью.

В стакан емкостью 200–250 мл наливают 150–200 мл дистиллированной воды и, добавляя кусочки льда, охлаждают до 2–3°C; контролируют температуру обычным термометром. В термометре Бекмана нагревают рукой ртуть в нижнем резервуаре и следят, чтобы она заполнила до верха капилляр, после чего термометр переворачивают вверх нижним резервуаром. Продолжая нагревать резервуар, добиваются соединения столбика ртути с ртутью верхнего резервуара. После этого осторожно и плавно, чтобы не разорвать столбик ртути в капилляре, придают термометру обычное вертикальное положение и погружают нижний резервуар в подготовленную охлажденную воду. Выдерживают 3–5 мин., постоянно помешивая термометром (резервуаром) в воде кусочки льда. Затем осторожно вынимают термометр и резко опускают нижним резервуаром на ладонь руки. Столбик ртути должен оборваться между значениями шкалы 3 и 4. Если столбик оборвался выше, то подогреванием резервуара рукой смещают столбик ртути за изгиб капилляра к верхнему резервуару и пытаются оборвать столбик в небольшом расширении капилляра верхнего резервуара. Затем быстро помещают термометр в охлажденную воду. При температуре 2–2,5°C столбик ртути должен находиться между делением шкалы 4,5 и 5°C (при 0°C – между 3 и 4,5°C). После настройки термометр закрепляют с помощью штатива в вертикальном положении в стакане с охлажденной водой. Пробка с проволочной мешалкой должна постоянно оставаться на термометре (при вставлении термометра в центральное отверстие пробки можно разорвать столбик ртути).

Для того чтобы определить температуру замерзания среды для разбавления спермы (и по ней высчитать осмотическое давление), необходимо сначала определить точку замерзания дистиллированной воды по шкале настроенного термометра. Для этого во внутреннюю пробирку криоскопа наливают 30 мл дистиллированной воды и помещают пробирку в охлаждающую смесь; охлаждают в течение нескольких минут до 1–3°C. Температуру контролируют обычным термометром. Пробирку извлекают из

охладительной смеси, высушивают снаружи фильтровальной бумагой и закрепляют в наружной пробирке. Стенки внутренней пробирки не должны соприкасаться со стенками наружной пробирки. Соединенные обе пробирки вставляют через отверстие в крышке в сосуд (стакан) с охладительной смесью. Затем во внутреннюю пробирку вставляют настроенный термометр с пробкой и проволоочной мешалкой и укрепляют его с помощью штатива. Основной резервуар с ртутью термометра должен быть полностью погружен в дистиллированную воду, но не касаться дна. По термометру Бекмана наблюдают за понижением температуры воды. Так как дальнейшее ее охлаждение идет медленно, вода переохлаждается и не замерзает ниже точки ее замерзания (0°C). Столбик ртути медленно опускается. Для равномерного охлаждения воды ее постоянно помешивают проволоочной мешалкой. Наступает момент, когда в переохлажденной воденачинается процесс кристаллизации. При этом выделяется скрытая теплота отвердевания, и температура быстро повышается (температурный скачок). Воду продолжают помешивать и с помощью лупы наблюдают, когда столбик ртути полностью остановится. Это и будет точкой замерзания воды (например, $4,12_3$). Последняя цифра приблизительная. Для получения точного результата определяют температуру замерзания воды два–три раза.

После этого осторожно извлекают термометр Бекмана из пробирки и помещают его в стакан с охлажденной до $2-3^{\circ}\text{C}$ водой. Во внутреннюю пробирку криоскопа вместо дистиллированной воды наливают 30 мл охлажденной среды для разбавления спермы (без глицерина) и затем в нее вставляют термометр Бекмана. Процедуру охлаждения среды до замерзания осуществляют так же, как и воды. После температурного скачка фиксируют на шкале термометра точку замерзания среды (например, $3,56_2$).

Разница между первым числом ($4,12_3$) и вторым ($3,56_2$) укажет на фактическую точку замерзания среды – она будет равна $0,561^{\circ}\text{C}$. Для определения осмотического давления в миллиосмомолях необходимо это число разделить на 0,00186. В данном случае осмотическое давление составит 301. При этом принимается во внимание, что одна осмомоля соответствует депрессии $1,86^{\circ}\text{C}$, а миллиосмомоля – $0,00186^{\circ}\text{C}$.

Концентрацию водородных ионов (pH) в среде определяют при помощи pH-метров согласно наставлениям по применению приборов.

Контрольные вопросы

1. Цель разбавления спермы.
2. Какие требования предъявляют к средам для разбавления спермы.
3. Роль желтка куриных яиц, глицерина, сахаров, различных солей в средах для разбавления спермы.
4. Какое осмотическое давление оптимально для разбавителей, как регулируют его?

5. Что такое изотонический раствор (буфер), какова его роль в среде для разбавления спермы? Наиболее часто используемые буферы?
6. Для чего включают в среды противомикробные вещества? Какие антибиотики и сульфаниламиды наиболее часто используются, какая концентрация их в разбавленной сперме?
7. Возможно ли внесение антибиотиков в неразбавленную сперму?
8. Какие недостатки имеет молочная среда? Какова основа этой среды? Какие вещества дополнительно вносятся в эту среду?
9. Какое осмотическое давление в сперматозоиде? Каково оно должно быть в среде для разбавления спермы?
10. При каких температурах производится начальное разбавление спермы? Почему и как необходимо охлаждать сперму перед финальным разбавлением?
11. В какой степени разбавляют сперму производителей сельскохозяйственных животных? От каких факторов зависит степень разбавления?
12. Какое количество сперматозоидов должно содержаться в одной дозе для осеменения коровы, овцы, свиньи, кобылы?
13. Какое оборудование необходимо для автоматизированного приготовления разбавителей для спермы хряка в больших объемах?
14. Какое устройство предложено для автоматизированного разбавления спермы хряков и быков?
15. Принципиальные различия в составе разбавителей для хранения спермы жидкой (температура выше 0°C) и в замороженном состоянии.

7. РАСФАСОВКА И ХРАНЕНИЕ СПЕРМЫ

Цель занятий: изучить способы расфасовки и хранения спермы самцов сельскохозяйственных животных, освоить технику замораживания и оттаивания спермы быка.

Материалы и оборудование: разбавленная сперма быка (барана, жеребца, хряка); лед, бытовой холодильник, фторопластовая пластина для замораживания спермы в гранулах, сосуды Дьюара с канистрами или марлевыми мешочками, пеналы (стаканчики) для соломин, корнцанги и пинцеты; жидкий азот; синтетические соломины (пайеты) для расфасовки спермы, машины для маркировки наполнения и укупорки соломин; прямоугольная теплоизолированная емкость ($30 \times 40 \times 30$ см) или широкогорлый цилиндрической формы сосуд Дьюара; биотермостаты, микроскопы, подогревательные столики; бюретка с резиновой трубкой, зажимом и стеклянным наконечником для дозирования спермы или автоматическое устройство для расфасовки спермы при замораживании в гранулах.

В настоящее время для сохранения спермы самцов сельскохозяйственных животных применяют кратковременное хранение или долгосрочное в замороженном состоянии.

При кратковременном хранении сперму быков сохраняют до 72 ч, жеребцов – до 72 ч, баранов – до 24 ч при температуре $+2...+4^{\circ}\text{C}$. При этом используют холодильники или широкогорлые термосы со льдом.

Сперму хряков сохраняют 3–14 суток при температуре $+17...+18^{\circ}\text{C}$, используя для хранения и транспортировки термосы-ящики.

Для хранения спермы быков, баранов, жеребцов и хряков в течение длительного времени без потери оплодотворяющей способности применяют замораживание ее в жидком азоте при минус 196°C .

7.1. Расфасовка и хранение спермы при температурах выше 0°C

Хранение спермы хряка при температуре $17-18^{\circ}\text{C}$. Для разбавления и хранения спермы хряка при температуре $17-18^{\circ}\text{C}$ в течение 3–10 (до 14) суток применяют соответствующие синтетические среды. Разбавляют сперму после получения и определения ее качества. Для разбавления и краткосрочного хранения (до 3 суток) используют эякуляты с концентрацией сперматозоидов не менее 100 млн в 1 мл спермы. Для более длительного хранения спермы необходимо использовать эякуляты с высоким содержанием сперматозоидов. Обычно это наиболее качественная часть второй фракции, собираемой при мануальном получении спермы. Степень разбавления варьирует от 1:2 до 1:9. После разбавления в 1 мл спермы должно содержаться около 30 млн сперматозоидов, а в дозе для осеменения (80–100 мл) – не менее 2,5 млрд подвижных клеток.

Разбавленную сперму расфасовывают в полиэтиленовые флаконы, бутылочки, пакеты, флекси-тубики, в специальные катетеры для осеменения и хранят в темноте при температуре $17-18^{\circ}\text{C}$ в стерильном боксе-

термостате или в специальных термосах для хранения и транспортировки. Системы расфасовки спермы показаны на рис. 7.1–7.3.

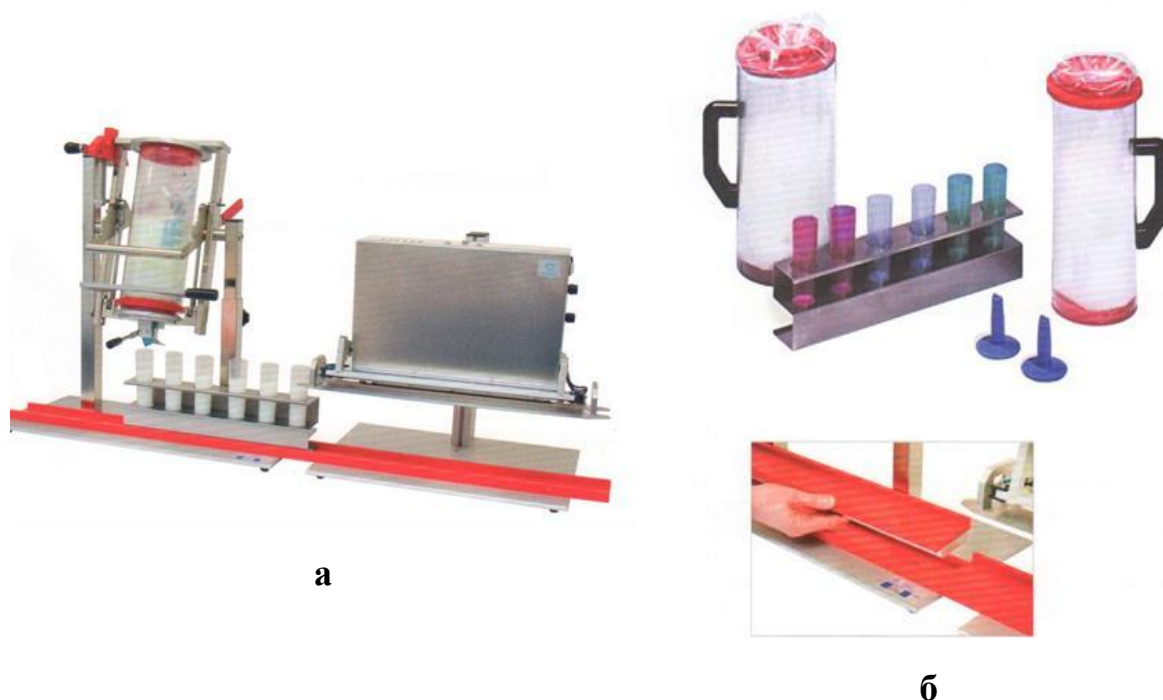


Рисунок 7.1. Полуавтоматическая фасовочная система для спермы хряка в флекси-тюбики или бутылочки:

а – для цилиндров с мешочком на 3,5 и 5,5 л;
 б – цилиндры для перемешивания спермы, кольца-вставки к цилиндрам, насадки для разлива, магазин на 6 тюбиков, адаптерная стойка для наполнения 60-мл тюбиков



а – трех тюбиков; б – 6 тюбиков

Рисунок 7.2 – Ручные блоки для запайки одновременно



Рисунок 7.3 – Автоматическая фасовочная машина TWINPACKER для фасовки, запайки и этикетирования спермы хряков в тьюбиках, обработка спермы шагом в 2 тьюбика; флекси-тьюбики и бутылочки с крышечками различных цветов

Во время хранения сперму осторожно перемешивают не менее двух раз в сутки. При хранении и транспортировке необходимо строго следить за температурным режимом. Отклонение температуры от оптимальной отрицательно влияет на оплодотворяющую способность спермы.

Возможно использование системы световой активации спермиев (maXipig®) путем облучения заполненных тьюбиков LED-светом определенной длины волны в диапазоне красных цветов.

Световые волны повышают энергетический обмен веществ в митохондриях спермиев, процент их выживаемости и оплодотворяющую способность. В коробке maXipig® можно обрабатывать одновременно 25 тьюбиков в течение 25 минут.

Хранение спермы при температуре 2–5°C. Сперму быка, сохраняемую при 2–5°C, фасуют в стерильные стеклянные флаконы, одноразовые полиэтиленовые ампулы или пайеты. Расфасованную сперму оставляют при комнатной температуре (18–25°C) на 20–30 мин., упаковывают и помещают в холодильник при температуре 2–5°C или пищевые термосы со льдом.

Быстрое охлаждение разбавленной спермы нежелательно. Поэтому целесообразно, чтобы понижение температуры от 32°C до 2–5°C происхо-

дило постепенно в течение 2–3 ч. Для этого сначала необходимо поместить разбавленную сперму в стеклянный стакан или ванночку с водой такой же температуры, как и температура спермы (32°C), а затем перенести их в водяную баню температуры 22°C на 20 минут, после чего производить фасовку и дальнейшее охлаждение спермы. Хранят в течение трех дней. Используют сперму с активностью не ниже 7 баллов.

Этот способ хранения совершенствуется и применяется в ряде стран, чаще при сезонном осеменении животных.

Хранение спермы барана. При искусственном осеменении овец используют свежеполученную неразбавленную сперму, которая обеспечивает наиболее высокую оплодотворяемость маток. Разбавление и хранение спермы несколько ухудшает результаты. Однако рациональное использование ценных производителей легче достигается при условии разбавления и хранения спермы.

Для разбавления и хранения спермы при температуре не ниже 0°C используют синтетические среды ГЦЖ и ГФЖ. Разбавляют сперму в соотношении 1:1 – 1:2 при температуре 25–30°C.

После разбавления сперму можно использовать для осеменения в течение 4 ч, если хранить ее при температуре не ниже 16°C. Если же сперму охлаждают до 2–5°C, то срок хранения увеличивают до 24 ч. Хранят сперму в холодильниках или в пищевых термосах со льдом. Перед помещением в термос флаконы со спермой обертывают ватой или вставляют в гнезда специальных поролоновых амортизаторов и затем упаковывают в полиэтиленовые мешочки. Мешочки кладут на лед в термос, а сверху их также помещают небольшое количество льда.

Хранение спермы жеребца. Для разбавления и краткосрочного (в течение 48 ч) хранения спермы при температуре 2–5°C используется среда ЛХЦЖ. Разбавляют свежеполученную сперму с подвижностью сперматозоидов не ниже 6 баллов и концентрацией 150 миллионов в мл в соотношении 1:3; температура среды в момент разбавления должна быть 25–30°C. Расфасовывают сперму в стерильные флаконы емкостью 50–100 мл с притертыми пробками; пробки закрепляют резиновыми кольцами. Флаконы со спермой заворачивают в марлевые салфетки или бумагу и упаковывают в полиэтиленовые пакеты. Пакеты со спермой помещают в термос со льдом. Охлаждение спермы должно проходить постепенно. Поэтому особое внимание уделяют подготовке термосов и теплоизоляционных прокладок; лед в термос помещают в полиэтиленовых мешочках.

7.2. Хранение спермы в жидком азоте (при минус 196°C)

Замораживание спермы быка в гранулах. Разбавленную сперму выдерживают в холодильнике при температуре +2...+4°C в течение 4–5 ч. Затем в теплоизолированную емкость или широкогорлый сосуд Дьюара наливают на $\frac{2}{3}$ жидкий азот. Фторопластовую пластину обтирают спиртовым тампоном, опускают в жидкий азот и охлаждают в течение нескольких

минут до прекращения кипения азота. Затем пластину поднимают к верхнему краю сосуда и после испарения азота протирают ее сухим стерильным ватным тампоном и с помощью бюретки, шприца или разливочной машины разливают сперму в лунки пластины. Пластина должна иметь температуру минус 160...170°C. После того как в последней лунке сперма затвердеет, пластину опускают ближе к жидкому азоту и выдерживают на расстоянии 5–10 см от поверхности азота в течение 1–2 мин. Далее пластину погружают на 1 мин. в жидкий азот, где происходит дальнейшее охлаждение гранул и отделение их от пластины. Затем пластину поднимают из жидкого азота до верхнего уровня сосуда, стребают гранулы в охлажденный контейнер и переносят в сосуд Дьюара на длительное хранение.

Этот способ расфасовки хранения спермы в настоящее время используется крайне редко.

Замораживание спермы быка в полипропиленовых соломинах (пайетах). После финального разбавления при температуре 18–20°C сперму расфасовывают в стерильные полипропиленовые соломины внутренним диаметром 2 мм, емкостью 0,25 мл. Соломины должны быть промаркированы. Это делается на принтерах для маркировки соломинок MiniJet, EasyCoder и др., или же в комбисистемах, объединяющих автоматическое фасовочно-укупорочное устройство MPP Quattro и систему печати MiniJet (рис. 7.4 и 7.5), или автоматическое фасовочно-укупорочное устройство MPP Uno и систему печати MiniJet.

На соломине печатается наименование племпредприятия (первые 3 цифры), порода быка (две последующие цифры), номер быка (пять цифр), а затем последовательно по две цифры год, месяц и день получения спермы. При маркировке на принтере маркированные соломины в коробках помещают в настольную бактерицидную камеру и стерилизуют в течение двух часов.

Названные выше автоматические устройства используются для соломинок, которые запаивают ультразвуком. При использовании соломинок MINITUBE, для укупорки которых необходимы стеклянные шарики, используется фасовочно-укупорочная машина ASP 65R.



Рисунок 7.4 – Комбисистема для автоматической расфасовки спермы, включает MPP Quattro и MiniJet



Рисунок 7.5 – Комбисистема для автоматической обработки спермы MPP Quattro при рабочей температуре +5°C, размещенная в холодильной камере

Соломины MINITUBE можно использовать как для производства замороженной спермы, так и для свежей. В последние годы использование свежей спермы быка не только увеличилось, но и приобрело большое значение для удовлетворения высокого спроса на спермы высокоценных быков-производителей. Укупоривают соломины металлическими шариками.

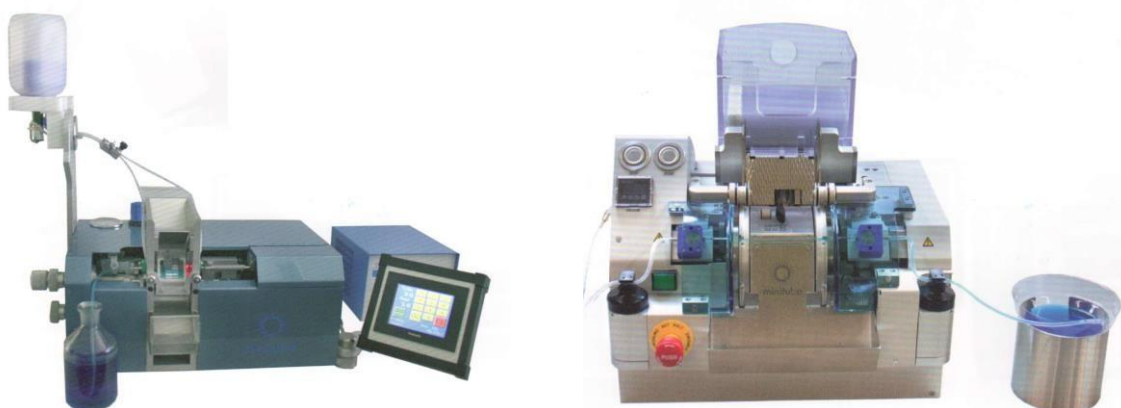


Рисунок 7.6 – Устройство ультразвуковой запайки соломин MPP Uno и фасовочно-укупорочная машина ASP 65R для закрытия соломинок MINITUBE с обоих концов укупорочными шариками

В фасовочно-укупорочной машине ASP 65R азотный газовый модуль используется при производстве жидкой спермы. Он наполняет каждую соломинку MINITUBE газообразным азотом непосредственно перед фасовкой спермы. Это обеспечивает наличие внутри заполненной спермой и укупоренной соломинки воздушного пузырька, состоящего только из азота. Благодаря созданию анаэробных условий увеличивается длительность сохранения жидкой спермы.

При использовании стеклянных шариков их выдерживают сутки в растворе соляной кислоты (10 мл концентрированной кислоты на 1 л дистилли-

рованной воды), промывают проточной водой, затем 3–4 раза дистиллированной водой и засыпают на сито с отверстиями $1,7 \times 2,0$ мм, чтобы удалить обломки. Высушенные шарики помещают в стеклянную банку и стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 180°C в течение 1,5 ч.

Перед работой корпус машины протирают марлевой салфеткой; детали, непосредственно соприкасающиеся с соломинами и стеклянными шариками (бункера для шариков и соломин, укупориватели), обрабатывают спиртовым тампоном. Наконечники и сопла, медицинские поливинилхлоридные трубки и уплотнители стерилизуют кипячением.

Коробку с маркированными стерильными соломинами фиксируют рычагом у механизма подачи их на барабан, подсоединяют поливинилхлоридную трубку с соплом для подачи спермы, конец трубки с надетым наконечником погружают в емкость с разбавленной спермой. После включения машины сперма нагнетается в соломинку с обеих сторон и закупоривается двумя стерильными цветными стеклянными шариками. В процессе работы следят, чтобы столбик воздушного пузырька был длиной 5–12 мм, а стеклянные шарики заталкивались на глубину 1,5–2 мм.

Наполненные спермой соломины берут в руку воздушными пузырьками вниз и встряхивают несколько раз для того, чтобы пузырьки переместились на середину.

Если используются пайеты Кассу, то сперма заполняется с одного свободного конца до смачивания пробочки из поливинилового спирта и бумаги, а второй конец запаивается ультразвуком (рис. 7.7); в них пузырек воздуха отсутствует. Пайеты этого типа могут иметь различный цвет (все-го 18 цветов), что позволяет легче идентифицировать породу и класс производителя, удобнее и быстрее извлекать нужный образец спермы для использования.



Рисунок 7.7 – Расфасовка и маркировка разбавленной спермы в соломинки струйным принтером для маркировки соломки LEIBINGER-JET2 и фасовочно-укупорочное устройство MPP Quattro (Могилевское госплемпредприятие)

После заполнения соломины раскладывают по 143 шт. в металлические рамки (рампы) и сверху прижимают держателем. Рамки кладут одна на другую по 5 штук, помещают в коробку и ставят в холодильник ХЖС-300, в котором поддерживается температура около 4°C на 3–5 часов. При использовании рампы для замораживания Turbo соломины раскладывают по 175 (объем 0,25 мл) или 100 шт. (объем 0,5 мл) и помещают в блоки загрузки соломинок.

В холодильнике сперма постепенно и равномерно охлаждается до температуры 4°C в течение часа (со скоростью 0,3–0,5°C в мин). Выдерживают сперму при такой температуре в течение 3–4 ч и потом замораживают в замораживателе с программированным регулятором температуры и однонаправленным горизонтальным потоком газа TurboFreezer L или TurboFreezer M, MT Freezer 2.0 или же с помощью автоматического прибора MT Standard на медном щите, который закрепляют на расстоянии 6–8 см от поверхности жидкого азота.



Рисунок 7.8 – Автоматический прибор для замораживания спермы MT Standard

Для поддержания стабильной температуры на щите (минус 130...150°C) после загрузки рамок с соломинами и обеспечения оптимальной скорости замораживания спермы необходимо под давлением 0,2–0,3 атм. подавать газообразный азот с вентиля газосброса транспортной цистерны. Конец шланга должен лежать на дне биологического хранилища. Если замораживание производится без обдува, тогда щит замораживающего устройства должен касаться поверхности жидкого азота.

Замораживание спермы ведется в течение 7 мин. После этого соломины переносят с помощью специальной воронки в пластмассовые стаканы (гоблеты с держателями), наполненные жидким азотом и закрепленные в гнездах щита замораживающего устройства. Затем стаканы (гоблеты) с соломинами быстро переносят в подготовленные канистры (разделители гоблетов) и размещают их в биологических хранилищах ХБ-0,5 или ХБ-0,2-1.

Многие зарубежные организации по искусственному осеменению и все племпредприятия Республики Беларусь используют высокотехнологичное оборудование MINITUBE для маркировки соломин, наполнения и укупорки их стеклянными шариками или по методу Кассу, или металлическими

шариками, для автоматического контроля замораживания и упаковки замороженных соломин.

Через сутки после замораживания образцы спермы оттаивают и определяют в них активность сперматозоидов при температуре 38°C и выживаемость их в течение 5 ч при такой температуре.

Для бактериологических исследований делают посев оттаянной спермы на поверхность ГРМ агара. Общее количество непатогенных микробных тел в дозе не должно превышать 500.

Замораживание спермы барана. Разбавленную сперму охлаждают в течение 2–3 ч до +2...4°C. При этом флаконы (полиэтиленовые капельницы) со спермой погружают в кювету с теплой (20...25°C) водой и ставят в бытовой холодильник. После охлаждения кювету с флаконами погружают в тающий лед до момента замораживания спермы.

Сперму замораживают на поверхности сухого льда или на охлажденной до минус 80°C фторопластовой пластине. Для обеспечения такой температуры пластину после охлаждения в жидком азоте поднимают и устанавливают с помощью штатива на уровне верхнего края широкогорлого сосуда и выдерживают 4–6 мин. После этого в лунки пластины накапывают сперму по 0,2 мл. Как только сперма затвердеет, пластину опускают ниже и выдерживают над поверхностью жидкого азота на расстоянии 3–5 см в течение 1,5–2,0 мин., а затем погружают на 1 мин. в жидкий азот. После окончания замораживания пластину извлекают из азота и собирают гранулы в алюминиевые тубы или мешочки из тонкой алюминиевой фольги. Емкости должны быть промаркированы. Замороженную сперму помещают в сосуд Дьюара на карантинное хранение на 28 дней.

В настоящее время разработаны способы замораживания спермы барана и козла в мини-пайетах.

Замораживание спермы жеребца. Для замораживания и длительного хранения в жидком азоте сперму разбавляют ЛХЦЖ-средой с добавлением глицерина. Разбавляют также в соотношении 1:3, в один прием. Разбавленную сперму объемом не более 100 мл при высоте слоя 2,5 см в колбе выдерживают в холодильнике 2 ч и замораживают на поверхности сухого льда или в алюминиевых пакетах в парах жидкого азота. При замораживании в форме гранул сперму наносят каплями по 0,2 мл в лунки на поверхность сухого льда; выдерживают в течение 5 мин., после чего гранулы собирают и упаковывают в алюминиевые тубы или пластмассовые стаканы и помещают на хранение в жидкий азот. В каждой упаковке должно быть 125–130 гранул, что составляет около 25 мл оттаянной спермы.

При использовании алюминиевых туб (пакетов) в зависимости от их величины сперму расфасовывают по 25 мл или 13 мл. В обоих случаях толщина пакета со спермой не должна быть больше 4–5 мм. Перед использованием пакеты охлаждают, а после заполнения спермой осторожно вытесняют из них воздух и концы закатывают дважды. Пакеты со спермой помещают в специальные держатели с пенопластовыми поплавками и переносят в широкогорлый сосуд Дьюара. Выдерживают в течение 5–7 мин.

в парах жидкого азота, на расстоянии 10–12 мм от его поверхности. После этого пакеты помещают в жидкий азот на хранение.

При замораживании спермы в гранулах и в пакетах в одной дозе (125–130 гранул, один пакет объемом 25 мл или 2–3 пакета по 13 мл) должно содержаться около 800 млн сперматозоидов, а после оттаивания – 300–400 млн. подвижных клеток.

Замораживание спермы хряка используется реже, чем других видов животных. Это связано с тем, что требуется большой объем спермы в дозе для осеменения, а также с большей чувствительностью спермиев хряка к замораживанию. Однако консервация генного материала свиней очень важна в целях сохранения и защиты генетического разнообразия. Разработан метод замораживания спермы в соломинах объемом 0,5 мл. Для этой цели используются соответствующие разбавители для спермы хряка. Разбавитель Androstar®Premium для приготовления 1 л замороженной и свежей спермы и Androstar®CryoPlus для замороженной спермы на 770 мл.

Перед замораживанием сперма центрифугируется. Для этой цели используется холодильная центрифуга с поворотно-откидным ротором, 4 стаканами и четырем 600-мл полипропиленовыми бутылками с крышками. Замораживание спермы проводится в замораживателе с компьютерным управлением IceCube 145 с 12" монитором.

Другое оборудование, как и для спермы быка. Принтер для маркировки соломин EasyCoder и автоматическая фасовочно-укупорочная машина MPP Uno для соломинок, которая может быть размещена в шкафу охлаждения. Имеются специальные криогенные контейнеры для хранения и транспортировки спермы и устройство для размораживания (оттаиватель МТ 30/54).

