

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОДІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет ветеринарної медицини і технологій у тваринництві
Кафедра ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії

Технологія відтворення тварин

***Конспект лекцій для здобувачів першого (бакалаврського) рівня освіти
спеціальності 204 – технологія виробництва і переробки продукції
тваринництва заочної форми навчання***

Кам'янець-Подільський

2021

УДК 636.082.631.147:378. (073)

Укладач:

Мізик Володимир Павлович

асистент кафедри ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії

Рекомендовано до друку науково-методичною радою
Подільського державного аграрно-технічного університету
(протокол № 7 від 20.05.2021 року)

Рецензенти:

Шуплик Віктор Вікторович

кандидат с.-г. наук, доцент,

Подільський державний аграрно-технічний університет

Чухно Віталій Сергійович

кандидат ветеринарних наук,

директор ветеринарної клініки «Vitae Vet», м. Кам'янець - Подільський

Конспект лекцій з навчальної дисципліни «Технологія відтворення тварин» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» заочної форми навчання. Кам'янець-Подільський: ПДАТУ, 2021. 126с.

Конспект лекцій дасть можливість здобувачам вищої освіти краще освоїти анатомію, фізіологію статеві системи і нейро-гуморальну регуляцію розмноження тварин; опрацювати та закріпити теоретичні знання з основ кріобіології, вікової фізіології і ендокринології; техніку штучного осіменіння самок основних видів сільськогосподарських тварин; провести аналіз оперативного контролю і обліку відтворення тварин.

Зміст

ПЕРЕДМОВА.....	3
Розділ 1. Сперматологія.....	4
Тема 1.1. Морфологічна структура та фізіологічна функція статеві системи самок і самців с.-г. тварин.....	4
Тема 1.2. Фізіологічні основи і технологія одержання сперми у плідників сільськогосподарських тварин.....	11
Тема 1.3. Сперма, її склад і фізико-хімічні властивості.....	21
Тема 1.4. Оцінювання якості сперми плідників.....	32
Тема 1.5. Теорія і практика розрідження сперми плідників.....	41
Тема 1.6. Способи зберігання та транспортування сперми.....	47
Розділ 2. Технологія штучного осіменіння тварин.....	58
Тема 2.1. Морфологічна структура та функція статеві системи самок. Статевий цикл та нейро-гуморальна регуляція статеві функції.....	58
Тема 2.2. Теоретичні передумови та технологія відтворення великої рогатої худоби.....	72
Тема 2.3. Технологія штучного осіменіння овець та кіз.....	81
Тема 2.4. Технологія штучного осіменіння свиноматок.....	87
Тема 2.5. Технологія штучного осіменіння коней.....	93
Тема 2.6. Теоретичні передумови і технологія штучного осіменіння кролів.....	98
Тема 2.7. Теоретичні передумови і технологія штучного осіменіння сільськогосподарських птахів.....	105
Перелік питань які виносяться на підсумковий контроль знань.....	123
ВИКОРИСТАНА І РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА.....	125

ПЕРЕДМОВА

Навчальна дисципліна “Технологія відтворення тварин” є однією з профільюючих дисциплін, яка розкриває питання анатомії та фізіології статеві системи самок і самців, нейро-гуморальну регуляцію розмноження тварин; найбільш раціональну технологію використання племінних плідників в умовах племоб'єднань, племпідприємств, елевєрів, племінних заводів і різних форм господарств; раціональну організацію роботи пунктів штучного осіменіння, лабораторій по племінній роботі та відтворенню стад, пологових відділень, цеху відтворення на фермах різних видів тварин; основи кріобіології та інші засоби забезпечення анабіозу генеративних клітин; основи вікової зоотехнічної фізіології і ендокринології; техніку осіменіння різними способами самок основних видів сільськогосподарських тварин; оперативний контроль і облік відтворення сільськогосподарських тварин.

Ця дисципліна є важливим фрагментом біотехнології у тваринництві, створює умови для реалізації великомасштабної системної селекції і значно прискорює процес масового поліпшення існуючих та виведення нових порід тварин. Останнє забезпечує пряму економію витрат за рахунок зменшення кількості плідників, а також потенціальну економію раціонального використання плідників перевірених за якістю нащадків. Окрім того застосування штучного осіменіння, дає можливість вдосконалювати умови відбору і підбору, здійснювати замовне парування у племінному тваринництві і профілактику інфекційних захворювань, що передаються статевим шляхом. Штучне осіменіння, як зоотехнічний метод розведення забезпечує добрі наслідки відтворної функції тварин тільки при глибокому знанні анатомії і фізіології системи органів розмноження, технології тваринництва, основ ветеринарного акушерства і гінекології, біотехнології розмноження тварин в умовах різних форм селянських господарств.

Метою конспекту лекцій є допомога здобувачам вищої освіти краще овоїти теоретичні основи морфології і фізіології статевих органів сільськогосподарських тварин та птахів, способи одержання, оцінювання, розрідження та зберігання сперми, технології штучного осіменіння, організації роботи племпідприємств та пунктів зі штучного осіменіння та ведення обліку.

Розділ 1. Сперматологія

Тема 1.1. Морфологічна структура та фізіологічна функція статеві системи самок і самців с.-г. тварин

Питання:

1. Будова статевого апарату самця. Мошонка та її функції. Сім'яники та придатки сім'яників, додаткові статеві залози, статевий член.
2. Видові особливості статевого апарату самців с.-г. тварин.
3. Сперміогенез.
4. Статеві рефлекси та їх залежність від типу нервової діяльності.
5. Особливості статевого акту.

1. Будова статевого апарату самця.

Статеві органи самця представлені:

1. Двома сім'яниками (головні статеві залози);
2. Двома придатками і сім'япроводами;
3. Групою додаткових статевих залоз:
 - а) міхурцевидні (парні);
 - б) простатична (непарна передміхурова);
 - в) цибулинні (куперові);
 - г) уретральні.
4. Статевим членом.

Фізіологічне призначення чоловічих статевих органів – утворення спермійів і введення їх в жіночі статеві шляхи.

Сім'яники (testis, didimis, orchis) – складна залоза, яка закладається в ембріональний період в поперековій області черевної порожнини з вольфових протоків. Перед родами сім'яники разом з придатками опускаються в пахову область, а звідти через паховий канал в мішок сім'яника, зовнішній шар якого – мошонка.

Сім'яники статеводозрілих тварин виконують дві функції:

1. генеративну (утворення чоловічих статевих клітин - спермійів);
2. секреторну (виробляються чоловічі статеві гормони - андрогени).

Зовні сім'яник вкритий серозною оболонкою, яка щільно зрослася із білочною, в свою чергу від неї відходять сполучно - тканинні перегородки – трабекули, що ділять паренхіму сім'яника на окремі дольки. В кожній такій дольці є 4-5 звивистих (покручених) каналців, які в ділянці середостіння переходять в прямі, а долі об'єднуються в сітку сім'яника (чудесна сітка), з неї виходять спермівиносні каналики до придатка сім'яника.

Сім'яники знаходяться в мошонці (scrotum) – шкірно-м'язове вип'ячування черевної стінки. Захищає їх від зовнішніх впливів.

