

**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА  
ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ  
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ**

**Факультет технології виробництва і переробки  
продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології**

**Кафедра зоогієни та ветеринарії**

# **ТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ ТВАРИН**

**Методичні рекомендації  
для виконання лабораторно-практичних робіт студентами  
денної та заочної форм навчання за напрямом підготовки  
6.090102 – «Технологія виробництва та переробки продукції  
тваринництва»**

**Миколаїв  
2014**

УДК 636.082(038)  
ББК 48.76  
Т38

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету  
ТВШТГСБ Миколаївського національного аграрного університету від  
19 грудня 2013 р., протокол № 4.

Укладачі:

В. О. Мельник – канд. біол. наук, доцент  
О. О. Стародубець – канд. с.-г. наук, ст. викладач  
О. О. Кравченко – канд. с.-г. наук, в.о. доцента

Рецензенти:

І. М. Рожков – д-р біол. наук, професор кафедри ТМФВ та  
здоров'я людини МНУ ім. В. О. Сухомлинського;  
Г. І. Калиниченко – канд. с.-г. наук, доцент кафедри технології  
виробництва продукції тваринництва, МНАУ

## ЗМІСТ

Вступ.....	4
Тема 1 Лабораторія з технології відтворення тварин.....	5
Тема 2 Підготовка штучної вагіни до одержання сперми від плідників.....	10
Тема 3 Одержання сперми від плідників.....	15
Тема 4 Органолептична оцінка якості сперми.....	19
Тема 5 Мікроскопічна оцінка якості сперми.....	22
Тема 6 Розрідження сперми.....	30
Тема 7 Зберігання і використання замороженої сперми.....	34
Тема 8 Технологія штучного осіменіння корів і телиць.....	40
Тема 9 Штучне осіменіння овець і кіз.....	51
Тема 10 Технологія осіменіння свиноматок.....	54
Тема 11 Штучне осіменіння кобил.....	63
Список рекомендованої літератури.....	66

## 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.

З метою надання допомоги студентам 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 лабораторно-практичних робіт студентами денної та заочної форми навчання за напрямом підготовки 6.090102 – "Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва"

# МОДУЛЬ 1

## 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 20 см, 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 стерильною 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 °С 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 сперміїв, 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 сперміїв 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 підлюговування сперми та нейтралізації молочної кислоти. Оскільки він нетоксичний для сперміїв, 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-мілітровий 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. Ці лікарські препарати погано розчиняються у воді (фурацилін у співвідношенні 1 : 5000, фуразолідон 1 : 10 000), 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 6 г калію хромату у 1 л дистильованої води і обережно додають 100 мл 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 – 4 см – 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, яєчної 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 вмішують 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 електромережу. 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 105<sup>0</sup>С), 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 знезаражування 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

### 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 -1000 мл.

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

почергово 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 статеві 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 кільце не використовують, а у вагіні для кнура Інституту свинарства ім. О. В. Квасницького НААНУ кінці камери закріплюють мотузкою або відрізанним 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 °С (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 тазику готують теплий 2-3%-й розчин двовуглекислої чи 1 – 1,5 %-й розчин кальцинованої 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 °С 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 °С 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 профламбованим 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. 1).

**Таблиця 1**

**Норми заповнення штучних вагін водою**

Плідник	Тип вагіни	Кількість воли мл	Температура воли °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	300-400	60-65
	Вагіна конструкції інституту Свинарства ім. О. В. Квасницького НААНУ	1000-1200	45
Жеребец	Алюмінієва	1500-2500	50-60

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 °С. Заповнені теплою водою штучні вагіни можна помістити в шафу-термостат з автоматичним

регулюванням температури.

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, він 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 3

### 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, обіймального 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 °С, 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 (1:10 000) 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 використання 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 сперміїв. 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.

### **Контрольні питання:**

1. Взяття сперми у бугая за допомогою штучної вагіни, електроеякулятора, та масажу.
2. Взяття сперми у барана за допомогою штучної вагіни та електроеякулятора.
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.

## МОДУЛЬ 2

### ТЕМА 4

#### 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 профільованою 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 2).

**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 °С, 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. сперміїв. Відсутність або дуже мала кількість сперміїв 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. сперміїв у 1 мл сперми.

Під рухливістю (активністю) сперміїв 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 сперміїв: за кожні 10 % сперміїв 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 сперміїв менше 10 %, ставлять один бал, а коли у полі зору лише окремі рухомі спермії, їх позначають буквами ПР (поодинокі рухомі), при наявності сперміїв лише з манежним рухом - буквою М, з коливальним - К. Якщо всі спермії нерухомі, то ставлять букву Н (некроспермія).

