

Министерство сельского хозяйства РФ
ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет
имени А.А. Ежевского»
Факультет биотехнологии и ветеринарной медицины
Кафедра специальных ветеринарных дисциплин

Биотехника размножения сельскохозяйственных животных и птиц

Учебно-методическое пособие по дисциплинам «Акушерство и гинекология», «Биотехника воспроизводства с основами акушерства» для студентов факультета биотехнологии и ветеринарной медицины очной и заочной форм обучения по специальностям 36.05.01 Ветеринария, 36.03.02 Зоотехния.

п. Молодежный 2022

УДК 636.082.453.5 (075.8)

Б 637

Рекомендовано к изданию методической комиссией факультета биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО ИрГАУ имени А.А. Ежевского (протокол № 2 от 27. 12. 2021 г.)

Составители:

Дашко Д.В., кандидат ветеринарных наук, старший преподаватель кафедры специальных ветеринарных дисциплин

Мельцов И.В., кандидат ветеринарных наук, начальник отдела организации противоэпизоотических мероприятий, лечебной и лабораторной работы службы ветеринарии Иркутской области

Рецензенты:

Ильина О.П., доктор ветеринарных наук, профессор, декан факультета биотехнологии и ветеринарной медицины

Балыбердин Б.Н., кандидат ветеринарных наук, руководитель службы ветеринарии Иркутской области

Учебно-методическое пособие «Биотехника размножения сельскохозяйственных животных и птиц» для студентов очной и заочной форм обучения (специальность 36.05.01 Ветеринария, 36.03.02 Зоотехния) / Д.В. Дашко, И.В. Мельцов. - Молодежный: Изд-во ФГБОУ ВО Иркутский ГАУ, 2022.- 166 с.

©Дашко Д.В., Мельцов И.В., 2022.

© Издательство Иркутского ГАУ, 2022

Содержание

Введение	
Глава 1. Анатомо-топографические особенности половых органов самок сельскохозяйственных животных	5
Глава 2. Анатомо-топографические особенности половых органов самцов сельскохозяйственных животных	17
Глава 3. Анатомо-топографические особенности половых органов птиц.....	29
Глава 4. Получение спермы от производителей	
4.1. Получение спермы от производителей на искусственную вагину	38
4.2. Использование других методов для получения спермы от производителей.....	51
4.3. Получение спермы у самцов птиц.....	54
Глава 5. Оценка качества спермы	
5.1. Обязательные методы оценки качества спермы	57
5.2. Дополнительные методы оценки качества спермы	67
Глава 6. Влияние на сперматозоиды физических и химических факторов	78
Глава 7. Разбавление спермы.....	81
Глава 8. Хранение спермы.....	103
Глава 9. Подготовка и обеззараживание инструментов, посуды и материалов	114
Глава 10. Осеменение самок сельскохозяйственных животных и птиц	126
Глава 11. Учет и отчетность на племпредприятиях и пунктах искусственного осеменения сельскохозяйственных животных и птиц.....	158

ВВЕДЕНИЕ

Пособие содержит сведения, необходимые студентам и слушателям факультета повышения квалификации по освоению учебного материала, приобретению практических навыков в диагностике и профилактике гинекологических заболеваний животных.

В связи с перестройкой системы подготовки специалистов по акушерско-гинекологической практике, связанной с введением должности акушера-гинеколога, мы решили расширить тематику и выделить в самостоятельное пособие столь важный раздел. Вместо общего вопроса по гинекологии мы вносим в него шесть тем по каждому виду животных и даем несколько подробнее схему проведения лабораторно-практических занятий. Важнейшей из них является комплексная постановка диагноза на уровне учебно-исследовательской работы.

Гинекологические болезни сельскохозяйственных животных изучаются студентами после того, как ими освоены клиническая диагностика, частично - внутренние незаразные болезни и другие специальные дисциплины. Поэтому студенты на занятиях должны проявить как можно больше самостоятельности, при этом хорошо могли бы ориентироваться в постановке диагноза, проведении лабораторных исследований, самостоятельно готовить растворы и проводить лечебные процедуры.

При создании пособия авторы использовали работы, опубликованные за последние годы, собственные наблюдения, опыт и практику, а также материалы ветеринарных врачей [1-21].

Глава 1. АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ САМОК СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ.

Половые органы самок разделяют на наружные и внутренние. К *наружным* органам (*genitalia externa*) относят половые губы, преддверие влагалища и клитор; к *внутренним* (*genitalia interna*) – яичники, яйцеводы, матку и влагалище. В зависимости от вида животных и физиологического состояния внутренние половые органы расположены в тазовой или брюшной полости (рис. 1). Удерживаются они с помощью *широких маточных связок* (*ligamenta lata uteri*). Связки представляют собой удвоение брюшины, идущее от поясничной области. В связках проходят сосуды и нервы.

Яичники, яйцеводы и матка снабжаются кровью парных семенной внутренней, маточной средней и задней артерий. *Внутренняя семенная артерия* (*a. spermatica interna*) отходит от аорты в области 4-го поясничного позвонка, разделяется на *яичниковую ветвь* (*ramus ovaricus*) и *переднюю маточную* (*a. uterina cranialis*), сильно извилистую в области верхушки маточного рога. Артерия тесно прилегает к маточной вене, это обуславливает попадание ряда веществ (простагландины) из матки непосредственно в кровь артерии и затем в яичник. *Средняя маточная артерия* (*a. uterina media*) отходит от наружной тазовой (*a. iliaca externa*) у кобыл и от пупочной (*a. umbilicalis*) у коров. Эта артерия хорошо развита и ее ветви образуют анастомозы между собой и с ветвями передней и задней маточных артерий. *Задняя маточная артерия* (*a. uterina caudalis*) отходит от *геморроидальной* (*a. haemorrhoidalis*) у кобыл и от *мочеполовой* (*a. urogenitalis*) у коров; снабжает кровью заднюю часть матки и влагалище. Преддверие влагалища и часть влагалища снабжаются кровью *внутренней срамной* (*a. pudenda interna*) и *запирательной* (*a. obturatoria*) артерий. Отток крови из половых органов осуществляется по одноименным венам. У овец средние маточные вены отсутствуют, а кровь оттекает по передним пузырьным и задним маточным венам.

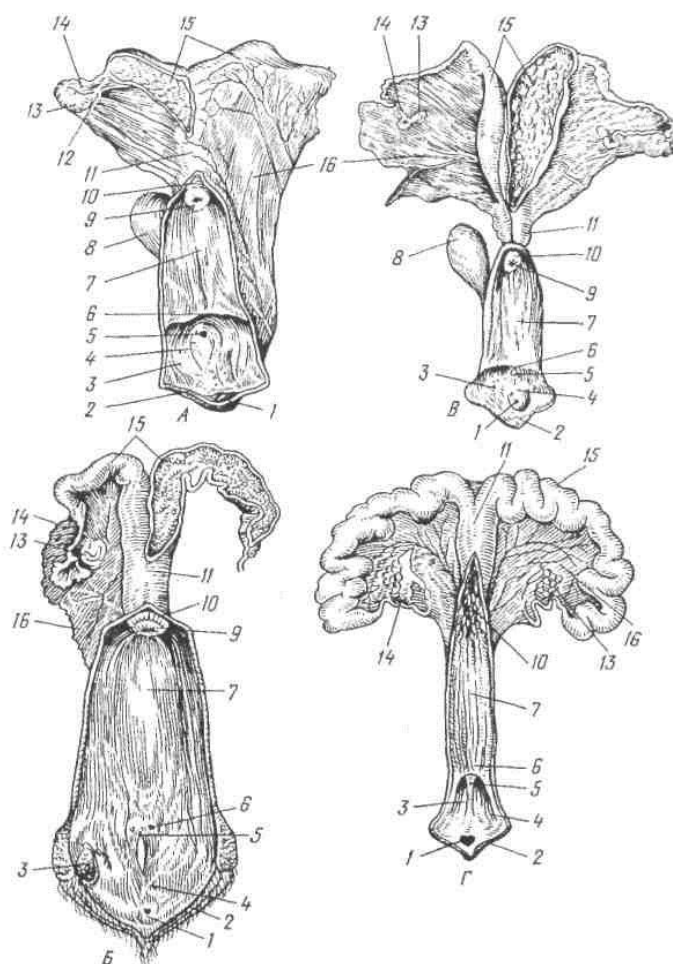


Рис. 1. Органы размножения самок животных:

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

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

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

1.1. Половые органы коров и телок.

Половые губы (*labium pudendi*) представляют собой два валиковидных выпячивания, расположенных над седалищными буграми. Соединяясь, половые губы образуют верхний и нижний углы половой щели (*commissura labiorum superior et inferior*). Верхний угол закругленный, нижний – острый, имеет пучок длинных волос. У нормальных животных пучок волос клиновидный, а у телок фримартинов – веерообразный. Наружная поверхность половых губ покрыта нежной пигментированной или непигментированной кожей, в которой находятся потовые и сальные железы; внутренняя поверхность покрыта плоским многослойным эпителием. В толще губ содержатся мышечные волокна сжимателя вульвы (*m. constrictor vulvae*) и соединительная ткань. В верхней части мышечные волокна переходят в промежность и сливаются со сфинктером ануса, внизу окружают клитор, а впереди переходят в стенку преддверия влагалища.

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

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

слепой мешок (diverticulum suburethrale) глубиной 2 см. По бокам от отверстия и кзади от него находятся выводные протоки *бартолиновых желез* (больших преддверных, gl. vestibulares major). У коров эти железы – величиной с крупный боб. На нижней стенке преддверия возле клитора расположены отверстия слабо развитых *малых преддверных желез* (gl. vestibulares minores). Стенка преддверия влагалища состоит из слизистой, мышечной и соединительно-тканной оболочек. *Слизистая оболочка* толстая, образует продольные складки; покрыта многослойным плоским эпителием. В течение цикла эпителиальные клетки этой оболочки, как и клетки влагалища, подвергаются изменениям. В мазке-отпечатке с задней боковой стенки преддверия влагалища в фазу *проэструс* обнаруживаются малые и большие промежуточные эпителиальные клетки, эритроциты, иногда лейкоциты

В фазу *эструс* преимущественно большие промежуточные эпителиальные клетки, безъядерные клетки или клетки вакуолизированные с небольшим пикнотическим ядром и эритроциты. Лейкоциты встречаются редко, только в начале эструса, а в конце этой стадии доминируют безъядерные эпителиальные клетки. В фазу *метэструс* в мазке обнаруживается много полиморфонуклеарных лейкоцитов, исчезают безъядерные клетки, уменьшается число больших промежуточных клеток, появляются парабазальные клетки и малые промежуточные эпителиальные клетки, которые в последующем становятся вакуолизированными.

При *анэструсе* в мазке преобладают парабазальные и малые промежуточные эпителиальные клетки. В период охоты и несколько дней спустя слизь образует рисунок в виде листка папоротника. В середине цикла в мазке в основном находятся малые эпителиальные клетки с крупным ядром, а также – лейкоциты. *Мышечная оболочка* содержит гладкие волокна, но в заднем участке преддверия влагалища имеется значительное количество пучков поперечно-полосатых мышц. В боковой стенке преддверия, ближе к половой щели, расположено венозное сплетение (bulbus vestibuli), напоминающее пещеристое тело уретры самцов. *Наружная оболочка* преддверия влагалища состоит из соединительной ткани, которая переходит в ткань промежности и прямой кишки.

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

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

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

складки влагалища. Высота перегородки не превышает 8–10 мм. Впереди влагалище ампуловидно расширяется и обхватывает со всех сторон влагалищную часть шейки матки. Здесь между шейкой матки и стенками влагалища образуются боковые, верхний и нижний карманы. Наиболее хорошо выражен верхний карман – *свод влагалища* (fornix vaginae).

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

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

Шейка матки (cervix) длиной – 5–10 см, толщиной – 3–4,5 см расположена в тазу и лишь в середине беременности перемещается в брюшную полость. Она плотная, с толстыми стенками, четко ограничена и хорошо прощупывается рукой через прямую кишку. Задняя часть шейки матки на 2–3 см выдается во влагалище, образуя ясно выраженную влагалищную часть, в которой находится наружное отверстие – *устье шейки матки* (orificium externum).

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

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

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

Яйцеводы (oviductus, tuba uterina, salpinx) – две извитые трубочки, служат местом оплодотворения яйцеклеток и обеспечивают проведение их в рога матки. Располагаются яйцеводы в складках брюшины, простирающихся от верхушки рогов матки до яичника. Канал яйцепровода начинается от верхушки соответствующего рога матки узким маточным отверстием. В зависимости от возраста животных длина яйцеводов колеблется от 20 до 35 см. Наименьший диаметр (1–3 мм) яйцеводы имеют в области перешейка (istmus), который примыкает к рогу матки и составляет около половины всей длины. Средняя часть – ампула, имеет диаметр 3–5 мм, а конечная часть – воронка – 5–7 мм. Воронка открывается отверстием в

брюшную полость. Свободный длинный край воронки называют бахромкой (*fimbriae tubae*). Бахромка тесно прилегает к поверхности яичника, и это обеспечивает попадание овулировавших яиц в отверстие яйцевода. Стенка яйцевода состоит из трех оболочек: серозной, мышечной и слизистой. *Серозная оболочка* представлена в основном эпителиальным слоем брюшины и частично двумя слоями широкой маточной связки. *Мышечная оболочка* состоит из трех слоев гладких мышц: мощного внутреннего кольцевого и двух более тонких продольных поверхностных слоев. Наиболее толстая мышечная оболочка – в месте соединения яйцепровода с маткой. *Слизистая оболочка* покрыта псевдомногорядным мерцательным эпителием, который в узкой части яйцепровода образует 4–8 низких продольных складок, а в воронке – до 20–40 более высоких складок. Движение ресничек эпителия направлено в сторону матки.

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

Типичная форма яичников – яйцевидная или округлая, но иногда они могут быть плоскими или иметь неправильную форму, что зависит от наличия в них фолликулов или желтых тел. Длина яичника – 32–42 мм, ширина – 19–32 мм и толщина – 13–19 мм. Масса каждого яичника составляет 10–19 г. Вся поверхность яичника за исключением прикрепленного края покрыта однослойным кубическим эпителием. Под ним располагается *собственная белочная оболочка*. Она придает яичнику соответствующую форму. Вся остальная масса яичника состоит из двух слоев: периферического коркового и центрального мозгового. *Мозговой слой*

содержит кровеносные сосуды, нервы и рыхлую соединительную ткань. *Корковый (паренхиматозный)* слой занимает большую часть яичника и состоит из клеток соединительной ткани, желтых тел и фолликулов на различных стадиях развития.

1.2 Половые органы овцы

Половой аппарат овцы аналогичен половому аппарату коров и отличается лишь размерами. Длина *преддверия* влагалища овец составляет 4–5 см, *влагалища* – 8–12 см, *шейки матки* – 5–7 см, *тела* – 3–5 см, *рогов матки* – 10–20 см, *яйцепроводов* – 10–15 см. *Яичники* имеют овальную или яйцевидную форму, относительно крупные (в период диэструса 1,3x1,1x0,8 см) массой от 0,6 до 3 г.

1.3. Половые органы кобылы

Половые губы вверху образуют заостренный край, переходящий в шов промежности; нижний край их закругленный, прикрывает полушаровидную головку клитора. По бокам головки имеются хорошо выраженные складки слизистой оболочки преддверия влагалища.

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

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

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

продольных складок, сверху покрыта высоким цилиндрическим мерцательным эпителием; в толще ее расположены ветвящиеся трубчатые железы.

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

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

1.4. Половые органы свиньи

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

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

Влагалище с преддверием влагалища имеет длину 15–23 см, при соотношении их 2:1. Влагалище узкое, длиной 10–15 см. На границе с преддверием у intactных свинок заметно сужение полового канала, что создает впечатление наличия

кольцевой складки. Впереди отверстия мочеиспускательного канала обнаруживается такая же перегородка, как и у телок.

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

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

Яичники у половозрелых животных похожи на ягоду малины, имеют неправильную форму и размеры 4х3х3 см. У взрослых свиноматок яичники округлой формы, диаметром около 5 см. Поверхность их бугристая, что связано с наличием большого количества крупных фолликулов и желтых тел. Расположены в брюшной полости на уровне 4–5-го поясничного позвонка в хорошо выраженных яичниковых карманах и тесно прилегают к мощно развитой бахромке яйцепровода.

1.5. Исследование половых органов у самок

Для клинического исследования коровы и кобылы их помещают в станок или надежно фиксируют. Корову коротко привязывают (в стойле, манеже, загоне) и дополнительно фиксируют одной рукой за складку кожи в области коленного

сустава, а другой – за складку кожи на спине. Беспокойных животных фиксируют за рога и носовую перегородку. Кобылу удобнее исследовать в хорошо освещенном манеже; тазовые конечности ее фиксируют случной шлеей. Козу или овцу удерживают за поводок; свинью осматривают без фиксации в узком станке. Мелких животных помещают на стол и при необходимости фиксируют.

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

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

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

Влагалище исследуют рукой или путем осмотра с помощью влагалищных зеркал (расширителей). Перед исследованием наружные половые органы самки тщательно обмывают теплой водой (при сильном загрязнении с мылом) и дезинфицируют раствором фурацилина. На руку с коротко остриженными ногтями надевают мягкую полиэтиленовую перчатку и смачивают ее физиологическим

раствором. Перед введением влагалищное зеркало увлажняют теплым физиологическим раствором или раствором натрия гидрокарбоната и к нему прикрепляют специальный осветитель. При использовании трубчатого стеклянного расширителя пользуются внутренним источником освещения или налобной лампой. Однако более эффективно вагинальное исследование при хорошем дневном освещении. Вводят зеркало в половые пути плавно и осторожно, при этом бранши его должны быть сомкнуты, а ручки направлены в сторону. После введения зеркала его поворачивают так, чтобы ручки были направлены вниз. Затем нажимают медленно на ручки и раздвигают бранши, добиваясь нужного расширения полового канала. Для осмотра должны быть доступны полость влагалища и шейка матки.

Яичники исследуют с помощью ультразвукового сканера. Зонд вводят одной рукой во влагалище, а все манипуляции с яичниками проводят другой рукой, введенной в прямую кишку.

Глава 2. АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ САМЦОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ.

Половые органы самцов (рис. 2) состоят из двух половых желез – *семенников с придатками* и *спермиопроводов*, которые включают в себя внутренние половые протоки; семенного мешка (*мошонки*), в котором находятся семенники; *полового члена* с наружным половым протоком – мочеполовым каналом (*уретрой*); придаточных половых желез: *пузырьковидных, предстательной и куперовых (луковичных)*.

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

каждой полости мошонки располагается семенник, к которому основанием прикреплен семенной канатик. Стенка мошонки состоит из трех слоев: кожи, мускульно-эластической оболочки и общей влагалищной оболочки. Кожа (cutis scroti) покрыта нежными волосами и содержит потовые и сальные железы. Она тесно связана с мускульно-эластической оболочкой (tunica dartos). Эта оболочка, заворачиваясь внутрь, делит семенной мешок на две половины, а в верхней части разделяется на два листка, между которыми располагается половой член. На дне мошонки мускульно-эластическая оболочка срастается с общей влагалищной оболочкой (tunica vaginalis communis), которая является продолжением париетального листка и поперечной брюшной фасции. Общая влагалищная

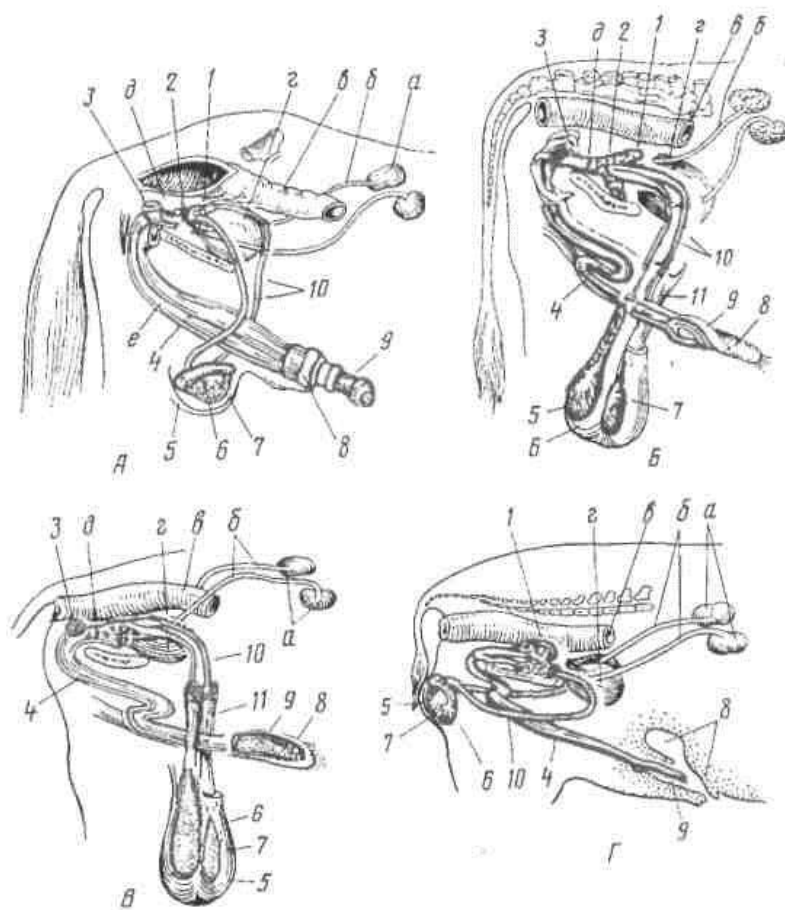


Рис. 2. Половые органы самцов животных:

А – жеребца; Б – быка; В – барана; Г – хряка; 1 – пузырьковидные железы; 2 – предстательная железа; 3 – луковичные (куперовы) железы; 4 – половой член (пенис); 5 – мошонка; 6 – придаток семенника; 7 – семенник; 8 – препуциальный мешок пениса; 9 – головка пениса; 10 – спермиопровод; 11 – семенной канатик; а – почка; б – мочеточники; в – прямая кишка; г – мочевого пузыря; д – тазовая часть мочеполового канала; е – пенисная часть мочеполового канала.

оболочка образует *узкие паховые каналы*, затем расширяется и выстилает обе полости мошонки (*cavum vaginale*). Она выделяет смазывающую жидкость. К внешней стенке оболочки с задней и наружной стороны прикрепляется *наружный подниматель семенника* (*m. cremaster externus*). Этот поперечно-полосатый мускул берет начало от внутреннего отверстия пахового канала; он подтягивает семенники. Мошонка с ее мышцами поддерживает семенники, защищает их от внешних воздействий и обеспечивает постоянную температуру, обычно ниже температуры тела, что важно для сперматогенеза. Относительно постоянная температура семенников у самцов поддерживается благодаря терморегулирующему действию *наружного поднимателя семенника*. В холодную погоду этот мускул сокращается, подтягивает мошонку ближе к брюшной стенке. Мошонка сморщивается, уменьшается испарение влаги с ее поверхности и отдача тепла во внешнюю среду.

Внутренняя семенная артерия с окружающим ее сплетением из ветвей семенной вены укорачивается и расширяется, что способствует притеканию к семенникам более теплой крови. В жаркую погоду наружный подниматель семенника расслабляется, и мошонка с семенниками далеко отвисает от тела. Увеличивается испарение влаги и отдача тепла во внешнюю среду, удлиняется и суживается семенная артерия с венозным сплетением, что способствует охлаждению притекаемой к семенникам крови. У хряков отвисание мошонки слабое. Терморегулирующее действие мошонки контролируется андрогенами и осуществляется после полового созревания. Если же окружающая температура настолько высока, что необходимый перепад температур тела и семенников не может сохраниться, то нарушается сперматогенез вследствие дистрофии спермообразующего эпителия. И чем длительнее воздействие температуры, тем больше степень поражения. Искусственным нагреванием мошонки в воде или посредством теплоизоляции ее вызывали полное бесплодие у баранов, быков, морских свинок. У баранов временное бесплодие может быть вызвано при содержании их зимой в теплом помещении.

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

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

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

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

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

К семеннику в составе *семенного канатика* (funiculus spermaticus) подходят кровеносные сосуды и нервы. Иннервация осуществляется внутренним семенным

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

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

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

Придаток семенника (epididymis) представляет собой трубку различной ширины, идущую по всей длине семенника. Состоит из головки, тела и хвоста. *Головка придатка* образована *семявыносящими канальцами* (efferent ducts) и начальной частью канала придатка (canalis epididymidis). Всего семявыносящих

канальцев – от 6 до 20; длина их – 10–20 см. Отходят они от сети семенника в месте связи семенника с придатком и, сильно извиваясь, образуют сосудистый конус. Последний составляет большую часть придатка и соединен с длинным каналом придатка. В области *головки* канал придатка зигзагообразно извивается. Извилины окружены белочной оболочкой и вместе с ней придают головке придатка вид большой плоской трубки. В области *тела придатка* амплитуда извилин канала уменьшается, суживается оболочка, и это придает телу вид более узкой и прямой трубки. По направлению к нижней части семенника канал расширяется, размах его извилин увеличивается и вместе с окружающей оболочкой он образует массивный *хвост*. Хвост придатка связан с семенником и фиксирован в нижней части мошонки направляющей связкой семенника.

Семявыносящие канальцы и начальная часть канала придатка выстланы изнутри цилиндрическим эпителием с ресничками, причем в канале придатка эпителий многослойный. Реснички эпителия колеблются по ходу выносящего протока. На остальной части канал придатка выстлан цилиндрическим эпителием с секреторными клетками. В основании клеток имеются внутриэпителиальные железы. Просвет канала придатка достигает 0,3–1 мм, при этом диаметр его увеличивается от головки к хвосту. Длина канала составляет у быка около 35 м, у хряка – 64 м и у жеребца – 80 м.

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

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

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

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

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

urogenitalis) и луковично-пещеристым (m. bulbocavernosus) мускулами, сокращения которых способствуют выведению спермы и мочи.

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

Пузырьковидные железы (*glandulae vesiculares*) у быка имеют грушевидную форму и бугристую поверхность, расположены по одной с обеих сторон возле ампул спермиопроводов и открываются общими с спермиопроводами отверстиями в начальную часть мочеполового канала. Длина желез составляет 10 см или более, толщина – 2,5 см. Они разделены на дольки; выделяют секрет, содержащий фруктозу и лимонную кислоту. У мелкого рогатого скота пузырьковидные железы также имеют бугристую поверхность.

У барана длина их 5 см, ширина – 2,5 см и толщина – 1,3 см. Величина желез у козла несколько меньше. У жеребца пузырьковидные железы мешковидные, с ровной поверхностью и центральной полостью, в длину достигают 13–15 см. Самые крупные пузырьковидные железы у хряка: длина – до 12 см, ширина – 7 см и толщина – 3 см; поверхность их гладкая. У кобеля этих желез нет.

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

Куперовы железы (*gl. bulbourethralis*) расположены по одной с каждой стороны мочеполового канала. У быков они находятся на расстоянии 10–12 см

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

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

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

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

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

Головка полового члена располагается в *препуциальном мешке (praeputium)*. У быка препуций – длиной около 38 см. Внутренняя оболочка препуция имеет два листка: *париетальный*, выстилающий полость препуция, и *висцеральный*,

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

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

Проводят исследование в спокойной обстановке. При контакте быка с другим животным обращают внимание на проявление эрекции, а при выдвигении пениса – на состояние его и целостность. Обязательно учитывают время, в течение которого достигается полная эрекция и появляется у быка стремление к садке на другое животное.

Высокая половая активность у быков как правило связана с высокой плодовитостью. Поэтому изучению поведения быка в период контакта с другими животными придают большое значение.

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

Для проведения клинического исследования животное размещают в хорошо освещенном манеже (или на открытой площадке), фиксируют, затем осматривают половые органы и тщательно их пальпируют. При осмотре обращают внимание на

величину и симметричность обеих половин мошонки, целостность кожи ее и препуция. При пальпации семенников (сзади или сбоку) определяют степень подвижности их в полости мошонки, величину и консистенцию.

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

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

В семенниках с большей массой паренхима занимает в них большую долю. В ряде работ была установлена корреляционная связь между массой семенников и абсолютным числом клеток Сертоли и количеством образуемых сперматид. Чем больше содержалось в семенниках клеток Сертоли, тем выше были показатели дневной спермопродукции производителей. Масса семенников половозрелых быков иногда достигает 550–600 г, что обуславливает продуцирование свыше 8 млрд. клеток в сутки.

Величина семенников прямо коррелирует с основными показателями спермопродукции производителя. У быков и хряков о морфологическом развитии их половых желез можно судить по промерам семенникового мешка (для различных

пород есть свои цифровые показатели к возрасту). Снимают промеры при помощи мягкой сантиметровой ленты. У быков рекомендуется определять:

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

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

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

Взятие промеров (*in vivo*) должно производиться при полном опускании обоих семенников в полость мошонки.

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

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

Глава 3. АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ ПТИЦ

3.1. Анатомо-топографические особенности половых органов самок птиц

Половая система самок птиц (рис. 3) включает яичник и яйцевод. В эмбриональный период закладываются они как парные органы, но правосторонняя часть редуцируется и только левосторонняя достигает у половозрелых самок полного развития. Иногда могут быть развиты и правосторонние половые органы.

Яичник у половозрелых несушек гроздевидной формы массой 50–60 г удерживается в верхней части тела короткой *брыжейкой*, в которой проходят

сосуды и нервы. Располагается яичник на передней доле левой почки и полностью закрывает надпочечник.

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

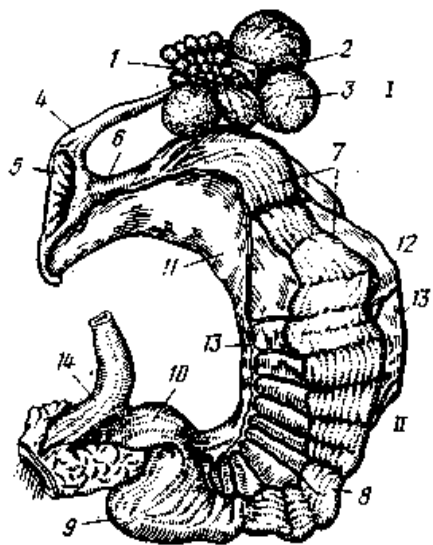


Рис. 3. Половая система курицы:

1 – фолликул яичника в стадии медленного роста; 2 – овулировавший фолликул; 3 – фолликул яичника в стадии быстрого роста; 4 – воронка; 5 – отверстие воронки; 6 – шейка воронки; 7 – белковый отдел; 8 – перешеек; 9 – матка; 10 – влагалище; 11 – вентральная связка яйцевода; 12 – дорсальная связка яйцевода; 13 – сосуды; 14 – клоака.

