

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет технології виробництва і переробки продукції тваринництва,
стандартизації та біотехнології

Кафедра зоогієни та ветеринарії

ТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ ТВАРИН

Методичні рекомендації

з вивчення дисципліни та виконання
лабораторних занять та самостійної роботи
для здобувачів вищої освіти ступеня «бакалавр»
спеціальності 204 «ТВППТ» денної і заочної форми навчання



Миколаїв
2017

УДК 636.082(038)
Т38

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету технології виробництва і переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету від “27” квітня 2017р., протокол №8

Укладачі:

- В. О. Мельник** – доцент кафедри зоогієни та ветеринарії Миколаївського національного аграрного університету, канд. біол. наук, доцент
- М. М. Поручник** – викладач Технологіко-економічного коледжу Миколаївського національного аграрного університету

Рецензенти:

- І. М. Рожков** – директор Інституту фізичної культури Миколаївського національного університету ім. В.О. Сухомлинського, доктор біол. наук, професор
- С. С. Крамаренко** – професор кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету, доктор біол. наук, професор

ЗМІСТ

Вступ.....		4
Тема 1	Лабораторія з технології відтворення тварин	5
Тема 2	Анатомія та фізіологія статевих органів самців	9
Тема 3	Підготовка штучної вагіни до одержання сперми від плідників	15
Тема 4	Одержання сперми від плідників	19
Тема 5	Органолептична оцінка якості сперми	29
Тема 6	Мікроскопічна оцінка якості сперми	32
Тема 7	Санітарна оцінка технологічних процесів у роботі зі спермою плідників	38
Тема 8	Розрідження сперми	39
Тема 9	Зберігання і використання замороженої сперми	43
Тема 10	Анатомо-топографічні та фізіологічні особливості статевих органів самок	48
Тема 11	Діагностика тічки, статевого збудження, охоти та овуляції у с.-г. самок	59
Тема 12	Організація штучного осіменіння с.-г. тварин. Інструменти, що застосовуються для осіменіння тварин і методи підготовки їх до використання	67
Тема 13	Технологія штучного осіменіння корів і телиць	76
Тема 14	Технологія осіменіння свиноматок	84
Тема 15	Штучне осіменіння кобил	91
Тема 16	Штучне осіменіння овець і кіз	93
Тема 17	Штучне осіменіння птиці	95
Список рекомендованої літератури		99

ВСТУП

Успішна робота по відтворенню поголів'я сільськогосподарських тварин, особливо при використанні штучного осіменіння неможлива без глибокого знання всіх процесів, пов'язаних з розмноженням тварин.

Розмноження тварин має особливе значення для тваринництва, оскільки воно лежить в основі всіх заходів щодо відтворення поголів'я тварин та економічного ведення тваринництва.

Технологія відтворення сільськогосподарських тварин, реалізація якої здійснюється шляхом штучного осіменіння, є профільною дисципліною, де викладаються питання запліднення, вагітності, родів і післяродового періоду, профілактика неплідності.

Штучне осіменіння даватиме хороший результат тільки при глибокому знанні анатомії і фізіології системи органів розмноження, технології тваринництва, основ ветеринарного акушерства і гінекології, технології розмноження тварин, набути навичок з одержання оцінки якості, розбавлення, заморожування і розморожування сперми, підготовки самок до осіменіння, техніки штучного осіменіння самок різних видів сільськогосподарських тварин та діагностики патологічних змін статевих органів, визначення строків вагітності, профілактики неплідності та яловості самок, ведення племінного і виробничого обліку.

Акушерство вивчає процеси, які виникають в організмі самок тварин при досягненні ними статевої зрілості, при вагітності, родах і в післяродовий період, методи надання їм допомоги під час родів і в післяродовий період, а також хвороби новонароджених та захворювання молочної залози.

З метою надання допомоги здобувачам вищої школи в освоєнні анатомії, фізіології статевої системи, технології тваринництва, раціональної організації роботи пунктів штучного осіменіння, лабораторій по племінній роботі та відтворенню стад, техніки осіменіння різними способами самок основних видів сільськогосподарських тварин, контролю і обліку відтворення сільськогосподарських тварин, розроблені методичні рекомендації для виконання лабораторних занять та самостійної роботи для здобувачів вищої освіти ступеня «бакалавр» спеціальності 204 «ТВППТ» денної і заочної форми навчання.

ТЕМА 1

Лабораторія з технології відтворення тварин

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Плакати, сільськогосподарські тварини, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода. Розчини: 1, 2 та 3% розчин двовуглекислої соди, фурациліну 1:5000, 70% спирт; 0,9% натрію хлориду, ватно-спиртові тампони, штучні вагіни різних конструкцій, підставки для них, штативи для спермоприймачів, кулі Рідчардсона, корнцанги, пінцети 20см, електроплита, стерилізатор, термостат, скляні лійки, мірні циліндри, йоржі для миття штучних вагін, термометри, емальовані тази, каструлі.

Підготовка матеріалів та інструментів, що використовуються при штучному осіменінні сільськогосподарських тварин

Приготування 0,9% розчину натрію хлориду. У чисту хімічну колбу наливають 100 мл дистильованої води, відважують і вносять в колбу 0,9 г хімічно чистого натрію хлориду або беруть одну таблетку його масою 0,9 г і розмішують стерильно скляною паличкою до повного розчинення. Доводять розчин до кипіння, після охолодження розливають в стерильні баночки № 1, № 3, № 4 і закривають притертими кришками.

Розчин готують щодня і використовують для промивання посуду та інструментів після стерилізації їх кип'ятінням, видалення залишків спирту з шприців-катетерів та спермоприймачів, зволоження піхвових дзеркал перед введенням у піхву.

Приготування 2,9% розчину натрію цитрату. У чисту стерильну колбу наливають 100 мл прокип'яченої і охолодженої до 80°C дистильованої води, відважують 2,9 г хімічно чистого тризаміщеного п'яти водневого натрію цитрату, всипають у колбу і старанно розмішують стерильною скляною паличкою. Фільтрують крізь тонкий ватний або паперовий фільтр у стерильну колбу, закривають нещільно ватно-марлевым тампоном і кип'ятять протягом 5-10 хв або витримують 30 хв в автоклаві при температурі 108°C і тиску 0,4 атм. Розчин слід готувати щодня. Натрію цитрат має слабколужну реакцію і буферні властивості, він нетоксичний для спермій, нейтралізує молочну кислоту, яка нагромаджується у спермі. Його використовують при оцінці якості сперми, обробці інструментів та розморожуванні замороженої сперми.

Приготування 1% розчину натрію бікарбонату. Відважують 1 г натрію бікарбонату і висипають у стерильну скляну колбу. Відмірюють градуйованим циліндром 100 мл прокип'яченої і охолодженої до 40-45°C дистильованої води (при температурі вище 60°C натрію бікарбонат розкладається з виділенням вуглекислого газу і перетворюється на токсичний для спермій натрію карбонат)

Вливають воду в колбу з наважкою натрію бікарбонату і розмішують

стерильною паличкою до повного розчинення. Закривають корком.

Розчин натрію бікарбонату також має властивості буфера і слаболужну реакцію, тому його використовують для підлугування сперми та нейтралізації молочної кислоти. Оскільки він нетоксичний для спермій, його широко використовують для обробки інструментів та посуду у племоб'єднаннях, на станціях і пунктах штучного осіменіння. Готують розчин щодня і застосовують для обробки спермоприймачів, видалення залишків спирту та води з шприців-катетерів, при оцінці якості сперми, для зволоження піхвових дзеркал.

Приготування розчину соди. Відважують 20-30 г вуглекислої чи двовуглекислої або 10-15 г кальцинованої соди і розчиняють у гарячій воді. Розчин використовують для миття посуду» клейонок, штучних вагін, піхвових дзеркал, різних інструментів, термосів, посудин Дьюара і т. ін. Вимиті в содовому розчині посуд та інструменти обов'язково споліскують чистою гарячою водою.

Приготування 70% спирту. Готують його з 96% чи 95% спирту-ректифікату. Наливають у 500-мілілітровий циліндр спирт-ректифікат, обережно занурюють у нього спиртометр і по верхньому меніску визначають його міцність. За нижче наведеною формулою визначають, скільки такого спирту треба взяти для одержання 100 мл 70%:

$$X=(70 \times 100) : M,$$

де X– кількість спирту-ректифікату, мл; M– міцність спирту-ректифікату, град. Якщо спирт 96%, то $X= (70 \times 100) : 96 = 72,9$ мл, або заокруглено 73 мл. До 73 мл 96% спирту доливають 27 мл прокип'яченої дистильованої води. Міцність розведеного водою спирту перевіряють спиртоміром, який повинен плавати, не торкаючись дна циліндра. Якщо вона нижче 70%, то, не виймаючи спиртомір, доливають ще спирту до позначки на спиртомірі 70. Якщо міцність спирту вища, доливають необхідну кількість води. 70% спирт використовують для знезаражування шприців-катетерів, мікрошприців, спермоприймачів, баночок та інших предметів. Він викликає слабшу коагуляцію білка, ніж 96% спирт, тому глибше проникає в протоплазму клітин і швидше спричиняє їх загибель.

Приготування розчину 0,02% фурациліну та 0,01% фуразолідону. Цілікарські препарати погано розчиняються у воді (фурацилін у співвідношенні 1:5000, фуразолідон 1:10000), тому їх готують на 0,9% розчині натрію хлориду.

Приготування 3% розчину перекису водню. Робочий розчин перекису водню готують з 30% водного розчину пергідролю або з таблеток гідропериту, які містять 30-35% перекису водню. Відмірюють 10 мл 30% розчину пергідролю і додають до нього 90 мл кип'яченої води або розчиняють 6 пігулок гідропериту масою 1,5 г у 100 мл води. Розчин використовують для промивання препуція у плідників, дезінфекції і дезодорації. Кисень, що виділяється при цьому, а також піна сприяють механічному очищенню від бруду та мікробів.

Приготування розчину хромової суміші (хромпіку). Розчиняють 6г калію хромату у 1л дистильованої води і обережно додають 100мл міцної сірчаної кислоти для витримування у ній протягом 24 год сильно забрудненого жовтком та спермою посуду, після чого його промивають кілька разів

проточною та дистильованою водою і висушують.

Приготування паперових фільтрів. (їх використовують для фільтрування розчинів). Розрізають ножицями аркуш фільтрувального паперу на частини (відповідно до розміру наявної лійки). Для цього складають його по діагоналях так, щоб утворився трикутник, розгортають один шар паперу малого трикутника і вставляють фільтр у стерильну скляну лійку. Обрізають зайві краї фільтра так, щоб після вкладання його в лійку краї його були на 0,5 см нижче краю лійки.

Виготовлення ватно-спиртових тампонів. Беруть клаптик гігроскопічної вати, розділяють його на тонкі шари і, підгинаючи краї, роблять круглі плоскі тампони діаметром 6-7 см для знезараження великих предметів (наприклад, штучної вагіни для жеребця), 5-6 см – для бугая і кнура та 3-4см– для барана. Складають їх на перевернуту кришку тампонниці і заливають 96 % спиртом. Потім виймають тампони, ущільнюють їх дном циліндра, мензурки чи просто відтискають між долонями, відокремлюють один від одного, складають у тампонницю і закривають кришкою. Залишки спирту зливають у банку для відпрацьованого спирту.

Такі тампони використовують для знезараження штучних вагін, спермоприймачів, зовнішньої поверхні шприців-катетерів, термометрів, скляних паличок, пінцетів, піхвових дзеркал, ячної шкаралупи, рук і т. ін.

Виготовлення марлевих серветок. Розрізають чисту марлю на шматки розміром 20 x 20, 30 x 30, 40 x 40 см, прасують гарячою праскою, складають учетверо і вміщують у стерильну скляну банку з притертою кришкою. Можна також стерилізувати серветки сухим жаром. Використовують їх для загортання стерильних інструментів, видалення з них крапель води, протирання предметних та накривних скелець тощо.

Стерилізація вазеліну. Накладають у скляну банку вазеліну і накривають її кришкою у нахиленому положенні. На дно стерилізатора чи каструлі вміщують ватну або марлеву прокладку, ставлять на неї банку з вазеліном і заливають водою так, щоб рівень води був не нижче рівня вазеліну в банці. Воду доводять до кипіння і кип'ятять 20-30 хв. Виймають банку із стерилізатора і закривають кришкою після її остигання.

Вазелін стерилізують щодня й використовують переважно для змащування штучних вагін. Та оскільки він пошкоджує гумові камери штучних вагін, його останнім часом не використовують для їх змащування. Для цього найчастіше користуються розріджувачами сперми.

Стерилізація посуду та інструментів сухим жаром. Чисті й сухі скляні банки, колби, мензурки, флакони, посуд для розрідження сперми, скляні ампули, палички, піпетки, шприци-катетери в розібраному вигляді загортають у папір, складають у сушильну шафу на металеві решітки, яку вмикають в електричну мережу. При температурі 130-180°C стерилізують протягом 15-30 хв. Виймають простерилізований посуд та інструменти лише після охолодження шафи.

Стерилізація шприца – катетера кип'ятінням. Відмивши старанно шприц –

катетер теплим розчином двовуглекислої соди, і сполоснувши тричі дистильованою водою, розбирають його (знімають поршень), загортають циліндр у марлю і прикріплюють до нього поршень. Кладуть їх у великий стерилізатор, дно якого вистелене шаром вати чи марлі, заливають теплою дистильованою або кип'яченою водою, накривають кришкою, воду доводять до кипіння і кип'ятять 15-20 хв. Коли вода трохи охолоне, стерильним пінцетом виймають із стерилізатора частини шприца, струшують їх від води і кладуть на кришку стерилізатора. Після охолодження шприци складають, видаляють з них воду, промиваючи 3-4 рази 1% розчином натрію бікарбонату, 0,9% розчином натрію хлориду або 2,9% розчином натрію цитрату. Загортають шприци в стерильний папір або марлеву серветку, кладуть на підставку і накривають марлевою серветкою.

Стерилізація автоклавуванням. Застосовують для знезараження чистих штучних вагін (протягом 20 хв. під тиском 0,3-0,5 атм. при температурі 105⁰С), металевих інструментів та посуду (під тиском 1,5 атм. протягом 30-45хв.)

Стерилізація фламбуванням. Чисто вимиті й сухі піхвові дзеркала, скляні спермоприймачі, 100-мілілітрові широкогорлі баночки, скляні палички, ножиці, пінцети, підставки для інструментів проводять кілька разів над не кіптявим полум'ям спиртової або газової горілки, примусу чи палаючого спиртового тампона (просоченого 96% спиртом).

Знезараження спиртом. Шприци-катетери та спермоприймачі можна промивати 70% спиртом-ректифікатом з наступним 5-6-разовим споліскуванням 1% розчином натрію гідрокарбонату, 2,9% розчином натрію цитрату чи 0,9% розчином натрію хлориду. Пінцети, скляні палички, термометри можна знезаражувати протиранням тампонами, що просочені 96% спиртом.

Ультрафіолетове опромінення. Застосовують для знезараження поліетиленових інструментів та матеріалів.

Контрольні питання :

1. Які фізіологічні розчини застосовують для штучного осіменіння тварин?
2. Як готують фізіологічні розчини?
3. Порядок приготування дезінфікуючих розчинів?
4. Методи стерилізації матеріалів, інструментів та обладнання для штучного осіменіння тварин?

ТЕМА 2

Анатомія та фізіологія статевих органів самців

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: самці різних видів тварин, свіжі статеві органи забитих тварин, схеми, рисунки, фотографії, муляжі, гістологічні та музейні препарати, анатомічні й хірургічні пінцети, анатомічні ножі, скальпелі, ножиці прями Купера, хірургічні зонди, кювети, рукавички, голки, сечові катетери, шприци, мікроскопи, скельця предметні та покривні, піпетки очні, скляні палички, 2,9%-ний розчин цитрату натрію, штангенциркулі, лупи, годинникові скельця.

Вивчіть будову статевих органів бугая. Статеві органи самців складаються із сім'яників, їх вивідних шляхів (придатка сім'яника та сім'япроводів), додаткових статевих залоз, сечостатевого каналу і статевого члена (рис. 4).

Вивчення статевих органів та їх препарування розпочинайте з мошонки— шкірно-м'язового випинання черевної стінки, яка є місцем розміщення сім'яників і виконує терморегулюючу функцію. Оглянувши її зовні, розріжте пошарово і переконайтеся, що зовнішнім шаром мошонки є тонка шкіра, вкрита ніжними волосинками, багата на потові та сальні залози. Внутрішній шар утворений мускульно-еластичною оболонкою. Відпрепарувавши від шкіри оболонку, розріжте її перегородку, що ділить порожнину мошонки на дві парні половини. При цьому побачите загальну, піхвову оболонку, на зовнішній поверхні якої розміщені мускул — підіймач сім'яника. Розріжте загальну піхвову оболонку (праву та ліву), огляньте її порожнини та розміщені тут *сім'яники*. Вони у статевозрілих тварин виконують дві функції: у них утворюються спермії та виробляються чоловічі статеві гормони (тестостерон, дигідроандростерон, андростерон і андреностерон). Після видалення сім'яників (кастрації) самці стають неплідними, у них припиняється розвиток вторинних статевих ознак, які у молодих тварин залишаються на тій стадії, яка була у них до кастрації.

Знайдіть брижу сім'яника. Зверніть увагу на вертикальне розміщення сім'яників з придатками в порожнині мошонки. Заміряйте довжину, товщину та ширину сім'яника: перемноживши показники цих трьох вимірів, визначте індекс величини сім'яника. Розрізавши його вздовж на дві половини, роздивіться серозну оболонку— власне піхвову оболонку сім'яника, що вкриває його зовні, та розміщену нижче й зрощену з нею білкову оболонку. Під останньою видно сітку кровоносних судин. Біля верхнього полюса білкова оболонка проникає усередину сім'яника і утворює середостіння, від якого в радіальному напрямку відходять тонкі сполучнотканинні перегородки, що ділять сім'яник на 300-400 пірамідальних часточок, у кожній такій часточці є по 4-5 кручених сім'яних каналців довжиною 50-80 см, оточених рихлою сполучною тканиною; у них

утворюються та розвиваються статеві клітини-спермії. Загальна довжина сім'яних каналців у дорослого бугая близько 5 км. Видавивши краплю вмісту каналців на предметне скло, зробіть тонкий мазок, висушіть його, зафіксуйте спиртоєфіром, пофарбуйте гематоксилін-еозином і розгляньте під мікроскопом.

Простежте, як усередині, сім'яника кручені каналці звужуються і впадають у прямі, що утворюють сітку сім'яника, звідси через спермовиносні каналці і ворота середостіння спермії надходять у канал придатка сім'яника.

Відпрепаруйте *придаток* від сім'яника і зверніть увагу на величину та форму його головки, тіла й хвоста. У бугая, барана та козла масивна головка розміщена на верхньому полюсі сім'яника, довге й тонке тіло прилягає до його каудального краю, а хвіст знаходиться на нижньому полюсі. Подивіться на схему будови сім'яника та придатка. Ви помітите, що головка придатка сім'яника утворена 13-15 спермовиносними каналцями, а тіло та хвіст — петлеподібнопокрученим каналом придатка сім'яника.

Вивчаючи схему будови сім'яника, поперечного перерізу звивистого каналця та *сперміогенезу*, зверніть увагу на процес утворення сперміїв, який можна розподілити на чотири стадії: розмноження (поділу), росту, дозрівання і формування. На базальній мембрані звивистого каналця знаходяться два типи клітин — великі соматичні клітини Сертолі, протоплазматичні відростки яких виступають у просвіт каналця у вигляді полум'я свічки і між ними дрібні круглі клітини з великим ядром — це сперматогонії.

З настанням статевого дозрівання сперматогонії починають розмножуватися і розміщуються у каналці в 3-7 шарів. Першою з них над сперматогонією знаходиться дещо більша від неї дочірня

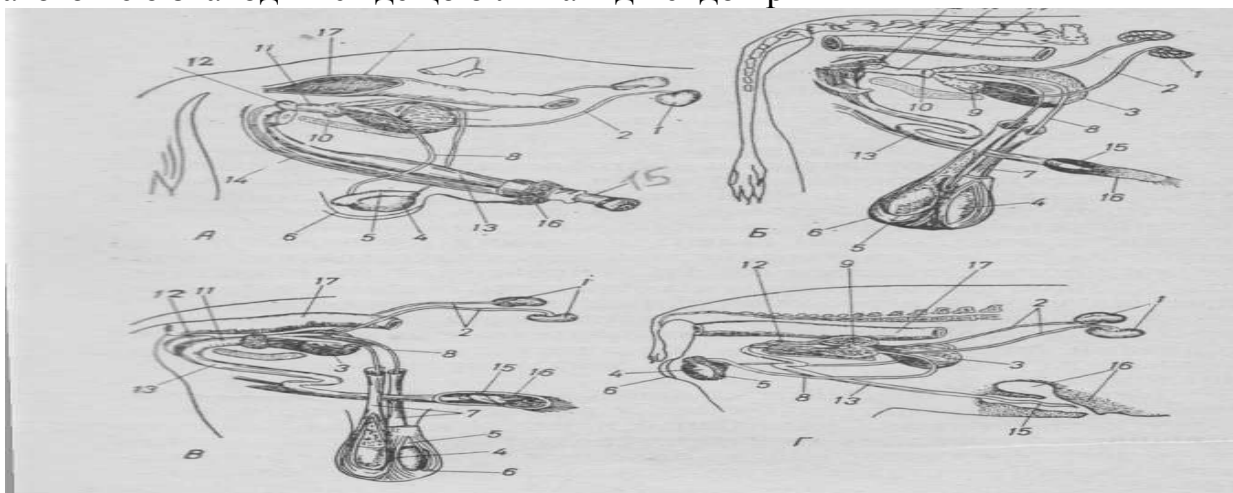


Рис. 1. Статеві органи самців: А — жеребця; Б — бугая; В — барана; Г — кнура:

1 — нирка; 2 — сечопроводи; 3 — сечовий міхур; 4 — сім'яник; 5 — придаток сім'яника; 6 — мошонка; 7 — сім'яний канатик; 8 — спермопроводи; 9 — міхурцеві залози; 10 — простатична залоза; 11 — тазова частина статевого члена; 12 — луковичні (куперові залози); 13 — статевий член (пеніс); 14 — тіло статевого члена; 15 — кінцева частина (головка) пеніса; 16 — препуціальний мішок; 17 — пряма кишка

клітинатакож з диплоїдним набором хромосом — сперматоцит I порядку (етадія росту). Далі в результаті двох поділів дозрівання (редукційного та екваційного) виникають сперматоцит II порядку та сперматида, обоє з гаплоїдним набором хромосом. Стадія формування, яка відбувається в протоплазматичних відростках клітин Сертолі, характеризується складними морфологічними змінами, що завершуються утворенням сперміїв з властивою для них будовою. При цьому ядро сперматиди переміщується у її верхню частину й вона набуває овальної форми; тільця Гольджі стають плоскими і утворюють над ядром акросому; центросома, що переміщується на протилежний полюс, ділиться на дві — проксимальну й дистальну. Остання, давши початок осьовій нитці спермія, відокремлює від себе центросомне кільце, яке поступово разом з оточуючою протоплазмою опускається в напрямку дистального кінця тіла спермія. З мітохондріального матеріалу цитоплазми формується спіральна нитка, що обмотується навколо джгутика. Вона вкрита зверху протоплазматичним чохлам.

Сформовані спермії надходять у просвіт звивистих каналців і просуваються по них у прямі каналці, чудесну сітку, спермовиносні каналці й нарешті в канал придатка сім'яника. Тривалість сперматогенезу (тобто час від першого поділу еперматогоній до виходу у придаток сформованих сперміїв) становить у бугая 51-55 днів, барана — 40-42.

Рухаючись по каналу придатка, спермії вкриваються ліпопротеїдом, що захищає їх від несприятливих впливів, набувають однойменного негативного електричного заряду і під впливом зниженої температури та кислого середовища впадають в анабіоз, зберігаючи свою життєдіяльність до 2 міс. Тому придаток сім'яника виконує також функцію своєрідного спермосховища.

Загальна довжина каналу придатка сім'яника у свійських тварин від 30 до 86 м. Тут міститься у барана від 100 до 220 млрд, у бугая — від 50 до 75 млрд сперміїв.

Надріжте хвіст придатка сім'яника, наберіть піпеткою краплю вмісту, нанесіть його на чисте предметне скло, додайте краплю теплої (40°C) фізіологічного розчину чи 2,9%-ного розчину цитрату натрію, накрийте покривним склом і розгляньте під мікроскопом.

Канал хвоста придатка сім'яника переходить у *спермопровід* — довгу й тонку (до 4 мм) трубку, стінка якої складається із серозної оболонки, мускульного шару (кільцевого й поздовжнього) та слизової оболонки. У складі сім'яного канатика спермопровід разом з судинами, нервами та м'язовими волокнами піднімається через пахвинний канал у черевну порожнину і досягає зовнішньої поверхні сечового міхура. Тут лівий і правий спермопроводи ампулоподібно розширюються й обидві ампули з'єднуються у загальну еякуляторну протоку, що відкривається в сечовивідний канал, перетворюючи його в сечостатевий канал.

Сечостатевий канал (уретра) по тазовому зрощенню спрямовується у бік сідничної дуги, обгинає її і розміщується на вентральній поверхні статевого члена, на головці якого й закінчується малим отвором.

Стінка сечостатевого каналу складається з трьох шарів— слизового, судинного та мускульного; в слизовій оболонці є численні малі уретральні залози. В судинному шарі є велика кількість кавернозних розширень, наповнення яких кров'ю сприяє зйянню каналу під час ерекції. У сечостатевий канал відкриваються вивідні протоки додаткових статевих залоз, міхурцеподібної, простати та луковичних.

Познайомтеся з топографією та зовнішнім виглядом додаткових статевих залоз. Знайдіть парні *міхурцеподібні залози*, що розміщені над шийкою сечового міхура з боківампул спермодроводів. У бугая вони досить тверді, з горбкуватою поверхнею. Це складні трубчастоальвеолярні утворення, що відкриваються в сечостатевий канал однією, рідше — двома вивідними протоками. Секрет залоз у бугая, барана, козла та кнура — водянистий, в жеребця — густуватий. Зміряйте довжину, ширину та товщину міхурцеподібної залози; відпрепаруйте вивідну протоку та добудьте із неї секрет.

Знайдіть *простатичну* залозу. Це залозисте утворення, що складається з тіла (у вигляді невеличкої стрічки), яке лежить на початковій частині сечостатевого каналу, й розсіяної частини, розміщеної в стінці сечостатевого каналу. Тіло залози найкраще розвинене в жеребця, розсіяна частина — в бугая та кнура, у барана є лише розсіяна частина. Відпрепаруйте простату, огляньте її и виміряйте.

Луковичні (бульбо-уретральні чи куперові) залози — парні, розміщені на згині сечостатевого каналу під луковично-печеристим м'язом. Найкраще вони розвинені у кнура (довжина 12-18 см; ширина 3—4, товщина 2-3 см), тоді як у барана та бугая мають величину лісового горіха. Відпрепаруйте залози, зміряйте їх та добудьте з них секрет.

Статевий член— орган парування. Двома ніжками (коренем) він прикріплений до сідничних кісток, тіло його розміщується між загальними піхвовими оболонками сім'яників під черевною стінкою і переходить у головку, що знаходиться у спеціальному препуціальному мішку попереду мошонки. В бугая головка статевого члена загострена (рис. 5), на її шийці є спрямована вліво зв'язка, яка під час еякуляції натягується і кінцева частина статевого члена описує майже повне коло діаметром 12-14 см. У козла і барана сечостатевий канал у вигляді відростка виходить на 3-4 см за межі статевого члена. В кнура кінець статевого члена штопороподібнозагнутий, що сприяє введенню його в канал шийки матки. В бугая статевий член циліндричної форми, у ділянці промежини він утворює s-подібний згин, від якого відходять до кореня два мускули, що втягують його у препуцій.

Зверху статевий член вкритий сполучнотканинною оболонкою, від якої відходять всередину численні перегородки, утворюючи кавернозне (печеристе) тіло. При статевому збудженні каверни сильно наповнюються артеріальною кров'ю, статевий член твердіє і висувається з препуція (ерекція).

Зміряйте довжину статевого члена, розріжте його впоперек і розгляньте уважно деталі його будови.

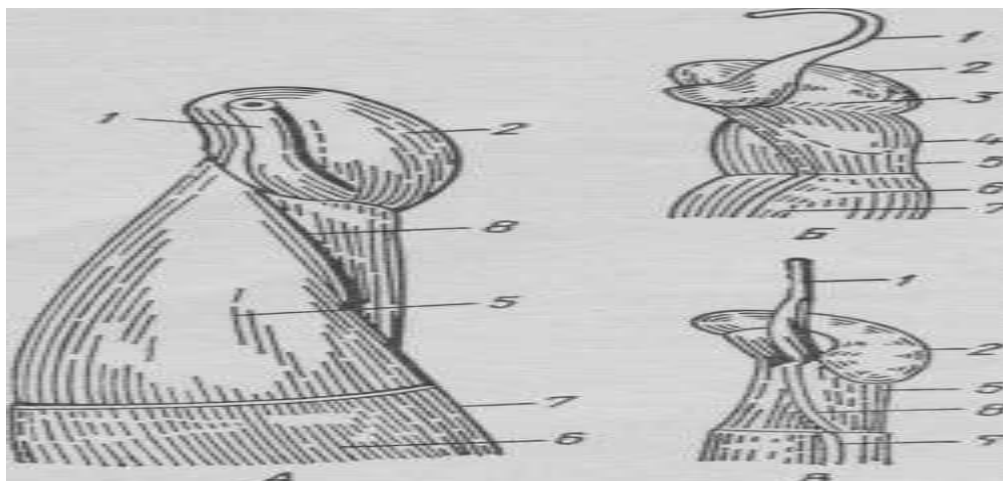


Рис. 2. Головки статевих членів:

А — бугая; Б — барана; В — козла;

1 — відросток сечостатевого каналу на головці члена; 2 — ковпачок голови; 3 — вінчикголівки; 4 — горбик з лівого боку; 5 — шийка головки; 6 — препуцій; 7 — шов препуція; 8 — шов головки

Вивчіть видові особливості статевих органів у барана, кнуря, жеребця (за аналогічною схемою).

Вивчіть гістоструктуру сім'яника та стадії сперміогенезу. Згадавши основні принципи будови сім'яного каналця за схемою, розгляньте під мікроскопом гістологічний препарат сім'яника. Знайшовши в полі зору сім'яні каналці, ви побачите, що їх стінки утворені клітинами різної форми. По периферії видно рожеві з темними ядрами довгасті клітини сполучної тканини. Ближче до центру в 1-2 ряди розміщені невеликі темно-фіолетові круглі клітини (сперматогонії). Далі видно кілька рядів великих клітин з чіткими ядрами і слабо забарвленою протоплазмою. Це — сперматоцити I та II порядку.

Над ними розміщені кілька рядів круглих клітин темного кольору. Це сперматиди. В центрі каналця видно спермії, що формуються, занурені головками в протоплазму клітин Сертолі. Простір між каналцями заповнений рихлою сполучною тканиною, клітини якої мають зернисту цитоплазму. Це інтерстиціальні клітини Лейдига, у яких синтезується чоловічий статевий гормон тестостерон.

Проведіть дослідження зовнішніх статевих органів бугая. Зафіксуйте тварину в добре освітленому природним світлом манежі. Підніміть голову бугая дещо вгору, відведіть, хвіст набік і огляньте мошонку: спочатку визначте її форму, характер складок, консистенцію і чутливість, а потім, захопивши ззаду (між задніми кінцівками) обидва сім'яники і прощупуючи їх рівномірно зверху донизу, визначте величину та форму сім'яників, їх положення в мошонці, рухливість, консистенцію та тургор.

Сім'яники здорових самців гладенькі, легко переміщуються догори, щільноеластичної консистенції. Правий — звичайно дещо більший лівого. При наявності тестиметра можна зробити проміри сім'яника: у статевозрілих бугаїв

він має висоту 12-20 см, ширину 6-10 і товщину 7-10 см. Дослідіть одночасно придатки сім'яників. У бугая на вентральному кінці сім'яника прощупується невелике напівкругле утворення — хвіст придатка, на дорсальному — головка придатка. Пальпуючи сім'яні канатики та спермопроводи, зверніть увагу на їх товщину, консистенцію, болючість.

Дослідіть препуціальний мішок. Визначте довжину, рухливість та чутливість препуціального мішка, діаметр препуціального отвору, стан його слизової оболонки. Пропальпуйте крізь стінку препуціального мішка статевий член.

Проведіть рефлексологічне дослідження плідника. Із статевим дозріванням у самця починає проявлятися статевий інстинкт, що складається з комплексу взаємопов'язаних статевих рефлексів, наведених нижче: іі

статевого потягу — самець і самка в охоті розшуковують одне одного за запахом, звуками, поведінкою і т. п.;

обіймальний — самець стрибає на самку і фіксується передніми кінцівками;

ерекції—проявляється сильним наповненням артеріальною кров'ю печеристих тіл статевого члена, в результаті чого збільшується його розмір, підвищується температура та чутливість, він стає твердим, s-подібний згин вирівнюється, що сприяє введенню його в статеві органи самки;

парувальний—характеризується введенням збудженого статевого члена в піхву і штовхальними рухами крупа, спрямованими на уловлювання рецепторами шкіри статевого члена термічних та механічних подразнень, що виникають при його терті об слизову оболонку піхви;

еякуляції (виділення сперми) є завершальним у ланцюгу вищеописаних рефлексів і природним їх підкріпленням. В результаті серії скорочень м'язів статевого апарата спермії і секреті додаткових статевих залоз виштовхуються з уретри. Еякуляція відбувається послідовно: спочатку виділяються секреті уретральних і куперових залоз, які очищають сечостатевий канал від залишків сечі, а потім порція ущільнених сперміїв та активізуючі їх секреті простати; в останню чергу —багатий на життєво необхідні сполуки секрет міхурцеподібних залоз, який значно збільшує об'єм еякуляту й сприяє просуванню сперміїв по статевих шляхах.

У кожного виду тварин еякуляція супроводжується характерними зовнішніми ознаками. У бугая і барана парувальний рефлекс закінчується характерним поштовхом, який майже завжди закінчується еякуляцією. У жеребця з початком виділення сперми припиняються парувальні рухи й спостерігаються лише ритмічні скорочення м'язів кореня хвоста. Якщо в цей час прикласти пальці руки до нижньої поверхні статевого члена біля препуція, то можна відчутти характерну для еякуляції пульсацію уретри.