У свіжовзятій спермі барана і бугая важко визначити співвідношення сперміїв з різними видами руху. В таких випадках ураховують таке: при виявленні у спермі активного вихрового руху сперміїв ставлять найвищу оцінку -10; якщо цей рух дещо сповільнений – 9 або 8, оцінюючи активність сперміїв 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 сперміїв 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 сперміїв на стику крапель. Результати оцінки густини сперми та активності у ній сперміїв 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) сперміїв?
6. Допустимі показники активності сперміїв для використання при штучному осіменінні самок.

## ТЕМА 5

### 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 профільтрованою 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 сперміїв. Оснащення заняття: нерозріджена сперма, змішувачі еритроцитарні та лейкоцитарні, лічильні камери, фотоелектроколориметр, 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 сперміїв 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 сперміїв в 1 мл сперми. Проте для встановлення раціонального ступеня розрідження та оптимальної дози сперми при осіменінні самок необхідно точно знати концентрацію у ній сперміїв.

Визначення концентрації сперміїв 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  $C$  - концентрація сперміїв;

$N$  - кількість сперміїв у 80 малих квадратах;

$D$  - 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  $1/4000 \text{ мм}^3$ ); 1000 - число для переведення в мілілітри (в 1мл міститься  $1000 \text{ мм}^3$ );

$N$  - 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 сперміїв 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 сперміїв. *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 сперміїв), тим більше ослаблюється потік світла, яке проходить крізь неї. При визначенні концентрації сперміїв за цим методом спочатку потрібно побудувати криву оптичної щільності сперми різної концентрації. Для цього вибирають найгустіший еякулят з концентрацією сперміїв 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 сперміїв 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 сперміїв), його ставлять у правий потік світла. Знову порушується фотоелектрична рівновага. Обертаннями 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 сперміїв у пробі сперми. Визначення концентрації сперміїв 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 °С 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 сперміїв 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, притискають 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 сперміїв забарвлюються у рожевий колір.

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

$$П = (Ж \times 100) : 500,$$

де П - відсоток живих сперміїв;

Ж - кількість підрахованих незабарвлених сперміїв.

Визначення кількості патологічних сперміїв. 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 сперміїв 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 сперміїв у спермі кожного плідника.

Патологічні зміни сперміїв можуть бути первинними та 9 вторинними. Тому Блом пропонує при оцінці морфології сперміїв 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 теплорегулюючої 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

$$ПС = (Пх 100) : (П + Н),$$

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 життєвого 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 6

### Розрідження сперми

**Місце проведення заняття:** лабораторія технології відтворення сільськогосподарських тварин.

**Оснащення робочого місця:** Свіжоодержана сперма бугая і кнура, розріджена сперма бугая, барана, жеребця, дистильована вода, аптечні терези з наважками, необхідні реактиви: натрію цитрат, глюкоза, лактоза, гліколі, 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 °С для сперми бугая, кнура і жеребця і 25 - 30 °С - 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;

– 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 °С.

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 °С 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 щіткою, 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 °С).

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°С 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°С 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 °С, додають 3,8 г натрію цитрату, 0,5 г двовуглекислої соди, а потім при температурі 55 - 58 °С додають 2,6 г хелатону. Коли середовище охолоне до 40 - 45 °С, додають 25 - 30 тис. ОД спермосану.

*Перевірка якості виготовлених розріджувачів.* Чистою стерильною скляною паличкою наносять на предметне скло краплю нерозрідженої сперми з відомою рухливістю спермійів. Поряд з нею наносять краплю перевірюваного розріджувача, накривають покривним скельцем і оцінюють під мікроскопом при температурі 38



-40 °С рухливість спермійів 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 °С. 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 °С 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 спермійів. Щоб порівняти вплив різного ступеня розрідження сперми на рухливість спермійів, на чисте предметне скло наносять поступово краплі сперми різного ступеня розрідження (використовуючи також сперму, розріджену іншими студентами), уважно розглядають їх і оцінюють активність спермійів. Дані про оцінку записують у вигляді таблиці.

### **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 спермійів.
7. Яке значення мають антибіотики при введенні їх в склад розріджувачів?

## ТЕМА 7

### 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 °С 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 °С.* Охолодження розрідженої сперми до плюс 2 - 4 °С викликає у сперміїв стан анабіозу, проте за надто 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 °С 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 верх, 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 покриттями 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 °С.