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

Граница между корковой и мозговой зонами неровная и нечеткая. Соединительная ткань мозговой зоны более плотная, с большим количеством коллагеновых волокон. Между пучками их залегают группы интерстициальных клеток, проходят сосуды разного диаметра – разветвления яичниковой артерии и нервные волокна, образующие у входа в яичник яичниковое сплетение. Сосуды и

нервы из мозговой зоны переходят в корковую и разветвляются в стенках фолликулов.

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

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

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

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

Яйцевод снабжается кровью яичниковой, седалищной и внутренней подвздошной артерий. Иннервируется вегетативной нервной системой. Ветви симпатических нервов идут к нему из яичникового и других сплетений.

Парасимпатическая иннервация осуществляется в основном тазовым внутренностным нервом.

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

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

Белковый участок (в нем образуется белок) – самый длинный и широкий в яйцеводе. Длина его у курицы и утки – 25–40 см, у индейки – 36–50, у гусыни – 30–55 см. Толщина стенки этого участка у разных видов птиц колеблется от 200 до 1000 мкм и определяется в основном толщиной слизистой оболочки; толщина мышечной оболочки не превышает 40–300 мкм. Слизистая оболочка образует 20–25 крупных продольных, слегка спиралеобразных складок высотой до 5 мм и шириной 2–3 мм, изрезанных многочисленными вторичными и третичными складками. В покровном эпителии белкового отдела чаще чем в других участках яйцевода встречаются бокаловидные клетки, вырабатывающие овомуцин. На дне и боковых сторонах складок слизистой оболочки открываются многочисленные железы с разветвленными концевыми отделами. В собственно пластинке слизистой оболочки встречаются скопления плазматических клеток и лимфоцитов, выполняющих защитную функцию. Железы образованы однослойным призматическим эпителием высотой 10–15 мкм.

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

Перешеек – отдел яйцевода, в котором образуются подскорлупные оболочки. Длина перешейка у курицы – 10–12 см, у индейки – 14–20, у утки – 9–17, у гусыни –

9–20 см. Диаметр меньше, чем у белкового отдела, но стенка несколько толще за счет увеличения мышечной оболочки до 100–700 мкм. Складки слизистой оболочки продольные, более низкие (до 4 мм) и тоньше (до 1,5 мм). Покровный эпителий низкий. Реснитчатые и бокаловидные клетки встречаются в равных количествах. Железы расположены рыхло, диаметр железистых трубок несколько больше. Без видимой границы перешеек переходит в матку.

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

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

Влагалище представляет собой мускульную трубку, открывающуюся в клоаку. Длина его у курицы и гуся колеблется от 3 до 8 см, у индейки и утки – от 3 до 5 см. Толщина стенки влагалища у разных видов колеблется от 2 до 5 мм и зависит в основном от мышечной оболочки. Слизистая оболочка образует узкие продольные складки, на которых у всех домашних птиц (кроме индейки), имеются вторичные складки, покрытые высокопризматическим эпителием с преобладанием реснитчатых клеток. Собственно пластинка слизистой оболочки образована плотной

неоформленной (у индейки рыхлой) соединительной тканью, не содержит желез. На границе между влагалищем и клоакой у молодой не несущейся птицы имеется запирающая пластинка, которая прорывается либо при снесении первого яйца, либо немного раньше.

3.2 Анатомо-топографические особенности половых органов самцов птиц

Половая система самцов птиц (рис. 4) состоит из двух семенников и их придатков, спермиопроводов, открывающихся в уростом клоаки половыми сосочками. Придатки семенника слабо развиты. Придаточные половые железы отсутствуют. Половой член у многих видов отсутствует или рудиментарен.

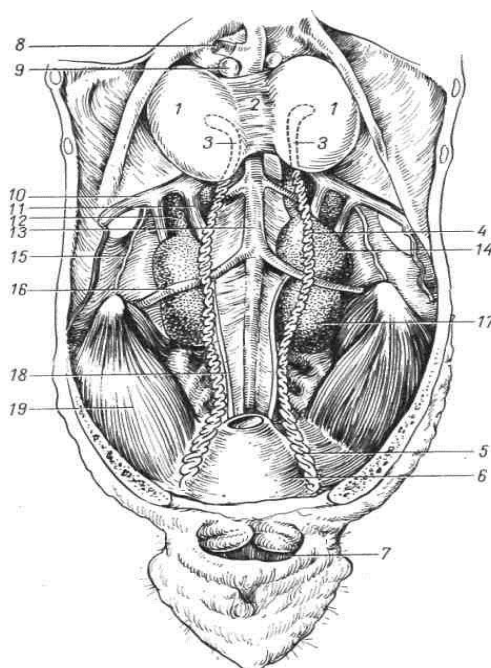


Рис. 4. Мочеполовая систем петуха:

1 – семенник; 2 – связка семенника; 3 – придаток семенника; 4 – спермиопровод; 5 – спермиоизвергательный канал; 6 – клоака; 7 – анус; 8 – краниальная брыжеечная артерия; 9 – надпочечник; 10 – наружная подвздошная вена; 11 – внутренняя подвздошная вена; 12 – передняя доля почки; 13 – аорта брюшная; 14 – средняя доля почки; 15 – запирающий нерв; 16 – седалищная артерия; 17 – задняя доля почки; 18 – мочеточник; 19 – внутренняя запирающая мышца.

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

У неполовозрелых особей и у взрослых самцов в период покоя семенники желтоватого или розоватого цвета. У молодых петушков и индюков передняя часть семенников бывает сильно пигментирована. У половозрелых особей в период

половой активности цвет семенников белый. У взрослых петухов семенники составляют 1–2%, у индюков – 0,5–1, у гусаков – 0,3, у селезней – 2–2,5 % массы тела. Левый и правый семенники у петуха различаются незначительно, а у самцов других видов домашних птиц левый семенник заметно больше правого (у индюка и селезня примерно в 2 раза).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

В передней части спермиопровод часто имеет коллатерали – боковые ответвления, которые тянутся параллельно ему, заканчиваясь слепо или вновь впадая в него. По-видимому, эти дополнительные каналы служат резервуаром для

спермы в период наивысшей половой активности, так как в это время они заполнены спермиями. В другое время заустевают и частично редуцируются.

Органы совокупления (рис. 5) располагаются в проктодеуме клоаки. У петуха они представлены тремя penisными телами – медиальным (белым телом) величиной 2–3 мм в спокойном состоянии и двумя латеральными (овальными складками) диаметром по 3–4 мм, окружающими их лимфатическими складками и пещеристыми телами. Penisные тела лежат на вентральной стенке проктодеума у входа в клоаку. У индюка медиальное penisное тело не развито.



Рис. 5. Схема строения органов совокупления (*А* – индюка, *Б* – гуся): 1 – латеральное penisное тело; 2 – медиальное penisное тело; 3 – лимфатические складки; 4 – мочеточник; 5 – прямая кишка; 6 – отверстие мочеточника; 7 – копродеум; 8 – сосочек спермиоизвергательного канала; 9 – уродеум; 10 – проктодеум; 11 – половой член; 12 – эякуляторный желоб.

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

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

У гусиных, особенно у селезня, хорошо развит половой член. Он представляет собой складку слизистой оболочки вентральной стенки клоаки, пронизанную пещеристыми телами. По его поверхности винтообразно проходит, делая четыре оборота, эякуляторный желоб. При эрекции половой член селезня может достигать в длину 8 см, края эякуляторного желоба смыкаются, превращая его в канал, по которому сперма попадает в яйцевод утки. Такое строение пениса является приспособительной реакцией организма, направленной на сохранение спермы при спаривании в воде. Через несколько секунд после эякуляции кровь оттекает из пещеристых тел, и половой член втягивается обратно с помощью эластической связки и мышц стенки клоаки.

Глава 4. ПОЛУЧЕНИЕ СПЕРМЫ ОТ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ.

4.1. Получение спермы от производителей в искусственную вагину.

4.1.1. Устройство искусственной вагины.

Искусственная вагина состоит из следующих частей:

1) цилиндра или корпуса, изготовляемого из толстой вулканизированной резины (для быка и хряка), эбонита (для барана), оцинкованного железа или алюминия (для быка, жеребца, хряка);

2) тонкостенной резиновой камеры, поверхность которой с одной стороны – гладкая, с другой – несколько шероховатая. Диаметр камеры для быка и жеребца равен диаметру корпуса, для барана – меньше диаметра корпуса, а для хряка – несколько шире диаметра узкой части корпуса (табл. 1);

Таблица 1. Размеры цилиндров и резиновых камер искусственных вагин (см).

Производитель	Цилиндр		Камера	
	Длина	Диаметр	Длина	Диаметр
Бык:				
российская	30	8	55–65	6,2
европейская	30,35,41	8	65	6,8
Баран	20	4,8 – 5,5	30 – 40	3,3
Хряк	26–41	8	70	6,2
Жеребец	54	13	90	9,3

3) *резиновых колец*, которые используются для крепления камеры на корпусе искусственной вагины для быка, хряка и жеребца; для вагины барана кольца не предусмотрены;

4) *краника эбонитового или полиэтиленового* (его вставляют в отверстие патрубка на корпусе для регулирования давления при нагнетании воздуха в вагину быка, хряка и барана);

5) *спермоприемника* – резервуара, в который попадает сперма после эякуляции. Для вагины быка применяется полиэтиленовый одноразовый спермоприемник; в европейской модели прибора в качестве спермоприемника используется градуированная пробирка (нередко двухстенная). Для барана – спермоприемник одностенный или двухстенный стеклянный. В искусственной вагине для жеребца – спермоприемник резиновый в виде широкого стакана, а для хряка используется специальный пластмассовый спермоприемник или широкогорлая стеклянная банка емкостью 500–1000 мл. При мануальном способе получения спермы от хряка используются сосуды изотермические со специальными мешками с фильтрами;

6) *вкладыша полиэтиленового* – имеется только в вагине для хряка. Вставляется в вагину со стороны спермоприемника и служит для предотвращения полного смыкания стенок резиновой камеры.

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

Для быка имеются несколько моделей искусственных вагин, отличающихся размерами и конструктивными особенностями (рис. 6). Чаще используют искусственную вагину укороченную (длина 30 см). На резиновом корпусе таких вагин (диаметр 8 см) имеется воронкообразный патрубок с отверстием для подачи воды и воздуха.

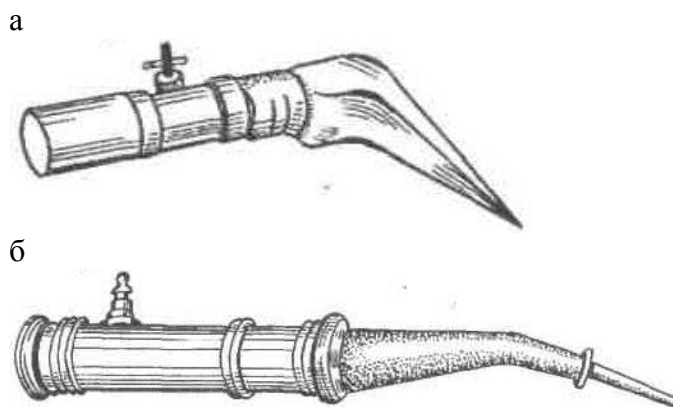


Рис. 6. Искусственная вагина для быка:
 а – укороченная с одноразовым спермоприемником;
 б – европейская модель.

В европейской модели вагины для быка (Minitub) – корпус длиной от 30 до 41 см. Камера из латексной резины, коричневатого цвета; поверхность гладкая или шероховатая; патрубок в корпусе металлический, вместо краника – металлическая закручивающаяся пробка с отверстием для нагнетания воздуха и устройством для герметизации. В качестве спермоприемника используется градуированная пробирка емкостью 15 мл (нередко двустенная); присоединяется спермоприемник при помощи направляющего резинового конуса. Спермоприемник и резиновый конус прикрываются утеплительным чехлом.

Искусственная вагина для барана конструктивно подобна вагине для быка и отличается лишь размерами и устройством патрубков. Для герметичной фиксации в патрубке эбонитовый краник сначала вставляют в отрезок сложенной вдвое толстой резиновой трубки или в резиновую пробку с отверстием и затем в патрубок вагины. Отверстие в пробке для краника легко сделать при помощи специального прибора. Он состоит из набора заточенных трубок различного диаметра. В верхней (укрепленной) части трубок имеется отверстие для металлического стержня, посредством которого вращают трубку и вырезают отверстие в пробке (рис. 7).

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

В моделях приборов для хряков, предложенных в лаборатории А.В. Квасницкого (Полтавский институт свиноводства), цилиндр выполнен из жести;

обогрев электрический или водяной; спермоприемник – пластмассовый. В различных странах (Япония, США и др.) предложен ряд более удобных и совершенных моделей вагин для хряка. Однако в связи с повсеместным внедрением мануального способа получения спермы от хряков искусственные вагины в настоящее время почти не используются.

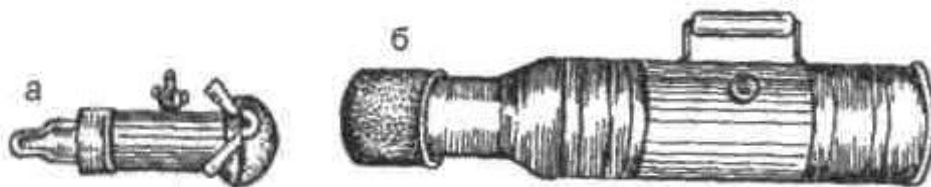


Рис. 7. Искусственная вагина:
а – для барана; б – для жеребца.

Корпус искусственной вагины для жеребца (длина 54 см) имеет суженную часть (горловину), и на нем укреплена скоба для фиксирования рукой при получении спермы. На патрубке для подачи воды навинчивают пробку (возможно с клапаном для выхода воздуха).

4.1.2. Сборка искусственной вагины

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

Камеру вставляют в корпус, заворачивают концы ее и поочередно натягивают на концы цилиндра. Чтобы не было перекосов, после натягивания одного конца

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

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

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

4.1.3. Подготовка искусственной вагины к работе

Подготовка искусственной вагины включает выполнение следующих последовательных работ:

Мытье искусственной вагины производится после каждого получения спермы с помощью протирки 2–3%-ным раствором натрия углекислого или 1–1,5%-ным раствором кальцинированной соды. После этого вагину тщательно ополаскивают чистой горячей водой для удаления остатков соды, затем – дистиллированной и высушивают или насухо вытирают полотенцем.

Стерилизация искусственной вагины

Автоклавирование искусственных вагин проводят при температуре 105°C и давлении 0,3–0,5 избыточных атмосфер в течение 15–20 мин. Перед

автоклавированием на оба конца искусственной вагины надевают полотняные колпаки или закрывают ее концы пергаментной бумагой.

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

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

Стерилизация спермоприемника.

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

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

Заполнение искусственной вагины водой. Вода перед заполнением вагины должна иметь температуру около 60°C, а к моменту получения спермы – 43–45°C. В вагину для быка образца 1942 г. заливают 450–500 мл воды, в

укороченную – 200–300 мл; в вагину для хряка – 300–400 мл, для барана 150–180 мл, для жеребца – 1,5–2,0 л.

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

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

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

В вагине для барана спермоприемник не крепится, но при получении спермы придерживается пальцами. К вагине для жеребца спермоприемник присоединяется одеванием его на узкий конец (горловину); в момент совокупительных движений производителя он удерживается в таком положении рукой. К искусственной вагине для хряка спермоприемник присоединяется при помощи обеззараженного отрезка резиновой камеры с отверстием; отрезок укрепляют на корпусе вагины резиновыми

кольцами. К металлической вагине пластмассовый спермоприемник присоединяется посредством специальной резиновой муфты или же отрезка камеры для вагины барана.

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

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

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

4.1.4. Получение спермы от быка

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

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

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

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

1. Гигиена манекена (животного, чучела). До начала работы животных, на которых получают сперму, необходимо тщательно почистить, чтобы во время садки производителя микроорганизмы с частицами грязи и пыли с них не попадали в воздух, на половой член производителя и в искусственную вагину. Если используют чучело, то его моют теплой водой с мылом, высушивают и обеззараживают 2%-ным

раствором хлорамина. Можно использовать для мытья и обеззараживания раствор перекиси водорода. Обработку чучела проводят обычно сразу после окончания получения спермы.

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

3. Подвязывание стерильного фартука.

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

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

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

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

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

справа и сзади подставного животного или чучела, левой рукой осторожно смещает за препуциальный мешок половой член производителя в правую сторону и направляет его в искусственную вагину, продольная ось которой в этот момент должна совпадать с направлением полового члена. После совокупительного толчка искусственную вагину с полового члена снимают не сразу, а опускают ее с движением быка. После этого, отняв искусственную вагину, нужно перевернуть ее спермоприемником вниз, открыть краник, чтобы выпустить из вагины воздух, дать стечь эякуляту в спермоприемник и отделить его от вагины. От вагины стеклянный спермоприемник отделяют постепенно и осторожно, затем закрывают крышкой. В современной модели прибора полиэтиленовый спермоприемник оставляют на цилиндре вагины и при помощи прибора "Молния" герметизируют в нем полученный эякулят, после чего ножницами отделяют эту часть и передают в лабораторию.

4.1.5. Получение спермы от хряка

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

Нередко используются чучела, представляющие собой простые лавки. На расстоянии примерно 60 см от задней части чучела размещают опоры для передних конечностей хряка. Лавку обивают мягким материалом, а сверху – кожей. При получении спермы на такое чучело искусственную вагину техник держит в руке или же получает сперму мануальным способом. В помещении чучело размещается так, чтобы хряк подходил к нему сзади и с боков, но не спереди. Особое внимание обращают на высоту задней части чучела и наличие удобной для хряка поверхности пола (не скользкой, ребристой).

После садки на чучело хряк делает поисковые движения penisом, при этом все глубже и глубже вводит его в вагину. После нескольких глубоких совокупительных движений он успокаивается и начинает выделять сперму. Хвост у него в это время закручивается кверху, семенники подтягиваются ближе к анальному отверстию, мошонка становится слабо напряженной и несколько отвисшей. После окончания эякуляции хряка удаляют из манежа, искусственную вагину вынимают из чучела, отсоединяют от нее спермоприемник и передают его в лабораторию.

4.1.6. Получение спермы от жеребца

Сперму от жеребца получают на открытой ровной площадке среди двора или под навесом. В холодную дождливую погоду получать сперму лучше в закрытом помещении (манеже) с высоким потолком. Получают сперму на кобылу в охоте. Тазовые конечности ее фиксируют случной шлеей, хвост забинтовывают.

После подготовки кобылы два человека выводят жеребца на поводьях. Спокойных жеребцов может выводить один человек. Как только у производителя хорошо проявится эрекция (пенис приподнимается к брюху), его сразу же пускают на кобылу. Техник по взятию спермы находится с правой стороны кобылы, в нескольких шагах; вагину удерживает в правой руке. Один из его помощников находится с другой стороны и во время садки жеребца должен быстро отвести хвост кобылы в сторону и постоянно удерживать его. Техник в момент начала садки быстро приближается к животным, искусственную вагину прижимает к крупу кобылы, а левой рукой берется за половой член жеребца вблизи головки

(ладонь руки обращена вниз) и направляет его в вагину. Касание рукой полового члена не тормозит половых рефлексов у жеребцов. Не следует только дотрагиваться до головки пениса. Как только половой член производителя попадет в искусственную вагину, ее необходимо прижать обеими руками к крупу кобылы. При этом левая рука фиксирует скобу корпуса, а правая располагается сверху спермоприемника; угол наклона вагины спермоприемником вверх 30–35°. При получении спермы от крупных жеребцов технику помогает удерживать вагину помощник. Жеребец делает мощные совокупительные движения, и чтобы вагина не отходила вперед необходимо особый упор делать на спермоприемник. Эякуляция проявится быстрее, если головка пениса будет достигать суженной части горловины. Здесь возникает необходимое для выделения спермы давление. Во время совокупительных движений необходимо следить за состоянием резиновой камеры вагины. Если возникает опасность срыва ее с цилиндра или нарушения целостности, то немедленно ослабляют пробку патрубка и выпускают немного воздуха; затем опять пробку плотно закручивают. При разрыве камеры воздух и вода выходят из цилиндра и жеребец немедленно прекращает садку.

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

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

4.2. Использование других методов для получения спермы от производителей

Мануальный метод получения спермы от хряка. При получении спермы хряки менее чувствительны к температуре в вагине, чем быки, но для них очень важным является давление. При коитусе необходимое давление создается после введения закрученной головки пениса в сильно складчатый цервикальный канал. В зависимости от состояния мышечной оболочки шейки матки давление в нем периодически изменяется. Соответствующие условия можно симулировать путем обхватывания выдвинутого пениса пальцами руки, на которую одета теплая, смазанная латексная перчатка. Давление, создаваемое рукой, легко вызывает эякуляцию. Этот прием, названный *мануальным методом*, вытеснил традиционный метод искусственной вагины и в настоящее время повсеместно используется для получения спермы.

При этом методе после вскакивания хряка на чучело или свиноматку в охоте и первых начальных движениях полового члена осторожно кладут на него левую руку в перчатке. Когда совокупительные движения хорошо проявятся и половой член окажется выдвинутым полностью, обхватывают головку и плавным движением назад пытаются распрямить естественную ее извитость. Давление усиливают, что вызывает более энергичные совокупительные движения, и вскоре начинается эякуляция. На протяжении всей эякуляции, которая длится 305 с (колебания от 181 до 366 с), давление на головку пениса не должно ослабевать.

После начала эякуляции конечную часть полового члена обычно отводят в сторону и несколько вниз. Сперму собирают в изотермический сосуд со специальным мешком с фильтром. Можно использовать простую стеклянную теплую (температура 30°C) банку. На нее также кладут фильтр (марлевый). Фильтр необходим для отделения густой желеобразной фракции спермы.

Первые порции спермы содержат небольшие количества желатинаподобного вещества, которое остается вблизи головки полового члена, и сразу же выделяется прозрачная или слегка мутноватая фракция. Длительность выделения

первой фракции около 50 с (24–79 с). Ее не собирают, а собирают только последующую фракцию, которая имеет молочно-белую окраску и богата сперматозоидами. Длительность выделения этой фракции – 140 с (от 92 до 195 с). Концентрация сперматозоидов в начале выделения фракции достигает 0,33 – 0,48 млрд/мл, но к концу уменьшается до 0,01 – 0,03 млрд/мл. После основной фракции выделяется в течение 106 с (с колебаниями от 39 до 161 с) третья фракция сероватого цвета; ее также не собирают. К концу эякуляции хряк опять начинает делать совокупительные движения и выделяется при этом желеобразная фракция спермы. Объем фракций составляет соответственно $8,6 \pm 2,0$ мл, $185,7 \pm 21,9$ мл и $116,1 \pm 20,0$ мл. В целом объем эякулята равен $310,4 \pm 30,0$ мл (Медведев Г.Ф., Ходыкин Д.С., 2007).

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

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

Получение спермы от быка с помощью электроэякулятора. В практике иногда возникает необходимость применить метод электроэякуляции. Обычно этим методом получают сперму от молодых, не приученных к искусственной вагине быков для оценки качества их спермы, а в центрах по искусственному осеменению – и от старых, хромых быков, которые не могут сделать садку. Перед получением спермы производителя фиксируют в станке, прямую кишку освобождают от каловых масс и подмывают препуций. При наличии современного прибора зонд с электродами вставляют в прямую кишку и прижимают книзу. После этого делают электрические стимулы в соответствии с рекомендованным инструкцией режимом, при этом напряжение тока постепенно повышают. Вначале при невысоком

напряжении происходит выделение секрета луковичных желез, затем следует обильное выделение секрета пузырьковидных и предстательной желез, и наконец семенная жидкость по каплям стекает по волосам препуция или из отростка уретры выдвинутого полового члена. Обычно сперма выделяется спонтанно, пассивно, но иногда отмечается эрекция пениса и оргазм. В таких случаях эякулят нередко теряется. Оргазм часто сопровождается поворотом головки полового члена вокруг продольной оси. Это же можно наблюдать и при массаже и при получении спермы в искусственную вагину. В момент электроэякуляции сперму собирают как и при ректальном массаже. Объем эякулята чаще больше стандартного.

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

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

Так как пенис при массаже часто не выдвигается и не наступает эрекция, то для предотвращения загрязнения спермы волос вокруг отверстия препуция тщательно подмывают и вытирают насухо. Сперму собирают в чистый стаканчик, подставленный к отверстию препуция, или специальное приспособление, входящее в комплект электроэякулятора.

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

4.2.1. Режим получения спермы от производителей

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

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

От козла сперму берут 2–3 раза в неделю.

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

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

4.3. Получение спермы у самцов птиц

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

Получение спермы от петухов. Петухов изолируют от самок и через 15 – 20 дней начинают приучать к ручному массажу. Перед получением спермы клоаку освобождают от каловых масс и протирают стерильной марлевой салфеткой. Затем

помощник ставит петуха на стол, придерживая левой рукой в области груди. Одновременно ладонью правой руки поглаживает несколько раз спину от последних шейных позвонков до корня хвоста (на поглаживание петух реагирует подниманием хвоста). После этого левой рукой фиксирует конечности петуха и берет его под мышку. Правой рукой нажимает на заднюю часть брюшной стенки петуха, что приводит к выпячиванию клоаки. Техник подставляет стерильный спермоприемник (флакон, широкую короткую пробирку) к клоаке петуха, а другой рукой слегка надавливает на нее с обеих сторон и делает массирующие движения. Это вызывает эрекцию копуляторного органа и эякуляцию. Сперма медленно стекает в подставленный спермоприемник.

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

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

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

Более часто для получения спермы от индюков используют специальные станки. В станке, используемом на птицефабриках СНГ, имеется углубление длиной 25 см, шириной – 22 см, глубиной –12 см. В углублении фиксируют индейку и накрывают ее щитком (30x30 см, высотой 12 см), изготовленным из проволочной сетки. Щиток прикреплен к столу одной из боковых сторон и свободно откидывается. Он предохраняет индейку от травм, которые может нанести самец в момент проявления рефлекса топтания. На столик помещают индюка. При виде самки индюк возбуждается и делает попытку к спариванию. После этого у него слегка массируют мягкую часть живота или вокруг клоаки. Это способствует подготовке половых органов к эякуляции. В момент эрекции и появления копуляторного органа техник большим и указательным пальцами левой руки надавливает на него с боков. В правой руке он удерживает вакуумный или обычный стеклянный спермоприемник, в которые собирается сперма при эякуляции. Выделение спермы происходит обычно через 35–40 с после начала подготовки самца.

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

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

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

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

Глава 5. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СПЕРМЫ

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

К обязательным методам относят: *1) оценку внешних свойств спермы, 2) оценку спермы по густоте и подвижности сперматозоидов и 3) определение концентрации сперматозоидов в сперме.*

Дополнительные методы, используемые для более полной характеристики качества спермы, включают: *1) определение процента морфологически ненормальных сперматозоидов; 2) определение процента живых сперматозоидов путем дифференциальной окраски; 3) определение метаболической активности сперматозоидов (по скорости обесцвечивания метиленовой сини, индексу фруктолиза, показателю рН и др.); 4) определение абсолютного показателя живучести сперматозоидов и др.*

5.1. Обязательные методы оценки качества спермы

5.1.1. Оценка внешних свойств спермы

Оценка внешних свойств свежеполученной спермы производится по следующим критериям: цвету, консистенции, запаху и объему эякулята. **Цвет**

спермы зависит от вида животных и насыщенности сперматозоидами. Чем выше содержание сперматозоидов в сперме, тем более белый цвет ее. Сперма барана белого цвета с желтоватым оттенком, быка – белого или желтоватого, жеребца и хряка – серовато-белого цвета. При наличии буроватого или розового (примеси крови), зеленоватого (примеси гноя) или желтого цвета (примеси мочи) сперма выбраковывается. **Запах** нормальная сперма сельскохозяйственных животных не имеет. Гнилостный или другой запах в ней может быть результатом воспалительного процесса в половых путях, и это дает основание для выбраковки эякулята. **Консистенция**, как и цвет спермы, зависит от концентрации сперматозоидов. Сперма барана сливко- или сметанообразной консистенции, быка – молочной, жеребца и хряка – водянистой. **Объем эякулята** (табл. 2) быка измеряют в смесителе перед разбавлением, а если сперма получена в полиэтиленовый одноразовый спермоприемник – путем взвешивания. Взвешивают на точных весах (типа ВЛК-20, ВЛК-500, Р-2-200 или др.). Масса 1 г спермы принимается за 1 мл.

Таблица 2. Объем эякулятов самцов сельскохозяйственных животных и птиц

Вид производителя	Объем эякулята, мл		
	минимальный	средний	максимальный
Баран	0,6	1	2
Бык	2	4–6	10
Жеребец	20	70–75	300
Хряк	100	250 – 350	500
Кролик	0,2	0,5	2,0
Петух	0,2	0,5	0,6
Индюк	0,2	0,3	0,4
Гусак	0,2	0,5	1,3

В европейской модели вагины объем эякулята определяют по шкале градуированного спермоприемника. При получении спермы в стеклянный двустенный спермоприемник ее предварительно разбавляют 1:1 (добавляют 5 мл среды) и затем переливают в специальный градуированный смеситель и определяют объем. Объем эякулята барана измеряют с помощью пипетки или по делениям в одностенном спермоприемнике. Объем эякулята жеребца и хряка определяют в мерных мензурках или цилиндрах, изотермических сосудах, предварительно

профильтровав сперму через четырехслойный марлевый или специальный (для хряка) фильтр. Мерная посуда должна быть сухой, стерильной и подогретой до температуры свежеполученной спермы.

5.1.2. Оценка спермы по густоте и подвижности сперматозоидов

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

Исследование проводят при температуре 38–40°C, для чего пользуются специальными термостатами или обогревательными столиками (конструкции Морозова или Пакенаса) с автоматическим регулированием температуры. Обогревательный столик помещают на предметный столик микроскопа. При помощи макровинта приближают объектив (увеличение 80 – 120х) к предметному столику микроскопа на расстояние 4–5 мм и устанавливают необходимое освещение. Обычно пользуются электрическим осветителем ОИ-35, либо МКИ-11, а при отсутствии осветителя – осветительным зеркалом. В таких случаях микроскоп необходимо расположить напротив хорошего источника света (окно помещения, лампа дневного света и т. д.). Равномерность и сила освещения

достигается за счет приподнимания или опускания конденсора микроскопа и прикрытия диафрагмы. Для улучшения видимости сперматозоидов желательно использовать конденсор темного поля ОИ-10, в поле зрения отчетливо просматриваются ярко светящиеся контуры половых клеток на темном фоне.