У кнурів також припиняються парувальні рухи під час еякуляції, кнур заспокоюється, його хвіст закручується догори і не рухається, сім'яники підтягуються, мошонка буває слабонапруженою і дещо відвислою. Про еякуляцію свідчить пульсація задньопроехідного отвору. Під кінець еякуляції

хвіст коливається і в більшості випадків звисає.

Зафіксуйте в станку корову чи телицю в охоті, і підвівши до неї бугая, дайте змогу йому зробити садку, визначаючи при цьому його статеву активність, послідовність, тривалість та інтенсивність статевих рефлексів (статевого потягу, обіймального, ерекції, парувального, еякуляції).

Вивчити особливості будови статевих органів та репродуктивну функцію самців птахів. Сім'яники самців птахів знаходяться в черевній порожнині симетрично з двох сторін середньої лінії, біля переднього краю нирок, поблизу надниркових залоз. Лівий сім'яник, як правило, розвинутий краще правого. Колір їх білуватий чи жовтуватий. Маса і розміри сім'яника залежать від виду, породи, віку і фізіологічного стану самців. Так, у дорослих півнів у період статевої активності маса сім'яника становить 25- 30 г, у період линьки вона зменшується до 4-6 г. У гусаків у період статевої активності маса сім'яника становить 22-39 г, а в анестральний період – 8-12 г, у качурів відповідно 25-35 і 3-5 г, в індиків - 26-30 г.

Сім'яник зовні покритий білковою оболонкою, від якої відходять сполучнотканинні волокна. Сім'яні каналці сполучаються між собою і створюють густу сітку. У веретеноподібних розширеннях каналці в здійснюється процес сперматогенезу - утворення і розмноження сперміїв.

Контрольні питання:

1. Вкажіть яку функцію виконують сім'яники, мошонка?
2. Що розуміють під дозріванням сперміїв в каналах придатка сім'яника?
3. Вкажіть до яких наслідків призведе запалення мошонки.
4. Вкажіть на особливості будови сім'япроводів в основних видів тварин.
5. Яку функцію виконують сечостатевий канал?
6. Перелічіть функцію які виконують придаткові статеві залози.
7. Анатомічні особливості статевих органів сільськогосподарських самців птахів.

ТЕМА 3

Підготовка штучної вагіни до одержання сперми від плідників

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Розчини: двовуглекислої соди 1%, фурациліну 1:5000, 70% спирт; 0,9% натрію хлориду, 2-3% розчин соди, ватно-

спиртові тампони, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода, штучні вагіни різних конструкцій, підставки для них, штативи для спермоприймачів, кулі Річардсона, корнцанги, пінцети 20см, електроплита, стерилізатор, термостат, скляні лійки, мірні циліндри, йоржі для миття штучних вагін, термометри, емальовані тази, каструлі.

Будова штучних вагін для бугая, барана, кнура та жеребця. Вивчаючи штучні вагіни для плідників різних видів сільськогосподарських тварин, звертають увагу на особливості їх будови, вимірюють довжину і діаметр циліндра, визначають, з якого матеріалу він виготовлений, тощо.

Штучні вагіни для сільськогосподарських тварин усіх видів побудовані за одним принципом і складаються з циліндра (що має патрубок для наливання води та нагнітання повітря, який закривається ебонітовим краником – у вагіні для бугая та барана або гвинтовим корком – у вагіні для жеребця), гумової камери (що закріплюється на циліндрі гумовими кільцями – у вагіні для бугая і жеребця) і спермоприймача (що фіксується у вагіні для бугая спеціальним тримачем). У штучній вагіні для кнура, конструкції О. В. Квасницького, є водяний манометр з кулями Річардсона для контролю за тиском у ній. спермоприймач з фільтром або широкогорлу скляну банку місткістю 500-1000мл.

Штучна вагіна для кроля має балоноподібний роздутий зовнішній циліндр, що дає змогу заливати в нього велику кількість теплої води і запобігати її охолодженню.

У бугая та барана можна брати сперму також методом електроеякуляції. Електроеякулятор для взяття, сперми у бугая та барана складається з виготовленого з вулканічної гуми щупа (зонда), на вільному кінці якого є 6 електродних кілець, з'єднаних між собою по чергово у дві групи. Через понижуючий трансформатор еякулятор вмикають в електричну мережу.

Для взяття сперми у бугая в його пряму кишку вводять зволожений фізрозчином щуп електроеякулятора і вмикають на 5 - 8 с кілька разів електричний струм напругою 10-20 В і силою 500 - 700 міліампер (у барана – на 2-5 с напругою 5-8 В). Збирають сперму в підставлений до препуція спермоприймач.

Складання штучної вагіни для бугая, барана та кнура. Перш ніж скласти штучну вагіну, перевіряють цілісність і справність усіх її частин, визначають, чи немає тріщин і отворів у циліндрі, чи ціла гумова камера, її ебонітовий краник повинен вільно відкриватися і закриватися й щільно входити в отвір патрубку або в гумовий корок.

Гумову камеру вивертають гладенькою поверхнею всередину і пропускають через циліндр так, щоб вона виступала рівномірно з обох боків. Один край камери завертають на циліндр, рівномірно натягують і повертають циліндр цим кінцем донизу. Піднімають вагіну за незавернений кінець камери так, щоб краї її вільно розправилися в циліндрі, і натягують другий кінець камери на циліндр. Щоб полегшити завертання країв камери на циліндр, можна

спочатку завернути кінець її валиком всередину, а тоді натягнути завернену частину на кінець циліндра й акуратно розвернути. Натягнута камера не повинна мати складок, перекосів і провисань; діаметр її внутрішнього просвіту має бути однаковим по всій довжині. При дуже сильному натягненні, коли отвір камери набирає форми лійки, чи слабкому натягненні, утворенні складок порушується еякуляція, погіршується якість сперми і статева активність плідника.

Завернені на циліндр кінці камери закріплюють гумовими кільцями – одним з боку, де приєднується спермоприймач, і двома – з вхідного кінця. У штучній вагіні для барана кілець не використовують, а у вагіні для кнура Інституту свинарства ім. О. В. Квасницького НААНУ кінці камери закріплюють мотузкою або відрізнаним кільцем гумової камери.

Вставляють ебонітовий краник у патрубок циліндра, з'єднують його з гумовою грушею і занурюють вагіну в посудину з водою (перевіряють, чи не витікає вода). У вагіні для барана вставляють у патрубок спочатку корок з м'якої гуми з отвором для ебонітового краника. У вагіні для кнура зразка Інституту свинарства ім. О. В. Квасницького НААНУ є металева трубка-патрубок, що з'єднується з водяним манометром та гумовими кулями.

Підготовка штучної вагіни до взяття сперми. У підготовленій для одержання сперми штучній вагіні треба створити температуру 40-42°C (для цього у міжстінний простір наливають гарячу воду), тиск близько 40 мм рт. ст. (нагнітають у міжстінний простір повітря) і слизьку поверхню (змащують внутрішню поверхню відповідною змазкою чи розріджувачем).

Складену вагіну готують у такій послідовності:

1. В емальованому тазіку готують теплий 2-3%-й розчин двовуглекислої чи 1-1,5 %-й розчин кальцінованої соди і шматочком поролону, марлі, захоплених корнцангом або йоржиком, ретельно миють вагіну. Потім її споліскують чистою гарячою водою, витирають всередині і ззовні чистим рушником або марлевою серветкою.

2. Стерилізують спермоприймач одним з таких способів:

- а) сухим жаром – чисто вимиті скляні спермоприймачі витримують у сушильній шафі при температурі 160-180°C протягом 20 хв;

- б) кип'ятінням чисто вимиті скляні спермоприймачі кладуть у теплу воду, доводять її до кипіння і кип'ятять 5 хв. Можна підігрітий у теплій воді чи над парою спермоприймач занурювати зразу в киплячу воду і кип'ятити 5 хв, вийнявши з води, струсити і накрити стерильною покриткою або поставити його на стерильну серветку догори дном;

- в) споліскуванням 70 %-м спиртом – наливають в спермоприймач для бугая чи барана 3-4 мл 70 %-го спирту, споліскують ним його, виливають спирт у банку для відпрацьованого спирту і промивають ще 4-5 разів 1 %-м стерильним розчином двовуглекислої соди, 2,9 %-м розчином цитрату чи 0,9 %-м розчином натрію хлориду. Рідше спермоприймачі дезінфікують фламбуванням, автоклавуванням, текучою парою (пластмасові спермоприймачі від штучної вагіни для кнура) чи протиранням спиртовим тампоном (гумовий

спермоприймач вагіни для жеребця);

г)одноразові поліетиленові спермоприймачі стерилізують ультрафіолетовими променями протягом 30 хв.

3.Дезінфікують вагіну автоклавуванням, кип'ятінням у дистильованій воді, обробкою 96 %-м спиртом чи текучою парою.

При стерилізації автоклавуванням чи кип'ятінням надівають на обидва кіпці штучної вагіни полотняні чохла або закривають кінці вагіни пергаментним папером і закріплюють його гумовими кільцями. Вкладають вагіни в автоклав або спеціальний великий стерилізатор, налипають у нього дистильовану воду і кип'ятять 20 хв. Автокланують їх 15-20 хв при температурі 105°C і тиску 0,3-0,4 атм. Виймають із стерилізатора спеціальними довгими щипцями простерилізовану вагіну, дають стекти воді і вмішують на підставку.

Для знезараження штучної вагіни спиртом беруть профламованим корнцангом ватний спиртовий тампон і спіралеподібними рухами протирають ним спочатку внутрішню, а потім зовнішню поверхню вагіни.

При знезараженні штучної вагіни для кнура текучою парою закріплюють її похило у спеціальній підставці, приєднують до звуженого кінця вагіни дерев'яну муфту з приєднаною до неї гумовою трубкою від пароутворювача і пропускають пару. Закінчують стерилізацію через 3-5 хв після припинення конденсації пари та нагрівання вагіни. Закривають кінці вагіни стерильними марлевими серветками.

4.Виймають ебонітовий краник із штучної вагіни, вставляють у патрубок скляну лійку і вливають у міжстінний простір потрібну кількість гарячої води (табл. 3).

Отвір шийки штучної вагіни зразка 1960 р. для бугая закривають гумовим корком при її похилому положенні. На час взяття сперми температура у вагіні має бути 40-42°C. Заповнені теплою водою штучні вагіни можна помістити в шафу-термостат з автоматичним регулюванням температури.

Таблиця 1

Норми заповнення штучних вагін водою

Плідник	Тип вагіни	Кількість води, мл	Температура води, С
Бугай	1942 р.	400-500	60-70
	1960 р.	1200-1500	50-55
Баран	1942 р.	150-180	50-55
Кнур	Укорочена вагіна для бугая	300-400	60-65
	Вагіна конструкції інституту Свинарства ім. О. В. Квасницького НААНУ	1000-1200	45
Жеребець	Алюмінієва	1500-2500	50-60

5. Користуючись незараженою скляною чи пластмасовою паличкою, змащують круговими рухами внутрішню поверхню камери тонким шаром стерильної змазки чи розріджувача, залишивши не змащеним той кінець вагіни, до якого буде приєднаний спермоприймач.

Можна також змащувати камеру трагакантною, силіконовою чи водо-гліцеринно-крохмальною змазкою за методом В. А. Пасічника (рецепт № 1: крохмаль - 6г, гліцерин - 10 г, дистильована вода - 100 мл; рецепт № 2:

крохмаль - 6г, гліцерин - 10 г, кип'ячене молоко - 100 мл; рецепт № 3: крохмаль - 6г, гліцерин - 10 г, натрію цитрат – 3 г, вода дистильована – 100 мл) або синтетичним середовищем, виготовленим для розрідження сперми.

На стіні чи на станку біля чучела на висоті 1,5-1,8 м. пропускають гумову трубку, яка з'єднує манометр з вагіною, під майданчик і виводять її через отвір під чучелом. Вставляють підготовлену вагіну в чучело і закріплюють так, щоб отвір вагіни збігався з отвором у задній частині чучела. Під'єднують манометр до вагіни. Заганяють кнура у манеж і стежать за проявом у нього статевих рефлексів та за тиском у штучній вагіні. Ознаками еякуляції є такі: у кнура припиняються парувальні рухи, вія заспокоюється, хвіст його закручується догори, м'язи біля ануса ритмічно скорочуються, сім'яники підтягуються. У кінці еякуляції хвіст ритмічно скорочується, а тоді опускається донизу. Після закінчення еякуляції, коли кнур зійде з чучела, виймають штучну вагіну, від'єднують спермоприймач, видаляють фільтр з секретом куперових залоз, закривають спермоприймач кришкою і передають до лабораторії.

Контрольні питання :

1. Будова, складання, підготовка штучної вагіни для бугая.
2. Будова, складання, підготовка штучної вагіни для барана.
3. Будова, складання, підготовка штучної вагіни для жеребця.
4. Будова, складання, підготовка штучної вагіни для кнура.

ТЕМА 4

Одержання сперми від плідників

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Розчини: двовуглекислої соди 1%, фурациліну 1:5000, 70% спирт; 0,9% натрію хлориду, 2-3% розчин соди, ватно-спиртові тампони, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода, штучні вагіни різних конструкцій, підставки для них, штативи для спермоприймачів, кулі Річардсона, корнцанги, пінцети 20см, електроплитка, стерилізатор, термостат, скляні лійки, мірні циліндри, йоржі для миття штучних вагін, термометри, емальовані тази, каструлі.

Попередні зауваження. Взяття сперми – це перший практичний прийом технології штучного осіменіння, який має забезпечити нормальний прояв безумовних статевих рефлексів у плідників (статевого потягу, об'ємального і парувального рефлексів, ерекції та еякуляції) з виділенням достатньої кількості повноцінної сперми, не позначитися негативно на її якості і здоров'ї плідника, бути простим і доступним та гарантувати асептичність. З широкого арсеналу методів взяття сперми (піхвових, уретральних та хірургічних) лише метод з використанням штучної вагіни дає змогу відтворити в ній умови, подібні до умов у статевих органах самки під час коїтусу (слизька поверхня, температура 38-40°C, тиск 40-60 мм рт. ст.) і забезпечити повноцінний прояв статевих рефлексів у самців. Однак неправильно підготовлена штучна вагіна може викликати у плідника гальмування статевих рефлексів.

По-друге, взяти повноцінний еякулят, не зашкоджуючи здоров'ю плідника, можна тільки при чіткому додержанні санітарно-гігієнічних вимог. У системі заходів щодо отримання сперми, вільної від мікрофлори, важливе значення мають використання вкорочених одноразових вагін та спермоприймачів з полімерних матеріалів, автоклавування штучних вагін, інструментів та матеріалів, застосування бактерицидних ламп у манежах та лабораторіях, вологе прибирання приміщень.

За кожним плідником закріплюють по дві штучні вагіни, на циліндрі яких пишуть кличку плідника. Плідників, у яких беруть сперму, заводять під душ (улітку) або чистять пилососом (особливо черево й сцину), обмивають ділянку препуція і витирають його стерильним туалетним папером чи марлею.

Ззаду передніх кінцівок плідника перед взяттям сперми підв'язують свіжовимитий і висушений чистий фартух, який під час стрибка плідника на підставну сільськогосподарських тварину або чучело накриває її круп. До і після взяття сперми від кнура чучело миють теплою водою з милом і витирають насухо чистим рушником. Задню частину його протирають тампоном, змоченим у розчині фурациліну (1:5000).

Один раз за декаду порожнину препуція плідника промивають 3 %-м розчином перекису водню, фуразолідону (1:10000) чи фурациліну (1:5000).

Один раз за квартал проводять ветеринарно-санітарну оцінку сперми та змивів з препуція плідників, досліджуючи їх на наявність мікробних тіл та колі-титр. Для використання допускають сперму, в 1 мл якої міститься не більше 5 тис. мікробних тіл при колі-титрі 1:10.

По-третє, у практиці штучного осіменіння інколи спостерігаються випадки ослаблення, гальмування і навіть спотворення статевих рефлексів. Частіше за все це буває внаслідок неправильної годівлі, порушення зоогігієнічних норм утримання і використання плідників та правил підготовки штучної вагіни чи техніки взяття сперми, захворювань статевої системи тощо. Тому особливу увагу приділяють годівлі, утриманню та використанню плідників, дотриманню правил підготовки та використанню штучних вагін.

Режим використання плідників. Бугаїв починають використовувати з 12-місячного віку. Частота їх використання залежить від їх віку та фізичного

стану, умов годівлі та якості взятої сперми у молодих бугаю до 18-місячного віку беруть не більше двох, а в дорослих – 2-4 еякуляти за тиждень.

Сперму від бугаїв отримують за допомогою дуплетної садки двічі через 5-7 хв. Для кращого закріплення умовних рефлексів і збереження високої активності плідників сперму в них слід брати завжди в один і той самий час (не раніше як через 2 год після годівлі та напування). У манежі треба підтримувати тишу; присутність сторонніх осіб забороняється.

Перед взяттям сперми бугаїв протягом 15-20 хв прогулюють. До місця взяття сперми їх підводять лише тоді, коли там уже все готове для цього – підготовлено штучну вагіну, стоїть зафіксована підставна сільськогосподарська тварина або механічне чучело.

Сперму від бугаїв беруть суворо за графіком. Щоб плідники, від яких не беруть сперму в цей день, не збуджувались, їх випускають на прогулянку. При групових прогулянках бугаїв не можна допускати їх стрибків один на одного.

Умови утримання та використання плідників мають забезпечувати їх нормальне здоров'я та високу статеву активність якомога триваліший час. У племоб'єднаннях треба проводити заходи профілактики гальмування статевих рефлексів, а при виникненні захворювання плідників їх необхідно лікувати. При цьому категорично забороняється проводити ветеринарні обробки в манежі чи в станку для взяття сперми; для цього має бути спеціально обладнаний станок у ветеринарному блоці.

Готувати **баранів-плідників** до парувальною сезону починають за 1 - 1,5 міс до початку осіменіння овець. За цей час їх привчають до садки на штучну вагіну, досліджують якість їх сперми, здійснюють заходи щодо звільнення придатка сім'яника від старих мертвих спермій. Для цього від них беруть спочатку по два еякуляти через 5-6 днів, а потім по два через 2-3 дні до тих пір, поки об'єм його не становитиме 1-1,5 мл з оцінкою за густиною не нижче 9 балів. Якщо серед баранів виявляються мляві, малоактивні у статевому відношенні, то їх виділяють в окрему групу, поліпшують їм умови годівлі та утримання і проводять заходи щодо посилення статевих рефлексів. Для цього їх випускають у загін з 2-3 вівцематками у стані охоти і при виникненні статевого збудження беруть сперму на штучну вагіну або допускають природний статевий акт. Ці прийоми повторюють кілька днів підряд спочатку в загоні, а потім у племоб'єднанні чи на пункті штучного осіменіння, поки в баранів не відновиться статева активність. Разом з вівцями у загін до баранів можна підпускати енергійних баранів-пробників з підв'язаними фартухами. При появі статевого збудження у малоактивних баранів їм дозволяють зробити садку, попередньо видокремивши пробників.

Статеве навантаження на дорослих баранів у період проведення штучного осіменіння має становити 2-3 садки на день і лише в деяких випадках – при добрих годівлі і утриманні – до 4. Перші два еякуляти звичайно беруть дуплетною садкою вранці, після годівлі і після 1 - 1,5-годинної прогулянки; третій (інколи і четвертий) еякулят – у другій половині дня. Від молодих баранів за сезон осіменіння беруть 10-12 еякулятів. При зниженні статевої

активності плідників їм надають відпочинок.

Молодих кнуриців починають привчати до садки на чучело з 6-8 міс, допускаючи не більше двох садок за декаду. З 8-10-місячного віку, коли вони досягають живої маси 130-140 кг, у них починають брати сперму. В перший парувальний сезон молодим кнурам дозволяють по дві садки на тиждень.

Дорослих кнурів можна використовувати помірно (одна садка за 3 дні протягом парувального сезону) або інтенсивно (одна садка за 2 дні з наданням 8-10-денного відпочинку через місяць після використання).

Від жеребця у парувальний сезон можна брати один, дуже зрідка – два еякуляти за день. Через кожні 6 днів їм надають одноденний відпочинок.

В усіх випадках взяту сперму перевіряють під мікроскопом і в разі погіршення її якості плідникам надають відпочинок, поліпшують умови їх годівлі та утримання.

Від самців птиці техніка одержання сперми досить добре розроблена. Інструменти, що для цього використовуються прості і легко доступні. При одержанні сперми дотримуються таких правил: одержують сперму в стерильний посуд; розбавляють сперму свіжоприготовленим якісним розріджувачем; зберігають сперму при температурі 2-4°C; розбавлення здійснюють у відношенні 1:1 чи 1:2.

Біохімічний склад сперми і її фізіологічні властивості у самців різних видів птахів неоднакові, тому розріджувач, що добре себе зарекомендував при розбавленні сперми, наприклад, півня, може виявитись непридатним для сперми інших видів птахів.

Для штучного осіменіння курей відбирають півнів міцної конституції від високопродуктивних здорових батьків.

Перший відбір півнів проводять у 60-70-денному віці. Для півнів яйценосних порід бажано, щоб вони мали добре розвинутий гребінь, оскільки ця ознака позитивно пов'язана з якістю сперми. Півнів відбирають з розрахунку один самець на 10 курей.

Другий відбір півнів яйценосних порід проводять у віці 5 місяців. Відбирають добре розвинутих півнів з м'яким животом, які реагують на масаж вивертанням клоаки, ерекцією копулятивного органу і виділенням сперми хорошої якості. У цьому віці відбирають півнів з розрахунку один самець на 20 курей.

Остаточний відбір півнів проводять у віці 7-8 місяців. За 2-3 тижні до початку використання спеціальному приміщенні. За цей час вони повинні звикнути до нових умов, один до одного і обслуговуючого персоналу. При остаточному відборі залишають одного півня з розрахунку на 40-60 курей.

Підсаджувати і замінювати півнів небажано, оскільки це призводить до бійок і значно гальмує статеві рефлекси.

Одержання сперми починають з привчання півнів віддавати сперму через день в одні й ті ж години, краще з 9-10 годин. Для цього часто буває достатньо 4-5 тренувань.

Одержують сперму так: робітник одягає фартух, сідає на стілець і тримає

півня головою вліво, затиснувши обидві його ноги колінами. Правою рукою між вказівним, середнім і безим'яним пальцями технік тримає спермоприймач, а великим пальцем і мізинцем рухом від кіля до хвоста масажує нижню частину живота. Одночасно лівою рукою погладжує поперекову ділянку спини в напрямку від голови до хвоста. Через декілька секунд півень починає реагувати на масаж, піднімаючи хвіст. У цей час технік великим і вказівним пальцями лівої руки проводить легкий масаж задньої частини живота півня і при ерекції копулятивного органу стискає клоаку пальцями лівої руки і збирає сперму в спермоприймач.

Можна одержувати сперму від півнів і з допомогою електроеякуляторів.

При одержанні сперми температура в приміщенні має бути не нижчою 15-18°C, а в спермоприймачі 40-41°C при цьому зручно використовувати двостінні спермоприймачі.

Сперму від півнів одержують через день по 1-2 еякуляти. Другий еякулят можна одержувати лише тоді, коли першого еякуляту недостатньо для осіменіння курей, закріплених за цим півнем. Необхідно мати на увазі, що сперма другого еякуляту часто буває більш рідкою.

Відбір індиків, одержання і оцінка якості сперми. За 7-10 днів до початку племінного сезону приступають до тренування самців для одержання від них сперми. Після першого масажу індиків одержують невеликі об'єми еякулятів (0,05-0,15 мл), після другого масажу об'єм еякуляту зростає до 0,15-0,20 мл, а після третього – 0,25-0,30мл. Як правило, після трьох масажів рефлекс еякуляції виробляється у всіх самців.

Критерієм відбору індиків за якістю сперми перед початком племінного сезону є наступні показники: об'єм еякуляту не менше 0,25 мл; колір сперми від білого до кремового; концентрація сперміїв не менше 7 млрд./мл; рухливість сперміїв не нижче 4 балів; знебарвлення метиленової синьки відбувається не довше 10 хвилин.

Режим одержання сперми від індиків – два рази протягом тижня. Серед існуючих способів одержання сперми від індиків є найбільш ефективними два із них – ручний масаж (схожий, який застосовується і на півнях) і асканійський.

Для самців, у яких ще недостатньо утворився рефлекс еякуляції на ручний масаж (на початку парувального сезону), або спостерігається згасання статевої потенції (у кінці племінного використання), а також для самців з індивідуальними особливостями цього може бути недостатньо. У таких випадках технік по одержанню сперми перед закінченням масажу тильною стороною долоні правої руки натискає на корінь хвоста (прагнучи завернути його до спини), а великим і вказівним пальцями стискає з бокових сторін кільце клоаки до появи копулятивного органу і виділення сперми, яку збирають у спермоприймач.

Щоб одержати повноцінний еякулят, пальці техніка по одержанню сперми роблять рухи в напрямку з-під кореня хвоста до клоаки, якби імітуючи видавлювання, а помічник (оператор- масажист) при цьому продовжує робити легке двостороннє погладження м'якої частини живота так, як при підготовці

самця до одержання сперми.

На підготовку, масаж, еякуляцію і збір сперми витрачається біля 35-40 секунд. Об'єм еякуляту залежить від ряду факторів і в середньому становить 0,35 мл.

Співробітники в інституті Асканія-Нова розробили інший спосіб одержання сперми від індиків. Він базується на принципі природного збудження самця. Для цього самку фіксують у заглибленні

станка і накривають спеціальним щитком, що захищає самку від травмування самцем. Потім на стіл-станок ставлять самця. Наявність самки збуджує у нього прояв статевих рефлексів і він робить садку. При цьому йому роблять масаж м'якої частини живота, після чого здійснюється еякуляція. Сперму збирають у спермоприймач. Цю операцію виконує одна особа. Такий спосіб фізично легше виконувати, він більшою мірою відповідає природному акту, оскільки з ланцюгу прояву безумовних і умовних статевих рефлексів виключається тільки копуляція. Повну оцінку спермопродукції самця проводять перед початком парувального сезону за такими показниками: об'єм еякуляту, колір сперми, концентрація і рухливість сперміїв, швидкість знебарвлення метиленової синьки.

Об'єм еякуляту визначають по нижньому меніску градуйованого спермоприймача, а при його відсутності – з допомогою піпетки. Самців, еякулят яких становить стійко менше 0,20 мл вибраковують на м'ясо.

Колір сперми визначають візуально. Нормальним вважається колір сперми білий або кремовий. Самців з іншим кольором сперми (жовтий, зеленуватий) вибраковують на м'ясо.

Концентрацію сперміїв визначають з допомогою фотоелектроколометра. Для використання збільшенні 120-300 разів і оцінюють у балах. Самців, у яких рухливість сперміїв нижче 4 балів, не використовують.

За реакцією знебарвлення метиленової синьки, що характеризує метаболічну активність сперміїв, відбирають самців, сперма яких знебарвлює 0,01%-вий робочий розчин метиленової синьки не довше, ніж за 10 хвилин.

Нерозбавлена сперма індиків швидко втрачає свою запліднюючу здатність, тому її слід використовувати протягом 20-30 хвилин після одержання. При розрідженні сперми середовищем (глутамат натрію 2,8 г; глюкоза 1,8 г; води дистильованої 100 мл) її запліднююча здатність становить до 83%, вихід індичат - до 65%. Способи короточасного зберігання сперми індиків при плюсових температурах потребують удосконалення.

Відбір гусаків, одержання і оцінка якості сперми, її розрідження. Біологічні особливості розмноження гусей ускладнюють роботу їх відтворення методом штучного осіменіння. Гусаки характеризуються досить слабо вираженою репродуктивною функцією, розповсюдженою серед них імпотенцією. Тому відбір гусаків, придатних для племінного використання має особливе значення. Питома вага витрат на утримання гусаків становить до 30%.

Оператор, який сидить на стільці, поміщає гусака на коліна головою під

ліву руку. Помічник сидить з правої від оператора сторони і фіксує самця, тримаючи його за обидві ноги лівою рукою. Оператор лівою рукою (всією поверхнею долоні) злегка стискує спину гусака, проводячи масаж від основи крил у напрямку хвоста, а правою рукою захоплює кільце клоаки знизу. Масаж триває 8-10 секунд. За цей час оператор проводить погладження рукою по спині самця 4-5 разів. Потім, не відриваючи лівої руки від гусака, натискує хвостову частину, а правою рукою ритмічним стискуванням кільця клоаки виводить пеніс назовні, що обумовлює його ерекцію і послідоуючу еякуляцію.

Збір сперми здійснюють з допомогою вакуумного спермозбирача. Він складається з двостінного спермоприймача і насоса-помпи.

При одержанні сперми помічник оператора правою ногою натискує на помпу насоса спермозбирача, а правою рукою тримає спермоприймач. Як тільки в каналі пеніса з'являється сперма, він знімає ногу з помпи-насоса, а забірну трубку спермозбирача підставляє до основи статевому органу. Сперма засмоктується в спермоприймач під дією невеликого вакууму.

Перед одержанням сперми від гусака в спермо приймач між внутрішню судину і корпус навивають теплу воду (40°C), а внутрішню судину, в яку збирається сперма, ополіскують теплим (30-40°C) розріджувачем.

У період привчання самців до еякуляції на спермоприймач (10-15 днів) сперма часто забруднюється калом і сечею. Це трапляється тоді, коли гусак лякається. При спокійному поводженні з такими гусаками під час їх відновлювання, фіксації і масажу виділення калу і сечі в момент еякуляції, як правило, не відбувається. Плідників, у яких постійно спостерігається забруднення сперми в процесі еякуляції, вибраковують.

Успішно одержують сперму після тренування гусаків протягом 5-8 днів. При цьому деякі самці виділяють сперму рефлекторно навіть без масажу. У таких самців оператор пальцями правої руки злегка стискує кільце клоаки, після чого вона починає відкриватися. Помічник оператора, не доторкуючись до статевому органу, вакуумом засмоктує сперму в спермоприймач. Потім оператор протягом 5 секунд проводить масаж спини самця і збирає додаткову кількість сперми. У деяких випадках у гусаків під час першого одержання сперми спостерігаються в ній сліди крові. За такими самцями має бути особливо ретельний догляд, і протягом 3-4 днів сперму від них одержувати не можна.

Використовувати гусаків краще всього через день раз у другій половині дня. Перед одержанням сперми бажано в спермоприймач налити 0,3-0,5 мл розріджувача, підігрітого до 35°C.

Особливо важливо, щоб сперму від гусаків одержували одні й ті ж люди у спокійній, звичній для птахів обстановці. Протягом племінного сезону у гусаків бажано декілька разів вистригати пух і пір'я навколо клоаки.

Оцінка сперми гусаків проводиться за такими показниками: об'єм еякуляту, колір, концентрація і рухливість сперміїв, виживаність, інтенсивність дихання, відсоток мертвих і патологічних форм сперміїв.

Об'єм еякуляту у гусаків коливається від 0,1 до 1,3 мл (у середньому 0,3-

0,4 мл). Густа сперма має білий колір, а рідка - голубуватий відтінок. Концентрація спермій у гусаків коливається від 0,2 до 2,5 млрд/мл у залежності від породних й індивідуальних особливостей. У якісній спермі рухливість спермій становить 9-10 балів. Якщо рухливість спермій становить нижче 7 балів, то її вибраковують.

У гусаків, у зв'язку з особливою будовою їх статевого органу, сперма частіше забруднюється калом і сечею, ніж у півнів та індиків. Забруднену сперму не можна використовувати для штучного 20 до 60 млн. рухливих спермій. Наприклад, від гусака одержали еякулят об'ємом 0,5 мл з концентрацією спермій 1 млрд/мл і рухливістю 8 балів. Перед розрідженням визначають загальну кількість рухливих спермій в еякуляті. Для цього його показники об'єму множать на концентрацію. Потім одержаний показник ділять на потрібну кількість спермій у дозі осіменіння однієї гуски і одержують показник кількості гусок, яких можна осіменити цією спермою. Ступінь розбавлення визначають так: якщо для однієї гуски потрібно 0,1 мл розрідженої сперми, то для 20 потрібно 2 мл. Таким чином, об'єм сперми 0,5 мл розбавленої трьома частинами розріджувача (0,5 мл сперми + 1,5 мл розріджувача).

Розріджувачі сперми гусаків готують безпосередньо перед його використанням. Для розрідження свіжої сперми температура розріджувача має бути 35°C.

Існуючі розріджувачі сперми гусаків дозволяють зберігати запліднюючу здатність спермій протягом 30-40 хвилин після її одержання.

Введення до складу розріджувачів сперми антибіотиків дозволяє боротись з її бактеріальним забрудненням, яке є вже в спермі й тим, щорозмножується.

Відбір племінних качурів для штучного осіменіння, одержання і оцінка якості сперми, її розрідження. Відбір племінних качурів для штучного осіменіння починають у 6-місячному віці за зоотехнічними показниками і розвитком статевих органів. Утримують відібраних самців окремо від самок у секціях по 20-25 голів (із розрахунку один качур на 0,7 м площі підлоги). При утриманні качурів великими групами часто спостерігається переслідування слабких, вищипуванням у них пір'я і навіть канібалізм.

Для стимуляції спермоутворення додаткове освітлення в приміщеннях для качурів застосовують на 10-15 днів раніше, ніж для качок, щоб до початку яйцекладіння качури виділяли повноцінну сперму.

Температура в пташниках підтримується в межах 18-26°C. Годівля качурів забезпечується згідно норм.

Качури, на відміну від півнів і індиків, мають копулятивний орган у вигляді штопороподібно закрученого пеніса довжиною 12-18 см. На зовнішній поверхні пеніса є загострені рогові підвищення. По всій довжині пеніса проходить спіралеподібний жолоб, по якому в момент еякуляції виділяється сперма, стікаючи по всій поверхні пеніса. Ці особливості вимагають специфічного підходу до качурів.

Застосовують два способи одержання сперми - з допомогою масажу і з

використанням електроєякулятора.

Більш зручний і простий є спосіб з допомогою масажу. Він полягає в наступному: технік, який сидить на стільці, бере качура і кладе його собі на коліна під ліву руку. Помічник, який сидить з правого боку від техника, фіксує самця, тримаючи його за обидві ноги лівою рукою. Технік всією поверхнею долоні лівої руки натискує на спину самця і проводить масаж (5-8 секунд) від кореня крил до хвоста, роблячи 4-5 рухів рукою по спині, а правою рукою захоплює кільце клоаки знизу. Потім, не відриваючи лівої руки від спини самця, технік стискує корінь пеніса, а правою рукою ритмічно стискує кільце клоаки, виводячи пеніс на зовні. Це призводить до ерекції статевого органу і єякуляції.