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, герметично закривають і поступово охолоджують до плюс 2 – 5°С 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 °С. 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, вміщують у невелику картонну коробку і зберігають в затемненому місці при температурі 16...20 °С.

Для зберігання сперми при дещо нижчих температурах (не нижче 6 °С) її розріджують середовищами ГХЦСЖ або ГХЦЖ. Транспортують розріджену сперму в термосах, термос-скриньках, побутових сумках-холодильниках при температурі 16-20 °С, 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 ви соті 2 - 3 см над поверхнею рідкого азоту.

Розріджену і витриману протягом 4-6 год при 5 °С 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 охоложені 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 спермійів у 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 поролонними корками й закріплюють у спеціальному пристрої для еквілібрації та заморожування сперми.

Заповнений гранулами пристрій вміщують у холодильник з температурою 2 - 5 °С 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 сперміїв 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 °С. Підтягують за бирку чашечку з гранулами до горловини посудини Дьюара і анатомічним стерильним пінцетом з гладенькими обточеними краями, попередньо охолодженим до температури мінус 196 °С, 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 сперміїв під мікроскопом при температурі 38 - 40 °С.

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 °С, витримують його до повного розморожування.

Облицьовані гранули та пайети виймають з рідкого азоту широким пінцетом, вміщують у водяну баню, підігріту до температури 38 - 40 °С, 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 сперміїв.

#### 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.

### **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?
4. Як проводять заморожування сперми бугая у вигляді облицьованих гранул?
5. Технологія заморожування сперми плідників у пайстах та соломинках.
6. Як перевіряють рухливість сперміїв у розмороженій спермі?
7. Техніка безпеки при роботі з рідким азотом.

## МОДУЛЬ 3

### ТЕМА 8

#### 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% кальцінованої 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 °С та при кімнатній температурі до 3 діб і рухливість сперміїв у якій оцінено не менш як 7 балами. Заморожену сперму можна використовувати при рухливості сперміїв після розморожування не нижче 4 балів і, як виняток, сперму видатних бугаїв-плідників при рухливості сперміїв після розморожування не нижче 3 балів. У дозі сперми на одне осіменіння має бути не менше 15 млн активних сперміїв.

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 сперміїв 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 сперміїв.

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 зігнути 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 канюлю шприца 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 °С), автоклавуванням (30 хв при 108 -110 °С) 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 фіксуєчим пристроєм, дроту з клемми та батарейки у спеціальному футлярі.

*Комплект одноразових інструментів для мануцервікального осіменіння корів* складається з ампули, катетера й рукавиці. Ампула завдовжки 18 мм 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 бактерицидні лампи БУВ-30 чи БУВ-15 на 60 – 80 хв.

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, розморозжують 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 °С.

Осіменіння корови з використанням шприца-катетера (візо-цервікальне). Беруть стерильний шприц-катетер, простерилізований кип'ятінням чи заповнений спиртом, і видаляють з нього спирт. Потім набирають у нього теплого (38 - 40 °С) 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 °С.

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, відшукують 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 № 3 і 4. 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. Піхвове дзеркало після осіменіння корови обмивають спочатку теплою проточною водою, потім ретельно миють гарячим (60 °С) 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, зволожене теплим стерильним фізіологічним розчином, піхвове дзеркало з освітлювачем, а потім вводять сперму в шийку матки за допомогою скляного шприц-катетера, пайстовводжувача або металевого подовжувача (залежно від форми зберігання сперми). Для корів використовують піхвове дзеркало більшого, а для телиць меншого розміру. Піхвове 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 вверху і назад, технік пальцем розкриває статеві губи і, тримаючи розведені ручки піхвового дзеркала вбік, вводить його бранші у піхву. Потім дзеркало повертають ручками вниз і, 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 піхвове 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 інструменти одноразового використання, які випускаються стерильними у спеціальній упаковці. 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 і запаюють 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 поліетиленову рукавицю, зволожують її теплим розчином натрію хлориду і обережно вводять у піхву корови, у якої перед цим протерли тампоном, просоченим розчином фурациліну, зовнішні статеві органи.