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

Густота спермы определяется по количеству сперматозоидов, наблюдаемых в поле зрения микроскопа. Такая оценка проводится с целью получения предварительных данных о содержании половых клеток в сперме и о необходимости дальнейшей ее оценки. Наиболее хорошо она разработана для спермы быка и барана. Имеет самостоятельное значение лишь в том случае, когда по какой-либо причине не определяют концентрацию сперматозоидов. Классифицируют сперму как густую, среднюю и редкую (табл. 3).

Таблица 3. Зависимость густоты спермы от концентрации сперматозоидов

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

Густая сперма – все поле зрения заполнено сперматозоидами без промежутков между ними (обозначается буквой Г). **Средняя сперма** – промежутки между сперматозоидами имеются, но они не превышают размеров одного сперматозоида (обозначается буквой С). **Редкая сперма** – промежутки между сперматозоидами превышают размеры спермия (обозначается буквой Р). **Олигоспермия** – в поле зрения имеются единичные сперматозоиды (обозначается

буквой О). *Аспермия* – в поле зрения сперматозоиды отсутствуют (обозначается буквой А). По густоте спермы приблизительно судят о концентрации сперматозоидов.

К использованию допускается сперма быка, жеребца и хряка с оценкой “густая” и “средняя”, сперма барана – только “густая”.

5.1.3. Оценка спермы по подвижности (активности) сперматозоидов

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

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

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

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

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

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

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

1 балл – слабое волнообразное или колебательное движение сперматозоидов.

0 баллов – отсутствие в мазке подвижных сперматозоидов.

Для предприятий по искусственному осеменению Республики Беларусь инструкцией (1998 г.) рекомендуется при оценке спермы быка по подвижности не сразу выбраковывать густые эякуляты, в которых сперматозоиды проявляют слабое движение. Возможно, что в момент эякуляции половые клетки не успевают полностью выйти из состояния анабиоза. Поэтому капельку такой спермы необходимо разбавить одной – двумя капельками натрия цитрата, подогретого до 38–40°C, затем провести оценку в нескольких полях зрения и сделать окончательное заключение о пригодности спермы к использованию.

В крупных центрах по искусственному осеменению ряда стран используют современное оборудование, позволяющее определять концентрацию и подвижность сперматозоидов (включая прямолинейное поступательное и манежное движение), а также их морфологию. Имеется уже три поколения систем автоматического компьютерного анализа спермы. В системах первого и второго поколения не дифференцируются клеточные фрагменты от неподвижных сперматозоидов. Поэтому необходимо проводить раствор через мембранные фильтры 0,2 μ . Системы третьего поколения анализируют каждый объект (клетку) до хвоста и если не обнаруживают его, то не включают в общее количество. Использование этих систем позволяет повысить точность оценки качества спермы и ее оплодотворяющую способность.

5.1.4. Определение концентрации сперматозоидов в сперме

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

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

Исследуемую сперму необходимо разбавить дистиллированной водой или 3%-ным раствором натрия хлорида. Для этого используются смесители (меланжеры). Смесители должны быть чистыми и сухими. Поэтому после использования их промывают многократно дистиллированной водой, а затем 96%-ным спиртом и эфиром (1:1) и высушивают путем продувания воздуха резиновым баллоном или шарами Ричардсона. Для удобства в работе каждый смеситель присоединяют к резиновой трубке (15–20 см), к другому концу которой присоединен кусочек зашлифованной стеклянной трубки. Перед использованием кончик пипетки смесителя обеззараживают спиртовым тампоном. Обеззараженную часть пипетки слегка погружают в сперму, берут в рот кончик резиновой трубки (отрезок стеклянной трубки) и осторожно набирают сперму до нужной метки.

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

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

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

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

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

Концентрацию сперматозоидов вычисляют по формуле:

$$C = \frac{N \times D \times 4000 \times 1000}{n}$$

С – концентрация сперматозоидов; N – количество подсчитанных сперматозоидов; D – степень разбавления спермы водой; n – количество малых квадратов, в которых производился подсчет (80); 4000 – количество малых квадратов в одном мм³; 1000 – мм³ в одном см³.

Удобнее пользоваться упрощенными формулами, которые получены из приведенной выше:

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

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

в) формула для расчета концентрации спермы жеребца и хряка: $C = N/1000$,

где С – концентрация сперматозоидов в сперме, млрд/мл; N – количество сперматозоидов, подсчитанных в пяти больших (80 малых) квадратах.

Определение концентрации сперматозоидов методом сравнения со стандартами. Стандарты представляют собой запаянные пробирки, в которых

находится похожая на сперму жидкость (раствор сернокислого бария). Содержимое каждой пробирки имеет внешний вид и оптическую плотность, соответствующие сперме различной концентрации. В наборе стандартов для спермы быка имеются образцы, соответствующие концентрации 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2 и 1,4 млрд/мл, для жеребца – 10, 50, 100, 200, 300 и 500 млн/мл.

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

Определение концентрации сперматозоидов с помощью фотоэлектроколориметра или специальных электронных счетчиков.

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

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

Сперму быка разбавляют в 100 раз, взяв 0,1 мл спермы и 10 мл цитрата натрия.

Сперму барана разбавляют в 400 раз, взяв 0,025 мл спермы и 10 мл цитрата натрия.

Сперму хряка разбавляют в 30 раз, взяв 0,4 мл спермы и 12 мл цитрата натрия.

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

При взятии проб спермы необходимо стремиться к высокой точности. Пробы следует отбирать только микропипетками или пипеточными дозаторами из середины свежеполученных эякулятов, не допуская попадания пены или вазелина. Перед внесением пробы спермы в раствор микропипетки следует вытирать снаружи чистой марлевой салфеткой для удаления излишней спермы. Температура 2,9%-ного раствора цитрата натрия должна быть в пределах +20–25 °С.

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

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

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

Определив концентрацию отобранных эякулятов и исследовав их на приборе, строят калибровочную кривую. Для этого откладывают в определенном масштабе (лучше на миллиметровой бумаге) по горизонтальной оси известные показатели

концентрации, а по вертикальной оси – соответствующие им величины оптической плотности, выявленные по прибору. На месте пересечения этих величин ставят точки, затем проводят калибровочную кривую с таким расчетом, чтобы она охватила большинство точек.

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

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

Наиболее точно определить концентрацию сперматозоидов в сперме можно *с помощью специальных электронных счетчиков*. В этих приборах разбавленная сперма пропускается через капилляр так, что между электродами проходит только один сперматозоид. Головка его вызывает резкое увеличение сопротивления и это регистрируется счетчиком.

5.2. Дополнительные методы оценки качества спермы

5.2.1. Определение процента живых сперматозоидов путем дифференциальной окраски

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

На край обезжиренного предметного стекла наносят дозатором пипеточным (стеклянной палочкой, глазной пипеткой) маленькую каплю свежеполученной

спермы и рядом с ней – капельку 5%-ного водного раствора эозина. Обе капельки быстро смешивают стеклянной палочкой (уголком шлифованного стекла) и делают тонкий мазок. Для этого прижимают торцевой гранью шлифованное стеклышко к предметному стеклу и подводят его под углом 35–40° к капле так, чтобы она растеклась сзади него на всю ширину грани. Придерживая в наклонном положении шлифованное стеклышко большим и указательным пальцами, быстро, но плавно тянут каплю вдоль предметного стекла к другому краю; при этом капля равномерно размазывается сзади стеклышка. Мазок получается ровным, если указательный палец, фиксирующий шлифованное стеклышко, опустить несколько ниже грани предметного стекла и двигать по ней. Важно, чтобы мазок был тонким (заканчивался на расстоянии 0,5–1 см от края предметного стекла), в таких случаях он быстро высохнет. Чтобы ускорить высыхание, его следует положить на обогревательный столик или пластину (45–55°) и обдувать потоком теплого воздуха (можно использовать электрофен бытовой).

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

5.2.2. Определение процента патологических (морфологически ненормальных) сперматозоидов

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

пропускают ненормальных сперматозоидов), или же с неспособностью таких клеток вызвать оплодотворение и последующее развитие зародыша.

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

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

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

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

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

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

Если сперма хранилась несколько часов, то можно нанесенную на предметное стекло каплю спермы накрыть вторым таким же стеклом и плавно, и ровно протянуть его по первому. Мазки высушивают при температуре 36–37°C в термостате, а затем фиксируют на пламени или погружением на 1–2 мин в стаканчик с 96%-ным этиловым спиртом. После фиксации производят окрашивание. Используют различные красители. Хорошие результаты получают при двойном окрашивании анилиновым генцианвиолетом и карболовым фуксином Циля (для получения лучших результатов карболовый фуксин надо время от времени фильтровать). Хранить обе краски можно бесконечно.

Фиксация мазков после высушивания не требуется. Высушенные мазки окрашивают в течение 2 мин анилиновым генцианвиолетом и сразу же промывают проточной, затем дистиллированной водой и высушивают. После этого дополнительно окрашивают карболовым фуксином в течение 10–15 с или дольше, в зависимости от желательной интенсивности окрашивания; промывают проточной водой, потом дистиллированной и высушивают.

Из каждого образца спермы готовят 2–3 мазка, исследуют под микроскопом с иммерсионной системой и в каждом из них просматривают 100–200 сперматозоидов. Это дает более надежные результаты, чем просмотр большего количества клеток (до 500) в одном мазке. При подсчете ненормальных сперматозоидов придерживаются какой-либо классификации. Проще всего

аномалии в структуре сперматозоидов классифицировать по измененным частям их: аномалии в области головки, шейки, средней части (тела) и хвоста (рис. 8).

Головки могут быть двойными, конусообразными и грушевидными, круглыми, сморщенными, большими, узкими, удлиненными, уменьшенными, асимметричными.

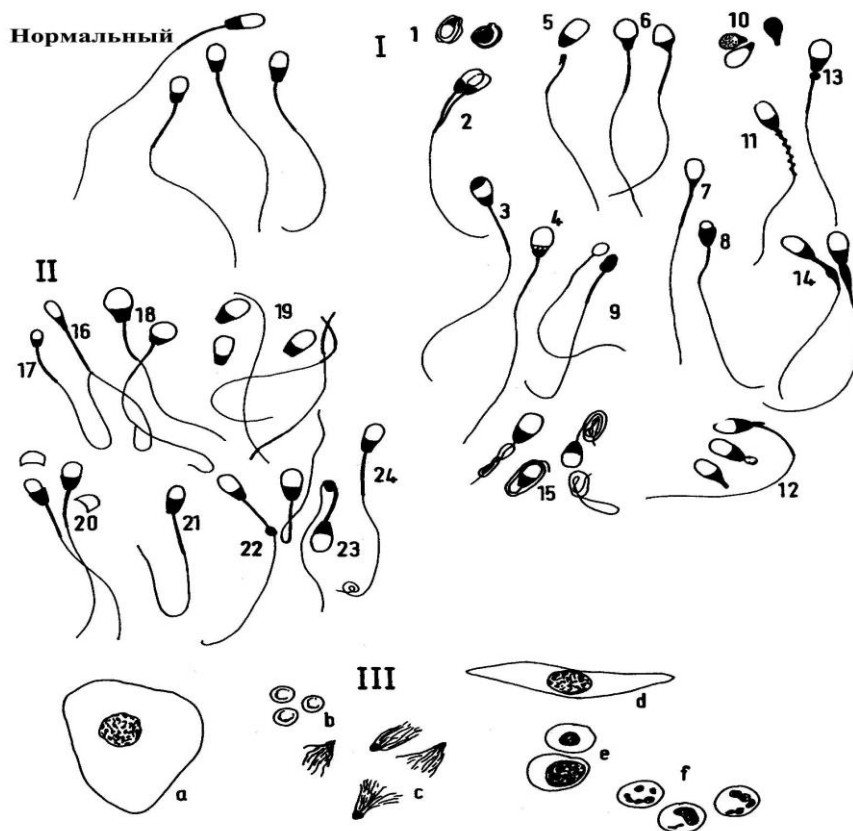


Рис. 8. Классификация патологических форм сперматозоидов в зависимости от степени влияния их на плодovitость.

Главные дефекты (I): 1 – несформировавшиеся клетки; 2 – сдвоенные; 3 – дефект акросомы (шишковидный сперматозоид); 4 – «корона» дефект; 5 – отделенная головка (хвост активный); 6 – грушевидные формы; 7 – головка с суживающимся основанием; 8 – головка с ненормальными очертаниями; 9 – маленькая ненормальная головка; 10 – отделенные ненормальные головки; 11 – штопорообразное тело; 12 – дополнительный хвост, культявидное тело; 13 – проксимальная цитоплазматическая капля; 14 – псевдокапелька, утолщение тела; 15 – извитой или сильно сложенный хвостик, дефект (клок свалывшейся шерсти). Второстепенные дефекты (II): 16 – узкая головка; 17 – маленькая нормальная головка; 18 – гигантская и короткая широкая головка; 19 – отделенные нормальные головки; 20 – отделенные акросомы; 21 – асимметричное прикрепление тела и хвоста; 22 – дистальная цитоплазматическая капля; 23 – правильно изогнутый хвост; 24 – закрученный кончик хвоста. Другие клеточные элементы (III): а – эпителиальные клетки; б – эритроциты; в – медузоподобные образования; д – ладьевидные клетки; е – мононуклеарные лейкоциты; ф – нейтрофилы

Наиболее частые *аномалии шейки*: сломанные шейки, бесхвостые головки. *Аномалии тела*: изогнутые, разорванные, удлинённые, утолщенные, двойные, нитевидные и рудиментарные, а также ненормальное прикрепление тела к головке. *Аномалии хвостика*: извитые, двойные, сломанные, изогнутые, закрученные и срезанные.

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

5.2.3. Определение метаболической активности сперматозоидов

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

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

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

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

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

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

Установлена зависимость оплодотворяющей способности спермы от степени сохранения подвижности сперматозоидов при стандартных условиях (например, при температурах, близких к 0°C). В.К. Миловановым был предложен метод, который позволяет одновременно проследить за характером снижения подвижности сперматозоидов в течение всего срока хранения, определить максимальную продолжительность жизни отдельных сперматозоидов и найти оптимальную степень разбавления. В настоящее время степень разбавления спермы варьирует в более узких пределах, чем было предусмотрено автором, поэтому метод этот в полном объеме не используется. Достаточно исследовать сперму после

стандартного разбавления: от 100–125 до 150–187 млн. сперматозоидов в мл из расчета получения 10–15 млн. подвижных клеток в грануле или соломинке после оттаивания.

Для исследования 1–2 мл разбавленной спермы оставляют в холодильнике при 2–4°C и ежедневно определяют подвижность сперматозоидов при температуре 38–40°C до полной их гибели. Суммируя все произведения времени (в часах), в течение которого наблюдалась та или иная подвижность, на активность сперматозоидов (в баллах), вычисляют абсолютный показатель живучести (табл. 4).

Таблица 4. Образец записи результатов исследования спермы

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

Для спермы барана высокого качества он должен быть не ниже 1600, для спермы быка – 1000–1400, для спермы жеребца – 400–730. Максимальная продолжительность жизни для сперматозоидов (в часах) – для быка не менее 200, для барана – 250 и жеребца – не менее 300. В сперме хряка, разбавленной средой для долгосрочного хранения при температуре 17 – 18°C, сперматозоиды могут сохранять подвижность в течение двух – трех недель.

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

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

5.2.5. Определение сперматозоидов с поврежденной акросомой

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

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

В фазово-контрастном микроскопе освещение устроено по методу светлого поля. Но в нем имеются: 1) дополнительная (кольцевая) осветительная диафрагма, которая помещается под конденсором (в его передней фокальной плоскости) и 2) фазовая пластинка из вещества, поглощающего свет и вносящего определенный сдвиг фаз; фазовая пластинка помещается в задней фокальной плоскости объектива, где изображается и кольцевая диафрагма. Изображения диафрагмы и фазовой пластинки (вследствие соответствия их размеров) совмещаются. Весь свет, не прошедший через объект, проходит через фазовую пластинку. Луч, прошедший через объект, распадается (подвергается дифракции) на пучки света (убывающей интенсивности), выходящие из объекта под разными углами. Этот дифрагированный свет проходит через весь зрачок объектива, в основном вне изображения кольцевой диафрагмы. Два пучка лучей – один от объекта, другой от

среды, в которой находится объект, – соединяются, преобразуя при этом фазовые изменения, обусловленные объектом, в амплитудные (различной интенсивности). В результате получается видимое, фазово-контрастное изображение структуры объекта, в котором распределение яркостей (амплитуд) воспроизводит фазовый рельеф.

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

Замороженную сперму быка оттаивают и разбавляют 10%-ным раствором желатины в отношении 1:1 для создания повышенной вязкости и снижения интенсивности движения сперматозоидов. Каплю разбавленной спермы (0,03 мл) наносят на предметное стекло дозатором пипеточным (Пастеровской пипеткой) и накрывают покровным стеклом. Сперму за пределами стекла удаляют при помощи фильтровальной бумаги. Приготовленные мазки немедленно исследуют под микроскопом БИОЛАМ, оснащенный окуляром 15х и объективом 40х и конденсором ОИ-10. Необходимый уровень освещения обеспечивается при помощи осветителя ОИ-19.

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

На этом фоне можно отчетливо различить три категории клеток:

– сперматозоидов с ярким свечением всего контура головки, иногда с утолщенным передним краем – это биологически полноценные клетки с неповрежденной акросомой; у таких сперматозоидов ярко светятся также тело и хвост (рис.9);

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

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

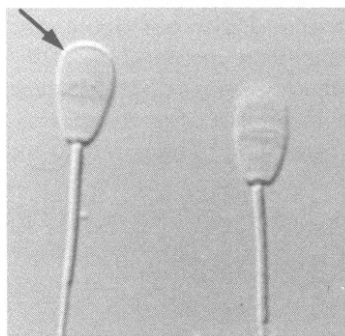


Рис. 9. Слева: сперматозоид с нормальной акросомой (показана стрелкой) и поврежденной.

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

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

5.2.7. Оценка качества спермы птиц

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

У индюка *густая сперма* имеет консистенцию сметаны, в 1 мл содержит 8 млрд. сперматозоидов или более. Она почти не стекает по желобку копуляторного

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

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

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

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

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

3 балла – движение спокойное поступательное;

4 балла – слабое (ленивое) замирающее движение;

5 баллов – слабое колебательное движение;

6 баллов – сперматозоиды неподвижные.

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

Глава 6. ВЛИЯНИЕ НА СПЕРМАТОЗОИДЫ ФИЗИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Влияние высокой и низкой температуры. В выделенной сперме, имеющей температуру 38,5°C, сперматозоиды проявляют высокую метаболическую активность и подвижность. При повышении температуры до 41–43°C подвижность их возрастает, а скорость гликолиза в сперме быка достигает максимума при 43–46°C. При температуре около 50°C происходит денатурация белка и другие

необратимые изменения, которые приводят к гибели клеток. Продолжительность жизни сперматозоидов при температуре выше 20°C ограничена несколькими часами. Это связано с быстрым расходом ими ряда химических соединений и неспособностью восстанавливать или поглощать их из внешней среды.

При понижении температуры интенсивность движения сперматозоидов уменьшается, а при температуре 7°C они приостанавливают свои движения. Интенсивность метаболических процессов снижается, но полностью они не прекращаются и протекают еще на достаточно высоком уровне (состояние анабиоза). Продолжительность сохранения оплодотворяющей способности сперматозоидов при таких температурах (0–5°C) увеличивается до нескольких дней.

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

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

Влияние растворов с различным осмотическим давлением. Осмотическое давление спермы определяется количеством растворенных в плазме веществ: минеральных и органических. Выражается осмотическое давление в атмосферах;

колеблется в пределах 6,7–8,7 атм. Определяется этот показатель на основании величины депрессии, т.е. точки замерзания, которая для спермы животных равна примерно минус 0,6°C, и исходя из правила, что раствор, содержащий в 1 л грамм-молекулу не электролита, дает депрессию минус 1,86°C и имеет осмотическое давление 22,4 атм. Для получения равных по осмотическому давлению сперме растворов (изотонических) необходимо брать 1/3 грамм-молекулы не электролита на 1 л дистиллированной воды. Если берется электролит, то количество вещества уменьшается во столько раз, на сколько ионов диссоциирует его молекула. Например, для приготовления изотонического раствора натрия хлорида необходимо взять не одну треть, а одну шестую грамм-молекулы, т.е. 58,5:6.

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

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

Для перевода клеток в активное состояние температура должна быть тем выше, чем ниже рН. Так, в слабощелочной среде (рН 7,6) сперматозоиды

двигаются при температуре 15–20°C, а при рН 6,0 движение их проявляется только при 35–40°C. При рН 4,5 одного повышения температуры уже недостаточно, чтобы вывести сперматозоидов из анабиоза, требуется одновременное повышение температуры и подщелачивание среды. Длительное воздействие на сперматозоидов среды с более низким значением рН приводит к их гибели. Слабые органические кислоты проявляют губительное действие и при рН выше 5,0. Так, при температуре 4°C молочная кислота может необратимо иммобилизовать сперматозоидов уже при рН 6,0.

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

Глава 7. РАЗБАВЛЕНИЕ СПЕРМЫ

7.1. Состав сред и значение разбавления спермы

Значение разбавления спермы. Разбавление спермы позволяет увеличить объем эякулята и осеменить больше самок, а также сохранить жизнеспособность и оплодотворяющую способность сперматозоидов вне организма.

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

поддерживать оптимальное равновесие минеральных веществ, необходимых для жизнедеятельности сперматозоидов, и иметь осмотическое давление, равное (изотоническое) крови самца;

предохранять сперматозоиды от температурного шока и предотвращать или ослаблять губительное влияние на них процессов, происходящих в замораживаемой или оттаиваемой сперме;

способствовать сохранению плазматической мембраны и акросомы, препятствовать агглютинации сперматозоидов;

снижать активность метаболических процессов в сперматозоидах при хранении при относительно высоких температурах (4 – 20°C);

защищать сперматозоиды от токсических продуктов, образующихся в процессе метаболизма;

предупреждать развитие микроорганизмов, которые губительно действуют на сперматозоиды и половой тракт самок.

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

Для приготовления сред используют следующие вещества.

Натрия цитрат ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – трехзамещенный, пятиводный). Белые прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок, слабощелочного, солоноватого вкуса. Обладает хелатными свойствами (активно связывает ионы кальция и тяжелых металлов и уменьшает содержание их в среде) и понижает набухание и проницаемость мембраны сперматозоидов, предохраняя их от потери электрического заряда и агглютинации; рассеивает жировые шарики в желтке так, что при оценке разбавленной спермы под микроскопом можно наблюдать за отдельными сперматозоидами; вместе с другими компонентами создает необходимое осмотическое давление и pH среды.

Натрия цитрат ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – трехзамещенный двухводный), идентичен $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

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

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

Белые крупные кристаллы.

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

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

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

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

Все эти соли подобно натрий цитрату связывают ионы кальция и оказывают благоприятное действие на состояние и целостность мембран сперматозоидов, создают необходимое осмотическое давление и pH среды.

Натрия хлорид (NaCl). Мелкокристаллический порошок или таблетки массой 0,9 г.

Калия хлорид (KCl). Белый мелкокристаллический порошок.

Кислота лимонная ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Белый кристаллический порошок, хорошо растворим в воде.

Трис-буфер (2-амино-2-гидроксиметил-1,3-пропандиол).

Мелкокристаллический белый порошок. Устойчиво удерживает первоначальную величину pH среды, обладает осмотическим действием, хорошо проникает через клеточную мембрану. Он способен соединяться с H^+ и CO_2 и устранять явления дыхательного ацидоза клеток и может заменить в средах глюкозу и натрия цитрат.

Глюкоза (виноградный сахар, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Белый гигроскопичный порошок сладкого вкуса.

Фруктоза (гексоза, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Белый порошок сладкого вкуса.

Сахароза (тростниковый сахар, $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$). Представляет собой белые кристаллы, сладкие на вкус.

Лактоза (молочный сахар – $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$). Белые кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, со слабым сладким вкусом, растворимы в воде. Хранят в бытовом холодильнике при температуре 5°C .

Глицин (аминоуксусная кислота, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$). Белый мелкокристаллический порошок, слабого специфического запаха и сладковатого вкуса.

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

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

Желток куриных свежих (1–2 дня!) *яиц*. Содержит: глюкозу, которая используется сперматозоидами раньше, чем фруктоза плазмы спермы, различные протеиды, водорастворимые и жирорастворимые витамины, каротин, холестерин и другие вещества, стимулирующие активность дегидрогеназ сперматозоидов. Лецитин желтка защищает сперматозоиды от температурного шока, а ряд других веществ и соединений могут служить в качестве окислительных субстратов, предохраняющих сульфгидрильные группы ферментов и антагглютинин от разрушения. Желток имеет слабокислую реакцию (рН 6,0–6,3). Обычно она нейтрализуется введением в среду лимоннокислого натрия. В среды для спермы быка и барана желтка включают 12,5–20,0%. Оптимальным количеством для спермы хряка и кролика является 3–5%, а для жеребца – менее 1% желтка.

Глицерин ($\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$). Простейший трехатомный спирт; представляет собой густую, прозрачную, бесцветную, гигроскопичную жидкость. Легко смешивается с водой или этиловым спиртом в любых пропорциях. При

охлаждении до -196°C затвердевает без образования кристаллов льда. Таким же свойством обладают и растворы с концентрацией его 70% или более. Точка замерзания растворов даже с небольшим содержанием глицерина понижается, а объем их уменьшается. Введенный в среды для замораживания спермы глицерин уменьшает опасность образования кристаллов льда и механического повреждения ими сперматозоидов, способствует снижению давления на клетки и препятствует сильному повышению концентрации растворенных веществ при образовании кристаллов льда из воды. Глицерин используется сперматозоидами путем окисления для образования энергии, а в аэробных условиях восполняет содержание фруктозы. Вносится он в количестве от 3 до 10 мл на 100 мл среды.

Бактериостатические вещества – пенициллин, стрептомицин, гентомицин, тилозин, линкомицин, спектиномицин, стрептоцид белый растворимый или комбинированные препараты: спермосан-3, спермосан ППК, полиген, комбиспермосан ЛАП и др. Все антибиотики должны быть проверены на безвредность для сперматозоидов.

При хранении спермы возможно развитие в ней микроорганизмов. Попадают они в момент получения или обработки спермы. Размножаясь, микроорганизмы выделяют в среду продукты обмена, которые отрицательно сказываются на выживаемости сперматозоидов. При осеменении внесенные со спермой в половые пути самки микроорганизмы могут препятствовать оплодотворению или развитию беременности. Особенно большую опасность представляет загрязнение спермы возбудителями специфических половых инфекций. Для предупреждения размножения микроорганизмов в сперме и инфицирования спермы вносят сульфаниламиды и антибиотики.

Среды готовят на *дистиллированной* (желательно дважды *дистиллированной*) воде. Проводить дистилляцию необходимо в цельностеклянном дистилляционном аппарате, чтобы вода не соприкасалась металлическими деталями. Хранят в закрытых стеклянных сосудах.

Среды для разбавления спермы быка. Сперму быка хранят при температуре – 196°С (в жидком азоте), иногда при 0..5°С и при комнатных температурах. Разбавляют сперму средами, состав которых зависит от технологии расфасовки и хранения. Многие среды запатентованы.

При замораживании спермы (в гранулах и соломинах) разбавление проводят ЛЖГ (лактозо-желточно-глицериновой) средой или ЛЖЦГ (лактозо-желточно-цитратно-глицериновой). В ее составе:

Вода дистиллированная	100 мл	100 мл
Лактоза	11,5г	10,5 г
Натрия цитрат	–	0,2 г
Желток куриных яиц	20 мл	20 мл
Глицерин	5 мл	5 мл
Спермосан-3	50 тыс. ЕД.	50 тыс. ЕД

Многие организации по искусственному осеменению используют двухфракционные среды и сперму разбавляют дважды. Не содержащая глицерина фракция А используется для начального разбавления и охлаждения спермы, вторая фракция В с удвоенным содержанием глицерина добавляется после того, как сперма охлаждена до +5°С. Введение глицериновой фракции после охлаждения уже разбавленной спермы предотвращает возможные повреждения сперматозоидов и обеспечивает проявление действия антибиотиков. Наиболее простая среда – желточно-цитратно-глицериновая (ЖЦГ), состоящая из двух фракций:

Фракция А

Цитратный буфер 2,9%-ный	400 мл
Желток свежих (1–2 дня) куриных яиц	100 мл

Фракция В

Цитратный буфер.....	330 мл
Желток.....	100 мл
Глицерин.....	70 мл

Финальное соотношение фракции А + сперма и фракции В – 1:1. При таком соотношении содержание компонентов (в %) в смеси: *буфер цитратный – 73,*

желток – 20 и глицерин – 7. В эту среду (в одну или обе фракции) можно включать фруктозу или глюкозу; конечная концентрация в среде от 1 до 1,25%. ЖЦГ среда должна иметь рН 6,8–6,9 и осмотическое давление 285–300 миллиосмомолей.

Медведев Г.Ф. и Гуминская Е.Ю. (2007) предложили модифицированную *цитратно–лактоза–желточно–глицериновую среду (ЦЛЖГ)*. В состав этой среды входят: натрия цитрат 3-замещенный 2-водный ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), лактоза (химически чистая $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$), желток куриных яиц (1–2 дня) и глицерин.

Ф р а к ц и я А среды

Цитратный буфер с концентрацией 2,9% – 100 мл

Лактоза – 3,58 г

Желток куриных яиц – 25 мл

Смесь антибактериальных веществ – 2 мл

Ф р а к ц и я Б среды

Цитратный буфер с концентрацией 2,9% – 82,5 мл

Лактоза – 3,58 г

Желток куриных яиц – 25 мл

Глицерин – 17,5 мл.

В двух мл стерильного водного раствора антибактериальных веществ должно содержаться 10 мг тилозина тартрата, 50 мг гентамицина и 30/60 мг линкоспектина. Осмотическое давление среды – 335–380 миллиосмомолей, рН 6,9–7,0.