Придаток сім'яника (epididimis) – основне сперміосховище. Крім того, тут відбувається остаточне дозрівання спермійів.

Придаток складається із:

- а) головки (в основному відбувається дозрівання спермійів);

б) тіла;

в) хвоста (в основному зберігаються статеві клітини) загальна довжина каналу придатка у с.-г. тварин -30-86м.

Проходячи довгий шлях каналу придатка спермії вкриваються колоїдним покривом, який захищає їх від несприятливих впливів. Кисла реакція секрету придатка обумовлює перехід спермій в анабіотичний стан, що забезпечує збереження їх енергії. Цьому ж сприяє збідніння спермій на солі, а також низький тиск кисню та висока концентрація CO₂, які гальмують обмінні процеси в сперміях. В придатку спермії набувають „-,„ заряду.

Сім'явиносні канали або сім'япроводи – основна магістраль по яких виводяться спермії під час еякуляції. Об'єднавшись із судинами і нервами сперміопровід утворює сім'яний канатик, що по паховому каналу проходить в черевну порожнину досягає сечового міхура (біля шийки сечового міхура сперміопроводи об'єднуються в загальну еякуляторну протоку) і у вигляді еякуляторної протоки впадає в сечовий канал перетворивши його в сечостатевий канал. Пройшовши по дну тазової порожнини і обігнувши сідничну вирізку, сечостатевий канал досягає кавернозних тіл статевого члена і розташовується між ними.

Додаткові статеві залози.

1. Міхурцевидні (парні), розташовані над шийкою сечового міхура з боку ампул сім'япроводів.

У жеребця мають форму двох порожніх мішків;

У бугая, барана, козла – тверді з горбистою поверхнею

У кнура ці залози слабогорбисті, м'які.

Секрет залоз у барана, бугая та кнура – рідкий.

У жеребця – тягучий. Він багатий на білок, ліпіди, фруктозу, лимонну та аскорбінову кислоту, неорганічний фосфор.

2. Простатична (передміхурова) лежить на шийці сечового міхура і початковій частині сечостатевого каналу, відкриваючись в його просвіт численими протоками. Добре розвинена у жеребця. У бугая і кнура крім невеликого тіла простати є ще розсіяна частина.

Залоза виділяє невелику кількість рідкого секрету слабокислої реакції, що містить амінокислоти, ферменти і простагландини.

3. Цибулинні (куперові) – парні, розміщені на виході з тазу в області луковиці сечостатевого каналу. В козла та барана вони завбільшки з лісовий горіх; У бугая та жеребця – як грецький горіх. Вони виділяють рідкий слизовий секрет. У кнура куперові залози дуже великі, тверді до 14 см довжиною і 3-4 см шириною, вони виділяють густий желеподібний секрет, що сприяє закупоренню шийки матки і попереджає витікання сперми.

4. Уретральні залози розсіяні в товщі слизової оболонки вздовж сечостатевого каналу. Вони виділяють рідкий секрет, що промиває перед садкою сечостатевий канал від лишків сечі.

Секрети додаткових статевих залоз утворюють рідку частину сперми – плазму. Вони очищують сечостатевий канал від лишків сечі, розбавляють густу масу спермій і сприяють просуванню їх в статевих шляхах, виводять

спермії з стану анабіозу і постачають їх поживними речовинами. Вони містять всі ферменти і біологічно активні речовини необхідні для забезпечення високої активності і живучості сперміїв.

Статевий член (penis) – орган парування.

Він складається із:

1. Кореня
2. Тіла
3. Головки

Починається статевий член на горбах сідничних кісток двома ніжками (корінь члена); тіло його проходить між загальними піхвовими оболонками сім'яників під черевною стінкою. Головка статевого члена розміщена в спеціальній шкіряній складці черевної стінки – препуціальному мішку.

2. Видові особливості статевого апарату самців с.-г. тварин.

У бугая, барана, кнура тіло статевого члена утворює – S подібний згин, що дозволяє йому ховатися під час спокою, а під час статевого збудження – випрощуватись і висовуватись з препуція.

Головка статевого члена утворена одним венозним, а тіло двома артеріальними печеристими (кавернозними) тілами – видозміненими кровоносними судинами.

В жуйних головка статевого члена виражена слабо і загострена. На шийці головки статевого члена бугая є зв'язка, закручена наліво. Під час еякуляції вона натягується, кінчик статевого члена повертається навколо своєї осі розбризкуючи при цьому сперму.

У барана сечостатевий канал виведений за межі головки у вигляді вуса.

У кнура кінцева частина – головка члена, закручена спіралеподібно.

У жеребця головка має грибоподібну форму.

В шкірі статевого члена є сітка нервових закінчень чутливих на дотик, біль, температуру та тиск.

3. Сперміогенез.

Сперміогенез – процес утворення сперміїв.

Процес проходить у звивистих каналах сім'яника. Прийнято умовно поділяти процес на 4 стадії:

1. Розмноження (поділу);
2. Росту;
3. Дозрівання;
4. Формування.

На базальній мембрані звивистих каналіків розташовуються 2 ряди клітин. Одні з них – великі, з великими ядрами і протоплазмою, що виступає в просвіт каналіка у вигляді полум'я свічки. Це соматичні клітини Сертолі, які виконують опірну і трофічну функцію. Між ними розташовані менші круглі клітини – сперматогонії (первинні статеві клітини) з відносно великим ядром

і характерною для соматичних клітин кожного виду кількістю хромосом. Між звивистими каналами розкидані інтерстиціальні клітини Лейдіга.

З настанням статевої зрілості сперматогонії починають множитись і розташовуються в каналіку в 3-7 шарів. Клітини поступово просуваються в напрямку клітин Сертолі, вони збільшуються в розмірі (об'ємі) і перетворюються в сперматоцит I –го порядку (стадія росту);

Стадія дозрівання характеризується перш за все внутрішніми змінами хромосомного матеріалу і двома послідовними поділами сперматоцитів – редуційним (мейотичним) та еквацийним (мітотичним) в результаті чого утворюються сперматоцити II-го порядку і сперматиди (з гаплоїдним набором хромосом).

Сперматиди поступово занурюються в протоплазму клітин Сертолі де проходить завершальна стадія формування. В сперматидях відбуваються складні морфологічні зміни які приводять до утворення спермійів з характерною для них будовою.

Тривалість циклу сперматогенного епітелію (від поділу сперматогоній до виходу спермійів в просвіт каналіка) складає: бугай -13,5 доби; баран – 10,4 доби; людина -16 днів.

Сформовані спермії поступають в просвіт звивистих каналіків і переміщуються по них в прямі, а далі чудесну сітку і нарешті в канал при-датка сім'яника. Тривалість часу між першим поділом сперматогоній і виходом в придаток утворених з них спермійів у різних видів тварин різна: бугай – 55 днів; баран -42 дні; людина -72 дні.

Швидкість сперматогенезу стабільна і не змінюється під впливом режиму використання, умов утримання та годівлі, при умові якщо вони не викликають порушень нормальних функцій організму.