Часто качури після декількох тренувань віддають сперму без масажу. У таких самців слід одержувати сперму захопленням кільця клоаки, ритмічно стискуючи рукою корінь статевого члена зверху.

Масаж обумовлює у качурів виділення разом із спермою сечокислих продуктів. Тому через 1-2 тижні після тренувань самців, сперму у них одержують без попереднього масажу. Масаж роблять тільки тим самцям, які без нього не виділяють сперму.

Сперму також збирають у пневматичний помповий спермозбирач. При цьому помічник правою ногою натискує на помпу спермозбирача, а правою рукою тримає спермозбирач. При появі сперми в каналі пеніса він знімає ногу з помпи насоса, а збірну трубку спермозбирача підносить до пеніса для збирання сперми.

Зимом перед одержанням сперми простір у спермоприймачі між внутрішньою і зовнішньою стінками заповнюють теплою водою (30-35°C), а у внутрішню частину наливають розріджувача.

У період (10-15 днів), коли привчають самців до штучної єякуляції, досить часто трапляються випадки забруднення сперми калом і сечею. Причина цього – ляк птахів. За спокійної не стресової обстановки виділення калу і сечі в момент єякуляції, як правило, у качурів не спостерігається. Плідників, у яких постійно спостерігається забруднення сперми в процесі єякуляції, вибраковують.

Процес одержання сперми від одного самця триває 15-20 секунд. Біля 20% качурів від загального поголів'я не виділяють сперму при масажі, хоча у них спостерігається ерекція статевого органу і повне виведення його назовні. Таких самців також вибраковують.

Сперму від качурів одержують один раз протягом дня або через день. При одержанні сперми через 2-3 значно зменшується за рахунок самовиділення сперми. Часто слабких самців переслідують більш сильні й при цьому відбувається якби фіктивне спаровування з виділенням сперми. Сперму від качурів слід одержувати в одному і тому ж приміщенні, в один і той же час, бажано, щоб з ними працювали одні й ті ж люди. Присутність сторонніх людей, шум у приміщенні негативно впливають на єякуляцію сперми.

При одержанні сперми від мускусних качурів застосовують метод

електроеякуляції, суть якого полягає у наступному: качура фіксують у станку довжиною 20 см, шириною 21 см, висотою 25-30 см і вводять йому два електроди – гострий під шкіру в області крижів, а тупий – у клоаку. Через електроди пропускають струм напругою 20 вольт і силою 0,05 ампер протягом 3 секунд. Струм включають 3-4 рази з інтервалом між подачами до 5 секунд.

Нормальна сперма качурів має молочно-білий колір, вершковоподібну консистенцію, запах відсутній. Середній об'єм еякулята у качурів становить 0,2 мл (від 0,05 до 0,6 мл) з концентрацією спермійів 3,2 млрд/мл (від 1,1 до 8 млрд/мл). Для розрідження сперми качурів використовують середовище С-2, що включає глюкозу медичну 1 г, сахарозу 4 г, натрій оцтовокислий 1 г, двовуглекислий натрій 0,15 г, калій фосфорокислий двозаміщений 0,15 В умовах виробництва середовище С-2 готують один раз на 5-6 днів у вигляді 10-кратної суміші без оцтової кислоти. Суміш зберігають при температурі від 2 до 18°C. Щоденно беруть необхідну кількість цієї суміші і використовують протягом дня. Якщо використовують 100 мл готового середовища, то на 10 днів готують 100 мл суміші (40 г сахарози, по 10 г глюкози, і оцтовокислого натрію, по 1,5 г фосфорнокислого калію двозамі іденного і двовуглекислого натрію). Кожний компонент після зважування розсипають спочатку на окремі чисті аркуші паперу, потім, переконавшись, що всі компоненти зважені, зсипають їх у колбу (можна використовувати мірний циліндр) і доливають води дистильованої до позначки 100, ретельно перемішують до повного розчинення кристалів. Щоденно беруть по 10 мл цієї суміші, доливають 90 мл води дистильованої і по 0,2 мл 10%-вої оцтової кислоти, і після обережного перемішування скляною паличкою середовище готове до використання.

Розбавляють сперму зразу ж після її одержання. Для цього перед одержанням сперми в спермоприймач наливають 1-2 мл розріджувача. Потім туди одержують сперму від 4-6 самців, змішують її і оцінюють під мікроскопом за густотою і рухливістю загальноприйнятими методами. Після такого попереднього розбавлення за необхідності використання. Співвідношення сперми і розріджувача визначається в залежності від концентрації й рухливості спермійів, а також об'ємом дози для осіменіння.

Відбір цесарів, одержання і оцінка якості сперми, її розрідження. Цесарі відрізняються від самців інших видів сільськогосподарських птахів більш диким норовом та лякливістю, і тому для застосування штучного осіменіння птахів бажано утримувати в клітках, оскільки відновлювання в таких умовах не викликає сильного стресу.

Сперму від цесарів одержують таким же способом, як і від качурів, із застосуванням тих же інструментів.

Одержувати сперму можна на третій день після відсажування самців від самок і повторюють через кожні 2-3 дні.

Об'єм еякуляту цесарів коливається від 0,02 до 0,12 мл з концентрацією спермійів від 1,5 до 7 млрд/мл (у середньому 3-5 млрд/мл). У зв'язку з малим об'ємом еякуляту в цесарів осіменіння цесарок проводять тільки розбавленою спермою. Для розбавлення використовують ті ж середовища, що і для сперми

півнів, індиків, качурів і гусаків.

Сперму цесарів розріджують у 5-8 разів і обов'язково оцінюють концентрацію і рухливість загальноприйнятими методами.

Контрольні питання:

1. Взяття сперми у бугая за допомогою штучної вагіни, електроеякулятору, та масажу.
2. Взяття сперми у барана за допомогою штучної вагіни та електроеякулятору.
3. Взяття сперми у жеребця за допомогою штучної вагіни.
4. Взяття сперми у кнура за допомогою штучної вагіни та мануальним способом.
5. Взяття сперми у самців птахів за допомогою штучної вагіни та масажу.
6. Режим використання плідників.
7. Техніка одержання сперми від самців птиці.
8. Охарактеризуйте техніку одержання сперми від самців різних видів птиці.
9. Визначення кількісних та якісних показників сперми сільськогосподарських птахів
10. Вкажіть основні правила розбавлення, зберігання і транспортування сперми птахів.
11. Основні компоненти розріджувачів та їх характеристика.

ТЕМА 5

Органолептична оцінка якості сперми

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: спермоприймачі зі спермою бугая, барана, кнура, жеребця, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода, термостат, скляні лійки, мірні циліндри, градуйовані мензурки з профільтованою спермою кнура та жеребця, піпетки на 1.5, 10 мл., градуйовані мензурки та циліндри, мікроскопи, предметні та накривні скельця, столики Морозова або електрообігрівальні, піпетки, скляні палички, термостат, марлеві серветки, розчин фурациліну.

Визначення об'єму еякуляту. Об'єм еякуляту визначають відразу після взяття сперми. Якщо для цього були використанні неградуйовані спермоприймачі, то сперму бугая та барана набирають у теплі градуйовані

піпетки. Об'єм еякуляту кнура та жеребця визначають лише після фільтрування крізь 2-3 шари марлі.

Колір визначають візуально, оглядаючи її на світло. Запах сперми. Звичайно нормальна сперма не має специфічного запаху (таблиця 4).

Таблиця 2

Показники спермопродукції різних видів тварин

Вид с.-г. тварин	Об'єм еякуляту, мл	Колір	Запах	Консистенція
Баран	0,8-2	білий	жиропоту	сметано-подібна
Бугай	3-5	білувато - жовтуватий	свіжого молока	вершково-подібна
Кнур	250-300	молочно-білий, сіруватий	свіжого молока	водяниста з домішками клейких драглистих зерен
Жеребець	40-120	сірувато-білий		водяниста з домішками слизу

Визначення густини сперми та активності (рухливості) у ній сперміїв. Оснащення заняття: свіжо взята сперма свійських сільськогосподарських тварин, мікроскопи, предметні та накривні скельця, столики Морозова або електрообігрівальні, очні піпетки, скляні палички, термостат, марлеві серветки.

Під густиною сперми розуміють ступінь насичення її сперміями, її визначають окомірне в роздавленій краплі за допомогою мікроскопа при збільшенні у 180-300 разів. У тій самій краплі виявляють рухливість сперміїв при температурі 38-40°C, застосовуючи скриньку-термостат, що обігрівається електричною лампою, або нагрівні столики.

З бактеріологічної чашки беруть чисте предметне скло і стерильною скляною паличкою чи очною піпеткою наносять на нього краплю досліджуваної сперми. Накривають її накривним скельцем так, щоб вона заповнила увесь простір під ним, але не витікала за його краї і не містила бульбашок повітря. Кладуть препарат на предметний столик мікроскопа чи на нагрівальний столик і, розглядаючи його при збільшенні в 180-300 разів, добиваються чіткого зображення сперміїв. Визначають густину сперми в кількох полях зору і з'ясовують, чи відповідає вона мінімальним вимогам до сперми даного виду сільськогосподарських тварин.

Якщо все поле зору мікроскопа заповнене сперміями і між ними немає проміжків, сперму бугая та барана вважають густою (Г). В 1 мл її міститься понад 1 млрд. сперміїв. Якщо між сперміями є проміжки, що не перевищують довжини одного спермія, така сперма має середню густину (С) і в 1 мл її міститься від 0,4 до 1 млрд. сперміїв. Якщо між окремими сперміями є проміжки більші за довжину одного спермія, сперма вважається рідкою (Р), в 1

мл її міститься менше 0,4 млрд. спермійв. Відсутність або дуже мала кількість спермійв у спермі свідчить про аспермію (А) чи олігоспермію.

Сперму кнура визнають густою, коли все поле зору мікроскопа заповнене сперміями, середньою - коли між ними є проміжки, рідкою - коли в цих проміжках можуть вільно переміщуватися спермії. Густа сперма кнура відповідає концентрації 0,21 млрд. і більше в 1 мл, середня – від 0,11 до 0,21 і рідка - менше 0,11 млрд. спермійв у 1 мл сперми.

Під рухливістю (активністю) спермійв розуміють їх здатність до прямолінійно-поступального руху. На племпідприємствах її визначають у роздавленій краплі за 10-бальною системою одночасно з визначенням густини сперми. На пунктах штучного осіменіння розріджену сперму оцінюють лише за рухливістю спермійв: за кожні 10 % спермійв з прямолінійно-поступальним рухом ставлять один бал. Отже, якщо усі спермії рухаються прямолінійно-поступально, ставлять 10 балів, 90 % – 9 балів; 80 % – 8 і т.д., коли таких спермійв менше 10 %, ставлять один бал, а коли у полі зору лише окремі рухомі спермії, їх позначають буквами ПР (поодинокі рухомі), при наявності спермійв лише з маневрним рухом – буквою М, з коливальним – К. Якщо всі спермії нерухомі, то ставлять букву Н (некроспермія).

У свіжовзятій спермі барана і бугая важко визначити співвідношення спермійв з різними видами руху. В таких випадках ураховують таке: при виявленні у спермі активного вихрового руху спермійв ставлять найвищу оцінку – 10; якщо цей рух дещо сповільнений – 9 або 8, оцінюючи активність спермійв у розрідженій спермі, для кращого розгляду їх між кульками жовтка чи молочного жиру беруть малу краплю, яка утворює під склом тонший шар.

Для оцінки активності спермійв у збереженій спермі наносять на предметне скло поряд з краплею сперми краплю 2,9 %-го розчину натрію цитрату, 1 %-го розчину рис. 24 вихровий рух двовуглекислої соди чи 0,9 %-го розчину натрію хлориду, підігрітих до 38 °С, накривають обидві краплі накривним скельцем і визначають рухливість спермійв на стику крапель. Результати оцінки густини сперми та активності у ній спермійв позначають двома знаками (Г-9, С-8 тощо).

Контрольні питання:

1. Як визначають об'єм еякуляту у плідників?
2. Які об'єми еякуляту у сільськогосподарських плідників?
3. Як визначають густину сперми у плідників?
4. Допустима густина сперми плідників для використання.
5. Як визначають активність (рухливість) спермійв?
6. Допустимі показники активності спермійв для використання при штучному осіменінні самок.

ТЕМА 6

Мікроскопічна оцінка якості сперми

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: спермоприймачі зі спермою бугая, барана, кнура, жеребця, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода, термостат, скляні лійки, мірні циліндри, градуйовані мензурки з профільтованою спермою кнура та жеребця, піпетки на 1,5, 10 мл., градуйовані мензурки та циліндри, мікроскопи, предметні та накривні скельця, столики Морозова або електрообігрівальні, піпетки, скляні палички, термостат, марлеві серветки, розчин фурациліну.

Визначення концентрації спермійв. Оснащення заняття: нерозріджена сперма, змішувачі еритроцитарні та лейкоцитарні, лічильні камери, фотоелектроколометр, мікроскопи, 70 %- та 96 %-й спирт, 0,5, 0,9 та 3 %-ні водні розчини натрію хлориду, гумова груша чи кулі Річардсона, стандарти для визначення концентрації спермійв у спермі жеребця, стерильні марлеві серветки, фільтрувальний папір,

Короткі методичні вказівки. Якість сперми не є постійною, а значно змінюється залежно від умов годівлі та утримання плідників, догляду за ними, режиму їх статевого використання, стану здоров'я плідника і навіть сезону року, тому вивченню її надають важливого значення. Окомірна мікроскопічна оцінка сперми дає лише приблизне уявлення про кількість спермійв в 1 мл сперми. Проте для встановлення раціонального ступеня розрідження та оптимальної дози сперми при осіменінні самок необхідно точно знати концентрацію у ній спермійв.

Визначення концентрації спермійв у спермі за допомогою лічильної камери Горяєва. Лічильна камера Горяєва має вигляд товстого, відшліфованого предметного скла, у середній частині якого розміщено три поперечні пластинки. На середній пластинці, опущеній на 0,1 мм нижче бічних (опірних) пластинок, вигравійовано дві квадратні сітки, розділені на 225 великих квадратів, з яких 25, у свою чергу, розділені на 16 малих - всього 400 малих квадратів площею 1/400 мм кожний. Після притирання до опірних пластинок шліфованого накривного скельця над сіткою утворюється камера. Для зручності підрахунку сперму слід розрідити і позбавити спермії рухливості. Сперму змішують у змішувачі (меланжері) з 3 %-м розчином натрію хлориду. Сперму бугая та барана змішують у еритроцитарному змішувачі (з червоною крупинкою в кулястому розширенні та поділками на піпетці 0,5; 1 і 101), сперму жеребця і кнура – у лейкоцитарному (з білою крупинкою та поділками на піпетці 0,5; 1 та 11).

На опірні пластинки чистої лічильної камери кладуть накривне скельце і, притискаючи його великими пальцями по краях, притирають його до пластинок

до появи райдужних кілець. У чистий сухий знежирений еритроцитарний змішувач (для сперми жеребця та кнура лейкоцитарний змішувач) набирають сперму бугая до мітки 1,0 або сперму барана, кнура чи жеребця до мітки 0,5, швидко витирають кінець піпетки ватою і набирають 3 %-й розчин натрію хлориду до верхньої позначки (101 чи 11). В результаті сперма барана буде розріджена у 200 разів, бугая - в 100, кнура та жеребця - у 20 разів, а спермії загинуть під дією гіпертонічного розчину натрію хлориду, що полегшить їх підрахунок. Кінці змішувача затискають між великим і вказівним пальцями і струшують протягом 2-3 хв. Видаляють перші чотири краплі рідини із змішувача на вату, оскільки в них немає сперміїв, а п'яту краплю наносять збоку на сітку камери під накривне скло. Крапля повинна рівномірно заповнити простір камери і не мати бульбашок повітря. Залишки сперми витирають марлевою серветкою.

Заправлену камеру кладуть на столик мікроскопа в точно горизонтальному положенні, наводять мікроскоп і підбирають оптимальне освітлення, опускаючи конденсор, змінюючи просвіт діафрагми чи повертаючи дзеркало. Спочатку знаходять сітку камери під малим збільшенням мікроскопа, а після цього переводять на збільшення у 400 разів (при цьому в полі зору поміститься один і великий квадрат сітки камери) і починають підрахунок! сперміїв. Необхідно підрахувати їх кількість у 5 великих або у 80 малих квадратах, розміщених по діагоналі. При підрахунку сперміїв беруть до уваги лише їхні голівки і в кожному малому квадраті рахують спермії, розміщені всередині квадрата, а також ті, що лежать головками на лівій і верхній лініях квадрата. Кількість підрахованих у кожному великому квадраті сперміїв записують окремо, а потім підсумовують.

Концентрацію сперміїв визначають за формулою:

$$C = (N \times D \times 400 \times 1000) : Np, \text{ або}$$

$$C = (N \times D \times 4000 \times 1000) : 80,$$

де С - концентрація сперміїв; Н - кількість сперміїв у 80 малих квадратах; Д - ступінь розрідження сперми у змішувачі (20; 100 чи 200); 400 - число для переведення у квадратні міліметри; 4000 - число для переведення в кубічні міліметри (об'єм одного малого квадрата становить 1/4000 мм³); 1000 - число для переведення в мілілітри (в 1мл міститься 1000 мм³);

N - кількість малих квадратів, у яких здійснюють підрахунок;

p - глибина камери, яка становить 0,1 мм.

Наприклад, при визначенні концентрації сперміїв у спермі бугая у 80 малих квадратах було підраховано 220 сперміїв. Сперму було розріджено в меланжері у 100 разів. Тоді $C = (220 \times 100 \times 400 \times 100) : 80 \times 0,1 = 1100000000$ сперміїв в 1 мл.

Якщо глибина камери дорівнює 0,1 мм, то концентрацію сперміїв можна визначити за спрощеними формулами, поділивши кількість підрахованих у 80 малих квадратах сперміїв на 200 - для сперми бугая, на 100 - для сперми барана і на 1000 - для сперми кнура або жеребця.

Після виконання завдання треба ретельно помити лічильні камери й

накривні скельця спочатку простою, а потім дистильованою водою і витерти насухо марлевою серветкою. Із змішувача видаляють залишки сперми, миють його послідовно дистильованою водою, потім 96 %-м спиртом і ефіром, висушують, продуваючи через них повітря із гумової груші чи кулі Річардсона.

Визначення концентрації спермійв за допомогою фотоелектроколориметра ФЕК-М. Перш ніж приступити до роботи з приладом, старанно вивчають інструкцію, яка до нього додається. Потім з'єднують фотоелектроколориметр із стабілізатором і гальванометром і перевіряють справність усього приладу. За допомогою ФЕК-М можна легко і швидко визначити концентрацію спермійв. *Принцип його роботи* полягає в тому, що при пропусканні через встановлену в прилад кювету зі спермою електричних променів частина їх поглинається сперміями, а решта проходить через кювету і потрапляє на фотоелемент, з'єднаний з гальванометром. При цьому через гальванометр проходить електричний струм, величина якого обернено пропорційна оптичній густині сперми. Чим вища каламутність сперми (тобто концентрація у ній спермійв), тим більше ослаблюється потік світла, яке проходить крізь неї. При визначенні концентрації спермійв за цим методом спочатку потрібно побудувати криву оптичної щільності сперми різної концентрації. Для цього вибирають найгустіший еякулят з концентрацією спермійв понад 1 млрд. в 1 мл і, використовуючи 3,5 %-й розчин натрію цитрату, виготовляють серію послідовних розріджень у 2, 4, 6, 8, 10 разів і т. д. У кожній з цих проб двічі визначають концентрацію спермійв у лічильній камері і встановлюють оптичну щільність на ФБК. Для цього у пронумеровані пешцилінові флакони наливають по 10 мл 3,5 %-го розчину натрію цитрату, набирають у мікро-піпетку 0,1 мл сперми певного розрідження, видують її у відповідний флакон з розчином, промивають кілька разів розчином і ретельно змішують. Наливають рідину з флакона в кювету ФЕК з робочою довжиною 10 мм і ставлять у праве гніздо приладу на найбільшу відстань від фотоелемента. В ліве гніздо приладу на такій самій відстані і в запасне праве гніздо ставлять таку саму кювету з розчином натрію цитрату. Вмикають прилад. На шляху правого пучка світла стоїть кювета з розрідженою спермою. Вона затримує частину світла, тому на правий фотоелемент падає пучок меншої інтенсивності. Стрілка гальванометра при цьому відхиляється. Для вирівнювання світлових потоків у лівий потік вводять фотометричний клин (поки стрілка гальванометра не зупиниться на нулі). Тепер, щоб дізнатися, яку частину променів затримує сам розчин натрію цитрату (без спермійв), його ставлять у правий потік світла. Знову порушується фотоелектрична рівновага. Обертами лівого барабана змінюють ширину діафрагми до повернення стрілки гальванометра в нульове положення. Записують показ лівого барабана кожної проби і будують калібрувальну криву.

Тепер, маючи калібрувальну криву, можна легко визначити концентрацію спермійв у пробі сперми. Визначення концентрації спермійв на ФЕК-М розпочинають через 15-20 хв. після ввімкнення лампи. Встановлюють червоний світлофільтр, а лівий відліковий барабан - на нульовій поділці за червоною

шкалою оптичної щільності.

Беруть стільки чистих сухих флаконів з-під пеніциліну, скільки проб сперми треба дослідити, відповідно нумерують їх, наливають у кожний по 10 мл 3,5 %-го розчину натрію цитрату з температурою у межах 18-25°C і додають за допомогою мікропіпетки по 0,1 мл сперми з кожної досліджуваної проби. Тепер кожен такий флакон містить розріджену у співвідношенні 1:100 сперму бугая.

Сперму барана розріджують у співвідношенні 1:400, додаючи до 10 мл 3,5 %-го розчину натрію цитрату 0,025 мл сперми; сперму кнура - 1:30, додаючи до 6 мл 3,5 %-го розчину натрію цитрату 0,2 мл сперми, профільтрованої крізь два шари капронової тканини.

Добре розмішану розріджену сперму наливають в одну з кювет фотоелектроколориметра з робочою довжиною 10 мм до позначки, а дві інші такі самі кювети наповнюють розчином натрію цитрату. Кювету з розрідженою спермою вміщують у правий кюветотримач приладу на шляху проходження світлового пучка ближче до джерела світла, а в лівий кюветотримач у таке саме положення - одну з кювет з розчином натрію цитрату. Другу кювету з розчином натрію цитрату вміщують у праве гніздо кюветотримача в запасне положення.

Закривають кришку приладу і вмикають гальванометр на малу чутливість (положення 1). Обертаючи ручку грубого настроювання фотометричних клинів, установлюють стрілку гальванометра на нуль, тоді перемикають гальванометр на високу чутливість (положення 2) і знову переводять його стрілку в нульове положення. Вимикають гальванометр. Трохи піднімають правий кюветотримач і, повернувши його навколо осі, змінюють положення кювет так, щоб на шляху проходження світлового пучка стала кювета з розчином натрію цитрату.

Закривають кришку приладу і знову вмикають гальванометр (спочатку на грубу чутливість) і, не чіпаючи ручки фотометричних клинів, а обертаючи вимірювальний барабан, повертають відхилену стрілку гальванометра в нульове положення. Потім перемикають прилад на високу чутливість і обертанням вимірювальних барабанів уточнюють нульове положення стрілки. Вимикають гальванометр і відліковують за червоною шкалою лівого барабана оптичну щільність досліджуваної проби й дивляться, якій концентрації сперміїв вона відповідає на градуйованій кривій.

При відсутності кривої можна користуватися спрощеним підрахунком: кожні 0,05 поділки шкали барабана відповідають 100 млн. сперміїв в 1 мл нерозрідженої сперми.

Визначення відсотка живих і мертвих та патологічних форм сперміїв. Оснащення заняття: знежирені предметні та шліфовані скельця, мікроскопи, скляні палички або очні піпетки, вата, 5 %-й розчин еозину, 1 %-й розчин натрію хлориду, 96 %-й спирт-ректифікат, розчин азуреозину, фуксину або 0,1 %-го метиленового синього.

Оболонка живих сперміїв непроникна для деяких мікробіологічних фарб, а оболонка мертвих та ослаблених сперміїв пропускає барвники, тому в пофарбованому мазку живі спермії виглядають блідими, незабарвленими, а

мертві, навпаки, набувають кольору фарби. Для диференційованого фарбування спермійв запропоновано кілька рецептів фарб: 5 %-й водний розчин еозину за В. А. Морозовим; розчин еозину на фізрозчині (водорозчинного еозину 1,7 г, натрію хлориду 1 г, води дистильованої 100 мл); еозиннігрозинова фарба за Хенкоком (еозину водорозчинного 5 г, нігрозину 30 г, дистильованої води 300 мл); еозино-нігрозинова фарба за В. А. Яблонським (еозину 5 г, нігрозину 3 г, дистильованої води 100 мл); нігрозин-еозинова фарба (еозину 0,5 г, нігрозину 10 г, дистильованої води 100 мл); нігрозин-еозинова фарба відповідно до припису Глуда (1 частина 4 %-го еозину на 2,9 %-му розчині натрію цитрату і 3 частини 8 %-го нігрозину також на розчині натрію цитрату); 1 %-й розчин фарби конго-рот та ін.

Для оцінки сперми на чисте знежирене предметне скло, ближче до одного кінця, наносять стерильною скляною паличкою чи піпеткою невелику краплю сперми і поряд з нею краплю 5 %-го розчину еозину на 3 %-му розчині натрію цитрату. Швидко перемішують краплі краєм шліфованого скла і, трохи відступивши, притискують торцевий край скла із залишками суміші до предметного скла під кутом 40-45° і швидким плавним рухом потягують його до протилежного кінця скла. Решту суміші сперми з фарбою витирають ватним тампоном. Мазок має бути таким тонким, щоб міг швидко висохнути на повітрі.

Кладуть висушений мазок на предметний столик мікроскопа і розглядають його при збільшенні в 400-500 разів.

Спермії, які під час фарбування були живими, мають незабарвлені головки, оболонка їх непроникна для фарби, тоді як головки мертвих спермійв забарвлюються у рожевий колір.

Підраховують у кількох полях зору підряд 500 спермійв, рахуючи окремо живих і мертвих, та визначають відсоток живих спермійв (П) за формулою

$$П = \frac{Ж * 100}{500};$$

де П - відсоток живих спермійв; Ж - кількість підрахованих незабарвлених спермійв.

Визначення кількості патологічних спермійв. У кожному еякуляті поряд з нормальними трапляються і патологічні спермії. Вміст їх не повинен перевищувати 14 % у барана, 18 % – у бугая і 20 % – у кнура та жеребця. При виникненні хворобливих процесів у статевих залозах самців кількість патологічних форм спермійв збільшується (тератоспермія), що різко знижує запліднювальну здатність самця. Тому у племоб'єднаннях та на племпідприємствах необхідно 3-4 рази на рік визначати кількість патологічних форм спермійв у спермі кожного плідника.

Патологічні зміни спермійв можуть бути первинними та 9 вторинними. Тому Блом пропонує при оцінці морфології спермійв 1 класифікувати їх на три види: нормальні, з первинними патологічними змінами та з вторинними змінами. До первинних змін відносять зміни розміру та форми головки, тіла й хвостика та їх забарвлення. Це гігантські спермії, карликові, з круглою, грушоподібною або врізаною головкою, без головок, двоголові, безхвості тощо.

Вони спостерігаються при розладах сперміогенезу в сім'яниках, запальних процесах у них, при авітамінозах, порушеннях терморегулюючої функції мошонки.

Вторинні зміни сперміїв (спермії із закрученими та обламаними хвостиками, з відокремленими ковпачками, безхвості, з проксимальною протоплазматичною краплею) виникають при розладах процесу їх дозрівання, ураженнях придатків сім'яників та сім'явивідних шляхів, додаткових статевих залоз, при порушенні режиму використання плідників, а також способу взяття сперми й від подальшого поводження з нею. Вторинні зміни можуть виникати також у процесі виготовлення препарату внаслідок механічної дії на спермії.

Свіжовзяту сперму для зручності підрахунку сперміїв розріджують 1 %-м розчином натрію хлориду: барана у 20-30 разів, бугая в 10-15, жеребця і кнура в 2-3 рази або зовсім не розріджують. Для цього до краплі сперми очною піпеткою додають відповідну кількість 1 %-го розчину натрію хлориду і обережно перемішують.

Беруть невелику краплю відповідно розрідженої сперми, наносять її на кінець знежиреного й сухого предметного скельця і, нахиливши його, дають можливість краплі стекти або роблять з неї тоненький мазок. Висушують його на повітрі протягом 1-2 хв. і фіксують 96 %-м спиртом-ректифікатом, який наносять на 1-2 хв. Споліскують дистильованою водою і фарбують розчином азур-еозину чи метиленового синього 3-5 хв. Змивають фарбу водою, висушують мазок і розглядають його під мікроскопом при збільшенні в 600 разів. У кожному полі зору підраховують і записують кількість нормальних і патологічних сперміїв, при цьому загальна кількість тих й інших має становити не менше 500. Кількість патологічних сперміїв визначають за формулою

$$PC = \frac{П * 100}{П + Н};$$

де П – кількість підрахованих патологічних форм сперміїв; Н – кількість нормальних сперміїв, %; С – спермії.

Контрольні питання:

1. Яку сперму вважають густою, рідкою і середньою ? Як вона позначається.
2. Що таке аспермія і олігоспермія?
3. Як визначають % живих і мертвих сперміїв способом зажиттєвого фарбування?
4. Як підраховують патологічні форми сперміїв? Як називають таке явище?
5. Як визначають концентрацію сперміїв за допомогою лічильної камери Горяєва?
6. Як визначають концентрацію сперми бугая за допомогою фотоелектрокалориметра.
7. Як визначають концентрацію сперміїв за допомогою стандартів каламутності?

ТЕМА 7

Санітарна оцінка технологічних процесів у роботі зі спермою плідників

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: сперма, змиви з препуція та інструментів, середовища для розрідження сперми, живильні середовища МПА, МПБ, Кітта-Тароцці, Буліржа, Літмана, Лен НДВІ, Сабура, Чапека, МПА у бактеріологічних чашках, термостат, предметні та покривні стекла, бактеріологічні фарби, мікроскопи.

Візьміть змив із препуція. Зафіксуйте плідника в спеціальному станку, зробіть туалет препуція, вставте в його канал стерильну гумову трубку чи катетер і, з'єднавши її з шприцем, введіть у порожнину препуція 5-10 мл стерильного фізрозчину, затиснувши край препуція рукою, енергійно помасажуйте його. Наберіть розчин у шприц і вилийте в стерильну пробірку.

Визначте колі-титр сперми та змиву з препуція. Поставте у штатив сім стерильних пробірок, внісши у першу і мл змиву чи сперми і, додавши 1 мл стерильного фізрозчину, одержите розбавлення 1:1. Наберіть і перенесіть з неї і мл суміші в наступну пробірку і додайте 10 мл стерильного фізрозчину. Так само перенесіть з другої пробірки 1 мл суміші в третю й додайте 10 мл фізрозчину, з третьої у четверту і т. д. Таким чином одержите серію розріджень 1:1; 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000; 1:100000; 1:1000000.

З кожного розрідження зробіть висів на середовище Буліржа. Витримавши посіви 24 год у термостаті при температурі 37-37,6 °С, перевірте, чи не змінився колір середовища і чи не з'явився у газових трубочках газ.

Колі-титр сперми не повинен перевищувати 1:1—1:10, змиву з препуція 1:100.

Визначте мікробне та грибкове забруднення сперми та препуція. Візьміть стерильну чашку та градуйовану піпетку. Наберіть у піпетку 0,1 мл сперми чи змиву і, привідкривши кришку чашки, внесіть сперму на поверхню агару. Розмажте його рівномірно стерильним шпателем. Поставте бактеріологічну чашку в термостат на 24 год. Після цього підрахуйте кількість колоній і визначте вид мікробів.

Дослідіть сперму та змив із препуція на наявність синьогнійної палички. Візьміть заздалегідь приготовлені стерильні бактеріальні чашки з МПБ з додаванням 1-2% цукру і, зробивши посів сперми та змиву з препуція, поставте їх на 6-7 діб у термостат при температурі 37°С, перевіряючи посів кожних 1-2 дні.

Про наявність синьогнійної палички судять по зелено-голубому забарвленню середовища під впливом виділюваного нею піоціаніну.

Дослідіть сперму на наявність анаеробних мікробів. Візьміть дві пробірки

із середовищем Кітта-Тароцці і внесіть у них по 0,1 мл досліджуваної сперми. Прогрійте одну з пробірок на водяній бані при 80°C протягом 20 хв для знищення супутної вегетативної мікрофлори і поставте обидві пробірки в термостат на 10 діб при 37°C. Після цього через 3-4 дні необхідно оцінити інтенсивність росту мікробів, характер осаду, наявність та ступінь газоутворення, зробити з них мазки, зафарбувати за Грамом і процевести мікроскопію.

Дослідіть сперму та змив із препуція на вміст грибів. Зробіть посів сперми та змиву з препуція на одне з спеціальних середовищ — Літмана, Лен НДВІ, Сабура чи Чапека; прокультивуйте їх в термостаті 10-45 днів при температурі 22-37°C. Перевірте виділені гриби на патогенність.

Перевірте стерильність синтетичних середовищ для розрідження сперми, користуючись методикою, викладеною в завданні 3.

Проведіть бактеріологічний контроль приладів та інструментів, які використовують для одержання та введення сперми. Взнявши 5-10 мл стерильного фізрозчину, зробіть змиви з підготовленої штучної вапни, шприца-катетера, піхвового дзеркала. Внесіть по 0,1 мл змиву в МПБ та середовище Кітта-Тароцці.

Дальше дослідження робіть як при визначенні мікробного забруднення сперми.

Визначте мікробне та грибкове забруднення повітря лабораторії, манежу та приміщення для плідників. Поставте на 5 хв у різних ділянках приміщення на відстані 1,5 м від підлоги відкриті бактеріологічні чашки з МПА. Після цього перенесіть їх у термостат і щоденно підраховуйте кількість колоній та визначте видовий склад мікробів. При виявленні грибів зробіть з них посиви на спеціальні середовища для визначення їх видового складу.

Контрольні питання:

1. Як взяти змив із препуція?
2. Як визначається колі-титр сперми та змив з препуція?
3. Як визначається мікробне та грибкове забруднення сперми та препуція?
4. Дослідження сперми та змиву із препуція на наявність синьогнійної палички та вміст грибів
5. Дослідження сперми на наявність анаеробних мікробів.
6. Як провести бактеріологічний контроль приладів та інструментів, які використовують для одержання та введення сперми.