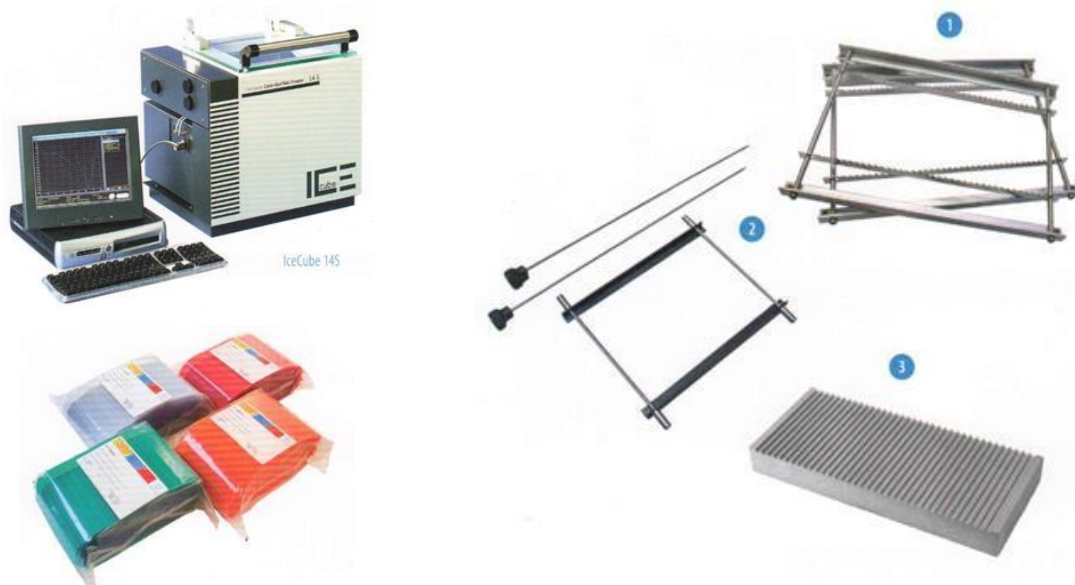


Рисунок 7.9 – Замораживатель с компьютерным управлением IceCube 145 с 12" монитором с сенсорным экраном, комплектом соединителей; соломинки по 0,5 мл различных цветов; рампы для IceCube 145 на 36 соломинок (1), приспособление для загрузки рам (2), загрузочный блок для рам (3)

7.3. Хранение, перевозка и оттаивание замороженной спермы

Сосуды для хранения спермы. Замороженную сперму хранят в узкогорлых сосудах Дьюара. Такие сосуды различной емкости – 5, 20, 50 и 500 литров. Изготавливаются они из нержавеющей стали, двустенные. Пространство между стенками заполняется порошковой или порошково-вакуумной термоизоляцией. На горловине сосуда подвешиваются металлические канистры или марлевые мешочки для спермы. Крышка сосуда имеет пенопластовую втулку, которая размещается в горловине.

Чтобы температура спермы во время хранения не повышалась, в сосуде любого типа должно оставаться не менее 30–40% жидкого азота (от полной емкости), поэтому сосуд необходимо регулярно (через 30–60 суток) пополнять азотом.

Техника безопасности при работе с жидким азотом. Жидкий азот – прозрачная, бесцветная и легко испаряющаяся жидкость, удельный вес ее – 0,8 кг/л, кипит при температуре минус 196°C.

Азот не токсичен, однако в результате испарения и накопления его в помещении содержание кислорода в воздухе уменьшается, что может вызывать у людей головную боль, головокружение и даже потерю сознания. При попадании на открытые участки тела вызывает обморожение (ожог).



**Рисунок 7.10 – Сосуды Дьюара
для карантинного хранения спермы**

Для контроля качества спермы от каждой серии отбирают 10 доз (10 соломинок), остальное фасуют по стаканам и помещают в хранилище в сосуды Дьюара. Помещение, в котором находятся сосуды Дьюара или стационарные хранилища с жидким азотом, должно быть оборудовано приточно-вытяжной естественной или принудительной вентиляцией. Курение в таком помещении категорически запрещается. Температура жидкого азота поддерживается на постоянном уровне (–196°C) в результате его непрерывного испарения. Поэтому горловина сосуда Дьюара не должна быть плотно закрыта, особенно при перевозке. Персоналу, работающему с азотом, следует закрывать горловину сосуда Дьюара крышками, предназна-

ченными только для них. Если плотно закрыть сосуд, то возможен его взрыв. Не допускается эксплуатация сосудов, у которых верхняя часть горловины обрастает льдом.

При длительной эксплуатации сосудов Дьюара приходится постоянно доливать жидкий азот, в котором имеются примеси кислорода. Кислород кипит при более высокой температуре – минус 183°C. Поэтому концентрация его в сосуде постепенно возрастает, и остающаяся смесь газов становится огнеопасной. Племпредприятия должны контролировать содержание кислорода в сосудах и при достижении содержания его 15% перенести сперму в другой сосуд, а из контролируемого – слить остатки азота вдали от предметов органического происхождения (дерева, бумаги, тряпок, особенно промасленных) и наполнить его свежим азотом. Во избежание взрыва запрещается удалять обогащенную кислородом жидкость из сосуда путем выпаривания.

Работать с жидким азотом необходимо в защитных очках и свободных кожаных рукавицах, чтобы при необходимости их можно было легко сбросить. Брюки должны быть без манжет и прикрывать верхнюю часть обуви. Если жидкий азот попадает на незащищенную кожу, ее следует обмыть водой. Особую осторожность следует соблюдать при оттаивании спермы, замороженной в соломинах. При плохой герметизации и быстром испарении азота в период нагревания может резко повыситься давление в солоmine, что приведет к разрыву ее оболочки.

При заправке сосудов или биологических хранилищ азотом гибкий шланг опускают до дна заправляемой емкости, чтобы предупредить выброс конца шланга из горловины сосуда и попадание азота на стоящих рядом людей. Заливать азот в сосуд надо медленно.

Если при испытании сосуда Дьюара обнаруживается нарушение теплоизоляции – утрата вакуума (покрыт вблизи горловины слоем инея), его запрещается оставлять на отопев в помещении, где могут находиться люди. Необходимо после слива азота поместить сосуд на 3–5 суток в изолированном помещении.

Оттаивание спермы в гранулах. В настоящее время в племпредприятиях нашей страны сперму быка не замораживают в гранулах. Однако запасы генетического материала ряда быков-производителей в форме гранул сохраняются. Для оттаивания одной гранулы необходимо иметь 1 мл 2,9%-ного раствора натрия цитрата (выпускается в ампулах) и водяную баню или оттаиватель с температурой воды 38°C. У основания шейки ампулы с натрия цитратом делают круговой надрез пилкой по стеклу. Надпиленный участок протирают спиртовым тампоном и отламывают верхнюю часть ампулы. Если отверстие узкое для прохождения гранулы, то его расширяют путем откалывания стерильным пинцетом небольших участков стекла. Для этого одну ветвь пинцета вставляют в ампулу, по кругу продвигают пинцет и обламывают стекло. Затем ампулу с цитратом натрия закрывают стерильным ватным шариком и помещают в водяную баню заблаговременно (за 3–5 мин.) для подогрева.

Корнцанг для извлечения спермы обтирают спиртовым тампоном, снимают крышку с сосуда Дьюара и кладут ее рядом пробкой вверх, а корнцанг помещают внутрь сосуда для охлаждения. После этого поднимают канистру со спермой до горловины сосуда и корнцангом извлекают одну гранулу; канистру опускают в азот. Сняв ватный шарик, быстро переносят гранулу в ампулу с подогретым цитратом натрия, и опять закрывают ампулу ватным шариком, а затем закрывают крышку сосуда Дьюара. Оттаивают сперму до полного растворения (8–10 с), слегка вращая ампулу между пальцами; достают ампулу с оттаянной спермой, вытирают ее насухо салфеткой и ставят на стол. Размороженная сперма должна быть использована в течение 15 мин.

Оттаивание спермы в пайетах. Для оттаивания спермы в пайетах включают оттаиватель (рис. 7.11) и доводят температуру воды до 38°C (пайеты длиной 10 см), 37–38°C (пайеты длиной 13,5 см), 35–38°C (канадские пайеты длиной 13,5 см) или до 50°C в соответствии с технологией оттаивания. Корнцанг для извлечения спермы обтирают спиртовым тампоном, снимают крышку с сосуда Дьюара, кладут ее рядом пробкой вверх, охлаждают корнцанг. Поднимают канистру со спермой до уровня 10 см от верхней части горловины сосуда и корнцангом извлекают одну пайету, опускают канистру в азот, перехватывают пайету пинцетом, легко встряхивают ее 1–2 раза, чтобы удалить азот и быстро помещают в оттаиватель. Закрывают крышку сосуда Дьюара, оттаивают сперму в течение 10–11 с (пайеты длиной 10 см), 35–40 с (канадские пайеты) или в течение иного времени, указываемого предприятиями–производителями спермы. В водяной бане пайету удерживают в вертикальном положении и постоянно перемещают в воде. Вынимают пайету из оттаивателя, вытирают ее насухо салфеткой и вставляют в инструмент для осеменения. Салфетку выбрасывают в ведро. Пайету с пузырьком азота необходимо встряхнуть для перемещения пузырька к одному из концов пайеты. После размораживания сперма должна быть использована в течение 15 мин.



Рисунок 7.11 – Оттаиватель для спермы в пайетах и резак MiniCutter для обрезки мини и миди пайет

Перевозка спермы. Перевозят сперму с племпредприятия в районные станции или на пункты искусственного осеменения на специально оборудованных машинах. Нередко сочетают доставку азота и спермы. Сосуды Дьюара или емкости, заполненные жидким азотом, необходимо надежно закрепить на транспортном средстве. Сосуды, которые предполагается транспортировать самолетом, надо заполнять не более чем на половину емкости.

Транспортируют сперму хряка в боксе-термостате или в специальных термосах для хранения и транспортировки, бытовых сумках-холодильниках, термосах-ящиках, в которых для теплоизоляции применяется поролон. На период транспортировки колбы и флаконы плотно укупоривают, а после доставки на пункт ослабляют резиновые кольца, фиксирующие бумагу на кольцах, или расслабляют крышки флаконов. Сперму транспортируют через 30 мин. после разбавления.

Контрольные вопросы

1. Для чего проводится окрашивание среды для разбавления спермы или соломины (пайеты)?
2. Сперма каких животных хранится при температуре, близкой к 0°C? Какие среды для разбавления используются?
3. Какие приборы (оборудование) необходимы для хранения спермы при температуре 2–4°C?
4. Сперма каких животных и в течение какого срока может храниться при комнатной температуре? Каков принцип краткосрочного хранения и какие среды используются?
5. Каковы преимущества хранения спермы при низкой температуре (минус 196°C)?
6. Как расфасовывается сперма перед замораживанием?
7. Какое оборудование необходимо для расфасовки, замораживания и упаковки спермы?
8. Как хранится замороженная сперма в племпредприятии, на фермах?
9. Какие термосы используются для перевозки спермы?
10. Как часто необходимо пополнять азотом сосуд Дьюара? Какие меры предосторожности необходимо соблюдать при работе с такими сосудами?
11. Как оттаивают сперму, замороженную в гранулах и соломинах? Какое оборудование необходимо для оттаивания?
12. В течение какого времени необходимо использовать оттаянную сперму?
13. Какая подвижность сперматозоидов в свежеполученной и в разбавленной и сохраняемой сперме?

8. ПОДГОТОВКА И ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ, ПОСУДЫ И МАТЕРИАЛОВ

Искусственное осеменение – это ряд организационных мероприятий и технологических процессов. Для осуществления их на государственных предприятиях и пунктах искусственного осеменения необходимы специальное оборудование, материалы, растворы, инструмент. Перед использованием они должны быть соответствующим образом подготовлены: быть чистыми, сухими и стерильными. Это необходимо для предотвращения повреждений или гибели сперматозоидов при контакте спермы с ними. Подготовка проводится в специально оборудованных помещениях.

Предприятия по искусственному осеменению имеют отдельные комнаты для мытья и стерилизации инструмента, приборов и посуды, которые используются при получении, обработке и хранении спермы. Стены в этих комнатах облицованы глазурованной керамической плиткой, полы выстланы метлахской плиткой.

В моечной комнате должен быть водопровод (холодная и горячая вода) с трапами для стока воды. При отсутствии магистрального водопровода в ней устанавливают газовую колонку или электронагреватель для подогревания воды. Для мытья искусственных вагин размещают ванну. Для размещения использованной и подготовленной посуды необходимо иметь столы. Шкафы стеклянные нужны для запасных искусственных вагин, спермоприемников и другого инструмента. Платяной шкаф необходим для спецодежды.

В моечной размещают также стиральную машину.

В стерилизационной комнате устанавливают сушильные шкафы, автоклавы, стерилизаторы, газовая или электрическая плита, дистилляторы воды, термостат для подготовленных вагин.

Для обеззараживания воздуха и предметов в стерилизационной и во всех помещениях лаборатории, в которых ведется работа со спермой, а также в манеже устанавливают бактерицидные лампы – источники ультрафиолетовых лучей.

Использованная или новая посуда, инструмент и материалы должны быть соответствующим образом вымыты и обеззаражены. Новую стеклянную посуду моют теплым раствором соды или специальным моющим средством, удаляя наклеенные этикетки, жировые пятна и другие механические загрязнения. Моют с помощью ерша, поролона или куска ваты или марли, укрепленных на деревянные палочки. После мытья посуду выдерживают в течение суток или более в растворе соляной кислоты (одна столовая ложка дымящейся кислоты на 3 л дистиллированной воды); посуда должна быть полностью погружена в раствор кислоты. После этого посуду тщательно моют проточной водой и затем ополаскивают несколько раз дистиллированной водой и высушивают на специальной доске с колышками. Посуда считается хорошо подготовленной, если на ее наружной и внутренней поверхности после сушки не остается пятен.

Использованную стеклянную посуду моют также в содовом растворе или теплой водой, тщательно ополаскивают проточной водой и затем - несколько раз дистиллированной. При сильном загрязнении посуды синтетическими средами для разбавления спермы, которые содержат желток или молоко, ее погружают в хромовую смесь на 24 ч (иногда достаточно обработать смесью внутреннюю поверхность в течение нескольких минут) и многократно промывают проточной водопроводной водой, затем споласкивают дистиллированной водой и высушивают.

Новые пипетки и стеклянные трубки моют проточной водой и помещают на сутки в раствор соляной кислоты. Использованные пипетки достаточно вымыть водой и только сильно загрязненные моют хромовой смесью. Кислоту или хромовую смесь наливают в высокий цилиндр и в него помещают пипетки. Жидкость постепенно заполняет их просвет. После выдержки пипетки тщательно промывают проточной водой, а затем дистиллированной. Во время мытья следят, чтобы вода полностью заполняла просвет пипетки. Удобно пользоваться специальными цилиндрами с сифоном (пипетко-мойками) или же дистиллированную воду помещать в бутылку с патрубком внизу, к которому присоединяют эластичную (резиновую или из полимерного материала) трубку с зажимом. После промывания пипеток водой их поочередно присоединяют к трубке и промывают дистиллированной водой.

В современных лабораториях обычно используются дозаторы пипеточные с одноразовыми полиэтиленовыми наконечниками. В таких случаях нет необходимости использования стеклянных пипеток.

Новые изделия из резины (цилиндры и камеры искусственных вагин, катетеры для осеменения кобыл, трубки и пробки) моют в теплом 2–3%-ном растворе соды, затем тщательно ополаскивают проточной водой и высушивают.

Загрязненные цилиндры мерные и мензурки, которые используются для отмеривания жидкостей, моют теплой проточной водой и ополаскивают несколько раз дистиллированной водой.

Термосы для хранения спермы – сосуды Дьюара два раза в год подвергают мойке и дезинфекции. После освобождения их от жидкого азота и выравнивания температуры внутренних стенок с температурой воздуха (отогревания) их моют 2%-ным раствором натрия гидрокарбоната, затем ополаскивают теплой водой. Остатки воды удаляют марлевыми салфетками.

Подготовленную чистую высушенную посуду перед использованием стерилизуют сухим жаром или другим общепринятым способом.

8.1. Приготовление растворов, марлевых салфеток, ватных тампонов, фильтров

Цель занятий: приобрести навыки приготовления растворов и материалов, необходимых для работы по искусственному осеменению и трансплантации зародышей.

Объекты исследований, материалы и оборудование: натрия хлорид (NaCl), натрия гидрокарбонат (Na_2HCO_3), натрий лимоннокислый трехзамещенный двухводный ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$); спирт-ректификат, фурацилин, калий двуххромовокислый, серная кислота, дистиллированная вода; стеклянная посуда (флаконы емкостью 100 мл, мерные цилиндры на 100, 250 и 500 мл, мерные колбы на 250, 500 и 1000 мл, колбы стеклянные на 50, 100, 250, 500 и 1000 мл); тампонницы с притертыми крышками, баночки на 100 мл с притертыми пробками, стеклянные воронки, стеклянные палочки; марля, гигроскопическая вата, бумага фильтровальная и пергаментная; ножницы прямые; весы аналитические или лабораторные, весы аптечные с разновесом, спиртометры; магнитная мешалка; автоклав, мембранные фильтры 0,45 мкм; газовая или электрическая плита.

Методические указания. Занятия проводятся в лаборатории кафедры или учебном пункте искусственного осеменения. Сначала студенты знакомятся с правилами приготовления растворов, тампонов, марлевых салфеток, затем самостоятельно готовят один из растворов или салфетки, тампоны, фильтры. Целесообразно студентам работать парами.

Приготовление физиологического раствора. Нужно количество дистиллированной (очищенной) воды отмеривают цилиндром и переливают в коническую колбу. На весах отвешивают химически чистый натрия хлорид из расчета 0,9 г на 100 мл воды и помещают в колбу с водой. Если натрия хлорид расфасован в таблетках по 0,9 г, то на каждые 100 мл воды берут одну таблетку. Колбу закрывают пергаментной бумагой, помещивают до полного растворения навески и подогревают до кипения. Вместо дистиллированной воды можно использовать воду очищенную, приготовленную путем фильтрования в бытовых очистителях водопроводной воды. Готовят раствор ежедневно.

Применяют физиологический раствор для промывания внутренней поверхности инструмента для осеменения, обеззараженного 70%-ным спиртом (стеклянные шприцы-катетеры и микрошприцы), резинового катетера для осеменения кобыл после стерилизации кипячением, увлажнения влагалищного зеркала или стеклянного расширителя, а также при оценке качества спермы.

Приготовление 70%-ного спирта. Для приготовления 100 мл 70%-ного спирта в мерный цилиндр наливают дистиллированной воды 73 мл и добавляют до метки (27 мл) 96%-ного спирта этилового (спирта-ректификата). Расчет для приготовления спирта проводят по формуле:

$$\frac{96\% - 100}{70\% - x} = \frac{70 \cdot 100}{x} = 72,8 \quad (8.1)$$

Крепость приготовленного спирта контролируют спиртомером. Для этого размешивают стеклянной палочкой спирт с водой и медленно опус-

кают в цилиндр спиртомер. После стабилизации положения прибора по шкале его определяют крепость спирта. Хранят спирт в баночке с притертой пробкой. Используют для обеззараживания внутренней поверхности стеклянного инструмента (шприцы-катетеры, микрошприцы), а также трубок из полимерных материалов, используемых при извлечении зародышей. После обеззараживания остатки спирта удаляют тщательным промыванием инструмента 0,9%-ным раствором NaCl или средой Дюльбекко.

Приготовление 2,9%-ного раствора натрия цитрата (см. приготовление желточно-цитрато-глицериновой среды). Применяют раствор для оттаивания спермы, замороженной в гранулах, при оценке качества свежеполученной и сохраняемой спермы и в качестве компонента желточно-цитратной среды для разбавления спермы быка.

Приготовление раствора фурацилина. Готовят 0,02%-ный раствор фурацилина на физрастворе. Дистиллированную (очищенную) воду подогревают до кипения, затем помещают навеску натрия хлорида (на 100 мл воды 0,9 г соли) и фурацилина из расчета 0,2 г на 1 л (20 мг на каждые 100 мл). Тщательно размешивают и переливают в стерильную бутылку из темного стекла. Хранят в течение двух–трех дней в затемненном месте. Применяют раствор для обработки искусственных вагин после использования, подмывания препуция у производителей перед получением спермы и наружных половых органов у коров и свиней перед осеменением.

Приготовление 1%-ного раствора гидрокарбоната натрия. В коническую колбу на 500 мл наливают дистиллированную воду и стерилизуют в течение 0,5–1 мин. кипячением. Охлаждают проточной водой или дают остыть при комнатной температуре до 40–45°C. Затем отвешивают необходимое количество гидрокарбоната натрия из расчета 1 г на 100 мл воды. Навеску помещают в стерильную стеклянную колбу. Отмеривают стерильным цилиндром (мензуркой) необходимое количество простерилизованной дистиллированной воды и переливают ее в колбу с навеской. Колбу закрывают стерильной пергаментной бумагой. Помешиванием добиваются растворения натрия гидрокарбоната. Нельзя нагревать раствор выше 60°C, так как натрия гидрокарбонат разлагается и становится токсичным для сперматозоидов. Готовят раствор ежедневно. Используют при оценке качества спермы, для увлажнения влагалищного зеркала и промывания инструмента, обработанного 70%-ным спиртом.

Приготовление фосфатно-солевого буфера (среды Дюльбекко). ФСБ готовят путем смешивания трех различных стерильных растворов.

Раствор ФСБ-А. В мерную колбу на 2 л наливают 1,5 л бидистиллированной воды и помещают в нее навески: натрия хлорида 20 г, калия хлорида 0,5 г, калия фосфорнокислого однозамещенного 0,5 г и натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного, высушенного до постоянной массы – 2,88 г. Помешиванием раствора добиваются растворения внесенных солей. Затем добавляют воды до метки и тщательно перемешивают с помощью магнитной мешалки. Буфер разливают по 400 мл в бутылки объе-

мом 500 мл. Для стерилизации автоклавируют при давлении 1 атм. в течение 15 мин. Хранят при комнатной температуре.

Раствор ФСБ-Б. В мерную колбу на 250 мл вносят навеску кальция хлорида безводного, высушенного до постоянной массы – 0,25 г и добавляют до метки бидистиллированной воды при постоянном помешивании. Приготовленный раствор разливают по 50 мл во флаконы или колбы соответствующей емкости, закрывают пергаментной бумагой и стерилизуют автоклавированием при давлении 1 атм. в течение 15 мин. Хранят при комнатной температуре.

Раствор ФСБ-В. В мерную колбу на 250 мл вносят навеску магния хлорида 6-водного, высушенный до постоянной массы – 0,25 г и добавляют до метки бидистиллированной воды при постоянном помешивании. Приготовленный раствор разливают по 50 мл во флаконы или колбы соответствующей емкости, закрывают пергаментной бумагой и стерилизуют автоклавированием при давлении 1 атм. в течение 15 мин. Хранят при комнатной температуре.

Для получения полного ФСБ смешивают 400 мл ФСБ-А с 50 мл ФСБ-Б и 50 мл ФСБ-В. В таком виде буфер можно хранить при 4°C до двух недель.

Используют фосфатно-солевой буфер в качестве среды для промывания матки при извлечении зародышей у коров-доноров.

Приготовление хромовой смеси. В коническую колбу отмеривают 1 л дистиллированной воды и растворяют в ней 60 г калия двуххромовокислого, а затем осторожно добавляют малыми порциями 100 мл концентрированной серной кислоты. Приготовленной хромовой смесью обрабатывают сильно загрязненную стеклянную посуду. После тщательно промывают проточной водой, споласкивают дистиллированной водой и высушивают.

Приготовление раствора перекиси водорода. Для приготовления 10 л раствора в стеклянную бутылку, в кастрюлю или ведро наливают 8750 мл питьевой воды, добавляют 1200 мл перигидроли и 50 г моющего средства типа «Прогресс», «Сульфанол» или др. Раствор готовят непосредственно перед употреблением. Норма расхода дезинфицирующего раствора 70–100 мл на 1 м². Используют раствор для мытья полов, стен и мебели в боксах для работы с зародышами. Можно использовать этот раствор и при уборке манежа и чучел для получения спермы от производителей, а также помещения пункта искусственного осеменения.

Приготовление фильтров. В лаборатории фильтры можно приготовить из фильтровальной бумаги. Для этого ножницами разрезают бумагу на квадратные листы соответствующего воронке размера. Складывают лист по диагонали и разглаживают основание образовавшегося треугольника. Затем его еще раз складывают пополам и разглаживают сторону уже четырехслойного малого треугольника. Раздвигают один слой бумаги и вкладывают фильтр в стеклянную воронку так, чтобы после обрезания

ножницами выступающих краев бумаги он полностью помещался в воронке, а края его на несколько мм были ниже ее края.

Фильтры бумажные используются для приготовления очищенной воды, фильтрования раствора натрия цитрата перед стерилизацией (а при необходимости – и растворов А, Б и В, используемых для приготовления ФСБ), а также красителей, применяемых при оценке качества спермы. При наличии стандартных стерильных фильтров используют их. Воронку с фильтром помещают в горло колбы и осторожно порциями выливают на фильтр раствор или прокипяченную воду. При этом не следует переливать жидкость выше края фильтра. Фильтрование позволяет удалить механические примеси и обеспечивает чистоту и прозрачность раствора.

Приготовление ватных тампонов. Пласты гигроскопической ваты расслаивают и отделяют тонкие кусочки. Края кусочков заворачивают так, чтобы они приобрели форму дисков диаметром 4–6 см. По мере приготовления тампоны складывают стопочкой и помещают в банку-тампонницу с притертой крышкой. Надавливая пинцетом в различных местах, хорошо пропитывают 96%-ным спиртом и закрывают банку. Можно тампоны сначала положить в чашку Петри, пропитать спиртом, отжать руками и затем пинцетом разделить их и поместить в тампонницу.

Применяют спиртовые тампоны для дезинфекции искусственных вагин, стеклянных палочек и инструментов для осеменения самок, пинцетов и корнцангов, ножниц, термометров, подставок для инструментов, поверхности стола и рук и др.

Сухие ватные тампоны помещают в бумажные пакеты или в стеклянные банки, которые закрывают бумагой, и стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение 1,5 ч. Такие тампоны необходимы для смазывания вазелином стилета катетера для извлечения зародышей, удаления с приборов и инструментов остатков вазелина, слизи, спирта, физиологического раствора и др.

Приготовление марлевых салфеток. Марлю складывают в несколько слоев и разрезают прямыми ножницами так, чтобы получить куски величиной от 20×20 до 40×40 см. Проглаживают утюгом и складывают вчетверо. Затем упаковывают в стерильную пергаментную бумагу. Салфетки используют для протирания оптики, предметных и покровных стекол, удаления капель воды с приборов и инструментов. Для протирания половых губ самки перед осеменением после подмывания можно использовать одноразовые стерильные бумажные салфетки. Стерилизуют их в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение 1 ч.

8.2. Подготовка и обеззараживание посуды и инструментов

Цель занятий: изучить методы стерилизации материалов, посуды и инструментов.

Объекты исследований, материалы и оборудование: стеклянная посуда (цилиндры мерные и мензурки емкостью 100, 200, 250 и 500 мл;

мерные колбы емкостью 200, 250, 500 и 1000 мл; флаконы емкостью 100 мл; колбы для растворов емкостью от 50 до 1000 мл); баночки на 100 мл с притертыми пробками; инструмент для осеменения самок сельскохозяйственных животных; тазы эмалированные, кастрюля эмалированная на 3–5 л, ерши и щетки для рук; раствор натрия гидрокарбоната 1%-ный и 2–3%-ный, соляная кислота; резиновые или поролоновые губки для рук; полотенца, вата, марлевые салфетки, бумага фильтровальная, фильтры; перчатки резиновые и полиэтиленовые одноразовые; анатомические и хирургические пинцеты, анатомические ножи, скальпели, ножницы прямые и Купера; предметные и покровные стекла, чашки Петри, часовые стекла, стеклянные палочки; шприцы и иглы, кюветы; автоклав, сушильный шкаф, стерилизатор, бактерицидная лампа; газовая или электрическая плита, примус; спиртовые тампоны, дистиллированная вода; доска с колышками.

Методические указания. Занятия проводятся в лаборатории кафедры, акушерской (ветеринарной) клинике или учебном пункте. Сначала студенты изучают порядок подготовки инструментов и посуды, предметных и покровных стекол; знакомятся с назначением, устройством и правилами работы с автоклавом, стерилизаторами, сушильным шкафом, бактерицидной лампой и с методами стерилизации. При этом особое внимание обращают на соблюдение техники безопасности при работе с газовыми и электрическими приборами. Затем получают от преподавателя задание и самостоятельно стерилизуют подготовленные ими инструмент, посуду, материалы.

Стерилизация кипячением. Кипячением обеззараживают: металлический инструмент и влагиалищные зеркала; резиновые трубки, пробки и катетеры для осеменения кобыл; иглы и шприцы для многократного пользования; стеклянные банки и склянки, расширители влагиалища и шприцы-катетеры. Стерилизация проводится в хирургических электрических, а также простых стерилизаторах и специальных стерилизаторах для искусственных вагин.