Сперматогенез продовжується безперервно, але запаси спермійів в придатку не перевищують певної межі, оскільки вони регулюються особливим біологічним механізмом. Організм звільняється від зайвих спермійів шляхом ресорбції, фагоцитозу, або ж просто виділення з сечею.

4. Статеві рефлекси та їх залежність від типу нервової діяльності.

З настанням статевої зрілості у тварини починає проявлятися статевий інстинкт, що складається з ряду безумовних статевих рефлексів. Необхідна умова прояву статевого інстинкту:

- 1.Зовнішні показники (вигляд самки, запах, слух);
2. Внутрішні - (циркулюючі в крові статеві гормони).

Прояв статевих рефлексів забезпечує зближення самця і самки, статевий акт, осіменіння та запліднення.

Статевий акт (коїтус) – складний комплекс умовних і безумовних рефлексів, які забезпечують виділення спермійів та секретів придаткових статевих залоз із статевого апарата самця і введення їх в статеві шляхи самки. Статевий акт складається з таких безумовних рефлексів:

- а) статевий потяг;
- б) обіймальний рефлекс;

- в) рефлекс ерекції;
- г) парувальний рефлекс;
- д) рефлекс еякуляції.

На основі безумовних статевих рефлексів виробляються умовні:

- 1. на самку в охоті;
- 2. обстановку в манежі;
- 3. температура штучної вагіни;
- 4. присутність техніка.

Безумовні статеві рефлекс *можуть посилювати або навпаки гальмувати* прояв безумовних рефлексів.

Рефлекс статевого потягу (локомоторний рефлекс) – проявляється як правило у статевозрілих тварин. Полягає в тому, що самець і самка в охоті розшукують один одного по запаху, звуках, поведінці.

Обіймальний рефлекс – полягає в тому, що самець після наближення до самок плигає на неї і фіксується передніми кінцівками. Цей рефлекс виникає ще задовго до статевої зрілості, при чому молоді самці роблять садку і на самок не в охоті. Але оскільки ці стрибки не підкріплюються спаровування, то у самців не деякий період виробляється диференційоване гальмування, а згодом роблять садку лише на самок в охоті.

Рефлекс ерекції – проявляється сильним заповненням печеристих тіл кров'ю, внаслідок чого статевий член збільшується в розмірі, підвищується t^0 чутливість. Статевий член стає твердим, що сприяє введенню його в статеві органи самки.

Парувальний рефлекс (копулятивний) – проявляється введенням збудженого статевого члена в піхву і штовхальними рухами крупа, спрямованими на вловлення рецепторами шкіри статевого члена термічних та механічних подразників . ці подразнення обумовлюють еякуляцію.

Рефлекс еякуляції. (викидання сперми) - є завершенням в ланцюгу безумовних рефлексів і природнім їх підкріпленням. Полягає в тому, що внаслідок подразнень настає серія скорочень м'язів статевого апарата які призводять до виштовхування сперми і секретів додаткових статевих залоз із уретри. Еякуляція супроводжується своєрідним загальним нервовим збудженням (оргазм).

У самок статевий акт характеризується тими ж рефlekсами що і у самців, але вони проявляються у них лише під час охоти:

- а) обнімальний - під час статевого збудження, коли самка плигає на інших тварин, а потім (з настанням охоти) у них відмічається рефлекс „нерухомості”;
- б) ерекції – проявляється активною гіперемією статевих органів, набуханням печеристих тіл клітора;
- в) парувальний - проявляється прогинанням спини, підніманням хвоста скороченням м'язів статевих губ, а також комплексом рухів окремих груп м'язів тулуба і статевих органів спрямованих на відчуття подразнень;
- г) рефлекс еякуляції – самок протікає у дві фази. Перша – виділення секретів вестибулярних залоз переддвер'я. Друга – співпадає з оргазмом і характеризується сильним скороченням мускулатури шийки матки, що обумовлює з її просвіту тічкового слизу .

5. Особливості статевого акту.

Видові особливості статевого акту. Жеребець під час статевого акту спочатку проявляє сильне збудження, ірже переступає з ноги на ноги, наближається до кобили, в нього настає ерекція статевого члена. Більшість плідників проявляє зразу обіймальний і парувальний рефлекс, а флегматичні – більш тривало обнюхують самку. Тривалість статевого акту – 1-3 хв. Еякуляція настає через 5-10сек. Після початку парування. При цьому жеребець наче заспокоюється, рідкі парувальні рухи супроводжуються скороченням мускулатури промежини і хвоста.

У жуйних статевий акт короткотривалий. Після наближення та ерекції плідник робить садку і ввівши статевий член в піхву, робить один парувальний поштовх, який свідчить про еякуляцію, що відбувається одномоментно (синхронно). Тривалість статевого акту 2-10 сек.

У кнурів ерекція настає після обіймального рефлексу. Про еякуляцію свідчать такі ознаки: парувальні рухи припиняються кнур дещо заспокоюється, хвіст закручується, сім'яники підтягуються, мошонка відвисає, спостерігається пульсація ануса.

Тема 1.2. Фізіологічні основи і технологія одержання сперми у плідників сільськогосподарських тварин

Питання:

1. *Суть штучного осіменіння та його значення у тваринництві.*
2. *Методи одержання сперми їх недоліки та переваги.*
3. *Техніка одержання сперми від бугаїв, баранів (цапів), кнурів, жеребців.*
4. *Санітарно-гігієнічні умови при одержанні сперми.*
5. *Вплив типу нервової діяльності на статеві функції самців. Гальмування статевих рефлексів та їх профілактика.*
6. *Режим використання плідників.*
7. *Методи підвищення відтворювальних здатностей плідників.*

1. Суть штучного осіменіння та його значення у тваринництві.

Здатність до розмноження одна з невід'ємних рис живого організму. Цю здатність тварини набувають з настанням у них статевої зрілості. На протязі багатьох тисячоліть, протягом всієї історії тваринного світу розмноження здійснювалося природним шляхом, тобто через безпосередній контакт самців і самок, що супроводжувався статевим актом.

Однак починаючи з кінця минулого 19 і початку 20 століття в практику тваринництва почав запроваджуватися метод штучного осіменіння.

Суть даного методу полягає в тому, що при штучному осіменінні статевому акту як такого немає. Сперму отримують від самців за допомогою штучної піхви, а потім вводять її в статеві шляхи самки штучного за допомогою спеціальних інструментів.

Особливістю штучного осіменіння є те, що спермії після виділення самцями поміщаються в нове середовище (розріджувач), охолоджуються або навіть заморожуються, а потім транспортуються на різні віддалі і нарешті, зберігаються невизначено довгі строки.

Значення штучного осіменіння:

І. Штучне осіменіння дозволяє максимально використати цінних плідників. Річне навантаження на 1-го плідника при природньому па-руванні і штучне осіменіння таке:

Вид осіменіння	Навантаження, гол			
	бугай	баран	жеребець	кнур
вільне парування	35-40	25-30	20-25	10-15
ручне парування	80-120	50-60	50-60	20-30
штучне осіменіння	1-2 (5-7), тис	1 тис	150-200	100-200

II. Штучне осіменіння дозволяє значно швидше поліпшувати племінні та продуктивні якості с.-г. тварин. Якщо до штучного осіменіння елітними бугаями осіменялось лише 2-10% поголів'я то тепер 80-85%.