ТЕМА 8

Розрідження сперми

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Свіжоодрержана сперма бугая і кнура, розріджена сперма бугая, барана, жеребця, дистильована вода, аптечні терези з наважками, необхідні реактиви: натрію цитрат, глюкоза, лактоза, глікокол, калію-фосфат, хелатон, двовуглекислий натрій, магнію-сульфат, цитратна кислота, калію хлорид, спермосан, свіжі курячі яйця, мензурки, змішувачі, бактеріологічні чашки, шприци, пеніцилінові флакони, гумові корки для них, марлеві серветки, спиртові тампони, паперові фільтри; пінцети, термометри, мікроскопи, обігрівальні столики, предметні та накривні скельця, термоси, водяна баня, електроплитка, таз з теплою водою, градуйовані піпетки, термоси різних конструкцій, пластмасові круглі коробки для складання ампул, вата сіра, лід, посудини Дьюара, гумові рукавиці, спеціальні обладнання для розрідження сперми.

Попередні зауваження. При розробці технології штучного осіменіння для кожного виду сільськогосподарських тварин були запропоновані середовища для розрідження сперми (глюкозо-фосфатне, жовтково-фосфатне, жовтково-цитратне, глікокол-жовтково-цитратне, молочне та ін.). Найпоширенішими для короткочасного зберігання є глюкозо-жовтково-цитратні середовища для сперми більшості видів сільськогосподарських тварин. Перехід на використання замороженої сперми для осіменіння корів і телиць їх дещо відтіснив, проте на практиці і в наукових дослідженнях іноді вдаються до короткочасного зберігання сперми, тому цей метод потрібно знати.

Слід дотримуватися таких вимог щодо розрідження сперми:

- розріджувачі мають бути ізотонічними зі спермою, тобто осмотичний тиск у них має дорівнювати тиску всередині спермія;
- розріджувачі готують лише у скляному посуді, заздалегідь вимитому, простерилізованому і висушеному;
- розріджувач готують безпосередньо перед отриманням сперми від плідника. Час від моменту приготування і до використання розріджувача має становити не більше 1-2 год;
- температура розріджувача в момент розрідження повинна бути 30-35°C для сперми бугая, кнура і жеребця і 25-30°C - для сперми барана;
- для пригнічення мікрофлори до складу розріджувачів додають сануючі речовини в таких кількостях (з розрахунку на 100 мл): стрептоцид - 120 мг, пеніцилін кристалічний (натрієва або калієва сіль) - 25-50 тис. МО, стрептоміцин сірчано- або солянокислий 25-50 тис. МО. У середовища для кімнатних температур їх вводять у подвійній кількості; ⁴⁰
- при розрідженні сперми розріджувач приливають до сперми, а не навпаки;
- перед розрідженням і після нього визначають рухливість сперміїв.

Виготовлення розріджувачів. Глюкозо-жовтково-цитратний розріджувач сперми бугая. Підвішують аптечні терези на штативі та зрівноважують їх, кладуть на обидві шальки терезів паперові фільтри однакових розмірів і ще раз зрівноважують терези.

У велику чисту хімічну колбу на 3 л наливають бідистильованої води (для усієї групи), накривають її паперовим чи поліетиленовим ковпаком, ставлять на електроплитку, доводять до кипіння й охолоджують до температури 35°C.

На ліву шальку терезів пінцетом, що є в коробці з наважками,

кладуть трьохграмовий тягарець, відкривають банку з глюкозою, набирають її чистою роговою ложечкою і всипають необхідну кількість на паперовий фільтр, що лежить на правій шальці терезів. Насипають відважену кількість глюкози в чисту суху колбу на 100 мл і роблять про це відмітку на колбі або кладуть біля неї аркуш паперу з рецептом розріджувача та роблять у ньому відповідні позначки. Знову кладуть папірець на терези, старанно витирають рогову ложечку ваткою від решток глюкози, відважують так само 1,4 г натрію цитрату і 120 мг стрептоциду та всипають їх у ту саму колбу. Відмірюють 100 мл перевареної і охолодженої до 35°C дистильованої води, вливають її у колбу з відваженими реактивами, розмішують скляною паличкою до повного їх розчинення і фільтрують крізь стерильний паперовий фільтр. Після цього куряче яйце миють шіткою, витирають насухо марлевою серветкою і протирають шкаралупу тампоном, просоченим 70 %-м спиртом або витримують його 10-15 хв. у настільній бактерицидній камері під ультрафіолетовими променями. За допомогою стерильного скальпеля чи пінцета розколюють шкаралупу яйця на дві половини і, перекладаючи жовток з однієї половини на другу над чашкою, відокремлюють його від білка.

Перекладають жовток на стерильний аркуш фільтрувального паперу і, перекочуючи його по паперу, обсушують від решток білка. Складають краї паперу вдвоє, трохи стиснувши жовток, проколюють стерильним скальпелем його оболонку і зливають у стерильну мензурку, витісняють рештки жовтка, легко здавлюючи фільтр із зовні.

Відмірюють 12 мл жовтка і вносять у колбу з розчиненими у ній компонентами. Старанно розмішують, накривають стерильною серветкою і ставлять в термостат чи каструлю з теплою водою (25-35°C).

Беруть флакон пеніциліну, дивляться, скільки в ньому одиниць дії, відкривають його, зважують на аптечних терезах масу препарату, що містить 75-100 тис. ОД, і вносять її у колбу. Так само вносять у колбу, в якій готують розріджувач, 75-100 тис. ОД стрептоміцину.

Якщо неможливо відважити необхідну кількість антибіотиків, то вливають у флакон з антибіотиком 4 мл перевареної і охолодженої до 20°C дистильованої води, після повного розчинення препарату набирають необхідну його кількість і вносять у колбу, де готують розріджувач.

При приготуванні великої кількості розріджувача підбирають флакони з необхідною кількістю антибіотиків.

Глюкозо-фосфатне-жовткове середовище для сперми барана. Відважують послідовно 3,2 г глюкози медичної безводної, 2,08 г двозаміщеного 12-водного натрію фосфату, 0,08 г однозаміщеного калію фосфату, 0,1-0,2 г розчинного стрептоциду, по 50-75 тис. ОД пеніциліну та стрептоміцину. Відмірюють 100 мл кип'яченої і охолодженої до 36°C дистильованої води, вливають її у колбу з відваженими реактивами, розмішують скляною паличкою до повного розчинення складників і фільтрують.

Додають 20 мл жовтка курячого яйця (як описано вище). Накривають колбу з розріджувачем стерильною серветкою і ставлять у каструлю з теплою водою.

Глюкозо-хелатоцитратно-сульфатне середовище (ГХЦС) для розрідження сперми кнура. Наливають у чисту хімічну колбу 100 мл дистильованої води, додають 4 г глюкози, накривають паперовим ковпаком ставлять на електроплитку і кип'ятять 1-2 хв. Знімають колбу з вогню, охолоджують її вміст до 80°C, додають 3,8 г натрію цитрату, 0,5 г двовуглекислої соди, а потім при

температурі 55-58°C додають 2,6 г хелатону. Коли середовище охолоне до 40-45°C, додають 25-30 тис. ОД спермосану.

Перевірка якості виготовлених розріджувачів. Чистою стерильною скляною паличкою наносять на предметне скло краплю нерозрідженої сперми з відомою рухливістю сперміїв. Поряд з нею наносять краплю перевірюваного розріджувача, накривають покривним скельцем і оцінюють під мікроскопом при температурі 38-40°C рухливість сперміїв на межі злиття обох крапель. Якщо вона не знизилася, то розріджувач можна використовувати.

Розрідження сперми. Виготовивши розріджувач, кожна підгрупа студентів розріджує сперму відповідно до отриманого завдання з таким розрахунком, щоб уся група виготовила серію розріджень, починаючи від 1:1 до 1:100.

Посуд для розріджування сперми нагрівають у термостаті чи на водяній бані до температури 30-35°C. Спочатку розріджують сперму у термоприймачі у співвідношенні 1:1, обережно додавши до неї (по стінці) однакову кількість розріджувача. Потім переносять у підігрітий до 30-35°C градуйований змішувач 1 мл цієї сперми і доливають до неї поступово по стінці таку кількість розріджувача, щоб досягти необхідного ступеня розрідження. Після доливання кожної порції розріджувача старанно змішують його зі спермою.

Після розрідження сперми перевіряють її на рухливість сперміїв. Щоб порівняти вплив різного ступеня розрідження сперми на рухливість сперміїв, на чисте предметне скло наносять поступово краплі сперми різного ступеня розрідження (використовуючи також сперму, розріджену іншими студентами), уважно розглядають їх і оцінюють активність сперміїв. Дані про оцінку записують у вигляді таблиці.

Розрідження сперми самців сільськогосподарських птахів. Синтетичні розріджувачі сперми мають сприяти тривалому зберіганню запліднюючої здатності сперміїв. Це можливо лише при використанні відповідних речовин для приготування розріджувачів.

Для приготування розріджувачів необхідно, згідно рецепту, вагову дозу компонентів всипати в стерильну колбу і її легенько струшувати. Потім у цю колбу доливають потрібну кількість дистильованої води, в якій, легко помішуючи, розчиняють компоненти розріджувача.

Готують рідкий розріджувач у день його використання, оскільки тривале зберігання призводить до погіршення його якості. Тільки в замороженому стані розріджувачі можна зберігати тривалий час.

Розбавляти сперму птахів слід зразу після її одержання. Для цього перед одержанням сперми в градуйований спермоприймач наливають потрібну кількість розріджувача, підігрівають до 35-37°C. Після закінчення одержання сперми в спермоприймач додають розріджувач, щоб забезпечити потрібну концентрацію сперміїв у дозі осіменіння.

Для санації сперми птахів було запропоновано декілька антибіотиків. Так, антибіотик олеморфоциклін у концентрації 25-50 ОД/мл здійснює задовільну бактерицидну дію на мікрофлору сперми півня, індика і нетоксичний для сперміїв.

Для санації сперми гусаків використовують спермосан-3 при концентрації 50000 ОД на 100 мл розріджувача.

Розбавлену сперму можна використовувати тільки за умови високої рухливості сперміїв (7-10 балів).

Однією з суттєвих особливостей сперміїв є значна перевага у них процесів дисиміляції над створенням кислотного анабіозу сперміїв (часто використовують перший і другий фактори одночасно).

Контрольні питання:

1. Яких вимог треба дотримуватися при виготовленні розріджувачів?
2. Як готують ГЖЦ розріджувач для сперми бугая?
3. Як готують ГФЖ розріджувач для сперми барана?
4. Як готують ГХЦС розріджувач для сперми кнура?
5. Як перевіряють якість розріджувачів?
6. Значення основних компонентів розріджувачів для життєдіяльності сперміїв.
7. Яке значення мають антибіотики при введенні їх в склад розріджувачів?
8. Розрідження сперми самців сільськогосподарських птахів.

ТЕМА 9

Зберігання і використання замороженої сперми

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Зморожена сперма бугая, барана, дистильована вода, аптечні терези з наважками, необхідні реактиви: натрію цитрат, мензурки, змішувачі, бактеріологічні чашки, шприци, пеніцилінові флакони, гумові корки для них, марлеві серветки, спиртові тампони, паперові фільтри; пінцети, термометри, мікроскопи, обігрівальні столики, предметні та накривні скельця, термоси, водяна баня, електроплитка, таз з теплою водою, градуйовані піпетки, термоси різних конструкцій, пластмасові круглі коробки для складання ампул, вата сіра, лід, посудини Дьюара, гумові рукавиці, спеціальні обладнання для розрідження сперми.

Зберігання та використання замороженої сперми. *Короткі методичні вказівки.* Після попереднього ознайомлення з методами зберігання сперми різних видів сільськогосподарських тварин студенти формують підгрупи по 3-5 чоловік і самостійно оцінюють сперму, розріджують її відповідно до отриманого завдання, розфасовують і виконують усі технологічні прийоми, передбачені методикою зберігання сперми. Сперму, поставлену на короткочасне зберігання, студенти оцінюють за рухливість сперміїв протягом зберігання, а глибокозаморожену - щотижня і роблять відповідні записи в зошиті.

Попередні зауваження. Штучне осіменіння сільськогосподарських тварин проводять нині переважно спермою що зберігається, тому одним з головних завдань племпідприємств і пунктів штучного осіменіння має бути забезпечення високого виживання та запліднювальної здатності сперміїв з моменту еякуляції і аж до введення їх у статеві шляхи самки. Для цього насамперед необхідно

сповільнити обмін речовин у спермі, знизити температуру її зберігання або додати до неї речовини, що гальмують рухливість сперміїв.

Застосовують короткочасне (при температурі 2-4°C або при кімнатній температурі) і довготривале зберігання сперми у глибоко замороженому вигляді. Нині практично всі пункти штучного осіменіння сільськогосподарських тварин користуються останнім методом.

В охолодженій до 2-4°C спермі обмінні процеси сповільнюються, знижується нагромадження токсичних продуктів обміну речовин, різко зменшується використання на енергетичні цілі пластичних речовин протоплазми, що викликає у сперміїв стан анабіозу і збільшує їх живучість.

При зберіганні сперми в умовах кімнатної температури у ній гальмуються обмінні процеси наявними у розріджувачі слабкими кислотами чи хелатоном.

У глибокозамороженій спермі настає глибокий анабіоз сперміїв з майже повним припиненням обмінних процесів. Методи зберігання сперми в замороженому вигляді передбачають захист сперміїв від температурного шоку при охолодженні до 0°C і від кристалізації внутрішньоклітинної рідини в процесі заморожування.

У замороженій до мінус 196°C спермі всі обмінні процеси знижуються до рівня підтримки живучості сперміїв у нерухомому стані, і вона може зберігатися безмежно довго.

Необхідними умовами зберігання сперми є її висока якість, розрідження та суворе дотримання температурного режиму.

Зберігання сперми бугая, барана, кнура та жеребця при плюс 2-4°C. Охолодження розрідженої сперми до плюс 2-4°C викликає у сперміїв стан анабіозу, проте занадто раптового зниження температури навіть з 38°C до 12-18°C у них виникає температурний шок (холодовий удар) з незворотною втратою рухливості.

Сперму бугая охолоджують до температури плюс 2-4°C поступово, протягом 2-3 год. Для цього скляну мензурку з розрідженою спермою бугая ставлять спочатку в посуд з теплою водою (30°C), потім переносять на 20 хв. в інший посуд з температурою 22°C і лише після цього розфасовують при кімнатній температурі в чисті і стерильні флакони з-під антибіотиків, одноразові стерильні скляні чи поліетиленові ампули, поліетиленові пробірки об'ємом 1 мл.

Розливають розріджену сперму у флакони з-під антибіотиків майже до самої шийки, закривають гумовими корками, підклавши під них аркушки парафінованого паперу, й закріплюють гумовими кільцями.

Для розфасовування сперми бугая в поліетиленові ампули виймають з пакета стерильну поліетиленову ампулу, надрізають її верх⁴⁴, стискають її двома пальцями і занурюють шийку ампули в мензурку з розрідженою спермою. Розтискають пальці і, коли ампула наповниться спермою, запаюють її отвір, притуляючи шийкою до нагрітої праски через фторопластову плівку. Складають наповнені спермою ампули в пластмасові коробки з кришками і залишають їх при кімнатній температурі на 20-30 хв.

Для розфасовування розрідженої сперми бугая у скляні ампули наливають її в чисту суху стерильну чашку пневматичного фасувального апарата. Потім беруть комплект чистих сухих скляних стерильних ампул, занурюють їх шийками у сперму, накривають чашку кришкою і вміщують її у гніздо апарата. Натискають кнопку вмикача і ампули заповнюються спермою. Запаюють кінці ампул на не кіптявому полум'ї апарата Флетчера. Вміщують їх

у спеціальні коробки (чи поліетиленові мішечки) і кладуть у термос на шар вати над льодом. Розфасовану сперму ставлять на 10 хв. у кювету з водопровідною водою, після чого переносять на полицю холодильника, де температура підтримується у межах плюс 2-5°C.

Сперму барана, розфасовану в ампули, пробірки чи флакони, витримують протягом 10-15 хв. при кімнатній температурі, потім обгортають їх шаром вати або вміщують у поролонові амортизатори, а потім – у поліетиленові чи гумові пакети, герметичне закривають і поступово охолоджують до плюс 2-5°C в побутовому холодильнику чи харчовому термосі з льодом, підстеливши під пакети із спермою шар вати, який через 3-4 год. виймають, а пакети із спермою ставлять безпосередньо на лід.

Зберігання сперми кнура при температурі 16-20°C. Взятую на штучну вагіну й оцінену сперму кнура розріджують середовищами ГХЦС чи ГХЦ, визначають у ній активність спермій, розливають у скляні колби чи поліетиленові флакони, накривають їх негерметично поліетиленовою плівкою, вмішують у невелику картонну коробку і зберігають в затемненому місці при температурі 16...20°C.

Для зберігання сперми при дещо нижчих температурах (не нижче 6°C) її розріджують середовищами ГХЦСЖ або ГХЦЖ. Транспортують розріджену сперму в термосах, термос-скриньках, побутових сумках-холодильниках при температурі 16-20°C, закривши щільно колби зі спермою.

На пункті штучного осіменіння сперму зберігають у негерметично закритих колбах. Не менше одного разу на добу її легенько змішують. Термін використання такої сперми (при рухливості спермій не нижче 6 балів) – до 3-х діб.

Методи заморожування сперми бугая. Заморожування спермій бугая у вигляді гранул над парою рідкого азоту на фторопластовій пластинці.

Для заморожування використовують сперму, попередньо оцінену (з концентрацією спермій не менше 0,7 млрд в 1 мл та рухливістю їх не нижче 8 балів) й розріджену у 2 або 10 разів лактозо-жовтково-гліцериним середовищем і витриману 4-6 годин в холодильнику.

Сперму низьких ступенів розрідження застосовують для виготовлення концентрованих гранул по 0,1-0,2 мл, які потребують додаткового розрідження на пунктах штучного осіменіння, а великі – для виготовлення гранул об'ємом 0,5-1 мл, що не потребують додаткового розрідження.

Рідкий азот наливають у ванну з пінопластового блока, в яку вставлено емальовану металеву кювету. Опускають фторопластову пластинку на 1 хв в рідкий азот (до припинення кипіння азоту), виймають її, закріплюють її на висоті 2-3 см над поверхнею рідкого азоту.

Розріджену і витриману протягом 4-6 год при 5°C сперму набирають у стерильний холодний 2-мілілітровий пластмасовий шприц з голкою для взяття крові чи в спеціальну крапельницю і швидко накачують у кожну з малих ямок пластинки по 0,1-0,2 мл сперми, а у великі ямки – по 0,5-1 мл.

Витримують пластинку із спермою над поверхнею рідкого азоту 1,5-2 хв після чого занурюють їх на 1-2 хв у рідкий азот, знову підіймають, нахилиють убік і згортають гранули охолодженою в рідкому азоті лопаткою з органічного скла в кювету чи в кружку з рідким азотом. Потім пересипають гранули охолоджені до температури рідкого азоту чашечку чи марлеві мішечки прикріплюють до них бирки з кличкою бугая і датою заморожування сперми

опускають у посудину Дьюара з рідким азотом, яку нещільно закривають кришкою.

Заморожування сперми бугая в облицьованих гранулах (за Ф. І. Осташком). З'єднавши спермоприймач із свіжовзятою спермою із стерильною поліетиленовою місткістю (об'ємом 200-400 мл) спеціального обладнання для розріджування сперми, заповненого середовищем № 1, розріджують сперму у співвідношенні 1:1. Витримують розріджену сперму при кімнатній температурі 5-10 хв, після чого розріджують її так само середовищем № 2 до концентрації 15 млн спермій в дозі.

Під'єднують до місткості поліетиленову трубку діаметром 3,8-4 мм товщиною стінки 120 мкм і витісняють у неї розріджену сперму за допомогою апарата ПРЖ. Розділяють заповнену спермою трубку на частини по 0,25-0,33 мл і герметизують термічним способом. Зсипають облицьовані гранули в алюмінієві туби, закривають їх поролоновими корками й закріплюють у спеціальному пристрої для еквілібрації та заморожування сперми.

Заповнений гранулами пристрій вміщують у холодильник з температурою 2-5°C на 4-6 год, потім занурюють об'єм апарата з тубами на 8-10 хв у посудину з рідким азотом, після чого опускають повністю у посудину Дьюара.

Перевірка рухливості спермій у розмороженій спермі. У чистий стерильний флакон з-під пеніциліну вносять 1 мл 2,9 %-го розчину цитрату натрію, закривають корком і ставлять на водяну баню з температурою 40°C. Підтягують за бирку чашечку з гранулами до горловини посудини Дьюара і анатомічним стерильним пінцетом з гладенькими обточеними краями, попередньо охолодженим до температури мінус 196°C, беруть з неї одну малу гранулу сперми й швидко опускають у флакон з підігрітим розчином цитрату натрію.

Струшують флакон для прискорення розморожування гранули. Відразу після розморожування гранули флакон виймають з теплої води, стерильною скляною паличкою беруть краплю сперми і наносять на чисте сухе предметне скло. Додають краплю теплої розчину цитрату натрію, накладають накривне скельце і оцінюють рухливість спермій під мікроскопом при температурі 38-40°C.

Для розморожування великих гранул (0,5-1 мл) у сухий стерильний флакон вносять 1-2 гранули і занурюють флакон у воду з температурою 38-40°C, витримують його до повного розморожування.

Облицьовані гранули та пайети виймають з рідкого азоту широким пінцетом, вміщують у водяну баню, підігріту до температури 38-40°C, розморожують протягом 8-10 с до появи тонкого стержня льоду. Гранулу що відтанула або пайету висушують, після чого її розкривають, наносять краплю сперми на предметне скло, додають краплю теплої цитрату натрію, накривають накривним скельцем і оцінюють активність спермій.

Техніка безпеки під час роботи з рідким азотом.

Під час роботи з рідким азотом необхідно дотримувати техніки безпеки:

- одягати захисні окуляри та шкіряні рукавиці; одяг техніки повинен повністю закривати оголені ділянки тіла;
- при потраплянні рідкого азоту на оголену ділянку тіла його необхідно відразу змити водою, щоб запобігти обмороженню;
- посуд з рідким азотом повинен стояти в добре вентильованому приміщенні поблизу вікна, щоб через кватирку в нижній частині вікна за

допомогою гнучкого шланга можна було доливати рідкий азот. Наконечник шланга при цьому опускають на дно посудини і надійно прикріплюють до її горловини;

– під час заливання азоту не можна заглядати в горловину посуду; перед роботою треба добре провітрити приміщення; у разі запаморочення слід негайно вийти на свіже повітря;

– через кожних 15-20 заправок рідкий азот зливають з посудини Дьюара (щоб уникнути нагромадження вибухонебезпечного рідкого кисню) і заправляють посуд свіжим рідким азотом;

– не можна закривати посудину Дьюара саморобними щільними корками; не дозволяється використовувати посудину Дьюара, верхня частина якої і горловина вкриті льодом.

Зберігання сперми сільськогосподарської птиці. Зберігати сперму в стані кислотного анабіозу чи при температурі 2-5°C можна протягом декількох днів. Заморожену сперму при температурі -79 чи -196°C можна зберігати необмежено довго - роками. Досить висока запліднююча здатність спермій, яка зберігається роками в замороженому стані забезпечує цілий ряд зоотехнічних і економічних переваг в умовах виробництва. Розбавлену сперму розливають в ампули чи гієніцилінові флакони, після чого ампули запаюють, а флакони закривають гумовими пробками.

Транспортувати сперму, при короткочасному зберіганні її, можна в побутових 2-3-літрових термосах. Для цього в термос спочатку кладуть лід, на нього ставлять хімічну склянку, на дні якої має бути вата шаром 0,5-1 см. Ампули і флакони ставлять у склянку на вату і прикривають теж шаром вати. За таких умов сперма зберігається при температурі 2°C.

Після доставки сперми до місця призначення це їх перебуванням у стані анабіозу. У цьому можна легко переконатись, нанести на предметне скельце, підігріте до 40°C, краплю сперми і поруч з нею дві краплі цитрату натрію. Накривши ці краплі накривним скельцем визначають активність спермій.

Контрольні питання:

1. Як зберігають сперму бугая, барана, жеребця при $t=2-4^{\circ}\text{C}$?
2. Технологія охолодження сперми до $t=2-4^{\circ}\text{C}$.
3. Як проводять заморожування сперми бугая у вигляді гранул у скрапленому азоті на фторопластовій пластинці та у облицьованих гранул?
4. Технологія заморожування сперми плідників у пайєтах та соломинках.
5. Як перевіряють рухливість спермій у розмороженій спермі? Техніка безпеки при роботі з рідким азотом.
6. Зберігання та транспортування сперми сільськогосподарської птиці.

ТЕМА 10

Анатомо-топографічні та фізіологічні особливості статевих органів самок

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: підручники, практикуми, методичні вказівки, таблиці, схеми будови органів розмноження, гістологічні та музейні препарати, муляжі; свіжі статеві органи забитих корів, овець, свиней, кобил, птиці, кісткові тази; анатомічні та хірургічні пінцети, анатомічні ножі, скальпелі, ножиці прями та Купера, хірургічні зонди, сечові катетери; кювети для органів корови, свині, вівці, кобили; мікроскопи, стекла предметні та покривні, піпетки очні, 2,9 %-ний розчин цитрату натрію, штангенциркулі, лупи, годинникові скельця, очний скальпель, носові щипці, ложечка Фолькмана.

Вивчіть на свіжих препаратах статевих органів забитих тварин їх будову, згадайте і обговоріть їх функцію. Вивчення статевих органів корови починайте з *статевих губ*, які утворюють статеву щілину і є коротким входом в переддвер'я піхви (рис. 1). Зверніть увагу на їх зовнішній покрив (ніжну складчасту шкіру, в якій закладено багато потових і сальних залоз) та внутрішній шар — слизову оболонку, вистелену багатошаровим плоским епітелієм.

Дорсально і вентрально статеві губи утворюють кути статевої щілини. Нижній кут статевих губ сільськогосподарських тварин гострий, верхній — закруглений; у кобил — нижній кут закруглений, верхній гострий. У товщі статевих губ є мускул — стискач вульви.

Розкривши статеві губи пальцями, розгляньте слизову оболонку *переддвер'я піхви* розміщений у вентральному куті вульви *клітор*. Переддвер'я піхви нагадує коротку м'язову трубку, що починається від статевої щілини і закінчується біля отвору сечовивідного каналу. Слизова оболонка його вкрита плоским багатошаровим епітелієм і утворює численні складки. Клітор — гомолог чоловічого статевого органа. Зверніть увагу на його розміри та форму. Наймасивніший він у кобил — довжина його досягає 4, а ширина 2 см. При осіменінні клітор сприймає нервово-сексуальні подразнення і може рефлекторно підсилювати чи, навпаки, послаблювати моторику матки.

Пропальпуйте статеві органи ззовні, знайдіть шийку матки, її тіло, міжрогову борозну, спробуйте обхопити рукою і підтягнути роги матки. Потім пропальпуйте яйцепроводи та яєчники, наявні у них фолікули і жовті тіла.

Розправивши широкі маткові зв'язки, що прикріплені до рогів вздовж усієї малої кривизни і підвішують їх до верхньої стінки тазової порожнини, відшукайте маткові судини. Зробіть ножицями поздовжній розріз від верхнього кута вульви аж до шийки матки. Розгляньте окремі шари стінки: слизову оболонку, м'язовий шар та рихлу сполучну тканину навколо переддвер'я чи серозну оболонку в ділянці піхви, знайдіть межу між переддвер'ям та власне

піввою, огляньте розміщені тут поперечну складку слизової оболонки та отвір сечовивідного каналу. У корів і в меншій мірі у свиней, овець і кіз отвір сечовивідного каналу розділений поперечною складкою на дві частини: власне отвір і сліпий мішок — дивертикул. На бокових стінках переддвер'я, дещо позаду сечовивідного каналу, є вивідні отвори бартолієвих залоз. Знайдіть їх, відпрепаруйте і розріжте. При цьому можна одержати секрет.

Знайдіть парні великі вестибулярні (бартолієві, дорсальні) залози, відпрепаруйте їх і розріжте, розгляньте муциновий секрет, який зволожує слизову оболонку переддвер'я. Дещо ззаду і з боків отвору сечовивідного каналу розміщені численні вивідні протоки малих вестибулярних залоз.

М'язовий шар стінки переддвер'я півви складається в основному з гладеньких поздовжніх м'язів. Зовнішній шар стінки переддвер'я півви складається з рихлої сполучної тканини, яка переходить у тканини промежини, прямої кишки та сечового каналу.

При огляді піввизверніть увагу, що це досить довга трубка, яка з'єднує переддвер'я півви з піввою частиною шийки матки. Її стінки порівняно тонкі, пружні та еластичні, слизова оболонка тут вкрита плоским багат шаровим епітелієм і утворює велику кількість поздовжніх складок. У краніальній частині стінка півви куполоподібно розширюється навколо шийки матки, створюючи склепіння.

Користуючись зондом, знайдіть гартнерові ходи, що починаються на межі переддвер'я та півви (дещо вправо та вліво від серединної лінії) і продовжуються під слизовою оболонкою вперед на 4-20 см.

Матка складається з шийки, тіла та двох рогів. У корів, овець та кіз матка двороздільна, у кобил і ослиць — двоорога, у кролів та інших гризунів — подвійна з двома самостійними шийками.

Розрізавши вздовж шийку матки, розгляньте уважно її будову, розвиток окремих шарів, характер складчастості слизової оболонки. На розрізі можна виявити три шари: слизовий, м'язовий та серозний. Слизова оболонка вкрита циліндричним епітелієм і функціонує як залоза. Що продукує шийковий слиз. На її поверхні є велика кількість поздовжніх та поперечних складок різної висоти.

М'язова оболонка шийки складається з трьох шарів: масивного внутрішнього циркулярного, судинного та зовнішнього поздовжнього шару.

Піввова частина шийки матки у корів виступає, на 2-3 см в просвіт півви у вигляді зібраної в складки «розетки», у центрі якої знаходиться внутрішнє устя. Шийка матки звичайно закрита і її канал у корів, особливо під час вагітності, буває заповнений густим, в'язким слизом, який під час тички та охоти слизова оболонка матки (ендометрій) вкрита одношаровим циліндричним епітелієм, ворсинки якого спрямовані у бік півви. У великої та дрібної рогатої худоби на ній є від 80 до 120 бородавчастих виростів — карункулів, до яких прикріплюється судинна оболонка плода. М'язова оболонка (міометрій) складається з масивного внутрішнього циркулярного та значно

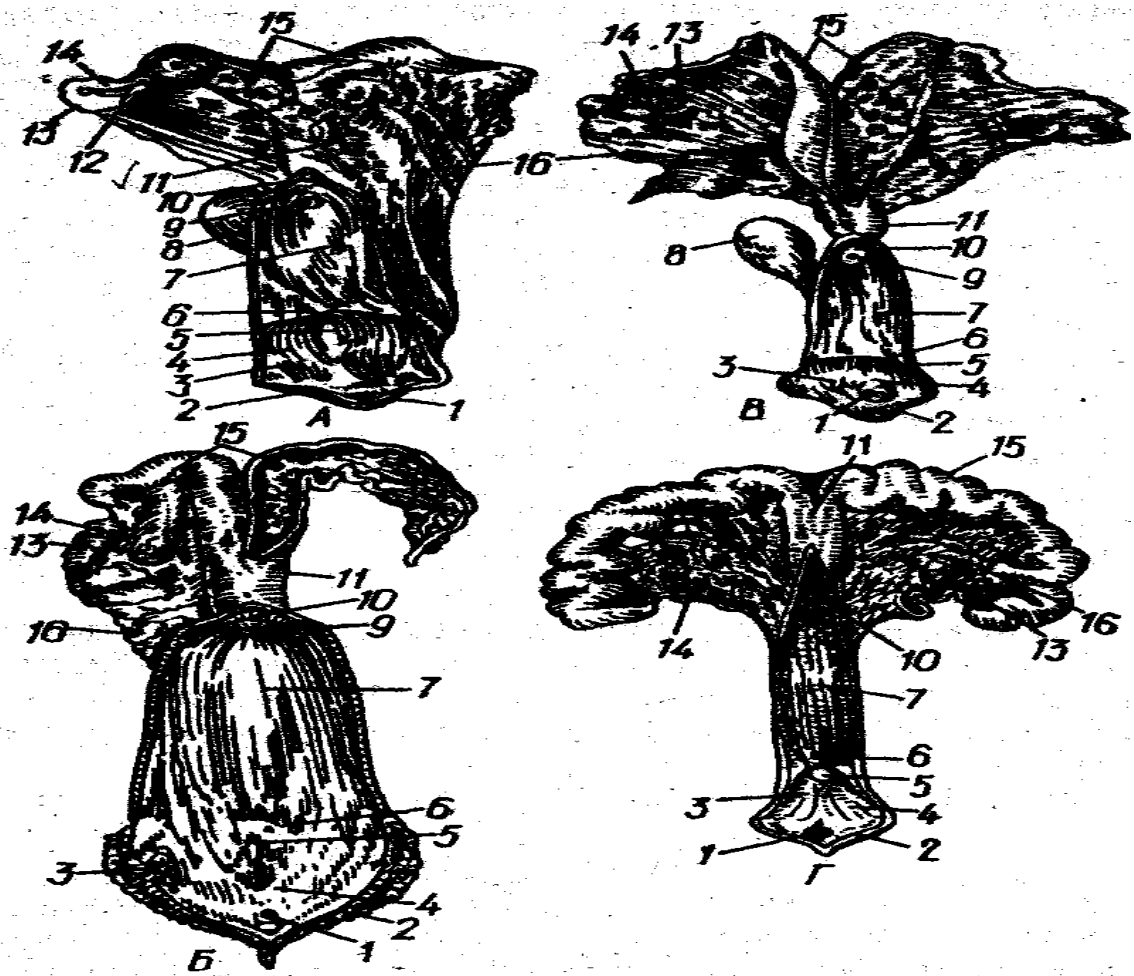


Рис 3. Органи розмноження самок свійських тварин: А — кобили; Б — корови; В — вівці; Г — свині:

1 — клітор; 2 — статеві губи; 3 — отвори вентральних та дорсальних залоз переддвер'я; 4 — переддвер'я піхви; 5 — отвір сечовивідного каналу; 6 — дівоча пліва; 7 — піхва (розтята); 8 — сечовий міхур; 9 — піхвовий отвір шийки матки; 10 — шийка матки; 11 — тіло матки; 12 — спеціальна зв'язка яєчника; 13 — яєчник; 14 — яйцепровід; 15 — роги матки (у кобили розтятий лівий ріг матки, у корови і вівці — правий); 16 — широка маткова зв'язка

слабшого поздовжнього зовнішнього шарів, між якими знаходиться судинний шар. Серозна оболонка (периметрій) — зовнішня оболонка, яка вкриває матку з усіх боків.