В предыдущие годы широко использовалась *молочная среда*. Так, в США в 1992 г. 1/4 часть всей спермы была разбавлена молочной средой. Единственный серьезный недостаток этой среды – это наличие оптически различимых жировых шариков, которые затрудняют оценку подвижности сперматозоидов.

Готовят две фракции среды.

Фракция А

Прогретое молоко 500 мл

Фракция Б

Прогретое молоко430 мл

Глицерина70 мл

Молочная среда должна иметь рН 6,5–6,6 и осмотическое давление 260–290 среды миллиосмолей.

Сперму быка можно хранить и при температуре +2...5°C в течение 72 ч, разбавив *глюкозо-цитрато-желточной средой*.

Вода дистиллированная	100 мл
Глюкоза	3 г
Натрий лимоннокислый	1,4 г
Желток куриных яиц	20 мл
Спермосан-3	75–90 тыс. ЕД.

В США широко использовалась *желточно-фосфатная среда*: фосфатный буфер и желток куриных яиц в соотношении 1:1.

Фосфатный буфер (рН 6,7–6,8) содержит в 100 мл дистиллированной воды 0,2 г KH_2PO_4 и 2,0 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Смесь подогревается в кипящей водяной бане до растворения солей. Хранится при температуре 15°C. Перед использованием добавляется необходимое количество желтка.

Рекомендуется и другая среда – *Cornell University Extender*: буфер – 80% (объема), желток – 20% (объема), пенициллина – 1000 ед и стрептомицина – 1000 ед.

Натрия лимоннокислого ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	14,5г
Натрия бикарбоната	2,1г
Калия хлорида	0,4 г
Глюкозы	3,0 г
Глицина	9,4 г
Лимонной кислоты	0,9 г
Сульфаниламида (стрептоцида)	3,0 г
Дистиллированной воды	до 1 л

В Новой Зеландии широко практикуется хранение спермы в течение трех дней при комнатных температурах (18–24°C). Осеменение скота сезонное – с середины сентября до декабря. Осеменяют ежегодно до 1,8 млн. животных. В 1991 году спермой быка голштинской породы *Crocketts Trevor* было проведено в течение трех месяцев 380000 осеменений.

Для разбавления спермы используют *желточно-цитратную* среду, в основу которой положен цитратный буфер. Среду насыщают азотом и добавляют капроновую кислоту.

Натрия лимоннокислого ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	14,5 г
Глюкозы	0,3%
Глицина	1,0%
Глицерина	1,25%
Капроновой кислоты.....	0,03125%
Сульфацетамида.....	0,01%
Воды дважды дистиллированной.....	до 100 мл

Желток, пенициллин и стрептомицин добавляют в среду перед использованием. Содержание желтка после разбавления – 5%. Сперма разбавляется нередко из расчета 2 млн. сперматозоидов в дозе (0,5 мл), но чаще ее расфасовывают в соломины объемом 0,25 мл. Добавление каталазы 20 мкг на 1 мл среды повышает оплодотворяемость на 1–2%. Каталаза разрушает образующуюся в процессе метаболизма сперматозоидов перекись водорода.

Среды для разбавления спермы барана и козла. Для хранения спермы при температуре +2...+4°C в течение одного–двух дней применяют *глюкозо-цитрато-желточную* среду в составе:

- Вода дистиллированная – 100 мл
- Глюкоза – 0,8 г
- Натрий лимоннокислый – 2,8 г
- Желток куриных яиц – 20 мл
- Спермосан-3 – 50–75 тыс. ед.

В США для разбавления спермы используют желточно-цитратный или желточно-фосфатный буфер. *Цитратный буфер* готовят из расчета 36 г трехзамещенного пятиводного ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5^{1/2}\text{H}_2\text{O}$) или 30 г двухводного ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) цитрата натрия в 1 л дистиллированной (ультрачистой) воды. *Фосфатный буфер* готовят растворением 2 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ и 0,2 г KH_2PO_4 в 100

мл дистиллированной (ультрачистой) воды. Раствор стерилизуют и добавляют к нему 20 % (к объему) желтка свежего куриного яйца (в момент разбавления спермы).

Замораживание спермы барана практикуется реже, чем спермы быка. Это связано с недостаточно стабильными результатами осеменения маток замороженной спермой, а также с особенностями организации искусственного осеменения в овцеводстве и сроках его проведения. Для разбавления и замораживания рекомендуется ряд синтетических сред.

Состав лактозо-желточной (ЛЖ) среды

Вода дистиллированная.....	100 мл
Лактоза.....	12 г
Желток.....	20 мл

Состав ЛЖГТЦГ-среды

Лактоза	14,5 г		
Гуммиарабик	6,0 г		
Желток.....	20 мл		
Глицерин.....	17,0	мл	Трис-(оксиметил)-
аминометан	0,6 г		
Лимонная кислота	0,27 г		
Спермосан-3	25 тыс. ЕД.		
Вода дистиллированная	100 мл		

Состав среды ВИКА

Сахароза.....	9,84 г
Натрий-кальциевая соль ЭДТА.....	0,84 г
Желток.....	10 мл
Глицерин.....	5,0 мл
Токоферол (25-30%-ный масляный раствор)....	2,0 мл <i>или</i>
Ди-трет-бутил-крезол (ДТБК).....	0,05 г
Спермосан-3.....	25 тыс.ЕД.
Вода дистиллированная.....	до 100 мл

Состав ГЖУК-трис-буферной среды

Лактоза.....	8,4 г
Ксилит.....	0,26 г
Хелатон-3.....	0,135 г
Желток.....	20 мл
Глицерин.....	6,0 мл
Трис-(оксиметил)-аминометан.....	0,105 г
Декстрин.....	5 г
Спермосан-3 или ППК.....	25 тыс. ЕД.
Вода дистиллированная.....	100 мл

Для разбавления и замораживания спермы барана рекомендуется и *молочная среда*.

Среды для разбавления спермы хряка. Хранят сперму хряка при температуре +17...+18° С в течение 3 – 10 сут (иногда до 14 сут). Для этого используют среды для краткосрочного, среднесрочного и долгосрочного хранения (ГХЦС и ГХЦ).

Состав разбавителей ГХЦС и ГХЦ

Вода дистиллированная.....	1000 мл	100 мл
Глюкоза.....	40 г	60 г
Хелатон	2,6 г	3,7 г
Натрий лимоннокислый.....	3,8 г	3,56 г
Сульфат аммония.....	1,8 г	–
Натрий двууглекислый	0,5 г	1,2 г
Спермосан-3	250–300 тыс. ЕД.	

Среды для разбавления спермы жеребца. Для разбавления и хранения спермы жеребца при температуре +2...+4°С в течение 48 ч применяется *лактозо-хелато-цитратно-желточная среда (ЛХЦЖ)*.

Вода дистиллированная	100 мл,
Лактоза	11,0 г,
Натрий двууглекислый	8,0 г,
Натрий лимоннокислый	89,0 мг,

Хелатон	100 мг,
Желток куриных яиц	1,6 мл,
Спермосан-3	24–30 тыс. ед.

Эта же среда, но с добавлением 3,5 мл глицерина применяется для разбавления и замораживания спермы.

7.2. Приготовление сред и технологии разбавления спермы

Приготовление сред. Среды готовят в день разбавления спермы. Работу по разбавлению спермы проводят в стерильной камере или в специально оборудованной лаборатории, облученной бактерицидными лампами. Температуру (18–20°C) в лаборатории поддерживают бытовыми кондиционерами.

Среды для краткосрочного хранения спермы быка и барана (ГЦЖ) готовят следующим образом. В химическую колбу наливают дистиллированную (бидистиллированную) воду, закрывают колпачком из пергаментной бумаги и стерилизуют кипячением в течение 5–7 мин; затем охлаждают до 35°C.

На точных весах отвешивают глюкозу и натрия цитрат и высыпают их в другую стерильную колбу. Стерильной мензуркой или цилиндром отмеривают нужное количество прокипяченной воды, переливают ее в колбу с реактивами и размешивают до полного их растворения. Раствор фильтруют через бумажный фильтр и стерилизуют в водяной бане 5–10 мин. Охлаждают до 35°C и добавляют спермосан-3 и желток.

Свежие (1–2 дня) куриные яйца моют теплой водой с детергентом, затем промывают теплой и дистиллированной водой, обеззараживают 70%-ным этиловым спиртом и высушивают. Стерильным скальпелем яйцо раскалывают пополам и, оставляя желток в одной половинке скорлупы, сливают в чашку белок; при этом следят, чтобы оболочка желтка не была повреждена острым краем скорлупы. Осторожно наклоняя скорлупу, перемещают желток на стерильную фильтровальную бумагу. Для освобождения желтка от оставшейся части белка край бумаги приподнимают, поворачивают в разные стороны и скатывают медленно желток к другому ее краю. Поддерживая желток на несколько сжатой бумаге,

стерильным пинцетом или скальпелем разрушают его оболочку и выливают в подготовленную мензурку (цилиндр). Один желток имеет объем 10–20 мл. Приготовленная среда должна быть использована в течение 3–4 ч. В это время ее можно хранить при температуре 32–35°C в термостате или водяной бане.

Среда ЛХЦЖ для разбавления спермы жеребца. Отвешивают согласно рецепту лактозу и хелатон и высыпают в стерильную колбу. В эту колбу добавляют 0,2 мл 4,2%-ного стерильного раствора натрия гидрокарбоната и 0,25 мл 35,7%-ного стерильного раствора натрия цитрата (из расчета на каждые 100 мл среды) и приливают необходимое количество прокипяченной охлажденной дистиллированной воды. Содержимое растворяют, фильтруют через стерильный бумажный фильтр и добавляют желток.

Среду ГХЦС для разбавления спермы хряка в форме сухих заготовок, выпускаемых лабораториями научно-исследовательских институтов, готовят согласно наставлению по применению "Глюкозо-хелато-цитратно-сульфатно-бикарбонатной смеси в порошке".

Среда ГХЦ для разбавления спермы хряка также выпускается в форме сухих заготовок или же ее готовят в лаборатории пункта. Для этого стерильным мерным цилиндром или мензуркой отмеривают необходимый объем прокипяченной дистиллированной воды и переливают ее в химическую стерильную колбу. Сюда же вносят взвешенные на точных весах необходимые компоненты, кроме saniрующих препаратов. Приготовленную среду кипятят в водяной бане 5–10 мин, охлаждают до 40–45°C и добавляют спермосан-3 из расчета 250–300 тыс. ед. на 1000 мл. Колбу закрывают стерильной пергаментной бумагой и фиксируют резиновым кольцом.

При использовании ЛЖГ и ЛЖЦГ сред для спермы быка в чистую стерильную колбу наливают необходимый объем бидистиллированной (дистиллированной) воды, закрывают колпачком из пергаментной бумаги и кипятят 10–15 мин. В горячую (90–95°C) воду вносят лактозу и перемешивают до полного

растворения порошка; добавляют глицерин и содержимое еще раз тщательно перемешивают, а затем охлаждают до 20–30°C.

В охлажденную среду добавляют санирующий препарат, растворяют его, добавляют желток и натрия цитрат (в среду ЛГЦЖ, в которой лактозы 10,5 г и натрия цитрата 0,2 г). Колбу плавно покачивают до полного растворения и размешивания всех компонентов. После приготовления часть среды (20%), предназначенную для первичного разбавления спермы, помещают в термостат при 27±1°C. Другую часть оставляют при комнатной температуре (18–20°C) и используют для окончательного разбавления. Приготовленная среда должна быть использована в течение 3–4 ч.

При использовании *желточно-цитрато-глицериновой* среды сначала готовят цитратный буфер. На аналитических или других точных весах отвешивают 29 г натрия цитрата ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ХЧ или ЧДА. Навеску вносят в мерную колбу вместимостью 1000 и добавляют 500–600 мл дистиллированной воды. С помощью магнитной мешалки растворяют навеску, затем добавляют воды до метки. Раствор переливают в колбу для стерилизации. Колбу закрывают пергаментной бумагой и помещают в автоклав. Выдерживают в автоклаве в течение 30 мин при давлении 0,2 атм. Допускается стерилизация в кипящей водяной бане в течение 10 мин.

Можно стерилизовать буфер и путем фильтрации его через мембранный фильтр с величиной пор 0,45 мкм в стерильную посуду. После стерилизации раствор должен иметь осмотическое давление 285–300 mOsm и pH 6,8–6,9. Хранят в течение 1–2 недель при 5°C до использования.

Для приготовления *молочной среды* используют свежее или пастеризованное, гомогенизированное цельное молоко жирностью около 3,5% (или гомогенизированные сливки + обрат из расчета получения смеси, жирностью 3,5%). Такое молоко содержит вредные для сперматозоидов энзимы, но при нагревании его в течение 10 минут при 92–95°C они разрушаются. Прогревают молоко в закрытом двойном стеклянном бойлере или в водяной бане; затем охлаждают до комнатной температуры. Переливают охлажденное молоко в стерильную колбу, оставляя пену

в бойлере или при необходимости фильтруют через стерильный фильтр. Разделяют на две фракции. При использовании гомогенизированных сливок и обраты после стерилизации и охлаждения смеси к ней приливают стерильный раствор фруктозы и дистиллированную воду, а затем разделяют на две фракции. В фракцию А молочных сред добавляют антибиотики, в фракцию Б – глицерин. Первую фракцию оставляют при температуре 32...35°C, а фракцию Б охлаждают до температуры 4°C.

При приготовлении *среды ВИКА для спермы барана* токоферол может быть заменен 0,05 г ди-трет-бутил-крезолом (ДТБК). Раствор сахарозы и натрий-кальциевую соль ЭДТА стерилизуют в водяной бане в течение 15 мин. Желток эмульгируют с токоферолом в стерильном мерном стакане в водяной бане при температуре 37°C в течение 5–7 мин, постоянно помешивая стеклянной палочкой (удобнее пользоваться магнитной мешалкой). Затем в этот стакан вносят последовательно стерильный раствор сахарозы с солью ЭДТА, спермосан-3 и глицерин. Техника приготовления ЛЖГТЦГ-среды более сложная, что обусловлено требованиями длительной стерилизации в водяной бане (30 мин для ЛЖ-среды и 60 минут для ЛЖГТЦГ-среды) всех компонентов, кроме желтка и спермосана, контроля испарения воды в процессе стерилизации путем взвешивания колбы с содержимым и восполнения воды при значительных ее потерях.

Технология разбавления спермы зависит от свойств и состава среды. При использовании *однофракционных сред* признанную годной после предварительной оценки сперму быка вначале разбавляют 1:1 непосредственно в спермоприемнике; перед разбавлением температура среды и спермы должна быть одинаковой (27±1°C). Для этого посуду со средой хранят в термостате или на подогреваемой магнитной мешалке. Через 15–20 мин после предварительного разбавления проводят финальное разбавление при температуре 18–20°C. Разбавляют сперму так, чтобы в дозе спермы после оттаивания содержалось 10–15 млн. подвижных сперматозоидов.

При разбавлении используют шприц непрерывного действия. Разбавляют сперму средой постепенно. Для этого средю приливают к предварительно

разбавленной сперме небольшими порциями в полиэтиленовый спермоприемник, осторожно смешивают после добавления каждой порции среды.

При использовании градуированного смесителя разбавленную в спермоприемнике 1:1 сперму быка переливают в смеситель и небольшими порциями по стенке добавляют среду. После добавления каждой порции смеситель наклоняют так, чтобы сперма оставалась внизу его расширенной части; вращая смеситель, смешивают сперму.

Современные технологии предусматривают автоматизированное разбавление спермы с контролем температуры и выбором степени разбавления с учетом подвижности и концентрации сперматозоидов в сперме, а также количества подвижных сперматозоидов в дозе (пайете) для осеменения.

При использовании *двухфракционных сред ЖЦГ и ЦЛЖГ* перед разбавлением спермы буфер подогревают до 32...35°C, разделяют на две фракции, добавляют в каждую из них необходимое количество желтка и глицерина (в фракцию Б). В фракцию А вносят из расчета на каждый миллилитр среды 100 мкг тилозина, 500 мкг гентамицина и 300/600 мкг линкоспектина, растворенных в 0,02 мл бидистиллированной стерильной воды. Весовые количества антибиотиков необходимо приводить в соответствие с их активностью, которая может различаться в зависимости от партии препарата. Все антибиотики должны быть проверены на безвредность для сперматозоидов. Гентомицин и тилозин могут сохраняться в растворе при 5°C в течение 8 дней, а в парах жидкого азота – до 6 месяцев.

Сначала из полученного и оцененного по внешним свойствам эякулята берут пробы для определения подвижности и концентрации сперматозоидов в сперме. Если эякулят пригоден для использования, то проводится санация неразбавленной спермы. В спермоприемник вносят пипеточным дозатором смесь антибиотиков. На каждый миллилитр спермы добавляют 0,02 мл раствора, в котором содержится 100 мкг тилозина, 500 мкг гентамицина и 300/600 мкг линкоспектина. После

осторожного смешивания сперму выдерживают 5 мин при температуре 30°C, затем ее оценивают по подвижности сперматозоидов.

Если используется полиген, то он вносится в необходимых количествах в обе фракции сред, а в сперму не добавляется.

После выдержки в течение 5 мин сперму разбавляют фракцией А ЖЦГ или ЦЛЖГ-среды. Среду приливают аккуратно и медленно в спермоприемник (или по стенкам стеклянного смесителя со спермой) во избежание сильных отрицательных осмотических явлений. Эта не содержащая глицерина фракция добавляется из расчета, чтобы объем спермы и среды составил половину запланированного объема разбавленной спермы (с учетом получения в одном миллилитре 200 миллионов сперматозоидов). Температура спермы и среды – 30°C.

Предварительно разбавленная фракцией А сперма помещается в холодильник и охлаждается в течение 2 ч до 5°C. Для того чтобы охлаждение проходило равномерно, колбу с разбавленной спермой помещают в стакан с водой, температура которой – 30°C. Фракцию Б среды, содержащую глицерин, также помещают в холодильник, где она охлаждается до момента использования. Эта фракция может содержать 5–10% концентрации антибиотиков, определенной для фракции А.

Через 2 ч начинается второй этап разбавления спермы. В предварительно разбавленную фракцией А сперму вносят охлажденную глицериновую фракцию Б в соотношении 1:1, т. е. к одному объему разбавленной спермы прибавляют равный объем охлажденной (до 5°C) среды. Фракцию Б вносят не сразу, а делят на три равные части и прибавляют через 10–15-минутные интервалы медленно и постепенно. Этот этап разбавления производится в холодильнике при температуре 5°C на протяжении 30–45 мин. После финального разбавления в 1 мл разбавленной спермы должно содержаться 100 млн. сперматозоидов.

После завершения разбавления сперму расфасовывают в пайеты, которые размещают в планшеты. В каждой пайете должно содержаться 25 млн. сперматозоидов.

Если расфасовывают сперму в гранулах (0,2 мл), тогда после финального разбавления фракцией Б в 1 мл спермы должно содержаться 125 млн. сперматозоидов.

Для достижения выравнивания концентрации глицерина с наружной и внутренней сторон клеточной мембраны достаточно 4 ч (время эквипирации). В течение этого времени окончательно разбавленную сперму выдерживают при температуре 5°C, а затем замораживают по стандартной технологии.

Сперму быка разбавляют с расчетом получения 10 – 15 млн. сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением при подвижности не менее 4 баллов. Для расчета степени разбавления используют формулу:

$$P = \frac{C \cdot A \cdot V}{0,010 \cdot 10},$$

P – количество разбавителя для 1 мл спермы; C – концентрация сперматозоидов в сперме, млрд. мл; A – подвижность сперматозоидов после размораживания (4 балла); V – объем дозы спермы, мл; 0,010 – подвижных сперматозоидов в дозе, млрд; 10 – перевод баллов (4) в количество подвижных сперматозоидов.

Разбавление спермы барана и козла. После получения сперму постепенно охлаждают до 25–30°C. В момент разбавления сперма и среда должны иметь одинаковую температуру. Разбавляют сперму в спермоприемнике. На 1 мл спермы добавляют 1–2 мл среды. Охлаждают разбавленную сперму постепенно до 2–4°C в течение 2–3 ч. Желательно флаконы со спермой поместить в химический стакан с водой температуры 25–30°C и поместить в холодильник на 2 часа.

При использовании сред для замораживания и длительного хранения после получения сперму выдерживают не более 15 мин. Средой ВИКА разбавляют в один прием в соотношении 1:2 при концентрации сперматозоидов 2,5–3,3 млрд. в мл и 1:3 при концентрации их выше 3,3 млрд. в мл. Среду (температуры 30°C) добавляют в сперму осторожно по стенкам спермоприемника.

При использовании ЛЖГТЦГ-среды сперму разбавляют в два приема: сначала ЛЖ-средой в соотношении 1:0,5 при температуре $28\pm 2^\circ\text{C}$, а затем добавляют один объем ЛЖГТЦГ-среды при температуре $20\pm 2^\circ\text{C}$.

ГЖУК- трис-буферной средой свежеполученную сперму разбавляют в один прием в соотношении 1:3 при концентрации сперматозоидов 3–4 млрд. в мл и 1:4 при концентрации их свыше 4 млрд. в мл.

Сперму козла разбавляют в 5–20 раз. Из одного эякулята можно получить до 40 доз, а в неделю от одного самца во время полового сезона – до 300 доз.

Разбавление спермы хряка. После получения сперму выдерживают в течение 20–30 мин при комнатной температуре и разбавляют в 2–10 раз. В неразбавленной сперме должно содержаться не менее 100 млн. сперматозоидов, подвижность – не ниже 7 баллов. В одной дозе объемом 100 мл должно быть 2,5 млрд. подвижных сперматозоидов.

Пример расчета количества доз и количества разбавителя. Процент сперматозоидов с нормальной подвижностью – 70% (0,7), концентрация – 134 миллиона в 1 мл, масса эякулята – 233 г.

Количество доз – $233 \cdot 0,134 \cdot 0,7 : 2,5 = 8$ доз.

$8 \cdot 100 - 233 = 567$ мл разбавителя.

Разбавление спермы жеребца. Разбавляют сперму, если концентрация сперматозоидов не менее 150 млн. в мл и подвижность не ниже 6 баллов. Степень разбавления – 1:2 – 1:3. Среду приливают к сперме небольшими порциями и осторожно смешивают после добавления каждой порции среды.

Разбавление спермы птиц. Оплодотворяющая способность свежеполученной спермы птиц сохраняется недолго. Сперму петухов и индюков можно использовать в течение 30 мин., а чтобы обеспечить стабильно высокие результаты выводимости цыплят и индюшат, ее используют в течение 15–20 мин. После разбавления сперму можно хранить до 2–3 ч. Для разбавления используют несколько сред (табл. 5). Разбавляют сперму 1:1 – 1:3.

Таблица 5. Состав сред для разбавления спермы птиц

Наименование реактива	ВИРГЖ-2	Лейка	Тироде
Натрия хлорид	–	–	0,8
Калия хлорид	–	–	0,02
Кальция хлорид	–	–	0,02
Магния хлорид	–	0,0676	0,01
Натрия ацетат	–	0,613	0,1
Натрий двузамещенный фосфорнокислый	–	–	0,005
Калия цитрат	–	0,128	–
Натрий глутаминовокислый	2,8	1,92	–
Фруктоза	–	1,0	1,0
Глюкоза	1,8	–	–
Дистиллированная вода	100 мл	100 мл	100 мл

7.3. Контроль осмотического давления и pH сред для разбавления спермы

Осмотическое давление определяют методом криоскопии, pH-потенциометрическим методом с помощью соответствующего прибора.

Криоскоп имеет внутреннюю пробирку (цилиндр на 100 мл без основания, с плоским дном), в которую вставляется резиновая пробка. Пробка имеет центральное отверстие для термометра Бекмана и небольшое отверстие в боковой части с металлической втулкой, через которую проходит проволочная мешалка; в процессе работы втулку смазывают капелькой машинного масла. Внутренняя пробирка с термометром Бекмана и мешалкой вставляется в более широкую пробирку (цилиндр на 250 мл без основания, с плоским дном) и укрепляется в ней посредством широкого (4–5 см) толстого резинового манжета. Широкая пробирка служит воздушной рубашкой для внутренней пробирки. Собранный прибор погружают через отверстие в крышке с резиновой втулкой в толстостенный стакан (высота 200 мм, внутренний диаметр 115–120 мм). Предварительно стакан заполняют охлаждающей смесью, состоящей из мелко раздробленного льда или снега и соли в весовом отношении 5:1. Температура охлаждающей смеси должна поддерживаться на 3–5°C ниже температуры замерзания синтетической среды путем добавления льда или снега. Причем смесь льда (снега) и соли периодически перемешивается проволочной мешалкой, которая вставляется через боковое отверстие в крышке сосуда.

Термометр Бекмана имеет два резервуара ртути: основной нижний и дополнительный в верхней части; оба резервуара соединены между собой капилляром; при необходимости можно ртуть перемещать из одного в другой. Возможность перераспределения ртути в резервуарах позволяет настроить термометр так, чтобы температура замерзания растворителя (воды) лежала в верхней части шкалы.

Основная шкала термометра длинная – около 25 см и разделена на $5-6^{\circ}\text{C}$, цена деления – $0,01^{\circ}$. На шкале с помощью лупы можно делать отсчет с точностью до $0,001-0,002^{\circ}\text{C}$.

Перед работой необходимо настроить термометр, т. е. установить измеряемую температуру замерзания дистиллированной воды таким образом, чтобы при 0°C ртуть находилась в верхней части шкалы, примерно между делением 3 и 5. До начала настройки следует убедиться в том, что нижний резервуар при комнатной температуре полностью заполнен ртутью.

В стакан емкостью 200–250 мл наливают 150–200 мл дистиллированной воды и, добавляя кусочки льда, охлаждают до $2-3^{\circ}\text{C}$; контролируют температуру обычным термометром. В термометре Бекмана нагревают рукой ртуть в нижнем резервуаре и следят, чтобы она заполнила до верху капилляр, после чего термометр переворачивают вверх нижним резервуаром. Продолжая нагревать резервуар, добиваются соединения столбика ртути с ртутью верхнего резервуара. После этого осторожно и плавно, чтобы не разорвать столбик ртути в капилляре, придают термометру обычное вертикальное положение и погружают нижний резервуар в подготовленную охлажденную воду. Выдерживают 3–5 мин, постоянно помешивая термометром (резервуаром) в воде кусочки льда. Затем осторожно вынимают термометр и резко опускают нижним резервуаром на ладонь руки. Столбик ртути должен оборваться между значениями шкалы 3 и 4. Если столбик оборвался выше, то подогреванием резервуара рукой смещают столбик ртути за изгиб капилляра к верхнему резервуару и пытаются оборвать столбик в небольшом расширении капилляра верхнего резервуара. Затем быстро помещают термометр в охлажденную

воду. При температуре 2–2,5°C столбик ртути должен находиться между делением шкалы 4,5 и 5°C (при 0°C – между 3 и 4,5°C). После настройки термометр закрепляют с помощью штатива в вертикальном положении в стакане с охлажденной водой. Пробка с проволочной мешалкой должна постоянно оставаться на термометре (при вставлении термометра в центральное отверстие пробки можно разорвать столбик ртути).

Для того чтобы определить температуру замерзания среды для разбавления спермы (и по ней высчитать осмотическое давление), необходимо сначала определить точку замерзания дистиллированной воды по шкале настроенного термометра. Для этого во внутреннюю пробирку криоскопа наливают 30 мл дистиллированной воды и помещают пробирку в охлаждающую смесь; охлаждают в течение нескольких минут до 1–3°C. Температуру контролируют обычным термометром. Пробирку извлекают из охлаждающей смеси, высушивают снаружи фильтровальной бумагой и закрепляют в наружной пробирке. Стенки внутренней пробирки не должны соприкасаться со стенками наружной пробирки. Соединенные обе пробирки вставляют через отверстие в крышке в сосуд (стакан) с охлаждающей смесью. Затем во внутреннюю пробирку вставляют настроенный термометр с пробкой и проволочной мешалкой и укрепляют его с помощью штатива. Основной резервуар с ртутью термометра должен быть полностью погружен в дистиллированную воду, но не касаться дна. По термометру Бекмана наблюдают за понижением температуры воды. Так как охлаждение дальнейшее ее идет медленно, вода переохлаждается и не замерзает ниже точки ее замерзания (0°C). Столбик ртути медленно опускается. Для равномерного охлаждения воды ее постоянно помешивают проволочной мешалкой. Наступает момент, когда в переохлажденной воде начинается процесс кристаллизации. При этом выделяется скрытая теплота отвердевания, и температура быстро повышается (температурный скачек). Воду продолжают помешивать и с помощью лупы наблюдают, когда столбик ртути полностью остановится. Это и будет точкой замерзания воды (например, 4,12₃).

Последняя цифра приблизительная. Для получения точного результата определяют температуру замерзания воды два–три раза.

После этого осторожно извлекают термометр Бекмана из пробирки и помещают его в стакан с охлажденной до 2–3°C водой. Во внутреннюю пробирку криоскопа вместо дистиллированной воды наливают 30 мл охлажденной среды для разбавления спермы (без глицерина) и затем в нее вставляют термометр Бекмана. Процедуру охлаждения среды до замерзания осуществляют так же, как и воды. После температурного скачка фиксируют на шкале термометра точку замерзания среды (например, 3,56₂).

Разница между первым числом (4,12₃) и вторым (3,56₂) укажет на фактическую точку замерзания среды – она будет равна 0,561°C. Для определения осмотического давления в милли осмомолях необходимо это число разделить на 0,00186. В данном случае осмотическое давление составит 301. При этом принимается во внимание, что одна осмомоля соответствует депрессии 1,86°C, а милли осмомоля – 0,00186°C.

Концентрацию водородных ионов (рН) в среде определяют при помощи рН-метров согласно наставлениям по применению приборов.

Глава 8. ХРАНЕНИЕ СПЕРМЫ

В настоящее время для сохранения спермы самцов сельскохозяйственных животных применяют кратковременное хранение или долгосрочное в замороженном состоянии.

При кратковременном хранении сперму быков сохраняют до 72 ч, жеребцов – до 72 ч, баранов – до 24 ч при температуре +2...+4°C. При этом используют холодильники или широкогорлые термосы со льдом.

Сперму хряков сохраняют 3 –14 сут при температуре +17...+18°C, используя для хранения и транспортировки термосы-ящики.

Для хранения спермы быков, баранов, жеребцов и хряков в течение длительного времени без потери оплодотворяющей способности применяют замораживание ее в жидком азоте при -196 C .