Скоротився час виведення нових порід, грубововнове вівчарство за короткий строк перетворилось в напівтонкорунне і тонкорунне; виведені нові породи ВРХ – сичівська, червоно-ряба українська та інші.

III. Штучне осіменіння має велике значення в профілактиці окремих заразних захворювань: фолікулярного вестибуліту, трихомонозу, пухирцевого висипу та ін.

IV. Штучне осіменіння дозволяє знизити витрати на осіменіння, підвищує запліднюваність самок.

V. Велика роль штучне осіменіння в боротьбі з неплідністю. Постійно здійснюється контроль за станом статевих органів тварини, сперма вводиться лише при умові якщо тварина гінекологічно здорова. Поряд з цим сперма використовується лише високої якості.

VI. Штучне осіменіння широко застосовується при гібридизації тварин (як і корова; осел і кобила; гірський архар і вівця та інше).

VII. Штучне осіменіння широко застосовується в зоопарках для одержання приплоду від диких тварин.

VIII. Штучне осіменіння використовується також і в бджільництві (гібрид бджоли з шершнем і т. д.).

2. Методи одержання сперми їх недоліки та переваги.

Одержання сперми – перший найвагоміший захід в системі ш.о. тварин. Техніка його повинна бути простою, легко доступною.

При опрацюванні техніки штучного осіменіння було запропоновано багато методів одержання сперми від самців можна умовно поділити на:

- а) піхвові;
- б) уретральні;
- в) хірургічні.

I. Піхвові методи

1. Дзеркальний. Суть його полягає в тому, що після природної садки плідника на самку, в її піхву вводили піхвове дзеркало вибирали сперму за допомогою шприца, або ложки.

2. Губковий запропонований Івановим. Перед статевим актом в піхву самки вкладають м'яку грецьку губку, а після коїтусу її забирають і виділюють з неї сперму спеціальним пресом.

Недоліки методики:

- необхідно завжди мати самку в охоті;
- не виключається статевий акт, який не виключає небезпеки перенесення
- заразних захворювань;
- сперма забруднюється секретами жіночих статевих органів, повністю зібрати
- сперму не можливо;
- велика кількість спермійів травмується;
- для свиней через анатомічні і фізіологічні особливості метод не придатний.

II. Хірургічні методи.

До хірургічних методів відносять:

1. Фістульний (запропонував Сапожніков, а пізніше допрацювали Глумаков та Животков). Полягає в тому, що проводять спочатку операцію промежної уретростомії і вставляють фістулу на сечостатевому каналі на рівні дна таза між сідничними горбами. Перед одержанням сперми корінь хвоста забинтовують, а краї фістули протирають тампоном змоченим в розчинах борної або 50-60% спирту. Плідникові дозволяють зробити садку і в цей час до отвору фістули підставляють спермоприймач.

Сюди ж відноситься операція фістули сім'япроводів.

2. Кастрація плідника з наступним видавлюванням спермій з придатка.

Недоліки: не виключається природний статевий акт (фістульні); необхідно мати оперативних виробників і самок в стані охоти, повна кастрація – припинення функціонування виробника назавжди.

III. Уретральні методи.

При уретральних методах сперму отримують безпосередньо із сечового каналу, тобто уретри самця. Існує декілька способів:

1. Насильне стягування самця (в основному жеребців) з самки під час еякуляції, тобто перериваючи статевий акт і при цьому збирали рештки сперми в мензурку.

2. Використання м'якого спермоприймача який фіксувався в піхві спеціальними починаючи від зовнішніх статевих органів і аж до шийки матки.

3. Масаж ампул сім'япроводів через пряму кишку.

Метод використовувався у випадку захворювання кінцівок, недостатньому прояві статевих рефлексів.

4. Метод мастурбації – полягає в механічному подразненні головки статевого члена при терті її об препуціальний мішок. Цей метод використовується для одержання сперми у м'ясоїдних.

5. Метод електроеякуляції. В основному застосовується для одержання сперми від диких тварин при гібридизації, так як не потребує попереднього привчання самців.

Метод полягає в подразненні в подразненні нервової системи самця переривчастим електрострумом низької напруги і малої сили, який одержують з допомогою спеціального приладу - електростимулятора. Першим його застосовував Бателлі (1922р).

6. Метод штучної вагіни.

Цей основний метод одержання сперми, так як дозволяє відтворити всі подразники, що виникають в піхві під час статевого акту:

а) відповідну температуру;

б) тиск;

в) слизьку поверхню.

- дозволяє отримати від самця повноцінну сперму без сторонніх домішок;

- сперма отримується в стерильних умовах;

- не потрібна самка в охоті;

- виключається можливість передачі інфекційних захворювань;

- взяття сперми на штучну вагіну не є шкідливим для здоров'я плідника. Перша штучна вагіна була запропонована в 1913 році італійцем Амантеа. Призначалася для одержання сперми від кобеля.

В 1931 році Маккензі (США) запропонував штучну вагіну для взяття сперми у кнура, а в цьому ж році Комісаров, Ліпатов та Родін сконструювали вагіну для одержання сперми від бугая.

З часом штучна вагіна удосконалювалися. Останнім часом появились нові вагіни. Так для бугаїв це вкорочена вагіна із одноразовим спермоприймачем, що дозволяє одержувати сперму в ідеально стерильних умовах. На даний період відомі штучні вагіни для взяття сперми: бугая, жеребця, кнура, барана, кролика, півня та селезня.

3. Техніка одержання сперми від бугаїв, баранів, кнурів та жеребців.

І. Одержання сперми в бугая. Отримують сперму в манежі. Перед одержанням в станок заводять і добре фіксують підставну тварину, або ж використовують чучело (яке теж попередньо готують).

До цього часу необхідно підготувати і штучну вагіну. Виробника у манеж заводять тільки тоді, коли всі підготовчі операції завершені.

Технік по одержанню сперми стає з правого боку від підставної тварини (механічного чучела). Обличчям до заду, тримаючи в правій руці штучну вагіну під кутом 40° - 45° спермоприймачем догори. Він уважно слідкує за рухами плідника, як тільки той починає робити садку, технік швидко захоплює, але обережно, лівою рукою за край препуція і відвівши статевий член вбік ($30-35^{\circ}$) спрямовує в отвір штучної вагіни. Бугай при цьому робить енергійний поштовх крупом, що свідчить про виділення сперми.

Знімають штучну вагіну з статевого члена не зразу, а під час опускання плідника: повертаючи її обережно спермоприймачем до низу. Після чого відкривають краник для виходу повітря, а далі відокремлюють спермоприймач і передають його в лабораторію, а вагіну в мийну кімнату.

Звичайно сперму від бугая отримують „дуплетною” садкою тобто двічі підряд з перервою 5-15 хвилин. Тому для кожного бугая необхідно мати по дві штучних вагіни.