Розріжте обидва роги матки вздовж великої кривизни, уважно розгляньте характер шарів стінки, знайдіть карункули на слизовій оболонці, розгляньте їх будову, підрахуйте кількість, зміряйте розміри, знайдіть на них крипти (на невагітній матці — за допомогою лупи). Зверніть увагу на жовтуватий секрет між карункулами. Це — ембріотроф (маткове молочко) — продукт життєдіяльності маткових залоз.

Оглядаючи зовні яйцепроводи, зверніть увагу на їх звивистість, знайдіть, перешийок (на межі з рогом матки), ампули та лійку яйцепроводу. Нерівні зубчасті краї лійки яйцепроводу називаються каймою (бахромкою). За допомогою тонкого зонда знайдіть вхідний та вихідний отвори яйцепроводу.

Відокремивши яйцепровід від широкої маткової зв'язки, зміряйте його довжину.

Слизова оболонка яйцепроводу утворює численні, сильно розвинені складки, вкриті циліндричним миготливим епітелієм, війки якого спрямовують рух рідини в напрямку матки. М'язовий шар складається із зовнішніх поздовжніх та внутрішніх циркулярних волокон.

Візьміть малий скляний шприц з тонкою голкою, введіть його у матковий кінець одного яйцепроводу, а в черевний кінець вставте спеціальну яйцевловлюючу піпетку й зафіксуйте її лігатурою. Вводячи в яйцепровід 3-5 мл рідини, промийте його. Перенесіть зібрану рідину в малубактеріологічну чашку і розгляньте її під мікроскопом. Протягом 1-3 днів після овуляції тут повинні бути яйцеклітини чи зиготи. Відпрепаруйте другий яйцепровід, промийте його і дослідіть промивну рідину під мікроскопом.

Знайдіть лівий і правий *яєчники*, визначте їх форму й величину, які залежать від стадій та фаз статевого циклу. Зверху яєчники вкриті білковою оболонкою, внутрішня поверхня якої вистелена зародковим епітелієм. Згадайте будову яєчника, наявність двох зон (коркової чи фолікулярної і мозкової чи судинної), структуру й функцію.

На розрізі яєчника у його корковому шарі можна виявити фолікули на різних стадіях дозрівання: первинні (примордіальні), вторинні й порожнинні (третинні або граафові пухирці). Тут відбувається *овогенез* — процес розвитку і дозрівання яйцеклітин. У цьому процесі розрізняють три стадії: розмноження, росту та дозрівання.

Ще під час внутрішньоутробного періоду самки у її ембріональних зародках статевих залоз закладається велика кількість овогоній — первинних яйцеклітин.

Стадія розмноження овогоній відбувається в основному ще в ембріональний період за допомогою мітотичного, екваційного поділів і закінчується до або зразу ж після народження самки. В результаті цього у яєчнику утворюється 100-300 тис., або й мільйон овоцитів, які оточує один шар плоских фолікулярних клітин. Такий фолікул називається примордіальним. У деяких випадках, особливо у багатоплідних тварин, в примордіальному фолікулі може міститися кілька яйцеклітин (у свині — до 3, а в суки — до 6). Яйцеклітина на цій стадії складається з ядра, протоплазми та оболонки. Поблизу ядра розміщене жовткове тільце, або центросфера, оточене мітохондріальною зоною і периферичною цитоплазмою. Найбільше примордіальних фолікулів буває у яєчнику великої рогатої худоби на 110-130-й день внутрішньоутробного розвитку, тобто в розпал стадії розмноження. Загальна кількість примордіальних фолікулів у новонародженої телички 50-150-300 тис., в кобили — 120 тис., свинки — 60 тис. З віком їх кількість зменшується, хоча утворення овоцитів можливе й в постембріональний період, навіть у дорослих тварин. Первинні фолікули ніби перебувають у дрімотному стані. Свій подальший розвиток (стадію росту) вони продовжують лише після народження тварини; а дозрівають — після настання у неї статевої зрілості. Однак повного розвитку у корів досягають лише 40-50 первинних фолікулів; у

свиней дещо більше, оскільки вони багатоплідні. Протягом одного статевого циклу в неї може дозрівати 20-30 яйцеклітин, що за статеве життя становить 100-300 яйцеклітин.

Стадія росту овоцитів розпочинається зразу після народження і продовжується протягом всього статевого життя самки. При цьому овоцити збільшуються у розмірі, в них синтезується протоплазма і закладається основна жовткова маса, вони готуються до поділу. Такий овоцит називають овоцитом першого порядку.

Стадія дозрівання. Від початку й майже до кінця дозрівання фолікула яйце залишалось на ранніх стадіях гетеротипного поділу.

Незадовго до овуляції розпочинається дозрівання яйця. Воно полягає у двох послідовних мейотичних поділах. Перший з них редуційний (зменшуючий), спрямований на зменшення кількості хромосом, а другий — екваційний, вирівнюючий. У результаті першого поділу утворюється овоцит II порядку, другого — дозріле яйце. Ці поділи нерівномірні. В одну з новоутворених клітин переходить основна маса протоплазми, а в другу — лише незначна її частина. Таким чином, при першому поділі овоцита I порядку утворюється одна велика клітина — овоцит II порядку і маленьке — перше полярне (спрямовуюче) тільце, яке виштовхується у позажовтковий простір, що утворюється при цьому.

Перший (редуційний) поділ буває незадовго до овуляції. Зразу після виділення першого полярного тільця в овоциті II порядку утворюється ділильне веретено для виділення другого полярного тільця. Проте цей поділ затримується на стадії метафази аж до виходу яйцеклітини з фолікула. Він відбувається вже в яйцепроводі після проникнення у яйце спермія.

Під час другого (екваційного) поділу, який також буває нерівномірним, утворюється дозріла яйцеклітина і друге полярне тільце, яке також видаляється у позажовтковий простір. Перше полярне тільце може також розділитися на два. Отже, в процесі овогенезу, з овоциту I порядку утворюється дозріле яйце і три полярних тільця.

Дозріла яйцеклітина ссавців складається з ядра, протоплазми та оболонки. Протоплазма є комплексом колоїдів. У ній містяться усі клітинні органели і відбуваються процеси, пов'язані з обміном речовин. Ядро яйця досить велике. Воно містить хроматинову сітку та велике ядрце. За своїм походженням яйцеві оболонки (їх може бути до трьох) поділяють на первинні, вторинні та третинні; Первинна оболонка або її ще називають жовтковою — це шар ущільненої протоплазми. Вона відокремлює жовток від білка, підтримуючи між ними різницю осмотичного тиску, й відіграє важливу роль у процесах обміну речовин. Зовні яйцеклітина вкрита шаром драглистої маси, виділюваної фолікулярними клітинами — це вторинна або прозора оболонка. Через неї відбувається живлення яйця у яєчнику. Між прозорою і жовтковою оболонками є заповнений рідиною перевітеліновий, або позажовтковий простір.

Оглядаючи яєчник, знайдіть у ньому фолікули різного ступеня зрілості та жовті тіла. На поверхні яєчника добре помітні дозрілі фолікули у вигляді

пухирців. Стінка такого фолікула складається з двох шарів: зовнішнього — сполучнотканинної оболонки (так званої теки), утворено стромою яєчника, та внутрішнього — судинного. До судинного шару прилягає базальна мембрана, на якій розміщений фолікулярний епітелій (зернистий шар): у потовщенні цього епітелію (яйценосному горбику) знаходиться яйцеклітина, оточена шаром фолікулярних клітин. У дозрілому фолікулі у деяких тварин яйцеклітина може знаходитися всередині в прозорій драглистій масі. Проколіть обережно очним скальпелем дозрілий фолікул і випустіть фолікулярну рідину на годинникове скло або намотайте драглисту масу на кінчик скальпеля і перенесіть її на предметне скло в краплю сироватки крові і, розглядаючи під мікроскопом, знайдіть яйцеклітину. Після цього розріжте незрілий фолікул і, випустивши рідину, вишкребіть його стінку невеличкою ложечкою Фолькмана.

Змийте зібрану білкову масу з кінчика ложечки трьома краплями сироватки крові на предметне скло і розгляньте під мікроскопом спочатку при малому, а потім при великому збільшенні.

Ріст та дозрівання яйця супроводжується ростом та дозріванням фолікула, тому деякі автори виділяють в овогенезі окрему стадію — фолікулогенез. Цей процес складний і може завершуватися овуляцією, лютеїнізацією чи атрезією фолікула.

На ранніх стадіях росту примордіальні фолікули розміщуються на поверхні яєчника, а згодом занурюються глибше у його корковий шар. Фолікулярні клітини, що оточують овоцит, збільшуються в об'ємі й перетворюються з плоских у кубічні, а потім циліндричні. Їх кількість різко зростає. Вони вже оточують овоцит кількома шарами, утворюючи так звану зернисту оболонку. Такий фолікул називається вторинним або фолікулом другої стадії. Клітини внутрішнього шару розміщені поздовжньою віссю променисто щодо яйця і утворюють так званий променевий вінець. У цих клітинах синтезується гомогенна речовина, яка утворює навколо овоцита прозору оболонку.

Знастання статеві зрілості вторинні фолікули збільшуються в об'ємі в певній послідовності перетворюються у третинні (граафові) фолікули. Міжточуючими овоцит фолікулярними клітинами виникають порожнини, які заповнюються рідиною і поступово з'єднуються в одну велику порожнину (антрум), внутрішня поверхня якої вистелена: фолікулярними клітинами — зернистим шаром, а зовнішня (тека) утворена сполучнотканинною оболонкою із великою кількістю кровоносних судин. Клітини зернистого шару фолікула виконують секреторну функцію — тут утворюються естрогенні гормони. Рідина, що заповнює порожнину фолікула (фолікулярна рідина), відтісняє яйценосний горбик на периферію фолікула.

Граафів фолікул у коней досягає 3-4 см в діаметрі, у корів 1-2, свиней 0,8-1,2, в овець і кіз 0,5-0,7 см. Він виступає над поверхнею яєчника у вигляді пухирця, наповненого рідиною, його можна прощупувати через пряму кишку. Під впливом внутрішнього фолікулярного тиску і частково лізису оболонка яєчника поступово тоншає і, нарешті, розривається. При цьому випорскується (а може й поступово витікає в черевну порожнину) фолікулярна рідина разом з

яйцекліткою.

Процес лопання дозрілого фолікула і виділення в нього яйцеклітини називається *овуляцією*.

В одноплідних тварин одночасно овулює, як правило один фолікул, тоді як у багатоплідних — багато.

О. В. Квасняцькнй, В. П. Шевцова вважали, що в яєчнику тварин одночасно дозріває значно більше фолікулів, ніж овулює. Решта піддаються атрезії (розсмоктуванню). За рахунок таких фолікулів, по-перше, організм одержує додаткову кількість естрогенних гормонів, а по-друге—це резерви підвищення плодючості тварин.

У свиней спочатку дозрівають і овулюють 3-5 фолікулів, а через деякий час – решта. Внаслідок цього в статевих шляхах самки виявляють різновікові яйцеклітини. У корів приблизно в 60 % випадків овуляція буває в правому яєчнику і лише в 40 % –в лівому. У великої рогатої худоби й овець вона може відбуватися у будь-якому місці поверхні яєчника, тоді як у кобил—лише в овуляційній ямці (у домашньої птиці фолікул лопає вздовж лінії особливої ділянки—стигми).

У більшості сільськогосподарських тварин овуляція відбувається спонтанно, в кобил вона настає під час охоти, а в корів і буйволиць — після неї.

Крім спонтанної, тобто зумовленої статевим циклом, у природі часто зустрічається спровокована овуляція, що настає після статевого акту. В результаті нервового збудження, що виникає під час коїтусу, в гіпофізі виділяються гонадотропні гормони, які й викликають лопання фолікулів. Спровокована овуляція буває у кролематок, зайчих, норок, ласок, ховрахів, кішок, єнотів, білок, мишей та інших гризунів і настає через 10-24 год після статевого акту. В яєчниках цих тварин завжди є граафові пухирці. Коїтус є актом, який сприяє виникненню овуляційних механізмів. У кролематок овуляцію можна також спровокувати механічним подразненням піхви скляною паличкою.

У самок деяких видів тварин із спровокованою овуляцією може відбуватися спонтанна овуляція, яку регулює зворотний розвиток жовтого тіла.

Утворення жовтого тіла (лютеїнізація). Після лопання фолікула його порожнина (звільнена від яйцеклітини та фолікулярної рідини) спадається, зернистий і внутрішній шари його стінки утворюють складки і майже заповнюють порожнину. Крім того, з розірваних капілярів судинної оболонки фолікула виступає кров, яка утворює згусток.³¹ Поступово він починає проростати фолікулярними клітинами, які розмножуються із зернистого шару та внутрішньої оболонки фолікула. У протоплазмі цих клітин відкладається пігмент лютеїн, який надає усьому утворенню жовтого вигляду, тому його й називають жовтим тілом. Лютеїнізація окремих клітин фолікулярного епітелію може настати до овуляції. У порожнину фолікула також проростають кровоносні судини й сполучнотканинні елементи.

В розвитку жовтого тіла розрізняють стадії росту, гормональної активності й регресії. Деякі автори ділять стадію росту на дві: проліферації й васкуляризації.

1. Стадія росту (формування) жовтого тіла (у часі збігається із стадією метеструсу статевого циклу) і триває близько п'яти днів. Особливо сильний ріст спостерігається на 4-5-й день після овуляції. Сформоване жовте тіло виступає над поверхнею яєчника і має кулясту чи довгасту форму, його діаметр може досягати у корів 2,5-3 см. Період максимального розвитку жовтого тіла збігається у більшості тварин з імплантацією зародка.

2. Стадія гормональної активності у великої рогатої худоби триває з 7-8-го по 16-18-й день статевого циклу. Жовте тіло, що досягло повного розвитку, починає продукувати гормон прогестерон, який підтримує проліферативні процеси в матці, стимулює її гіпертрофію і гіперплазію під час вагітності та перешкоджає дозріванню нових фолікулів. Якщо тварина запліднилася, то жовте тіло зберігається протягом усієї вагітності, як жовте тіло вагітності, виділяючи в кров прогестерон. Якщо ж запліднення не настало, то вже з 10-13-го дня гормональна функція жовтого тіла починає поступово знижуватися. Це жовте тіло статевого циклу або періодичне жовте тіло.

3. Якщо запліднення не відбулося, то сформоване жовте тіло (жовте тіло статевого циклу) зазнає зворотного розвитку — регресії. Це буває під кінець стадій проеструсу або на початку еструсу, приблизно за 4-6 днів до овуляції. Таке жовте тіло втрачає свій жовтий колір, його клітини піддаються жировому переродженню, у ньому розростаються сполучнотканинні елементи, воно зменшується в розмірі, однак на 19-20-й день все ще залишається. Регресія жовтого тіла відбувається повільно, тому в яєчниках можна виявити велику кількість жовтих тіл на різних стадіях регресії. У великої рогатої худоби періодичне жовте тіло порівняно з іншими видами тварин, затримується триваліший час, що пов'язано з рівнем ЛТГ у крові. Звичайно на 21-й день чергового циклу дозріває і лопається новий фолікул.

Жовте тіло при цьому ще більше зменшується. На 43-й день, коли дозріває і лопається фолікул, тобто настає третій цикл, жовте тіло має вигляд червоної чи коричневої зернини й нарешті перетворюється у білковий слід, або фібрознетіло.

Якщо з будь-яких причин регресія жовтого тіла затримується і воно залишається у яєчнику більше як 30 днів (після родів чи овуляції — для періодичного жовтого тіла), то його називають персистентним (перестоялим). Воно затримує настання нового статевого циклу й отже, призводить до неплідності. Зробивши розріз яєчника, розгляньте уважно його шари: зовнішній фолікулярний та внутрішній судиний.

Яєчники, яйцепроводи та матка підвішені у черевній порожнині на широких маткових зв'язках, які є подвійною складкою очеревини, між якими розміщені гладенькі м'язові волокна, судини та перші. Розгляньте зв'язки і знайдіть серед них власну зв'язку яєчника і підтримуючу зв'язку яйцепроводу.

При огляді *статевих органів свиней* зверніть увагу на те, що піхва вузька й коротка, слизова оболонка її зібрана в грубі поздовжні та поперечні складки, вона без різких меж поступово переходить у довгу шийку матки. На слизовій оболонці шийки матки є два ряди сполучнотканинних виступів, розміщених у

шахматному порядку, які роблять каналшийки матки звивистим. Висота цих виступів збільшується у напрямку тіла матки. Довгі та тонкі роги матки розміщені петлеподібно, на їх слизовій оболонці є багато ніжних складок. Лійка яйцепроводу та його кайма добре виражені, яєчники мають гроноподібну форму.

Оглядаючи *статеві органи овець і кіз*, зверніть увагу на те, що будова їх в основному така ж, як і в корівлише розміри значно менші. Крім того, піхвова частина шийки матки має загострену форму, поперечні складки слизової оболонки шийки матки утворюють при своїй основі кишенькоподібні заглиблення, які є також у центрі карункулів.

Статеві органи кобили відрізняються від інших видів самок короткою шийкою матки із слабозрозвиненим шаром м'язів та дрібною поздовжньою складчатістю слизової оболонки (поперечних складок немає); тіло матки добре розвинені роги матки (плоскі й прямі), відійшовши від тіла, зразу розходяться, їх слизова оболонка складчаста; яєчники великі, бобоподібні, з гладенькою поверхнею, яка по всій довжині (крім овуляційної ямки) має масивну фіброзну оболонку.

Вивчіть зовнішні статеві органи самок. Зафіксуйте тварину в станку, зробіть туалет зовнішніх статевих органів, відведіть хвіст набік (у кобил і корів краще корінь хвоста забинтувати).

Зверніть увагу на форму, колір, величину, положення, напруження статевих губ, загострення їх кутів, наявність виділень та їх характер.

Розширте пальцями статеву щілину і огляньте слизову оболонку переддвер'я піхви та клітор, їх колір, тургор, наявність чи відсутність крововиливів, виділень і т. п.

Проведіть піхвове дослідження корови. Зафіксуйте тварину в станку, зробіть туалет зовнішніх статевих органів, відведіть хвіст корова набік і зафіксуйте бинтом. Візьміть у праву руку простерилізоване й зволене фізіологічним розчином піхвове дзеркало з прикріпленим до нього освітлювачем і, привідкривши пальцями лівої руки вульву, введіть його обережно в піхву. Бранші дзеркала при цьому повинні бути зімкненими, а ручки спрямовані набік. Поверніть дзеркало ручками вниз, натискаючи на них, розкрийте його бранші і огляньте стан піхви та шийки матки, звертаючи увагу на їх колір, наявність слизу чи ексудату і їх характер, розкриття чи закриття цервікального каналу, наявність у ньому слизової пробки (рис. 2).

У клінічно здорових корів у стадії зрівноваження статевого циклу стінки піхви гладенькі, блідо-рожеві, блискучі, шийка матки закрыта, в її каналі видно в'язкий слиз.

Проведіть мануальне дослідження піхви та шийки матки. Зафіксуйте корову в станку, проведіть туалет задньої частини тулуба і відведіть набік хвіст. Підготуйте відповідним чином руки — обріжте нігті, помийте з милом, змажте нейтральним жиром (гліцерином чи антисептичною емульсією). Склавши пальці руки конусом, введіть її обережно в діхву, звертаючи увагу на стан слизових оболонок гладкість, наявність на них дещо клейкого секрету, розкриття чи закриття цервікального каналу, складчастість піхвової частини

шийки матки.

Проведіть ректальне дослідження статевих органів корів і телиць. Зафіксуйте тварину в станку, зробіть туалет задньої частини тулуба. Обріжте коротко нігті на одній руці, зрівняйте пилочкою їх гострі краї. Одягніть халат, фартух, гумові чоботи, засукайте рукава халата по плече, одягніть нарукавник.

Помийте теплою водою з милом руки, продезинфікуйте наявні подряпини та садна розчином йоду і змажте зверху колодієм (або одягніть гінекологічну чи п'ятипалу полістиролову рукавичку), змажте руку вазеліном, іхтіоловою маззю або добре намильте.

Підійдіть до тварини ззаду і дещо зліва, відведіть її хвіст набік, склавши пальці підготовленої руки конусом, введіть її через анальний

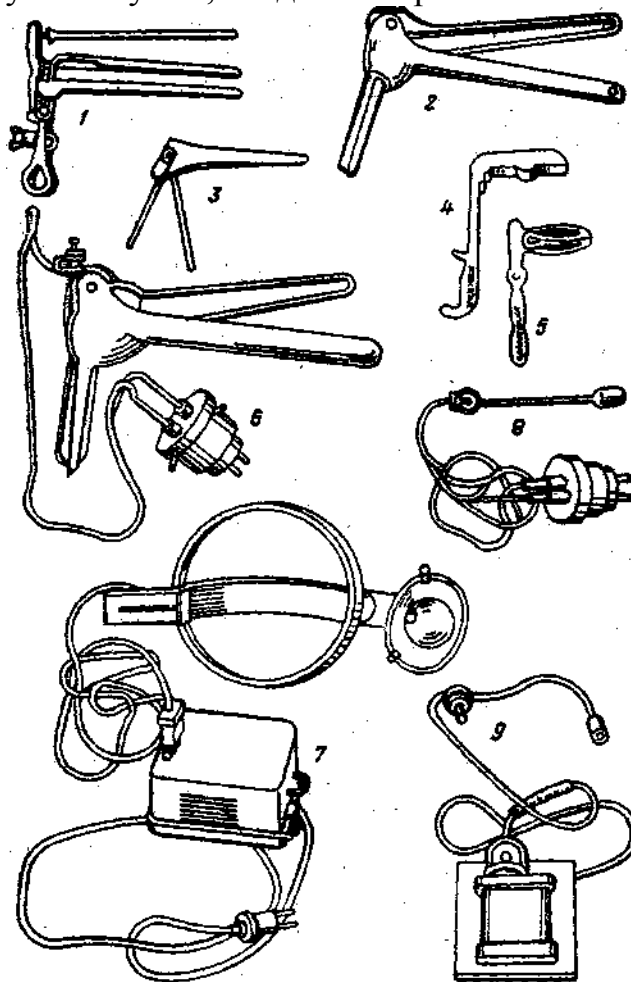


Рис. 4. Піхвові дзеркала та освітлювачі до них:

1 — дзеркало Поливського; 2, 3 — система «Скотовод» для великих тварин та овець; 4 — Фріч-Дауена; 5 — дрібних овець; 6 — дзеркало системи «Свотовод» з освітлювачем; 7 — налобний освітлювач з трансформатором; 8 — освітлювач для дзеркала великих та 9 — дрібних тварин

отвір до рівня третіх фаланг. Розширте пальці так, щоб через утворену між пальцями щілину повітря могло проникнути в пряму кишку. Це спричинить рефлекторне скорочення прямої кишки й звільнення її від калу. Якщо дефекація не настала, то попробуйте викликати її, погладжуючи пучками пальців слизову

оболонку прямої кишки чи просто ввівши руку глибоко в пряму кишку звільнить її рукою від калу. Калові маси знаходяться в прямій кишці завжди і видаляють їх лише тоді, коли вони заважають дослідженню. Кількаразове введення руки в пряму кишку призводить до кровотечі з слизової оболонки. Запам'ятайте, що приступати до пальпації статевих органів можна лише під час розслаблення прямої кишки. При скороченні м'язового шару легко промасажуйте слизову прямої кишки і почекайте її розслаблення.

Знайшовши шийку матки, підтягніть її трохи до себе, і просунувши руку вперед, віднайдіть тіло матки (коротке м'яке) і за ним скеровані вперед два роги і добре виражену між ними міжрогову борозну (рис. 3). Просунувши середній палець в борозну і вперед,

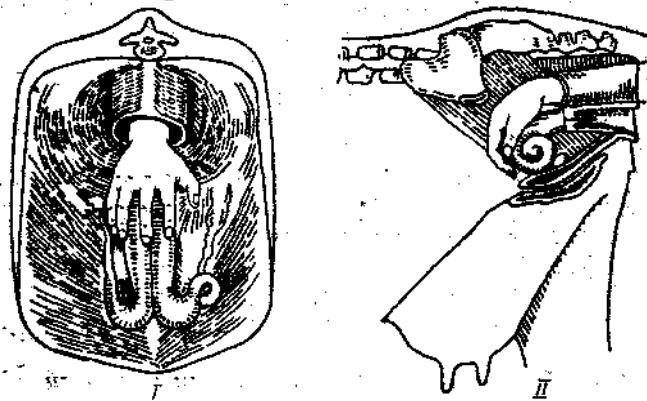


Рис. 5. Ректальне дослідження корови:

1 — прощупувавши міжрогової борозеві; 2 — підтягуваная мати

дійдіть до біфуркації матки, після чого обережно пропальпуйте пучками пальців роги матки. Дійшовши до верхівки правого рога матки, знайдіть зразу внизу чи дещо збоку яєчник. Повернувшись вздовж рога назад до біфуркації, пропальпуйте таким же чином лівий ріг матки.

Пальпуючи матку та яєчники, зверніть увагу на їх положення, величину, форму, поверхню, консистенцію, чутливість, наявність у яєчнику фолікулів та жовтих тіл.

Невагітна матка міститься у тазовій порожнині, її роги симетричні; при пальпації і легкому погладженні матка швидко скорочується, її можна зібрати під долонею і пальцями руки; міжрогова борозна чітко промацується; яєчники розміщені у тазовій порожнині. Роги невагітної матки старих корів частот опущені в черевну порожнину, у гінекологічно хворих тварин роги матки часто опущені в черевну порожнину й можуть бути наповнені ексудатом.

Вивчити особливості будови статевих органів та репродуктивні функції самок птахів. Статеві органи самок птахів характеризуються асиметрією, що виражається відсутністю у дорослих тварин правої гонади і правого яйцепроводу.

Статеві органи представлені яєчником і яйцепроводом, Яєчник знаходиться в черевній порожнині. Форма і розміри яєчника залежать від виду, віку і фізіологічного стану птахів. Так, у курчат у добовому

Таблиця 3

Час насиджування у птахів

Вид птахів	Кількість днів	Оптимальна кількість яєць, шт.
Кури	20-21	11-13
Індики	27-28	17-19
Качки	27-28	11-13
Мускусні качки	34-36	19-21
Гуси	29-30	9-11
Голуби	13-14	2
Страуси	42	11-13

Для качок та гусей при насиджуванні біля гнізда має бути посудина з водою, в яку вони занурюються, змочуючи знизу своє пір'я, а потім ним зволожують яйця, що поліпшує виведення каченят та гусенят.

віці маса лівого яєчника становить 0,03-0,05 г, у період яйцекладіння - 45-56 г, у період линьки - 6-8 г. У самок індиків маса яєчника в період яйцекладіння збільшується в 12-15 разів у порівнянні з періодом линьки.

У деяких видів птахів (кури, індики) може відбуватися партеногенетичний розвиток яйця.

Контрольні питання :

1. Охарактеризуйте загальну схему будови статевої системи самок сільськогосподарських тварин.
2. Охарактеризуйте функцію яєчників як залози внутрішньої і зовнішньої секреції.
3. Назвіть основні гормони, що регулюють статеву функцію в організмі самок, опишіть будову і функцію фолікула.
4. Охарактеризуйте основні статеві рефлекси самок.
5. Охарактеризуйте статевий цикл, вкажіть його стадії.
6. Назвіть основні ознаки статевої охоти самок сільськогосподарських тварин.
7. Вивчити особливості будови статевих органів та репродуктивні функції самок птахів.

ТЕМА 11

Діагностика тічки, статевого збудження, охоти та овуляції у с.-г. самок

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення

сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: тварини різних видів (самки та самці-пробники), піхвові дзеркала з освітлювачами, ложка фольмана, бактеріологічні чашки, предметні та покривні стекла, мікроскопи, фізрозчнн, розчин фурацнліну (1:5000), спиртові тампони, мило, вата, рушники, рефлектори, носові щипці, ножиці, дистильована вода, метиловий спирт, розчин метиленбляу.

Ознайомтеся з клінічними проявами тічки, статевого збудження і охоти у корів та телиць. Статева функція самок характеризується вираженою періодичністю, тобто має циклічний характер. Комплекс фізіологічних і морфологічних змін, що відбуваються в статевій системі і в організмі самки від однієї овуляції до наступної, називають *статевим циклом*. Це — складний, нейрогуморальний ланцюговий рефлекторний процес, який розвивається поступово й спрямований на створення в організмі самки сприятливих умов для запліднення та розвитку зародка.

Характерні для статевого циклу специфічні зміни в статевій системі самок, їх поведінці, як і в організмі в цілому, періодично повторюються протягом усього репродуктивного життя самки аж до клімактеричного періоду. Вони пов'язані насамперед із змінами гормонального співвідношення в гіпоталамо-гіпофізарно-яєчниковому ланцюзі, ростом у яєчниках фолікулів і дозріванням у них статевих клітин, овуляцією, утворенням і зворотним розвитком жовтих тіл.

А. П. Студенцов, надаючи важливого значення нервовій регуляції статевої функції, виділив у статевому циклі три стадії — збудження, гальмування і зрівноваження, а К. Братанов, віддаючи перевагу гуморальній регуляції, виділив у ньому дві стадії — фолікулінову (дозрівання фолікула) і лютеїнову (жовтого тіла чи прогестеронову).

Зміна процесів збудження та гальмування і надходження у кров підвищених концентрацій гонадотропних та статевих гормонів викликає появу у самок ознак статевого циклу: тічки, загального збудження (загальна реакція), охоти, дозрівання фолікулів та овуляцію.

Тічка — морфологічні зміни в геніталіях — активна гіперемія, проліферація, набрякання слизових оболонок, активна секреція залоз переддвер'я піхви, шийки матки, розкриття шийки матки та виділення тічкового слизу в піхву і назовні.

Загальне збудження самки (загальна реакція) — проявляється неспокійним станом її, відмовою від корму, іноді агресивністю, зниженням молочної продуктивності та погіршенням якості молока. *Охота* (*статева охота*) — позитивна сексуальна реакція самки на самця. Вона прагне наблизитися до нього, стає в позу для статевого акту, часто виділяє сечу, дає змогу самцеві зробити садку.

Овуляція — вихід яйцеклітини з фолікула.

Лютеїнова стадія характеризується зниженням ознак тічки, інволюцією (зворотним розвитком) морфологічних і фізіологічних процесів, характерних

для попередньої стадії. Самка заспокоюється, у неї поліпшуються апетит і продуктивність, вона негативно чи байдуже реагує на самця; у яєчнику, на місці фолікула, що овулював, утворюється жовте тіло, яке виробляє гормон прогестерон.

При визначенні описаних стадій статевого циклу враховують: зміни загального стану тварин, який може бути збудженим, спокійним, зрівноваженим; реакцію самки на самця, яка буває позитивною, негативною, байдужою; наявність тічкових змін у піхві та матці; наявність дозрілих фолікулів, овуляцію, жовті тіла.

Середня тривалість статевого циклу (тобто інтервал від однієї овуляції до наступної у невагітних тварин) становить: у корів 18-22 доби (у середньому 21), у кобил 20-21, у свині 20-21, у вівці 14-19 (частіше 16-17) діб.

Виявляють тічку та охоту у тварин спостереженням за їх поведінкою та оглядом статевих органів. Звичайно у них спочатку з'являється тічка, потім збудження, охота й нарешті овуляція.

Зовнішньо тічка проявляється набряканням та почервонінням статевих губ, волоски біля нижнього кута статевої щілини бувають вологими. На нижній поверхні кореня хвоста, на сідничих горбах можна побачити слиз, що виділився із статевої щілини. Частіше помітити виділення слизу можна вранці, коли тварина лежить на підлозі чи на підстилці — під коренем хвоста можна побачити невелику калюжку слизу.

Виділіть тварин з ознаками тічки із стада, зафіксуйте їх у станку, зробіть туалет зовнішніх статевих органів та кореня хвоста теплою водою з кружки Есмарха, витріть насухо і зволожите розчином фурациліну. Великим і вказівним пальцями рук розкрийте статеві губи й огляньте клітор та початкову частину переддвер'я піхви: під час тічки вони повинні бути набряклі, яскраво-червоні, вкриті прозорим слизом.

Візьміть чисте й сухе піхвове дзеркало, профламбуйте його над полум'ям спиртового тампона, зволожите 1%-ним стерильним розчином хлористого натрію чи двовуглекислої соди і введіть у піхву тварини. При цьому дзеркало повинно бути закритим, а ручки його повернені набік. Вводити дзеркало слід обережно, не застосовуючи сили і спрямовуючи його дещо вгору. Ввівши дзеркало до упору, поверніть його ручками вниз, обережно натискаючи на ручки — розкрийте лопаті. Підключивши живлення до освітлювача або, користуючись лобовим рефлектором чи відбитим від дзеркала світлом вікна, освітіть стінки піхви та шийку матки й огляньте їх. Слизова оболонка піхви та піхвові діляпки шийки матки повинні бути набряклими та почервонілими, канал шийки матки розкритим з витіканням слизу, спочатку тягучого й прозорого, а під кінець тічки в'язкого та мутного.

Ці ознаки слід відрізнити від ознак тільності, тим більше, що у вагітних тварин також іноді може виникати охота. На третьому місяці тільності в піхві корів також буває слиз, але густий, мутний, клейкий. Із 4-5-го місяця тільності шийка матки буває заліплена густим слизом. Ще пізніше вона значно збільшується, куполоподібно виступає у піхву, отвір її знаходиться на дні піхви, повернений вверх. У міжтічковий період слизова оболонка піхви буває

сухою і блідою, шийка матки — закритою, канал її — заповнений густим слизом.

Визначте кількість, колір та консистенцію тічкового слизу. Зробіть мазок. Для цього візьміть дротяну петлю, профламбуйте її над полум'ям спиртового тампона, опустіть у дистильовану воду й нанесіть краплю на предметне скло. Тоді, розкривши пальцями лівої руки статеві губи, введіть петлю в переддвер'я піхви на глибину 2-3 см і зробіть кілька колових рухів по слизовій оболонці. Вийміть петлю, опустіть її у краплю води на предметному склі і зробіть мазок. Висушіть його на повітрі, зафіксуйте в баночці з метиловим спиртом, сполосніть водою і пофарбуйте протягом 2-3 хв розчином метиленбляу. Змийте фарбу водою, висушіть мазок і розгляньте його під мікроскопом.

У фазу тічки в мазку не повинно бути лейкоцитів, а лише великі багатогранні епітеліальні клітини з малим ядром.