8.1. Хранение спермы при температурах выше $0\text{ }^{\circ}\text{C}$

Хранение спермы хряка при температуре $17\text{--}18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для разбавления и хранения спермы хряка при температуре $17\text{--}18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 3 – 10 (до 14) суток применяют соответствующие синтетические среды. Разбавляют сперму после получения и определения ее качества. Для разбавления и краткосрочного хранения (до 3 сут) используют эякуляты с концентрацией сперматозоидов не менее 100 млн. в 1 мл спермы. Для более длительного хранения необходимы эякуляты с высоким содержанием сперматозоидов. Обычно это наиболее качественная часть второй фракции, собираемой при мануальном получении спермы. Степень разбавления варьирует от 1:2 до 1:9. После разбавления в 1 мл спермы должно содержаться около 30 млн. сперматозоидов, а в дозе для осеменения (100 мл) – не менее 2,5 млрд. подвижных клеток.

Разбавленную сперму расфасовывают в полиэтиленовые флаконы, бутылочки, пакеты, флекситюбики, в специальные катетеры для осеменения и хранят в темноте при температуре $17\text{--}18\text{ }^{\circ}\text{C}$ в стерильном боксе-термостате или в специальных термосах для хранения и транспортировки. Во время хранения сперму осторожно перемешивают не менее двух раз в сутки. При хранении и транспортировке необходимо строго следить за температурным режимом. Отклонение температуры от оптимальной отрицательно влияет на оплодотворяющую способность спермы.

Хранение спермы при температуре $2\text{--}5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Сперму быка, сохраняемую при $2\text{--}5\text{ }^{\circ}\text{C}$, фасуют в стерильные стеклянные флаконы, одноразовые полиэтиленовые ампулы или в пайеты. Расфасованную сперму оставляют при комнатной температуре ($18\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$) на 20–30 мин, упаковывают и помещают в холодильник при температуре $2\text{--}5\text{ }^{\circ}\text{C}$ или в пищевые термоса со льдом.

Быстрое охлаждение разбавленной спермы нежелательно. Поэтому целесообразно, чтобы понижение температуры от 32°C до 2–5°C происходило постепенно в течение 2–3 ч. Для этого сначала необходимо поместить разбавленную сперму в стеклянный стакан или ванночку с водой такой же температуры, как и температура спермы (32°C), а затем перенести их в водяную баню температуры 22°C на 20 минут, после чего производить фасовку и дальнейшее охлаждение спермы. Хранят в течение трех дней. Используют сперму с активностью не ниже 7 баллов.

Этот способ хранения применяется очень редко.

Хранение спермы барана. При искусственном осеменении овец широко используют свежеполученную неразбавленную сперму, которая обеспечивает наиболее высокую оплодотворяемость маток. Разбавление и хранение спермы несколько ухудшает результаты. Однако рациональное использование ценных производителей легче достигается при условии разбавления и хранения спермы.

Для разбавления и хранения спермы при температуре не ниже 0°C используют синтетические среды ГЦЖ и ГФЖ. Разбавляют сперму в соотношении 1:1 – 1:2 при температуре 25–30°C.

После разбавления сперму можно использовать для осеменения в течение 4 ч, если хранить ее при температуре не ниже 16°C. Если же сперму охлаждают до 2–5°C, то срок хранения увеличивают до 24 ч. Хранят сперму в холодильниках или в пищевых термосах со льдом. Перед помещением в термос флаконы со спермой обертывают ватой или вставляют в гнезда специальных поролоновых амортизаторов и затем упаковывают в полиэтиленовые мешочки. Мешочки кладут на лед в термос, а сверху их также помещают небольшое количество льда.

Хранение спермы жеребца. Для разбавления и краткосрочного (в течение 48 ч) хранения спермы при температуре 2–5°C используется среда ЛХЦЖ. Разбавляют свежеполученную сперму с подвижностью сперматозоидов не ниже 6 баллов и концентрацией 150 миллионов в мл в соотношении 1:3; температура среды в момент разбавления должна быть 25–30°C. Расфасовывают сперму в стерильные

флаконы емкостью 50–100 мл с притертыми пробками; пробки закрепляют резиновым кольцами. Флаконы со спермой заворачивают в марлевые салфетки или бумагу и упаковывают в полиэтиленовые пакеты. Пакеты со спермой помещают в термос со льдом. Охлаждение спермы должно проходить постепенно. Поэтому особое внимание уделяют подготовке термосов и теплоизоляционных прокладок; лед в термос помещают в полиэтиленовых мешочках.

8.2. Хранение спермы в жидком азоте (при – 196°С)

Замораживание спермы быка в гранулах. Разбавленную сперму выдерживают в холодильнике при температуре +2...+4°С в течение 4–5 ч. Затем в теплоизолированную емкость или широкогорлый сосуд Дьюара наливают на $\frac{2}{3}$ жидкий азот. Фторопластовую пластину обтирают спиртовым тампоном, опускают в жидкий азот в широкогорлом сосуде Дьюара и охлаждают в течение нескольких минут до прекращения кипения азота. Затем пластину поднимают к верхнему краю сосуда и после испарения азота протирают ее сухим стерильным ватным тампоном и с помощью бюретки, шприца или разливочной машины разливают сперму в лунки пластины. Пластина в это время должна иметь температуру минус 160...170°С. После того как в последней лунке сперма затвердеет, пластину опускают ближе к жидкому азоту и выдерживают на расстоянии 5–10 см от поверхности азота в течение 1–2 мин. Далее пластину погружают на 1 мин в жидкий азот, где происходит дальнейшее охлаждение гранул и отделение их от пластины. Затем пластину поднимают из жидкого азота до верхнего уровня сосуда, сгребают гранулы в охлажденный контейнер и переносят в сосуд Дьюара на длительное хранение.

Этот способ расфасовки хранения спермы в настоящее время используется крайне редко.

Замораживание спермы быка в полипропиленовых соломинках (пайетах). После финального разбавления спермы ЛГЖ-средой при температуре 18–20°С сперму расфасовывают в стерильные полипропиленовые соломины внутренним диаметром 2 мм, емкостью 0,25 мл. Соломины должны быть промаркированы. Это

делается на машине М6-ММС-2 (или других, более современных машинах) с помощью сменяемого клише, изготовляемого для каждого быка, или М6-ММС-3 кодовой надписью набираемых цифр. На солоmine печатается наименование племпредприятия (первые 3 цифры), порода быка (две последующие цифры), номер быка (пять цифр), а затем последовательно по две цифры год, месяц и день получения спермы. Маркированные соломины в коробках помещают в настольную бактерицидную камеру и стерилизуют в течение двух часов.

Для автоматического наполнения соломин разбавленной спермой и их закупорки имеется специальная машина М6-АПА (или другие современные аппараты). В коробку машины помещается 700 соломин, а в ее бункерочек – 6000 стеклянных шариков. До использования стеклянные шарики выдерживают сутки в растворе соляной кислоты (10 мл концентрированной кислоты на 1 л дистиллированной воды), промывают проточной водой, затем 3–4 раза дистиллированной водой и засыпают на сито с отверстиями 1,7 x 2,0 мм, чтобы удалить обломки. Высушенные шарики помещают в стеклянную банку и стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 180°С в течение 1,5 ч.

Перед работой корпус машины протирают марлевой салфеткой; детали, непосредственно соприкасающиеся с соломинами и стеклянными шариками (бункера для шариков и соломин, укупориватели), обрабатывают спиртовым тампоном. Наконечники и сопла, медицинские поливинилхлоридные трубки и уплотнители стерилизуют кипячением.

Коробку с маркированными стерильными соломинами фиксируют рычагом у механизма подачи их на барабан, подсоединяют поливинилхлоридную трубку с соплом для подачи спермы, конец трубки с надетым наконечником погружают в емкость с разбавленной спермой. После включения машины сперма нагнетается в соломинку с обеих сторон и закупоривается двумя стерильными цветными стеклянными шариками. В процессе работы следят, чтобы столбик воздушного пузырька был длиной 5–12 мм, а стеклянные шарики заталкивались на глубину 1,5–2 мм.

Наполненные спермой соломины берут в руку воздушными пузырьками вниз и встряхивают несколько раз для того, чтобы пузырьки переместились на середину.

Если используются пайеты Кассу, то сперма заполняется с одного свободного конца до смачивания пробочки из поливинилового спирта и бумаги, а второй конец запаивается ультразвуком. В них пузырек воздуха отсутствует. Пайеты этого типа могут иметь различный цвет (всего 18 цветов), что позволяет легче идентифицировать породу и класс производителя, удобнее и быстрее извлекать нужный образец спермы для использования.

После заполнения соломины раскладывают по 143 шт. в металлические рамки и сверху прижимают держателем. Рамки кладут одна на другую по 5 штук, помещают в коробку и ставят в холодильник ХЖС-300, в котором поддерживается температура около 4°C. В холодильнике сперма постепенно и равномерно охлаждается до температуры 4°C в течение часа (со скоростью 0,3–0,5°C в мин). Выдерживают сперму при такой температуре в течение 3–4 ч и потом замораживают в биологических хранилищах на замораживающем устройстве – медном щите, который закрепляют на расстоянии 6–8 см от поверхности жидкого азота.

Для поддержания стабильной температуры на щите (минус 130...150°C) после загрузки рамок с соломинами и обеспечения оптимальной скорости замораживания спермы необходимо под давлением 0,2–0,3 атм. подавать газообразный азот с вентилia газосброса транспортной цистерны. Конец шланга должен лежать на дне биологического хранилища. Если замораживание производится без обдува, тогда щит замораживающего устройства должен касаться поверхности жидкого азота.

Замораживание спермы ведется в течение 7 мин. После этого соломины переносят с помощью специальной воронки в пластмассовые стаканы, наполненные жидким азотом и закрепленные в гнездах щита замораживающего устройства. Затем стаканы с соломинами быстро переносят в подготовленные канистры и размещают их в биологических хранилищах ХБ-0,5 или ХБ-0,2-1.

Многие зарубежные организации по искусственному осеменению используют высокотехнологичное оборудование (MINITUB) для маркировки соломин, наполнения и укупорки их стеклянными шариками или по методу Кассу, для автоматического контроля замораживания и упаковки замороженных соломин.

Замораживание спермы барана. Разбавленную сперму охлаждают в течение 2–3 ч до +2...4°C. При этом флаконы (полиэтиленовые капельницы) со спермой погружают в кювету с теплой (20...25°C) водой и ставят в бытовой холодильник. После охлаждения кювету с флаконами погружают в тающий лед до момента замораживания спермы.

Сперму замораживают на поверхности сухого льда или на охлажденной до минус 80°C фторопластовой пластине. Для обеспечения такой температуры пластину после охлаждения в жидком азоте поднимают и устанавливают с помощью штатива на уровне верхнего края широкогорлого сосуда и выдерживают 4–6 мин. После этого в лунки пластины накапывают сперму по 0,2 мл. Как только сперма затвердеет, пластину опускают ниже и выдерживают над поверхностью жидкого азота на расстоянии 3–5 см в течение 1,5–2,0 мин, а затем погружают на 1 мин в жидкий азот. После окончания замораживания пластину извлекают из азота и собирают гранулы в алюминиевые тубы или мешочки из тонкой алюминиевой фольги. Емкости должны быть промаркированы. Замороженную сперму помещают в сосуд Дьюара на карантинное хранение на 28 дней.

Замораживание спермы жеребца. Для замораживания и длительного хранения в жидком азоте сперму разбавляют ЛХЦЖ-средой с добавлением глицерина. Разбавляют также в соотношении 1:3, в один прием. Разбавленную сперму объемом не более 100 мл при высоте слоя 2,5 см в колбе выдерживают в холодильнике 2 ч и замораживают на поверхности сухого льда или в алюминиевых пакетах в парах жидкого азота. При замораживании в форме гранул сперму наносят каплями по 0,2 мл в лунки на поверхность сухого льда; выдерживают в течение 5 мин, после чего гранулы собирают и упаковывают в алюминиевые тубы или пластмассовые стаканы и помещают на хранение в жидкий азот. В каждой

упаковке должно быть 125–130 гранул, что составляет около 25 мл оттаянной спермы.

При использовании алюминиевых туб (пакетов) в зависимости от их величины сперму расфасовывают по 25 мл или 13 мл. В обоих случаях толщина пакета со спермой не должна быть больше 4–5 мм. Перед использованием пакеты охлаждают, а после заполнения спермой осторожно вытесняют из них воздух и концы закатывают дважды. Пакеты со спермой помещают в специальные держатели с пенопластовыми поплавками и переносят в широкогорлый сосуд Дьюара. Выдерживают в течение 5–7 мин в парах жидкого азота, на расстоянии 10–12 мм от его поверхности. После этого пакеты помещают в жидкий азот на хранение.

При замораживании спермы и в гранулах и в пакетах в одной дозе (125–130 гранул, один пакет объемом 25 мл или 2–3 пакета по 13 мл) должно содержаться около 800 млн. сперматозоидов, а после оттаивания – 300–400 млн. подвижных клеток.

8.3. Хранение, перевозка и оттаивание замороженной спермы

Сосуды для хранения спермы. Замороженную сперму хранят в узкогорлых сосудах Дьюара. Такие сосуды различной емкости – 5, 20, 50 и 500 литров. Изготавливаются они из нержавеющей стали, двустенные. Пространство между стенками заполняется порошковой или порошково-вакуумной термоизоляцией. На горловине сосуда подвешиваются металлические канистры или марлевые мешочки для спермы. Крышка сосуда имеет пенопластовую втулку, которая размещается в горловине.

Чтобы температура спермы во время хранения не повышалась, в сосуде любого типа должно оставаться не менее 30–40% жидкого азота (от полной емкости), поэтому сосуд необходимо регулярно (через 30–60 сут) пополнять азотом.

Техника безопасности при работе с жидким азотом. Жидкий азот – прозрачная, бесцветная и легко испаряющаяся жидкость, удельный вес ее 0,8 кг/л, кипит при температуре минус 196°С.

Азот не токсичен, однако в результате испарения и накопления его в помещении содержание кислорода в воздухе уменьшается, что может вызывать у людей головную боль, головокружение и даже потерю сознания. При попадании на открытые участки тела вызывает обморожение (ожог).

Помещение, в котором находятся сосуды Дьюара или стационарные хранилища с жидким азотом, должно быть оборудовано приточно-вытяжной естественной или принудительной вентиляцией. Курение в таком помещении категорически запрещается. Температура жидкого азота поддерживается на постоянном уровне (–196°С) в результате его непрерывного испарения. Поэтому горловина сосуда Дьюара не должна быть плотно закрыта, особенно при перевозке. Персоналу, работающему с азотом, следует закрывать горловину сосуда Дьюара крышками, предназначенными только для них. Если плотно закрыть сосуд, то возможен его взрыв. Не допускается эксплуатация сосудов, у которых верхняя часть горловины обрастает льдом.

При длительной эксплуатации сосудов Дьюара приходится постоянно доливать жидкий азот, в котором имеются примеси кислорода. Кислород кипит при более высокой температуре – минус 183°С. Поэтому концентрация его в сосуде постепенно возрастает и остающаяся смесь газов становится огнеопасной. Племпредприятия должны контролировать содержание кислорода в сосудах и при достижении содержания его 15% перенести сперму в другой сосуд, а из контролируемого – слить остатки азота вдали от предметов органического происхождения (дерева, бумаги, тряпок, особенно промасленных) и наполнить его свежим азотом. Во избежание взрыва запрещается удалять обогащенную кислородом жидкость из сосуда путем выпаривания.

Работать с жидким азотом необходимо в защитных очках и свободных кожаных перчатках, чтобы при необходимости их можно было легко сбросить.

Брюки должны быть без манжет и прикрывать верхнюю часть обуви. Если жидкий азот попадает на незащищенную кожу, ее следует обмыть водой. Особую осторожность следует соблюдать при оттаивании спермы, замороженной в соломинах. При плохой герметизации и быстром испарении азота в период нагревания может резко повыситься давление в соломине, что приведет к разрыву ее оболочки.

При заправке сосудов или биологических хранилищ азотом гибкий шланг опускают до дна заправляемой емкости, чтобы предупредить выброс конца шланга из горловины сосуда и попадание азота на стоящих рядом людей. Заливать азот в сосуд надо медленно.

Если при испытании сосуда Дьюара обнаруживается нарушение теплоизоляции – утрата вакуума (покрыт вблизи горловины слоем инея), его запрещается оставлять на отопев в помещении, где могут находиться люди. Необходимо после слива азота поместить сосуд на 3–5 суток в изолированном помещении.

Оттаивание спермы в гранулах. Для оттаивания одной гранулы необходимо иметь 1 мл 2,9%-ного раствора натрия цитрата (выпускается в ампулах) и водяную баню или биотермостат с температурой воды 38–40°C. У основания шейки ампулы с натрия цитратом делают круговой надрез пилкой по стеклу. Надпиленный участок протирают спиртовым тампоном и отламывают верхнюю часть ампулы. Если отверстие недостаточно для прохождения гранулы, то его расширяют путем откалывания стерильным пинцетом небольших участков стекла. Для этого одну ветвь пинцета вставляют в ампулу, по кругу продвигают пинцет и обламывают стекло. Затем ампулу с цитратом натрия зарывают стерильным ватным шариком и помещают в водяную баню заблаговременно (за 3–5 мин) для подогрева.

Корнцанг для извлечения спермы обтирают спиртовым тампоном, снимают крышку с сосуда Дьюара и кладут ее рядом пробкой вверх, а корнцанг помещают внутрь сосуда для охлаждения. После этого поднимают канистру со спермой до

горловины сосуда и корнцангом извлекают одну гранулу; канистру опускают в азот. Сняв ватный шарик, быстро переносят гранулу в ампулу с подогретым цитратом натрия, и опять закрывают ампулу ватным шариком, а затем закрывают крышку сосуда Дьюара. Оттаивают сперму до полного растворения (8–10 с) слегка вращая ампулу между пальцами; достают ампулу с оттаянной спермой, вытирают ее насухо салфеткой и ставят на стол. Размороженная сперма должна быть использована в течение 15 мин.

Оттаивание спермы в пайетах. Для оттаивания спермы в пайетах, включают оттаиватель (биотермостат) и доводят температуру воды до 38°C (пайеты длиной 10 см), 37–38 °C (пайеты длиной 13,5 см), 35–38°C (канадские пайеты длиной 13,5 см) или до иной температуры, указываемой производителями. Корнцанг для извлечения спермы обтирают спиртовым тампоном, снимают крышку с сосуда Дьюара, кладут ее рядом пробкой вверх, охлаждают корнцанг. Поднимают канистру со спермой до уровня 10 см от верхней части горловины сосуда и корнцангом извлекают одну пайету, опускают канистру в азот, перехватывают пайету пинцетом, легко встряхивают ее 1–2 раза, чтобы удалить азот и быстро помещают в оттаиватель. Закрывают крышку сосуда Дьюара, оттаивают сперму в течение 10–11 с (отечественные пайеты), 35–40 с (канадские пайеты) или в течение иного времени, указываемого производителями. В водяной бане пайетку удерживают в вертикальном положении и постоянно перемещают в воде. Вынимают пайету из оттаивателя, вытирают ее насухо салфеткой и кладут на подставку. Салфетку выбрасывают в ведро. После размораживания сперма должна быть использована в течение 15 мин.

Перевозка спермы. Перевозят сперму с племпредприятия в районные станции или на пункты искусственного осеменения на специально оборудованных машинах. Нередко сочетают доставку азота и спермы. Сосуды Дьюара или емкости, заполненные жидким азотом, необходимо надежно закрепить на транспортном средстве. Сосуды, которые предполагается транспортировать самолетом, надо заполнять не более чем на половину емкости.

Транспортируют сперму хряка в боксе-термостате или в специальных термосах для хранения и транспортировки, бытовых сумках-холодильниках, термосах-ящиках, в которых для теплоизоляции применяется поролон. На период транспортировки колбы и флаконы плотно укупоривают, а после доставки на пункт ослабляют резиновые кольца, фиксирующие бумагу на кольцах, или расслабляют крышки флаконов. Сперму транспортируют через 30 мин после разбавления.

Глава 9. ПОДГОТОВКА И ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ИНСТРУМЕНТОВ, ПОСУДЫ И МАТЕРИАЛОВ

Искусственное осеменение – это ряд организационных мероприятий и технологических процессов. Для осуществления их на государственных предприятиях и пунктах искусственного осеменения необходимы специальное оборудование, материалы, растворы, инструмент. Перед использованием они должны быть соответствующим образом подготовлены: быть чистыми, сухими и стерильными. Это необходимо для предотвращения повреждений или гибели сперматозоидов при контакте спермы с ними. Подготовка проводится в специально оборудованных помещениях.

Искусственное осеменение – это ряд организационных мероприятий и технологических процессов. Для осуществления их на государственных предприятиях и пунктах искусственного осеменения необходимы специальное оборудование, материалы, растворы, инструмент. Перед использованием они должны быть соответствующим образом подготовлены: быть чистыми, сухими и стерильными. Это необходимо для предотвращения повреждений или гибели сперматозоидов при контакте спермы с ними. Подготовка проводится в специально оборудованных помещениях.

Предприятия по искусственному осеменению имеют отдельные комнаты для мытья и стерилизации инструмента, приборов и посуды, которые используются при получении, обработке и хранении спермы. Стены в этих комнатах облицованы глазурованной керамической плиткой, полы выстланы метлахской плиткой.

В моечной комнате должен быть водопровод (холодная и горячая вода) с трапами для стока воды. При отсутствии магистрального водопровода в ней устанавливают газовую колонку или электронагреватель для подогревания воды. Для мытья искусственных вагин размещают ванну. Для размещения использованной и подготовленной посуды необходимо иметь столы. Шкафы стеклянные нужны для запасных искусственных вагин, спермоприемников и другого инструмента. Платяной шкаф необходим для спецодежды.

В моечной размещают также стиральную машину.

В стерилизационной комнате устанавливаются сушильные шкафы, автоклавы, стерилизаторы, газовая или электрическая плита, дистилляторы воды, термостат для подготовленных вагин.

Для обеззараживания воздуха и предметов в стерилизационной и во всех помещениях лаборатории, в которых ведется работа со спермой, а также в манеже устанавливаются бактерицидные лампы – источники ультрафиолетовых лучей.

Использованная или новая посуда, инструмент и материалы должны быть соответствующим образом вымыты и обеззаражены. Новую стеклянную посуду моют теплым раствором соды или специальным моющим средством (типа "Чистоль"), удаляя наклеенные этикетки, жировые пятна и другие механические загрязнения. Моют с помощью ерша, поролона или куска ваты или марли, укрепленных на деревянные палочки. После мытья посуду выдерживают в течение суток или более в растворе соляной кислоты (одна столовая ложка дымящейся кислоты на 3 л дистиллированной воды); посуда должна быть полностью погружена в раствор кислоты. После этого посуду тщательно моют проточной водой и затем ополаскивают несколько раз дистиллированной водой и высушивают на специальной доске с колышками. Посуда считается хорошо подготовленной, если на ее наружной и внутренней поверхности после сушки не остается пятен.

Использованную стеклянную посуду моют также в содовом растворе или теплой водой, тщательно ополаскивают проточной водой и затем несколько раз дистиллированной. При сильном загрязнении посуды синтетическими средами для разбавления спермы, которые содержат желток или молоко, ее погружают в

хромовую смесь на 24 ч (иногда достаточно обработать смесью внутреннюю поверхность в течение нескольких минут) и многократно промывают проточной водопроводной водой, затем споласкивают дистиллированной водой и высушивают.

Новые пипетки и стеклянные трубки моют проточной водой и помещают на сутки в раствор соляной кислоты. Использованные пипетки достаточно вымыть водой и только сильно загрязненные моют хромовой смесью. Кислоту или хромовую смесь наливают в высокий цилиндр и в него помещают пипетки. Жидкость постепенно заполняет их просвет. После выдержки пипетки тщательно промывают проточной водой, а затем дистиллированной. Во время мытья следят, чтобы вода полностью заполняла просвет пипетки. Удобно пользоваться специальными цилиндрами с сифоном (пипеткомойками) или же дистиллированную воду помещать в бутылку с патрубком внизу, к которому присоединяют эластичную (резиновую или из полимерного материала) трубку с зажимом. После промывания пипеток водой их поочередно присоединяют к трубке и промывают дистиллированной водой.

В современных лабораториях обычно используются дозаторы пипеточные с одноразовыми полиэтиленовыми наконечниками. В таких случаях нет необходимости использования стеклянных пипеток.

Новые изделия из резины (цилиндры и камеры искусственных вагин, катетеры для осеменения кобыл, трубки и пробки) моют в теплом 2–3%-ном растворе соды, затем тщательно ополаскивают проточной водой и высушивают.

Загрязненные цилиндры мерные и мензурки, которые используются для отмеривания жидкостей, моют теплой проточной водой и ополаскивают несколько раз дистиллированной водой.

Термоса для хранения спермы – сосуды Дьюара два раза в год подвергают мойке и дезинфекции. После освобождения их от жидкого азота и выравнивания температуры внутренних стенок с температурой воздуха (отогревания) их моют 2%-ным раствором натрия гидрокарбоната, затем ополаскивают теплой водой. Остатки воды удаляют марлевыми салфетками.

Подготовленную чистую высушенную посуду перед использованием стерилизуют сухим жаром или другим общепринятым способом.

9.1. Приготовление растворов, марлевых салфеток, ватных тампонов, фильтров

Приготовление физиологического раствора. Нужно количество дистиллированной (очищенной) воды отмеривают цилиндром и переливают в коническую колбу. На весах отвешивают химически чистый натрий хлорид из расчета 0,9 г на 100 мл воды и помещают в колбу с водой. Если натрия хлорид расфасован в таблетках по 0,9 г, то на каждые 100 мл воды берут одну таблетку. Колбу закрывают пергаментной бумагой, помешивают до полного растворения навески и подогревают до кипения. Вместо дистиллированной воды можно использовать воду очищенную, приготовленную путем фильтрования в бытовых очистителях водопроводной воды. Готовят раствор ежедневно.

Применяют физиологический раствор для промывания внутренней поверхности инструмента для осеменения, обеззараженного 70%-ным спиртом (стеклянные шприцы-катетеры и микрошприцы), резинового катетера для осеменения кобыл после стерилизации кипячением, увлажнения влагалищного зеркала или стеклянного расширителя, а также при оценке качества спермы.

Приготовление 70%-ного спирта. Для приготовления 100 мл 70%-ного спирта в мерный цилиндр наливают дистиллированной воды 73 мл и добавляют до метки (27 мл) 96%-ного спирта этилового (спирта-ректификата). Расчет для приготовления спирта проводят по формуле:

$$x = \frac{70 \cdot 100}{96} = 72,8$$

Крепость приготовленного спирта контролируют спиртомером. Для этого размещивают стеклянной палочкой спирт с водой и медленно опускают в цилиндр спиртомер. После стабилизации положения прибора по шкале его определяют крепость спирта. Хранят спирт в баночке с притертой пробкой. Используют для обеззараживания внутренней поверхности стеклянного инструмента (шприцы-

катетеры, микрошприцы), а также трубок из полимерных материалов, используемых при извлечении зародышей. После обеззараживания остатки спирта удаляют тщательным промыванием инструмента 0,9%-ным раствором NaCl или средой Дюльбекко.

Приготовление 2,9%-ного раствора натрия цитрата (см. приготовление желточно-цитрато-глицериновой среды). Применяют раствор для оттаивания спермы, замороженной в гранулах, при оценке качества свежеполученной и сохраняемой спермы и в качестве компонента желточно-цитратной среды для разбавления спермы быка.

Приготовление раствора фурацилина. Готовят 0,02%-ный раствор фурацилина на физрастворе. Дистиллированную (очищенную) воду подогревают до кипения, затем помещают навеску натрия хлорида (на 100 мл воды 0,9 г соли) и фурацилина из расчета 0,2 г на 1 л (20 мг на каждые 100 мл). Тщательно размешивают и переливают в стерильную бутылку из темного стекла. Хранят в течение двух–трех дней в затемненном месте. Применяют раствор для обработки искусственных вагин после использования, подмывания препуция у производителей перед получением спермы и наружных половых органов у коров и свиней перед осеменением.

Приготовление 1%-ного раствора гидрокарбоната натрия. В коническую колбу на 500 мл наливают дистиллированную воду и стерилизуют в течение 0,5–1 мин кипячением. Охлаждают проточной водой или дают остыть при комнатной температуре до 40–45°C. Затем отвешивают необходимое количество гидрокарбоната натрия из расчета 1 г на 100 мл воды. Навеску помещают в стерильную стеклянную колбу. Отмеривают стерильным цилиндром (мензуркой) необходимое количество простерилизованной дистиллированной воды и переливают ее в колбу с навеской. Колбу закрывают стерильной пергаментной бумагой. Помешиванием добиваются растворения натрия гидрокарбоната. Нельзя нагревать раствор свыше 60°C, так как натрия гидрокарбонат разлагается и становится токсичным для сперматозоидов. Готовят раствор ежедневно.

Используют при оценке качества спермы, для увлажнения влагалищного зеркала и промывания инструмента, обработанного 70%-ным спиртом.

Приготовление фосфатно-солевого буфера (среды Дюльбекко). ФСБ готовят путем смешивания трех различных стерильных растворов.

Раствор ФСБ-А. В мерную колбу на 2 л наливают 1,5 л бидистиллированной воды и помещают в нее навески: натрия хлорида 20 г, калия хлорида 0,5 г, калия фосфорнокислого однозамещенного 0,5 г и натрия фосфорнокислого двузамещенного 12-водного, высушенного до постоянной массы – 2,88 г. Помешиванием раствора добиваются растворения внесенных солей. Затем добавляют воды до метки и тщательно перемешивают с помощью магнитной мешалки. Буфер разливают по 400 мл в бутылки объемом 500 мл. Для стерилизации автоклавируют при давлении 1 атм. в течение 15 мин. Хранят при комнатной температуре.

Раствор ФСБ-Б. В мерную колбу на 250 мл вносят навеску кальция хлорида безводного, высушенного до постоянной массы – 0,25 г и добавляют до метки бидистиллированной воды при постоянном помешивании. Приготовленный раствор разливают по 50 мл во флаконы или колбы соответствующей емкости, закрывают пергаментной бумагой и стерилизуют автоклавированием при давлении 1 атм. в течение 15 мин. Хранят при комнатной температуре.