ІІ. Одержання сперми від барана. Подібно як і випадку з отриманням сперми у бугая технік по одержанню сперми попередньо готує штучну вагіну, в станок заводять підставну тварину і добре її фіксують. Технік присідає навпочіпки з правого боку від зафіксованої в станку тварини і тримає штучну вагіну на рівні її тазу, притримуючи пальцем спермоприймач. Як тільки баран робить садку його статевий член спрямовують в штучну вагіну. Характерний поштовх що настає вслід за цим, свідчить про еякуляцію.

Знімають штучну вагіну обережно, повернувши спермоприймачем до низу, відкривають кран для виходу повітря після чого відокремлюють спермоприймач і передають його в лабораторію, а штучну вагіну в мийну кімнату.

ІІІ. При одержанні сперми від жеребця в більшості випадків використовують як підставну тварину, кобил в охоті, хоча умовні рефлекси можна виробити і

на кобил не в охоті, або навіть на чучело. Щоб кобила не вдарила жеребця їй одягають парувальну шлею. Хвіст кобили від ріпиці і до половини забинтовують. Два конюхи виводять жеребця „на розтяжку”. Технік в цей час стоїть з підготовленою вагіною з правого боку на віддалі 6-8 кроків від кобили. Садку жеребцеві дозволяють робити лише при добре вираженій ерекції. Як тільки жеребець зробить садку на кобилу – технік швидко підходить і спрямовує лівою рукою статевий член в штучну вагіну. Після цього двома руками притискає вагіну до крупа кобили. Перед завершення еякуляції штучну вагіну поступово нахиляють спермоприймачем вниз, а знімають її зі статевого члена лише коли жеребець опуститься. Далі відокремлюють спермоприймач і передають в лабораторію, а штучну вагіну в мийну кімнату. При одержання сперми як жеребці так і кобили повинні бути розковані.

IV. Сперму від кнура отримують на чучело, в якому вмонтовано штучну вагіну. Бажано закріпити чучело на помості оббитому гумовим килимком з ребристою поверхнею і ставлять станок так, щоб чучело впиралося передньою частиною стінку, що виключає спроби кнура зробити садку з передньої частини. Для одержання сперми від кнура його спочатку привчають до садки на чучело. З цією метою чучело покривають шкірою свині задню частину якої змащують розчином змиву з піхви свиноматки в стані охоти.

До і після кожної садки чучело готують, його миють теплою водою з милом і витирають насухо. Задню частину чучела протирають тампоном змоченим в розчині фурациліну 0,02%.

Відкидна стінка чучела дозволяє легко вкладати і виймати штучну вагіну. Вставляючи штучну вагіну в гніздо приєднують її до патрубку водяного манометра і нагнітають повітря (тиск не повинен перевищувати 40-50 см водяного стовпа).

По закінченню одержання сперми штучну вагіну виймають з чучела, від'єднують спермоприймач і передають в лабораторію, а вагіну миють 3% содовим розчином після чого споліскують гарячою водою і висушують.

У сучасному свинарстві все частіше користуються мануальним способом отримання сперми від кнурів.

На початку ерекції у кнура вільною рукою в поліетиленовій рукавичці захоплюють головку статевого члена. Після фіксації статевий член відводять трохи вбік і направляють його в термोकварту із вкладеним пакетом (спермо збирачем) для збору сперми. В період одержання сперми статевий член необхідно тримати під кутом вверху – це дозволяє уникнути попадання в пакет різних біологічних рідин, які можуть бути у препуції. Сигналом до закінчення відбору спермо-продукції є виділення слизової пробки. Після отримання сперми оператор відпускає головку статевого члена, забирає термोकварту із спермою і передає її в лабораторію.

Особливості еякуляції у різних тварин. У жеребців еякуляція триває 10-30 сек. Про це свідчить ритмічна пульсація сечостатевого каналу прослуховують (приклавши пальці), припинення поштовх крупом.

У жуйних статевий акт короткотривалий про еякуляцію свідчить різкий поштовх крупом.

У свиней (кнурів) під час еякуляції сім'яники підтягуються, хвіст закручується кнур стає нерухомим. В кінці еякуляції сім'яники обвисають, хвіст опускається. Тривалість еякуляції 5-10 хв.

4. Санітарно-гігієнічні умови при одержанні сперми.

1. За кожним плідником закріплюють по дві штучні вагіни, на циліндри яких надписують номер та кличку плідника .
2. Застосовані для одержання сперми вагіни повинні бути чистими і стерильними.
3. Для обтирання статевого члена від бруду на штучну вагіну (з вільної сторони) надівають поролонову накладку.
4. Плідників від яких отримують сперму, заводять попередньо під душ (літом) або чистять (зимою). Наводять туалет в області препуція.
5. Позаду передніх кінцівок плідника підв'язують свіжовимитий, чистий фартух.
6. Один раз в декаду порожнину препуція промивають 3% розчином перекису водн., розчином фурациліну (1:5000) або фуразолідону (1:1000).
7. Один раз в квартал проводять ветеринарно-санітарну оцінку сперми та змивів з препуція шляхом дослідження їх на наявність мікробних тіл і колі-титр.
8. Перед одержанням сперми проводять вологе прибирання приміщення, дезинфікують його (використовують 3% NaOH або включають на 30-40 хвилин бактерицидні лампи).
9. До і після кожного отримання сперми від кнура чучело миють і витирають насухо. Задню частину чучела протирають тампоном змоченим в розчині фурациліну (1:5000).
10. Для асептичного одержання сперми використовують вкорочені штучні вагіни (на 10-25см), бактерицидний (просочений фурациліном), фільтрувальний папір і одноразовий спермо приймач.

5. Вплив типу нервової діяльності на статеві функції самців.

Характер поведінки тварини навколишнього середовища залежить від типу її нервової діяльності, який визначається :

- а) силою;
- б) зрівноваженістю;
- в) рухливістю у неї процесів збудження і гальмування.

Зрівноваженість визначають у тварин за проявом процесів збудливості та гальмування, по їх співвідношенню.

Про силу нервових процесів судять по здатності тварини витримувати сильні подразнення.

Під рухливістю нервових процесів розуміють здатність нервової системи швидко переключатися із процесу збудження на гальмування і навпаки. З гальмування на збудження.

Академік І.П. Павлов встановив у тварин чотири основних типи нервової діяльності:

1. Сильний зрівноважений рухливий (сангвінік)
2. Сильний зрівноважений спокійний, інертний (флегматик)
3. Сильний збудливий незрівноважений, нестримний (холерик)
4. Слабкий, млявий, гальмівний тип (меланхолік).

Тварини сильного зрівноваженого рухливого типу найбільш придатні для племінних цілей. Вони спокійні в будь якій обстановці, швидко переходять від збудження до спокійного стану, зовнішнього гальмування майже не проявляють. Умовні рефлексі в таких тварин виробляються легко вони швидко привикають до нової обстановки.

Однак при використанні плідників цього типу слід уникати грубого обходження з ними і одноманітної обстановки одержання сперми, так як в першому випадку в них виробляється злий характер, а в другому – вони впадають в сонливий стан.

Тварини сильного зрівноваженого спокійного типу менш рухливі і збудливі, хоча виділяють повноцінні еякуляти. Умовні рефлексі в них виробляються не зразу, але вони дуже стійкі. Враховуючи схильність плідників цього типу до ожиріння для них необхідно застосовувати примусовий моціон.