Через 1-1,5 доби до ознак тічки приєднуються ознаки загального збудження — корова стає рухливішою, неспокійною, реве, часто переступає з ноги на ногу, в неї погіршується апетит, знижується удій. На прогулянці чи на пасовищі така корова стрибає на інших корів чи на бугая-пробника і робить крупом різкі рухи, що нагадують парувальні рухи самця. Через деякий час у неї з'являється обіймальний рефлекс на самку — вона дозволяє стрибати на неї іншим самкам, але ще не завжди допускає садку бугая. Іноді статевого збудження у корів не буває.

Для встановлення статевого збудження придивіться уважно до поведінки корів у загоні, виявіть серед них тварин з ознаками збудження і опишіть їх поведінку. Виділіть цих тварин із стада і дослідіть у них наявність інших ознак статевого циклу.

Характерною ознакою статевої охоти є позитивна реакція самки на самця. Вона сама розшукує самця, стає в нозу для статевого акту і допускає робити на себе садку як самця, так і самкам. На корову в охоті можуть стрибати не лише корови не в охоті, а й вагітні, тому осіменяти слід ту корову, яка допускає робити на ній садку і в якій виражені ознаки тічки.

Одночасно з охотою у корови проявляються й інші ознаки загального збудження та тічки — вона неспокійна, часто мукає, відставляє корінь хвоста, втрачає апетит, у неї знижується надій. В статевій системі спостерігаються ознаки тічки. Охота у корів триває 17-20 год. У деяких корів ознаки охоти проявляються дуже слабо: в стаді вони приєднуються до інших корів в охоті, проте поведуться спокійно. Таких корів слід досліджувати за допомогою піхвового дзеркала. Розпал охоти звичайно збігається з початком помутніння тічкового слизу, який ще не почав загусати, є найменш в'язким і найеластичнішим, що сприяє просуванню сперміїв по статевих шляхах. Це найкращий час для осіменіння.

Спостерігаючи за тваринами у стаді, виявіть серед них корів в охоті, простежте за їх поведінкою, дослідіть наявність у них ознак тічки та статевого збудження.

Одягнувши на оголену праву руку гінекологічну чи поліетиленову рукавичку, змажте її нейтральним милом чи вазеліном, лівою рукою відведіть

корінь хвоста набік і, склавши конусоподібно пальці правої руки, введіть їх обертальними рухами в пряму кишку; звільнивши кишку від калових мас, пропальпуйте уважно матку та її компоненти (див. техніку ректального дослідження) і знайдіть яєчники. Зверніть увагу на їх положення, величину, форму, поверхню, консистенцію, чутливість. Визначте стан фолікула та орієнтовний час овуляції.

На початку охоти фолікул прощупують у вигляді пухирця розміром 0,5-0,75 см з пружною гладенькою поверхнею. Дозрілий фолікул досягає розміру 1,5-2 см, у ньому добре відчувається флюктуація (коливання) рідини. При легкому натисненні фолікул лопається. Звичайно овуляція настає через 10-15 год після закінчення охоти (тобто через 24-30 год від початку охоти). Після овуляції фолікул зменшується у розмірі, стінки його спадаються і на його місці утворюється заглиблення з рихлими краями.

Ознайомтеся з клінічними проявами тічки, статевого збудження і охоти в овець. Статева циклічність у овець поновлюється через 1-2 міс після окоту, проте вигодовування ягнят та кліматичні фактори гальмують її і лише в серпні вона поновлюється. З ознак стадії збудження у овець добре виражена охота. Вівці належать до поліциклічних тварин із статейним сезоном, який продовжується з серпня по березень (залежно від місцевості). Виявляють охоту за допомогою баранів-пробників з розрахунку 1 пробник на 80-100 маток.

Рано-вранці з отари відбирають групу овець кількості 150-200 голів і заганяють у загін площею 180-206 м². Пускають до них 2-3 пробники з підв'язаними фартухами і уважно стежать за поведінкою овець. Вівці в охоті не тікають від пробника, стоять спокійно при його наближенні, дають змогу зробити садку. Таких маток виловлюють і поміщають в окремий загін.

Спостерігаючи за виявленням овець в охоті, зверніть увагу на їх поведінку в присутності пробника. Потім, розділившись на підгрупи по 3-5 чоловік, виберіть собі одну вівцю з ознаками охоти, зафіксуйте її у станку, зробіть їй туалет задньої частини тіла й дослідіть стан статевих органів за допомогою піхвового дзеркала.

Ознаки тічки у овець такі ж, як і в корів, лише слабше виражені.

Ознайомтеся з ознаками тічки, статевого збудження та охоти у свиней. Ознаки статевих циклів проявляються у свиноматки синхронно, однак іноді влітку між тічкою, загальним, збудженням та охотою можуть спостерігатися паузи тривалістю від однієї до кількох діб. У практичних умовах тічку у свиноматок визначають за станом їх статевих губ (при цьому вони значно збільшуються їх шкіра втрачає складчастість, вони стають рожевими), та переддвер'я піхви, слизова оболонка якої набуває рожевого чи рожево-червоного, забарвлення і вкривається напіврідким чи рідким сірувато-білуватим слизом.

Статеве збудження у свиноматки проявляється сильним занепокоєнням, зниженням апетиту, вона хрюкає, часом пищить, обнюхує перегородки, стіни, намагається вискочити з станка, обнюхує і стрибає на інших свиней, однак не допускає садки.

З настанням статевої охоти свиноматка стоїть нерухомо, розставивши

широко кінцівки, піднявши хвіст, прийнявши позу для статевого акту і дає змогу кнурові зробити садку.

Овуляція у свиноматок настає через 24-30 год від початку охоти й триває близько 48 год.

Виявивши серед свиноматок господарства тварин з ознаками статевого збудження, ізолюйте одну з них в окремий станок чи загін, впустіть до неї кнура-пробника й спостерігайте за її поведінкою. Проженіть кнура по проході свинарника і, стежачи за поведінкою свиноматок, виявіть серед них тварин в стані статевого збудження.

Ознайомтеся з ознаками тічки, статевого збудження, охоти та овуляції у кобил. Тічка у кобил характеризується такими ж ознаками, як і в інших тварин, однак виражені вони значно гірше: спостерігається почервоніння, припухання та набряк зув'язи, почервоніння і зволоження слизової оболонки переддвер'я піхви, розслаблюється мускулатура шийки матки і незадовго до овуляції та під час неї рідкий прозорий слиз виділяється з шийки матки в піхву та назовні

Статеве збудження проявляється занепокоєнням та підвищенням реактивності тварин. Вона неспокійна, агресивна, різко реагує на оклик, інум та інші подразнення, не підпорядковується обслуговуючому персоналу. Охота, яка триває від 2 до 12 Діб, характеризується позитивною реакцією самки на самця — при його появі кобила переступає з ноги на ногу, вульва у неї ритмічно скорочується, із статевої щілини виділяється слиз, кобила під час статевого акту стоїть спокійно. За 24-36 год до закінчення охоти настає овуляція.

Розковану на задні кінцівки кобилу виведіть надвір, утримуючи за вуздечку, стежте за її реакцією на жеребця-пробника. Підведіть пробника на двох довгих поводках спочатку до голови кобили, і, якщо вона реагує на це спокійно — до паху і далі до крупа, встановіть ступінь охоти, ураховуючи такі ознаки: *охота першого ступеня (Ох₁)* — кобила обережно підпускає до себе жеребця-пробника, але при цьому непокоїться і не проявляє інших ознак охоти; *охота другого ступеня (Ох₂)* — кобила спокійно допускає до себе пробника, піднімає хвіст, мигає статевою щілиною; *охота третього ступеня (Ох₃)* — при наближенні жеребця кобила йде йому назустріч, піднімає хвіст, розставляє задні кінцівки, виділяє сечу; *охота четвертого ступеня (Ох₄)* — під час обнюхування пробником кобила притуляється до нього, піднімає хвіст і стоїть спокійно при спробах зробити садку (рефлекс нерухомості).

Відбій — при зустрічі з жеребцем кобила притискає вуха і б'є задніми ногами.

Проведіть ректальну діагностику дозрівання фолікула, звернувши при цьому увагу на форму, величину та щільність яєчника і констатує, залежно від цього, такі стадії дозрівання фолікула:

Ф₁ — початкова стадія розвитку фолікула, набрякання, збільшення та розм'якшення однієї частини яєчника — він набуває форми неправильного бобу;

Ф₂ — дозріваючий фолікул круглий, збільшений, флюктує при пальпації;

Ф₃ — яєчник грушоподібний; фолікул кулястий з м'яко-ільною флюктуацією;

Ф₄ — передовуляційна фаза — фолікул найбільш розвинений, його стінки

сильно стоншені, флюктуація туга, напружена; Ов — овуляція — спало напруження стінок фолікула; при обережній пальпації розмір фолікула зменшується, на місці його відчувається розм'якшення, рихлість, складчастість; Жт — жовте тіло — на місці фолікула, що овулював, утворилося жовте тіло в формі здавленої з боків кулі діаметром 2-4 см, м'якопружної консистенції. У жеребних кобил жовте тіло збільшується в діаметрі до 6-7 см.

У таблиці 2 наведено видові особливості статевого циклу у домашніх тварин.

Контрольні питання:

1. Які визнаєте феномени статевого циклу?
2. Що таке тічка, її фази?
3. Статева охота.
4. Дайте визначення овуляції.
5. Запліднення.

Таблиця 4

Видові особливості статевого циклу у домашніх тварин

Вид тварини	Час поновлення статевої циклічності післяродів	Тривалість			Час овуляції
		статевогоциклу	тічки	охоти	
Корова	На 21-28-му добу	18-22 доби	2-5 діб	3-36 год; розпочинається дещо пізніше тічки, закінчується раніше	Через 10-15 год після закінчення охоти
Вівця, коза	На 15-30-ту добу	14-19 діб	1-2 доби	Збігається із тічкою	Під кінець першої доби охоти
Свиня	На 2-5-ту добу після відлучення поросят; при доброму стан та належній годівлі — на 19-20-ту добу після опоросу	19-21 доба	1-6 (2-3) доби	У середньому 48 год	На 2-гу добу охоти
Кобила	На 7-12-ту добу	20-22 доби	4-20 діб	2—12 діб	На 3-тю добу охоти
Сука	Весною чи восени наступного сезону	3-5 міс	8-14 діб	На 9-13-ту добу від початку тічки, іноді на 1-3-тю добу	У кінці тічки
Кішка	Те саме	3-6 міс	9-10 діб	—	Те саме
Кролиця	На 1-2-гу добу	8-9 діб	3-5 діб	—	Через 16-24 год після коїтусу

ТЕМА 12

Організація штучного осіменіння с.-г. тварин.

Інструменти, що застосовуються для осіменіння тварин і методи підготовки їх до використання.

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: шприци-катетери, полістиролові піпетки, пластмасові двограмові шприци із з'єднуючими муфтами, поліетиленові ампули, гумові балончики, поліетиленові чи полістиролові катетери, поліетиленові та гумові акушерські рукавички, мікрошприци, шприци-напів-автомати, піхвові дзеркала різних розмірів, освітлювачі до піхвових дзеркал, підставки для інструментів, пінцети анатомічні, ножиці, поліетиленовий прилад ПОС-5, скляний прилад для осіменіння свиней з гумовими трубками, універсальний Гермос-прилад, універсальний зонд УЗК-б і 30 мл, скляний 20-грамовий шприц, 70 %-ний спирт та ватні тампони, просочені 96 %-ним спиртом, 1 %-ний розчин бікарбонату натрію (чи 0,9 %-ний розчин хлористого натрію) у баночках № 1, 3 і 4, 7 %-ний розчин глюкози, 2-3 %-ний розчин двовуглекислої соди (чи 1-1,5 %-ний кальцінованої соди), стерильні марлеві серветки, рушники, спиртівки, електроплитка, стерилізатори, емальовані тази.

Вивчіть інструменти, які застосовують при осіменінні корів, і підготуйте їх до застосування. *Шприц-катетер для осіменіння корів* складається з градуйованого циліндра місткістю 4 мл, притертого до нього скляного поршня, катетера завдовжки 39-40 см з трохи відігнутих кінцем. Простерилізуйте шприци одним з нижчезазначених способів.

Знезаражування кип'ятінням. Візьміть кожний шприц-катетер, вийміть із нього поршень, загорніть циліндр марлею і нею ж прикріпіть до нього поршень й помістіть у стерилізатор, на дно якого покладіть шар вати, чи марлі; залийте стерилізатор на 2/3 теплою дистильованою чи перевареною водою, накрийте кришкою і поставте на джерело вогню. Кип'ятіть 15-20 хв (із моменту закипання води), охолодіть, не знімаючи кришки.

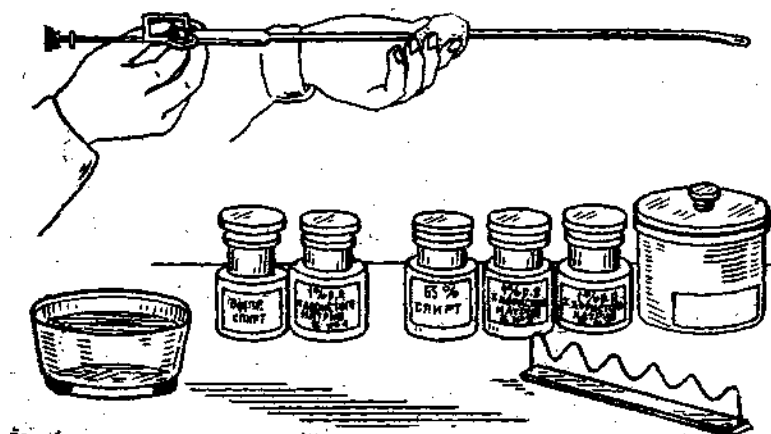
Вийміть стерильним пінцетом шприци й розкладіть їх на кришці стерилізатора і накрийте стерильною марлевою серветкою.

Візьміть по черзі стерильним пінцетом шприци-катетери і вставте у них поршні. Опустивши шприц переднім кінцем униз, багаторазовими рухами поршня видаліть із нього воду. Для видалення залишків води канал шприца промийте 5-6 разів стерильним 1 %-ним розчином бікарбонату натрію.

Знезаражування сухим жаром. Помістіть шприц-катетер у розібраному вигляді у сушильну електричну шафу, в якій доведіть температуру до 160-180°C. Через 45 хв виключіть шафу і після остигання її вийміть шприц-катетер та складіть його.

Знезаражування 70 %-ним спиртом (рис.6). Спочатку охопіть спиртовий

тампоном канюлю шприца і круговими рухами протріть її. Доведіть тампон до середини катетера.



14. Обробка шприца-катетера спиртовим тампоном

Рис. 6. Обробка шприца-катетера спиртовим тампоном

Другим тампоном протріть решту катетера, а за потребою — і циліндр шприца. Наберіть у шприц 70 %-ний спирт із баночки №2 і, промивши ним внутрішню поверхню шприца-катетера, злийте його в банку для відпрацьованого спирту. Далі видаліть з шприца залишки спирту, промиваючи його 5-6 разів 2,9 %-ним розчином цитрату натрію з баночок № 3 і № 4, зливаючи кожен раз розчин у зливну чашку.

Піхвове дзеркало складається з ручок і гілок (лопатеї), з'єднаних рухомо. Його використовують для розкриття та освітлення зовнішніх статевих органів і піхви (дзеркальні поверхні його відбивають світло) та огляду їх.

Помийте дзеркало теплим 2-3 %-ним розчином соди, сполосніть теплою перевареною водою, витріть пропрасованим рушником і простерилізуйте кип'ятінням (15-20хв) у сушильній шафі (45 хв при 160-180°C), автоклавуванням (30 хв при 108-110°C) або жфламбуванням.

Для кращого освітлення статевих органів до внутрішнього боку піхвового дзеркала прикріплюють спеціальний: освітлювач, який складається з лампочки від кишенькового ліхтарика, її тримача з фіксуючим пристроєм, провода з клеммами та батарейки в спеціальному футлярі.

Комплект одноразових інструментів для моно-цервікального осіменіння корів складається з ампули, катетера та рукавички (рис. 7).

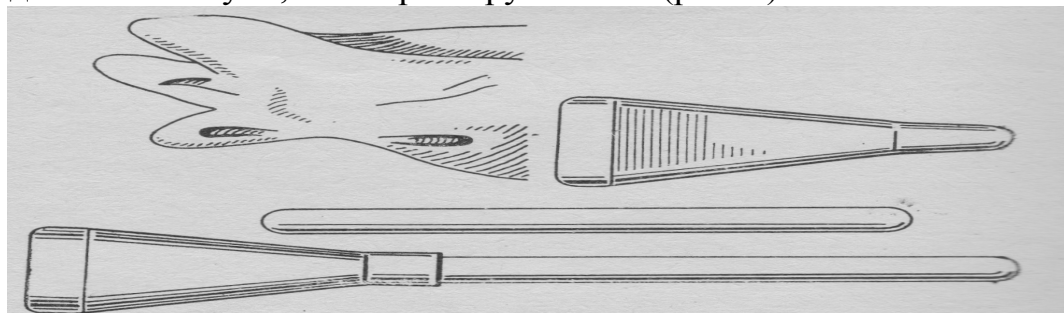


Рис. 7. Одноразові інструменти для моно-цервікального осіменіння корів

Подієтиленова ампула довжиною 18 мм виготовлена з нетоксичного для сперміїв поліетилену. Вона має формузрізаного конуса з шийкою та ковпачком. В ампулу поміщається 1,2 мл сперми. Отвір ковпачка після наповнення ампули спермою запаюють.

Полістироловий катетер довжиною 75 мм —це трубка з розплавленими кінцями, через яку у канал шийки матки вводять сперму з ампули.

Перед осіменінням дістають із термоса ампулу зі спермою, протирають її спиртовим тампоном, зрізають стерильними ножицями ковпачок ампули і з'єднують її з катетером. Для цього беруть пакетик з катетерами, протирають один кут його спиртовим тампоном, надрізають стерильними ножицями і, висунувши катетер на одну третину довжини, з'єднують його з шийкою ампули. Потім виймають катетер повністю, надрізану частину пакетика з катетерами запаюють над полум'ям спиртівки (сірника) чи, загорнувши кілька разів, закріплюють, канцелярською скріпкою. Поліетиленові рукавички довжиною 85 см виготовлені з плівки товщиною 30-40 Мк.

Разові пластмасові інструменти промисловість випускає стерильними в спеціальній упаковці. При порушенні цілісності упаковки інструменти стерилізують перед використанням, розклавши їх на столі одним шаром і включивши над ними на висоті 20-40 см бактеріцидні лампи БУВ-30 чи БУВ-15 на 60-80 хв.

Комплект одноразових пластмасових інструментів для цервікального осіменіння корів з ректальною фіксацією шийки матки (рис.8) складається з полістиролових піпеток довжиною 450 мм, зовнішнім діаметром 5, внутрішнім —1,8-2 мм; пластмасового двограмового шприца з з'єднуючою муфтою (поліетиленовою чи гумовою); поліетиленової ампули; гумового чи пластмасового балончика; поліетиленових чи акушерських гумових рукавичок.

Полістиролові піпетки одноразового користування надходять на пункти стерильними у закритих поліетиленових пакетах по 10-20 штук в кожному.

Якщо для введення сперми користуються скляними піпетками, їх миють і знезаражують на племпідприємстві і доставляють на пункт стерильними у спеціальній упаковці. Поліетиленові ампули-балончики, які надівають на кінці піпеток для набирання та виштовхування у шийку матки сперми, також випускають стерильними в поліетиленовій упаковці. Гумові балончики (з цією ж метою) миють звичайним способом і стерилізують кип'ятінням. Пластмасові двограмові шприци добре витримують кип'ятіння у воді та інші види стерилізації. Тому їх миють звичайним способом і стерилізують кип'ятінням. Перед осіменінням шприц з'єднують із одноразовою піпеткою (на зразок з'єднання поліетиленової ампули з катетером). Після кожного осіменіння полістиролові піпетки та одноразові рукавички знищують, а шприци обробляють ззовні спиртовим тампоном (сперма при набиранні в піпетку не потрапляє у шприц). У кінці дня шприци миють і стерилізують.

Вивчіть інструменти, що застосовують при осіменінні овець і кіз. Скляний мікрошприц складається з циліндра довжиною 8 см, місткістю 1 мл і катетера довжиною 22 см. Шприц-напівавтомат конструкції А. Н. Лихачова

сконструйований у вигляді пістолета, в рукоятці якого є дозуючий пристрій. При кожному натисканні на важіль (курок) рукоятки з шприца-напівавтомата виштовхується 0,05 мл сперми. Якщо необхідно ввести більшу дозу сперми, натискають

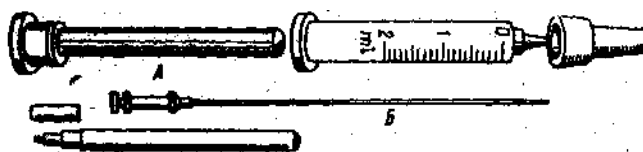


Рис. 8. Прилади для осіменіння корів з ректальною фіксацією шийки матки:

А – поліетиленовий сприц у розібраному вигляді; Б – полістирова піпетка;
В – скляна піпетка у металевій трубці

відповідну кількість разів.

Порядок обробки шприців та піхвових дзеркал такий же, як при штучному осіменінні корів.

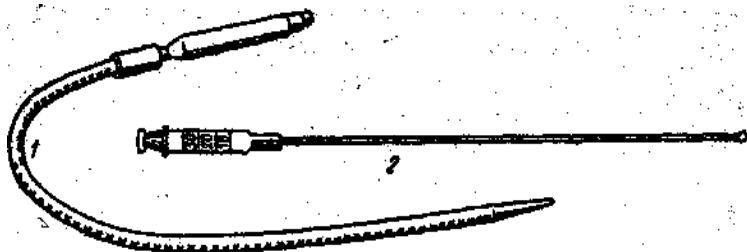
Вивчіть інструменти, що застосовують для осіменіння свиней і підготуйте їх до використання. *Поліетиленовий прилад ПОС-5*, Складається він з тонкостінного поліетиленового флакона місткістю 150-250 мл, нагвинчуваної на нього кришки і катетера з сполучною муфтою. Флакон приладу використовують для зберігання та транспортування сперми, а також для осіменіння свиноматок. При цьому на флакон замість кришки нагвинчують катетер.

Універсальний термос-прилад служить для осіменіння свиноматок та перенесення сперми в межах ферми. Прилад складається із трьох скляних градуйованих ампул місткістю по 100 або 250 мл (середня для наливання сперми, а дві бокові — для розріджувача), вмонтованих у дерев'яному футлярі з відкидною кришкою та оглядовим склом. До нижньої частини ампул приєднані гумові трубки (з металевими затискачами), які за допомогою скляних трійників та гумової трубки з'єднуються із зондом (катетером). Зонд (катетер) має вигляд двох металевих трубок, з'єднаних гвинтовою різьбою, з ручкою та гумовою головкою накінці. Відвертхніх кінців ампул відходять гумові трубки, які з'єднують ампули через трійник та повітряний фільтр з кулями Річардсона. В дерев'яному футлярі є також два металеві обігрівальні бачки, у які наливають гарячу воду для обігрівання термос-приладу та термометр для контролю температури.

Зверху на футлярі вмонтовані ручка та спиртівка. Влітку термос-прилад можна використовувати без футляра.

При осіменінні 1-2 свиноматок використовують ампули місткістю 100 мл — у них вміщується дві дози сперми (в одній ампулі) і дві порції розріджувача (у двох інших). Якщо осіменяють 3-5 і більше свиноматок, використовують ампули місткістю 250 мл.

Універсальний зонд УЗК-5 складається з власне зонда, закріплених на ньому двох флаконів (для сперми та розріджувача) з механізмом для регулювання роздільного введення сперми, розріджувача та повітря у матку



свині, фільтра і куль Річардсона.

Для захисту флаконів від охолодження під час осіменіння прилад обладнаний спеціальним прозорим ковпаком, у якому є невелика електрогрілка.

До універсального зонда додають термос-футляр, у якому міститься п'ять флаконів зі спермою і 10 — з розріджувачем. Футляр обладнаний електрообігрівом.

Універсальний зонд-катетер УЗК-6 складається із прозорої пластмасової трубки (довжиною 40 см з гумовою головкою до 20 мм у діаметрі), в якій міститься об'єм першої фракції— розрідженої сперми —50 мл. До гумової ручки зонда за допомогою прямого з'єднуючого наконечника приєднують спеціальний гофрований флакон для розріджувача. При стисканні гофрованого флакона розріджувач через гумову ручку надходить у зонд, і, зустрівши на своєму шляху поршень, проштовхує його вперед разом з першою фракцією (розрідженою спермою); проштовхнувши першу фракцію та дійшовши до кінця зонда, поршень пропускає навколо себе другу фракцію.

Вивчіть інструменти, що застосовують при осіменінні кобил. М'який еластичний гумовий катетер І. І. Іванова — це товстостінна гумова трубка з діаметром каналу 1,5-2 мм. Один кінець катетера звужений, а на другому є виступ у вигляді кільця з розширеним каналом, який під час осіменіння з'єднують з канюлею шприца чи ампули.

Скляний 20-грамовий шприц складається з циліндра та поршня. У нього входить одна мінімальна доза сперми; для введення повної дози (40 мл) сперму набирають у шприц двічі.

Скляний чи ебонітовий катетери являють собою трубку з невеликим потовщенням на одному кінці (головка) і розширенням на другому. Перед осіменінням катетер з'єднують за допомогою гумової муфти з шприцом (рис. 9).

Скляну ампулу довжиною 17 см і діаметром близько 18 мм місткістю 30 мл з отворами з обох кінців використовують для зберігання (та транспортування) сперми й для осіменіння кобил. Один кінець ампули тупий, другий — витягнутий у вигляді канюлі. Перед осіменінням з обох кінців ампули знімають ковпачки, а на вузький

Рис. 9. Прилад для осіменіння кобил:

1 —гумовий катетор з ампулою; 2 — твердий ебонітовий катетор кінець надівають гумову трубку, з'єднують з гумовим балоном.

Ознайомтеся з інструкцією по організації й технології роботи племпідприємств. При цьому зверніть увагу, що вся діяльність племоб'єднання регламентується інструкцією, її окремими розділами. Ознайомтеся з основними документами обліку та звітності, які ведуть у племпідприємстві.

1. Журнал обліку використання плідників та показники спермопродукції (форма 1), що ведуть окремо на кожного плідника. В журналі записують: а) загальні дані про плідника; б) результати його використання (підсумовують у кінці кожного року); в) дані про годівлю та режим утримання (помісячно за кожний рік використання); г) показники якості сперми плідника та результати його використання за кожний місяць (сумарно) протягом використання плідника.

2. Лабораторний журнал обліку якості сперми плідника за період його використання (з додатком відомостей на відправлення сперми у господарства зони; форма 2). У журнал заносять дані про кожний еякулят (незалежно від його якості), скільки з одержаної сперми використано для розрідження, скільки виготовлено розрідженої сперми та яке виживання у ній сперміїв протягом використання, У додатку реєструють дані про виконання заявок господарств на постачання сперми.

3. Ордер на відправлення сперми (форма 3)—заповнюють у двох примірниках, які направляють на пункти разом із спермою. Тут зазначають відомості про плідника, час одержання сперми, її якість, куди і в якій кількості її відправляють, кількість сперми й рекомендовану дозу осіменіння по періодах зберігання. На зворотному боці ордера на пункті реєструють усіх маток, осіменених даною спермою. Після використання сперми на пункті один примірник ордера повертають на племпідприємство.

4. Графік завезення сперми плідника на пункти штучного осіменіння (форма 4)—цемаршрутний лист, у якому зазначають назви пунктів даного маршруту і сперму яких плідників (індивідуальний номер, номер ордера) та в якій кількості доставлено на пункти (згідно із графіком і фактично); тут уточнюють заявку сперми на наступний рейс.

5. Відомість обліку використання плідників на плем- підприємстві (форма 5) в кожному господарстві. У ній відмічають кількість осіменених самок по днях зберігання сперми (згідно з зареєстрованими в ордерах, що надійшли з пунктів) та витрати сперми на осіменіння.

6. Зведена відомість обліку штучного осіменіння маток за запліднювальною здатністю сперми плідника від першого осіменіння (форма 6). Складають її на кожного плідника у кінці року по кожному господарству. У ній підсумовують кількість маток, осіменених вперше та повторної визначають процент запліднення від першого осіменіння.

7. Акт ректального дослідження на тільність з додаванням списку корів і телиць, яких досліджували ректально за результатами штучного осіменіння (форма 8). Складають його комісійно — головний (старший) зоотехнік чи лікар ветеринарної медицини господарства, завідуючий фермою та технік штучного осіменіння у присутності представника племпідприємства. У списку реєструють усіх досліджуваних тварин із зазначенням дати останнього отелення, кількості осіменінь, дати останнього осіменіння, результатів ректального дослідження та тривалості сервісперіоду. В акті подають сумарно

по групах тварин, закріплених за одним працівником, кількість досліджених тварин та результатів їх досліджень. У кінці акту наводять список неплідних тварин, у якому вказують причини неплідності та дають рекомендації щодо дальшого використання тварин.

8. Результати перевірки заплідненості корів та телиць при штучному осіменінні спермою плідників, які належать племпідприємству (форма 9). Складають представники комісії у кінці року на підставі записів журналу штучного осіменіння великої; рогатої худоби та книги обліку осіменінь і отелень.

9. Ветеринарний паспорт плідника (форма 13), в. якому наводять загальні дані про плідника й роблять помітки про диспансеризацію, результати лабораторних та ветеринарних досліджень, відмічають усі випадки захворювань, карантинування, ізоляції, вакцинації і т. п. Виробничий паспорт (форма 16) містить загальні дані про племпідприємство та зону його обслуговування (кількість господарств, наявність поголів'я у них, результати осіменіння по роках), наявність та характеристику плідників, комплектування складу плідників, результати їх використання, економічні показники роботи племпідприємства, кваліфікація і стаж техніків, наявність та стан пунктів і т. п.

10. Договори на проведення штучного осіменіння сільськогосподарських тварин, які племпідприємство щорічно укладає з господарствами своєї зони. В договорі зазначено, які обов'язки беруть на себе племпідприємство (організувати в господарстві штучне осіменіння, забезпечити доставлення необхідної кількості сперми, надавати допомогу в проведенні штучного осіменіння, здійснювати контроль за веденням племінної роботи і т. п.) і господарство (підготувати та обладнати відповідне приміщення під пункт, придбати інструменти, матеріали та реактиви, виділити необхідну кількість працівників для роботи на пунктах, своєчасно одержувати сперму, здійснювати заходи щодо боротьби з яловістю, вести необхідний облік і т. п.). Встановлюють порядок розрахунків із племпідприємством.

Ознайомтесь з іншою документацією племпідприємства. Ознайомтесь з інструкціями по штучному осіменінню корів і телиць, овець, свиней, кобил та основними формами обліку й звітності, які ведуть у племпідприємствах (облікова картка осіменінь та отелень корови — форма 12-шо; календарний план осіменіння — форма 14-шо; заявка на сперму — форма 15-шо; книга обліку осіменінь та отелень — форма 3-мол, звіти про штучне осіменіння, календар техніка штучного осіменіння, копії, ордерів на відправку сперми — форма 3-шо і т. п.

Ознайомтесь з календарем техніка-осіменатора та стендом стану відтворення. Настінний календар техніка являє собою планшет із клейонки, брезенту, полотна, фанери чи щільного картону розміром 100x55 см, на якому є 32 кишеньки послідовно пронумеровані (розміром 12x12).

Щоденно в кінці роботи технік, довідавшись, які корови отелилися за добу, виймає їх картки з картотеки, робить у них від повідні записи і

поміщає їх у кишеньку календаря, яка відповідає охоти (через 18 днів після отелення). Наприклад, корови №415, 300 та 510 отелилися 5 січня. Зробивши в їх картках записи, ці картки слід помістити у кишеньку №23. Прийшовши 23 січня на роботу, необхідно оглянути цих корів, перевірити і при наявності у них охоти, відвести на пункт для осіменіння. Якщо 23 січня у корови не виявлено охоти, її картку перекладають у наступну кишеньку (24) і т. д., поки не з'явиться у корови охота й вона не буде осіменена. Якщо протягом 10 днів у корови не настане охота, її картку перекладають у кишеньку «Лікарю ветеринарної медицини». У цю кишеньку також поміщають картки корів із гінекологічними хворобами.

Лікар ветеринарної медицини, проводячи післяродову акушерську та гінекологічну диспансеризацію корів, повинен також не рідше одного разу на тиждень перевіряти роботу племвідділення, записувати номери тварин, картки яких знаходяться у кишеньці «Для ветеринарної медицини», оглядати їх; встановлювати діагноз і проводити відповідне лікування.

Робота з календарем дає змогу контролювати поновлення відтворної здатності в корів у післяродовий період і підвищити ефективність осіменіння.

Можна користуватися також удосконаленим календарем технік, виготовленим у вигляді дерев'яного чи пластмасового щита висотою 70 см і шириною 80 см, на якому є горизонтальні пази, у яких вільно переміщаються по горизонталі три ряди шухлядок (по сім у кожному). В четвертому нижньому ряду змонтовано картотеку, розділену на 15 гнізд — 12 на кожний місяць року, 13-те — для карток лікаря ветеринарної медицини, 14-те — для карток корів, що підлягають вибракуванню і 15-те—контрольне гніздо. Поверхню, щита, яку займає сьома шухлядка у першому ряду, вісімнадцята — у третьому ряду і остання — у нижньому, фарбують у червоний колір. Шухлядки, що займають у даний день ці місця, є сигнальними. Щоденно передпочатком роботи технік пересуває шухлядки вправо на одне місце, внаслідок чого остання першого ряду переноситься на перше місце другого ряду, остання другого ряду — на перше місце третього, а остання шухлядка третього ряду—на перше місце першого ряду. На ній пишуть дату даного дня. У цю шухлядку технік поміщає картки корів, які отелилися сьогодні чи яких осіменяли.

У шухлядці, що виявилася на зафарбованому в червоний колір полі (18), є картки двох сортів: тих корів, які отелилися 18 днів тому, і тих, яких осіменяли 60 днів тому. Першу групу карток технік перекладає у праве крайнє гніздо нижнього ряду, попередньо відмітивши на полях картки олівцем дату, коли їх необхідно перекласти через 10 днів у сьому шухлядку. Протягом цих днів він щоденно спостерігає за появою охоти в цих тварин. Після цього картки тих корів, у яких не з'явилася охота, технік перекладає у сьому шухлядку. Якщо протягом 28 днів після отелення у корів не настала охота, їх картки перекладають у гніздо з написом «Для лікаря ветеринарної медицини».