Раствор ФСБ-В. В мерную колбу на 250 мл вносят навеску магния хлорида 6-водного, высушенный до постоянной массы – 0,25 г и добавляют до метки бидистиллированной воды при постоянном помешивании. Приготовленный раствор разливают по 50 мл во флаконы или колбы соответствующей емкости, закрывают пергаментной бумагой и стерилизуют автоклавированием при давлении 1 атм. в течение 15 мин. Хранят при комнатной температуре.

Для получения полного ФСБ смешивают 400 мл ФСБ-А с 50 мл ФСБ-Б и 50 мл ФСБ-В. В таком виде буфер можно хранить при 4°C до двух недель.

Используют фосфатно-солевой буфер в качестве среды для промывания матки при извлечении зародышей у коров-доноров.

Приготовление хромовой смеси. В коническую колбу отмеривают 1 л дистиллированной воды и растворяют в ней 60 г калия двуххромовокислого, а затем осторожно добавляют малыми порциями 100 мл концентрированной серной кислоты. Приготовленной хромовой смесью обрабатывают сильно загрязненную стеклянную посуду. После тщательно промывают проточной водой, споласкивают дистиллированной водой и высушивают.

Приготовление раствора перекиси водорода. Для приготовления 10 л раствора в стеклянную бутылку, в кастрюлю или ведро наливают 8750 мл питьевой воды, добавляют 1200 мл перигидроли и 50 г моющего средства типа "Прогресс", "Сульфанол" или др. Раствор готовят непосредственно перед употреблением. Норма расхода дезинфицирующего раствора 70–100 мл на 1 м². Используют раствор для мытья полов, стен и мебели в боксах для работы с зародышами. Можно использовать этот раствор и при уборке манежа и чучел для получения спермы от производителей, а также помещения пункта искусственного осеменения.

Приготовление фильтров. В лаборатории фильтры можно приготовить из фильтровальной бумаги. Для этого ножницами разрезают бумагу на квадратные листы соответствующего воронке размера. Складывают лист по диагонали и разглаживают основание образовавшегося треугольника. Затем его еще раз складывают пополам и разглаживают сторону уже четырехслойного малого треугольника. Раздвигают один слой бумаги и вкладывают фильтр в стеклянную воронку так, чтобы после обрезания ножницами выступающих краев бумаги он полностью помещался в воронке, а края его на несколько мм были ниже края ее.

Фильтры бумажные используются для приготовления очищенной воды, фильтрования раствора натрия цитрата перед стерилизацией (а при необходимости – и растворов А, Б и В, используемых для приготовления ФСБ), а также красителей, применяемых при оценке качества спермы. При наличии стандартных стерильных фильтров используют их. Воронку с фильтром помещают в горловину колбы и осторожно порциями выливают на фильтр раствор или прокипяченную воду. При этом не следует переливать жидкость выше края фильтра. Фильтрация позволяет удалить механические примеси и обеспечивает чистоту и прозрачность раствора.

Приготовление ватных тампонов. Пласты гигроскопической ваты расслаивают и отделяют тонкие кусочки. Края кусочков заворачивают так, чтобы они приобрели форму дисков диаметром 4–6 см. По мере приготовления тампоны складывают стопочкой и помещают в банку-тампонницу с притертой крышкой. Надавливая пинцетом в различных местах, хорошо пропитывают 96%-ным спиртом и закрывают банку. Можно тампоны сначала положить в чашку Петри, пропитать спиртом, отжать руками и затем пинцетом разделить их и поместить в тампонницу.

Применяют спиртовые тампоны для дезинфекции искусственных вагин, стеклянных палочек и инструментов для осеменения самок, пинцетов и корнцангов, ножниц, термометров, подставок для инструментов, поверхности стола и рук и др.

Сухие ватные тампоны помещают в бумажные пакеты или в стеклянные банки, которые закрывают бумагой, и стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение 1,5 ч. Такие тампоны необходимы для смазывания вазелином стилета катетера для извлечения зародышей, удаления с приборов и инструментов остатков вазелина, слизи, спирта, физиологического раствора и др.

Приготовление марлевых салфеток. Марлю складывают в несколько слоев и разрезают прямыми ножницами так, чтобы получить куски величиной от 20x20 до 40x40 см. Проглаживают утюгом и складывают вчетверо. Затем упаковывают в стерильную пергаментную бумагу. Салфетки используют для протирания оптики, предметных и покровных стекол, удаления капель воды с приборов и инструментов. Для протирания половых губ самки перед осеменением после подмывания можно использовать одноразовые стерильные бумажные салфетки. Стерилизуют их в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение 1 ч.

9.2. Подготовка и обеззараживание посуды и инструментов

Стерилизация кипячением. Кипячением обеззараживают: металлический инструмент и влагалищные зеркала; резиновые трубки, пробки и катетеры для осеменения кобыл; иглы и шприцы для многократного пользования; стеклянные банки и склянки, расширители влагалища и шприцы-катетеры. Стерилизация

проводится в хирургических электрических, а также простых стерилизаторах и специальных стерилизаторах для искусственных вагин.

Металлический инструмент (ножницы, пинцеты и корнцанги, шприцы для осеменения ШО-3 и ШО-4 и трансплантации зародышей, расширитель шейки матки, подставки для инструментов и др.) и влагалищные зеркала кипятят в дистиллированной или очищенной воде в течение 15–20 мин. Чтобы они не покрывались ржавчиной, их нужно опускать сразу в кипящую воду, а режущий и колющий инструмент (скальпели, ножницы, иглы и пр.), кроме того, обертывают марлей для предохранения от затупления. Добавление к воде 1–2% соды усиливает стерилизующий эффект и также предохраняет инструмент от ржавчины.

Шприцы для инъекций, различного типа переходники для соединения полимерных трубок, шприцы-катетеры и другие стеклянные предметы (банки, склянки и мелкая посуда) кипятят 30 мин в дистиллированной или очищенной воде без добавления щелочей. Их кладут в воду до начала подогревания, чтобы не лопались, причем шприцы разбирают и обертывают марлей. В шприцах-катетерах поршни индивидуально притерты к цилиндру и менять их нельзя. Поэтому при обертывании марлей к каждому шприцу прикрепляют и поршень. После этого их помещают на сетку стерилизатора, прикрытую марлей, и заливают теплой дистиллированной или очищенной водой. Стерилизатор накрывают крышкой, нагревают воду до кипения и кипятят 15–20 мин.

После кипячения инструмент и посуду вместе с сеткой извлекают из воды, кладут на крышку стерилизатора и высушивают, с горячей поверхности вода быстро испаряется. Инструмент, непосредственно контактирующий со спермой, необходимо сразу же встряхнуть, чтобы удалить из него воду, а оставшиеся капли удаляют обеззараженными марлевыми салфетками или сухими стерильными ватными тампонами. Из шприцев-катетеров воду удаляют вставленными поршнями, завертывают их в стерильную пергаментную бумагу, трехслойные марлевые салфетки или фольгу и хранят в шкафу. Собирая шприцы для инъекций и шприцы-катетеры, поршень вставляют в цилиндр лишь после остывания. Пользуются при этом стерильным пинцетом.

Резиновые пробки помещают в чистые марлевые мешочки и кипятят в течение 20–25 мин отдельно от металлического инструмента. Затем мешочки с пробками извлекают из воды и сушат в сушильном шкафу при температуре не выше 60°C.

На искусственные вагины перед кипячением (а также автоклавированием) с обоих концов закрепляют чехлы (колпаки) из холста или плотной белой ткани. После этого вагину помещают в специальный или большой хирургический стерилизатор и кипятят в течение 20 мин. После кипячения быстро извлекают из воды и некоторое время удерживают в вертикальном положении, чтобы полностью удалить воду, и кладут на подставку. Чехлы снимают непосредственно перед подготовкой к получению спермы. Если обнаружены на стенке камеры остатки воды, ее удаляют спиртовыми тампонами.

Стерилизация сухим жаром. Этим способом наиболее удобно стерилизовать стеклянную посуду, приборы и инструмент. Стерилизация проводится в электрических сушильных шкафах различных типов. Эксплуатация их осуществляется в соответствии с инструкцией по использованию. В рабочей камере сушильного шкафа температура может достигать 250–350°C. Перед стерилизацией разобранные шприцы-катетеры, мерные и пастеровские пипетки, часовые стекла и чашки Петри, а также мелкую посуду заворачивают в фильтровальную (пергаментную) бумагу или пищевую алюминиевую фольгу. При этом с банок снимают притертые крышки. Мензурки и мерные цилиндры большого объема закрывают колпаками из пергаментной бумаги или пищевой алюминиевой фольги, а колбы – ватно-марлевыми пробками. Подготовленные предметы размещают на полках сушильного шкафа, нагревают его до температуры 160–180°C и выдерживают в течение 45–60 мин. Затем шкаф выключают и после охлаждения по мере необходимости берут инструмент и посуду для использования.

Стерилизация в автоклавах. Надежным способом стерилизации спецодежды (полотенца, халаты, шапочки и косынки, фартуки, марлевые салфетки, вата), растворов, лабораторной посуды и инструмента является стерилизация паром под давлением – автоклавирование. Этот метод основан на том, что при кипении

воды в герметически замкнутом приборе (автоклаве) повышается давление и температура пара. При этом температура кипения воды и давление находятся в определенной зависимости: при давлении 1, 1,2, 1,4 и 1,6 атм. температура кипения воды соответственно равна 99,1°C, 104,2°C, 108,7°C и 112,7°C. Высокая температура губительно действует на микроорганизмы и их споры. Инструмент, спецодежду, марлевые салфетки, вату упаковывают в биксы. Растворы и лабораторную посуду можно размещать непосредственно в стерилизационной камере. Горловину колб закрывают пергаментной бумагой.

Обеззараживание спиртом. Шприцы-катетеры (микро шприцы) для осеменения коров и овец можно обеззараживать путем промывания внутренней поверхности 70%-ным спиртом с последующим тщательным (5–6 раз) промыванием физиологическим раствором, 1%-ным раствором натрия гидрокарбоната или 2,9%-ным раствором натрия цитрата. Катетеры для извлечения зародышей из латексной резины полностью погружают в 96%-ный или 70%-ный спирт, а затем промывают средой Дюльбекко.

Изделия из пластмассы и резины можно стерилизовать путем погружения их в 0,5%-ный раствор хлорамина на сутки. После этого их ополаскивают стерильной дистиллированной водой и физиологическим раствором.

Наружную поверхность стеклянного инструмента для осеменения самок, а также сухие стеклянные палочки, химические термометры, пластмассовые подставки, эбонитовые палочки для смазывания искусственных вагин вазелином, пинцеты, ножницы, скальпели и другое обеззараживают путем протирания тампонами, пропитанными 96%-ным спиртом. Отработанные спиртовые тампоны складывают в специальную баночку или тампонницу и используют затем для фламбирования инструментов.

Спиртом обеззараживают также отогретые вымытые сосуды Дьюара. Сухие внутренние стенки их протирают тампонами, пропитанными 96%-ным спиртом-ректификатом.

Стерилизация фламбированием (обжиганием). Этот способ применяется чаще в полевых условиях. Для стерилизации инструмент (влагалищные зеркала, ножницы, пинцеты, стеклянные палочки, подставки) проводят несколько раз над некопящим пламенем горящего спиртового тампона, спиртовки, паяльной лампы или газовой горелки. При этом стерилизуемые предметы постоянно поворачивают, медленно проводя через верхнюю часть языка пламени, где температура наиболее высокая, и обжигают (но не прокалывают) со всех сторон, чтобы была обеззаражена вся поверхность. Стеклянные предметы фламбируют осторожно: вначале обжигают над пламенем огня на расстоянии 15–20 см, а затем приближают к нему, равномерно обрабатывая со всех сторон.

Обеззараживание паром. Этот способ в практике искусственного осеменения используется крайне редко. Стерилизация проводится в аппарате Коха или при помощи парообразователя и только для обеззараживания внутренней поверхности стеклянных банок и колб, инструмента для искусственного осеменения свиней (вагины, спермоприемники, ампулы, зонды).

В парообразователь наливают на 3/4 воду, закрывают его крышкой и нагревают до кипения на электроплитке или газовой плите. Образующийся пар поступает в резиновую трубку, присоединенную к патрубку крышки. Струю пара, выходящего из трубки, направляют на обеззараживаемый инструмент. По мере выкипания воды ее подливают в колбу через воронку, разжав зажим на резиновой трубке.

Продолжительность обеззараживания различных предметов (инструментов) неодинаково и зависит от их размеров, внешней температуры и силы струи пара. Обеззараживание проводят обычно в течение 3–5 мин с того момента, когда пар начинает выходить из обеззараживаемого прибора (пар вначале конденсируется на холодных стенках инструментов). Обработанные паром инструменты нужно промывать стерильным 1%-ным раствором бикарбоната натрия или 2,9%-ным раствором лимоннокислого натрия, чтобы удалить с них оставшиеся капельки воды, которые могут неблагоприятно отразиться на качестве спермы.

Стерилизация вазелина. Белый или желтый вазелин используют для смазывания внутренней поверхности камер искусственных вагин, стилетов катетеров для извлечения зародышей, наружной поверхности ветвей влагалищного зеркала, рук или перчаток при вагинальном исследовании.

В стеклянную банку с притертой пробкой вазелин накладывают не слишком полно. Плотной пробкой не закрывают, чтобы во время стерилизации она не прикипела к горловине или не лопнула банка; обычно пробку помещают в наклонном положении. На дно электрической водяной бани или кастрюли кладут сложенную в несколько слоев марлю (полотно, вату) и ставят на нее банку с вазелином. В баню (кастрюлю) наливают холодную или теплую воду так, чтобы уровень ее был несколько выше уровня вазелина в банке. Электрическую баню включают в сеть, а кастрюлю ставят на электрическую или газовую плиту. После начала кипения воды и расплавления вазелина обеззараживание его продолжают 20–30 мин. После этого банку извлекают из водяной бани и дают остыть, после чего плотно закрывают пробкой.

Если после расплавления вазелина на дне банки появляется осадок, верхний (чистый) слой вазелина переливают в другую банку и стерилизуют заново. Стерилизация вазелина должна проводиться ежедневно.

Глава 10. ОСЕМЕНЕНИЕ САМОК СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

10.1. Осеменение коров и телок

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. Процесс введения спермы в половые пути самки является последним, очень важным этапом метода искусственного осеменения. Сперма должна быть введена в наиболее подходящее место и в оптимальное время в период половой охоты, поэтому своевременному выявлению животных в охоте должно уделяться большое внимание. Знание признаков (внешних проявлений) половой охоты и ее продолжительности, а также правильный выбор метода выявления этих признаков имеют большое значение.

Половая охота проявляется в фазу эструс, когда хорошо выражены и другие феномены полового цикла – течка и половое возбуждение. Длится охота 12–18 ч, хотя может быть более продолжительной или слишком кратковременной.

Течка – процесс выделения слизи из половых органов как следствие морфологических изменений в половом аппарате самки. Характеризуется гиперемией трубчатых половых органов, новообразованием и разрастанием секреторных клеток и желез слизистой оболочки яйцепроводов, рогов, тела и шейки матки.

Наиболее заметным изменениям подвергаются эпителиальные клетки передней части влагалища и секреторные клетки шейки матки. В середине цикла клетки влагалища варьируют от уплощенных до низких цилиндрических. В стадии проэструс происходит размножение и рост высоких цилиндрических слизиобразующих поверхностных клеток. В период эструса этот процесс усиливается, что приводит к сильному утолщению эпителия передней части влагалища. *За 12–24 ч до появления первых признаков охоты* начинается обильная секреция слизи из передней части влагалища и шейки матки. Количество слизи *увеличивается в течение охоты* и затем *постепенно уменьшается к четвертому дню после охоты*. В конце течки слизь содержит хлопья из лейкоцитов; максимальная лейкоцитарная инвазия слизистой оболочки влагалища наблюдается через 2–5 дней после охоты. Эластичность слизи варьирует, максимальная она – во время охоты. В связи с эластичностью изменяется и способность слизи к кристаллизации. Наиболее хорошо выражена кристаллизация во время охоты и в течение двух последующих дней, а в другое время отсутствует. Под микроскопом в мазках кристаллы слизи расположены в виде листка папоротника. Этот феномен (*арборизация*) так же, как количество и свойства слизи зависит от уровня эстрогенов. В начале охоты слизь клейкая, прозрачная, светлая, а к концу охоты становится более вязкой. Период яркого проявления охоты характеризуется наименьшей вязкостью слизи и максимальным понижением электрического сопротивления ее, а также максимальным увлажнением слизистой оболочки преддверия влагалища. Этот период совпадает с оптимальным временем

осеменения. В конце охоты по мере возрастания вязкости слизи увеличивается и ее электрическое сопротивление. Электропроводность слизи можно контролировать с помощью специальных приборов.

Диагностируют течку осмотром наружных половых органов, влагалища, шейки матки, исследованием выделяющейся из половых органов слизи, клиническими и лабораторными методами.

В мазке-отпечатке с боковой стенки преддверия влагалища в фазу проэструс обнаруживаются малые и большие промежуточные эпителиальные клетки, эритроциты, иногда лейкоциты. В фазу эструс – преимущественно большие промежуточные эпителиальные клетки, безъядерные клетки или клетки вакуолизированные с небольшим пикнотическим ядром и эритроциты. Лейкоциты встречаются редко, только в начале эструса, а в конце этой стадии доминируют безъядерные эпителиальные клетки. В фазу метэструс в мазке обнаруживается много лейкоцитов, исчезают безъядерные клетки, уменьшается число больших промежуточных клеток, появляются парабазальные клетки и малые промежуточные эпителиальные клетки, которые в последующем становятся вакуолизированными. При анэструсе в мазке преобладают парабазальные и малые промежуточные эпителиальные клетки.

Половое возбуждение (общая реакция) – изменение в поведении самки, возникающее в связи с созреванием фолликулов. Проявляется позднее течки и характеризуется ярко выраженной общей реакцией организма в виде беспокойства, отказа от корма, другими признаками. Самка проявляет "интерес" к самцу, может прыгать на него или других самок, но садку самца на себя не допускает.

Половая охота – строго специфическая, положительная сексуальная реакция самки на самца. Во время охоты самка стремится к самцу, принимает позу для полового акта, часто производит акт мочеиспускания, допускает садку и коитус. Половую охоту можно точно установить рефлексологическим методом, т.е., используя самца-пробника. Однако у коров и телок при контакте их с другими самками проявляются такие характерные для охоты признаки, которые позволяют практически безошибочно распознать ее. Знание этих признаков и

умение их использовать помогают животноводам успешно организовать искусственное осеменение коров и телок без использования быков-пробников. Наиболее важными являются следующие признаки.

1. Незадолго до начала охоты корова обнюхивает и облизывает соседних коров, особенно их половые органы, а также подошедших близко людей. При этом спина впереди крестца выгибается, а затем сильно прогибается, хвост поднимается и опускается. Такое движение можно вызвать поглаживанием поясницы или прикосновением к вульве.

2. Слизистая оболочка преддверия влагалища припухшая, ярко розового или красного цвета, влажная и покрыта прозрачным секретом, который нередко вытекает из половой щели; поэтому пучок волос в нижнем углу вульвы всегда бывает влажным.

3. Постоянно переступает с ноги на ногу, находясь в группе коров, пытается приблизиться к другим животным в охоте (или не в охоте) и вспрыгнуть на них, иногда даже на человека.

4. Корова в охоте проявляет признаки общего возбуждения, чаще стоит; если кто-нибудь проходит сзади, она поднимает голову и провожает проходящего взглядом.

5. Глаза более живые, неподвижные и блестящие, зрачки расширены.

6. У некоторых коров охота сопровождается громким мычанием в течение нескольких часов или всего дня.

7. У многих животных наблюдается снижение удоя, но оно может пройти незамеченным; более обычным является затрудненное доение, так как корова задерживает молоко. Ослабевают деятельность рубца.

Если животные находятся в стаде, то признаки охоты выражены более отчетливо. Корова в охоте в 2–3 раза увеличивает двигательную активность (регистрируемую с помощью педометров), следует за другими животными и вспрыгивает на них, независимо от того, в охоте эти животные или нет. Наибольшая активность прыгать проявляется в конце проэструса, в эструс и в начале метэструса. Если замечено, что корова повторяет прыжки, то следует продолжить

за ней наблюдение, так как возможно наступление охоты. Но этот признак не является определяющим. Он может наблюдаться и у животных, не находящихся в охоте.

8. Наиболее важным для выявления состояния охоты является поведение коровы в момент, когда на нее вспрыгивает другое животное: если она стоит спокойно или слегка уклоняется, то это указывает на наличие у нее охоты. В разгар охоты у коров проявляется, как правило, только такой типичный признак (*рефлекс неподвижности*) и лишь изредка – активный обнимательный рефлекс, но без совокупительных движений. В это время хорошо выражены и специфические изменения в наружных половых органах. Слизь вытекает в виде длинной вязкой нити, приклеивается к ягодицам и хвосту. Если животное лежало, то сзади его можно увидеть скопление мутноватой или голубоватого цвета слизи. У телок наблюдается и четкий подъем температуры во влагалище.

У животных с "тихой овуляцией" эти изменения также имеют место. Отмечается у них и возбужденное состояние, рев, попытки вспрыгивать на других коров. Но сами они не допускают садки других животных и не являются особо "привлекательными". При осеменении таких животных может произойти оплодотворение.

При контакте коровы в охоте с быком-пробником животные облизывают друг друга, после чего корова пытается вспрыгнуть на быка прежде, чем допускает садку сама. Если корова в охоте долгое время находилась в стаде, то вследствие садок других животных у нее стирается волос и появляются ссадины на корне хвоста и седалищных буграх. Эти признаки сохраняются 4–6 дней. Но если ссадины влажные с выделением экссудата или кожа болезненна и имеет повышенную температуру, то это говорит о том, что корова в охоте или охота только что прошла.

Иногда коровы в охоте следуют за другими коровами, с фырканием обнюхивают их половые органы, опираются головой на поясницу, поднимают хвост и помахивают им. Нередко за такими коровами активно следуют другие животные.

После охоты (в течение 10 ч) у коров наблюдается выделение прозрачной слизи; в этот период животное не допускает на себя садку животных, хотя сама может делать садки на других животных.

Наблюдается повторяемость признаков проявления и длительности половых циклов у одного и того же животного в различные годы.

Для выявления охоты у коров целесообразно трехкратное в день наблюдение по 20–30 мин до раздачи корма во время их движения. При беспривязном содержании животные должны быть помечены бирками или ошейниками с хорошо заметными номерами. На крупных фермах наблюдение можно проводить с помощью телеустановок. Очень важное значение имеет степень освещенности помещений, особенно в осенне-зимнее время. В случае планирования сроков осеменения после отела (через 40–45 дней) и предоставления животным прогулок эффективно использование специальных детекторов (KaMaR), которые прикрепляются на крестце животного, а также пedomетров.

С целью более полного и своевременного выявления охоты у коров и определения оптимального времени их осеменения используют быков-пробников, а также специально подготовленных коров – выявительниц или натренированных собак.

Использование быков-пробников. Так как половая охота – строго специфическая реакция самки на самца, то ее можно достоверно определить с помощью пробника. Без пробника при регулярном визуальном наблюдении за стадом пропуски половой охоты у коров достигают 20% и более. Бык-пробник не только безошибочно выявляет охоту, но является мощным естественным стимулятором, способствующим своевременному и полноценному проявлению половой цикличности после родов. Быков-пробников используют с 13–14-месячного возраста для выявления охоты у тёлочек и с 15–16-месячного – у коров. К пробникам с низкой живой массой коровы иногда проявляют агрессивность; с помощью таких пробников пробуют коров на наличие охоты под контролем человека. До начала использования от вазэктомированного пробника необходимо дважды получить в искусственную вагину и проверить под микроскопом

выделенный им секрет: если операция сделана правильно, сперматозоидов в секрете не будет.

Использование пробников эффективно при правильной организации работы с ними. Главным условием является непродолжительное пребывание пробников в загоне среди коров или тёлочек (утром и вечером не более 1.5–2 ч). С этой целью необходимо на каждой ферме иметь специальный загон, в который выпускают вместе с пробником коров после отела (за одну–две недели до планируемого осеменения), бесплодных коров, ремонтных тёлочек (с 15–16 мес), а также осеменённых коров и тёлочек (с 17-го по 25-й день после осеменения). В летний период пробу проводят в загоне перед выгоном животных на пастбище и после возвращения их с пастбища. Коров, у которых выявлена охота, немедленно выводят из загона и осеменяют, а пробника оставляют для общения с другими самками.

Пробника нельзя оставлять постоянно в стаде, так как половая активность его будет снижаться. В зимний период быка-пробника выпускают на прогулку вместе с коровами утром или днём. Вечером пробника медленно проводят по проходу скотного двора. В плохую погоду вечернюю и утреннюю пробу на охоту проводят в коровнике.

В молочном комплексе на 800 коров при пункте осеменения содержат четырёх пробников и используют их попеременно (по два в день). Во всех случаях строго соблюдают принцип "дозированного" общения пробников с коровами и тёлочками и постоянно контролируют их использование.

Способы осеменения. Для осеменения коров и тёлочек применяют цервикальный метод осеменения, т.е. в шейку матки. Существуют три принципиально различающиеся по технике исполнения способа введения спермы в канал шейки: *визо-цервикальный*, *ректо-цервикальный* и *мано-цервикальный*. Независимо от способа введения спермы осеменение коров и тёлочек должно проводиться на пункте или в подготовленном для этой цели помещении, где содержатся животные, с соблюдением технологических и ветеринарно-санитарных требований. При осеменении необходимо предупреждать болезненные и стрессовые реакции у животных, а также исключить возможность распространения

инфекционных болезней. При маршрутно-кольцевом обслуживании нескольких пунктов оператор по искусственному осеменению может перевозить только сосуд со спермой. Другие необходимые инструменты и материалы должны быть на каждом пункте.

Перед осеменением животного специалист уточняет время, прошедшее после отела, или порядковый номер повторного осеменения; при необходимости знакомится с результатами акушерского и гинекологического исследования. Затем осматривает животное, его половые органы и выделяемую слизь. При наличии в слизи примесей гноя или крови животное не осеменяют и после осмотра его ветеринарным специалистом проводят соответствующее лечение.

После обследования животного оператор по искусственному осеменению снимает рабочий халат темного цвета, моет руки и надевает белый халат. Включает оттаиватель (биотермостат), чтобы температура воды достигла 38–40°C. Поверхность стола, прикрытую полиэтиленовой пленкой или листом (40x60 см.) пластика, протирает спиртовым тампоном. Обрабатывает подставку для инструмента, пинцет, корнцанг, ножницы. Готовит инструмент для осеменения, оттаивает сперму и осеменяет животное одним из способов.

Визио-цервикальный способ осеменения – наиболее простой и доступный. Сущность его заключается в том, что во влагалище коровы или телки вводят теплое стерильное влагалищное зеркало, которое предварительно увлажняют теплым изотоническим раствором натрия хлорида или натрия гидрокарбоната. В момент введения зеркало держат левой рукой так, чтобы ветви его были плотно закрыты, а ручки обращены в сторону. Начальной частью ветвей делают движение сверху вниз между половыми губами и под небольшим углом вверх и затем вперед вводят его во влагалище до упора. После этого поворачивают зеркало ручками вниз и, надавливая на них, раскрывают зеркало. Во влагалище зеркало размещают так, чтобы можно было видеть отверстие шейки матки. При осеменении в недостаточно освещенном помещении к зеркалу присоединяют осветитель.

Затем инструмент для осеменения (шприц-катетер, полистироловую пипетку с присоединенным с помощью полиэтиленовой муфты пластмассовым шприцем или другой инструмент) вводят через зеркало в шейку матки на глубину 4–6 см и нажатием на поршень выдавливают сперму. Если сперма расфасована в соломинах, пользуются инструментом ШО-3 или ШО-4. Перед введением спермы зеркало несколько извлекают и уменьшают степень раскрытия влагалища.

Нередко используют металлическое зеркало с вырезом на верхней ветви. Изготавливают его из обычного инструмента. Для этого срезают правый край верхней ветви в виде полоски шириной от 11–12 мм в передней, до 55–60 мм в задней части ее. Кроме того, у основания зеркала делают дополнительный косой срез под углом 20–30°. Через такое зеркало шприц-катетер (или другой инструмент) обычным путем вводят в шейку матки. После этого катетер слегка прижимают к верхнему краю половой щели, а зеркало, повернув срезанной частью к шприцу, вынимают осторожно из влагалища. Через 20–30 с вводят сперму в шейку матки. В момент введения спермы снимаются болевые ощущения, связанные с нахождением во влагалище металлического инструмента, это способствует естественному проявлению сократительной функции матки, глубокому размещению спермы в канале шейки и повышению процента плодотворного осеменения.

В ряде стран вместо металлического влагалищного зеркала используют стеклянный расширитель.

Для асептического проведения осеменения этим способом необходимо животное зафиксировать в станке, подмыть теплой водой половые органы и вытереть салфеткой. Воду для подмывания наливают в полиэтиленовую бутылку емкостью 500–1000 мл, а в пробке делают одно или несколько отверстий. Такую бутылку можно поместить в карман халата. Влагалищное зеркало и шприц-катетер перед осеменением каждого животного необходимо обеззаразить одним из подходящих способов. Обычно зеркало (металлическое) стерилизуют кипячением в дистиллированной воде, а в полевых условиях – фламбированием; осветитель

тщательно протирают спиртовым тампоном, шприц-катетер обеззараживают кипячением или 70%-ным спиртом.

Для обработки стеклянного шприца-катетера необходимы три баночки с притертыми пробками для физиологического раствора (баночки №№ 1, 3 и 4) и одна баночка (№ 2) для 70%-ного спирта. Кроме того, необходимы спиртовые тампоны и сухие ватные тампоны (в тампонницах), а также стерильные марлевые салфетки. Следует также иметь отдельную баночку для отработанного спирта, тампонницу для отработанных спиртовых тампонов, толстостенную чашку для отработанных растворов и специальную пластмассовую подставку.

Перед началом работы из шприца-катетера, сохраняемого с 70%-ным спиртом, удаляют спирт, протирают наружную поверхность катетера тампоном, смоченным 96%-ным спиртом, а затем промывают его раствором из баночек №3 и №4 по три–четыре раза из каждой. После последнего промывания инструмент поворачивают катетером вниз и, медленно двигая поршнем шприца, удаляют остатки раствора. Подготовленный инструмент опускают в ампулу с оттаянной спермой и, медленно оттягивая поршень вверх, набирают ее в шприц. Затем шприц поворачивают катетером вверх, несколько оттягивают поршень вниз, чтобы собрать сперму из катетера, после чего медленным движением поршня вытесняют воздух из шприца и катетера (до появления капельки спермы на кончике катетера). После осеменения животного катетер протирают сухим тампоном, промывают три–четыре раза из баночки № 1 физиологическим раствором, набирают 1–2 мл 70%-ного спирта и помещают на хранение до следующего осеменения.