Металлический инструмент (ножницы, пинцеты и корнцанги, шприцы для осеменения ШО-3 и ШО-4 и трансплантации зародышей, расширитель шейки матки, подставки для инструментов и др.) и влагиалищные зеркала кипятят в дистиллированной или очищенной воде в течение 15–20 мин. Чтобы они не покрывались ржавчиной, их нужно опускать сразу в кипящую воду, а режущий и колющий инструмент (скальпели, ножницы, иглы и пр.), кроме того, обертывают марлей для предохранения от затупления. Добавление к воде 1–2% соды усиливает стерилизующий эффект и также предохраняет инструмент от ржавчины.

Шприцы для инъекций, различного типа переходники для соединения полимерных трубок, шприцы-катетеры и другие стеклянные предметы (банки, склянки и мелкая посуда) кипятят 30 мин. в дистиллированной или очищенной воде без добавления щелочей. Их кладут в воду до начала подогревания, чтобы не лопались, причем шприцы разбирают и обертывают

марлей. В шприцах-катетерах поршни индивидуально притерты к цилиндру и менять их нельзя. Поэтому при обертывании марлей к каждому шприцу прикрепляют и поршень. После этого их помещают на сетку стерилизатора, прикрытую марлей, и заливают теплой дистиллированной или очищенной водой. Стерилизатор накрывают крышкой, нагревают воду до кипения и кипятят 15–20 мин.

После кипячения инструмент и посуду вместе с сеткой извлекают из воды, кладут на крышку стерилизатора и высушивают, с горячей поверхности вода быстро испаряется. Инструмент, непосредственно контактирующий со спермой, необходимо сразу же встряхнуть, чтобы удалить из него воду, а оставшиеся капли удаляют обеззараженными марлевыми салфетками или сухими стерильными ватными тампонами. Из шприцев-катетеров воду удаляют вставленными поршнями, завертывают их в стерильную пергаментную бумагу, трехслойные марлевые салфетки или фольгу и хранят в шкафу. Собирая шприцы для инъекций и шприцы-катетеры, поршень вставляют в цилиндр лишь после остывания. Пользуются при этом стерильным пинцетом. Резиновые пробки помещают в чистые марлевые мешочки и кипятят в течение 20–25 мин. отдельно от металлического инструмента. Затем мешочки с пробками извлекают из воды и сушат в сушильном шкафу при температуре не выше 60°C.

На искусственные вагины перед кипячением (а также автоклавированием) с обоих концов закрепляют чехлы (колпаки) из холста или плотной белой ткани. После этого вагину помещают в специальный или большой хирургический стерилизатор и кипятят в течение 20 мин. После кипячения быстро извлекают из воды и некоторое время удерживают в вертикальном положении, чтобы полностью удалить воду, и кладут на подставку. Чехлы снимают непосредственно перед подготовкой к получению спермы. Если обнаружены на стенке камеры остатки воды, ее удаляют спиртовыми тампонами.

Стерилизация сухим жаром. Этим способом наиболее удобно стерилизовать стеклянную посуду, приборы и инструмент. Стерилизация проводится в электрических сушильных шкафах различных типов. Эксплуатация их осуществляется в соответствии с инструкцией по использованию. В рабочей камере сушильного шкафа температура может достигать 250–350°C. Перед стерилизацией разобранные шприцы-катетеры, мерные и пастеровские пипетки, часовые стекла и чашки Петри, а также мелкую посуду заворачивают в фильтровальную (пергаментную) бумагу или пищевую алюминиевую фольгу. При этом с банок снимают притертые крышки. Мензурки и мерные цилиндры большого объема закрывают колпаками из пергаментной бумаги или пищевой алюминиевой фольги, а колбы – ватно-марлевыми пробками. Подготовленные предметы размещают на полках сушильного шкафа, нагревают его до температуры 160–180°C и выдерживают в течение 45–60 мин. Затем шкаф выключают и после охлаждения по мере необходимости берут инструмент и посуду для использования.

Стерилизация в автоклавах. Надежным способом стерилизации спецодежды (полотенца, халаты, шапочки и косынки, фартуки, марлевые салфетки, вата), растворов, лабораторной посуды и инструмента является стерилизация паром под давлением – автоклавирование. Этот метод основан на том, что при кипении воды в герметически замкнутом приборе (автоклаве) повышается давление и температура пара. При этом температура кипения воды и давление находятся в определенной зависимости: при давлении 1, 1,2, 1,4 и 1,6 атм. температура кипения воды соответственно равна 99,1°C, 104,2°C, 108,7°C и 112,7°C. Высокая температура губительно действует на микроорганизмы и их споры. Инструмент, спецодежду, марлевые салфетки, вату упаковывают в биксы. Растворы и лабораторную посуду можно размещать непосредственно в стерилизационной камере. Горловины колб закрывают пергаментной бумагой.

Стерилизатор низкого давления Sterivar (максимальное давление 0,02 бар) специально предназначен для стерилизации искусственных вагин. Вместимость – 15 приборов.

Обеззараживание спиртом. Шприцы-катетеры (микро-шприцы) для осеменения коров и овец, металлические инструменты для соломинок можно обеззараживать путем промывания внутренней поверхности 70%-ным спиртом с последующим тщательным (5–6 раз) промыванием физиологическим раствором, 1%-ным раствором натрия гидрокарбоната или 2,9%-ным раствором натрия цитрата. Катетеры для извлечения зародышей из латексной резины полностью погружают в 96%-ный или 70%-ный спирт, а затем промывают средой Дюльбекко.

Изделия из пластмассы и резины можно стерилизовать путем погружения их в 0,5%-ный раствор хлорамина на сутки. После этого их ополаскивают стерильной дистиллированной водой и физиологическим раствором.

Наружную поверхность стеклянного или металлического инструмента для осеменения самок, а также сухие стеклянные палочки, химические термометры, пластмассовые подставки, эбонитовые палочки для смазывания искусственных вагин вазелином, пинцеты, ножницы, скальпели и другое обеззараживают путем протирания тампонами, пропитанными 96%-ным спиртом. Отработанные спиртовые тампоны складывают в специальную баночку или тампонницу и используют затем для фламбирования инструментов.

Спиртом обеззараживают также отогретые вымытые сосуды Дьюара. Сухие внутренние стенки их протирают тампонами, пропитанными 96%-ным спиртом-ректификатом.

Стерилизация фламбированием (обжиганием). Этот способ применяется обычно в полевых условиях. Для стерилизации инструмент (влажные зеркала, ножницы, пинцеты, стеклянные палочки, подставки) проводят несколько раз над не коптящим пламенем горящего спиртового тампона, спиртовки, паяльной лампы или газовой горелки. При этом стерилизуемые предметы постоянно поворачивают, медленно проводя через

верхнюю часть языка пламени, где температура наиболее высокая, и обжигают (но не прокалывают) со всех сторон, чтобы была обеззаражена вся поверхность. Стеклянные предметы фламбируют осторожно: вначале обжигают над пламенем огня на расстоянии 15–20 см, а затем приближают к нему, равномерно обрабатывая со всех сторон.

Обеззараживание паром. Этот способ в практике искусственного осеменения используется крайне редко. Стерилизация проводится в аппарате Коха или при помощи парообразователя и только для обеззараживания внутренней поверхности стеклянных банок и колб, инструмента для искусственного осеменения свиней (вагины, спермоприемники, ампулы, зонды).

В парообразователь наливают на $\frac{3}{4}$ воду, закрывают его крышкой и нагревают до кипения на электроплитке или газовой плите. Образующийся пар поступает в резиновую трубку, присоединенную к патрубку крышки. Струю пара, выходящего из трубки, направляют на обеззараживаемый инструмент. По мере выкипания воды ее подливают в колбу через воронку, разжав зажим на резиновой трубке. Продолжительность обеззараживания различных предметов (инструментов) неодинакова и зависит от их размеров, внешней температуры и силы струи пара. Обеззараживание проводят обычно в течение 3–5 мин. с того момента, когда пар начинает выходить из обеззараживаемого прибора (пар вначале конденсируется на холодных стенках инструментов). Обработанные паром инструменты нужно промывать стерильным 1%-ным раствором бикарбоната натрия или 2,9%-ным раствором лимоннокислого натрия, чтобы удалить с них оставшиеся капельки воды, которые могут неблагоприятно отразиться на качестве спермы.

Стерилизация вазелина. Белый или желтый вазелин при отсутствии репрогеля (reprojelly) используют для смазывания внутренней поверхности камер искусственных вагин, стилетов катетеров для извлечения зародышей, наружной поверхности ветвей влагалищного зеркала, рук или перчаток при вагинальном исследовании.

В стеклянную банку с притертой пробкой вазелин накладывают не слишком полно. Плотной пробкой не закрывают, чтобы во время стерилизации она не прикипела к горловине или не лопнула банка; обычно пробку помещают в наклонном положении. На дно электрической водяной бани или кастрюли кладут сложенную в несколько слоев марлю (полотно, вату) и ставят на нее банку с вазелином. В баню (кастрюлю) наливают холодную или теплую воду так, чтобы уровень ее был несколько выше уровня вазелина в банке. Электрическую баню включают в сеть, а кастрюлю ставят на электрическую или газовую плиту. После начала кипения воды и расплавления вазелина обеззараживание его продолжают 20–30 мин. После этого банку извлекают из водяной бани и дают остыть, после чего плотно закрывают пробкой.

Если после расплавления вазелина на дне банки появляется осадок, верхний (чистый) слой вазелина переливают в другую банку и стерилизуют заново. Стерилизация вазелина должна проводиться ежедневно.

Контрольные вопросы

1. Какие растворы и материалы используются при проведении искусственного осеменения? Как их готовят?
2. Как готовят раствор натрия цитрата? Какую соль используют и в какой концентрации?
3. Какие методы стерилизации материалов, посуды и инструментов, применяемых для искусственного осеменения, можно использовать?
4. Какими методами можно стерилизовать инструменты многоразового пользования из полимерных материалов или резины?

9. ОСЕМЕНЕНИЕ САМОК СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Цель занятий: приобретение студентами практических навыков диагностики течки, половой охоты и овуляции и освоение техники осеменения самок сельскохозяйственных животных.

Объекты исследований, материалы и оборудование: животные в охоте – корова, кобыла, коза (овца), свинья или манекены; станки, случная шлейка, веревки для фиксации животных; половые органы убитых самок, муляжи, рисунки, слайды; термосы или сосуды Дьюара с сохраняемой спермой; микроскопы, обогревательные столики, предметные и покровные стекла; дозаторы пипеточные (глазные пипетки) или стеклянные палочки; инструмент для осеменения спермой в соломинках и чехлы к ним из полимерных материалов, перчатки полиэтиленовые; влагалищные зеркала с осветителем или специальные расширители; шприцы-катетеры, стеклянные баночки с физиологическим раствором и 70%-ным спиртом (при использовании визо-цервикального способа осеменения), спиртовые тампоны, сухие ватные тампоны; пипетки полистироловые одноразовые и полиэтиленовые шприцы с соединительной муфтой; микро-шприцы для осеменения овец, шприц-полуавтомат; резиновый катетер с ампулой (шприцем) для осеменения кобыл; приборы УЗК-5 и ПОС-5; катетеры Melrose, фомтипа и спиретта, ПЦИО для постцервикального осеменения свиноматок и др.; металлические или пластмассовые подставки для инструмента; полотенце, вата серая и вата белая, марлевые и бумажные салфетки; пинцеты и корнцанг, ножницы прямые и Купера; раствор фурацилина, мыло, кюветы, тазы, кружка Эсмарха, ведра.

Методические указания. Методы осеменения студенты осваивают в течение нескольких занятий в акушерской (ветеринарной) клинике, в учебном пункте и на фермах. Сначала в клинике (в учебном пункте) студенты изучают технику искусственного осеменения самок различными способами на муляжах, рисунках, манекенах, животных; знакомятся с инструментом для осеменения и способами обеззараживания и подготовки его для использования. Затем студенты самостоятельно готовят инструмент и выполняют процедуру осеменения животного. При освоении способов осеменения коров под контролем преподавателя все студенты выполняют процедуру осеменения каждым из способов хотя бы на одном животном. На последующих занятиях студенты осваивают способы выявления животных в охоте и технику осеменения различными способами на фермах.

9.1. Осеменение коров и телок

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. Процесс введения спермы в половые пути самки является последним, очень важным этапом метода искусственного осеменения. Сперма должна быть введена в наиболее подходящее место и в оптимальное время в период половой охоты, по-

этому своевременному выявлению животных в охоте должно уделяться большое внимание. Знание признаков (внешних проявлений) половой охоты и ее продолжительности, а также правильный выбор метода выявления этих признаков имеют большое значение.

Половая охота проявляется в фазу эструс, когда хорошо выражены и другие феномены полового цикла – течка и половое возбуждение. Длится охота 12–18 ч, хотя может быть более продолжительной или слишком кратковременной.

Течка – процесс выделения слизи из половых органов как следствие морфологических изменений в половом аппарате самки. Характеризуется гиперемией трубчатых половых органов, новообразованием и разрастанием секреторных клеток слизистой оболочки влагалища и шейки матки и желез тела, рогов матки и яйцеводов.

Наиболее заметным изменениям подвергаются эпителиальные клетки передней части влагалища и секреторные клетки шейки матки. В середине цикла клетки влагалища варьируют от уплощенных до низких цилиндрических. В стадии проэструс происходит размножение и рост высоких цилиндрических слизеобразующих поверхностных клеток. В период эструс этот процесс усиливается, что приводит к сильному утолщению эпителия передней части влагалища.

За 12–24 ч до появления первых признаков охоты начинается обильная секреция слизи из передней части влагалища и шейки матки. Количество слизи *увеличивается в течение охоты* и затем *постепенно уменьшается к четвертому дню после охоты*. В конце течки слизь содержит хлопья из лейкоцитов; максимальная лейкоцитарная инвазия слизистой оболочки влагалища наблюдается через 2–5 дней после охоты. Эластичность слизи варьирует, максимальная она – во время охоты. В связи с эластичностью изменяется и способность слизи к кристаллизации. Наиболее хорошо выражена кристаллизация во время охоты и в течение двух последующих дней, а в другое время отсутствует. Под микроскопом в мазках кристаллы слизи расположены в виде листка папоротника. Этот феномен (*арборизация*) так же, как количество и свойства слизи зависит от уровня эстрогенов. В начале охоты слизь клейкая, прозрачная, светлая, а к концу охоты становится более вязкой. Период яркого проявления охоты характеризуется наименьшей вязкостью слизи и максимальным понижением электрического сопротивления ее, а также максимальным увлажнением слизистой оболочки преддверия влагалища. Этот период совпадает с оптимальным временем осеменения. В конце охоты по мере возрастания вязкости слизи увеличивается и ее электрическое сопротивление. Электропроводность слизи можно контролировать с помощью специальных приборов.

Диагностируют течку осмотром наружных половых органов, влагалища, шейки матки, исследованием выделяющейся из половых органов слизи, клиническими и лабораторными методами.

В мазке-отпечатке с боковой стенки преддверия влагалища в фазу проэструс обнаруживаются малые и большие промежуточные эпителиаль-

ные клетки, эритроциты, иногда лейкоциты. В фазу эструс – преимущественно большие промежуточные эпителиальные клетки, безъядерные клетки или клетки вакуолизированные с небольшим пикнотическим ядром и эритроциты. Лейкоциты встречаются редко, только в начале эструса, а в конце этой стадии доминируют безъядерные эпителиальные клетки. В фазу метэструс в мазке обнаруживается много лейкоцитов, исчезают безъядерные клетки, уменьшается число больших промежуточных клеток, появляются парабазальные клетки и малые промежуточные эпителиальные клетки, которые в последующем становятся вакуолизированными. При анэструсе в мазке преобладают парабазальные и малые промежуточные эпителиальные клетки.

Половое возбуждение (общая реакция) – изменение в поведении самки, возникающее в связи с созреванием фолликулов. Проявляется позднее течки и характеризуется ярко выраженной общей реакцией организма в виде беспокойства, отказа от корма, другими признаками. Самка проявляет «интерес» к самцу, может прыгать на него или других самок, но садку самца на себя не допускает.

Половая охота – строго специфическая, положительная сексуальная реакция самки на самца. Во время охоты самка стремится к самцу, принимает позу для полового акта, часто производит акт мочеиспускания, допускает садку и коитус. Половую охоту можно точно установить рефлексологическим методом, т.е., используя самца-пробника. Однако у коров и телок при контакте их с другими самками проявляются такие характерные для охоты признаки, которые позволяют практически безошибочно распознать ее. Знание этих признаков и умение их использовать помогают животноводам успешно организовать искусственное осеменение коров и телок без использования быков-пробников. Наиболее важными являются следующие признаки.

1. *Незадолго до начала охоты* корова обнюхивает и облизывает соседних коров, особенно их половые органы, а также подошедших близко людей. При этом спина впереди крестца выгибается, а затем сильно прогибается, хвост поднимается и опускается. Такое движение можно вызвать поглаживанием поясницы или прикосновением к вульве.

2. Слизистая оболочка преддверия влагалища припухшая, ярко розового или красного цвета, влажная и покрыта прозрачным секретом, который нередко вытекает из половой щели; поэтому пучок волос в нижнем углу вульвы всегда бывает влажным.

3. Постоянно переступает с ноги на ногу, находясь в группе коров, пытается приблизиться к другим животным в охоте (или не в охоте) и вспрыгнуть на них, иногда даже на человека.

4. *Корова в охоте* проявляет признаки общего возбуждения, чаще стоит; если кто-нибудь проходит сзади, она поднимает голову и провожает проходящего взглядом.

5. Глаза более живые, неподвижные и блестящие, зрачки расширены.

6. У некоторых коров охота сопровождается громким мычанием в течение нескольких часов или всего дня.

7. У многих животных наблюдается снижение удоя, но оно может пройти незамеченным; более обычным является затрудненное доение, так как корова задерживает молоко. Ослабевают деятельность рубца.

Если животные находятся в стаде, то признаки охоты выражены более отчетливо. Корова в охоте в 2–3 раза увеличивает двигательную активность (регистрируемую с помощью пedomетров), следует за другими животными и вспрыгивает на них, независимо от того, в охоте эти животные или нет. Наибольшая активность прыгать проявляется в конце проэструса, в эструс и в начале метэструса. Если замечено, что корова повторяет прыжки, то следует продолжить за ней наблюдение, так как возможно наступление охоты. Но этот признак не является определяющим. Он может наблюдаться и у животных, не находящихся в охоте.

8. Наиболее важным для выявления состояния охоты является поведение коровы в момент, когда на нее вспрыгивает другое животное: если она стоит спокойно или слегка уклоняется, то это указывает на наличие у нее охоты. В разгар охоты у коров проявляется, как правило, только такой типичный признак (*рефлекс неподвижности*) и лишь изредка – садка, но без совокупительных движений.



Рисунок 9.1 – Проявление рефлекса неподвижности

В это время хорошо выражены и специфические изменения в наружных половых органах. Слизь вытекает в виде длинной вязкой нити, приклеивается к ягодицам и хвосту. Если животное лежало, то сзади его можно увидеть скопление мутноватой или голубоватого цвета слизи. У телок наблюдается и четкий подъем температуры во влагалище.

У животных с «тихой овуляцией» эти изменения также имеют место. Отмечается у них и возбужденное состояние, рев, попытки вспрыгивать на других коров. Но сами они не допускают садки других животных и не являются особо «привлекательными». При осеменении таких животных может произойти оплодотворение.

При контакте коровы в охоте с быком-пробником животные облизывают друг друга, после чего корова пытается вспрыгнуть на быка прежде, чем допускает садку сама. Если корова в охоте долгое время находилась в стаде, то вследствие садок других животных у нее стирается волос и появляются ссадины на корне хвоста и седалищных буграх. Эти признаки сохраняются 4–6 дней. Но если ссадины влажные с выделением экссудата или кожа болезненна и имеет повышенную температуру, то это говорит о том, что корова в охоте или охота только что прошла.

Иногда коровы в охоте следуют за другими коровами, с фырканьем обнюхивают их половые органы, опираются головой на поясницу, поднимают хвост и помахивают им. Нередко за такими коровами активно следуют другие животные.

После охоты (в течение 10 ч) у коров наблюдается выделение прозрачной слизи; в этот период животное не допускает на себя садку животных, хотя сама может делать садки на других животных.

Наблюдается повторяемость признаков проявления и длительности половых циклов у одного и того же животного в различные годы.

Способы выявления половой охоты у коров. Для выявления охоты у коров человеком без детекторов садки и других средств или систем регистрации поведения животных целесообразно трехкратное в день наблюдение по 20–30 мин. во время движения животных. При беспривязном содержании животные должны быть помечены бирками или ошейниками с хорошо заметными номерами.

С целью более полного и своевременного выявления охоты у коров и определения оптимального времени их осеменения используют: быков-пробников или специально подготовленных коров-выявительниц охоты, видеонаблюдение, натренированных собак, детекторы охоты различных конструкций, электрометрические приборы, измерение электрического сопротивления вагинальной мускулатуры – метод Драминского, электронные системы и т.д.

На крупных фермах наблюдение можно проводить с помощью телеустановок. Очень важное значение имеет степень освещенности помещений, особенно в осенне-зимнее время.

В случае планирования сроков осеменения после отела (через 45–50 дней или другие определенные сроки) и предоставлении животным прогулок эффективно использование специальных детекторов (KaMaR), которые прикрепляются на крестце животного, а также пedomетров.

Использование быков-пробников. Так как половая охота – строго специфическая реакция самки на самца, то ее можно достоверно определить с помощью пробника. Без пробника при регулярном визуальном

наблюдении за стадом пропуски половой охоты у коров достигают 20% и более. Бык-пробник не только безошибочно выявляет охоту, но является мощным естественным стимулятором, способствующим своевременному и полноценному проявлению половой цикличности после родов. Быков-пробников используют с 13–14-месячного возраста для выявления охоты у телок и с 15–16-месячного – у коров. К пробникам с низкой живой массой коровы иногда проявляют агрессивность; с помощью таких пробников тестируют коров на наличие охоты под контролем человека. Разработано много способов подготовки быков-пробников. Одним из способов является вазэктомия (перерезка семяпроводов). До начала использования от вазэктомированного пробника необходимо дважды получить в искусственную вагину и проверить под микроскопом выделенный им секрет: если операция сделана правильно, сперматозоидов в секрете не будет.

Использование пробников эффективно при правильной организации работы с ними. Главным условием является непродолжительное пребывание пробников в загоне среди коров или телок (утром и вечером не более 1,5–2 ч). С этой целью необходимо на каждой ферме иметь специальный загон, в который выпускают вместе с пробником коров после отела (за одну–две недели до планируемого осеменения), бесплодных коров, ремонтных телок (с 13–15 мес.), а также осемененных коров и телок (с 17-го по 25-й день после осеменения). В летний период пробу проводят в загоне перед выгоном животных на пастбище и после возвращения их с пастбы. Коров, у которых выявлена охота, немедленно выводят из загона и осеменяют, а пробника оставляют для общения с другими животными.

Пробника нельзя оставлять постоянно в стаде, так как половая активность его будет снижаться. В зимний период быка-пробника выпускают на прогулку вместе с коровами утром или днем. Вечером пробника медленно проводят по проходу скотного двора. В плохую погоду вечернюю и утреннюю пробу на охоту проводят в коровнике.

На молочном комплексе на 800 коров при пункте осеменения содержат четырех пробников и используют их попеременно (по два в день). Во всех случаях строго соблюдают принцип «дозированного» общения пробников с коровами и телками и постоянно контролируют их использование.

Вместо быков-пробников могут быть использованы подготовленные (*андрогенизированные*) коровы-выявительницы охоты. Наиболее подходящими для подготовки являются корвы с фолликулярными кистами яичников.

Таким коровам периодически вводится синтетический половой гормон – тестостерон, стимулирующий поведение, присущее быкам. Наибольшим преимуществом андрогенизированных коров является легкость их подготовки. Обычная инъекция тестостерона или многоразовый ушной имплантант – это все, что необходимо. Дополнительным преимуществом является и то, что таких коровам легче и безопаснее использовать, чем быков-пробников. На морду животного-пробника надевают маркер-намордник. Он необходим для маркировки коров в охоте, которых будет выявлять пробник.



Рисунок 9.2 – Маркер-намордник

Маркер-намордник состоит из емкости с краской и стального шарового клапана, прикрепленных к прочному кожаному недоузду. Когда животное-пробник делает садку на корову, находящуюся в половой охоте, то устройство действует как огромная шариковая ручка, оставляя отметку на спине и крестце коровы. По ней легко выделить эту корову для осеменения.

Видеонаблюдение. Этот метод предполагает ведение видеонаблюдения и фиксирование поведения животных на ограниченной площади, что требует внимательного анализа ежедневных видеозаписей и основывается на субъективном толковании поведения коров.

Измерение температуры. Термометрия является одним из объективных методов определения того, что самки рогатого скота готовы к спариванию. Во время овуляции температура тела поднимается на $0,2\text{--}0,3^{\circ}\text{C}$ с предыдущего дня. Измерение проводится при помощи специального термометра, который помещают в прямую кишку. Измерения температуры можно проводить на свежем молоке, которое только что было получено после доения. Четкое повышение температуры регистрируется у 25% животных. Но так как это неспецифический признак при овуляции, его нельзя перепутать с проявлением инфекционного заболевания или другими факторами (например, перегревание).

Детекторы садок. «Детектор садок» приклеивается вдоль средней линии спины коровы непосредственно перед основанием хвоста. «Сработавший» детектор указывает на то, что, на корову делались садки. Использование детекторов позволяет своевременно выявлять коров в половой охоте и тем самым значительно улучшить воспроизводство стада за счет сокращения периодов между отелами.

Экспериментальная оценка дает противоречивые результаты. В качестве объяснений приводятся, в частности, такие обстоятельства, как потеря детектора, слабая активность при холодной погоде, а также большая доля ложных положительных результатов при плотном размещении животных.

Но современные технологии позволили усложнить детектор садки. Некоторые детекторы показывают с помощью мигания, сколько садок было сделано и сколько времени прошло с момента последней садки.

Наиболее сложный детектор представляет собой работающий на батарейках прибор, восприимчивый к давлению и передающий радиосигнал, принимаемый передатчиком. Сигнал затем оцифровывается и сохраняется в компьютере в совокупности с датой, временем, продолжительностью каждой садки и идентификационным номером коровы. Такой детектор широко используется в США.

Детектор садки Katar (рис. 9.3). Детектор определения охоты «КАМАР» был специально разработан для определения физиологической активности животных особенно в тех случаях, когда по ряду причин общепринятый метод визуального наблюдения или не действует, или дает результат слишком поздно. Причины этого: недобросовестный обслуживающий персонал, большое скопление скота в одном месте (например, отгонное пастбище), постоянно теряющиеся ушные бирки и, как следствие, невозможность идентифицировать животное, которое пришло в охоту.

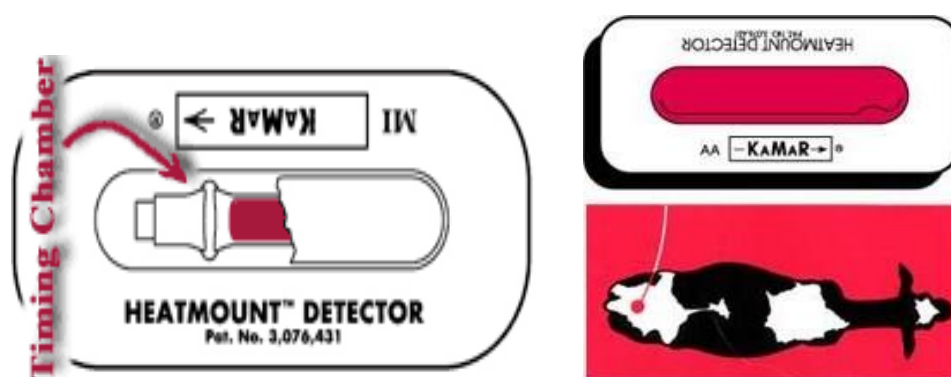


Рисунок 9.3 – Детектор садки Katar

Это пластмассовое устройство приклеивается к корню хвоста коровы, подлежащей осеменению. Продолжительное давление, оказываемое подгрудком животного, делающего садку, окрашивает детектор из белого в красный цвет. Требуется не менее трех секунд давления полным весом, чтобы детектор изменил цвет. Это означает, что корова должна стоять, чтобы на нее сделали садку, а не просто пытались вспрыгнуть. Наиболее точным свидетельством того, что корова стояла в момент садки, является полное, а не частичное окрашивание детектора в красный цвет. Применение детекторов Katar не рекомендуется там, где скот имеет доступ к низкорастущим веткам или густым зарослям, или имеются щетки-чесалки. Трение может быть причиной ложных показаний или же ветки просто сорвут детектор с коровы. Применение данного метода рекомендовано в сочетании с другими методами определения половой охоты. Обычный коэффициент эффективности – 52,5%.