Друга група карток шухлядки №18 — це картки корів, яких осіменили 60 днів тому. Вони підлягають ректальній перевірці на вагітність. Можна вийняти із сьомої шухлядки корів, осіменених 49 днів тому, і також перевірити. У тих

корів, які ректально досліджені й встановлена вагітність, за допомогою календаря визначають дату очікуваного отелення, а їх картки поміщають у відповідне гніздо картотеки й роблять помітку у журналі штучного осіменіння про дату очікуваного отелення.

На фермах облік роботи щодо відтворення поголів'я можна також вести у вигляді відповідного стенду—фанерного щита, на якому зліва у першій колонці проставляють прізвища доярок. Решту площі розділяють на маленькі квадрати з таким розрахунком, щоб їх кількість проти прізвища кожної доярки відповідала кількості закріплених за нею корів. У кожному квадраті пишуть номер корови і забивають гвіздок для кольорової бирки, наприклад зеленої, якщо корова отелилася, але ще не осіменена, синьої— якщо вона осіменена, але ще не перевірена ректально, червоної — якщо неплідна, жовтої — якщо корова тільна.

Подібну форму має календар-інформація техніка по штучному осіменінню з обліком фізіологічного стану корів та телиць. Однак жетони тут прямокутні з шістьма отворами для їх закріплення у горизонтальному, вертикальному та кутовому положенні. Один бік жетонів фарбують у зелений колір (нормальний фізіологічний стан), інші — у червоний (порушення відтворної функції). Зелені жетони вішають горизонтально на номери тих корів, які знаходяться у післяродовому періоді до 30 днів після отелення, у кутовому правому положенні на номери корів, осіменених один раз, кутовому лівому — осіменених повторно, вертикальному положенні — на номери тільних корів. Червоні жетони вішають горизонтально, якщо корова неплідна понад 90 днів, у кутовому правому положенні — осіменена більше трьох разів, кутовому лівому — не осіменена від 30 до 90 днів після отелення, вертикально — корова підлягає вибракуванню у зв'язку із складними порушеннями відтворної здатності.

Положення жетонів змінюють щоденно. На 1-е і 15-те число кожного місяця у нижній частині стенду відмічають, скільки корів перебувають у післяродовому стані до 30 днів після отелення, скільки осіменено вперше після отелення, осіменених повторно, осіменених більше трьох разів, неосіменених до 90 днів після отелення, тільних, неплідних понад 90 днів, вибракуваних.]

Контрольні питання:

1. Які інструменти застосовують для ведення сперми коровам, вівцям, свиням, кобилам?
2. Способи миття і знезараження цих інструментів.
3. Як проводиться організація обліку використання плідників на племпідприємствах?
4. Які форми обліку осіменіння самок на пунктах штучного осіменіння і контролю відтворення корів на фермах.

Технологія штучного осіменіння корів і телиць.

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Шприци–катетери, полістиролові піпетки, пластмасові шприци (2 мл) із з'єднувальними муфтами, поліетиленові ампули, скляні шприци (20 мл), гумові балончики, поліетиленові чи полістиролові катетери, поліетиленові та гумові акушерські рукавиці, мікро шприци, шприци – напівавтомати, піхвові дзеркала різних розмірів, освітлювачі до піхвових дзеркал, підставки до інструментів, пінцети анатомічні, ножиці, поліетиленовий прилад ПОС–5, скляний прилад для осіменіння свиней з гумовими трубками, універсальний термос-прилад, УЗК-5, 70% спирт, ватні тампони, просочені 96% спиртом, 1% розчин натрію бікарбонату (чи 0,9% натрію хлориду) у баночках № 1, 3, 4; 7% розчин глюкози, 2-3% розчин двовуглекислої соди (чи 1-1,5% кальцинованої соди), стерильні марлеві серветки, рушники, спиртівки, електроплитка, стерилізатори, емальовані тази.

Попередні зауваження. За всіх способів осіменіння сільськогосподарських тварин слід дотримувати таких правил:

- осіменяти самок лише при наявності у них ознак тічки й охоти та обов'язково до овуляції;
- чітко виконувати вимоги асептики й антисептики, запобігати забрудненню сперми та занесенню інфекції у статеві шляхи сільськогосподарських тварин;
- сільськогосподарських тварину, яку осіменяють, потрібно надійно зафіксувати у станку;
- перед осіменінням треба добре обмити зовнішні статеві органи самки теплою водою з милом, зробити зрошення теплим розчином фурациліну (1:5000) і витерти насухо;
- технік з штучного осіменіння повинен працювати в чистому білому халаті та ковпаку;
- руки перед роботою він повинен вимити з милом і протерти тампоном, змоченим у спирті;
- осіменіння сільськогосподарських тварин проводити спокійно, без грубості, зайвого застосування сили чи нанесення ударів тварині;
- застосовувані інструменти не повинні бути холодними чи гарячими;
- після закінчення роботи помити і простерилізувати інструменти й продезінфікувати станок.

Успіх осіменіння залежить від правильного вибору часу його проведення, якості та кількості введеної сперми, способу і місця її введення, додержання ветеринарно-санітарних правил під час роботи і, нарешті, від фізіологічного стану статевих органів самки.

Корів і телиць осіменяють, як правило, двічі за одну охоту: перший раз – відразу після виявлення у них охоти, другий (при наявності охоти) – через 10-12 год. Якщо охота триває і далі, корів осіменяють через кожні 10-12 год аж до

її закінчення. Дозволяється осіменяти сільськогосподарських тварин одноразово в кінці охоти у випадках, коли технік володіє методикою ректального визначення ступеня зрілості фолікула або коли охоту в корів виявлено за допомогою бугая-пробника. Виявивши охоту у корови, її слід осіменити, а тоді вже доїти, а не навпаки.

Дозволяється використовувати для осіменіння сперму бугая, яку зберігали при температурі 2-4°C та при кімнатній температурі до 3 діб і рухливість спермійів у якій оцінено не менш як 7 балами. Заморожену сперму можна використовувати при рухливості спермійів після розморожування не нижче 4 балів і, як виняток, сперму видатних бугаїв-плідників при рухливості спермійів після розморожування не нижче 3 балів. У дозі сперми на одне осіменіння має бути не менше 15 млн активних спермійів.

Овець у стані охоти виявляють за допомогою баранів-пробників. Пробу проводять раз або два рази за добу протягом усього періоду штучного осіменіння. Осіменяють овець свіжовзятою нерозрідженою або розрідженою і збереженою спермою.

Допускається використання сперми з рухливістю спермійів не нижче 8 балів при концентрації їх (до розрідження) не менше 1 млрд в 1 мл. Доза нерозрідженої сперми на одне осіменіння 0,08-0,1 мл, розрідженої 0,1-0,15-0,2 мл із вмістом у ній 80 млн активних спермійів.

Овець, виявлених в охоті вранці, осіменяють негайно і ще раз через 24 год (якщо охота у них триває).

Інструменти для осіменіння корів і телиць. *Шприц-катетер для осіменіння корів складається* з градуйованого циліндра місткістю 4 мл, притертого до нього скляного поршня, катетера завдовжки 39–40 см з трохи зігнутих кінцем. Стерилізують шприц кип'ятінням або одним із зазначених нижче способів.

Знезараження сухим жаром. Вміщують шприц-катетер у розібраному вигляді в сушильну електричну шафу, в якій доводять температуру до 160-180°C. Через 45 хв шафу вимикають і після остигання виймають шприц-катетер та складають його.

Знезараження 70%-м спиртом. Спочатку охоплюють спиртовим тампоном канюлюшприца і круговими рухами протирають її, доводячи тампон до середини катетера. Другим тампоном протирають решту катетера, а за потребою – і циліндр шприца. Набирають у шприц 70 %-й спиртовий розчин із баночки № 2 і, промивши ним внутрішню поверхню шприца, зливають його в банку для відпрацьованого спирту.

Видаляють із шприца залишки спирту, промиваючи його 5-6 разів 2,9%-м розчином натрію цитрату з баночок № 3 і № 4 і зливаючи щоразу розчин у чашку.

Піхвове дзеркало складається з ручок і гілок (лопатеї), з'єднаних рухомо. Його використовують для розкриття та освітлення зовнішніх статевих органів і піхви (дзеркальні поверхні його відбивають світло) та їх огляду. Перед використанням дзеркало треба помити теплим 2-3%-м розчином двовуглекислої соди, сполоснути теплою перевареною водою, витерти пропрасованим

рушником і простерилізувати кип'ятінням (15-20 хв), у сушильній шафі (45 хв при 160-180°C), автоклавуванням (30 хв при 108-110°C) або фламбуванням.

Для кращого освітлення статевих органів до внутрішнього боку піхвового дзеркала прикріплюють спеціальний освітлювач, який складається з лампи від кишенькового ліхтарика, її тримача з фіксуючим пристроєм, дроту з клемми та батарейки у спеціальному футлярі.

Комплект одноразових інструментів для мануцервікального осіменіння корів складається з ампули, катетера й рукавиці. Ампула завдовжки 18мм виготовлена з не токсичного для сперміїв поліетилену. Вона має форму зрізаного конуса з шийкою та ковпачком. Ампула вміщує 1,2 мл сперми. Отвір ковпачка після наповнення ампули спермою запаюють.

Полістироловий катетер завдовжки 75 мм –це трубка з оплавленими кінцями, через яку у канал шийки матки вводять сперму з ампули.

Поліетиленові рукавиці, довжина яких становить 85 см, виготовлені з плівки 30-40 мк завтовшки.

Разові пластмасові інструменти промисловість випускає стерильними у спеціальній упаковці. При порушенні цілісності упаковки інструменти перед використанням стерилізують, розклавши їх на столі одним шаром і увімкнувши над ними на висоті 20-40 см бактеріцидні лампи БУВ-30 чи БУВ-15 на 60-80хв.

Комплект одноразових пластмасових інструментів для цервікального осіменіння корів з ректальною фіксацією шийки матки складається з полістиролових піпеток довжиною 450 мм зовнішнім діаметром 5, внутрішнім – 1,8-2 мм; пластмасового шприця (2 мл) із з'єднувальною муфтою (поліетиленовою чи гумовою); поліетиленової ампули; гумового чи пластмасового балончика (кульки); поліетиленових або акушерських гумових рукавичок.

Полістиролові піпетки одноразового користування надходять на пункти стерильними у закритих поліетиленових пакетах по 10-20 штук у кожному. Якщо при осіменінні корів сперму вводять скляними піпетками, їх миють і знезаражують на племпідприємстві і доставляють на пункт стерильними у спеціальній упаковці.

Поліетиленові ампули-кульки, які надівають на кінці піпеток для набирання та виштовхування у шийку матки сперми, випускають стерильними в поліетиленовій упаковці, а гумові кульки (з цією ж метою) треба мити звичайним способом і стерилізувати кип'ятінням.

Пластмасові шприци (2 мл) добре витримують кип'ятіння у воді та інші види стерилізації. Тому їх миють звичайним способом і стерилізують кип'ятінням. Перед осіменінням шприц з'єднують з одноразовою піпеткою (на зразок з'єднання поліетиленової ампули з катетером). Після кожного осіменіння полістиролові піпетки й одноразові рукавички знищують, а шприци обробляють ззовні спиртовим тампоном (сперма при набиранні в піпетку не потрапляє у шприц). У кінці дня шприци миють і стерилізують.

Підготовка до осіменіння. Фіксують корову у станку, добре обмивають її зовнішні статеві органи чистою теплою водою з милом, зрошують їх теплим розчином фурациліну і витирають насухо ватним тампоном.

На робочому столі техніка розставляють мікроскоп у дерев'яному термостаті, бактеріологічні чашки з чистими предметними та накривними скельцями, чотири пронумеровані баночки з притертими корками, баночку із стерильними марлевими серветками, тампонницю зі спиртовими тампонами, товстостінну чашку для відпрацьованих розчинів, металеву підставку з розміщеними на ній шприцом-катетером, пінцетом, скляною паличкою, хімічним термометром, піхвовим дзеркалом з освітлювачем. Наливають у баночки № 1, 3 і 4 свіжоприготовлений стерильний 2,9 %-й розчин натрію цитрату або 0,9 %-й розчин натрію хлориду. Баночку № 2 наповнюють 70 %-м спиртом. З посудини Дьюара беруть гранулу чи пайєту замороженої сперми, розморожують її і оцінюють рухливість сперміїв або виймають із термоса флакон із спермою, перевертають його кілька разів для рівномірного розподілу сперміїв і перевіряють їх рухливість під мікроскопом при температурі 40°C.

Осіменіння корови з використанням шприца-катетера (візоцервікальне). Беруть стерильний шприц-катетер, простерилізований кип'ятінням чи заповнений спиртом, і видаляють з нього спирт. Потім набирають у нього теплого (38-40°C) розчину з баночки № 3 і виливають його в чашку-полоскальницю, видаливши таким чином рештки спирту. Так повторюють 3-4 рази спочатку з баночки № 3, а потім № 4. Далі стерильною марлевою серветкою обхоплюють канюлю шприца і рухом поршня видаляють залишки розчину. Набирають у підготовлений таким чином шприц-катетер одну дозу сперми, перевіреної на активність сперміїв. Для цього занурюють кінець катетера у флакон зі спермою і, повільно відтягуючи поршень вгору, втягують її у шприц до мітки 1. Потім повертають шприц катетером догори і рухом поршня вниз збирають сперму в циліндр шприца. Не змінюючи положення шприца, рухом поршня вгору витісняють повітря із циліндра й катетера до появи на кінці останнього краплі сперми. Вміщують цю краплю на предметне скло, кладуть на стерильну підставку наповнений шприц, а сперму розглядають під мікроскопом, визначаючи, чи не знизилася рухливість сперміїв.

Беруть у ліву руку чисте піхвове дзеркало, простерилізоване кип'ятінням (або в сушильній шафі чи автоклаві) або фламбуванням. У останньому випадку беруть пінцетом спиртовий ватний тампон, запалюють його і полум'ям обпалюють спочатку зовнішню, а потім внутрішню поверхні дзеркала. Торкаючись тильним боком вказівного пальця до внутрішнього боку (увігнутого) розкритого дзеркала, перевіряють ступінь його нагрівання. Найкраще заздалегідь підготовлене дзеркало помістити у спеціальний термостат з температурою 30-40°C.

До верхньої гілки дзеркала прикріплюють освітлювач (протертий спиртовим тампоном), а батарейку з футляром кладуть у верхню кишеню халата. Взявши дзеркало й шприц-катетер зі спермою, виходять у манеж. Шприц-катетер кладуть на стерильну підставку (на столику біля станка), а дзеркало зволожують теплим 1 %-м розчином двовуглекислого чи хлористого натрію і перекладають у праву руку. Пальцями лівої руки розкривають статеві губи самки і обережно вводять дзеркало у піхву, спрямовуючи його спочатку трохи вгору, а потім вперед до упору. Під час введення дзеркала лопаті його мають бути закриті, а ручки повернуті в один бік. Увівши дзеркало, повертають його ручками донизу, обережно розкривають його лопаті і, легко переміщуючи його, відшуковують шийку матки. Уважно оглядають слизову оболонку піхви і шийку матки. Якщо вони в нормальному стані (немає гною, висипів, крові

тощо) й ознаки тічки чітко виражені, перекладають ручки дзеркала в ліву руку, а правою беруть із підставки шприц-катетер і вводять його через розкрите дзеркало в піхву. Знаходять отвір шийки матки і вводять у нього катетер на глибину 4-6 см, обережно розсовуючи його кінцем поперечні складки слизової оболонки. Відтягують дзеркало трохи назад і, обережно натискаючи на поршень, вводять у канал шийки матки дозу сперми.

Виймають з піхви шприц-катетер, повертають дзеркало ручками вбік, стуляють трохи його лопаті, не допускаючи защемлення слизової оболонки і обережно виймають із піхви у складеному вигляді.

При використанні дзеркала Овчинникова після введення шприца-катетера у канал шийки матки його трохи притискають до верхнього склепіння піхви. Притримуючи шприц-катетер рукою, обережно виймають дзеркало, повертаючи його зрізаною поверхнею до шприца – катетера. Через 20–30 с після того, як сільськогосподарських тварина заспокоїться, повільно натискаючи на поршень, вводять сперму у канал шийки матки. Якщо катетер не вдається ввести в шийку матки, випорскують подвійну дозу сперми на шийку матки (епіцервікальне осіменіння).

Якщо корова під час осіменіння сильно випинається, вигинає спину, то радять помічникові зібрати її шкіру в ділянці холки у складку.

Після осіменіння шприц-катетер протираючи спочатку сухим, а потім спиртовим тампонами. Відмивають 5-6 разів внутрішню поверхню шприца від сперми 2,9 %-м розчином натрію цитрату з баночки № 1, стерилізують 70 %-м спиртом із баночки № 2 і відмивають його від залишків спирту з баночки №3і4. Після осіменіння усіх корів заповнюють відмитий від залишків сперми шприц-катетер (як вказано вище) 70 %-м спиртом і кладуть у шафу на зберігання до наступного дня. Піхове дзеркало після осіменіння корови обмивають спочатку теплою проточною водою, потім ретельно миють гарячим (60°C) 2-3%-м розчином двовуглекислої соди, споліскують перевареною водою, витирають насухо чистим рушником і стерилізують кип'ятінням чи фламбуванням.

При осіменінні телиць користуються піхвовим дзеркалом менших розмірів.

При візоцервікальному способі осіменіння в піхву коровам і телицям вводять стерильне тепле, зволене теплим стерильним фізіологічним розчином, піхове дзеркало з освітлювачем, а потім вводять сперму в шийку матки за допомогою скляного шприц-катетера, пайетовводжувача або металевого подовжувача (залежно від форми зберігання сперми). Для корів використовують піхове дзеркало більшого, а для телиць меншого розміру. Піхове дзеркало зрошують теплим (38-40°C) 0,9%-вим розчином натрію хлориду або 2,9%-вим розчином натрію цитрату і, взявши шприц - катетер із спермою, йдуть до сільськогосподарських тварини, у якої оброблені зовнішні статеві органи. Тримаючи шприц вказівним і середнім пальцями вверх і назад, технік пальцем розкриває статеві губи і, тримаючи розведені ручки піхвового дзеркала вбік, вводить його бранші у піхву. Потім дзеркало повертають ручками вниз, натискаючи на них, розкривають бранші. Відшукавши шийку матки, вводять в неї кінець шприца на глибину 3-4 см і повертають її кінець вниз. Коли корова заспокоїться, злегка натискаючи на поршень шприца повільно вводять сперму, відтягуючи катетер. Після введення обережно виймають шприц-катетер, а потім піхове дзеркало, поступово відпускаючи його ручки (для зближення бранш) і повертаючи їх вбік. Бранші дзеркала слід

змикати не повністю, щоб не затискувати слизову оболонку піхви. При використанні піхвового дзеркала з поздовжнім вирізом верхньої бранші, катетер інструмента зі спермодозою вводять таким же чином, а потім катетер притискають до верхньої стінки піхви, і притримуючи шприц другою рукою, обережно виймають дзеркало з піхви. Як тільки сільськогосподарських тварина заспокоїться, обережно вводять сперму в шийку матки і виймають катетер зі статевих шляхів.

При осіменінні кількох корів спермою одного бугая зовнішню поверхню катетера після кожної сільськогосподарських тварини витирають стерильною серветкою, а потім дезинфікують спиртовими тампонами. Для цього, тримаючи шприц-катетер горизонтально канюлею вниз, старанно коловими рухами спиртовим тампоном витирають канюлю, просовуючи тампон до середини катетера. Останню частину катетера і циліндр шприца протирають іншим спиртовим тампоном. При осіменінні корів одним шприц-катетером спермою різних бугаїв, спочатку обробляють зовнішню поверхню шприца, як вказано вище, а потім 5-6 разів промивають від сперми внутрішню поверхню із банки № 1, дезинфікують спиртом із банки № 2, залишки спирту відмивають розчином із банок № 3 і № 4 по 3-4 рази.

Для осіменіння корів мано-цервікальним способом застосовують полімерні інструментиодноразового використання, які випускаються стерильними у спеціальнійупаковці. Проте перед початком роботи треба перевірити, чи не порушена цілісність упаковки катетерів та рукавиць. Якщо вона пошкоджена, то їх треба простерилізувати. Для цього розкладають піпетки-катетери й рукавиці на століодним шаром, вмикають над ними на 60-80 хв на висоті 20-40 см бактерицидні лампи БУВ-30 чи БУВ-15.

Виймають з посудини охолодженим корнцангом гранулу сперми, розморожують її, перевіряють рухливість сперміїв. Якщо вона відає вимогам, беруть пакет з ампулами, протирають спиртовим тампоном один його кут,надрізають його стерильними ножицями і, висунувши ковпачок ампули, зрізують його ножицями, виймають так само з іншого пакета катетер, надівають його на обрізаний кінець ампули.

Після цього виймають катетер повністю ізапаюють надрізаний кут мішечка над полум'ям спиртівки чи сірника або, загорнувши його кілька разів, затискають канцелярською скріпкою.

Набирають сперму у змонтований таким чином прилад (ампулу з катетером) і кладуть його на стерильну підставку. Надівши на руку стерильну поліетиленовурукавицю, зволожують її теплим розчином натрію хлориду і обережно вводять упіхву корови, у якої перед цим протерли тампоном, просоченимрозчином фурациліну, зовнішні статеві органи.

Техніка осіменіння. Знаходять шийку матки, визначають ступінь її розкриття і, якщо осіменіння доцільне, роблятьмасаж піхвової частини усімапальцями руки протягом 1 хв. Щоб краще розправити піхвові складки навколо шийки матки, захоплюють пальцемпіхвову частинуні підтягують у порожнину піхви. Якщо цього не вдається зробити через сильна напруження стінок піхви, то обережно захоплюють пальцем піхвову частину шийки матки за складку і легко підтягують її у порожнину піхви. Добившись скорочення

шийки матки, знімають пальцями слиз з її устя, трохи підтягують руку до виходу й другою рукою подають підготовлену для осіменіння ампулу з катетером. Затиснувши катетер між великим і вказівним пальцями, знову просувають руку вперед і під контролем вказівного пальця вводять катетер на глибину 1,5-2 см у цервікальний канал.

Погладжуючи піхвову частину шийки матки пальцями, підштовхують долонею ампулу доти, поки весь катетер (7 см) не увійде в канал шийки матки. Потім піднімають ампулу вгору на 2-3 см і, вловивши момент розслаблення шийки матки, стискають ампулу великим та вказівним пальцями спочатку скраю денця, а далі все нижче до шийки і витискають сперму у канал шийки матки. Не розтуляючи пальців, виймають катетер з каналу шийки матки і, поклавши інструмент на дно піхви, масажують ще раз шийку матки протягом 1-2 хв. Після цього обережно виймають руку з інструментом із піхви, знищують використані ампули, катетер і рукавицю.

Якщо немає поліетиленових ампул і катетерів для mano-цервікального осіменіння, можна користуватися одноразовою піпеткою 450 мм завдовжки, з'єднаною з двограмовим шприцом, поліетиленовою ампулою чи гумовою кулькою. Для осіменіння корів спермою в облицьованих гранулах використовують зоошприц.

Ректо-цервікальним методом (цервікальне осіменіння з ректальною фіксацією шийки матки) корів осіменяють за допомогою стерильних одноразових полістиролових чи скляних інструментів, фіксуючи шийку матки рукою через пряму кишку. Полістиролові інструменти для осіменіння корів випускаються стерильними, у закритих поліетиленових пакетах і при правильному зберіганні не потребують миття та стерилізації. Чисто вимитими й продезінфікованими руками беруть пакет з одноразовими піпетками, протирають один з його кутів спиртовим тампоном і надрізають стерильними ножицями настільки, щоб можна було вийняти лише одну піпетку (чи проривають його кінцем піпетки зсередини). Виймають піпетку на третину довжини, з'єднують її із стерильним шприцом за допомогою муфти чи з поліетиленовою кулькою, зрізавши перед тим ковпачок з її шийки. Виймають повністю піпетку і кладуть на стерильну підставку; зроблений у пакеті отвір запаюють над полум'ям спиртівки чи сірника (складають краї разом, затискають їх пінцетом і обережно нагрівають над полум'ям) або, загнучи кілька разів, затискають канцелярською скріпкою. Набирають у піпетку 1-1,2 мл сперми, опустивши кінець піпетки у флакон зі спермою. Якщо сперма зберігається в одноразових ампулах, то протирають одну з них спиртовим тампоном, зрізують шийку ампули стерильними ножицями і набирають сперму з неї в піпетку. Якщо сперма зберігається у замороженому стані в капілярах (пайетах), то для її введення користуються металевим катетером Кассу. Після розморожування пайети відрізають ножицями її корок, вміщують пайету в передню частину катетера, надівають зверху захисний чохол з поліпропілену, закріплюють фіксаційним кільцем.

Осіменіння корів. Готові для використання інструменти кладуть на стерильну підставку. На ліву руку надівають поліетиленову або гумову рукавицю, а в праву руку беруть наповнену спермою піпетку. Лівою рукою у підготовленої до осіменіння тварини розкривають соромітні губи, а правою вводять піпетку в піхву, не торкаючись зовнішніх статевих органів, і спрямовують її спочатку косо вгору на глибину 10-15 см, а потім горизонтально до упору в шийку матки і залишають її в такому положенні. Після цього зволожують рукавицю на руці 1 %-м розчином двовуглекислої соди чи мильною водою, вводять руку в пряму кишку і при потребі звільняють її від калових мас (відвівши піпетку трохи вбік або прикривши її паперовою серветкою).

Знаходять матку і визначають її стан. Промоцують піпетку в піхві і під контролем руки просувають її до шийки матки. Якщо кінець піпетки упреться у складку піхви, то, зміщуючи його рукою через пряму кишку в різні боки, поправляють положення піпетки або рукою, введеною у пряму кишку, підтягують шийку матки трохи вперед. Підвівши кінець піпетки до отвору шийки матки, досліджують матку, яєчники і, якщо можливо, яйцепроводи. При цьому звертають увагу на розмір та симетрію рогів, їх скоротливість і можливу флуктуацію. Супроводжують дослідження легким масажем матки. Досліджують, масажують і фіксують шийку матки, лише коли розслаблена пряма кишка.

Переконавшись, що тварина готова до осіменіння, фіксують рукою шийку матки і вводять у її канал піпетку одним з таких трьох способів: фіксують шийку матки між вказівним і середнім пальцями, а великим пальцем намацують отвір цервікального каналу й по ньому вводять у нього піпетку; фіксують піхвову частину шийки матки усією кистю руки і вводять піпетку у цервікальний канал під контролем мізинця; притискають шийку матки до дна таза і вводять піпетку в цервікальний канал під контролем долоні.

Після цього захоплюють шийку матки усією кистю руки і, легко повертаючи її навколо поздовжньої осі, просувають піпетку углиб каналу (на 6-8 см). Натиснувши на поршень шприца чи стиснувши ампулу-кульку і трохи відтягуючи одночасно піпетку назад, вводять сперму у цервікальний канал. Ампули не розтискають аж до виведення піпетки з каналу шийки матки. Обережно виймають піпетку з піхви, а руку – прямої кишки.

Використані одноразові піпетки та рукавиці знищують. Якщо під час осіменіння користувалися скляною піпеткою, то її слід протерти зовні спиртовим тампоном, помити й покласти в окрему трубку чи загорнути в пергаментний папір для подальшої обробки. Поліетиленові шприци та з'єднувальні муфти можна не міняти після осіменіння кожної корови, оскільки сперму набирають лише в піпетку; їх змінюють у міру забруднення.

Якщо неможливо застосувати зазначені способи осіменіння (немає відповідних інструментів чи навичок) можна застосувати так зване епіцервікальне (парацервікальне) осіменіння, яке передбачає введення подвійної дози сперми за допомогою шприца-катетера (без піхвового дзеркала),

у піхву в напрямку шийки матки.

Контрольні питання:

1. Техніка і правила осіменіння корів і телиць візоцервікальним, ректоцервікальним способами.
2. Техніка і правила осімення корів маноцервікальним способом.
3. Техніка і правила осіменіння телиць епіцервікальним способом.
4. Техніка і правила осіменіння корів і телиць спермою, яка зберігалась у пайєтах, облицьованих і необлицьованих гранулах.
5. Дози введення сперми при зберіганні в різних видах.
6. Строки і кратність осіменіння корів і телиць.
7. Інструменти та підготовка їх для проведення штучного осіменіння корів і телиць.

ТЕМА 14

Технологія осіменіння свиноматок

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: плакати, стенди, сільськогосподарські тварини в охоті. Розчини: 1-2% двовуглекислої соди, фурациліну 1:5000, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода, мікроскопи, обігрівальні столики, предметні та накривні скельця, скляні палички, ПОС-5, термос з флаконами.

Інструменти для осіменіння свиней. Поліетиленовий прилад ПОС-5 складається з тонкостінного поліетиленового флакона місткістю 150-250 мл, нагвинчуваного на нього ковпачка і катетера із з'єднувальною муфтою. Флакон приладу використовують для зберігання і транспортування сперми, а також для осіменіння свиноматок (при цьому на флакон замість ковпачка нагвинчують катетер).

Скляний прилад з гумовими трубками. Прилад складається з градуйованої скляної пляшки місткістю 250 мл, гумового корка з двома отворами, гумових трубок, фільтра для повітря, поліетиленового або м'якого гумового катетера Іванова і гумової груші, у дні якої є круглий отвір діаметром 1 мм.

Складають прилад так: пропускають одну з трубок (70см завдовжки) через отвір у корку майже до дна пляшки, закривши перед цим наглухо її кінець шматочком скляної палички, а на 1 см вище від неї бритвою чи гострим ножом роблять поздовжній щілиноподібний розріз довжиною 1 см для нагнітання повітря. До зовнішнього кінця цієї трубки приєднують фільтр, а до нього – гумову грушу чи кульки Річардсона.

Ампульний прилад використовують для осіменіння свиней фракційним методом. Він складається з двох ампул місткістю по 100 мл кожна (одна – для

сперми, друга – для розріджувача-заповнювача), вмонтованих на дерев'яній дощечці і з'єднаних зверху за допомогою трійника та гумової трубки з кульками Річардсона, а внизу – з металевим зондом для введення сперми в геніталії свиноматки, який має гумову головку на кінці.

Універсальний термос-прилад використовують для осіменіння свиноматок та перенесення сперми у межах ферми. Прилад складається із трьох скляних градуйованих ампул місткістю 100 або 250 мл (середня для наливання сперми, а дві бокові – для розріджувача), вмонтованих у дерев'яному футлярі з відкидною кришкою та оглядовим склом. До нижньої частини ампул приєднані гумові трубки (з металевими затискачами), які за допомогою скляних трійників та гумової трубки з'єднуються із зондом (катетером). Зонд має вигляд двох металевих трубок, з'єднаних гвинтовою різьбою, з ручкою та гумовою голівкою на кінці. Від верхніх кінців ампул відходять гумові трубки, які з'єднують ампули через трійник та повітряний фільтр з кулями Річардсона. В дерев'яному футлярі є також два металевих обігрівальних бачки, у які наливають гарячу воду для обігрівання термос-приладу і термометр для контролю температури.

Зверху на футлярі вмонтовані ручка і спиртівка. Влітку термос-прилад можна використовувати без футляра. При осіменінні 1-2 свиноматок використовують ампули місткістю 100 мл – у них вміщується дві дози сперми (в одній ампулі) і дві порції розріджувача (у двох інших). Якщо осіменяють 3-5 і більше свиноматок, використовують ампули місткістю 250 мл.

Універсальний зонд УЗК-5 складається з власне зонда, закріплених на ньому двох флаконів (для сперми та розріджувача), фільтра і куль Річардсона з механізмом для регулювання роздільного введення сперми, розріджувача та повітря у матку свині. Для захисту флаконів від охолодження під час осіменіння прилад обладнаний спеціальним прозорим ковпаком, у якому є невелика електрогрівка.

До універсального зонда додають термос-футляр, у якому міститься 5 флаконів зі спермою і 10 з розріджувачем. Футляр обладнаний електрообігрівом.

Універсальний зонд-катетер УЗК-6 складається з прозорої пластмасової трубки (довжиною 40 см з гумовою голівкою до 20 мм у діаметрі), в якій міститься 50 мл першої фракції розрідженої сперми. До гумової ручки зонда за допомогою прямого з'єднувального наконечника приєднують спеціальний гофрований флакон для розріджувача. При стисканні гофрованого флакона розріджувач через гумову ручку надходить у зонд і, зіткнувшись на своєму шляху руху з поршнем, проштовхує його вперед разом з першою фракцією (розрідженою спермою); проштовхнувши першу фракцію та дійшовши до кінця зонда, поршень пропускає навколо себе другу фракцію.

Фізіологічні основи штучного осіменіння свиней. Статевий цикл свиноматок поділяється на стадії статевої активності та статевого спокою. Стадія статевої активності включає проєструс (передтічка), еструс (тічка й охота), постеструс (перехідний період) та діеструс (статевий спокій). У

свиноматок статєва функція має чітко виражену циклічність. Тривалість статєвого циклу у свиноматок у більшості випадків становить 18-21 добу.

Проєструс(передтічка) у свиней настає на 18-19 добу статєвого циклу і триває в середньому 2 доби. Проте маютьєся суттєві індивідуальні та вікові відмінності. У цей період у статєвих органах, особливо в яєчниках, виникають помітні зміни: збільшення в розмірах і дозрівання фолікулів, випинання їх над поверхнею яєчників. Передтічка непомітно переходить у фазу тічки.

Єструс(тічка й охота). Статєва тічка й охота у свиней тривають 3-4 доби, інколи більше. У цей період свиноматки проявляють неспокій, стрибають на інших, прагнуть до кнура, але не допускають його садки. У них знижується позив до корму, своєрідним стає "хрюкання". У свиноматок відмічається почервоніння та припухлість статєвих губ (петлі). Статєва охота починається приблизно через 24-8 год після прояви перших ознак тічки і триває в середньому 48 год. У цей період свиноматка спокійно (нерухомо) стоїть і допускає садку кнура. Крім рефлексу нерухомості, у свиноматок у стані охоти зберігаються й інші ознаки, характерні для тічки. У свиноматок після відлучення поросят охота настає в основному на 4-7 добу. Початок охоти в основному припадає на вечірні та нічні часи, зокрема від 18 до 3-ї години. Овуляція у більшості свиноматок відбувається через 24-30 год від початку охоти і проводить синхронно протягом 2-3 год, спостерігається відхилення до 8-12 год. Після овуляції яйцеклітини попадають у воронкоподібне розширення яйцепроводів і запліднювальну здатність зберігають у межах 6-8 год. Тривалість життя спермійв у статєвих шляхах свиноматок становить в основному 12-15 год і більше.