В настоящее время визо-цервикальный способ осеменения коров используется редко. Инструментом для осеменения обычно служит полистироловая пипетка или металлический шприц для пайет.

Ректо-цервикальный способ – наиболее надежный из всех используемых в скотоводстве; заключается во введении инструмента для осеменения со спермой в шейку матки, которую фиксируют рукой через прямую кишку. Этот способ в одинаковой мере пригоден как для осеменения коров и телок, так и для пересадки зародышей реципиентам.

При использовании спермы, замороженной в гранулах, необходимо иметь одноразовые полистироловые пипетки, полиэтиленовый шприц с соединительной муфтой и полиэтиленовую перчатку. Для осеменения спермой в соломинах используют металлический шприц ШО-3 или ШО-4, поверх которого надевают защитный чехол. При использовании пайет Кассу необходимы соответствующие инструменты.

Оттаяв сперму в гранулах, оператор берет пакет с одноразовыми пипетками, протирает уголок спиртовым тампоном (со стороны незашлифованного конца пипетки) и ножницами делает небольшое отверстие. Выдвинув на одну треть длины пипетку, соединяет ее со шприцем. Затем извлекает пипетку полностью, отверстие в пакете зажимает скрепкой и после этого медленно набирает оттаянную сперму из ампулы; сперма должна заполнить переднюю часть пипетки без столбика воздуха. Подготовленный инструмент оператор помещает в свободный стерильный пакет и кладет на стол.

После оттаивания спермы в соломине оператор берет стерильный инструмент, поршень оттягивает примерно на 10 см и другой рукой вставляет соломину до упора. Конец ее с пузырьком воздуха отрезает острыми ножницами перпендикулярно возле самого конца инструмента (соломина не должна выступать более чем на 1–2 мм). На инструмент надевает защитный одноразовый чехол, фиксирует его в замковом устройстве. Конец чехла изнутри должен плотно охватывать срезанную часть соломины и при надавливании на поршень сперма должна выходить через отверстие чехла и не попадать под чехол.

В защитных одноразовых чехлах для инструментов французского или немецкого производства имеется ползунок. При надевании на металлический инструмент со вставленной пайетой одноразового чехла ползунок смещается до конца чехла и плотно обхватывает обрезанный конец пайеты. Это предотвращает попадание спермы между чехлом и пайетой.

Для осеменения этим способом (рис. 10) руку в перчатке вводят в задний участок прямой кишки животного. Затем несколько отодвигают ее назад и располагают так, чтобы большой палец разместился в области промежности выше

угла половой щели, а остальные четыре пальца надавливали на нижнюю стенку прямой кишки впереди ануса. Это приводит к раскрытию половой щели. Подготовленный инструмент для осеменения (полистироловая пипетка, соединенная с помощью специальной муфты с полиэтиленовым шприцем; металлический инструмент всех типов с полипропиленовой соломиной, зафиксированной в инструменте с помощью защитного чехла; специальный металлический инструмент для облицованных гранул) вводится в половые пути по верхней стенке преддверия влагалища вначале пол углом 30–40°, чтобы не попасть в отверстие мочеиспускательного канала, а затем – горизонтально до упора в свод влагалища. Если инструмент упирается в складку стенки влагалища, необходимо осторожно рукой через стенку прямой кишки надавить на передний конец инструмента и продвинуть его вперед. Иногда это удается сделать только после отодвигания шейки матки вперед и распрямления верхней стенки влагалища.

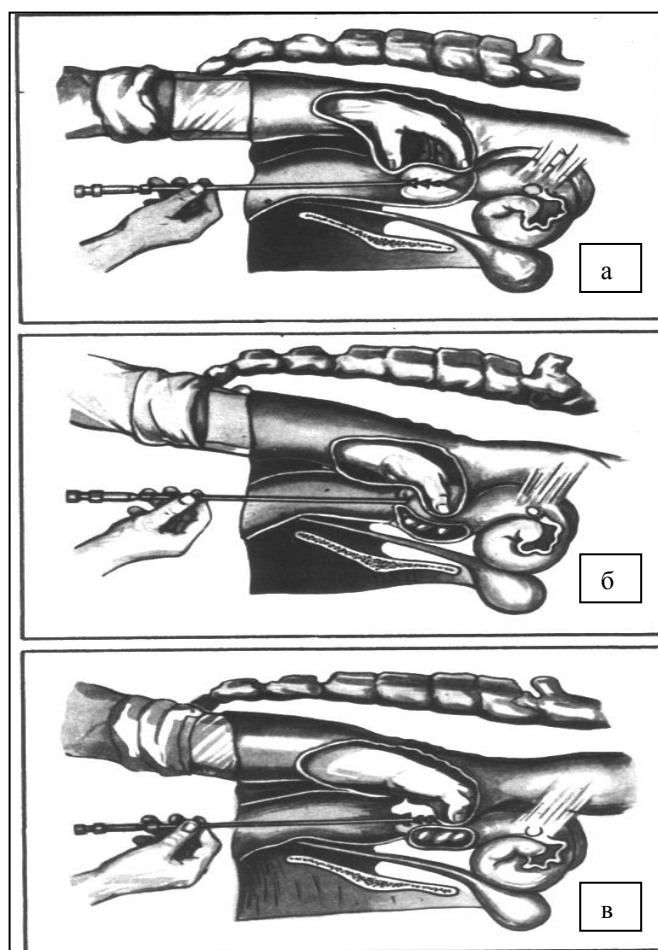


Рис.10. Введение инструмента в шейку матки коровы ректо–цервикальным способом.

Можно инструмент для осеменения продвигать в половые пути раньше, чем будет введена рука в прямую кишку. Для этого одной рукой раскрывают половые губы, а другой инструмент направляют во влагалище по верхней стенке. Затем руку вводят в прямую кишку. Чтобы рука легче проходила через анальное отверстие, перчатку слегка намазывают или смазывают вазелином. Перед введением можно смазать и анальное отверстие.

Манипуляции по освобождению прямой кишки от каловых масс следует проводить тогда, когда сильно затруднено фиксирование шейки матки; введенный инструмент при этом оберегают от загрязнения. После полного введения инструмента во влагалище рукой через прямую кишку фиксируют шейку матки и направляют инструмент в канал шейки матки. Это наиболее трудная и ответственная операция. Для начинающих осваивать этот способ можно рекомендовать два следующих приема.

Если по толщине шейка матки не слишком большая, то сначала необходимо отодвинуть и прижать ее к боковой стенке тазовой полости. При работе правой рукой прижимают шейку к левой стенке, а если левой, то к правой стенке. Затем полностью обхватывают заднюю часть шейки так, чтобы указательный, средний и безымянный пальцы размещались снизу шейки, а большой палец фиксировал ее сверху. Мизинец должен находиться сзади устья шейки матки и на нем располагают конец инструмента. Изменяя положение кисти руки с шейкой матки в сагиттальной плоскости, можно выбрать такой момент, когда кончик инструмента совпадет с наружным отверстием шейки, после чего его достаточно легко ввести в заднюю часть канала (рис. 10 б).

Подталкивая инструмент вперед, руку в прямой кишке перемещают на переднюю часть шейки, фиксируют ее и, изменяя положение относительно инструмента в различных направлениях, "насаживают" на него полностью (рис. 10 в). Когда пальцы ощутят инструмент через тонкую стенку тела матки, его несколько отодвигают назад и, надавливая на поршень шприца или толкатель других инструментов, медленно вводят сперму. Можно инструмент извлекать постепенно из канала шейки так, чтобы по крайней мере часть вводимой спермы

осталась между складками шейки матки. Это способствует формированию первичного депо сперматозоидов. Более глубокое расположение такого депо, чем при естественном осеменении, позволяет уменьшить объем вводимой спермы и количество в ней подвижных сперматозоидов без снижения результатов осеменения.

Иногда диаметр шейки матки настолько велик, что трудно обхватить ее заднюю часть рукой. В этом случае четырьмя пальцами прижимают влагалищную часть шейки к лонным костям, а большим пальцем отыскивают наружное отверстие шейки и под контролем его направляют инструмент вперед (рис. 10а). После этого, манипулируя передней частью шейки матки, полностью вводят инструмент в канал шейки матки.

При ректо-цервикальном осеменении сперму можно ввести в половые пути на различную глубину. Наиболее рациональным является введение спермы в тело матки при первом осеменении, а также при осеменении в стимулированную охоту, и в переднюю часть шейки матки при повторном осеменении.

Результативность ректо-цервикального способа осеменения коров и телок выше, чем других способов. При благоприятных условиях при первом осеменении после отела оплодотворяется 63–66% или более коров, т.е. столько же, сколько и после естественного осеменения.

Мано-цервикальный способ. Он применяется только для осеменения коров с достаточно широким половым каналом.

При осеменении мано-цервикальным способом сперму вводят в канал шейки матки с помощью короткого полиэтиленового катетера с присоединенной к нему ампулой непосредственно рукой. На руку надевают стерильную полиэтиленовую перчатку. Для введения спермы в облицованных гранулах используется специальный инструмент – зоошприц, который состоит из цилиндрического корпуса, съемного фланца и толкателя.

Сначала готовят животное: фиксируют хвост, а наружные половые органы подмывают теплой водой (при необходимости с мылом) и дезинфицируют раствором фурацилина. Оператор по искусственному осеменению извлекает из

упаковки полиэтиленовую ампулу, срезает колпачок наискось острым скальпелем или ножницами и соединяет ее с катетером. Затем набирает сперму, опять вкладывает в упаковку и кладет на подставку. На руку надевают полиэтиленовую перчатку, увлажняет ее 1%-ным раствором натрия хлорида или натрия гидрокарбоната и осторожно вводит во влагалище коровы. После нахождения влагалищной части шейки матки пальцами обхватывает ее и, поворачивая руку относительно продольной оси в одну и другую стороны, делает массаж (рис. 11).

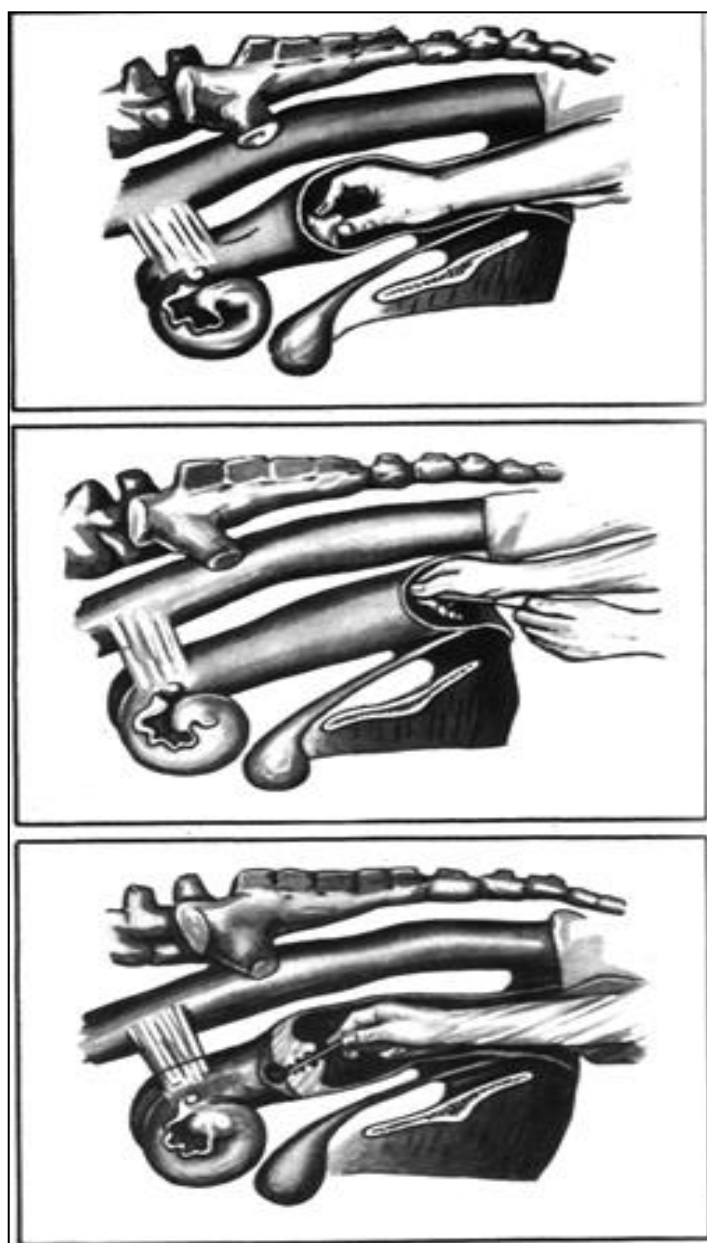


Рис. 11. Введение инструмента в шейку матки коровы mano-цервикальным способом.

Корова обычно успокаивается и до конца осеменения стоит неподвижно. Шейка матки и матка периодически сокращаются. В момент расслабления матка проявляет всасывающую функцию.

В это время техник, не вынимая кисти руки из влагалища, другой рукой подает подготовленный для осеменения инструмент и располагает его на ладони так, чтобы большой палец прижимал ампулу, а кончик катетера находился вблизи указательного пальца. Не меняя положения инструмента, вводит кисть руки до шейки матки и под контролем указательного пальца продвигает катетер на глубину 1,5–2 см в цервикальный канал.

При использовании любого из трех способов наилучшие результаты получают при осеменении коров через 9–16 ч после начала охоты. Подходящее время и в период между 6 и 9 ч, а также с 16 до 28 ч. Если время начала охоты неизвестно, животное осеменяют немедленно; затем осматривают через 10–12 ч и при сохранении признаков охоты – осеменяют повторно. При длительно протекающей охоте животное следует тщательно исследовать ректально и при отсутствии патологии яичников осеменять третий раз.

10.2. Осеменение овец

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. *Течка* у овец непродолжительна, и обнаружить ее трудно. Проявляется гиперемией слизистых оболочек, увеличением числа слоев влагалищного эпителия и ороговением поверхностных клеток, иногда точечными кровоизлияниями, повышением тонуса мускулатуры матки, усилением секреции слизи клетками шейки матки. Слизь в начале охоты прозрачная, слегка опалесцирующая, затем становится более мутной и в конце охоты приобретает салообразную консистенцию.

Половая охота у овец проявляется не так ярко, как у других видов, и определить ее у большинства животных без барана-пробника практически невозможно. Она сопровождается выделением специфических пахучих веществ – аттрактантов (*феромонов*), которые легко воспринимаются самцами, и продолжается 36–38 ч (от 12 до 72 ч).

Овцы в охоте стучат копытами, помахивают хвостом, стремятся приблизиться к производителю, иногда группой ходят за бараном. Овца считается в охоте, если допускает садку барана.

У коз много общего с овцами в проявлении половой функции. Однако половая цикличность нередко нерегулярная, продолжительность цикла составляет 19–21 день, хотя возможны и более короткие циклы (5–9 дней). Охота длится 22–33 ч; овуляция наступает через 27–34 ч после начала охоты.

Для выявления охоты у овец используют баранов-пробников. Чтобы баран не мог осеменить овцу, а только выявил охоту, ему подвязывают на живот фартук из плотного материала, длиной 60 см и шириной 40 см. Иногда делают вазэктомию. На 80–100 овцематок готовят одного пробника. Обычно используют молодых, энергичных баранов. Если баран не вазэктомирован, то племенная ценность его должна быть не ниже 1 класса. Перед началом работы как интактным, так и вазэктомированным баранам подвязывают под брюхо фартуки для предотвращения коитуса. Чтобы облегчить процесс выборки овец в охоте, пробникам прикрепляют в области груди красящие метчики. Делая садку на овец, бараны окрашивают их с помощью таких устройств. Если вазэктомированным баранам не подвязывать фартуки, то у них торможение половых рефлексов возникает не так быстро и проявляется не так часто, как у баранов с фартуками. Более того, многократный коитус усиливает сократительную функцию матки у овец и ускоряет овуляцию, что позволяет ограничиться однократным осеменением взамен обычного двукратного. На протяжении полового сезона для поддержания половой активности интактным баранам-пробникам позволяют в неделю сделать одну садку на матку в охоте или же от него получают в искусственную вагину один–два эякулята.

Выбирают овец в охоте один раз (иногда два раза) в сутки, обычно утром. Для проведения выборки в первые 8–10 дней загон (баз) разделяют на две части. Пробников используют поочередно, по группам. Матку считают в охоте, если она не убегает при вскакивании на нее барана, а стоит спокойно. Таких маток вылавливают и помещают в станки из переносных щитов, которые размещают по

углам загона. Когда поголовье не проявивших охоту овец уменьшится, выборку проводят в одном загоне, но площадь его постепенно ограничивают переносными щитами по мере перевода овец в группу осеменения. При выборке надо следить, чтобы овцы в загоне не собирались группами, а были распределены в нем равномерно. По завершении выборки баранов-пробников удаляют из отары, а маток выпускают на пастбище. Овец в охоте перегоняют на пункт осеменения, где осеменяют и содержат отдельно до следующего утра, а после выборки животных с продолжающейся охотой соединяют с ранее осемененными овцами. Из них формируют отдельную отару. С 10-го дня после начала искусственного осеменения организуют выявление овец, проявляющих половую охоту повторно. После осеменения маток метят специальной краской "Овцевод". Среди осемененных коз выборку животных в охоте начинают с 5-го дня от начала осеменения.

Способы и техника осеменения. При осеменении овец и коз применяют влагалищный и цервикальный методы. Яркам и переяркам из-за узости преддверия влагалища сперму вводят без применения влагалищного зеркала во влагалище (парацервикально). Для взрослых маток наиболее подходящим является цервикальный метод. При обоих методах для введения спермы используют стеклянный шприц-катетер (микрошприц) с дозирующим приспособлением, шприц-полуавтомат, металлический шприц для микропайет.

При влагалищном методе осеменения катетер вводят по верхней стенке преддверия влагалища и влагалища до упора, затем отводят назад примерно на 1 см и выталкивают сперму, надавливая пальцем на поршень. Если влагалищное осеменение практикуют часто, то изготавливают укороченный шприц-катетер. Для этого в обычном инструменте обрезают тонкую изогнутую конечную часть катетера, а место обреза шлифуют или оплавливают на пламени. Объем вводимой во влагалище неразбавленной спермы 0,15–0,20 мл, разбавленной и сохраняемой при 2–5°C – 0,2 мл и замороженной спермы (в гранулах) – 0,4 мл. В дозе должно содержаться 125 – 150 млн. подвижных сперматозоидов.

При цервикальном методе используют влагалищный расширитель с продольной прорезью вверху или металлическое влагалищное зеркало. Инструмент, обеззараженный и подогретый (металлическое зеркало), увлажняют 1%-ным раствором натрия хлорида и вводят во влагалище. После отыскания шейки матки кончик шприца-катетера направляют в канал шейки и вводят на максимальную глубину (1–3 см). Чтобы сперма не вытекала из влагалища, перед нажатием на поршень зеркало слегка оттягивают назад. При пользовании влагалищным расширителем перед введением спермы сначала извлекают расширитель, после чего, осторожно надавливая на поршень шприца, вводят необходимое количество спермы. При цервикальном осеменении вводят самке неразбавленной спермы 0,05 мл, разбавленной и охлажденной до 2–5°С – 0,1–0,15 мл и замороженной спермы (в гранулах) – 0,2 мл. Если не удается ввести инструмент в канал шейки матки, то сперму выдавливают на наружную часть шейки, увеличивая при этом дозу вдвое.

Если замораживают сперму в микропайетах, то используют для осеменения маток специальный металлический инструмент с одноразовыми полиэтиленовыми чехлами.

Перед осеменением каждой овцы катетер аккуратно обтирают тампоном, пропитанным 70%-ным спиртом, оберегая кончик инструмента от попадания в него спирта. После осеменения 3–4 овец необходимо капельку спермы из шприца нанести на предметное стекло, накрыть покровным и определить подвижность сперматозоидов. Если подвижность их резко понизилась, то эту сперму не используют.

После расходования всего эякулята микрошприц промывают физиологическим раствором, а затем обеззараживают 70%-ным спиртом. Перед тем, как набрать новую порцию спермы от другого барана, микрошприц 4–5 раз промывают физиологическим раствором из других баночек. Влагалищное зеркало после осеменения каждой овцы моют горячей водой, насухо вытирают полотенцем и обеззараживают на огне с некопящим пламенем.

Осеменяют овец в манеже пункта искусственного осеменения. Для фиксации животных устанавливают станок. Размещают его напротив окна или осветительной лампы. Маток поочередно фиксируют в станке или конвейерной установке для подачи их в манеж к рабочему месту оператора по искусственному осеменению.

Во многих хозяйствах комната-манеж располагается в кошаре и проемом в стенке сообщается с другим, не отапливаемым помещением, куда загоняют маток в охоте. В этом помещении имеется станок для фиксации овец. Осеменение их проводят через проем.

При осеменении в теплое время года нередко организуют временный (передвижной) пункт на пастбище. Осеменяют овец в загоне летнего лагеря. Обычно такой пункт работает с приобретаемой в племпредприятии спермой (замороженной или охлажденной до 2–5°C).

Оптимальным временем для осеменения овец является период в пределах 9–12 ч после начала охоты. Обычно же осеменяют овец дважды: первый раз сразу после выборки в охоте, второй раз спустя 8–10 ч. Маток с продолжительной охотой осеменяют и третий раз. Второе осеменение через 24 ч допускается при использовании свежеполученной спермы высокого качества.

Осеменение овец сезонное: при планировании ягнения в январе осеменение маток проводят в августе, а при ягнении в феврале – осеменяют их в сентябре. Благоприятные условия осени способствуют повышению плодовитости по сравнению с другими периодами на 15–20%. Осеменение проводят на протяжении двух половых циклов (35–40 дней). По окончании работы пункта организуют вольную случку маток, не оплодотворившихся после искусственного осеменения. В племенных хозяйствах для этой цели в течение 15–25 дней используются бараны, по качеству не уступающие основным, а в других хозяйствах – не ниже 1 класса.

Осеменение коз проводят в сентябре – ноябре.

10.3. Осеменение свиней

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. У свиней в период созревания фолликулов вульва (петля) набухает и приобретает красный цвет, слизистая оболочка влагалища становится отечной, розоватого или ярко-красного цвета. Из половой щели может выделяться слизь. В начале охоты слизь светлая, а к концу охоты беловатая. Выделяется слизи немного. Четкие изменения вульвы в период эструса наблюдают только у 75% самок. Набухание и покраснение ее редко сохраняется до конца охоты и обычно исчезает во время спаривания или ранее.

За 3–12 ч до наступления стадии эструса происходят изменения в поведении свиньи. Она становится беспокойной, часто мочится, издает характерное хрюканье, мало ест, обнюхивает половые органы других животных, вспрыгивает на них и может позволять делать садку на себя другим свиньям, пытается выбраться из станка. Некоторые самки активно преследуют хряков за день до наступления эструса. В этой стадии явления течки и охоты усиливаются.

Характерным признаком половой охоты (готовности свиньи к спариванию с самцом) является неподвижность. В присутствии самца она настораживает уши, выгибает дугой спину и застывает в такой позе. Если в это время положить ей на крестец руку или сесть верхом, то она не уклоняется, а продолжает стоять спокойно. Но без хрюка такая реакция наблюдается только у половины животных.

Главными раздражителями рефлекса неподвижности являются обонятельные и слуховые. Внешний вид самца тоже имеет значение. Но наблюдения показывают, что если самка не видит хрюка, но слышит хрюканье и воспринимает его запах, то влечение к нему ослабляется незначительно. Записанное на магнитофон хрюканье хрюка вызывает рефлекс неподвижности более чем у половины свинок, которые не проявляли рефлекса без хрюка. Очень сильные и обонятельные раздражители. Свыше 60% свинок в охоте, которые не реагируют на надавливание рукой, проявляют неподвижность при переводе их в станок хрюка. Запах жидкости, взятой из препуция хрюка и подогретой до температуры тела, дает такой же эффект, как и запах самого хрюка. Реакция зависит от стероидного вещества, вырабатываемого в препуции и придающего

характерный запах свинине. Оно синтезировано и используется при выявлении охоты (препараты суидор, феромаксин и др.). Достаточно 0,1–1 мг такого вещества смешать со 100 г инертного вещества и распылить или разбрызгать в виде жидкости (аэрозоли) в свинарнике, чтобы стимулировать половую активность у свиноматок в охоте. Спустя 1–2 мин после применения его более половины свиней в охоте, у которых не были замечены ее признаки, проявляют рефлекс неподвижности и без хряка.

Использование хряков-пробников. Наиболее точный способ выявления охоты у свиней – это использование хряка-пробника в группе из 4–8 самок. Целесообразно помещать в станок первым хряка, чтобы он привык к окружающей обстановке, а затем вводить маток. Если хряк обладает хорошей половой активностью, то бывает достаточно 5-минутного контакта с каждой самкой. Так как коитус у свиней длится долго, то можно использовать хряков без какого-либо хирургического вмешательства. После садки хряка можно столкнуть с матки. Надежно использование и вазэктомированных хряков.

При выявлении охоты у свиней животноводы должны учитывать и такие признаки, как повышенную возбудимость, потерю аппетита, характерное хрюканье, припухание и покраснение вульвы и др. Отдельно взятый признак не является надежным показателем охоты, но по их совокупности опытный работник, знающий всех животных индивидуально, легко может определить самок в охоте.

Способы осеменения свиней. При искусственном осеменении свиней сперма вводится в матку. В практике применяется два способа осеменения: фракционный и нефракционный. При обоих способах используется разбавленная сперма с содержанием подвижных сперматозоидов в 1 мл 30–50 миллионов, но объем вводимой спермы различный.

При фракционном способе сначала вводится разбавленная сперма в объеме 50 мл взрослым маткам и 40 мл молодым свинкам, а затем глюкозо-солевой раствор (1 л дистиллированной воды, 30 г глюкозы и 4,5 г натрия хлорида) соответственно 100 мл и 70–80 мл. Для осеменения используются универсальный термос-прибор, универсальный зонд УЗК-5 и упрощенный зонд УЗК-6.

Универсальный термос-прибор приспособлен для осеменения свиноматок и переноски спермы на ферме. Состоит из деревянного футляра, металлических колонок с горячей водой (обогревательного бачка), трех стеклянных ампул, спиртовки для сухого спирта, катетера (зонда), шаров Ричардсона, резиновых трубок, зажимов и термометра. Зонд состоит из двух частей: одна изготовлена из металлической нержавеющей трубки длиной 25 см, другая присоединяется к первой при помощи винтовой резьбы и представляет собой спираль из никелированной проволоки. Внутри металлической трубки и спирали вставляется резиновая трубка, задний свободный конец которой служит для соединения зонда с ампулами прибора. На конец металлической спирали плотно надевается резиновая головка зонда диаметром 20 мм. К заднему концу зонда прикрепляется ручка. Другая модель зонда представляет собой металлическую трубку длиной 55 см без спирали.

В комплект более современного, широко используемого прибора УЗК-5 входит один полужесткий металлический катетер (зонд) с резиновой головкой и 10 пластмассовых катетеров в пластмассовых чехлах. В предохранительный колпак прибора помещается два флакона: один с разбавленной спермой, а другой – с глюкозо-солевым раствором. Стеклянные флаконы изготавливаются специально для прибора, но нередко их заменяют бутылочками для молочного питания детей или пластмассовыми флаконами из прибора ВИЖ. Содержимое флаконов выдавливается путем нагнетания в них воздуха при помощи шаров Ричардсона. В вариантах 2 и 3 прибора нет защитного колпака. К прибору прилагается термос-ящик для флаконов со спермой и раствором.

В упрощенном приборе УЗК-6 зонд состоит из прозрачной пластмассовой трубки длиной 40 см; на одном конце ее укрепляется резиновая головка диаметром около 20 мм, а на втором – резиновая ручка. В трубку-зонд вмещается до 50 мл спермы. Раствор (вторая фракция) находится в пластмассовом гофрированном флаконе, который присоединяется к резиновой ручке зонда при помощи специального наконечника. При сжатии флакона раствор через резиновую ручку поступает в зонд, надавливает на поршень и проталкивает содержащуюся там сперму. В конце зонда поршень неплотно прилегает к внутренним стенкам и

способен пропускать вокруг себя раствор из гофрированного флакона. Через 20–30 с после введения спермы и раствора в матку животного извлекают зонд и удаляют остатки раствора.

Фракционный способ в Беларуси не применяется.

При нефракционном способе осеменения разбавленную сперму вводят за один прием. Доза спермы – 100–150 мл. Для введения спермы применяют приборы УЗК-5 или конструкции ВИЖ и ПОС-5. Два последних прибора состоят из полиэтиленовых тонкостенных флаконов, емкостью 100–150 мл с навинчивающимися крышками и катетеров с соединительными муфтами. Разница между ними состоит в том, что флаконы прибора ВИЖ плоскодонные, а флаконы от прибора ПОС-5 с округлым дном и имеют грубую градуировку (цена деления 25 мл).

В функционирующих и стоящихся станциях по искусственному осеменению свиней предусмотрено использование технологии и инструментов фирмы МИНИТЮБ или IMV. Сперму расфасовывают в флекситюбики, бутылочки, полиэтиленовые мешки (пакеты). Соответственно к ним приспособлены катетеры Melrose, фоамтипа и спиретта (рис. 12). Имеется и специальное оборудование для их стерилизации.

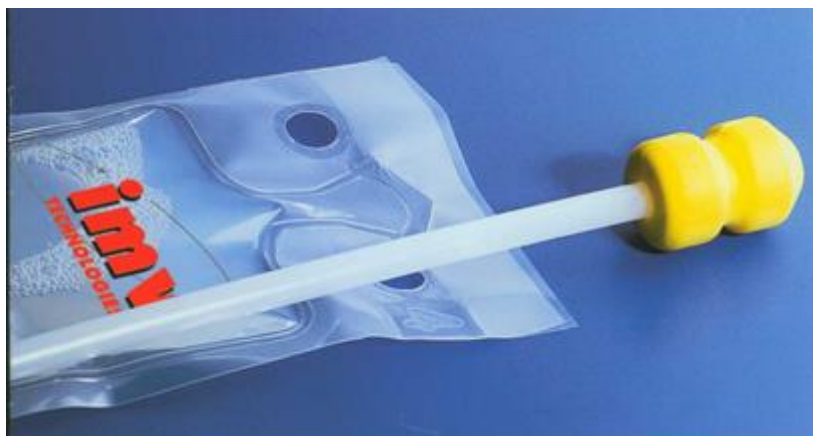


Рис. 12. Технология осеменения свиней IMV. Катетер фоам-типа и заполненный спермой полиэтиленовый пакет.