Наклейка-детектор для определения половой охоты коров AMBIC AiAlert (рис. 9.4). Наклейка-детектор AiAlert (Великобритания) – простое

самоклеящееся устройство, обеспечивающее эффективное визуальное определение половой охоты коров. Наклейка-детектор AMBIC может использоваться как в молочном, так и в мясном животноводстве. Детектор половой охоты AiAlert содержит чувствительные к давлению капсулы, которые приводятся в действие (активируются) в случае давления на корову при садке на нее другой коровы в стаде. Детектор обеспечивает выявление самок в половой охоте, проявляющих «рефлекс неподвижности» и допускающих садки других коров. Детектор очень прост в использовании, легко и надежно крепится к телу коровы.



Рисунок 9.4 – Наклейка-детектор для определения половой охоты коров AMBIC AiAlert

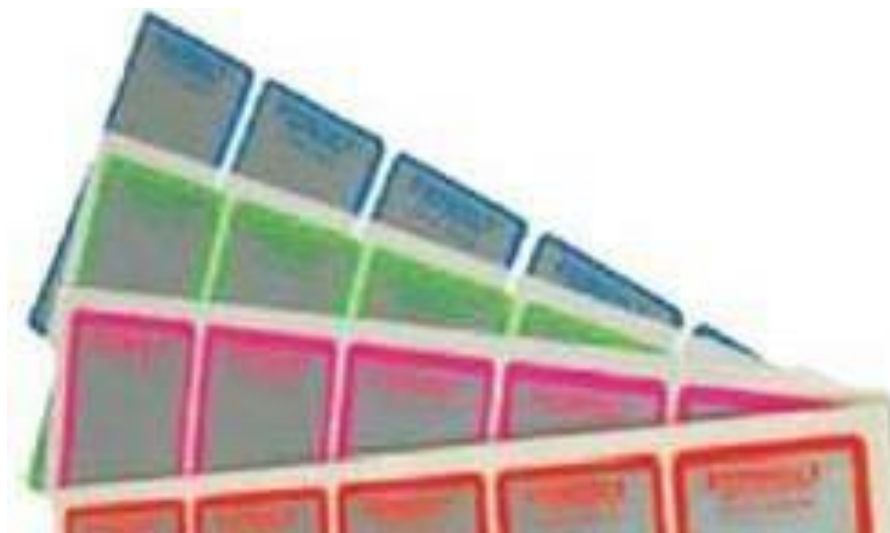
Самоклеящаяся сторона имеет большую площадь для лучшего сцепления. Наклеивается на тщательно очищенное от грязи, пыли, выпавшей шерсти место на спине коровы, которое будет подвергаться давлению, поперек позвоночника. Правильное расположение имеет очень большое значение для сохранения и оптимальной активации детектора. Перед применением для улучшения сцепления наклейку рекомендуется слегка нагреть (примерно до температуры тела). Не приклеивать в условиях повышенной влажности – только на сухую поверхность. Детектор имеет встроенный механизм временной задержки, примерно на 3 секунды задерживающий активацию капсулы, который позволяет избежать ложного срабатывания.

Детекторные пластины охоты «Эстротект» (рис. 9.5) фиксируют состояние половой охоты у коров, при которой они допускают садки других животных. Детекторные пластины «Эстротект» представлены в 4 цветах: красный/оранжевый; зеленый; голубой; розовый.

Красные/оранжевые пластины: прикрепляются на животных, которые еще не подвергались осеменению. После осеменения самок эти отработанные пластины удаляются.

Зеленые пластины: через две недели после осеменения на этих животных прикрепляются пластины зеленого цвета, т.к. не оплодотворившиеся самки снова придут в охоту через 3 недели.

Розовые пластины: прикрепляются на коров или телок, которые не оплодотворились после многократного искусственного осеменения и нуждаются в уточнении диагноза, лечении и дальнейшем наблюдении.



а



б

Рисунок 9.5. Детекторные пластины «Эстротекст»:

а – нельзя осеменять;

б – можно осеменять

Синие пластины: используются на животных, которые уже подвергались лечению гинекологических заболеваний.

Детекторные пластины прикрепляются на корову в области между маклаками и основанием хвоста поперек позвоночника. Поверхностный серебристый слой фольги стирается с пластины при садках на корову или телку во время охоты других самок. Постепенное стирание поверхностного слоя пластин свидетельствует о наступлении у самок признаков охоты. Наиболее интенсивное окрашивание пластины свидетельствует о наличии у коровы рефлекса неподвижности и половой охоты.

Необходимо помнить, что выборку животных в состоянии охоты следует проводить трижды в день, а окраску пластин у животных проверять при каждом доении. Детекторные пластины «Эстротекст» повышают точность выборки животных в состоянии охоты с 50 до 75%, обеспечивают оплодотворяемость 50% при первом осеменении, позволяют уменьшить межотельный интервал на 21 день. В случае если оплодотворяемость коров в стаде при первом осеменении меньше 50%, то эффективность от применения *эстротекста* будет еще выше.

Скретч-карты. Многие компании предлагают скретч-карты для выявления охоты (рис. 9.6). Продукт относительно дешевый. Эти карты

обычно продаются с липким слоем на обратной стороне, но для некоторых необходимо использовать специальный клей, чтобы прикрепить их на корень хвоста. Когда на корову осуществляется садка, карта стирается и меняет цвет, что свидетельствует о том, что корову можно осеменить.

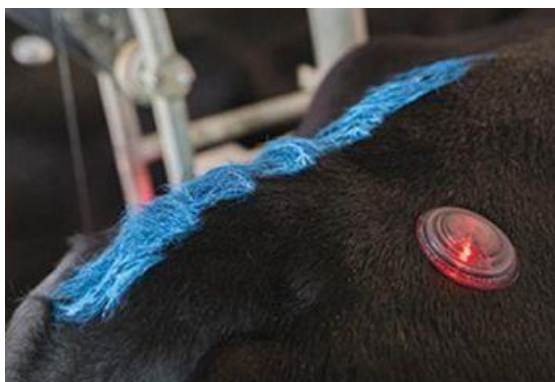


Рисунок 9.6 – Скретч-карты

Флэш-детектор половой охоты. Флэш-детектор охоты размещают у корня хвоста (рис. 9.7). Его можно использовать вместе с маркировкой краской. Устройство разработано таким образом, что оно может оставаться на теле коровы в течение нескольких периодов охоты и сообщать технику ИО о ее наступлении. При этом детектор приобретает красный цвет. В каждое устройство встроен сенсорный микрочип. Этот чип анализирует активное выявление охоты у животных 24 часа в сутки и 7 дней в неделю. Также чип определяет скрытую охоту, что дает возможность получить дополнительный процент стельности в стаде.

Более практичным способом является *нанесение на спину широкой полосы* мелом, специальной краской или карандашом для хвоста. *Карандаши* (рис. 9.7) применяются широко в США в крупных предприятиях. Полоса яркого цвета наносится в районе основания хвоста. Животные, делающие садку, стирают полосу.

Многие большие молочные фермы в США, в частности, в южных, юго-западных штатах и на Западном побережье для выявления половой охоты практикуют дешевый метод – нанесение мела на основание хвоста. Работники молочных ферм втирают мел на участке от излучин до выступов тонкими полосками летом и толстыми – зимой. Животные совершают садку на корову с проявлением рефлекса неподвижности и размазывают или стирают мел. Для этой цели годится также окраска основания хвоста.



Флеш-детектор половой охоты



Рисунок 9.7 – Детекторы садок: слева сверху флеш-детектор половой охоты; слева внизу нанесение на спину полосы специальной краской; справа сверху нанесение на спину полосы карандашом для хвоста, справа внизу – карандаши для нанесения полосы

Используют зеленую, красную, синюю и желтую краски для маркировки. Одна из компаний-производителей даже предложила свою тракторку цветов.

1. Наносить красную краску на корни хвоста всем коровам, которые отелились 3 недели назад. Если краска стерлась, это показатель того, что у коровы начался цикл. Если корова не приходит в охоту после отела, нужно провести лечебные процедуры.

2. Наносить зеленую краску до того, как начинать программу искусственного осеменения. Стертая краска свидетельствует о том, что корова пришла в охоту.

3. Наносить синюю краску, сразу после искусственного осеменения. Это будет указывать на то, что процедуру осеменения уже провели.

4. Наносить желтую краску, если стельность коровы подтверждена.

Считается, что такой способ повышает эффективность выявления половой охоты, однако в небольших помещениях и при плотном размещении животных количество ложно-положительных результатов повышается. Ис-

следования показывают, что ошибка в определении половой охоты методом нанесения мела на корень хвоста гораздо выше, чем при визуальном наблюдении.

Измерение электрического сопротивления вагинальной мускулатуры – метод Драминского. Изменения электрического сопротивления вагинальной мускулатуры измеряются при помощи так называемого аппарата Драминского, имеющего интравагинальный зонд. Для обеспечения надежности этого способа необходимо наличие тщательно зафиксированных результатов, полученных для каждой коровы при прошлом эструсе, и не менее двух результатов в текущем эструсе. Одиночные данные могут быть неверно истолкованы (используются стандартные значения, однако индивидуальные отклонения также имеют место).

Определение уровня прогестерона в молоке (крови) является наиболее достоверным лабораторным методом контроля генеративной и эндокринной функций яичников. На протяжении нормального 18–24-дневного цикла у коровы уровень прогестерона низкий только в последние 3–4 дня до овуляции и в течение первых трех дней после охоты. Наиболее низкие показатели уровня гормона перед началом половой охоты, в период охоты и сразу после ее окончания.

Для определения содержания прогестерона в условиях фермы разработаны простые тесты на основе системы ELISA. Одним из таких тестов является *P4 Rapid*. Тест позволяет выбрать оптимальное время для осеменения.

На рис. 9.8 слева показаны три полоски. Полоска опускается в пробирку с исследуемым молоком так, чтобы вся ее нижняя часть белого цвета разместилась в молоке, и выдерживается 5 минут. Затем извлекается из пробирки, слегка просушивается и читается результат.

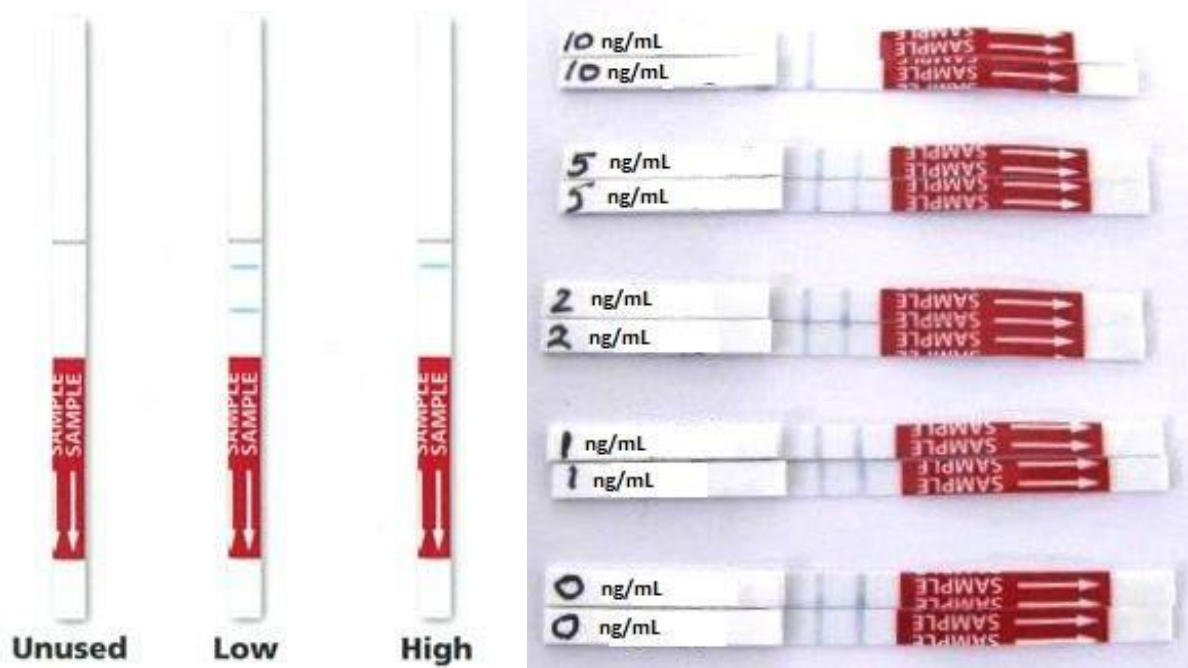


**Рисунок 9.8 – Тест-полоски P4 Rapid
для определения содержания прогестерона в молоке**

Верхняя голубая линия (на двух полосках справа) – контрольная. Такая же четкая линия нижняя (средняя полоска) указывает на отсутствие или низкое содержание прогестерона (Low). Отсутствие нижней линии (полоска справа) указывает на высокое содержание прогестерона (High). Чем темнее нижняя линия, тем ниже уровень прогестерона. Пять пар полосок справа, расположенных горизонтально, указывают ориентировочно на возможное количественное содержание прогестерона в исследуемом молоке. **На неиспользованной полоске (слева, Unused) отсутствуют обе линии.**

При использовании теста важно не только объективно оценить его результат, но и дать соответствующую оценку состояния яичников животного, а при необходимости применить какой-либо протокол стимуляции или синхронизации половой охоты и обеспечить его высокий результат.

Низкий уровень содержания прогестерона сам по себе не является верным признаком половой охоты. Поэтому проверка молока на содержание прогестерона должна дополнять, но не заменять визуальные наблюдения.

Контрольные списки. Многие работники молочных ферм для выявления половой охоты используют контрольные списки в качестве составной части программы здоровья стада. Такой 24-дневный список должен включать всех неосемененных коров, отелившихся более 30 дней назад. По крайней мере, 85% этих коров должны быть замечены в охоте через 24 дня после составления списка.

Другим косвенным средством выявления охоты является процент коров, осмотренных ветеринарным врачом с целью определения стельности и оказавшихся стельными, хотя на эту цифру в значительной степени могут влиять такие факторы, как цикличность коровы, здоровье копыт, поверхность для опоры конечностей и группирование коров. Возможны значения выше 70%, если животные проверялись на стельность >40 дней после осеменения, но более обычны значения 50–60%, если используется диагностика ранней стельности и повторная синхронизация.

Система HeatWatch (рис. 9.9) – это электронная монтируемая система определения охоты с электронными чувствительными к давлению передатчиками, помещенными внутри одноразового хлопкового мешочка или полиэфирного пластыря, который приклеивается к корню хвоста. Когда на корову или телку делается садка, передатчик включается и посылает приемнику сигнал. Приемник – это небольшая коробочка, расположенная в полутора километрах от места, где животные делают садки. Приемник отправляет информацию о произведенной садке по проводу к другому небольшому устройству – буферу. Это устройство хранит информацию до тех пор, пока к ней не получит доступ программа персонального компьютера HeatWatch. Программа накапливает такую информацию и дает возможность пользователю рассмотреть ее на экране в виде графиков и списков. Гарантированное расстояние между передатчиком и приемником – 400 метров, сигнал будет проходить сквозь объекты и некоторые построй-

ки, хотя металлические строения могут иметь зоны, через которые сигнал может не пройти.

Предоставленная разнообразная информация включает в себя всю активность садок, а также, на какую из коров была сделана садка. Информация о садках хранится так долго, как это необходимо пользователю.

Если передатчик не работает, компьютер сообщит пользователю о необходимости вмешаться. Срок службы батарей в этих устройствах – один год, прогнозируемая долговечность – два года. Гарантированное расстояние между передатчиком и приемником – 400 метров, сигнал будет проходить сквозь объекты и некоторые постройки, хотя металлические строения могут иметь зоны, через которые сигнал может не пройти.

Преимущества HeatWatch: контроль половой охоты животных в течение 24 часов в день; можно использовать на коровах и телках, будь они дойными или нет; показывает действительные садки, а не только активность; не требует дорогих ограждений или ворот; показывает до минуты время начала садки.

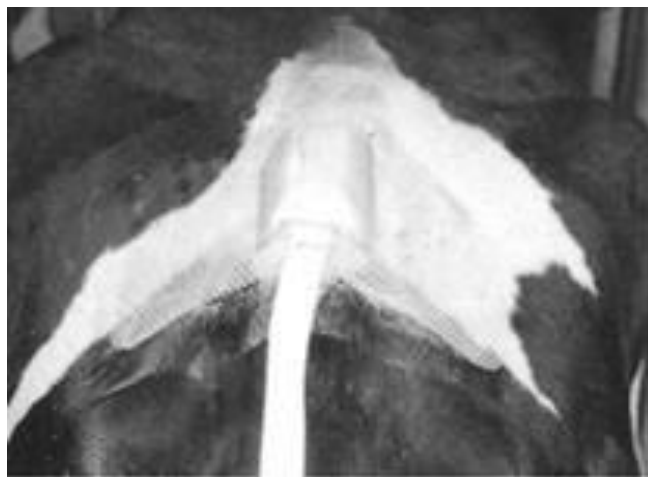


Рисунок 9.9 – Система HeatWatch

Педометрия – один из способов определения охоты у коров. Базируется на фиксации двигательной активности у животного. Для этого используется специальный прибор, который имеет встроенный измеритель шагов. Закрепляют педометр на ноге телки или коровы, или же он устанавливается в ошейник. При движении животного возникают электрические импульсы, которые фиксируются устройством. Уже через день можно получить показания, чтобы в дальнейшем иметь среднее значение активности, которое рассчитывается на протяжении 10 дней в течение 2 часов. Полученный показатель можно сравнивать с текущими значениями для выявления отклонений от среднего уровня активности. Данный способ удобен тем, что фиксировать среднее значение можно вне зависимости от того, где находится животное.

Эффективность фиксирования охоты у животных через педометрию составляет 92%. Результативность устройства значительно выше, если за-

креплять его на ноге, а не на шее у животного. Пedomетр не доставляет корове дискомфорта или стресса и может носиться в любое время.

Успешное распознавание охоты посредством определения двигательной активности практикуется фирмой GEA FARM TECHNOLOGIES (Геафармтехнология) с начала 90-х годов. При хороших условиях можно добиться степени распознавания охоты более 90%, так что на многих предприятиях визуальное наблюдение за активностью было сведено к минимуму или полностью отменено. Прибор рескаунтер (рис. 9.10), в который встроен пedomетр или измеритель активности, размещается на шее или ноге коровы.



Рисунок 9.10 – Рескаунтер (слева) и пedomетр (справа) на правой передней конечности

Вследствие активности коровы, специальная схема в пedomетре считывает и записывает электрические импульсы. Рескаунтер одновременно принимает на себя функцию распознавания, так что показания счетчика передаются вместе с идентификацией. Rescounter III (ножной или шейный) может использоваться параллельно с его предшественником Rescounter II как в качестве элемента действующих систем, так и для расширения их возможностей. Информация с рескаунтеров передается в программу управления стадом DairyPlan C21.

Встроенный микропроцессор регистрирует типичную 24-часовую активность. При сравнении со средним показателем по стаду можно определить оптимальное время для осеменения. Используются пedomетры также для идентификации и контроля состояния здоровья животных.

Рескаунтеры, помимо текущих данных активности, сохраняют также данные 14 последних периодов по 2 ч (временной период 28 часов). По-

этому они предоставляют улучшенную базу данных для оценки. В программе DairyPlan C21 могут сохраняться более 100 индивидуальных параметров каждого животного. Последнее значение 2 ч в рескаунтере заменяется новым значением 2 ч, так что в общем имеется 14 значений. После считывания данных на передатчике/приемнике эти 14 значений сохраняются. На основании «Активности 2 ч» осуществляются оценки для определения отклонений. Для каждого животного для каждого из периодов по 2 ч рассчитывается среднее значение активности за последние 10 дней. Эти средние значения сравниваются с текущими результатами измерений текущих периодов 2 ч.

Например, все периоды по 12 часов всегда сравниваются с текущими периодами по 12 часов, или все периоды по 20 часов – с текущими периодами по 20 часов.

На основании установленного в DPSetup предельного значения DairyPlan в конце концов определяет, существует ли подозрение или предупреждение о повышенной активности. У животных, у которых активность сильно меняется, необходимо увеличить стандартные предельные значения, чтобы не допустить возникновения большого количества ложных тревожных сообщений. Эти результаты могут быть выведены в списке тревожных сообщений.

Если в период между 12 и 24 ч после повышенной активности ухудшается результат осеменения только на минимальную величину, то затем он существенно уменьшается. Показываемое время служит для выбора оптимального момента осеменения.

Принцип распознавания охоты: с помощью тревожных списков показываются коровы, которые в нескольких периодах проявляют повышенную активность по сравнению с другими в этих периодах. Однако не все коровы во время охоты показывают повышение активности в равной степени. Высокая активность может также быть вызвана, например, ветеринарным лечением или борьбой за ранг в стаде. Заболевания, напротив, могут привести к снижению активности и, таким образом, ослабить симптомы охоты. Переходы от одной стадии активности к другой являются плавными. При этом могут появиться две проблемы:

- в списке содержится очень мало животных с фактической охотой (слишком высокие граничные значения);
- в списке содержится очень много животных с отсутствием охоты (слишком низкие граничные значения).

Оптимальным граничным значением всегда является компромисс между двумя эффектами, и оно должно согласовываться с потребностями каждого предприятия. Для этого необходимо при определенных условиях осуществить несколько небольших мероприятий по согласованию.

Для поддержания небольшого числа уже упомянутых ошибочных тревог в список контроля охоты вводятся другие граничные значения (логические граничные значения). Списки составляются таким образом, что показываются только животные в состоянии Bereit (готова) до Besamt

(осеменена). Если все календарные данные введены правильно, то благодаря этим граничным значениям в списке фактически появятся только животные с высокой активностью из-за охоты.

Система «Ovi-bovi» является отечественным аналогом зарубежных систем автоматического обнаружения половой охоты по двигательной активности (ТУ ВУ 191640612.001-2016). Датчик «Ovi-bovi» отслеживает двигательную активность коровы и передает данные на расстояние от 2 до 5 км в безлицензионной полосе 433 МГц.

Задача выявления коров в охоте – по экономической значимости одна из важнейших в молочном скотоводстве, и особенно остро стоит в крупных хозяйствах, где визуальное определение охоты затруднено. Система «Ovi-bovi» с успехом применяется и при осеменении телок начиная с 11-месячного возраста: например, на МТФ «Чачково» агрокомбината «Ждановичи». Датчики «Ovi-bovi» закрепляются на стандартные ошейники шириной 4 см совершенно произвольно и не нуждаются в подзарядке 10 лет (рис. 9.11).

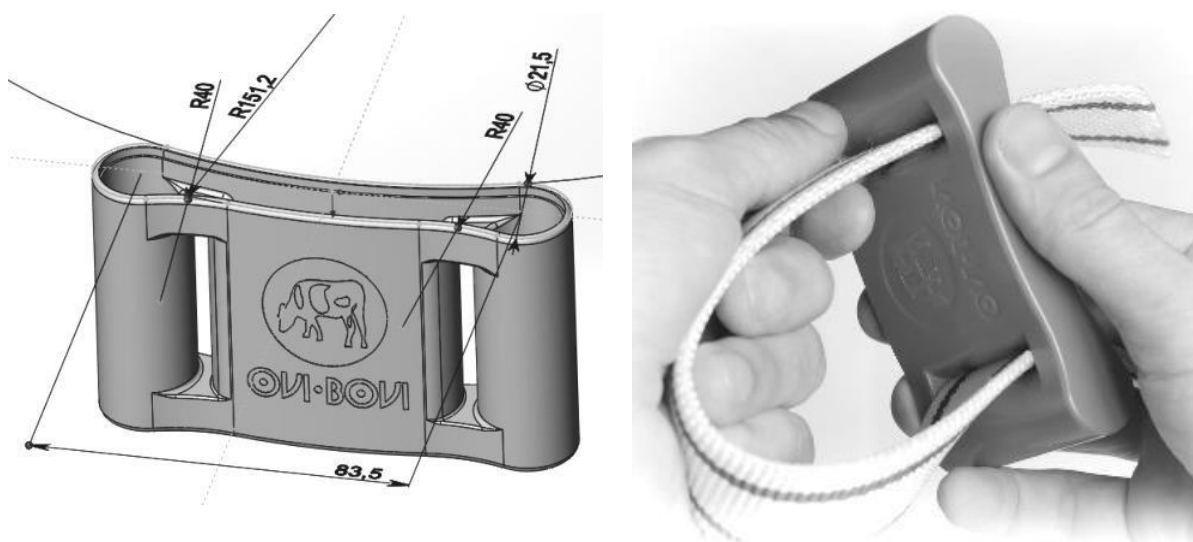


Рисунок 9.11 – Датчики «Ovi-bovi»

Датчик можно перемещать с коровы на корову неограниченное число раз; число датчиков, приходящихся на один приемник «Ovi-bovi», практически не ограничено. Информация об активности коров (рис. 9.12) передается каждым датчиком раз в 15 минут на расстояние до двух, а при благоприятных условиях – до 5 и более км (фактическая дальность зависит от высоты установки приемной антенны, рельефа местности и других факторов).

Коровы, определенные системой как пришедшие в охоту, отображаются микро-графиками активности в разделе «Охота» в доступном через браузер приложении «Ovi-bovi». Данные об активности каждой коровы с пятиминутной детализацией хранятся в системе и могут быть легко просмотрены пользователем (см. рис. 9.12: животное пришло в половую охоту 11 часов назад).

В дополнение к основному радио-интерфейсу датчики «Ovi-bovi» имеют чипы NFC с радио-интерфейсом ISO 15693 (13,56 МГц), читаемые любым устройством с поддержкой стандарта ISO 15693, которое только может оказаться на ферме. А если коснуться датчика смартфоном, на нем сразу же откроется веб-страница коровы, связанной с этим датчиком.

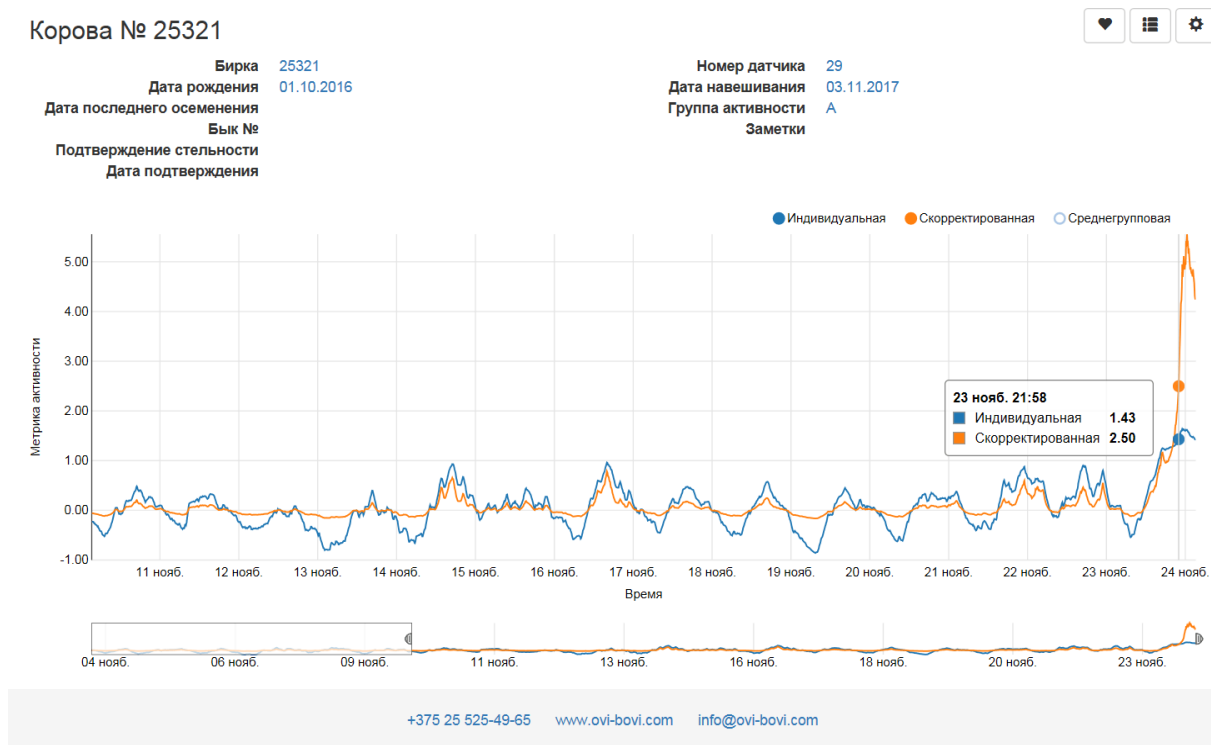


Рисунок 9.12 – Данные об активности коровы с детализацией

Выявление половой охоты у коров с использованием сложных устройств идентификации. Примером является система идентификации на доильном роботе «Лели Астронавт». Компания SCR разработала системы мониторинга LelyQwes-H и LelyQwes-HR, которые идентифицируют корову и измеряют ее активность.

Активность измеряется с помощью уникального метода. В бирку встроен датчик ускорения, микропроцессор и память, которые позволяют регистрировать общие показатели активности (рис. 9.13 и 9.14).

Данный индекс в количественной форме измеряет движения коровы, например – хождение, бег, лежание, вставание, движения головы и т.п. Индекс активности сохраняется отдельно в памяти бирки каждые два часа.