У тварин сильного незрівноваженого типу процеси подразнення переважають над гальмівними. Такі тварини легко збуджуються влюбій обстановці. Гальмівні рефлексі в них виробляються важко, тому вони легко стають злими і буйними. Статеве збудження у плідників цього типу настає легко, навіть при статевому виснаженні. Режим використання таких плідників повинен бути поміркованим без перевантажень. Необхідно попереджати у них розвиток буйної поведінки.

Тварини слабого типу характеризуються слабкістю процесів збудження та гальмування. Вони важко привикають до нової обстановки проявляючи пригніченість, настороженість. Умовні рефлексі в них виробляються повільно. Найменший сторонній подразник викликає у них гальмування статевих рефлексів. Тварин цього типу не рекомендується використовувати як плідників.

6. Гальмування статевих рефлексів.

На станціях і пунктах штучного осіменіння інколи відмічають випадки ослаблення, гальмування і навіть збочення статевих рефлексів. Частіше всього це буває внаслідок неправильної годівлі, утримання та використання плідників, порушення правил підготовки штучної вагіни і техніки одержання сперми, захворювань статевої системи і т.д.

Гальмування статевих рефлексів може бути постійним (безумовним), а також тимчасовим (умовним).

До постійного гальмування належить:

- а) зовнішнє гальмування
- б) замежне гальмування
- в) охоронне гальмування (сонно-гальмівний стан)

До тимчасового гальмування належить:

- а) згасальне гальмування;

- б) диференціовальне гальмування;
- в) гальмування запізнюючого рефлексу.

Постійне (безумовне) гальмування

1. Зовнішнє гальмування (явище негативної індукції). Розвивається у плідників в незнайомій обстановці при появі у манежі сторонніх осіб, шумів, криках. Ці сторонні випадкові подразники викликають на себе орієнтовну реакцію – виробник оглядається прислуховується статевий потяг у нього тимчасово пригнічується. Частіше зустрічається у тварин слабого темпераменту, рідше – в урівноважених і цілком не спостерігається у тварин не зрівноваженого типу (холеричний). В більшості випадків гальмуванню піддається рефлекс статевого потягу і ерекції і майже не піддається рефлекс еякуляції та парувальний.

Профілактика – не допускати виникнення сторонніх подразників при одержанні сперми.

2. Замежне гальмування. У дуже збудливих виробників, які тривалий час не використовувалися, статевий потяг буває настільки сильним, що замість збільшення інтенсивності наступних статевих рефлексів вони просто гальмуються. Виробник робить енергійну садку але ерекції немає, або вона недостатня, те ж саме стосується і еякуляції.

Профілактика - поміркований режим використання; крім того, при перших спробах зробити садку виробника стримують; в перерві між „дуплетною” садкою плідника водять.

3. Сонно-гальмівний стан. При тривалому одержанні сперми в одноманітній обстановці у плідника настає пригнічення нервової системи. Він стає млявим, статевий потяг у нього згасає, в манеж він йде неохоче довго обнюхує тварину, на яку одержують сперму і не зробивши садки стоїть в напівсонному стані. Найчастіше виникає у бугаїв рухливого темпераменту.

Профілактика – правильний режим використання; сперму беруть раз в три дні час від часу змінюючи обстановку, змінюють підставну тварину і роблять холості проводки.

Умове (тимчасове) гальмування

1. Згасальне – виникає при відсутності підкріплення умовного рефлексу безумовним. У плідників, що утримуються в одному приміщенні з самками вигляд їх, запах, спочатку збуджує статеві рефлекс, але якщо їм не дозволити статевого акту, то самець скоро перестає збуджуватися виглядом самки.

Профілактика - плідників необхідно утримувати ізольовано від самок, систематично змінювати тварин на яких отримують сперму.

2. Диференціовальне – відказ від садок при певних умовах, з якими в плідника зв'язані невдалі спроби здійснити садку, при активному проявленні статевих рефлексів в інших умовах.

Для прикладу: при одержанні сперми були допущені болючі для плідника прийоми - необережне доторкання до статевого члена; дуже низька або навпаки висока t^0 в штучну вагіну; груба або не змащена гума і т. і.

Профілактика – суворо дотримуватись правил підготовки штучної вагіни і одержання на них сперми.

3. Гальмування запізнюючого рефлексу виникає у тих випадках, коли плідника приводять в манеж задовго до взяття сперми, або привівши його, затримують через якісь там неполадки. Спочатку в нього під впливом умовних подразників проявляються статеве збудження та ерекція, але оскільки безумовний подразник запізнюється, то це збудження поступово згасає і плідник мляво робить садку або відмовляється від неї.

Профілактика – застосовують 10-15 хв. проводку, після чого знову заводять в манеж і негайно отримують сперму.

Збочення статевих рефлексів

При нерегулярному використанні плідників, відсутності моціону у бугаїв, жеребців часто спостерігається збочення статевих рефлексів у вигляді онанізму.

Профілактика – правильний режим використання і догляду. Часто для профілактики зразу ж після вставання дають концентрований корм, а також підв'язують голову вверх. Як тільки котрий виробник починає онанувати доглядач робить різкий окрик або навіть злегка може ударити.

7. Режим використання плідників.

Бугаїв починають використовувати з 12-місячного віку. Частота використання залежить від їх віку та фізіологічного стану, умов годівлі та якості виділюваної сперми.

У молодих бугайців до 18-місячного віку беруть не більше 2 –х еякулятів, а у дорослих 2-4 еякуляти на тиждень. Отримують сперму „дуплетною садкою”, тобто через 5-7 хвилин після першого еякуляту беруть другий. З метою кращого закріплення умовних рефлексів і збереження високої активності сперму одержують в один і той же час (не раніше 2 годин після годівлі та водопою). Перед одержанням сперми бугаєм роблять 15-20 хвилину проводку. До місця взяття сперми їх підводять лише тоді, коли там вже стоїть зафіксована тварина (підставна) і повністю підготовлена штучна вагіна. Після одержання сперми бугаєм дають в стійлі лакомий корм.

Підготовку баранів – плідників до парувального сезону розпочинають за 1-1,5 місяці до початку сезону осіменіння овець. За цей час їх привчають до садки на штучну вагіну, вивчають якість їхньої сперми. Спочатку одержують по 2-а еякуляти через 5-6 днів, а тоді по 2-а еякуляти через 2-3 дні до тих пір, поки об'єм еякуляту не буде складати 1-1,5 мл при Г-9. Статеве навантаження на дорослих баранів: 2-3 садки на день (перші два еякуляти беруть „дуплетною садкою”, а третій – в другій половині дня).

Від молодих баранів за сезон осіменіння отримують всього лише 10-12 еякулятів.

Кнурів починають привчати до садки на чучело з 6-8 міс. віку, дозволяючи їм не більше 2-х садок на декаду. З 8-10 місячного віку дозволяють кнурцям по 2-і садки на тиждень.

Дорослих кнурів можна використовувати:

а) помірковано (одна садка на 3-и дні);

б) інтенсивно (одна садка на 2-а дні з наданням 8-10 –денного відпочинку після місячної експлуатації).