Техніка осіменіння. Знаходять шийку матки, визначають ступінь її розкриття і, якщо осіменіння доцільне, роблять масаж піхвової частини усіма пальцями руки протягом 1 хв. Щоб краще розправити піхвові складки навколо шийки матки, захоплюють пальцем піхвову частину і 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 ману-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, загнувши 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 (пайстах), 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. Промацують 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 намагаються 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 – з 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 осіменіння 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 9

### 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 см<sup>3</sup>, шприц – напіваавтомат 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, 70<sup>0</sup>спирт. Спиртові тампони, чашка для використаних тампонів, підставка з мікрошприцами – катетерами, пінцети.

Інструменти для осіменіння овець і кіз. Скляний мікрошприц складається з циліндра завдовжки 8 см, місткістю 1 мл і катетера, довжина якого 22 см. Шприц-напіваавтомат 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-напіваавтомата 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 мікросприц, 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 знезаразити. 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 гелікоїдною (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  $-196^{\circ}\text{C}$ ?
5. Технологія виборки вівцематок в статевій охоті.

## ТЕМА 10

### 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 (70 см 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 дієструс (статевий спокій). У свиноматок статєва функція має чітко виражену циклічність. Тривалість статевого циклу у свиноматок у більшості випадків становить 18-21 добу.

Проєструс (передтічка) у свиней настає на 18-19 добу статевого циклу і триває в середньому 2 доби. Проте маються 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.

Еструс (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 - 48 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 спермійів у статєвих шляхах свиноматок становить в основному 12-15 год і більше.

Постеструс – перехідний період між стадією статевої активності та статевого 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 статевого спокою) триває, як правило, у середньому 9 діб. У цей період тварина спокійна, зовнішні статеві 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 статеве 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 статевого 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. При дворазовому 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 спермійв.

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 °С) на 10 - 15 хв і перевіряють рухливість спермійв 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 нагнати 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. 3. В усіх випадках кількість рухливих спермій в 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 малодосвідчений 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 см<sup>3</sup>); 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.

Таблиця 3

**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

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 спермійв 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 спермійв. 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.

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 підігривають у водяній бані при температурі 35-39 °С обов'язково перевіряють рухливість сперміїв. 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 11

### 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 см<sup>3</sup>, 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, 70<sup>0</sup>спирт. 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 °С спермою, витримують її 30 хв при кімнатній температурі або підігрівають протягом 5 - 10 хв у теплій воді при температурі 18-25 °С. 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 незаражене 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.

## СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрієвський В. Я. Ветеринарне акушерство, гінекологія і штучне осіменіння / В. Я. Андрієвський, І. В. Смирнов. — К. : Вища школа, 1971. — 418 с.
2. Журавель М. Л. Технологія відтворення сільськогосподарських тварин / М. Л. Журавель, В. М. Давиденко — К. : Слово, 2005. — 336 с.
3. Заянчковский И. Ф. Практикум по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных / И. Ф. Заянчковский, И. В. Смирнов. — М. : Колос, 1975. — 271 с.
4. Інструкція зі штучного осіменіння корів і телиць / Відпов. за вип. Ю. Ф. Мельник. — К. : Аграрна наука, 2001. — 24 с.
5. Інструкція штучного осіменіння овець і кіз / Відпов. за вип. Ю. Ф. Мельник. — К. : Аграрна наука, 2003. — 39 с.
6. Інструкція зі штучного осіменіння свиней / Відпов. за вип. Ю. Ф. Мельник. — К. : Аграрна наука, 2003. — 56 с.
7. Карташов І. І. Штучне осіменіння сільськогосподарських тварин з основами акушерства / І. І. Карташов, Г. С. Шарапа — К. : Вища школа, 1989. — 304 с.
8. Квасницький А. В. Искусственное осеменения свиней / А. В. Квасницький. — К. : Урожай, 1983. — 188 с.
9. Осташко Ф. И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота / Ф. И. Осташко. — К. : Аграрная наука, 1995. — 183 с.
10. Смирнов І. В. Штучне осіменіння сільськогосподарських тварин / І. В. Смирнов. — К. : Вища школа, 1982. — 225 с.
11. Яблонський В. А. Практичне акушерство, гінекологія та штучне осіменіння сільськогосподарських тварин / В. А. Яблонський. — К. : Урожай, 1995 — 286 с.
12. Яблонський В. А. Біотехнологічні і молекулярно-генетичні основи відтворення тварин / В. А. Яблонський. — Львів : Афіша, 2009. — 217 с.

Навчальне видання

ТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ ТВАРИН

Методичні рекомендації

Укладачі: **Мельник** Володимир Олександрович  
**Стародубець** Олексій Олександрович  
**Кравченко** Олена Олександрівна

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. Паризької комуни, 9

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