Такая отдельная регистрация данных позволяет осуществлять текущий контроль активности коровы в течение времени с большой точностью, независимо от временных интервалов между считыванием показателей с бирки. Дополнительная информация вместе с управляющим программным обеспечением T4C также позволяет отличать аномальную активность, связанную с половой охотой, от других видов деятельности, например, выгула на пастбище и т.д. Бирка хранит данные в течение 24 часов.

Система идентификации коров (Qwes) разработана для идентификации коровы, когда она в работе или другом устройстве, а также передачи и получения данных для программы управления T4C. В зависимости от типа используемых передатчиков, данные о тепловой и/или жевательной активности отслеживаются и передаются в программу T4C.

Помимо выявления охоты, ошейник LelyQwes-HR позволяет получить оперативную информацию об активности пережевывания жвачки по каждой отдельной корове, что является показателем состояния здоровья животного, а также дает возможность получить полезные сведения, касающиеся кормления стада и управления им (рис. 9.15).

☐	Номер коровы	Дата рождения	Персональный номер	Дни лакт.	Действия по календарю	Активность	Дата и время активности	Общее количество минут жевания жвачки	Дневная выработка
Ср. кол-во молока SUM									17
									3670
☐	1	01/08/2010	BY 201681			24	26/09/12 08:00	584	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			35	26/09/12 10:00	559	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			36	26/09/12 12:00	577	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			30	26/09/12 14:00	587	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			14	26/09/12 16:00	571	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			17	26/09/12 18:00	601	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			21	26/09/12 20:00	608	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			25	26/09/12 22:00	615	
☐	1	01/08/2010	BY 201681	8		28	27/09/12 00:00	597	17.4
☐	1	01/08/2010	BY 201681			19	27/09/12 02:00	561	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			20	27/09/12 04:00	577	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			17	27/09/12 06:00	594	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			35	27/09/12 08:00	588	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			29	27/09/12 10:00	618	
☐	1	01/08/2010	BY 201681			30	27/09/12 12:00	635	

Рисунок 9.13 – Таблица активности коров

Редактировать

Скопировать

Удалить

Печатать

Экспорт

Расписание

Настройки

Действие

Выполнить

Закрыть

Ферма

Название :

BQCHA Farm

Адрес :

Город :

Подсчет2

Кондиция - Вероятность периода охоты

01/12/2012 11:37:18

☐	Номер коровы	Робот	Номер группы	№ лакт.	Дни лакт.	Состояние воспроизводства	С момента осеменения	Дни с момента охоты	Дата сигнала для привлечения внимания по поводу периода охоты	Макс. активность	Дата и время макс. активности	Вкл. жевание жвачки	Дневная выработка	Отклонение по дневному надоям	Оптимальный момент для осеменения	Примечания по состоянию здоровья
Ср. кол-во молока SUM													21.4	42.8		
☐	26	101	101	1	33	никогда не осеменялась			01/12/12 00:00	100	01/12/12 08:00 x		23.1	3.0		
☐	23	101	101	1	40	никогда не осеменялась			30/11/12 12:00	28	30/11/12 12:00		19.7	2.4		

Рисунок 9.14 – Вероятность периода охоты

Внезапное снижение активности пережевывания жвачки в сравнении с нормальными временными показателями этого процесса может указывать на потерю аппетита, переедание концентрированного корма в пересчете на килограмм фактической грубой составляющей корма, половую охоту или какое-то заболевание.



Рисунок 9.15 – График изменения показателей активности, частоты жевательных движений и продуктивности в течение полового цикла

Система определения активности коров «Унибокс». Измерение активности коров осуществляется на базе технологий, используемых в системах спутникового слежения (наличие спутниковой связи не требуется). Датчик-активометр крепится на шее животного и регистрирует специфические типы его активности. Он отслеживает ускорение движений животного, а также его вертикальные и горизонтальные перемещения. Кроме того, регистрируются движения головой, что увеличивает степень точности определения охоты даже у коров со скрытым и непродолжительным периодом охоты. Объем памяти датчика-активометра позволяет непрерывно регистрировать данные активности, хранить их в течение 48 часов и осуществлять беспроводную передачу информации на базовую приемную станцию. Базовые станции могут быть установлены в коровнике, в доильном зале, а также одновременно и там, и там. Они могут работать независимо друг от друга, могут быть и совмещены.

В случае, если базовые приемные станции установлены непосредственно в коровнике, они с регулярными интервалами считывают показатели активности с датчиков-активометров. Радиус действия каждой станции – 100 м. Если приемная станция установлена в доильном зале, считывание информации с датчика-активометра происходит, когда животное приходит на дойку.

Полученную информацию станции отсылают в компьютерную программу для анализа и сравнения активности конкретного животного с его нормальными физиологическими показателями, а также с физиологическими показателями, наблюдаемыми у остальной части стада. Там, где установлена система передачи данных на мобильный телефон, программа может при помощи SMS уведомлять персонал фермы о пришедших в охоту коровах с указанием их идентификационного номера.

Система точного определения времени осеменения и состояния здоровья коровы HEATIME от компании SCR (Израиль) (рис. 9.16).



Рисунок 9.16 – Система HEATIME

Включает в себя терминал управления (ставится в любом удобном для специалиста месте, радиоантенну диапазоном действия до 10000 м² и ошейники-транспондеры (двух видов – с определением активности, с определением активности и мониторингом жевательного процесса животного). Датчик считывает информацию о состоянии коровы на основе ее пульса, дыхания, жевательной активности, двигательной активности и передает эту информацию на центральный терминал или на программное обеспечение на ПК. Применение транспондеров с функцией мониторинга руминации (жвачки) коровы позволяет определять болезни на ранней стадии развития для принятия своевременных мер по устранению болезни. Применяется как на беспривязном, так и привязном содержании коров. Heatime постоянно наблюдает и записывает информацию об активности коровы 2-часовыми блоками. У системы самый высокий процент определения половой охоты среди оборудования данного сегмента. Эффективность определения охоты – до 95%.

Способы осеменения. Для осеменения коров и телок применяют цервикальный метод осеменения. Сперму вводят в переднюю часть шейки матки или в тело матки. Существуют три принципиально различающиеся по технике исполнения способа введения спермы в канал шейки: *визо-цервикальный*, *ректо-цервикальный* и *мано-цервикальный*. Независимо от способа введения спермы осеменение коров и телок должно проводиться на пункте или в подготовленном для этой цели помещении, где содержатся животные, с соблюдением технологических и ветеринарно-санитарных требований. При осеменении необходимо предупреждать болезненные и стрессовые реакции у животных, а также исключить возможность распространения инфекционных болезней. При маршрутно-кольцевом обслуживании нескольких пунктов оператор по искусственному осеменению может перевозить только сосуд со спермой. Другие необходимые инструменты и материалы должны быть на каждом пункте.

Перед осеменением животного специалист уточняет время, прошедшее после отела, или порядковый номер повторного осеменения; при необходимости знакомится с результатами акушерского и гинекологического исследования. Затем осматривает животное, его половые органы и выделяемую слизь. При наличии в слизи примесей гноя или крови животное не осеменяют и после осмотра его ветеринарным специалистом проводят соответствующее лечение.

После обследования животного оператор по искусственному осеменению снимает рабочий халат темного цвета, моет руки и надевает белый халат. Включает оттаиватель, чтобы температура воды достигла 38–40°C. Поверхность стола, покрытую полиэтиленовой пленкой или листом (40×60 см.) пластика, протирает спиртовым тампоном. Обрабатывает подставку для инструмента, пинцет, корнцанг, ножницы. Готовит инструмент для осеменения, оттаивает сперму и осеменяет животное одним из способов.

Визо-цервикальный способ осеменения – наиболее простой и доступный. Сущность его заключается в том, что во влагалище коровы или телки вводят теплое стерильное, соответствующее по величине влагалищное зеркало, которое предварительно увлажняют теплым изотоническим раствором натрия хлорида или натрия гидрокарбоната. В момент введения зеркало держат левой рукой так, чтобы ветви его были плотно закрыты, а ручки обращены в сторону. Начальной частью ветвей делают движение сверху вниз между половыми губами и под небольшим углом вверх и затем вперед вводят его во влагалище до упора. После этого поворачивают зеркало ручками вниз и, надавливая на них, раскрывают зеркало. Во влагалище зеркало размещают так, чтобы можно было видеть отверстие шейки матки. При осеменении в недостаточно освещенном помещении к зеркалу присоединяют осветитель.

Затем инструмент для осеменения (шприц-катетер, полистироловую пипетку с присоединенным с помощью полиэтиленовой муфты пластмассовым шприцем или современный инструмент для осеменения спермой в пайетах) вводят через зеркало в шейку матки на глубину 4–6 см и нажатием на поршень (толкатель) выдавливают сперму. Перед введением спермы зеркало несколько извлекают и уменьшают степень раскрытия влагалища (рис. 9.17).



Рисунок 9.17 – Визо-цервикальный способ искусственного осеменения

В период широкого применения визо-цервикального способа осеменения рекомендовали для использования и металлическое зеркало с вырезом на верхней ветви. Изготавливают его из обычного инструмента. Для этого срезают правый край верхней ветви в виде полоски шириной от 11–12 мм в передней, до 55–60 мм - в задней ее части. Кроме того, у основания зеркала делают дополнительный косой срез под углом 20–30°. Через такое зеркало шприц-катетер (или другой инструмент) обычным путем вводят в шейку матки. После этого катетер слегка прижимают к верхнему краю половой щели, а зеркало, повернув срезанной частью к инструменту для осеменения, вынимают осторожно из влагалища. Через 20–30 с вводят сперму в шейку матки. В момент введения спермы снимаются болевые ощущения, связанные с нахождением во влагалище металлического инструмента, это способствует естественному проявлению сократительной функции матки, глубокому размещению спермы в канале шейки и повышению процента плодотворного осеменения.

В ряде стран вместо металлического влагалищного зеркала используют стеклянный расширитель.

Для асептического проведения осеменения этим способом необходимо животное зафиксировать в станке, подмыть теплой водой половые органы и вытереть салфеткой. Воду для подмывания наливают в полиэтиленовую бутылку емкостью 500–1000 мл, а в пробке делают одно или несколько отверстий. Такую бутылку можно поместить в карман халата. Влагалищное зеркало и шприц-катетер перед осеменением каждого животного необходимо обеззаразить. Обычно зеркало (металлическое) стерилизуют кипячением в дистиллированной воде, а в полевых условиях – фламбированием; металлическую часть осветителя тщательно протирают спиртовым тампоном, шприц-катетер обеззараживают кипячением или 70%-ным спиртом.

Ранее при использовании расфасованной в стеклянные флаконы спермы для краткосрочного хранения инструментом для осеменения служил стеклянный шприц-катетер. Для его обработки были необходимы три баночки с притертыми пробками для физиологического раствора (баночки №№ 1, 3 и 4) и баночка (№ 2) для 70%-ного спирта. Кроме того, ежедневно готовили спиртовые тампоны и сухие ватные тампоны (в тампонницах), а также стерильные марлевые салфетки. Необходима была отдельная баночка для отработанного спирта, тампонница для отработанных спиртовых тампонов, толстостенная чашка для отработанных растворов и специальная пластмассовая подставка.

Перед началом работы из шприца-катетера, сохраняемого с 70%-ным спиртом, удаляют спирт, протирают наружную поверхность катетера тампоном, смоченным 96%-ным спиртом, а затем промывают его раствором из баночек № 3 и № 4 по 3–4 раза из каждой. После последнего промывания инструмент поворачивают катетером вниз и, медленно двигая поршнем шприца, удаляют остатки раствора. Подготовленный инструмент опускают в ампулу с оттаянной спермой и, медленно оттягивая поршень вверх,

набирают ее в шприц. Затем шприц поворачивают катетером вверх, несколько оттягивают поршень вниз, чтобы собрать сперму из катетера, после чего медленным движением поршня вытесняют воздух из шприца и катетера (до появления капельки спермы на кончике катетера). После осеменения животного катетер протирают сухим тампоном, промывают три–четыре раза из баночки № 1 физиологическим раствором, набирают 1–2 мл 70%-ного спирта и помещают на хранение до следующего осеменения.

В настоящее время визо-цервикальный способ осеменения коров используется крайне редко. Инструментом для осеменения обычно служит металлический инструмент для пайет.

Ректо-цервикальный способ – наиболее надежный из всех используемых в скотоводстве; заключается во введении инструмента для осеменения со спермой в шейку матки, которую фиксируют рукой через прямую кишку. Способ в одинаковой мере пригоден как для осеменения коров и телок, так и для пересадки зародышей реципиентам.

При использовании спермы, замороженной в гранулах, необходимо иметь одноразовые полистироловые пипетки, полиэтиленовый шприц с соединительной муфтой и полиэтиленовую перчатку. Для осеменения спермой в соломинах используют металлический инструмент, поверх которого надевают защитный чехол (рис. 9.18 и 9.19).

Оттаяв сперму в гранулах, оператор берет пакет с одноразовыми пипетками, протирает уголок спиртовым тампоном (со стороны незашлифованного конца пипетки) и ножницами делает небольшое отверстие. Выдвинув на одну треть длины пипетку, соединяет ее со шприцем. Затем извлекает пипетку полностью, отверстие в пакете зажимает скрепкой и после этого медленно набирает оттаянную сперму из ампулы; сперма должна заполнить переднюю часть пипетки без столбика воздуха. Подготовленный инструмент оператор помещает в свободный стерильный пакет и кладет на стол.

После оттаивания спермы в соломине оператор берет стерильный инструмент, стилет оттягивает примерно на 15 см и другой рукой



**Рисунок 9.18 – Инструмент Quicklock 2000
для искусственного осеменения коров спермой, расфасован-
ной в пайеты 0,25 и 0,50 мл**

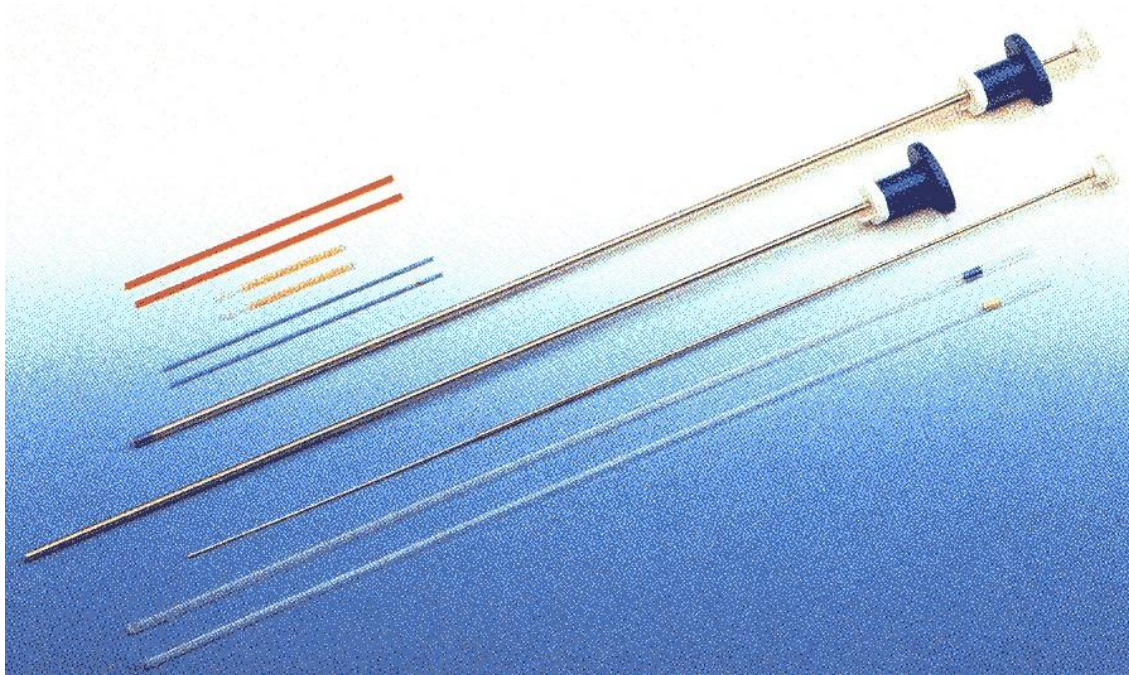


Рисунок 9.19 – Инструмент Quicklock Classic для искусственного осеменения коров спермой, расфасованной в пайеты 0,25 и 0,50 мл

вставляет соломинку до упора. При использовании соломинок Кассу ее вставляет концом с пробочкой, а запаянный конец оставляет на верш инструмента для обрезки. Если используются соломины MINITUBE, то их вставляет концом без пузырька азота, а конец ее с пузырьком отрезает острыми ножницами перпендикулярно возле самого конца инструмента (соломина не должна выступать более чем на 1–2 мм). На инструмент надевает защитный одноразовый чехол, фиксирует его в замковом устройстве. В защитных одноразовых чехлах для инструментов французского или немецкого производства имеется ползунок. При надевании на металлический инструмент со вставленной пайетой одноразового чехла ползунок смещается до конца чехла и плотно обхватывает обрезанный конец пайеты. Это предотвращает попадание спермы между чехлом и пайетой.

Для осеменения этим способом (рис. 9.20) руку в перчатке вводят в задний участок прямой кишки животного. Затем несколько отодвигают ее назад и располагают так, чтобы большой палец разместился в области промежности выше угла половой щели, а остальные четыре пальца надавливали на нижнюю стенку прямой кишки впереди ануса. Это приводит к раскрытию половой щели.

Подготовленный инструмент для осеменения (полистироловая пипетка, соединенная с помощью специальной муфты с полиэтиленовым шприцем; металлический инструмент всех типов с полипропиленовой соломиной, зафиксированной в инструменте с помощью защитного чехла; специальный металлический инструмент для облицованных гранул) вводится в половые пути по верхней стенке преддверия влагалища вначале пол углом. Если инструмент упирается в складку стенки влагалища, необходимо осторожно

рукой через стенку прямой кишки надавить на передний конец инструмента и продвинуть его вперед под углом 30–40°, чтобы не попасть в отверстие мочеиспускательного канала, а затем – горизонтально до упора в свод влагалища.

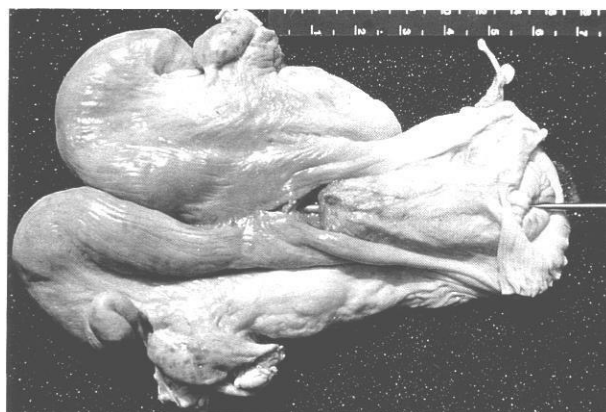
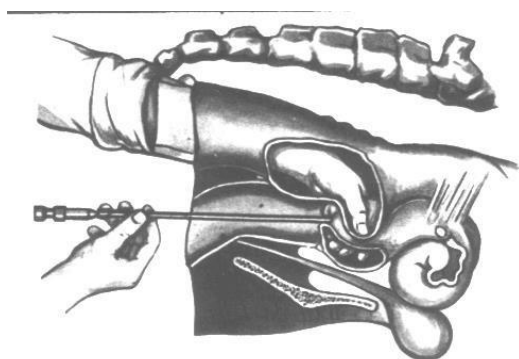
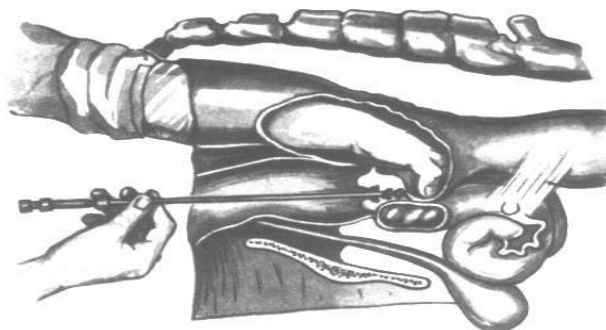
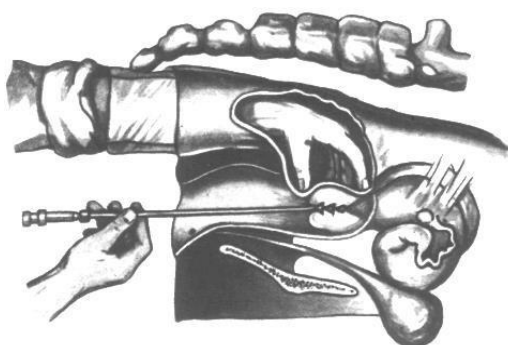


Рисунок 9.20 – Введение инструмента в шейку матки коровы ректо-цервикальным способом; положение кончика инструмента перед введением спермы

Иногда это удается сделать только после отодвигания шейки матки вперед и распрямления верхней стенки влагалища. Можно инструмент для осеменения продвигать в половые пути раньше, чем будет введена рука в прямую кишку. Для этого одной рукой раскрывают половые губы, а другой инструмент направляют во влагалище по верхней стенке. Затем руку вводят в прямую кишку. Чтобы рука легче проходила через анальное отверстие, перчатку слегка намыливают или смазывают вазелином. Перед введением можно смазать и анальное отверстие. Манипуляции по освобождению прямой кишки от каловых масс следует проводить тогда, когда сильно затруднено фиксирование шейки матки; введенный инструмент при этом оберегают от загрязнения. После полного введения инструмента во влагалище рукой через прямую кишку фиксируют шейку матки и направляют инструмент в канал шейки матки. Это наиболее трудная и ответственная операция. Для начинающих осваивать этот способ можно рекомендовать два следующих приема.

Если по толщине шейка матки не слишком большая, то сначала необходимо отодвинуть и прижать ее к боковой стенке тазовой полости. При работе правой рукой прижимают шейку к левой стенке, а если левой, то к правой стенке. Затем полностью обхватывают заднюю часть шейки так, чтобы указательный, средний и безымянный пальцы размещались снизу шейки, а большой палец фиксировал ее сверху. Мизинец должен находиться сзади устья шейки матки и на нем располагают конец инструмента. Изменяя положение кисти руки с шейкой матки в сагиттальной плоскости, можно выбрать такой момент, когда кончик инструмента совпадет с наружным отверстием шейки, после чего его достаточно легко ввести в заднюю часть канала.

Подталкивая инструмент вперед, руку в прямой кишке перемещают на переднюю часть шейки, фиксируют ее и, изменяя положение относительно инструмента в различных направлениях, «насаживают» на него полностью. Когда пальцы ощутят инструмент через тонкую стенку тела матки, его несколько отодвигают назад и, надавливая на поршень шприца или стелет других инструментов, медленно вводят сперму. Можно инструмент извлекать постепенно из канала шейки так, чтобы по крайней мере часть вводимой спермы осталась между складками шейки матки. Это способствует формированию первичного депо сперматозоидов. Более глубокое расположение такого депо, чем при естественном осеменении, позволяет уменьшить объем вводимой спермы и количество в ней подвижных сперматозоидов без снижения результатов осеменения.

Иногда диаметр шейки матки настолько велик, что трудно обхватить ее заднюю часть рукой. В этом случае четырьмя пальцами прижимают влагалищную часть шейки к лонным костям, а большим пальцем отыскивают наружное отверстие шейки и под контролем его направляют инструмент вперед. После этого, манипулируя передней частью шейки матки, полностью вводят инструмент в канал шейки матки.

При ректо-цервикальном осеменении сперму можно ввести в половые пути на различную глубину. Наиболее рациональным является введение спермы в тело матки при первом осеменении, а также при осеменении в стимулированную охоту, и в переднюю часть шейки матки при повторном осеменении. Не исключается и глубокое внутриматочное введение спермы с помощью набора ГВИО КРС (MINITUBE).

Результативность ректо-цервикального способа осеменения коров и телок выше, чем других способов. При благоприятных условиях при первом осеменении после отела оплодотворяется до 60–63% или более коров, т.е. столько же, сколько и после естественного осеменения.

При необходимости хранения и перевозки инструментов для осеменения из одного пункта в другой нередко используют чемодан осеменатора. В нем размещается оттаиватель, инструменты для осеменения, универсальные чехлы, репрогель, вагинальный расширитель Varicon, перчатки для осеменения, резак, пинцет и зажим (рис. 9.21).



Рисунок 9.21 – Чемодан осеменатора

Мано-цервикальный способ. Применение этого способа возможно только для осеменения коров с достаточно широким половым каналом.

При осеменении классическим mano-цервикальным способом сперму вводили в канал шейки матки с помощью короткого полиэтиленового катетера с присоединенной к нему ампулой непосредственно рукой. На руку надевали стерильную полиэтиленовую перчатку (рис. 9.22).

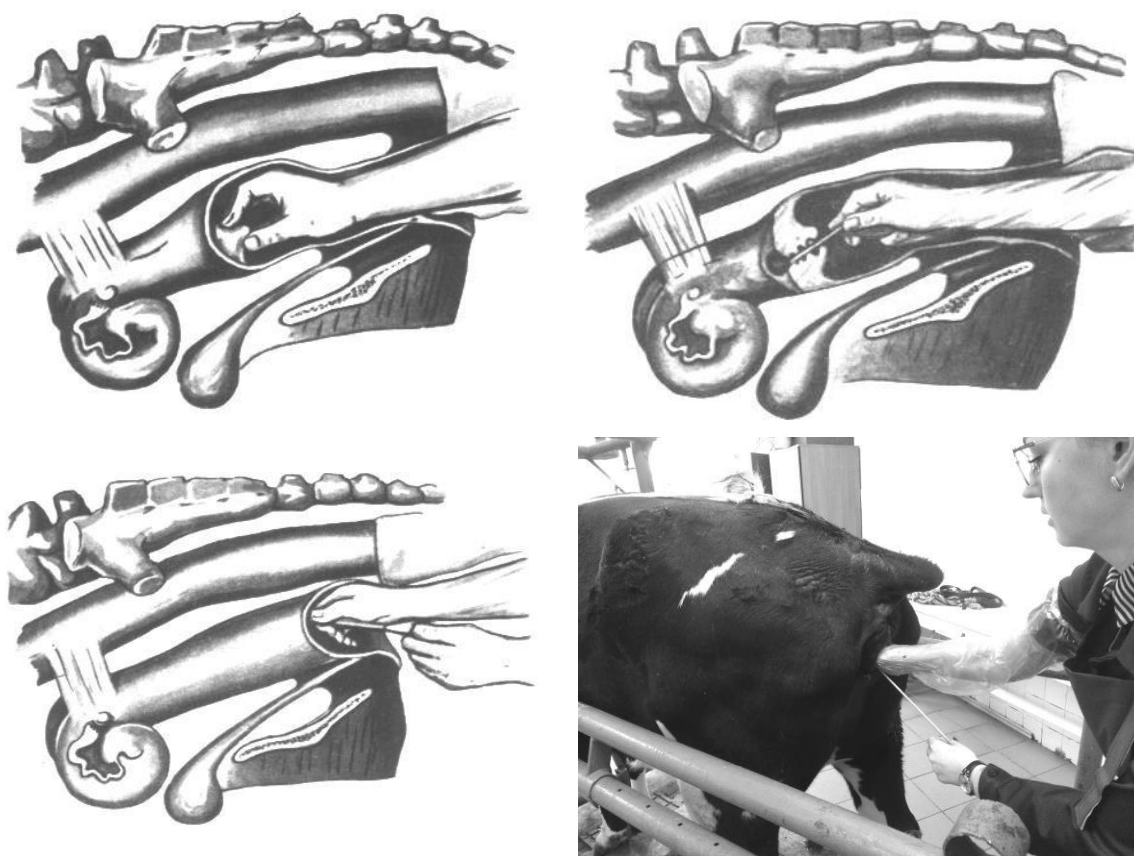


**Рисунок 9.22 – Осеменение коровы
мано-цервикальным способом**

Для введения спермы в облицованных гранулах использовался специальный инструмент – зоошприц, который состоит из цилиндрического корпуса, съемного фланца и толкателя. Так как в настоящее время сперма расфасовывается в пайеты и для замораживания и краткосрочного хранения, такие инструменты для использования не годны. При отсутствии влагалищного зеркала (вагинального расширителя) или затруднении введения инструмента при ректальной фиксации шейки матки, его можно ввести в шейку матки рукой, введенной во влагалище животного.

Сначала готовят для осеменения животное: фиксируют хвост, а наружные половые органы подмывают теплой водой (при необходимости с мылом) и дезинфицируют раствором фурацилина. На руку надевают полиэтиленовую перчатку, увлажняют ее 1%-ным раствором натрия хлорида или натрия гидрокарбоната и осторожно вводят во влагалище коровы. После нахождения влагалищной части шейки матки пальцами обхватывает ее и, поворачивая руку относительно продольной оси в одну и другую стороны, делает массаж. Корова обычно успокаивается и до конца осеменения стоит неподвижно. Шейка матки и матка периодически сокращаются. В момент расслабления матка проявляет всасывающую функцию. В это время техник, не вынимая кисти руки из влагалища, другой рукой подает подготовленный для осеменения инструмент и располагает его на ладони так, чтобы кончик его находился вблизи указательного пальца. Не меняя поло-

жения инструмента, вводит кисть руки до шейки матки и под контролем указательного пальца продвигает катетер на глубину 1,5–2 см в цервикальный канал. Затем кончиками пальцев снова начинает массировать шейку матки, а другой рукой подталкивает инструмент так, чтобы он вошел в канал на глубину (5–7 см). После этого свободной рукой, надавливая на стilet инструмента, выдавливает сперму в момент расслабления матки.