Постєструс—перехідний період між стадією статєвої активності та статєвого спокою. Протягом цього періоду набрякання та почервоніння петлі зникають, вона зменшується в розмірі. Слизова статєвих шляхів стає блідою та сухою. Тварини стають спокійними, у них зникає реакція на кнура та спроби вистрибувати на інших маток. Тривалість цього періоду становить від 1 до 7 діб.

Дієструс(стадія статєвого спокою) триває, як правило, у середньому 9 діб. У цей період тварина спокійна, зовнішні статєві органи блідо-рожеві.

Виявлення свиноматок в охоті та строки їх осіменіння. Серед багатьох способів виявлення охоти у свиноматок найпоширенішим є рефлексологічний. Суть його полягає в тому, що статєве збудження свиноматок визначають за зовнішніми ознаками, а рефлекс нерухомості —за допомогою кнура-пробника. З цією метою кнура-пробника проганяють проходом вздовж станків з індивідуальним та груповим утриманням свиноматок і спостерігають за їхньою поведінкою. Тих, що перебувають у стані статєвого збудження, випускають у прохід до кнура. Свиноматок зі встановленим рефлексом нерухомості митять аніліновими фарбами та розміщують в індивідуальні станки для штучного осіменіння.

Використовують кнурів-пробників 1 раз у 2-3 дні по 35-45 хв уранці та ввечері при дворазовому виявленні свиноматок в охоті. При більш частому і

тривалому використанні кнури втрачають жвавість, що призводить до неточного виявлення свиноматок в охоті. Особливо ретельно необхідно виявляти охоту в самок у період від 14-ї до 30-ї доби після осіменіння. Щоб не спричинити гальмування статевих рефлексів, кнурів-пробників допускають до природного парування один раз на тиждень. Використовують їх протягом 6-7 місяців, після чого вибраковують. Поповнюють кнурів-пробників молодими кнурцями, жвавими, з сильним урівноваженим типом нервової системи.

Виявляють свиноматок в охоті в основному один раз на добу –вранці. У цьому разі перше осіменіння проводять після обіду або ввечері цього самого дня, а друге –уранці наступного. Такий режим роботи найбільш раціональний, оскільки економиться робочий час і одне з осіменінь завжди збігається з інтервалом часу, протягом якого відбувається овуляція. У господарствах, де техніки із штучного осіменіння мають великий досвід роботи, при одноразовому виявленні маток в охоті (вранці) дозволяється одноразове осіменіння в цей самий день о 18-19 год.

Якщо свиноматок в охоті виявляють двічі на день (вранці і ввечері), то перший раз їх осіменяють через 12 год після встановлення охоти, а другий – через такий самий проміжок часу після першого осіменіння.

Штучне осіменіння свиней. Штучне осіменіння свиноматок здійснюють розрідженою спермою фракційним методом.

Штучне осіменіння свиноматок розрідженою спермою. Свиноматок в охоті виявляють за допомогою кнура-пробника. Початком охоти вважають час появи у свиноматки рефлексу нерухомості. Його можна виявити також натискуванням на бік свиноматки, на її спину чи просто сідаючи на неї зверху.

При щоденному триразовому виділенні свиней в охоті дорослих свиноматок осіменяють через 20-24, а молодих – 24-30 год від початку охоти. Придворазовому виділенні свиноматок, у яких охоту виявлено вранці, осіменяють увечері, а тих, у яких охоту виявлено ввечері, – вранці наступного дня. Якщо у великих господарствах охоту виявляють лише один раз за добу, то виявлених в охоті свиноматок осіменяють двічі – відразу після виділення і через 12 год повторно.

Доза розрідженої сперми на одне осіменіння – 1 мл/кг маси свиноматки, але не більше 150 мл із вмістом у ній 4 млрд активних сперміїв.

Свиноматок осіменяють за допомогою поліетиленового (ПОС-5) або скляного приладу з гумовими трубками.

Вийнявши з термоса флакони із спермою, ставлять їх у теплу воду (35-40°C) на 10-15 хв і перевіряють рухливість сперміїв під мікроскопом. Якщо вона відповідає вимогам (не нижче 6 балів), то флакони з підігрітою спермою вміщують у поролоновий термос, а стерильні катетери – у стерильні поліетиленові чохла і переносять на місце осіменіння.

Фіксують свиноматку у спеціальній клітці. Шматком вати, який затиснутий корнцангом, обмивають у неї зовнішні статеві органи теплою перевареною водою, 1-2 %-м розчином двовуглекислої соди або розчином фурациліну.

На місці осіменіння беруть один флакон зі спермою з поролонового термоса й відгвинчують кришку, а замість неї вкручують стерильну кришку з катетером (при використанні скляного приладу виймають корок із пляшки із спермою і закривають її іншим корком з приєднаними трубками, фільтром, кулями Річардсона та катетером).

Розкривши трохи статеві губи свині, обережно вводять катетер у піхву на глибину 35-40 см, спрямовуючи його по верхній стінці трохи вгору, щоб не потрапити в отвір сечового каналу, а потім горизонтально, рухаючи катетер вперед-назад. Якщо катетер упреться у складку слизової оболонки, його відтягують трохи назад і, дочекавшись розслаблення мускулатури шийки матки, знову проштовхують уперед.

Перевертають флакон чи пляшку зі спермою догори дном і підіймають вище рівня спини сільськогосподарських тварини. При відкритій шийці матки сперма самопливом виливається у матку. Для прискорення процесу можна стиснути поліетиленовий флакон рукою чи нагнітати повітря у пляшку за допомогою куль Річардсона. Якщо сперма при цьому витікає із піхви, припиняють нагнітання повітря чи стиснення флакона і очікують чергового розслаблення шийки матки (скорочення й розслаблення м'язів матки повторюються ритмічно приблизно через 40-50 с). Не слід вливати сперму швидко. У великих свиней процес осіменіння триває 1-3 хв, у дрібних – до 10 хв. Після введення потрібної дози сперми обережно виймають катетер із статевих органів.

Штучне осіменіння свиноматок фракційним методом. Цим методом сперму вводять у статеві органи свині фракціями: спочатку невеликий об'єм нерозрідженої сперми, а відразу після цього – розріджувач (заповнювач), який проштовхує сперму до верхівок рогів матки. Для введення сперми використовують спеціальний ампульний прилад, термос-прилад або універсальний зонд УЗК-5.

Фіксують свиноматку у спеціальній клітці. Для цього клітку ставлять так, щоб її передня торцева частина закривала половину отвору вихідних дверей (другу половину дверей зачиняють). Відкривають двоє дверцят клітки й заганяють у неї свиноматку. Коли вона зайде в клітку, закривають спочатку передні дверцята, а потім затуляють планкою задній вхід у клітку. Обмивають зовнішні статеві органи. Заповнюють одну ампулу приладу спермою, а другу (чи в термос-приладі дві крайні) – глюкозо-сольовим розріджувачем-заповнювачем.

Підвішують підготовлений прилад на планці клітки для осіменіння. Перед осіменінням свиноматок сперму в ампулі обережно перемішують, нахилиючи та обертаючи прилад.

Для видалення залишків розріджувача із зонда та з'єднувальних трубок опускають зонд вниз і, тримаючи його головкою вгору, відкривають затискач ампули зі спермою й пропускають трохи сперми у з'єднувальну трубку до появи її у скляній трубці, що з'єднує зонд із приладом. Правою рукою

закривають затискач, а лівою обережно вводять зонд у піхву свині до упору в шийку матки.

Притиснувши обережно, але досить щільно, головку катетера до шийки матки, відкривають затискач ампули зі спермою і, натискаючи на з'єднанні з ампулами кулі Річардсона, виштовхують сперму в матку свині. Тиск повітря має бути невеликим (до 100-110 мм рт. ст.). При цьому треба пам'ятати, що коли шийка матки закрита, то сперма навіть під великим тиском у приладі не буде надходити в матку. В такому разі слід почекати 5-40 с, поки шийка матки знову відкриється, і тоді сперма буде швидко надходити в матку.

Дозу сперми на одне осіменіння визначають згідно з табл. 5. В усіх випадках кількість рухливих спермій у дозі має становити 3 млрд для дорослих і 2,5 млрд для молодих свиноматок.

Після введення сперми закривають затискач ампули зі спермою, відкривають затискач ампули з розріджувачем і вводять потрібну його кількість у матку.

У господарствах, де штучне осіменіння свиней проводить молододосвідчений технік, дорослим свиноматкам вводять 50 мл, молодим - 30-35 мл сперми і подвійну кількість розріджувача.

Закінчивши введення розріджувача, беруть правою рукою наповнену повітрям кулю Річардсона і, легко стискаючи її, вводять дорослим свиноматкам не більше однієї кулі, а молодим – півкулі повітря (50-100 см³); ручку зонда катетера при цьому слід опустити вниз так, щоб головка катетера трохи підняла піхву та шийку матки догори й повітря проштовхнуло розріджувач далі у роги матки, залишившись над ним у вигляді повітряної пробки.

Через 20-30 с обережно виймають катетер з піхви (повертаючи його легко навколо своєї осі) й витирають на ньому слиз ватним чи марлевым тампоном. Якщо під час осіменіння розлилася сперма або значна кількість її вилася із статевих органів свині, то таку свиноматку осіменяють повторно.

Свиноматку що осіменили слід витримати до кінця охоти в індивідуальному станку. За свиноматками яких осіменили ведуть спостереження, а з 10-го по 30-й день до них підпускають кнурів-пробників для виявлення серед них випадків повторної охоти та своєчасного осіменіння.

Інструкція із штучного осіменіння свиней. Осіменіння свиноматок проводять двома способами: фракційним і нефракційним. У першому разі сперму в статеві шляхи вводять пофракційно: спочатку 35-40 мл розбавленої сперми, а потім 70-80 мл глюкозо-сольового заповнювача (віл дистильованої води розчиняють 30 г медичної глюкози і 4,5 г хлористого натрію). При цьому в одній дозі повинно бути не менше 1,75-2,0 млрд спермій з прямолінійно поступальним рухом.

Для осіменіння свиноматок нефракційним способом сперму попередньо розбавляють з таким розрахунком, щоб в одній дозі об'ємом 100 мл містилось 3-5 млрд спермій. При цьому методі осіменіння свиноматкам вводять розбавлену сперму в один прийом шляхом натискання рукою на флакон приладу ПОС-5 або УКП-Й без застосування трійника.

**Дози сперми для штучного осіменіння свиней
фракційним методом**

Якість сперми		Необхідно взяти для осіменіння свиноматок, мл			
Кон-центрація спермійв, млрд./мл	Рухливість спермійв, балів	Дорослих		Молодих	
		сперми	розрід-жувача	сперми	розрід-жувача
0,20 і більше	9	13	37	9	41
	8	14	36	10	40
	7	16	34	11	39
	6	19	31	12	38
0,11-0,20	9	21	29	14	36
	8	24	26	16	34
	7	27	23	18	32
	6	31	19	21	29
0,10 і менше	9	40	10	26	24
	8	44	6	29	21
	7	50	-	33	17
	6	58	-	33	17

Для осіменіння свиноматок фракційним способом користуються поліетиленовим приладом УКП-1 та універсальним зондом УЗК-5, які в разі необхідності можна застосовувати для осіменіння свиноматок нефракційним способом. Прилад ПОС-5 використовується тільки для нефракційного способу.

Перед осіменінням свиноматок тим чи іншим способом сперму підігрівають у водяній бані при температурі 35-39°C обов'язково перевіряють рухливість спермійв. Дозволяється осіменяти спермою з рухливістю не менше 60%.

Контрольні питання:

1. Техніка і правила осіменіння свиноматок фракційним та нефракційним способами.
2. Техніка і правила осіменіння свиноматок внутрішньо матковим способом.
3. Дози введення сперми при різних способах штучного осіменіння свиноматок.
4. Інструменти і підготовка їх для проведення штучного осіменіння свиноматок.
5. Технологія виборки свиноматок у статевій охоті за допомогою кнура-пробника.

ТЕМА 15

Штучне осіменіння кобил

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Самки в охоті, міні – плакати, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода, термостат, мікроскопи, предметні та накривні скельця, столики Морозова, марлеві серветки, шприци–катетери, комплект поліетиленових інструментів для ректо-цервікального з ректальною фіксацією шийки матки, гумовий катетер Іванова, скляний шприц 20-30 см³., шприц – напівавтомат Лихачова, піхвові дзеркала для овець, ярок, і кобил, бинт, вата, зливні чашки, стерилізатори, кружка Есмарха, вата, умивальник, відро, розчини: 1% натрію хлориду, 0,9% натрію цитрату, 1% натрію бікарбонату, 70⁰спирт. Спиртові тампони, чашка для використаних тампонів, підставка з мікрошприцями – катетерами, пінцети.

Інструменти для осіменіння кобил. М'який еластичний гумовий катетер І. І. Іванова – товстостінна гумова трубка з діаметром каналу 1,5-2 мм. Один кінець катетера звужений, а на другому є виступ у вигляді кільця з розширеним каналом, який під час осіменіння з'єднують з канюлею шприца чи ампули.

Скляний 20-грамовий шприц складається з циліндра і поршня. У нього входить одна мінімальна доза сперми; для введення повної дози (40 мл) сперму набирають у шприц двічі. Скляний чи ебонітовий катетери мають форму трубки з невеликим потовщенням на одному кінці (головка) і розширенням на другому. Перед осіменінням з'єднують за допомогою гумової муфти з шприцом.

Скляну ампулу завдовжки 17 см, діаметром близько 18 мм і місткістю 30 мл з отворами з обох кінців використовують для зберігання і транспортування сперми та для осіменіння кобил. Один кінець ампули тупий, другий – витягнутий у вигляді канюлі. Перед осіменінням знімають ковпачки з обох кінців ампули, а на вузький кінець надівають гумову трубку, з'єднану з гумовою грушею.

Штучне осіменіння кобил. Кобил осіменяють розрідженою або нерозрідженою спермою мануально (за допомогою стерильного еластичного гумового катетера, з'єданого з 20-мілілітровим шприцом чи скляною ампулою) або візуально (за допомогою скляного чи поліетиленового катетера та піхвового дзеркала).

Мануальне осіменіння кобил за допомогою катетера. Заводять кобилу в станок або надівають на неї парувальну шлею, забинтовують хвіст від кореня до половини ріпиці чистим полотняним бинтом і обмивають зовнішні статеві органи тампоном, змоченим чистою теплою водою.

Беруть чистий стерильний катетер і шприц, обробляють їх 70 %-м спиртом і 3-4 рази промивають 7 %-м розчином глюкози. Зовні протирають катетер спиртовим тампоном. Беруть із термоса баночку з охолодженою до 2-

4°C спермою, витримують її 30 хв при кімнатній температурі або підігрівають протягом 5-10 хв у теплій воді при температурі 18-25°C. Перевіряють рухливість сперміїв під мікроскопом. Нерозріджена сперма допускається до осіменіння, якщо в 1 мл її міститься не менше 150 млн сперміїв, а рухливість становить не нижче 5 балів; розріджену і збережену протягом двох діб сперму можна використовувати для осіменіння при рухливості сперміїв не менше 4 балів. Набирають у шприц сперму. Готують руки до введення у статеві шляхи – обрізають коротко нігті, миють руки теплою водою з милом, витирають насухо чистим рушником і знезаражують спиртовим тампоном.

На праву руку надівають стерильну гумову чи поліетиленову рукавицю і зволожують її 0,9 %-м розчином натрію хлориду. У праву руку беруть звужений кінець гумового катетера, затискають його між долонею і великим пальцем і вводять у піхву кобили (без піхвового дзеркала), прикриваючи вказівним пальцем отвір на кінці катетера. Знаходять отвір шийки матки, визначають ступінь її розкриття і спрямовують кінець катетера в її канал, просуваючи його лівою рукою у матку на глибину 10-15 см. Після цього помічник приєднує до вільного кінця катетера шприц (чи ампулу) зі спермою і, натискаючи на поршень, вводить її в матку. Необхідна доза сперми на одне осіменіння 25-30 мл кобилам ваговозних порід і тим, що недавно жеребилися – до 35-40; мінімальна доза – 20 мл.

Після осіменіння кобили катетер виймають із піхви і дезінфікують, руки миють і також дезінфікують.

Осіменіння кобил за допомогою скляних ампул. Протирають поверхню ампули зі спермою спиртовим тампоном, знімають з її загостреного кінця гумовий ковпачок і приєднують гумову трубку, з'єднану з кулями Річардсона. Знявши ковпачок з тупого кінця ампули, захоплюють її правою рукою так, щоб вказівним пальцем затулити отвір на тупому її кінці. Вводять руку з ампулою в піхву кобили (без піхвового дзеркала), знаходять шийку матки і вводять ампулу в її канал на глибину 10-12 см. Натискаючи на кулі Річардсона, вводять сперму в матку. Виймають ампулу з піхви і обробляють відповідно ампулу, трубку і руку.

Якщо користуються візуальним способом – скляним чи поліетиленовим катетером, з'єднаним шприцом, то його вводять у шийку матки на глибину 10-15 см через знезаражене піхвове дзеркало.

У сезон осіменіння кобил щоденно перевіряють на наявність охоти. Осіменяють перший раз на другу добу від початку охоти і повторно через 36-48 год.

Контрольні питання:

1. Інструменти і підготовка їх для проведення штучного осіменіння кобил.
2. Технологія визначення оптимального часу осіменіння кобил за допомогою жеребця-пробника, дозрівання фолікула на яєчнику, ступеня відкриття шийки матки.

3. Технологія візоцервікального способу осіменіння кобил.
4. Технологія цервікального способу осіменіння коби за допомогою різних катетерів.
5. Дозування сперми в залежності від способу зберігання.

ТЕМА 16

Штучне осіменіння овець і кіз

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: Самки в охоті, міні – плакати, рушник, щіточка для миття рук, вата, тепла вода, термостат, мікроскопи, предметні та накривні скельця, столики Морозова, марлеві серветки, шприци–катетери, комплект поліетиленових інструментів для ректо-цервікального з ректальною фіксацією шийки матки, гумовий катетер Іванова, скляний шприц 20-30 см³., шприц – напівавтомат Лихачова, піхвові дзеркала для овець, ярок, і кобил, бинт, вата, зливні чашки, стерилізатори, кружка Есмарха, вата, умивальник, відро, розчини: 1% натрію хлориду, 0,9% натрію цитрату, 1% натрію бікарбонату, 70⁰спирт. Спиртові тампони, чашка для використаних тампонів, підставка з мікрошприцами – катетерами, пінцети.

Інструменти для осіменіння овець і кіз. Склошприц складається з циліндра завдовжки 8 см, місткістю 1мл і катетера, довжина якого 22 см. Шприц-напівавтомат конструкції А. Н. Лихачова сконструйований у вигляді пістолета, в руків'ї якого є дозуючий пристрій. При кожному натисканні на важіль (курок) руків'я з шприца-напівавтомата виштовхується 0,05 мл сперми. Якщо треба ввести більшу дозу сперми, натискають відповідну кількість разів.

Порядок обробки шприців та піхвових дзеркал такий самий, як і при штучному осіменінні корів.

Штучне осіменіння овець. Овець осіменяють цервікально (і як виняток – вагінально) з використанням мікрошприца та піхвового дзеркала. Штучне осіменіння овець має сезонний характер, його проводять у літньо-осінні місяці. У цей час щодня виявляють овець в охоті, осіменяють і формують з них нові отари. Через 12 днів від початку осіменіння починають виявляти овець в охоті і в отарі осіменених овець (частина з них, що не запліднилися, приходять в охоту повторно).

На великих механізованих фермах (з поголів'ям 5000 вівцематок) застосовують так званий циклічний метод осіменіння. При цьому з 6 отар щодня вибирають до 300 вівцематок в охоті, яких осіменяють і формують з них за 3-4 дні першу отару осіменених овець. Так само формують другу отару, після чого припиняють осіменіння на 3 тижні (щоб потім мати таку саму перерву при проведенні окотів). Під час другого циклу формують третю й четверту отари і

знову роблять перерву на 3 тижні. Нарешті, під час третього циклу осіменіння формують п'яту й шосту отари. Це забезпечить окоти вівцематок перших двох отар у січні, третьої-четвертої – в лютому, п'ятої-шостої – в березні.

На невеликих фермах овець осіменяють у спеціальному станку (краще в такому, що обертається по колу), вміщуючи шию вівці у вирізі вертикальної дошки. Підсобний робітник (чабан) при цьому фіксує вівцю ногами («сідає» на неї обличчям до техника), підіймає у неї хвіст і обтирає її зовнішні статеві органи чистою ватою.

Технік сідає на край спеціального заглиблення позаду станка, опускає ноги у це заглиблення і, користуючись розміщеним на робочих столах обладнанням та інструментами, проводить осіменіння. На спеціалізованих вівцекомплексах використовують двосекційний станок, у якому можна зафіксувати одночасно 15 овець. Такий станок (довжиною 9 і шириною 3 м) складається із 2 секцій довжиною 3,75 м кожна; між ними знаходиться робоче місце техника-осіменатора. Із зовнішнього боку кожної секції є годівниці з фіксаторами для овець. Справа і зліва від робочого місця техника встановлюють два низьких столи для приладів та інструментів; на одному з них ставлять мікроскоп, бактеріологічну чашку з предметними та накривними стеклами, банки з 70 %-м спиртом та 2,9 %-м розчином натрію цитрату, банку з спиртовими тампонами, чашку для використаних тампонів, бактеріологічну чашку з предметними та накривними скельцями, підставку з мікрошприцями-катетерами, пінцети. На другому столику розмішують примус або інше джерело вогню, піхвові дзеркала, а поряд – умивальник з тазом і табуретку для санітарки.

Технік дає розпорядження помічникам повернути станок з вівцею задньою частиною тулуба до робочого місця, обробляє відповідно мікрошприц, набирає в нього оцінену під мікроскопом сперму й бігунком встановлює необхідну дозу сперми. У ліву руку бере незаражене піхвове дзеркало й зволожує його 0,9 %-м розчином натрію хлориду або 1 %-м розчином натрію бікарбонату, а в праву руку – мікрошприц зі спермою.

Обережно ввівши дзеркало у піхву вівці, розкриває його (нешироко), оглядає стан піхви та шийки матки і, при наявності ознак тічки та відсутності запальних процесів, вводить шприц канюлею вниз через розкрите дзеркало в шийку матки на глибину 2–3 см, трохи відтягнувши дзеркало назад, натискає на кінець поршня (чи на важіль шприца-напівавтомата) й виштовхує у шийку матки необхідну дозу сперми.

Виймає з піхви мікрошприц, а потім дзеркало (у складеному вигляді) і віддає дзеркало санітарці. Санітарка мие використане дзеркало гарячою водою, витирає насухо рушником і ставить на столик, що стоїть зліва від робочого місця. Перед осіменінням наступної вівці його слід незаразити. Зовні шприц обробляють спиртовим тампоном і за допомогою бігунка встановлюють нову дозу. Помічники видаляють із станка вівцю що осіменили і заводять на її місце іншу.

При осіменінні овець заморожено-розмороженою спермою користуються

скляним шприцом-катетером з гелікоїд ною (гвинтоподібною) кінцевою частиною, яку «вгвинчують» у краніальну частину шийки матки обертанням катетера вліво. В Австралії та Новій Зеландії розморожену сперму баранів вводять у тіло матки через прокол стінки таза під візуальним контролем за допомогою оптико-волоконної техніки.

Контрольні питання:

1. Інструменти та підготовка їх для штучного осіменіння вівцематок і ярок.
2. Техніка і правила осіменіння овець візоцервікальним способом.
3. Техніка і правила осіменіння ярок епіцервікальним способом.
4. Які дози сперми використовуються при застосуванні нативної сперми, після зберігання при $+2-4^{\circ}\text{C}$ та глибоко замороженої при температурі -196°C ?
5. Технологія виборки вівцематок в статевій охоті.

ТЕМА 17

Штучне осіменіння птиці

Місце проведення заняття: лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

Оснащення робочого місця: самки сільськогосподарської птиці, мікропіпетки, поліетиленові чи капронові шприци з дозуючим пристроєм, мікроскопи, предметні та накривні скельця, сперма сільськогосподарських птахів.

Технологія штучного осіменіння курей. Осіменіння курей яйценосних порід можна проводити з 7,5-8-місячного віку, а закінчують - коли у більшості тварин настає линька, оскільки в цей період знижується заплідненість яєць

Проводити осіменіння курей краще в другій половині дня, коли у більшості птахів відбудеться яйцекладіння. У більшості випадків курей осіменяють свіжою спермою протягом 20-30 хвилин після її одержання. Доза осіменіння при використанні нерозбавленої сперми становить 0,025 мл, при концентрації спермій 3-3,5 млрд/мл. У дозі осіменіння курей має бути понад 80 млн спермій з прямолінійним поступальним рухом. Для того, щоб забезпечити насичення статевих шляхів курей необхідною кількістю спермій під час першого осіменіння слід вводити подвоєну дозу сперми. Коли якість сперми висока (одержана в зимово-весняний період від півнів 9-14-місячного віку) осіменіння курей можна здійснювати один раз у 6-7 днів збільшеною у 1,5-2 рази дозою сперми. Збір яєць для інкубації краще починати через 48 годин після такого осіменіння.

Техніка осіменіння курей наступна: один чоловік із техніків фіксує курку,

правою рукою натискує на ліву сторону живота в ділянці між кістки. При цьому має розкриватися клоака, а в середині неї, з лівої сторони виходу прямої кишки, відкривається отвір яйцепроводу, який являє собою у курей у період яйцекладіння вип'ячення розового кольору. Інший технік набирає у мікропіпетку потрібну дозу сперми, вводить її у яйцепровід на глибину 4-5 см, і натискує на гуму піпетки, щоб вприснути сперму в яйцепровід. Одночасно з цим перший технік припиняє натискувати на живіт курці, якщо він цього не зробить, то сперма із яйцепроводу може витекти в клоаку. Другий технік виводить піпетку з яйцепроводу, не припиняючи натискувати на гуму піпетки.

Якщо для осіменіння використовують поліетиленові чи капронові шприци з дозуючим пристроєм, то дозування сперми здійснюють повертанням бігунка, з послідувачим натискуванням на шток поршня. Катетер такого шприца необхідно міняти після осіменіння кожної курки.

Техніка штучного осіменіння індичок. Молодих індичок починають осіменяти після знесення ними перших яєць. Потім їх осіменяють повторно через кожні три дні до тих пір, поки в стаді не почне нести яйця більша кількість індичок стада. Після цього інтервал між осіменіннями збільшують до 10-14 днів.

Оператор, який фіксує тварину, бере індичку лівою рукою за ноги спереду. Потім правою рукою допомагає зафіксувати її у захваті, утворюючи між плечем і передпліччям лівої руки і лівої сторони грудей. При цьому голова тварини спрямована назад оператора, а каудальна частина спереду. Правою рукою оператор завертає хвоста індички на спину і підносить до технік з штучного осіменіння.

Технік великим та вказівним пальцями лівої руки захоплює і відкриває кільце клоаки з лівого боку (не торкаючись при цьому слизової оболонки), і безіменним пальцем тієї ж руки вивертає клоаку до появи отвору яйцепроводу. При появі лійкоподібного кінця яйцепроводу технік правою рукою вводить у нього піпетку із спермою на глибину 4-5 см. Після цього він відпускає кільце клоаки і кінець яйцепроводу, з введеною до нього піпеткою, повертається до попереднього положення - втягується до черевної порожнини. Легким натискуванням великого і вказівного пальцями правої руки на гумовий наконечник піпетки технік вводить сперму в яйцепровід.

При введенні сперми необхідно дотримуватися наступних правил: одночасно з натискуванням на гумовий наконечник піпетки працівник, який фіксує самку, має відпустити хвіст індички, який він утримував у завернутому на спину стані і послаблює як яйцепровід втягнеться до черевної порожнини; не можна розтискувати пальці на гумовому наконечнику піпетки до повного виведення її з яйцепроводу і клоаки індички; після осіменіння індичку необхідно обережно поставити на підлогу.

Техніка штучного осіменіння гусок. Штучне осіменіння гусок бажано проводити після 12 години дня, коли у більшості з них здійсниться яйцекладіння й на глибині 2-5 см яйцепроводу відсутнє яйце.

Приміщення, де утримують гусок, перегороджують легким переносним

щитом. Всіх гусок переганяють до однієї з цих половин. Потім у відгороджений кут заганяють по 15-20 гусок. Помічник оператора, який знаходиться в середині відгородженого кута з тваринами, бере гуску і фіксує її на спеціальному столі-станку, що знаходиться по другий бік перегородки. Лівою рукою він тримає гуску біля кореня крил, притискує вказівним пальцем ліве крило, а правою рукою відтягує хвіст. Після цього оператор вводить у клоаку вказівний палець правої руки і методом пальпації відшукує яйцепровід, що знаходиться з лівого боку і нижче входу до клоаки. Лівою рукою вводить у клоаку піпетку. Вказівним пальцем правої руки він контролює введення піпетки до яйцепроводу. Переконавшись, що піпетка знаходиться в яйцепроводі, оператор натискує на еластичний наконечник піпетки, вприскує необхідну дозу сперми.

У хороших гусок-несучок яйцепровід м'який, об'ємистий, отвір у нього відкритий, а у птахів, які не несуть яєць, має форму тонкої трубки і ввести в його канал піпетку майже неможливо. Таких гусок краще виділити в окрему групу і щоденно проводити контрольну перевірку.

Для нормального запліднення яєць осіменіння гусок слід проводити повторно через кожні 5-6 днів. Після першого осіменіння яйця для інкубації відбирають починаючи з третього

Техніка штучного осіменіння качок. Для осіменіння качок застосовують 2-мл шприц з поліетиленовим катетером. Осіменіння качок проводять спермою від 4-6 самців зразу ж після її одержання і розбавлення. В умовах виробництва качок осіменяють через кожні 4 дні з 16 до 18 години.

Техніка штучного осіменіння качок зводиться до наступного: тварин заганяють у кут секції й відгороджують металевією сіткою висотою 70-80 см, Помічник технік бере качку із секції й фіксує в станку або під рукою. Лівою Технік вводить у клоаку качки вказівний палець правої руки, пальпацією знаходить яйцепровід, який розміщений лівіше і нижче входу в клоаку, і під контролем пальця правої руки, лівою рукою направляє катетер в яйцепровід на глибину 4-5 см. Потім виймає палець з клоаки і вприскує з катетера 0,1 мл розбавленої сперми.

Після осіменіння кожної качки технік обробляє катетер шприца ватним тампоном, змоченим 70% -вим спиртом. Ефективне запліднення яєць (понад 90%) зберігається протягом 4-х днів після осіменіння.

Штучне осіменіння цесарок. Цесарки характеризуються низькою відтворною функцією при утримуванні на підлозі. Яйцекладіння у них за рік становить 80-120 штук, заплідненість яєць - 65-75%. Така низька заплідненість яєць пов'язана з вибірковою здатністю до спаровування і порівняно низькою спермопродуктивністю самців. Цесарок досить тяжко привчити нести яйця на контрольні гнізда. Ця особливість не дозволяє вести індивідуальний облік яйценокості. Одним із методів вирішення відмічених проблем є переведення цесарок на кліточне утримання із застосуванням штучного осіменіння.

Осіменіння цесарок проводять після 14-ої години, використовуючи 1-2-мл шприц, на канюлю якого надівають полістероловий катетер довжиною 5-7 см і діаметром 1,5-1,8 мм.

Техніка осіменіння полягає в наступному: один робітник правою рукою тримає самку за ноги і тією ж рукою притискує її крила до тулуба. Лівою рукою він підіймає хвіст. Оператор вводить у клоаку самки вказівний палець правої руки і нащупує яйцепровід, який знаходиться з лівої сторони від входу до клоаки. Лівою рукою він тримає шприц і по вказівному пальці правої руки спрямовує катетер в яйцепровід цесарки на глибину 3-6 см. Потім виводить палець із клоаки і вприскує необхідну дозу сперми. Після цього катетер обробляють ватним тампоном, змоченим 70% -вим етиловим спиртом. Процес штучного осіменіння однієї цесарки триває 10-15 секунд.

Контрольні питання:

1. Вкажіть вимоги до організації та влаштування пункту штучного осіменіння птиці.
2. Охарактеризуйте техніку штучного осіменіння сільськогосподарських птахів.
3. Строки проведення штучного осіменіння птахів.
4. Дозування сперми та кратність осіменіння сільськогосподарських птахів.

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Акушерство, гінекологія та штучне осіменіння сільськогосподарських тварин : навчальний посібник / [Г. Г. Харута, С. С. Волков, І. М. Плахотнюк та ін.]. — К. : Аграрна освіта, 2013. — 445 с.
2. Андрієвський В. Я. Ветеринарне акушерство, гінекологія і штучне осіменіння / В. Я. Андрієвський, І. В. Смирнов. — К. : Вища школа, 1971. — 418 с.
3. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології : підручник / [В. А. Яблонський, С. П. Хомин, Г. М. Калиновський та ін.]. — Вінниця : Нова книга, 2006. — 567 с.
4. Гришко Д. С. Лекції з ветеринарного акушерства : навч. посібник / Д. С. Гришко. — Харків : Прапор, 2000. — 400 с.
5. Заянчковский И. Ф. Практикум по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных / И. Ф. Заянчковский, И. В. Смирнов. — М. : Колос, 1975. — 271 с.
6. Інструкція з бонітування сільськогосподарської птиці. Інструкція з ведення племінного обліку в птахівництві. — К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2003. — 36с.
7. Інструкція зі штучного осіменіння корів і телиць. - К., 2001.
8. Інструкція зі штучного осіменіння овець і кіз. - К., 2003. — 64с.
9. Інструкція зі штучного осіменіння свиней. Інструкція з ведення
10. племінного обліку у свинарстві. — К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2003. — 64 с.
11. Карташов І. І. Штучне осіменіння с.-г. тварин з основами акушерства : навч. посібник / І. І. Карташов, Г. С. Шарапа. — К. : Вища школа, 1989. — 304 с.
12. Смирнов І. В. Штучне осіменіння с.-г. тварин / І. В. Смирнов. — К. : Вища школа, 1982. — 255 с.
13. Яблонський В. А. Біотехнологія відтворення тварин : підручник / В. А. Яблонський. — К. : Арістей, 2005. — 296 с.
14. Яблонський В. А. Практичне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології / В. А. Яблонський. — К. : Мета, 2002. — 319 с.

ТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ ТВАРИН

Методичні рекомендації

Укладачі: **Мельник** Володимир Олександрович
Поручник Марія Миколаївна

Формат 60×84.1/16. Ум. друк. арк. 6
Тираж 75 прим. Зам № _____

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.