Від жеребців можна отримувати в парувальний сезон один і рідше 2-а еякуляти на день; через кожних 6 днів їм надають одноденний відпочинок.

В усіх випадках одержану сперму оцінюють під мікроскопом і при погіршенні її якості плідником надають відпочинок з покращенням умов годівлі та утримання.

8. Методи підвищення відтворювальних здатностей плідників.

Тривале збереження високої статевої активності плідників залежить від повноцінної годівлі, правильного утримання і раціонального використання. Велике значення має моціон. Кращим моціоном для бугаїв є вільновигул протягом всього року. При групових прогулянках не дозволяють стрибків один на одного.

Із спеціальних прийомів підвищення відтворювальних функцій плідників корисні обмивання мошонки водою кімнатної температури з послідовним масажем сім'яників. Мошонку, сім'яні канатики, сім'яники і придатки розминають і погладжують знизу вгору протягом 10 хв. Це приводить до посилення кровопостачання і живлення сім'яників, підвищення їх гормональної і спермогенної активності.

Добрі наслідки дає застосування кофеїну (у вигляді 1%-го розчину в теплій воді). В стійловий період корисно опромінювати плідників кварцовими лампами.

Тема 1.3. Сперма, її склад і фізико-хімічні властивості

Питання:

1. Сперма та її склад.
2. Будова та хімічний склад сперміїв. Плазма сперми, її фізіологічні та біохімічні властивості.
3. Фізіологічні особливості сперміїв.
4. Фізико-хімічні властивості сперми. Вплив на сперміїв факторів зовнішнього середовища.
5. Обмін речовин сперміїв.

1. Сперма та її склад.

Сперма ссавців є продуктом життєдіяльності чоловічих статевих залоз – головних (сім'яників) та додаткових (міхурцеві, простата, цибулинні та уретральні).

Вона складається з двох частин:

1. Сперміїв – чоловічих статевих клітин
2. Плазми сперми – суміш секретів додаткових статевих залоз.

Кількість сперми, виділена самцям за одну садку називається еякулятом.

Показники сперми сільськогосподарських тварин

Вид тварин	Об'єм еякуляту, мл	Об'єм сперміїв в еякуляті, %	Ступінь розбавлення секрету придатка виділеннями придаткових залоз
Бугай	2 (4-10)	10-14	6 раз
Баран	1 (1-2,5)	29	3 рази
Жеребець	60 (40-200)	3	30-50 раз
Кнур	250 (150-1000)	3-7	90-100 раз

Згідно приведених даних співвідношення між об'ємом сперміїв та об'ємом плазми сперми у різних видів тварин не однакове. В барана спермії складають до 30% об'єму еякуляту, бугая -14%, а у кнура і жеребця всього лише 7-8%.

Тобто сперма бугая та барана більш насичена сперміями, тобто більш концентрована ніж сперма кнура та жеребця. В спермі с.г. тварин існує зворотний зв'язок концентрації сперміїв з об'ємом еякуляту – чим вища концентрація сперміїв, тим менший об'єм еякуляту і навпаки.

Головна складова частина сперми – спермії оскільки лише вони здатні запліднити яйцеклітину. А плазма – є рідким середовищем для сперміїв і джерелом поживних речовин, що підтримують рухливість та обмін речовин

спермій. Плазма містить також солі, що створюють ізотонічний розчин для спермій, та буфери, які охороняють їх від шкідливих змін реакції середовища.

Спермії утворюють в сім'янику і зберігаються в придатку сім'яника, а плазма сперми секритується в додаткових залоз, секреторна активність яких знаходиться під контролем тестостерону, що продукується в сім'яниках, а тестекулярна активність та продукція андрогенів у свою чергу знаходиться під стимулюючим гонадотропним впливом передньої долі гіпофізу.

Існує декілька назв чоловічої статеві клітини:

сперматозоон

спермотозоа } сім'яна тварина

сперматозоїд – подібний до сім'яної тварини

живчик – рухливий

спермій - сім'яна клітина.

2. Будова та хімічний склад спермій.

I. Головка

II. Шийка

III. Тіло

IV. Хвостик

Згадані частини спермія виконують і відповідні функції.

1. Головка – генетичну
2. Шийка – збудження руху
3. Тіло – метаболічну
4. Хвіст – рухову

Довжина спермія в середньому 60-70 мікрон немає відповідності між величиною тварини та розмірами спермія. Так, спермії кита не більші за спермії кролика. Дещо більші спермії дрібних птахів та у дрібних земноводних.

Головка спермія має форму овальної пластинки, вдавненої з одного боку і випуклої з другого. Вона поступово звужується спереду назад. Зверху головка вкрита дуже тонкою оболонкою, яка продовжується на шийку вкрита дуже тонкою оболонкою, яка продовжується на шийку, тіло і хвіст спермія. Під цією оболонкою на передній частині головки спермія знаходиться подвійний ковпачок – акрозом (це видозмінена зона Гольджі). В акрозомі виробляється особлива речовина – фермент гіалуронідаза. Вважається, що перед проникненням спермія в яйцеклітину акрозом скидається.

В середній і задній частині головки розміщено ядро, крім того в задній третині головки містяться бокалоподібна капсула, що розміщена на кільцевій основі головки.

Ядро спермія – це генетичний матеріал; набір хромосом тут половинний, гаплоїдний. Кількість хромосом в сперміях постійна і характерна для кожного виду тварин.

Шийка – найбільш ламка частина спермія. В ній розрізняють 3 ділянки:

а) передню або проксимальну центросому, що прилягає у вигляді непарного диску до заднього краю головки спермія (відповідає першому полярному

тільцю);б) дистальна центросома або задній вузлик (частина полярного тільця); в) розташований між ними шар протоплазми.

Проксимальна і дистальна центросома – це кінетичний центр активності.

Тіло та хвостик – це органи для просування спадкової речовини, тобто рухлива частина спермія.

Від дистальної центріоли шийки відходить вісьова нитка, що проходить вздовж всього тіла і хвостика. Вона складається з двох центральних волоконцець, що оточені двома шарами кільцевих фібрил (по 9 в кожному) – внутрішні більш тонкі, а зовнішні – товстіші.

В тілі спермія волокна оточені зверху подвійною спіральною ниткою, що складається з великої кількості зерен – мітохондрій. Це метаболічний апарат спермія. В них містяться ферменти, що забезпечують головні окисно-відновні процеси. Завдяки наявності скоротливого білка мітохондрій можуть змінювати свою форму, що має важливе значення для руху спермія. Подвійна спіральна нитка робить біля 24 обертів проти годинникової стрілки і закінчується на тілі спермія замикаючим кільцем.

На ділянці хвоста зовнішні фібрили вісьової нитки поступово тоншають і стають однакової товщини з внутрішніми. Спіральна нитка тут потрійна. Вона закінчується разом з оболонкою, не доходячи 3 мікрон до кінця хвостика. Кінчик хвоста складається з оголених волокон вісьової нитки.

Хімічний склад спермій.

Спермії містять в своєму складі 75,4% води і 24,6% сухих речовин.

Сухі речовини: в основному білки, невелика кількість жирів – ліпідів та мінеральних речовин.