После введения спермы сначала извлекают руку из влагалища, а затем и инструмент. При уверенности достаточно глубокого введения инструмента в шейку матки его удерживают в таком положении и осторожно извлекают руку из влагалища, затем вводят сперму в шейку матки (возможно, в тело матки) и извлекают его из половых путей.

При использовании любого из трех способов наилучшие результаты получают при осеменении коров через 9–16 ч после начала охоты. Подходящее время и в период между 6 и 9 ч, а также с 16 до 28 ч. Если время начала охоты неизвестно, животное осеменяют немедленно; затем осматривают через 10–12 ч и при сохранении признаков охоты – осеменяют повторно. При длительно протекающей охоте животное следует тщательно исследовать ректально и при отсутствии патологии яичников осеменять третий раз.

Использование для осеменения телок и коров разделенной спермы.

В основе разделения или смещения соотношения сперматозоидов с Y и X хромосомами положено различие в содержании в них ДНК – в X-несущих сперматозоидах на 4 % больше ДНК. «Сексированной» принято называть сперму (семя), которая позволяет получать более 85 % потомства одного пола. В зависимости от использования двух принципиально разных технологий получают сперму, разделенную по полу, или сперму со смещенным соотношением полов.

Сперма, разделенная по полу – официальное патентованное название спермы, произведенной по технологии ST Sexed Ultra. Эта технология позволяет полностью разделить сперму на 3 фракции – сперматозоидов, несущих Y-хромосому, X-хромосому и нераспознанных (брак).

Сперма со смещенным соотношением полов – официальное патентованное название спермы, произведенной по технологии ABS Sexsel (Association of Animal Breeders). Компания ABS Global является ведущим мировым поставщиком генетики, репродуктивных услуг, технологий и средств ухода за выменем коров и в качестве подразделения входит в состав Genus plc (британской компании-лидера на рынке генетики в отрасли скотоводства и свиноводства). Штаб-квартира ABS располагается в городе Дефорест, штат Висконсин, США.

Обе технологии преследуют одну единственную цель – увеличить процент выхода телок и минимизировать влияние технологической обработки спермы на ее оплодотворяющую способность.

Технология ST Sexed Ultra. Сперма окрашивается флуоресцирующей краской Хехст (Hoechst) 33342. Через мембрану сперматозоидов проникает флуоресцирующее вещество краски bis-benzimidazol и специфически связы-

вается с А–Т парами вдоль малой бороздки ДНК. Краситель не повреждает ДНК. Сперматозоиды окрашиваются пигментами в различной степени для X и Y хромосом, затем облучаются лазером низкой интенсивности, который, в зависимости от пигмента, формирует на мембране клетки положительный или отрицательный заряд. После окрашивания сперма разбавляется специальной средой. Погибшие спермии отделяются от живых путем окрашивания пищевым красителем FD&C#40, который проникает в головки мертвых сперматозоидов, окрашивает их и нейтрализует флуоресценцию Hexas 33342 только в них, но не в живых клетках. В флуориметре (Flow cytometric sorting) формируются маленькие капельки. В каждой из них содержится один сперматозоид, в отдельных два, а некоторые не содержат сперматозоидов. Лазерный луч измеряет интенсивность флуоресценции и компьютер определяет, какую хромосому содержит сперматозоид. Капельки с Y- несущими сперматозоидами приобретают отрицательный заряд, а X- несущие – положительный. Вибрирующий пьезо элемент, разбивает поток на капли, несущие по одному сперматозоиду, и под действием мощного электромагнитного поля, разноименно заряженные сперматозоиды разделяются на 2 соответствующие фракции, а то, что не прошло разделения – брак. В соответствующих контейнерах накапливается 20 % сперматозоидов с Y-хромосомой и 20 % – с X-хромосомой. Способ имеет коммерческое значение. Применяется во многих странах. Оплодотворяющая способность спермы 75 – 90 %.

Принципиальная схема технологического процесса представлена на рис. 9.23а.

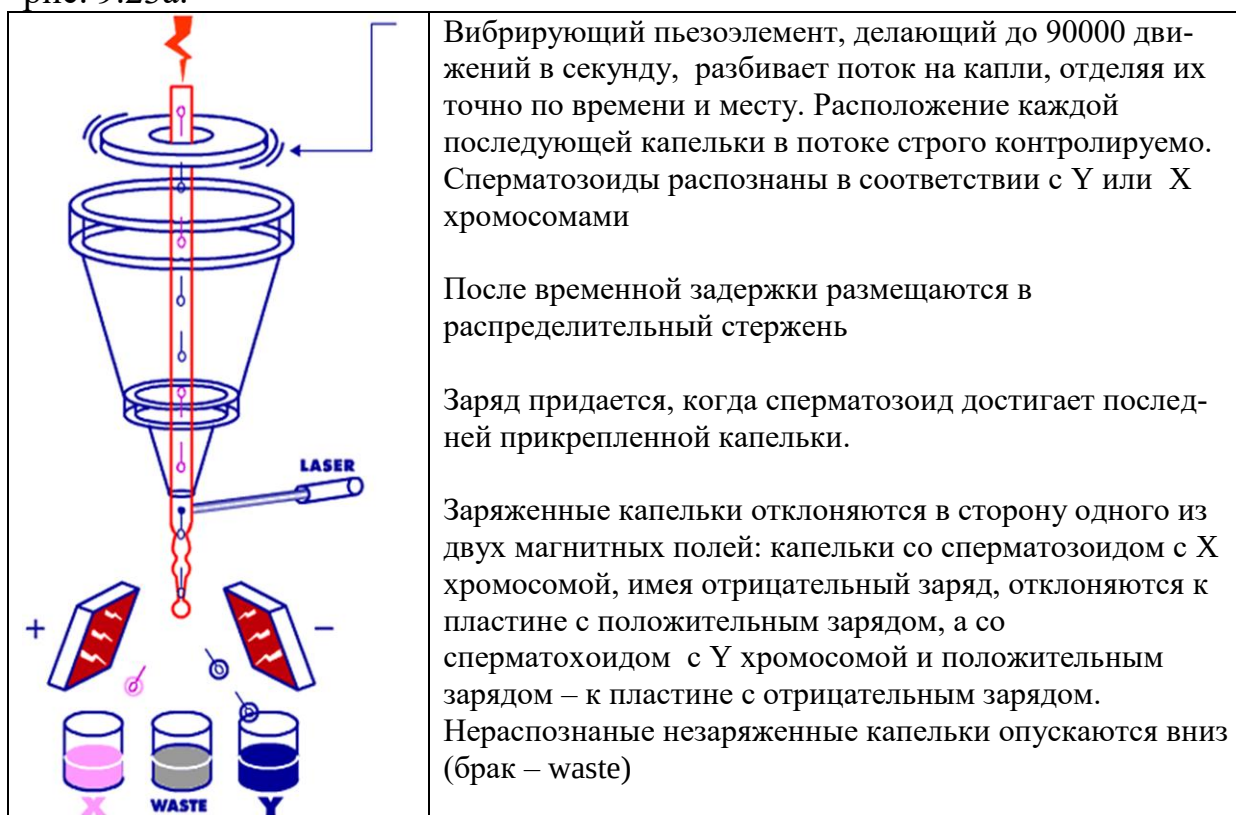


Рисунок 9.23а – Принципиальная схема технологического процесса ST Sexed Ultra

В РУП «Учхоз БГСХА» группа телок (140 голов) были осеменены им-

портной спермой (из Канады) разделенной по полу и обычной. От 59 телок, осемененных разделенной спермой, получено 54 (91,5 %) телочки и 5 бычков. От 81 телки, осемененной обычной спермой, получено 50 телочек (61,7 %) и 31 бычок (38,3 %). Разделенная сперма двух быков показала одинаковый результат – родилось 92,3 и 90,0 % телочек. Неразделенная сперма двух основных быков различалась – телочек было 53,5 и 75,9 %. Оплодотворяемость при первом осеменении составила в среднем 81 % (при использовании разделенной по полу спермы 69,4 %, обычной – 85,3 %).

Благодаря длительной эволюции технология *ST Sexed Ultra* достаточно отработана и позволяет достичь 90 % и более выхода телочек. Однако интенсивное воздействие физических факторов на сперматозоиды при разделении отрицательно сказывается на их оплодотворяющей способности. Возникает необходимость увеличивать количество клеток в дозе для достижения оптимальных показателей (4 млн. сперматозоидов до замораживания).

Технология ABS Sexsel. В 2011 г. холдинг Genus начал разработку технологии изменения соотношения полов в сперме, основанной не на ее разделении, а на инактивации сперматозоидов, несущих Y-хромосому. Цель разработки – снизить вредное воздействие процесса деления клеток и повысить оплодотворяющую способность спермы при сопоставимом выходе телочек.

Принципиальное отличие технологии в том, что сперматозоиды не подвергаются разделению в электромагнитном поле, и не проходят через вибрирующие на высокой скорости пьезо элементы. По существу в процессе обработки (рис. 9.23б) половые клетки с X и Y хромосомами определяются по светимости в УФ спектре (облучение маломощным УФ лазером). Сперматозоиды с Y-хромосомой или нераспознанные (брак) подвергаются воздействию мощного лазера, прижигающего их хвостики, в результате чего они теряют способность двигаться, но остаются в сперме. Орицательного влияния их на результаты осеменения не выявлено. Благодаря отсутствию многих повреждающих факторов прежней технологии, оплодотворяющая способность спермы ABS Sexsel примерно на 2–3 % выше, и это позволяет достигать в среднем 90 % оплодотворяющей способности традиционной спермы при осеменении коров и телок.

В 2020 году в хозяйствах Российской Федерации процент плодотворных осеменений телок спермой Sexsel в среднем составил 48,1–54 %, коров – 32,8–42% при выходе телок 88,7%. В дозе для осеменения содержание подвижных сперматозоидов после оттаивания составляло 1,7 млн. Всего спермой с минимальным числом подвижных сперматозоидов проведено около 1,62 млн. осеменений. Другие компании обычно указывают концентрацию спермы до замораживания, при оттаивании которой гибнет около половины сперматозоидов (2М – 2 млн. и 4М – 4 млн.).

Стеклянная микроканальная конструкция «Жидкостной чип»	После формирования потока спермии сначала облучаются слабым ультрафиолетовым лазером (UV Laser), и по светимости определяются, являются они носителями Y или X хромосомы.
--	---

формирует поток спермиев по одному в ряд	Все спермии, которые несут Y-хромосому или не распознаны, облучаются мощным лазером (XP Laser), который разрушает клетку
--	--

Рисунок 9.23б – Принципиальная схема технологического процесса ABS Sexsel

Использование для осеменения разделенной по полу спермы. В основе метода разделения сперматозоидов на 2 группы – с Y и X хромосомами – различие в содержании ДНК в Y- и X-несущих сперматозоидах (в X-несущих сперматозоидах на 3–4% больше ДНК).

После получения сперма сохраняется неразбавленной в течение 9 ч и затем окрашивается краской Хехст (Hoechst) 33342. Через мембрану сперматозоидов проникает флуоресцирующее вещество краски bis-benzimidazol и специфически связывается с А–Т парами вдоль малой бороздки ДНК. Краситель не повреждает ДНК, а различие в степени флуоресценции выявляется при прохождении сперматозоидов через лазерный детектор, который передает данные в компьютер.

После окрашивания сперма разбавляется специальной средой. Погибшие спермии отделяются от живых путем окрашивания пищевым красителем FD&C#40, который проникает в головки мертвых сперматозоидов, окрашивает их и нейтрализует флуоресценцию Хехст 33342 только в них, но не в живых клетках.

В фловцитометре (Flow cytometric sorting) формируются маленькие капельки. В каждой из них содержится один сперматозоид, в отдельных – два, а некоторые не содержат сперматозоидов. Лазерный луч измеряет интенсивность флуоресценции и компьютер определяет, какую хромосому содержит сперматозоид. Капельки с Y- несущими сперматозоидами приобретают отрицательный заряд, а X- несущие – положительный.

В соответствующих контейнерах накапливается 20% сперматозоидов с Y-хромосомой и 20% – с X-хромосомой. Способ имеет коммерческое значение. Применяется во многих странах.

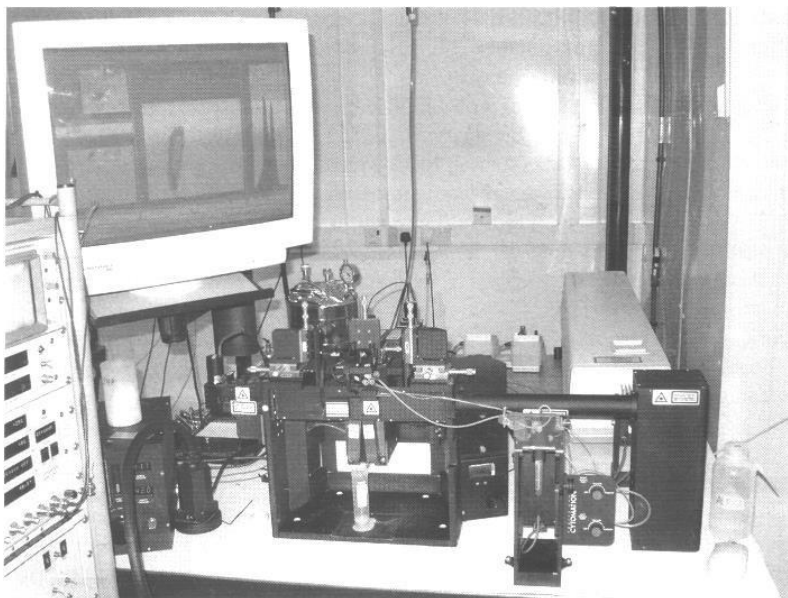


Рисунок 9.23– Лаборатория разделения спермы на две части

В РУП «Учхоз БГСХА» группа телок (140 голов) были осеменены импортной спермой (из Канады) разделенной и обычной. От 59 телок, осемененной разделенной спермой было получено 54 (91,5%) телочки и 5 бычков. От 81 телки, осемененных обычной спермой, получено 50 телочек (61,7%) и 31 бычок (38,3%). Разделенная сперма двух быков показала одинаковый результат – родилось 92,3 и 90,0% телочек. Неразделенная сперма двух основных быков различалась – телочек было 53,5 и 75,9%.

9.2. Осеменение овец

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. *Течка* у овец не продолжительна, и обнаружить ее трудно. Проявляется гиперемией слизистых оболочек, увеличением числа слоев влагалищного эпителия и ороговением поверхностных клеток, иногда точечными кровоизлияниями, повышением тонуса мускулатуры матки, усилением секреции слизи клетками шейки матки. Слизь в начале охоты прозрачная, слегка опалесцирующая, затем становится более мутной и в конце охоты приобретает салообразную консистенцию.

Половая охота у овец проявляется не так ярко, как у других видов, и определить ее у большинства животных без барана-пробника практически невозможно. Она сопровождается выделением специфических пахучих веществ – аттрактантов (*феромонов*), которые легко воспринимаются самцами, и продолжается 36–38 ч (от 12 до 72 ч).

Овцы в охоте стучат копытами, помахивают хвостом, стремятся приблизиться к производителю, иногда группой ходят за бараном. Овца считается в охоте, если допускает садку барана.

У коз много общего с овцами в проявлении половой функции. Однако половая цикличность нередко нерегулярная, продолжительность цикла со-

ставляет 19–21 день, хотя возможны и более короткие циклы (5–9 дней). Охота длится 22–33 ч; овуляция наступает через 27–34 ч после начала охоты.

Для выявления охоты у овец используют баранов-пробников. Чтобы баран не мог осеменить овцу, а только выявил охоту, ему подвязывают на живот фартук из плотного материала, длиной 60 см и шириной 40 см. Иногда делают вазэктомию. На 80–100 овцематок готовят одного пробника. Обычно используют молодых, энергичных баранов. Если баран не вазэктомирован, то племенная ценность его должна быть не ниже 1 класса. Перед началом работы как интактным, так и вазэктомированным баранам подвязывают под брюхо фартуки для предотвращения коитуса. Чтобы облегчить процесс выборки овец в охоте, пробникам прикрепляют в области груди красящие метчики. Делая садку на овец, бараны окрашивают их с помощью таких устройств. Если вазэктомированным баранам не подвязывать фартуки, то у них торможение половых рефлексов возникает не так быстро и проявляется не так часто, как у баранов с фартуками. Более того, многократный коитус усиливает сократительную функцию матки у овец и ускоряет овуляцию, что позволяет ограничиться однократным осеменением взамен обычного двукратного. На протяжении полового сезона для поддержания половой активности интактным баранам-пробникам позволяют в неделю сделать одну садку на матку в охоте или же от него получают в искусственную вагину один–два эякулята.

Выбирают овец в охоте один раз (иногда два раза) в сутки, обычно утром. Для проведения выборки в первые 8–10 дней загон (баз) разделяют на две части. Пробников используют поочередно, по группам. Матку считают в охоте, если она не убегает при вскакивании на нее барана, а стоит спокойно. Таких маток вылавливают и помещают в станки из переносных щитов, которые размещают по углам загона. Когда поголовье не проявивших охоту овец уменьшится, выборку проводят в одном загоне, но площадь его постепенно ограничивают переносными щитами по мере перевода овец в группу осеменения. При выборке надо следить, чтобы овцы в загоне не собирались группами, а были распределены в нем равномерно. По завершении выборки баранов-пробников удаляют из отары, а маток выпускают на пастбище. Овец в охоте перегоняют на пункт осеменения, где осеменяют и содержат отдельно до следующего утра, а после выборки животных с продолжающейся охотой соединяют с ранее осемененными овцами. Из них формируют отдельную отару. С 10-го дня после начала искусственного осеменения организуют выявление овец, проявляющих половую охоту повторно. После осеменения маток метят специальной краской «Овцевод». Среди осемененных коз выборку животных в охоте начинают с 5-го дня от начала осеменения.

Способы и техника осеменения. При осеменении овец и коз применяют влагалищный и цервикальный методы. Яркам и переяркам из-за узости преддверия влагалища сперму вводят без применения влагалищного зеркала во влагалище (парацервикально). Для взрослых маток наиболее подходящим является цервикальный метод. При обоих методах для введе-

ния спермы используют стеклянный шприц-катетер (микрошприц) с дозирующим приспособлением, шприц-полуавтомат, металлический шприц для микропайет.

При влагалищном методе осеменения катетер вводят по верхней стенке преддверия влагалища и влагалища до упора, затем отводят назад примерно на 1 см и выталкивают сперму, надавливая пальцем на поршень. Если влагалищное осеменение практикуют часто, то изготавливают укороченный шприц-катетер. Для этого в обычном инструменте обрезают тонкую изогнутую конечную часть катетера, а место среза шлифуют или оплавливают на пламени. Объем вводимой во влагалище неразбавленной спермы – 0,15–0,20 мл, разбавленной и сохраняемой при 2–5°C – 0,2 мл и замороженной спермы (в гранулах) – 0,4 мл. В дозе должно содержаться 125–150 млн подвижных сперматозоидов.

При цервикальном методе используют влагалищный расширитель с продольной прорезью сверху или металлическое влагалищное зеркало. Инструмент, обеззараженный и подогретый (металлическое зеркало), увлажняют 1%-ным раствором натрия хлорида и вводят во влагалище. После отыскания шейки матки кончик шприца-катетера направляют в канал шейки и вводят на максимальную глубину (1–3 см). Чтобы сперма не вытекала из влагалища, перед нажатием на поршень зеркало слегка оттягивают назад. При пользовании влагалищным расширителем перед введением спермы сначала извлекают расширитель, после чего осторожно надавливая на поршень шприца, вводят необходимое количество спермы. При цервикальном осеменении вводят самке неразбавленной спермы 0,05 мл, разбавленной и охлажденной до 2–5°C – 0,1–0,15 мл и замороженной спермы (в гранулах) – 0,2 мл. Если не удастся ввести инструмент в канал шейки матки, то сперму выдавливают на наружную часть шейки, увеличивая при этом дозу вдвое.

Если замораживают сперму в микропайетах, то используют для осеменения маток специальный металлический инструмент с одноразовыми полиэтиленовыми чехлами.

Перед осеменением каждой овцы катетер аккуратно обтирают тампоном, пропитанным 70%-ным спиртом, оберегая кончик инструмента от попадания в него спирта. После осеменения 3–4 овец необходимо капельку спермы из шприца нанести на предметное стекло, накрыть покровным и определить подвижность сперматозоидов. Если подвижность их резко понизилась, то эту сперму не используют.

После расходования всего эякулята микрошприц промывают физиологическим раствором, а затем обеззараживают 70%-ным спиртом. Перед тем как набрать новую порцию спермы от другого барана, микрошприц 4–5 раз промывают физиологическим раствором из других баночек. Влагалищное зеркало после осеменения каждой овцы моют горячей водой, насухо вытирают полотенцем и обеззараживают на огне с некоптящим пламенем.

Осеменяют овец в манеже пункта искусственного осеменения. Для фиксации животных устанавливают станок. Размещают его напротив окна

или осветительной лампы. Маток поочередно фиксируют в станке или конвейерной установке для подачи их в манеж к рабочему месту оператора по искусственному осеменению. Во многих хозяйствах комната-манеж располагается в кошаре и проемом в стенке сообщается с другим, не отапливаемым помещением, куда загоняют маток в охоте. В этом помещении имеется станок для фиксации овец. Осеменение их проводят через проем.

При осеменении в теплое время года нередко организуют временный (передвижной) пункт на пастбище. Осеменяют овец в загоне летнего лагеря. Обычно такой пункт работает с приобретаемой в племпредприятии спермой (замороженной или охлажденной до 2–5°C).

Оптимальным временем для осеменения овец является период в пределах 9–12 ч после начала охоты. Обычно же осеменяют овец дважды: первый раз – сразу после выборки в охоте, второй раз – спустя 8–10 ч. Маток с продолжительной охотой осеменяют и третий раз. Второе осеменение через 24 ч допускается при использовании свежеполученной спермы высокого качества.

Осеменение овец сезонное: при планировании ягнения в январе осеменение маток проводят в августе, а при ягнении в феврале – осеменяют их в сентябре. Благоприятные условия осени способствуют повышению плодовитости по сравнению с другими периодами на 15–20%. Осеменение проводят на протяжении двух половых циклов (35–40 дней). По окончании работы пункта организуют вольную случку маток, не оплодотворившихся после искусственного осеменения. В племенных хозяйствах для этой цели в течение 15–25 дней используются бараны, по качеству не уступающие основным, а в других хозяйствах – не ниже 1 класса.

Осеменение коз проводят в сентябре – ноябре.

9.3. Осеменение свиней

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. У свиней в период созревания фолликулов вульва (петля) набухает и приобретает красный цвет, слизистая оболочка влагалища становится отечной, розоватого или ярко-красного цвета. Из половой щели может выделяться слизь. В начале охоты слизь светлая, а к концу охоты – беловатая. Выделяется слизи немного. Четкие изменения вульвы в период эструса наблюдают только у 75% самок. Набухание и покраснение ее редко сохраняется до конца охоты и обычно исчезает во время спаривания или ранее.

За 3–12 ч до наступления фазы эструса происходят изменения в поведении свиньи. Она становится беспокойной, часто мочится, издает характерное хрюканье, мало ест, обнюхивает половые органы других животных, вспрыгивает на них и может позволять делать садку на себя другим свиньям, пытается выбраться из станка. Некоторые самки за день до наступления эструса активно преследуют хряков. В этой стадии явления течки и охоты усиливаются.

Характерным признаком половой охоты (готовности свиньи к спариванию с самцом) является неподвижность. В присутствии самца она напрягает уши, выгибает дугой спину и застывает в такой позе. Если в это время положить ей на крестец руку или сесть верхом, то она не уклоняется, а продолжает стоять спокойно. Но без хрюка такая реакция наблюдается только у половины животных.

Главными раздражителями рефлекса неподвижности являются обонятельные и слуховые. Внешний вид самца тоже имеет значение. Но наблюдения показывают, что если самка не видит хрюка, но слышит хрюканье и воспринимает его запах, то влечение к нему ослабляется незначительно. Записанное на магнитофон хрюканье хрюка вызывает рефлекс неподвижности более чем у половины свинок, которые не проявляли рефлекса без хрюка. Очень сильные и обонятельные раздражители. Свыше 60% свинок в охоте, которые не реагируют на надавливание рукой, проявляют неподвижность при переводе их в станок хрюка. Запах жидкости, взятой из препуция хрюка и подогретой до температуры тела, дает такой же эффект, как и запах самого хрюка. Реакция зависит от стероидного вещества, вырабатываемого в препуции и придающего специфический запах свинине. Оно синтезировано и используется при выявлении охоты (препараты «Суидор», «Феромаксеин» и др.). Достаточно 0,1–1 мг такого вещества смешать со 100 г инертного вещества и распылить или разбрызгать в виде жидкости (аэрозоли) в свинарнике, чтобы стимулировать половую активность у свиноматок в охоте. Спустя 1–2 мин. после применения его более половины свиной в охоте, у которых не были замечены ее признаки, проявляют рефлекс неподвижности и без хрюка.

Использование хрюков-пробников. Наиболее точный способ выявления охоты у свиной – это использование хрюка-пробника в группе из 4–8 самок. Целесообразно помещать в станок первым хрюка, чтобы он привык к окружающей обстановке, а затем вводить маток. Если хрюк обладает хорошей половой активностью, то бывает достаточно 5-минутного контакта с каждой самкой. Так как коитус у свиной длится долго, то можно использовать хрюков без какого-либо хирургического вмешательства. После садки хрюка можно столкнуть с матки. Надежно использование и вазэктомированных хрюков.

При выявлении охоты у свиной животноводы должны учитывать и такие признаки, как повышенную возбудимость, потерю аппетита, характерное хрюканье, припухание и покраснение вульвы и др. Отдельно взятый признак не является надежным показателем охоты, но по их совокупности опытный работник, знающий всех животных индивидуально, легко может определить самок в охоте.

В настоящее время разрабатываются и используются в практике электронные системы выявления половой охоты у свиной. Они широко распространены в Европе, Америке и Китае.

Система Nedap Velos (компания «Агроторг») – каждой свиноматке в ухо вставляется тега-чип, информация о животном заносится в базу дан-

ных. В системе Nedap Velos свиньи содержатся свободно: статическими группами, например, по 50–100 свиноматок одной стадии супоросности, или динамическими группами до 300–500 голов. Одна станция обслуживает 50 животных. В соседнем помещении, отделенном от станка со свиноматками, содержится хряк-пробник. Между ним и свиноматками установлен специальный блок определения охоты (хит-детектор). После кормления свиноматка может подойти к перегородке, за которой чувствует хряка, и система фиксирует каждый такой подход. Есть определенный порог по количеству и продолжительности подходов. Когда свиноматка его достигает, детектор дает команду, что она в охоте, маркирует ее, и на выходе из станции сепаратор направляет животное не в общий станок, а в специальный отсек, где специалист проверит признаки охоты и направит ее на осеменение. Ошибки с выявлением охоты исключены.

Выявление половой охоты с помощью станций кормления Compident (компания «Агротехник» – официальный представитель Schauer в России). Все свиноматки имеют чип. Между двумя зонами отдыха, в которых содержатся супоросные свиноматки, установлена клетка с хряком – его видно, слышно, можно понюхать. Если свиноматка придет в охоту, она начнет проявлять интерес к хряку. Специальные датчики будут фиксировать каждый ее подход к хряку, система пометит эту свиноматку краской и даст сотруднику свиногомплекса сигнал, что животное проявляет признаки охоты. Специалист находит нужную свиноматку (свинку) и выясняет, почему она проявляет интерес к хряку, проверяет, действительно ли она в охоте, и отправляет на осеменение.

Способы осеменения свиней. При искусственном осеменении свиней сперма вводится в матку. Ранее в практике применялись два способа осеменения: фракционный и нефракционный. Фракционный способ более широко был распространен на Украине.

При этом способе сначала вводится разбавленная сперма в объеме 50 мл взрослым маткам и 40 мл молодым свинкам, а затем глюкозо-солевой раствор (1 л дистиллированной воды, 30 г глюкозы и 4,5 г натрия хлорида) соответственно 100 мл и 70–80 мл. В использованной сперме должно было содержаться подвижных сперматозоидов в 1 мл 30–50 млн. Для осеменения использовался универсальный термос-прибор, универсальный зонд УЗК-5 и упрощенный зонд УЗК-6.

Универсальный термос-прибор приспособлен для осеменения свиноматок и переноски спермы на ферме. Состоит из деревянного футляра, металлических колонок с горячей водой (обогревательного бачка), трех стеклянных ампул, спиртовки для сухого спирта, катетера (зонда), шаров Ричардсона, резиновых трубок, зажимов и термометра. Зонд состоит из двух частей: одна изготовлена из металлической нержавеющей трубки длиной 25 см, другая присоединяется к первой при помощи винтовой резьбы и представляет собой спираль из никелированной проволоки. Внутри металлической трубки и спирали вставляется резиновая трубка, задний свободный конец которой служит для соединения зонда с ампулами при-

бора. На конец металлической спирали плотно надевается резиновая головка зонда диаметром 20 мм. К заднему концу зонда прикрепляется ручка. Другая модель зонда представляет собой металлическую трубку длиной 55 см без спирали.