Стерильные катетеры хранятся в полиэтиленовых чехлах. Перед осеменением ножницами отрезают часть чехла и извлекают конец катетера с соединительной

муфтой и навинчивают на флакон вместо крышки. Чехол оставляют на катетере до момента введения в половые пути самки.

Маток в охоте перегоняют в манеж для осеменения и размещают в индивидуальных станках. Однако более удобно и надежно фиксировать животных во время осеменения в специальном устройстве. Такое устройство похоже на обычную клетку для взвешивания животного, но оборудовано лямками, которые не позволяют свиноматке лечь.

Если манеж не оборудован станками или устройствами для фиксации, тогда осеменяют животных в станках, где их содержат. Однако это менее желательно, так как практически невозможно обеспечить необходимые санитарно-гигиенические условия в момент осеменения и надежно зафиксировать животное. Хотя свиньи в охоте проявляют состояние неподвижности, большинство из них (особенно молодые) не стоят во время осеменения, пытаются двигаться, и это создает трудности для удержания оператором по искусственному осеменению катетера в нормальном положении.

Перед осеменением наружные половые органы матки обрабатывают ватным тампоном, смоченным лигнином или раствором фурацилина 1:5000. При сильном загрязнении половые органы сначала обмывают теплой водой или 1–2%-ным раствором натрия гидрокарбоната, а затем дезинфицирующим раствором. После этого усиливают состояние неподвижности матки надавливанием на крестец рукой или левым плечом, в то время как другой раздвигают половую щель и вводят в нее катетер. При осеменении крупных свиноматок техник может сесть на заднюю часть туловища животного спиной к его голове. Присутствие в момент осеменения вблизи матки хрюка усиливает проявление неподвижности. Катетер продвигают по верхней стенке влагалища до упора в шейку матки. В период половой охоты складки (выросты) шейки матки значительно расходятся и катетер с суживающегося кпереди влагалища может проскочить один–два "замка" шейки. Легче это происходит, если на конце катетера имеется утолщение в виде головки или оливообразное расширение, баллончик для воздуха, или же если конец сделан в форме полового члена хрюка. При прохождении сначала первой, а затем второй

складки ощущается небольшое сопротивление; слегка подталкивая катетер вперед, удастся преодолеть его. Расширение на конце катетера предупреждает вытекание спермы. Катетер со спиралевидным концом одновременно продвигают и вращают в левую сторону до столкновения со складками шейки матки. У молодых маток кончик катетера может упираться в начало цервикального канала.

После введения катетера в половые пути матки флакон со спермой приподнимают выше спины животного, переворачивают его вверх дном и, слегка нажимая рукой, начинают вводить сперму. Можно емкость со спермой после введения катетера укреплять в верхнем положении при помощи покровного пояса или покровной рамы (рис. 13). Это позволяет специалисту одновременно осеменять несколько маток.



Рис. 13. Покровный пояс.

При фракционном способе осеменения после введения катетера до упора в шейку матки техник открывает зажим флакона со спермой и начинает нагнетать во флакон воздух. Если канал шейки матки открыт, то сперма будет поступать в матку и уровень ее во флаконе заметно понизится. После введения дозы спермы (половина стеклянного флакона) техник закрывает этот зажим, одновременно открывает зажим другого флакона и вводит необходимое количество раствора. Сперму и раствор необходимо вводить медленно. У взрослых свиноматок благодаря интенсивным всасывающим движениям матки сперма часто поступает самотеком через открытый канал шейки матки, но у молодых свинок это бывает

реже. При осеменении в оптимальное время для введения спермы требуется 3–4 мин. Если канал шейки закрывается, то сперма начинает вытекать из влагалища. В этом случае давление на флакон (или давление воздуха) уменьшают, выжидают 10–20 с (иногда до 40 с), пока опять канал не расслабится, а затем продолжают введение.

Перед осеменением сперму, сохраняемую при 17–18°C, помещают в водяную баню (30–35°C) не менее чем на 10 минут. За это время емкость со спермой переворачивают несколько раз для того, чтобы сперма подогрелась равномерно. Неподогретая сперма, введенная в половые пути свиноматок, часто выталкивается обратно. Одновременно подгревают не более 5 доз спермы, чтобы использовать ее в течение получаса.

Время осеменения свиноматок. Осеменяют маток обычно в первую охоту после отъема поросят. Кормление подсосных маток должно быть полноценным, чтобы к этому моменту они имели хорошую упитанность и в течение последующих 4–7 дней проявили половую охоту. Маток слабо упитанных выделяют в отдельную группу, улучшают кормление. Не проявившим охоту в течение 8 дней маткам вводят ПГ-600. Половая охота у свиней длится 40–60 ч, а овуляция происходит через 30–36 ч после начала охоты. Продолжается овуляция не более 4–7 ч. Введенные в половые пути свињи сперматозоиды сохраняют способность к оплодотворению не более 30 ч. Поэтому оптимальным временем для осеменения считается интервал в пределах от 12 до 16 ч перед овуляцией. Но это при условии использования свежеполученной спермы. Когда же осеменение проводится разбавленной или оттаянной после замораживания спермой, то оптимальное время для осеменения будет несколько ближе к овуляции – за 6–8 ч до нее. Обычно же при определении оптимального времени осеменения исходят не из срока овуляции, а из времени начала проявления рефлекса неподвижности. Наилучшим сроком для осеменения взрослых маток является конец первых и начало вторых суток, а для молодых – после 30 ч от начала половой охоты.

В практических условиях время осеменения определяется кратностью выборки животных в охоте. При четырехкратном контроле молодых свинок можно осеменять в течение 17–18 ч, а свиноматок – в течение 21–24 ч после определения состояния неподвижности. Если выборка проводится два раза в день (с промежутком в 10–12 ч), то требуется двукратное осеменение: после выборки свиноматок в охоте утром осеменение их проводят вечером, а после вечерней выборки – утром следующего дня. Второй раз животных осеменяют, как правило, через 10–12 ч после первого осеменения. Молодых свиноматок, выбранных утром, можно осеменять через 2–5 ч повторно на другой день утром. Так поступают и при однократной выборке охоты у свиней. Если половая охота длится более 10 ч после повторного осеменения, то свиноматку целесообразно осеменить еще один раз.

10.4. Осеменение кобыл

Диагностика течки, половой охоты и овуляции. После выжеребки половая цикличность возобновляется с 8–10-го дня (от 5 до 14 дней). Первая охота короче – 2–4 дня, а последующем длится в среднем 5–6 дней.

В стадии эструса вследствие гормонального влияния яичников усиливаются кровоснабжение и гиперемия половых органов, канал шейки матки приоткрывается и в него можно ввести сначала один, а затем и два пальца. Шейка матки укорачивается по длине и принимает по отношению к влагалищу центральное положение. Количество слизи увеличивается, она становится более водянистой и прозрачной. К концу этой стадии слизь приобретает мутноватый цвет и вязкую консистенцию.

Признаки охоты хорошо выражены, вульва набухает, отмечается мигание половой щели. При этом кобыла открывает и закрывает половую щель, поднимает хвост, выпячивает клитор и выпускает небольшое количество мочи и слизи. Во время охоты кобылы сильно возбуждены, непослушны, щекотливы, часто ржут. Услышав или увидев жеребца, они принимают позу для спаривания. Во время садки жеребца стоят спокойно.

На протяжении всего этого периода степень проявления признаков охоты прогрессирующе увеличивается. Поэтому различают несколько степеней охоты. *Охота первой степени*: при приближении жеребца кобыла стоит спокойно, однако не проявляет других признаков. *Охота второй степени*: кобыла допускает жеребца, поднимает хвост, отмечается мигание половой щели. *Охота третьей степени*: те же признаки и выделение мочи и слизи в момент мигания половой щели. *Охота четвертой степени*: в дополнение к перечисленным признакам – при обнюхивании жеребцом кобыла клонится в его сторону, раскидывает тазовые конечности, во время садки стоит спокойно.

По мере нарастания признаков охоты в яичниках происходит созревание фолликулов. Ректальной пальпацией можно определить степень их зрелости. *Вначале созревания* фолликула (диаметр 1–1,5 см) яичник принимает форму неправильного боба за счет увеличения одной его стороны; эта часть проявляет признаки незначительного размягчения. *Созревающий* фолликул приводит к увеличению яичника и изменению его формы до грушевидной; в самом фолликуле заметна флюктуация жидкости. *Почти зрелый* фолликул шарообразный, хорошо флюктуирует и придает яичнику явную грушевидную форму. *Полностью созревший* фолликул имеет форму шара, стенки его истончены, флюктуация легко ощущается. *При овуляции* напряженность стенок фолликула ослабевает, уменьшается его размер и изменяется форма. После окончания овуляции сильно уменьшается в размерах и яичник. Происходит овуляция примерно за одни–двое суток до окончания охоты.

В период осеменения необходимо у всех кобыл охоту выявлять не реже, чем через день, но лучше ежедневно, чтобы не пропустить тех животных, у которых она продолжается всего 2–3 дня. Для выявления охоты используют жеребца-пробника. Пробу проводят под контролем человека. Для этого раскованную на задние конечности кобылу выводят в открытый двор, держат ее под уздцы. Пробника (не имеющего племенной ценности здорового энергичного жеребца) подводят на двух длинных поводках к кобыле спереди. Если кобыла стоит спокойно, то пробника постепенно допускают к паху, а затем и к крупу кобылы. При отсутствии охоты

кобыла уже при первом контакте с жеребцом проявляет агрессивность, поворачивается быстро к нему задом и стремится его ударить ("отбивает"). Кобыла в охоте проявляет характерные признаки, соответствующие степени охоты.

Пробу подсосных кобыл целесообразнее проводить через деревянный барьер длиной 2,5 м и высотой 1,2–1,3 м. Жеребца ставят с одной стороны барьера, а кобылу – с другой.

Для выявления половой охоты без жеребца-пробника используют акустические (звуковое подражание заигрывания жеребца) и тактильные стимулы (пальпация области холки, боков и половых органов). Они позволяют определить состояние эструса (спокойное поведение, поднятие хвоста, мигание половой щели и выделение слизи, раскидывание задних конечностей) или диэструса (нервозность, лягание и ржание).

Оптимальное время осеменения. После выявления признаков охоты проверку продолжают ежедневно, чтобы определить оптимальное время осеменения. Осеменяют первый раз кобыл при ярком проявлении признаков охоты (3 и 4-я степени) и затем повторяют осеменение через каждые 36–48 ч до затухания признаков охоты. Такие длительные промежутки между осеменением возможны благодаря тому, что сперматозоиды жеребца сохраняют способность к оплодотворению в половых путях кобылы до 140 часов. Если пальпацией определяют степень зрелости фолликула, то первое осеменение проводят при наличии почти зрелого или полностью созревшего фолликула; повторно осеменяют через 1–2 дня, если овуляция не наступила.

Способы осеменения. При осеменении кобыл сперму вводят в матку (маточный метод осеменения). В практике применяют два способа введения спермы: мануальный и визуальный.

При *мануальном* способе используют резиновый катетер И.И. Иванова и шприц емкостью 30–50 мл или ампулу. Катетер представляет собой толстостенную мягкую резиновую трубку с узким внутренним каналом. Передний конец его сужен, а задний имеет выступ в виде кольца и расширенное отверстие канала для соединения с канюлей шприца. Катетер вводят рукой во влагалище

кобылы. Указательным пальцем находят устье шейки матки и под контролем пальца продвигают катетер в канал шейки матки на глубину 10–12 см. К катетеру присоединяют шприц со спермой и, нажимая на поршень, вводят сперму в матку.

При *визуальном* способе используют стеклянный или эбонитовый катетер длиной 50 см, шприц и влагалищное зеркало. Обеззараженное влагалищное зеркало вводят в половые пути и размещают его так, чтобы хорошо видна была шейка матки. Под контролем зрения катетер через зеркало направляют в цервикальный канал. После введения в матку к стеклянному катетеру присоединяют посредством резиновой муфты шприц. Эбонитовый катетер с канюлей шприца соединяют заранее при помощи металлического хомутика с резиновой прокладкой.

Перед осеменением кобылу заводят в специальный станок или же фиксируют с помощью случной шлеи. Спокойных животных удерживают за повод и поднимают переднюю ногу, чтобы они не могли ударить оператора по искусственному осеменению. Конюх забинтовывает хвост кобылы и отводит в сторону; вульву обмывает теплой водой и вытирает насухо ватой. После этого оператор при участии помощника, который подает ему инструменты для осеменения, проводит осеменение кобылы.

Для осеменения одного животного используют от 20 до 40 мл спермы. В дозе должно содержаться около 700 млн. сперматозоидов. Крупным, старым, а также ожеребившимся кобылам следует вводить максимальную дозу спермы.

10.5. Осеменение птиц

Искусственное осеменение птиц применяют для уменьшения числа самцов при получении яиц для инкубации и повышения выводимости цыплят (индюшат, гусят). При этом уменьшается опасность распространения инфекций половым путем, предупреждаются повреждения самок в процессе естественного спаривания, при котором отход маточного поголовья, например, индеек, в течение года вследствие нанесения травм самцами достигает 20–30%. При искусственном

осеменении, кроме того, можно замораживать сперму самцов и длительное время сохранять отдельные линии и породы птиц.

Искусственное осеменение кур. Осеменяют кур, как правило, во второй половине дня после яйцекладки. Для введения спермы используют индивидуальные стеклянные или полиэтиленовые пипетки с полиэтиленовым или резиновым баллончиком, длиной 100–150 мм и диаметром 6–7 мм. Удобен и микрошприц (шприц-полуавтомат) для осеменения овец с укороченным наполовину катетером. Осеменение обычно проводят вдвоем. Помощник берет курицу и, не вынимая из клетки, фиксирует левой рукой за хвост, несколько отгибая его к спине. Правой рукой надавливает на левую сторону живота между лонными костями и задним концом грудной кости. После того как клоака курицы начнет выпячиваться, техник левой рукой слегка растягивает ее, надавливает вокруг, пока не покажется отверстие яйцепровода. Затем вводит пипетку со спермой в канал яйцепровода на глубину 4–5 см. В этот момент помощник прекращает давление на живот курицы и убирает руку. Для осеменения используют свежеполученную или разбавленную сперму в дозе 0,025–0,03 мл с содержанием в дозе не менее 100–150 млн. сперматозоидов и подвижностью не ниже 7 баллов. При первом осеменении вводят двойную дозу (0,05 мл), чтобы создать хорошую насыщенность яйцепровода сперматозоидами. Повторно осеменение проводят через каждые 5 дней.

Искусственное осеменение индеек. Осеменяют индеек при помощи шприца-полуавтомата, который применяют для осеменения овец, или индивидуальных пипеток из стекла или полистирола. Повторно употреблять пипетки можно после тщательного промывания их и стерилизации. Для осеменения индейки помощник техника прочно фиксирует ее левой рукой за обе ноги и надавливает на живот. Правой рукой заворачивает хвост на спину; при этом голова птицы должна находиться внизу. Техник левой рукой выворачивает клоаку до появления отверстия яйцепровода и вводит пипетку со спермой в канал его на глубину 4–5 см. В момент введения спермы помощник отпускает хвост индейки и несколько ослабляет общее фиксирование. Сперму выдавливают из инструмента только после того, как яйцепровод втянется в брюшную полость. Затем, не разжимая пальцев на резиновом

наконечнике пипетки, извлекают ее из клоаки индейки. Индейку осторожно опускают на пол.

Первое осеменение индеек в стаде проводят через 14–17 дней после начала подготовки к яйцекладке и затем осеменяют еще дважды через 3–4 дня. После этого в течение 3-х месяцев яйцекладки осеменяют самок через 10–14 дней. В течение 4–5-го месяца интервалы между осеменением уменьшают до 9–10 и 8–10 дней, а в течение 6-го месяца осеменяют еженедельно. Оптимальная доза разбавленной 1:1 или неразбавленной спермы – 0,025 мл с содержанием в дозе не менее 80–100 млн. сперматозоидов и подвижностью не ниже 7 баллов.

Искусственное осеменение гусынь проводят в специальном станке (табуретка с широким желобом) во второй половине дня. Помощник держит птицу левой рукой у основания крыльев, а правой рукой слегка отгибает хвост. Техник вводит в клоаку гусыни указательный палец правой руки в перчатке и нащупывает отверстие яйцепровода, которое расположено левее и ниже входа в клоаку на 2–4 см. Затем вводит в его канал пипеткой 0,05 мл неразбавленной спермы с содержанием в ней 30–50 млн. подвижных сперматозоидов. Осеменение проводят каждые 6 дней.

Сперматозоиды у птиц размещаются в складках яйцепровода и сохраняют способность к оплодотворению у кур в течение 12–14 дней, у индюшек – 30–40 дней.

Глава 11. УЧЕТ И ОТЧЕТНОСТЬ НА ПЛЕМПРЕДПРИЯТИЯХ И ПУНКТАХ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Документы, которые отражают производственную деятельность племпредприятия и пунктов искусственного осеменения животных в зоне его деятельности, хранятся в отдельных папках. Данные основных документов вносятся в память компьютера и записываются на дискеты.

В *папке индивидуального учета производителя* находятся: фотография производителя; племенное свидетельство; заводская карточка; журнал учета

использования производителя и показателей спермопродукции (форма № 1-ИО); ветеринарный паспорт производителя (форма № 13-ИО); акты перевода производителя из младшей в старшую группы, о выранжировке и выбытии, результаты испытания по качеству потомства. В ветеринарном паспорте отражаются данные о состоянии здоровья животного, ветеринарных диагностических исследованиях, обработках и др.

По каждому производителю предприятие ведет *лабораторный журнал учета качества спермы* (форма № 2-ИО) с приложением ведомостей на отправку спермы в хозяйства. В этот журнал заносят данные по всем эякулятам независимо от их качества, а также о времени взятия их. Данные журналов №№ 1 и 2-ИО также заносятся в компьютер.

На пункты хозяйств сперму производителей доставляют с сопроводительным документом – *ордером* (накладной) на отправку спермы (форма № 3-ИО). Его составляют в двух экземплярах. На лицевой стороне ордера приводятся сведения о производителе, количестве и качестве спермы. На обратной стороне документа оператор по искусственному осеменению вносит данные о животных, осемененных этой спермой, а также о ее качестве. Такие сведения обычно представляются на отдельных листах в районную станцию.

Форма № 4-ИО – *график доставки спермы* производителя на пункты искусственного осеменения. Обычно используется в случае краткосрочного хранения спермы и необходимости регулярной доставки ее на пункт осеменения. В отдельности по каждому хозяйству племпредприятие (районная станция) ведет *ведомость учета использования спермы* производителя (форма № 5-ИО), в которой указывается число осемененных животных и общий расход спермы на осеменение. На каждого производителя в конце года составляется *сводная ведомость учета искусственного осеменения маток по оплодотворяющей способности спермы* (форма № 6-ИО). Данные ведомости являются основанием для оценки производителя по плодовитости (воспроизводительной способности). По данным, предоставляемым пунктами искусственного осеменения, районные станции по

племенной работе и искусственному осеменению ведут *картотеку* искусственного осеменения коров и телок по каждому обслуживаемому хозяйству.

Оплодотворяемость коров и телок определяют путем ректального исследования животных, по результатам которого составляется специальный *акт* (форма № 8-ИО) с приложением списка животных. Данные проверки сводят в ведомости (форма № 9-ИО).

Племпредприятие ведет также: *папку с документами по закреплению производителей за хозяйствами* и сроками их использования; *папку с договорами*, заключаемыми между племпредприятием и сельхозпредприятиями, отдельными фермерами; *папку с планами искусственного осеменения животных* в хозяйствах зоны обслуживания племпредприятия; *папку с ведомостями учета использования спермы* производителей и вторыми экземплярами ордеров на сперму; *папку с результатами анализов* кормов, воды, крови, бактериальной загрязненности спермы, смывов из препуция и др.

Ежегодно племпредприятие (районная станция) заключает с каждым хозяйством своей зоны *договор на проведение искусственного осеменения*, который подписывают директор племпредприятия (районной станции) и руководитель хозяйства. В договоре излагаются обязательства каждой из сторон. Племпредприятие обязуется организовать в хозяйстве искусственное осеменение животных, своевременно обеспечивать пункты спермой закрепленных за ними производителей и снабжать их хладагентом (жидким азотом), инструментами и оборудованием для осеменения; оказывать содействие хозяйству в приобретении (или поставлять) термосов и сосудов Дьюара, в подготовке и переподготовке операторов по искусственному осеменению, организации зооветеринарного контроля воспроизводства животных; осуществлять систематический контроль за результатами осеменения животных и ведением племенной работы.

Хозяйство обязуется подготовить и оборудовать помещение для пункта (лаборатории); выделить (подготовить) специалиста для работы на пункте и снабдить его транспортным средством; вести точные записи осеменения животных и своевременно представлять отчеты о результатах осеменения; приобретать

необходимые инструменты, материалы, оборудование; своевременно выплачивать племпредприятию названную в договоре сумму за каждую дозу спермы (за осемененную и оплодотворенную самку).

На каждом пункте искусственного осеменения крупного рогатого скота необходимо иметь *книгу учета осеменений* (журнал искусственного осеменения). Оператор по осеменению животных обязан ежедневно сразу же после осеменения самки сделать в книге (журнале) соответствующую запись. Эти записи могут дублироваться на компьютере. О результатах своей работы оператор должен отчитываться ежемесячно.

На пункте искусственного осеменения овец и коз помимо *журнала искусственного осеменения*, в который ежедневно вносятся данные об осеменении всех овец по каждой отаре в отдельности, должна быть *ведомость прикрепления маток к производителю, карточки по учету использования баранов-производителей* с регистрацией качества полученной спермы, *ордера* на отправку спермы, *бланки отчета* о ходе искусственного осеменения.

На пункте искусственного осеменения свиней также ведется *журнал искусственного осеменения*, в который вносятся данные обо всех выявленных в охоте и осемененных животных, в том числе и повторно. В *лабораторный журнал учета качества спермы* вносятся сведения о времени получения, качестве, степени разбавления и использовании спермы производителя, а также об осемененных свиноматках.

Аналогичные журналы и документы ведутся на пунктах искусственного осеменения кобыл (случной журнал, форма № 3; карточка кобылы, форма № 2 и журнал использования жеребца, форма № 1).

Для своевременного выявления охоты у коров и их осеменения операторы по искусственному осеменению используют специальный календарь. Вместо календаря можно рекомендовать по каждой хозяйственной группе коров вести ведомость отелов и их осеменения на листах бумаги или в компьютере.

Календарь оператора можно сделать из брезента, полотна, фанеры или плотного картона размером 100x55 см. На лист такой величины нашивают

(прикрепляют) 32 кармана размером 12x12 см. Можно календарь сделать из дерева или пластика. В верхних трех рядах делают по 7 передвижных, а в четвертом нижнем ряду устанавливают 15 неподвижных ящичков. Двенадцать неподвижных ящичков рассчитаны на месяцы в году, тринадцатый – для карточек ветврачу, четырнадцатый – для карточек выбраковываемых коров и пятнадцатый – контрольный.

На каждую корову и телку изготавливают карточку. Ежедневно оператор вносит в карточки сведения об отелившихся животных. Такие карточки он помещает в ящичек календаря, который будет соответствовать дате предполагаемой охоты (можно с 18 дней после отела). Например, коровы № 824 и 2400 отелились 26 марта, их карточки оператор помещает в передвижной ящичек с цифрой 13 (13 марта). Если наблюдением в этот день охота у животных не выявлена, карточки перекадывают в следующий карманчик (14) и т.д. Если корова не проявит половую охоту в течение 20–22-х дней (т.е. до 40 дней после отела), ее карточку помещают в карманчик "Ветврачу". В этот ящичек помещают и карточки коров с акушерскими и гинекологическими болезнями. Карточки животных, осемененных и не проявивших повторно охоту в течение 50–75 дней, помещают в контрольный ящичек (для диагностики стельности). Карточки стельных коров помещают в ящички по месяцам года исходя из предполагаемого срока отела.

Ранее широко практиковалось ведение специальных карточек, в которых отражались данные об отеле и приплоде, продуктивности коров, о заболеваниях и их лечении, датах осеменения и результатах исследования на стельность. Данные легко можно было перенести в ведомость. Многие фермеры за рубежом и ныне предпочитают такие ведомости более сложным формам учета. Правильно и постоянно заполняемая ведомость позволяет не только контролировать сроки осеменения, но и быстро и в любой момент определить основные показатели плодовитости по каждому животному и в среднем по стаду.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акаевский А.И., Юдичев Ю.Ф., Михайлов Н.В. и др. Анатомия домашних животных. – М.: Колос, 1984.
2. Акушерско-гинекологические патологии и причины бесплодия коров в Иркутской области / Т. А. Балтухаева, О. В. Распутина, И. В. Мельцов, А. В. Хажинова // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. – № 3(19). – С. 65-68.
3. Балтухаева, Т. А. Морфобioхимические показатели крови у собак при пиометре / Т. А. Балтухаева, И. В. Мельцов, А. В. Хажинова // Фундаментальные и прикладные исследования в ветеринарии и биотехнологии : Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию образования Иркутской государственной сельскохозяйственной академии и 10-летию первого выпуска ветеринарных врачей, Иркутск, 10–11 ноября 2014 года. – Иркутск: Издательство "Перо", 2014. – С. 18-23.
4. Дашко, Д. В. Актуальность применения транскраниальной электростимуляции и электрообезболивания в ветеринарной практике / Д. В. Дашко, В. Н. Тарасевич // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии : Материалы VIII международной научно-практической конференции, п. Молодежный, 23–24 мая 2019 года. – п. Молодежный: Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, 2019. – С. 137-143.
5. Дашко, Д. В. Анатоми-топографическая характеристика репродуктивной системы самцов шиншиллы / Д. В. Дашко, И. И. Силкин, А. Д. Цыбикжапов // Фундаментальные и прикладные исследования в ветеринарии и биотехнологии : Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию образования Иркутской государственной сельскохозяйственной академии и 10-летию первого выпуска ветеринарных врачей, Иркутск, 10–11 ноября 2014 года. – Иркутск: Издательство "Перо", 2014. – С. 32-38.
6. Дашко, Д. В. Гистологическая структура печени маньчжурского золотистого перепела / Д. В. Дашко, И. В. Мельцов // Морфология. – 2020. – Т. 157. – № 2-3. – С. 68.

7. Дашко, Д. В. Транскраниальная электроаналгезия и электростимуляция в ветеринарии / Д. В. Дашко, И. И. Силкин, В. Н. Тарасевич ; Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского. – Молодежный : Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, 2020. – 144 с. – ISBN 978-5-91777-231-8.
8. Дашко, Д. В. Транскраниальные электрообезболивание и электростимуляция в ветеринарии / Д. В. Дашко // Евразийское Научное Объединение. – 2019. – № 10-3(56). – С. 267-269. – DOI 10.5281/zenodo.3533638.
9. Джамалова Г.А. Биотехнология животных. - Алматы: Агентство "Маматай", 2004.
10. Карпов В.А. Акушерство и гинекология мелких домашних животных. - М.: Росагропромиздат. 1990.
11. Козло Н.Е. Учебная книга техника по искусственному осеменению животных. - М.: Агропромиздат, 1987.
12. Ожин Ф.В. Справочник по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных . – М.: Россельхозиздат, 1977.
13. Паршутин Г.В., Михайлов Н.Н., Козло Н.Е. Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных. — М.: Колос, 1976.
14. Патент № 2467746 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/155, А61К 31/785, А61Р 15/00. Способ лечения эндометрита у коров: № 2011137356/15: заявл. 09.09.2011 : опубл. 27.11.2012 / О. С. Епанчинцева, Е. И. Грибкова, И. В. Мельцов, Л. Н. Гордиенко ; заявитель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемии).
15. Полянцев Н.И., Афанасьев А.И. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных. - СПб.: изд. «Лань», 2012.
16. Родин И.И. Практикум по акушерству, гинекологии и искусственному осеменению. - М.: Колос, 1979.

17. Силкин, И. И. Макро- и микроморфология предстательной железы шиншиллы (*Chinchilla lanigera* Molina) / И. И. Силкин, И. В. Аникиенко, Д. В. Дашко // Иппология и ветеринария. – 2017. – № 4(26). – С. 70-73.
18. Студенцов А.П., Шипилов В.С. и др. Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения. (7-ое изд.). - М.: Колос, 1999.
19. Харьянова, А. С. К вопросу использования постмортального биоматериала крупного рогатого скота для получения стволовых клеток / А. С. Харьянова, Д. В. Дашко // Климат, экология, сельское хозяйство Евразии: Материалы X международной научно-практической конференции, Молодежный, 27–28 мая 2021 года. – Молодежный: Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, 2021. – С. 120-121.
20. Шипилов В.С., Зверева Г.В., Родин И.И. Практикум по акушерству, гинекологии и искусственному осеменению с.-х. животных. - М.: Агропромиздат, 1988.
21. Silkin, I. I. Prospects for using post-mortal genetic materials on the example of sable to ensure the biodiversity in natural systems / I. I. Silkin, A. Popov, D. V. Dashko // IOP conference series: earth and environmental science : The conference proceedings, Barnaul, 19–20 апреля 2019 года. – IOP Publishing: IOP Publishing Ltd, 2019. – P. 012019. – DOI 10.1088/1755-1315/395/1/012019.

Дашко Д.В., Мельцов И.В.

Биотехника размножения сельскохозяйственных животных и птиц

Учебно-методическое пособие по дисциплинам «Акушерство и гинекология», «Биотехника воспроизводства с основами акушерства» для студентов факультета биотехнологии и ветеринарной медицины очной и заочной форм обучения по специальностям 36.05.01 Ветеринария, 36.03.02 Зоотехния.

Лицензия на издательскую деятельность

ЛР № 070444 от 11.03.98 г.

Подписано в печать _____ г.

Тираж 50 экз.

Издательство Иркутского государственного
аграрного университета им. А.А. Ежевского
664038, Иркутская обл., Иркутский р-н, пос. Молодежный