В комплект более позднего, широко использовавшегося прибора УЗК-5 входит один полужесткий металлический катетер (зонд) с резиновой головкой и 10 пластмассовых катетеров в пластмассовых чехлах. В предохранительный колпак прибора помещается два флакона: один с разбавленной спермой, а другой – с глюкозо-солевым раствором. Стеклообразные флаконы изготавливались специально для прибора, но нередко их заменяли бутылочками для питания детей или пластмассовыми флаконами из прибора ВИЖ. Содержимое флаконов выдавливается путем нагнетания в них воздуха при помощи шаров Ричардсона. В вариантах 2 и 3 прибора нет защитного колпака. К прибору прилагается термос-ящик для флаконов со спермой и раствором.

В упрощенном приборе УЗК-6 зонд состоит из прозрачной пластмассовой трубки длиной 40 см; на одном конце ее укрепляется резиновая головка диаметром около 20 мм, а на втором – резиновая ручка. В трубку-зонд вмещается до 50 мл спермы. Раствор (вторая фракция) находится в пластмассовом гофрированном флаконе, который присоединяется к резиновой ручке зонда при помощи специального наконечника. При сжатии флакона раствор через резиновую ручку поступает в зонд, надавливает на поршень и проталкивает содержащуюся там сперму. В конце зонда поршень неплотно прилегает к внутренним стенкам и способен пропускать вокруг себя раствор из гофрированного флакона. Через 20–30 с после введения спермы и раствора в матку животного извлекают зонд и удаляют остатки раствора.

В связи с совершенствованием разбавления и расфасовки спермы, применением различного класса разбавителей в зависимости от срока хранения спермы, этот способ утратил практическое значение. В Беларуси способ этот не применяется.

При нефракционном способе осеменения разбавленную сперму вводят за один прием. Доза спермы – 60–100 мл. Для введения спермы широко применялись приборы конструкции ВИЖ и ПОС-5. Эти приборы состоят из полиэтиленовых тонкостенных флаконов, емкостью 100–150 мл с навинчивающимися крышками и катетеров с соединительными муфтами. Разница между ними состоит в том, что флаконы прибора ВИЖ плоскостонные, а флаконы от прибора ПОС-5 с округлым дном и имеют грубую градуировку (цена деления – 25 мл).

В настоящее время в функционирующих и строящихся станциях по искусственному осеменению свиней предусмотрено использование технологии и инструментов компании MINITUBE или IMV. Сперму расфасовывают в флекситюбики, бутылочки, полиэтиленовые мешки (пакеты). Соответственно к ним приспособлены катетеры Melrose, фоматипа и спиретта (рис. 9.24). Имеется и специальное оборудование для их стерилизации.



Фоамтип – кончик из качественного водоотталкивающего пенопласта, двусторонней конической формы, легко вводится и извлекается, предупреждает повреждения и раздражение шейки, плотно прилегает к ней и стимулирует, предотвращает вытекание спермы. Выпускается с ручкой или с резьбой для надежного крепления тюбика.



Спиретта – спиралевидный кончик, имитирующий головку пениса хряка, по всей длине размещается в шейке матки, плотно прилегает к ней и стимулирует. Большая ручка для удобства в работе.



Супертип – ламель спиралевидной формы, полностью соответствует анатомическому строению половых органов молодых и взрослых свиноматок, а тонкий и длинный кончик катетера с отверстием в передней части позволяет глубоко ввести его в шейку матки. Гибкий удлиненный стержень подходит для осеменения маток с покровным поясом.

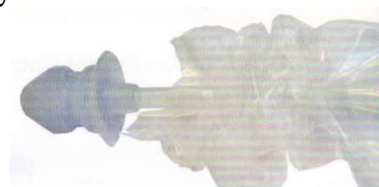


Внутриматочный катетер VERA – фоамтип с внутренним катетером из пластика; кончик катетера мягкий круглый.

Внутриматочный катетер MARIENSE – спиретта с внутренним катетером из пластика; кончик катетера не центрированный для облегчения прохождения через шейку матки.



Катетер
для осеменения свинок



Катетер SafeBlue ClearGlide
с гелеобразным двухфазовым
кончиком с фиксирующим
буртиком

Рисунок 9.24 – Катетеры для осеменения свиноматок



**Рисунок 9.25 – Технология осеменения свиней IMV.
Катетер фоамтипа и заполненный спермой мешок**

Предлагаются также удлинители для соединения спермодозы и катетера. Стерильные катетеры хранятся в полиэтиленовых чехлах. Перед осеменением ножницами отрезают часть чехла и извлекают конец катетера с соединительной муфтой и навинчивают на флакон вместо крышки. Чехол оставляют на катетере до момента введения в половые пути самки.

Маток в охоте перегоняют в манеж для осеменения и размещают в индивидуальных станках. Однако более удобно и надежно фиксировать животных во время осеменения в специальном устройстве. Такое устройство похоже на обычную клетку для взвешивания животного, но оборудовано лямками, которые не позволяют свиноматке лечь.

Если манеж не оборудован станками или устройствами для фиксации, тогда осеменяют животных в станках, где их содержат. Однако это менее желательно, так как практически невозможно обеспечить необходимые санитарно-гигиенические условия в момент осеменения и надежно зафиксировать животное. Хотя свиньи в охоте проявляют состояние неподвижности, большинство из них (особенно молодые) не стоят во время осеменения, пытаются двигаться, и это создает трудности для удержания оператором по искусственному осеменению катетера в нормальном положении.

Перед осеменением наружные половые органы матки обрабатывают ватным тампоном, смоченным лигнином или раствором фурацилина 1:5000. При сильном загрязнении половые органы сначала обмывают теплой водой или 1–2%-ным раствором натрия гидрокарбоната, а затем дезинфицирующим раствором. После этого усиливают состояние неподвижности матки надавливанием на крестец рукой или левым плечом, в то время как другой раздвигают половую щель и вводят в нее катетер. При осеменении крупных свиноматок техник может сесть на заднюю часть туловища животного спиной к его голове.

Присутствие в момент осеменения вблизи матки хрюка усиливает проявление неподвижности. Катетер продвигают по верхней стенке влагалища до упора в шейку матки. В период половой охоты складки (выросты) шейки матки значительно расходятся, и катетер с суживающегося в передней части влагалища может проскочить один–два «замка» шейки. Легче это

происходит, если на конце катетера имеется утолщение в виде головки или оливообразное расширение, баллончик для воздуха, или же если конец сделан в форме полового члена хряка. При прохождении сначала первой, а затем второй складки ощущается небольшое сопротивление; слегка подталкивая катетер вперед, удастся преодолеть его. Расширение на конце катетера предупреждает вытекание спермы. Катетер со спиралевидным концом одновременно продвигают и вращают в левую сторону до столкновения со складками шейки матки. У молодых маток кончик катетера может упираться в начало цервикального канала.

После введения катетера в половые пути матки флакон со спермой приподнимают выше спины животного, переворачивают его вверх дном и, слегка нажимая рукой, начинают вводить сперму. Можно емкость со спермой после введения катетера укреплять в верхнем положении при помощи покровного пояса или покровной рамы (рис. 9.26). Это позволяет специалисту одновременно осеменить несколько маток.

У взрослых свиноматок благодаря интенсивным всасывающим движениям матки сперма часто поступает самотеком через открытый канал шейки матки, но у молодых свинок это бывает реже. При осеменении в оптимальное время для введения спермы требуется 3–4 мин. Если канал шейки закрывается, то сперма начинает вытекать из влагалища. В этом случае давление на флакон (или давление воздуха) уменьшают, выжидают 10–20 с (иногда – до 40 с), пока опять канал не расслабится, а затем продолжают введение.

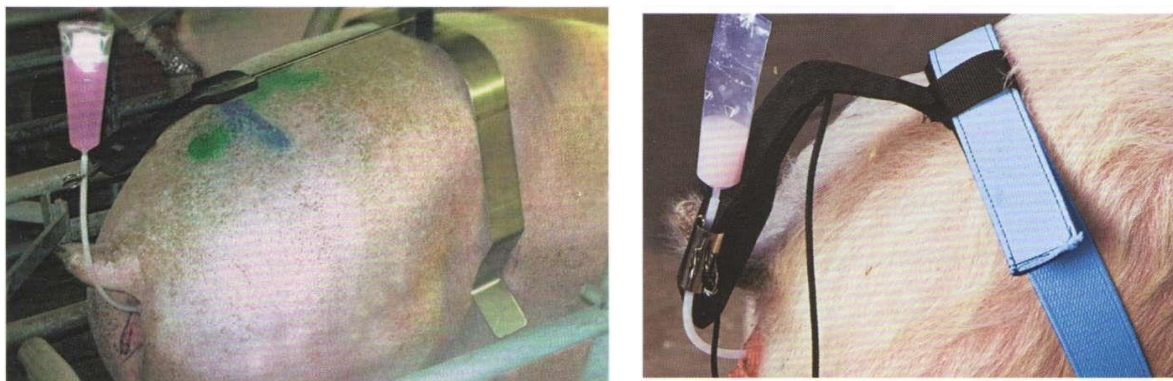


Рисунок 9.26 – Покровные пояса

Перед осеменением сперму, сохраняемую при 17–18°C, помещают в водяную баню (30–35°C) не менее чем на 10 минут. За это время емкость со спермой переворачивают несколько раз для того, чтобы сперма подогревалась равномерно. Неподогретая сперма, введенная в половые пути свиноматок, часто выталкивается обратно. Одновременно подогревают не более 5 доз спермы, чтобы использовать ее в течение получаса.

Время осеменения свиноматок. Осеменяют маток обычно в первую охоту после отъема поросят. Кормление подсосных маток должно быть полноценным, чтобы к этому моменту они имели хорошую упитанность и в течение последующих 4–7 дней проявили половую охоту. Маток слабо

упитанных выделяют в отдельную группу, улучшают кормление. Не проявившим охоту в течение 8 дней маткам вводят ПГ-600. Половая охота у свиней длится 40–60 ч, а овуляция происходит через 30–36 ч после начала охоты. Продолжается овуляция не более 4–7 ч. Введенные в половые пути свины сперматозоиды сохраняют способность к оплодотворению не более 30 ч. Поэтому оптимальным временем для осеменения считается интервал в пределах от 12 до 16 ч перед овуляцией. Но это при условии использования свежеполученной спермы. Когда же осеменение проводится разбавленной или оттаянной после замораживания спермой, то оптимальное время для осеменения будет несколько ближе к овуляции – за 6–8 ч до нее. Обычно же при определении оптимального времени осеменения исходят не из срока овуляции, а из времени начала проявления рефлекса неподвижности. Наилучшим сроком для осеменения взрослых маток является конец первых и начало вторых суток, а для молодых – после 30 ч от начала половой охоты.

В практических условиях время осеменения определяется кратностью выборки животных в охоте. При четырехкратном контроле молодых свинок можно осеменять в течение 17–18 ч, а свиноматок – в течение 21–24 ч после определения состояния неподвижности. Если выборка проводится два раза в день (с промежутком в 10–12 ч), то требуется двукратное осеменение: после выборки свиноматок в охоте утром осеменение их проводят вечером, а после вечерней выборки – утром следующего дня. Второй раз животных осеменяют, как правило, через 10–12 ч после первого осеменения. Молодых свиноматок, выбранных утром, можно осеменять через 2–5 ч и повторно на другой день утром. Так поступают и при однократной выборке охоты у свиней. Если половая охота длится более 10 ч после повторного осеменения, то свиноматку целесообразно осеменить еще один раз.

9.4. Осеменение кобыл

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. После выжеребки половая цикличность возобновляется с 8–10-го дня (от 5 до 14 дней). Первая охота короче – 2–4 дня, а последующая длится в среднем 5–6 дней.

В стадии эструса вследствие гормонального влияния яичников усиливаются кровоснабжение и гиперемия половых органов, канал шейки матки приоткрывается и в него можно ввести сначала один, а затем и два пальца. Шейка матки укорачивается по длине и принимает по отношению к влагалищу центральное положение. Количество слизи увеличивается, она становится более водянистой и прозрачной. К концу этой стадии слизь приобретает мутноватый цвет и вязкую консистенцию.

Признаки охоты хорошо выражены, вульва набухает, отмечается мигание половой щели. При этом кобыла открывает и закрывает половую щель, поднимает хвост, выпячивает клитор и испускает небольшое количество мочи и слизи. Во время охоты кобылы сильно возбуждены, непо-

слушны, щекотливы, часто ржут. Услышав или увидев жеребца, они принимают позу для спаривания. В момент садки жеребца стоят спокойно.

На протяжении всего этого периода степень проявления признаков охоты прогрессирующе увеличивается. Поэтому различают несколько степеней охоты. *Охота первой степени*: при приближении жеребца кобыла стоит спокойно, однако не проявляет других признаков. *Охота второй степени*: кобыла допускает жеребца, поднимает хвост, отмечается мигание половой щели. *Охота третьей степени*: те же признаки и выделение мочи и слизи в момент мигания половой щели. *Охота четвертой степени*: в дополнение к перечисленным признакам – при обнюхивании жеребцом кобыла клонится в его сторону, раскидывает тазовые конечности, в момент садки стоит спокойно.

По мере нарастания признаков охоты в яичниках происходит созревание фолликулов. Ректальной пальпацией можно определить степень их зрелости. *Вначале созревания* фолликула (диаметр 1–1,5 см) яичник принимает форму неправильного боба за счет увеличения одной его стороны; эта часть проявляет признаки незначительного размягчения. *Созревающий* фолликул приводит к увеличению яичника и изменению его формы до грушевидной; в самом фолликуле заметна флюктуация жидкости. *Почти зрелый* фолликул шарообразный, хорошо флюктуирует и придает яичнику явную грушевидную форму. *Полностью созревший* фолликул имеет форму шара, стенки его истончены, флюктуация легко ощущается. *При овуляции* напряженность стенок фолликула ослабевает, уменьшается его размер и изменяется форма. После окончания овуляции сильно уменьшается в размерах и яичник. Происходит овуляция примерно за одни–двое суток до окончания охоты.

В период осеменения необходимо у всех кобыл охоту выявлять не реже, чем через день, но лучше ежедневно, чтобы не пропустить тех животных, у которых она продолжается всего 2–3 дня. Для выявления охоты используют жеребца-пробника. Пробу проводят под контролем человека. Для этого раскованную на задние конечности кобылу выводят в открытый двор, держат ее под уздцы. Пробника (не имеющего племенной ценности здорового энергичного жеребца) подводят на двух длинных поводках к кобыле спереди. Если кобыла стоит спокойно, то пробника постепенно допускают к паху, а затем и к крупу кобылы. При отсутствии охоты кобыла уже при первом контакте с жеребцом проявляет агрессивность, поворачивается быстро к нему задом и стремится его ударить («отбивает»). Кобыла в охоте проявляет характерные признаки, соответствующие степени охоты.

Пробу подсосных кобыл целесообразнее проводить через деревянный барьер длиной 2,5 м и высотой 1,2–1,3 м. Жеребца ставят с одной стороны барьера, а кобылу – с другой.

Для выявления половой охоты без жеребца-пробника используют акустические (звуковое подражание заигрывания жеребца) и тактильные стимулы (пальпация области холки, боков и половых органов). Они позволяют определить состояние эструса (спокойное поведение, поднятие хвоста,

мигание половой щели и выделение слизи, раскидывание задних конечностей) или диэструса (нервозность, лягание и ржание).

Оптимальное время осеменения. После выявления признаков охоты проверку продолжают ежедневно, чтобы определить оптимальное время осеменения. Осеменяют первый раз кобыл при ярком проявлении признаков охоты (3 и 4-я степени) и затем повторяют осеменение через каждые 36–48 ч до затухания признаков охоты. Такие длительные промежутки между осеменением возможны благодаря тому, что сперматозоиды жеребца сохраняют способность к оплодотворению в половых путях кобылы до 140 часов. Если пальпацией определяют степень зрелости фолликула, то первое осеменение проводят при наличии почти зрелого или полностью созревшего фолликула; повторно осеменяют через 1–2 дня, если овуляция не наступила.

Способы осеменения. При осеменении кобыл сперму вводят в матку (маточный метод осеменения). В практике применяют два способа введения спермы: мануальный и визуальный.

При **мануальном** способе используют резиновый катетер И.И. Иванова и шприц емкостью 30–50 мл или ампулу. Катетер представляет собой толстостенную мягкую резиновую трубку с узким внутренним каналом. Передний конец его сужен, а задний имеет выступ в виде кольца и расширенное отверстие канала для соединения с канюлей шприца. Катетер вводят рукой во влагалище кобылы. Указательным пальцем находят устье шейки матки и под контролем пальца продвигают катетер в канал шейки матки на глубину 10–12 см. К катетеру присоединяют шприц со спермой и, нажимая на поршень, вводят сперму в матку. При **визуальном** способе используют стеклянный или эбонитовый катетер длиной 50 см, шприц и влагалищное зеркало. Обеззараженное влагалищное зеркало вводят в половые пути и размещают его так, чтобы хорошо видна была шейка матки. Под контролем зрения катетер через зеркало направляют в цервикальный канал. После введения в матку к стеклянному катетеру присоединяют посредством резиновой муфты шприц. Эбонитовый катетер с канюлей шприца соединяют заранее при помощи металлического хомутика с резиновой прокладкой.

Перед осеменением кобылу заводят в специальный станок или фиксируют с помощью случной шлеи. Спокойных животных удерживают за повод и поднимают переднюю ногу, чтобы они не могли ударить оператора по искусственному осеменению. Конюх забинтовывает хвост кобылы и отводит в сторону; вульву обмывает теплой водой и вытирает насухо ватой. После этого оператор при участии помощника, который подает ему инструменты для осеменения, проводит осеменение кобылы.

Для осеменения одного животного используют от 20 до 40 мл спермы. В дозе должно содержаться около 700 млн сперматозоидов. Крупным, старым, а также ожеребившимся кобылам следует вводить максимальную дозу спермы.

9.5. Осеменение птиц

Искусственное осеменение птиц применяют для уменьшения числа самцов при получении яиц для инкубации и повышения выводимости цыплят (индюшат, гусят). При этом уменьшается опасность распространения инфекций половым путем, предупреждаются повреждения самок в процессе естественного спаривания, при котором отход маточного поголовья, например, индеек, в течение года вследствие нанесения травм самцами достигает 20–30%. При искусственном осеменении, кроме того, можно замораживать сперму самцов и длительное время сохранять отдельные линии и породы птиц.

Цель занятий: ознакомление с техникой получения спермы от самцов птиц и оценкой ее качества, разбавлением спермы, организацией и техникой осеменения самок.

Объекты исследований, материалы и оборудование: петухи, индюки, гусаки, куры, индейки, гусыни; станок с металлической сеткой для фиксации индейки, столик передвижной; электрический спермособираатель, вакуумные и обычные спермоприемники; стеклянные флаконы емкостью 15–20 мл с резиновыми пробками; микроскопы, обогревательные столы, предметные и покровные стекла; дозаторы пипеточные (глазные пипетки) или стеклянные палочки; инструмент для осеменения (стеклянные и полиэтиленовые пипетки с полиэтиленовыми или резиновыми баллончиками, микрошприц или шприц–полуавтомат для осеменения овец с укороченным катетером; стерильный физиологический раствор, раствор фурацилина, 70%-ный спирт, натрия хлорид, калия хлорид, кальция хлорид, магния хлорид, натрия ацетат, натрий двузамещенный фосфорнокислый, калия цитрат, натрий глутаминовокислый, фруктоза, глюкоза, дистиллированная вода; спиртовые тампоны, сухие ватные тампоны; полотенце, стерильные марлевые и бумажные салфетки; анатомический пинцет.

Методические указания. Занятие проводится в лаборатории кафедры или в учебном пункте. Сначала студенты изучают технику осеменения самок птиц. Затем получают сперму, проводят оценку ее качества, готовят инструмент, среду для разбавления спермы и разбавляют ее и, наконец, выполняют процедуру осеменения птиц. При возможном посещении птицефабрики студенты знакомятся со всеми технологическими процессами метода последовательно в составе производственных групп.

Искусственное осеменение кур. Осеменяют кур, как правило, во второй половине дня после яйцекладки. Для введения спермы используют индивидуальные стеклянные или полиэтиленовые пипетки с полиэтиленовым или резиновым баллончиком, длиной 100–150 мм и диаметром 6–7 мм. Удобен и микрошприц (шприц–полуавтомат) для осеменения овец с укороченным напополам катетером. Осеменение обычно проводят вдвоем. Помощник берет курицу и, не вынимая из клетки, фиксирует левой рукой за хвост, несколько отгибая его к спине. Правой рукой надавливает на левую сторону живота между лонными костями и задним концом грудной кости.

После того как клоака курицы начнет выпячиваться, техник левой рукой слегка растягивает ее, надавливает вокруг, пока не покажется отверстие яйцепровода. Затем вводит пипетку со спермой в канал яйцепровода на глубину 4–5 см. В этот момент помощник прекращает давление на живот курицы и убирает руку. Для осеменения используют свежеполученную или разбавленную сперму в дозе 0,025–0,03 мл с содержанием в дозе не менее 100–150 млн сперматозоидов и подвижностью не ниже 7 баллов. При первом осеменении вводят двойную дозу (0,05 мл), чтобы создать хорошую насыщенность яйцепровода сперматозоидами. Повторно осеменение проводят через каждые 5 дней.

Искусственное осеменение индеек. Осеменяют индеек при помощи шприца-полуавтомата, который применяют для осеменения овец, или индивидуальных пипеток из стекла или полистирола. Повторно употреблять пипетки можно после тщательного промывания их и стерилизации. Для осеменения индейки помощник техника прочно фиксирует ее левой рукой за обе ноги и надавливает на живот. Правой рукой заворачивает хвост на спину; при этом голова птицы должна находиться внизу. Техник левой рукой выворачивает клоаку до появления отверстия яйцепровода и вводит пипетку со спермой в канал его на глубину 4–5 см. В момент введения спермы помощник отпускает хвост индейки и несколько ослабляет общее фиксирование. Сперму выдавливают из инструмента только после того, как яйцепровод втянется в брюшную полость. Затем, не разжимая пальцев на резиновом наконечнике пипетки, извлекают ее из клоаки индейки. Индейку осторожно опускают на пол.

Первое осеменение индеек в стаде проводят через 14–17 дней после начала подготовки к яйцекладке и затем осеменяют еще дважды через 3–4 дня. После этого в течение 3 месяцев яйцекладки осеменяют самок через 10–14 дней. В течение 4–5-го месяца интервалы между осеменением уменьшают до 9–10 и 8–10 дней, а в течение 6-го месяца осеменяют ежедневно. Оптимальная доза разбавленной 1:1 или неразбавленной спермы – 0,025 мл с содержанием в дозе не менее 80–100 млн сперматозоидов и подвижностью не ниже 7 баллов.

Искусственное осеменение гусынь проводят в специальном станке (табуретка с широким желобом) во второй половине дня. Помощник держит птицу левой рукой у основания крыльев, а правой рукой слегка отгибает хвост. Техник вводит в клоаку гусыни указательный палец правой руки в перчатке и нащупывает отверстие яйцевода, которое расположено левее и ниже входа в клоаку на 2–4 см. Затем вводит в его канал пипеткой 0,05 мл неразбавленной спермы с содержанием в ней 30–50 млн подвижных сперматозоидов. Осеменение проводят каждые 6 дней.

Сперматозоиды у птиц размещаются в складках яйцепровода и сохраняют способность к оплодотворению у кур в течение 12–14 дней, у индюшек – 30–40 дней.

Контрольные вопросы

1. Как проявляется течка у коров, какова ее продолжительность? Какими способами выявляют течку?
2. Какие изменения в наружных половых органах, во влагалище и в матке происходят в период течки и охоты? Какое состояние этих органов в середине полового цикла?
3. Как проявляется половая охота у коров? Какие признаки наблюдаются до начала охоты, во время охоты и после окончания ее? Какова продолжительность охоты?
4. Каковы способы и режим выявления половой охоты?
5. Когда происходит у коров овуляция относительно половой охоты? Как определить, что овуляция произошла? В какой период охоты осеменяют коров? Почему?
6. Как используют быков-пробников для выявления коров в охоте?
8. Какие способы искусственного осеменения коров и телок применяют в практике? Какой из них наиболее эффективен?
9. Как подготовить животное для осеменения.
10. Как подготовить инструмент для осеменения коровы спермой, расфасованной в соломинах?
11. Как подготовить инструмент для осеменения коровы спермой, расфасованной в гранулах?
12. Как подготовить влагалищное зеркало (расширитель) и инструмент для осеменения коровы визо-цервикальным способом?
13. Какой объем спермы необходим для осеменения коровы? Сколько подвижных сперматозоидов должно содержаться в одной дозе для осеменения?
14. В какой участок половых путей вводится сперма при осеменении? Кратность осеменения коровы в течение охоты.
15. Как стерилизуют инструмент для осеменения? Как утилизируют инструмент для одноразового использования?
16. Как проявляется течка и половая охота у овец, какова их продолжительность? Какими способами выявляют охоту?
17. Как используют баранов-пробников для выявления овец в охоте?
18. Какие способы искусственного осеменения овцематок и ярок применяют в практике? В какой участок половых путей вводится сперма при осеменении?
19. В какой период охоты осеменяют овец? Кратность осеменения в одну охоту.
20. Как готовятся микрошприц или шприц-полуавтомат для осеменения овец?
21. Какой объем спермы свежеполученной, разбавленной и сохраняемой при температуре 0–4°C или минус 196°C необходим для осеменения овцы? Сколько подвижных сперматозоидов должно содержаться в одной дозе для осеменения?

22. В какой период года проводится осеменение овец? Какова продолжительность периода осеменения?

23. В какой степени выражены изменения вульвы у свиней в период течки? Как долго они сохраняются?

24. Как проявляется половая охота? Какие признаки наблюдаются до начала охоты и во время охоты? Какова ее продолжительность?

25. Когда происходит у свиней овуляция относительно охоты? В какой период охоты их осеменяют? Какова кратность осеменения?

26. Способы и режим выявления половой охоты.

27. Как используют хряков-пробников (искусственных пробников) для выявления свиней в охоте?

28. Как подготовить свиноматку для осеменения? Где проводится осеменение, нужна ли фиксация животного?

29. Какие способы искусственного осеменения свиней применяют в практике? Какой необходим инструмент? В какой участок половых путей вводится сперма при осеменении?

30. При какой температуре и как долго хранится разбавленная сперма хряков?

31. Как стерилизуется инструмент для осеменения? Что делают с использованным инструментом?

32. В какой период года проявляется половая цикличность у кобыл? Когда после родов наступает первая охота?

33. Какова продолжительность охоты? Одинаково ли проявление признаков охоты на всем ее протяжении? Когда происходит у кобыл овуляция относительно охоты?

34. Способы и режим выявления половой охоты. Каким способом можно определить время приближения овуляции?

35. Как подготовить кобылу для осеменения? Где проводится осеменение, как зафиксировать животное? В какой период охоты их осеменяют? Кратность осеменения?

36. Какие способы осеменения кобыл применяют в практике? Какой необходим инструмент? В какой участок половых путей вводится сперма при осеменении?

37. Какой объем спермы необходим для осеменения кобылы? Сколько подвижных сперматозоидов должно содержаться в одной дозе для осеменения?

38. Какие способы хранения разбавленной спермы жеребцов применяют в практике?

39. Какие инструменты необходимы для осеменения птицы?

40. Какой объем спермы вводится при осеменении кур, индюшек, гусей? Сколько сперматозоидов содержится в дозе для осеменения?

41. В какой участок полового аппарата птицы вводится сперма? Как часто это делается?

10. УЧЕТ И ОТЧЕТНОСТЬ НА ПЛЕМПРЕДПРИЯТИЯХ И ПУНКТАХ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Цель занятий: ознакомиться с формами учета производственной деятельности племпредприятий, их филиалов (районных станций) и пунктов искусственного осеменения.

Объекты исследований, материалы и оборудование:

инструкция по взятию, оценке и замораживанию спермы быков-производителей на племпредприятиях (1998 г., РБ);

инструкция по организации и технологии работы предприятий и пунктов по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных;

инструкция по искусственному осеменению и воспроизводству стада в скотоводстве (1999 г., РБ);

инструкции по искусственному осеменению коров, овец, свиней, кобыл;

журналы и бланки форм учета на племпредприятиях и пунктах искусственного осеменения животных;

календари оператора по искусственному осеменению, другие формы оперативного учета и контроля репродуктивной функции животных и результатов их осеменения;

персональный компьютер, оснащенный соответствующими программами для ведения учета.

Методические указания. Занятие проводится в лаборатории кафедры или учебном пункте. Студенты должны быть обеспечены бланками форм учета и отчетности. Под контролем преподавателя они знакомятся с содержанием журналов, бланков и таблиц, правилами заполнения их и внесения соответствующих данных в компьютер. Затем получают от преподавателя задание и заполняют необходимые данные по учету и отчетности. С отдельными документами и правилами их оформления студенты могут познакомиться в период прохождения производственной технологической практики.

Документы, которые отражают производственную деятельность племпредприятия и пунктов искусственного осеменения животных в зоне его деятельности, хранятся в отдельных папках.

В настоящее время в госплемпредприятиях (ГПП) Республики Беларусь учет и отчетность ведется в электронном формате. Используется база данных УП «ГИВЦ Минсельхозпрода» – «Быки госплемпредприятия».

На каждого быка-производителя оформляется «Племкарточка племенного быка». В ней указываются: кличка, номер и дополнительный номер, марка ГПК, порода и породность, линия и ветвь, кому принадлежит бык, дата рождения, место рождения, дата поступления на ГПП и рецессивные гены. В карточке имеются следующие разделы:

- 1) происхождение производителя,
- 2) оценка развития и экстерьера,
- 3) линейный профиль экстерьера дочерей,
- 4) оценка по потомству,

5) репродуктивная способность,

6) комплексная оценка быка.

В базе данных создается несколько таблиц.

В таблице «*Породный состав быков-производителей*» в каждой выделенной породе указывается линия, ветвь, кровность, количество быков и запас спермы.

В таблице «*Движение быков-производителей за год в разрезе пород*» указывается кровность, наличие животных на начало и конец года, сколько за год куплено, выбраковано и пало.

В таблице «*Результаты использования быков*» ежемесячно по каждому животному указывается количество:

полученных эякулятов, в том числе качественных;

спермы, в том числе качественной;

разбавленной спермы и средняя степень разбавления;

заморожено доз спермы, в том числе качественных;

выбраковано замороженных доз и отобрано на контрольные цели;

доз спермы заложено в хранилище.

По каждому производителю учитываются средние показатели качества спермы – объем эякулята, активность и концентрация сперматозоидов.

В таблице «*Сведения о накоплении и использовании спермы быков-производителей*» за календарный год указывается:

наличие быков каждой породы;

сколько накоплено спермы, в том числе на одного быка среднегодового и взрослого;

сколько куплено спермы за пределами области, в том числе вне Республики Беларусь;

сколько куплено на элевере внутри области;

сколько спермы продано на районные племстанции области;

сколько спермы продано за пределы области, в том числе другим ГПП и за пределы Беларуси;

сколько выбраковано спермы, в том числе от быков-ухудшателей, и по каким причинам.

Указывается также использование спермы для исследований и наличие спермы на конец года. В этой же таблице приводятся данные о поголовье коров и тёлочек, осемененных в течение года спермой быков конкретной породы, и приводятся показатели оплодотворяемости.

Данные о наличии спермы быков-производителей по линиям помещаются в отдельной таблице с указанием линии, ветви, количества живых быков, запаса спермы от всех быков, в том числе, от оцененных.

При каждом взятии спермы в базе данных отражается следующая информация: номер и кличка быка, дата и время взятия, объем эякулята, густота спермы, активность и концентрация сперматозоидов, степень разбавления, объем разбавленной спермы, вид заморозки, количество доз, активность после размораживания, переживаемость и сведения о хранении. При выбраковке спермы указывается причина.

Могут использоваться и бумажные носители информации.

В папке индивидуального учета производителя находятся: фотография произво-

дителя; племенное свидетельство; заводская карточка; журнал учета использования производителя и показателей спермопродукции (форма № 1-ИО); ветеринарный паспорт производителя (форма № 13-ИО); акты перевода производителя из младшей в старшую группу, о выранжировке и выбытии; результаты испытания по качеству потомства. В ветеринарном паспорте отражаются данные о состоянии здоровья животного, ветеринарных диагностических исследованиях, обработках и др.

Ведется журнал ежедневного учета информации (ранее лабораторный журнал учета качества спермы, форма № 2-ИО) с приложением ведомостей на отправку спермы в хозяйства. В этот журнал заносят данные по всем полученным эякулятам, независимо от их качества, а также о времени взятия с указанием объема полученной спермы, активности и концентрации сперматозоидов, степени разбавления, количества разбавленной спермы и произведенных доз.

На пункты хозяйств сперму производителей доставляют с сопроводительным документом – *ордером* (накладной, ТТН) на отправку спермы (форма № 3-ИО). Его составляют в трех экземплярах. На лицевой стороне ордера приводятся сведения о производителе, количестве и качестве спермы. На обратной стороне документа оператор по искусственному осеменению вносит данные о животных, осемененных этой спермой, а также о ее качестве. Такие сведения обычно представляются на отдельных листах в филиал племпредприятия (райплемстанцию).

Форма № 4-ИО – *график доставки спермы* производителя на пункты искусственного осеменения. Обычно используется в случае краткосрочного хранения спермы и необходимости регулярной доставки ее на пункт осеменения. В отдельности по каждому хозяйству племпредприятие (районная станция) ведет *ведомость учета использования спермы* производителя (форма № 5-ИО), в которой указывается число осемененных животных и общий расход спермы на осеменение.

На каждого производителя в конце года составляется *сводная ведомость учета искусственного осеменения маток по оплодотворяющей способности спермы* (форма № 6-ИО). Данные ведомости являются основанием для оценки производителя по плодовитости (репродуктивной способности). По данным, предоставляемым пунктами искусственного осеменения, районные станции по племенной работе и искусственному осеменению ведут *картотеку* искусственного осеменения коров и телок по каждому обслуживаемому хозяйству.

Оплодотворяемость коров и телок определяют путем ректального исследования животных, по результатам которого составляется специальный *акт* (форма № 8-ИО) с приложением списка животных. Данные проверки сводят в ведомости (форма № 9-ИО) для подведения итогов и внесения в ведомость “Физиологическое состояние дойного стада по району”.

Племпредприятие ведет также: *папку с документами по закреплению производителей за хозяйствами* и сроками их использования; *папку с договорами*, заключаемыми между племпредприятием и сельхозпредприятиями, отдельными фермерами; *папку с планами искусственного осеменения животных* в хозяйствах зоны обслуживания племпредприятия; *папку с ведомостями учета использования спермы* производителей и вторыми экземплярами ордеров на сперму; *папку с результатами анализов* кормов, воды, крови, бактериальной загрязненности спермы, смывов из препуция и др.

Ежегодно племпредприятие (районная станция) заключает с каждым хозяйством своей зоны *договор на проведение искусственного осеменения*, который подписывают директор племпредприятия (районной станции) и руководитель хозяйства. В договоре излагаются обязательства каждой из сторон.

Госплемпредприятие обязуется организовать в хозяйстве искусственное осеменение животных, своевременно обеспечивать пункты искусственного осеменения спермой закрепленных за ними производителей и снабжать их хладагентом (жидким азотом), инструментами и оборудованием для осеменения. Оказывать содействие хозяйству в приобретении (или поставлять) термосов и сосудов Дьюара, в подготовке и переподготовке операторов по искусственному осеменению, организации зооветеринарного контроля воспроизводства животных; осуществлять систематический контроль результатов осеменения животных и ведения племенной работы.

Хозяйство обязуется подготовить и оборудовать помещение для пункта (лаборатории) искусственного осеменения. Выделить (подготовить) специалиста для работы на пункте и снабдить его транспортным средством. Вести точные записи осеменения животных и своевременно представлять отчеты о результатах осеменения. Приобретать необходимые инструменты, материалы, оборудование. Своевременно выплачивать племпредприятию названную в договоре сумму за каждую дозу спермы (за осемененную и оплодотворенную самку).

На каждом пункте искусственного осеменения крупного рогатого скота необходимо иметь *книгу учета осеменений* (журнал искусственного осеменения). Оператор по осеменению животных обязан ежедневно сразу же после осеменения коровы или телки сделать в книге (журнале) соответствующую запись. Эти записи могут дублироваться на компьютере. О результатах своей работы оператор должен отчитываться ежемесячно.

На пункте искусственного осеменения овец и коз при использовании собственных производителей ведется несколько документов. *Карточки по учету использования баранов-производителей* с регистрацией количества и качества полученной спермы. *Ведомость прикрепления маток к производителю* и при необходимости *ордера* на отправку спермы. *Журнал искусственного осеменения*, в который ежедневно вносятся данные об осеменении всех овец по каждой отаре в отдельности. *Бланки отчета* о ходе искусственного осеменения.

На пункте искусственного осеменения свиней также ведется *журнал искусственного осеменения*, в который вносятся данные обо всех выявленных в охоте и осемененных животных, в том числе и повторно. При использовании собственных хряков-производителей ведется *лабораторный журнал учета качества спермы*, в который вносятся сведения о времени получения, качестве, степени разбавления и использовании спермы производителя, а также об осемененных свиноматках.

Аналогичные журналы и документы ведутся на пунктах искусственного осеменения кобыл (случной журнал, форма № 3; карточка кобылы, форма № 2 и журнал использования жеребца, форма № 1).

Для своевременного выявления охоты у коров и их осеменения операторы по искусственному осеменению используют специальный календарь. Вместо календаря можно рекомендовать по каждой хозяйственной группе коров вести ведомость отелов и их осеменения на листах бумаги или в компьютере.

Календарь оператора можно сделать из брезента, полотна, фанеры или плотного картона размером 100х55 см. На лист такой величины нашивают (прикрепляют) 32 кармана размером 12х12 см. Можно календарь сделать из дерева или пластика. В верхних трех рядах делают по 7 передвижных, а в четвертом нижнем ряду устанавливают 15 неподвижных ящичков. Двенадцать неподвижных ящичков рассчитаны на месяцы в году, тринадцатый – для карточек ветврачу, четырнадцатый – для карточек выбраковываемых коров и пятнадцатый – контрольный.

На каждую корову и телку изготавливают карточку. Ежедневно оператор вносит в карточки сведения об отелившихся животных. Такие карточки он помещает в ящичек календаря, который будет соответствовать дате предполагаемой охоты (можно с 18 дней после отела). Например, коровы № 824 и 2400 отелились 26 марта, их карточки оператор помещает в передвижной ящичек с цифрой 13 (13 марта). Если наблюдением в этот день охота у животных не выявлена, карточки переключают в следующий карманчик (14) и т.д. Если корова не проявит половую охоту в течение 20–22-х дней (т.е. до 40 дней после отела), ее карточку помещают в карманчик "Ветврачу". В этот ящичек помещают и карточки коров с акушерскими и гинекологическими болезнями. Карточки животных, осемененных и не проявивших повторно охоту в течение 35–49 дней, помещают в контрольный ящичек (для диагностики стельности). Карточки стельных коров помещают в ящички по месяцам года исходя из предполагаемого срока отела.

Широко практиковалось ранее ведение специальных карточек, в которых отражались данные об отеле и приплоде, продуктивности коров, о заболеваниях и их лечении, датах осеменения и результатах исследования на стельность. Данные легко можно было перенести в ведомость. Многие фермеры за рубежом и ныне предпочитают такие ведомости более сложным формам учета. Правильно и постоянно заполняемая ведомость позволяет не только контролировать сроки осеменения, но и быстро и в любой момент определить основные показатели плодовитости по каждому животному и в среднем по стаду.

Г.Ф. Медведевым, О.Т. Экхорутмвен и Н.Г. Блохиным приспособлены и успешно используются такие ведомости для анализа и контроля воспроизводительной функции коров в РУП «Учхоз БГСХА».

РУП «Учхоз БГСХА»

Доярка: Автосеенко

Оператор по искусственному осеменению: Капустин В.Н.

Ко-	Лактация	Дата отела	Дата наблюдения- мойхо-	Производитель	Плани- руемое	От отела до 1-го осемене-	Дата 1- го осе-	Интервал между осеменением, дн.	Дата 2- го осе- менения	Интервал между осеменением, дн.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
824	1	13.10.07	07.11.07		27.11.07	47	29.11.07	44	12.01.07	39
2400	9	28.12.07			11.02.08	52	18.02.08	21	10.03.08	

Дата 3-го осеменения	Интервал между осеменением, дн.	Дата 4-го осеменения	Интервал между осеменением, дн.	Дата 5-го осеменения	Интервал между осеменением, дн.	Дата 6-го осеменения	Число осеменений	Сервиспериод, дн.	Дата запуска	Заболевания, ос- ложнения, назна- чаемое лечение
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
20.02.07	20	12.03.07					4	150		Эндометрит
							2	73		

Контрольные вопросы

1. Какие документы хранятся в папке индивидуального учета производителя? Какие данные заносятся в ветеринарный паспорт?
2. Какие данные заносятся в лабораторный журнал учета качества спермы производителя?
3. На какой срок оформляется договор на проведение искусственного осеменения между сельскохозяйственным предприятием и племпредприятием (райплемстанцией)?
4. Какие сведения вносятся в журнал искусственного осеменения? Как часто обновляется этот журнал?
5. Какие записи должен вести техник-осеменатор и какие – заведующий фермой (бригадир)?

Для выписки на ПЭВМ
с соблюдением всех реквизитов формы
1-й экз. — грузополучателю
2-й экз. — грузоотправителю
3-й и 4-й экз. — перевозчику УНП

Грузоотправитель	Грузополучатель	Заказчик автомобильной перевозки (плательщик)
700018980	700100927	700100927

Форма установлена
постановлением
Министерства финансов
Республики Беларусь
30.06.2016 № 58

1241985

Серия ГН

ТОВАРНО-TRANСПОРТНАЯ НАКЛАДНАЯ



1241985

28 Ноября 2019 г.

Автомобиль BA321713 57-36 ЕН-6 Прицеп _____ К путевому листу № _____
Водитель Болтунов О.А.
Заказчик автомобильной перевозки (плательщик) _____
Грузоотправитель РУСПП "Могилевское Госплемпредприятие" Могилевский район, д. Черёмушки ул. Центральная, 1
Грузополучатель КСУП "Племзавод Ленино" Горецкий район РРБ 213421 Горецкий р-н пос. Ленино ул.Ленина 8
Основание отпуска Договор №36 от 02.01.19
Пункт погрузки 213118 Могилевский р-н, д. Черемушки, ул. Центральная, 1
Пункт разгрузки Горецкий р-н д. Ленино
Переадресовка _____

I. ТОВАРНЫЙ РАЗДЕЛ										
Наименование товара	Еди ница изм.	Коли- чество	Цена, руб.коп.	Стоимость руб.коп.	Ставка НДС, %	Сумма НДС, руб.коп.	Стоимость с НДС, руб.коп.	Кол- во груз. мест	Масса груза	Примечание
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 Сперма быков производителей глубокозамороженная Тэлл оценка	доз	300	3.04	912.00	10	91.20	1 003.20	-	-	
2 Сперма быков производителей глубокозамороженная Тактик опц 140	доз	120	7.79	934.80	10	93.48	1 028.28	-	-	
3 Сперма быков производителей глубокозамороженная Тимберлейк опц 141	доз	200	7.79	1 558.00	10	155.80	1 713.80	-	-	
4 Сперма быков производителей глубокозамороженная Томагавк опц 149	доз	120	8.02	962.40	10	96.24	1 058.64	-	-	
5 Мешочек ситцевый (высокий)	шт	7	0.30	2.10	20	0.42	2.52	-	-	
6 Стакан ПП диаметром 35 мм	шт	7	1.00	7.00	20	1.40	8.40	-	-	
Итого	х	754	х	4 376.30	х	438.54	4 814.84			

Договор,прейскурант цен от 1.09.2019 г.

Всего сумма НДС Четыреста тридцать восемь рублей 54 копейки
Всего стоимость с НДС Четыре тысячи восемьсот четырнадцать рублей 84 копейки
Всего масса груза Всего количество грузовых мест —

Отпуск разрешил генеральный директор Товар к перевозке принял _____
Юрченко А. А. Антропенко Оксана Владимировна.
Сдал грузоотправитель зав.спермотекой по доверенности № 761 от 27 Ноября 2019 г.
Яценко И. И. выданной КСУП "Племзавод Ленино" Горецкий район РРБ
Принял грузополучатель _____
N пломбы _____
Штамп (печать) грузоотправителя _____ Штамп (печать) грузополучателя _____

II ПОГРУЗОЧНО-РАЗГРУЗОЧНЫЕ ОПЕРАЦИИ										
Операция	Исполнитель	Способ (ручной/механический)	Код	Дата, время (ч, мин)			Дополнительные операции		Подпись	Транспортные услуги
				прибытия	убытия	простоя	время	наименование		
Погрузка	Грузоотправитель		14	15	16	17	18	19	20	
Разгрузка	Грузополучатель									

III ПРОЧИЕ СВЕДЕНИЯ (заполняются перевозчиком)										
Расстояние перевозки по группам дорог, км					Код экспеди-рования	За транспортные услуги	Поправочный коэффициент		Штраф	
всего	в гор.	I	II	III			расценки водителю	основной тариф		
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31

Отметки о составленных актах

Технологический паспорт
на глубокозамороженную сперму быков-производителей
РУСПП « Могилевское ГПП»
от 31.10 2019 года

получатель : Торевский ф-л

№	Кличка быка	№	Порода	Плем. ценность	Кол-во доз
1	Аномалек	600696	Толштин	149	1140
2	Амстерлен	600682	Толштин	141	960
3	Айтсан	600447	Толштин	109	780
4	Амбальд	600695	Толштин	5	50
5	Арекс	600543	Толштин	141	540
6	Аксин	600674	Толштин	140	270
7	Аморо	600724	Толштин	оценко-	400
8	Андрей	600727	Толштин	оценко-	300
9					
10					
11					
12					
13					
	Итого:				4440

Расфасовка: соломинка,

Концентрация (млн. в дозе) – 15 млн.

Количество сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением 4 балла.

Объем дозы, см³: 0,25.

Выживаемость сперматозоидов при 38°C-5 часов.

Общее число непатогенных микроорганизмов в дозе не более 500.

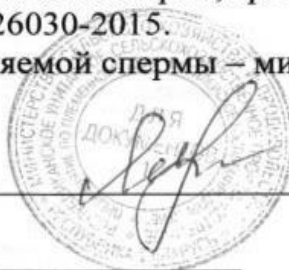
Коли-титр - отрицательный.

Патогенные и условно- патогенные бактерии, грибы, вирусы - отсутствуют.

Сперма соответствует ГОСТу 26030-2015.

Температура хранения отправляемой спермы – минус 196° С.

Отправил: зав спермотекой



Яценко И.И.

Принял:

(ф.и.о. должность)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Veterinary Reproduction and obstetrics / edited by D. E. Noakes, T. J. Parkinson, G. C. W. England. – 10th ed. – Elsevier, 2019. – P. 746–747.
2. Mitchel, Jere R. The artificial insemination and embryo transfer of dairy and beef cattle (including information pertaining to goats, sheep, swine, and other animals) : a handbook and laboratory manual / Jere R. Mitchel, Gordon A. Doak. – 9th ed. – 2004. – 387 p. (P. 67, 70).
3. Arthur, G. H. Veterinary Reproduction and Obstetrics / G. H. Arthur. – 4th ed. – London : Bailliere Tindall, 1975. – 616 p.
4. Руководство по разведению животных. Т. I. Биологические основы продуктивности животных / сост. и ред. Дж. Хэммонд, И. Иоганссон, Ф. Харинг. – Москва, 1963. – 504 с.
5. Veterinary Reproduction and Obstetrics / edited by D. Noakes, T. Parkinson, G. England – 9th ed. – Elsevier. Ltd., 2009. – 950 p. (P. 683, 18–19).
6. Nickel, R. Anatomy of the domestic birds / R. Nickel, A. Schummer, E. Seiferle ; translation by W. G. Siller, P. A. L. Wight, Verlag Paul Parey. – Berlin ; Hamburg, 1977. – P. 202 (P. 73, 76).
7. Шипилов, В. С. Основы повышения плодовитости животных / В. С. Шипилов. – Смоленск : DELO, 1994. – 160 с.
8. Солсбери, Г. У. Теория и практика искусственного осеменения коров в США : пер. с англ. / Г. У. Солсбери, Н. Л. Ван Демарк. – М. : Колос, 1966. – С. 393–394.
9. Медведев, Г. Ф. Совершенствование отбора основной фракции эякулята хряков при мануальном получении спермы / Г. Ф. Медведев, Д. С. Ходыкин, А. И. Будевич // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов. – Горки : БГСХА, 2009. – С. 356–365.
10. Лопырин, А. И. Биология размножения овец / А. И. Лопырин. – М. : Колос, 1971. – 320 с.
11. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics / edited by D. Noakes, T. Parkinson, G. England. – 8th ed. – 2001 : W. B. Saunders Comp. Ltd. – 868 p. (Reprinted 2007) (P. 742).
12. Blom, E. Sygelige tilstande I konsorganen og sperma som kassationsårsag ved import og eksport af avlstyre tik og fra Danmark / E. Blom // Nord Vet Med. – 1983. – Vol. 35, N 3. – P. 105–130.
13. Медведев, Г. Ф. Показатели лабораторной оценки и оплодотворяющей способности спермы быка, разбавленной ЦЛЖГ средой / Г. Ф. Медведев, Е. Ю. Гуминская // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2005. – № 1. – С. 81–86.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. РЕПРОДУКТИВНАЯ СИСТЕМА ЖИВОТНЫХ	4
1.1. Развитие репродуктивных органов.....	4
1.2. Морфология и топография репродуктивных органов самок	9
1.3. Морфология и топография репродуктивных органов самцов	22
1.4. Анатомо-топографические особенности половых органов птиц	35
2. РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ЖИВОТНЫХ.....	44
2.1. Репродуктивная функция самок.....	44
2.1.1. Половое созревание	44
2.1.2. Половой цикл, фазы полового цикла	48
2.1.3. Механизм естественного регулирования полового цикла.....	56
2.2. Репродуктивная функция самцов.....	59
2.2.1. Сперматогенез	59
2.2.2. Эндокринный контроль сперматогенеза	63
2.2.3. Сперма: состав и свойства.....	65
3. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОСЕМЕНЕНИЯ ЖИВОТ- НЫХ	74
3.1. Половой акт. Видовые особенности полового акта	74
3.2. Физиология сперматозоидов в половых путях самок	79
4. ПОЛУЧЕНИЕ СПЕРМЫ ОТ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ	84
4.1. Получение спермы от производителей в искусственную вагину	85
4.1.1. Устройство и подготовка искусственной вагины	85
4.1.2. Получение спермы от быка	91
4.1.3. Получение спермы от барана	95
4.1.4. Получение спермы от хряка	95
4.1.5. Получение спермы от жеребца	100
4.1.6. Использование других методов для получения спермы от про- изводителей	102
4.1.7. Режим получения спермы от производителей	103
4.2. Получение спермы у самцов птиц	103
5. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СПЕРМЫ	107
5.1. Обязательные методы оценки качества спермы	107
5.1.1. Оценка внешних свойств спермы	108
5.1.2. Оценка спермы по густоте и подвижности сперматозоидов ...	109
5.1.3. Определение концентрации сперматозоидов в сперме	112
5.2. Дополнительные методы оценки качества спермы	117
5.2.1. Определение процента живых сперматозоидов путем диффе- ренциальной окраски	117

5.2.2. Определение процента патологических (морфологически ненормальных) сперматозоидов	118
5.2.3. Определение метаболической активности сперматозоидов ...	122
5.2.4. Определение абсолютного показателя выживаемости (живучести) сперматозоидов вне организма	124
5.2.5. Определение сперматозоидов с поврежденной акросомой	125
5.2.6. Определение подвижности сперматозоидов в оттаянной сперме по способу БелНИИЖ	128
5.2.7. Оценка качества спермы птиц	128
5.2.8. Компьютерное автоматизированное исследование качества спермы	129
5.3. Влияние на сперматозоиды физических и химических факторов	133
6. РАЗБАВЛЕНИЕ СПЕРМЫ	138
6.1. Значение разбавления спермы. Состав разбавителей	139
6.2. Среды для разбавления спермы быка	143
6.3. Среды для разбавления спермы барана и козла	146
6.4. Среды для разбавления спермы хряка	147
6.5. Среды для разбавления спермы жеребца	149
6.6. Приготовление сред и технологии разбавления спермы	150
6.7. Контроль осмотического давления и pH сред для разбавления спермы	158
7. РАСФАСОВКА И ХРАНЕНИЕ СПЕРМЫ	162
7.1. Расфасовка и хранение спермы при температурах выше 0°C	162
7.2. Хранение спермы в жидком азоте (при минус 196°C)	165
7.3. Хранение, перевозка и оттаивание замороженной спермы ...	172
8. ПОДГОТОВКА И ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ, ПОСУДЫ И МАТЕРИАЛОВ	176
8.1. Приготовление растворов, марлевых салфеток, ватных тампонов, фильтров	177
8.2. Подготовка и обеззараживание посуды и инструментов	181
9. ОСЕМЕНЕНИЕ САМОК СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ	187
9.1 Осеменение коров и телок	187
9.2. Осеменение овец	218
9.3. Осеменение свиней	221
9.4. Осеменение кобыл	228
9.5. Осеменение птиц	231

10. УЧЕТ И ОТЧЕТНОСТЬ НА ПЛЕМПРЕДПРИЯТИЯХ И ПУНКТАХ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ СЕЛЬСКО-ХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ	235
ТОВАРНО-ТРАНСПОРТНАЯ НАКЛАДНАЯ.....	240
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ.....	241
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	242

ДЛЯ ЗАМЕТОК

This image shows a full page of blank white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page, providing a template for writing or drawing. There are no margins, text, or other markings present.

Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины является старейшим учебным заведением в Республике Беларусь, ведущим подготовку врачей ветеринарной медицины, ветеринарно-санитарных врачей, провизоров ветеринарной медицины и зооинженеров.

Вуз представляет собой академический городок, расположенный в центре города на 17 гектарах земли, включающий в себя единый архитектурный комплекс учебных корпусов, клиник, научных лабораторий, библиотеки, студенческих общежитий, спортивного комплекса, Дома культуры, столовой и кафе, профилактория для оздоровления студентов. В составе академии 4 факультета: ветеринарной медицины; биотехнологический; повышения квалификации и переподготовки кадров агропромышленного комплекса; международных связей, профориентации и довузовской подготовки. В ее структуру также входят Аграрный колледж УО ВГАВМ (п. Лужесно, Витебский район), филиалы в г. Речице Гомельской области и в г. Пинске Брестской области, первый в системе аграрного образования НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (НИИ ПВМ и Б).

В настоящее время в академии обучается более 4 тысяч студентов, как из Республики Беларусь, так и из стран ближнего и дальнего зарубежья. Учебный процесс обеспечивают 324 преподавателя. Среди них 180 кандидатов, 30 докторов наук и 21 профессор.

Помимо того, академия ведет подготовку научно-педагогических кадров высшей квалификации (кандидатов и докторов наук), переподготовку и повышение квалификации руководящих кадров и специалистов агропромышленного комплекса, преподавателей средних специальных сельскохозяйственных учебных заведений.

Научные изыскания и разработки выполняются учеными академии на базе Научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии. В его состав входит 2 отдела: научно-исследовательских экспертиз (с лабораторией биотехнологии и лабораторией контроля качества кормов); научно-консультативный.

Располагая современной исследовательской базой, научно-исследовательский институт выполняет широкий спектр фундаментальных и прикладных исследований, осуществляет анализ всех видов биологического материала и ветеринарных препаратов, кормов и кормовых добавок, что позволяет с помощью самых современных методов выполнять государственные тематики и заказы, а также на более высоком качественном уровне оказывать услуги предприятиям агропромышленного комплекса. Активное выполнение научных исследований позволило получить сертификат об аккредитации академии Национальной академией наук Беларуси и Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь в качестве научной организации. Для проведения данных исследований отдел научно-исследовательских экспертиз аккредитован в Национальной системе аккредитации в соответствии с требованиями стандарта СТБ ИСО/МЭК 17025.

Обладая большим интеллектуальным потенциалом, уникальной учебной и лабораторной базой, вуз готовит специалистов в соответствии с европейскими стандартами, является ведущим высшим учебным заведением в отрасли и имеет сертифицированную систему менеджмента качества, соответствующую требованиям ISO 9001 в национальной системе (СТБ ISO 9001 – 2015).

www.vsavm.by

210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11, факс (0212) 51-68-38, тел. 33-16-29 (факультет международных связей, профориентации и довузовской подготовки); 33-16-17 (НИИ ПВМ и Б); E-mail: vsavmpriem@mail.ru.

Учебное издание

**Медведев Григорий Федорович,
Гавриченко Николай Иванович,
Долин Игорь Анатольевич и др.**

**АКУШЕРСТВО И РЕПРОДУКЦИЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

**РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ.
ИСКУССТВЕННОЕ ОСЕМЕНЕНИЕ**

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск Н. И. Гавриченко
Технический редактор О. В. Луговая
Компьютерный набор Е. А. Капанова
Компьютерная верстка О. В. Луговая
Корректоры Т. А. Драбо, Е. В. Морозова

Подписано в печать __.01.2022. Формат 60×84 1/16.
Бумага офсетная. Ризография.
Усл. печ. л. 14,42. Уч.-изд. л. 13,52. Тираж 430 экз. Заказ 2057.

Издатель и полиграфическое исполнение: учрежде-
ние образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/ 362 от 13.06.2014.
ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.
Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.
Тел.: (0212) 51-75-71.
E-mail: rio_vsavm@tut.by
<http://www.vsavm.by>