Головка спермія на 96% побудована з білка, $\frac{3}{4}$ якого – нуклеопротейди і $\frac{1}{4}$ - ліпопротеїн.

Нуклеопротейд – комплексна сполука нуклеїнової кислоти з простим білком. Нуклеїнова кислота головки спермія по своїй будові є дезоксирибонуклеїною. Друга частина нуклеопротейду є білком лужного характеру – протаміном чи гістоном.

Якщо біологічна роль ДНК цілком відома, то цього не можна сказати про гістони та протаміни. Окремі автори вважають, що вони мабуть гальмують синтез РНК із ДНК.

Нуклеопротейд зосереджений головним чином в ядрі, а ліпопротеїн – в акрозоми. Тут також виявлено вуглеводи (мукополасакhariди), а також нейрамінову кислоту, фосфатазу та гіалуронідазу.

Крім того в головці спермія містяться невеликі кількості вільного ліпиду, солей та інші речовини. Особливо високий вміст фосфору, який входить до складу ДНК.

Тіло і хвостова частина спермія на 73% складається з простих білків і 23% ліпідів. Основна маса ліпідів фосфоліпідного характеру містить певну частину лецитину. Ліпіди відіграють роль енергетичного запасу, а також у врівно-важенні водного балансу спермій.

Оболонка спермія містить 17-19% азоту, багата на аргінін, гістон та цестин. Спермії містять велику кількість ферментів, що входять в гліко-

літичну систему використання вуглеводів і ресинтезу АТФ, а також ферменти, що пов'язані з аеробним обміном речовин.

Плазма сперми.

Виділювані самцями спермії завжди оточені певною кількістю рідини – плазмою. Вона утворюється під час еякуляції, коли до спермій, що викидається з придатка приєднуються секрети придаткових залоз.

Плазма розбавляє густу масу спермій, полегшує їх просування в статевому тракті самки і збуджує рухливість нерухомих до того спермій з придатка. Крім того вона створює умови для виживання їх в жіночому статевих шляхах.

Секрети додаткових залоз виділяються під час еякуляції в такій послідовності: першим, ще до статевого акту, виділяється секрет уретральних залоз, тоді куперових, за ними виділяється густа маса спермій разом з секретами придатка сім'яника та простатичної залози і нарешті виділяється секрет міхурцевих залоз.

Секрет придатка сім'яника кислої реакції (рН 6,3-6,9), оскільки тканина залози виробляє молочну кислоту. Цей секрет багатий на білки, зокрема ліпопротеїди, велику роль серед яких відіграють гліцерофосфорилхолін та фосфорилхолін. Тут виявлено також полісахарид до складу якого входить галактоза та манноза. Вміст фруктози в секреті придатка незначний і не перевищує у жуйних 3 мг%.

Серед солей переважають солі К над Na.

Секрет міхурцевої залози слабокислої, а інколи навіть лужної реакції (Р^Н 6,4-7,4). В ньому багато білків, ліпідів. Фруктоза та лимонна кислота, а також шестиатомний спирт сорбіт і аскорбінова кислота.

В секреті міхурової залози кнура містяться у великій кількості інозиту – до 2,6 % і ергобіонеїну - до 8%, а у бугая – значні кількості фловінів, які надають спермі жовтуватого відтінку.

Серед мінеральних речовин переважають солі К, менше натрію і невелика кількість Са.

Плазма сперми містить велику кількість таких мікроелементів як бар, магній, залізо, мідь, цинк та інші. Крім того, тут міститься велика кількість водорозчинних вітамінів групи В. В плазмі сперми виявлені вільні амінокислоти, серед яких переважає глютамінова.

Плазма сперми багата на ферменти, частина яких може дифундувати з спермій. У ній зокрема виявлені : глюкоза, ацетілхолінестераза, 5-нуклеотидаза, гіалуронідаза,, три аденозин-трифосфатази.

3. Фізіологічні особливості спермій.

Під час проходження спермій спочатку вздовж чоловічого статевого тракту, а потім і жіночого в них проходять морфологічні та функціональні зміни: втрата кіноплазматичної краплі, структурні зміни акрозоми та деякі зміни хімічного складу ліпідів. В жіночих статевих органах спермії піддаються „капацитації”. Внаслідок цих змін вони остаточно набувають здатності запліднювати і проникати у яйцеклітину.

Характерною рисою дозрілих нормальних живих спермій є висока рухливість. Це властивість у спермій обмежена в часі, і залежить від використання ними енергетичного матеріалу. Рухливість спермій відіграє важливе значення в процесі запліднення, хоча не завжди високоактивні спермії володіють запліднюючою здатністю. Проте в нормальній спермі запліднююча здатність і рухливість спермій настільки тісно взаємозв'язані, що Ван Дуайн (1965) запропонував визначити індекс плідності самців по рухливості спермій.

Швидкість руху спермій залежить перш за все від оточуючого середовища і температури. У фізіологічних умовах швидкість руху спермій коливається від 4 мм на 1 хв. У жеребця до 5-7 мм у бугая.

Рух спермій здійснюється внаслідок ударів хвостика. Розрізняють три види рухливості спермій:

1. Прямолінійно-поступальний – вперед вздовж поздовжньої осі, тобто спермій просувається гвинтоподібно вперед внаслідок ритмічних хвилеподібних ударів хвоста об течію слизу. Обертання спермія навколо поздовжньої осі обумовлює ложкоподібна форма головки. Такий рух є нормальним.
2. Маневний - рух спермія по колу, виникає в тому випадку, коли удари хвостика слабшають і він не може повертати головку навколо поздовжньої осі. В такому випадку увігнута форма головки буде викликати відхилення спермія в бік при русі вперед.
3. Коливальний - рух спермія на місці. Виникає у випадку, коли удари хвоста настільки ослаблені, що вже не здатні зрушити спермія з місця і він лише коливається.

Маневні та коливальні рухи спермій – не нормальні, оскільки просуватися спермії по статевих шляхах самки не в змозі, прийняти участь в заплідненні можуть лише спермії, що рухаються прямолінійно вперед.

Характерною рисою спермій савців є здатність їх до реотаксису – тобто проти течії рідини (в жіночих статевих шляхах - проти течії слизу).

Слідуюча риса спермій – тигмотаксис, тобто здатність занурюватися в яйцеклітину, не володіючи здатністю до проникнення через прозору оболонку, вони б не володіли запліднюючою здатністю.

Всі спермії в нормальній спермі володіють однойменними негативними електричними зарядами, що запобігає зіткненню їх в густому еякулят. При знищення електричного заряду спермії більше не відштовхуються один від одного, а навпаки – склеюються, спочатку головками, а потім всією масою. Це явище носить назву аглютинації.

4. Фізико-хімічні властивості сперми. Вплив на спермій факторів зовнішнього середовища.

Одержана сперма – перш ніж потрапити в статеві шляхи самки, знаходиться перший час в умовах зовнішнього середовища. Тут на неї можуть діяти різноманітні фактори, які здатні сповільнювати, прискорювати або ж навіть порушувати процеси обміну в ній речовин. Як наслідок цього виживання

спермій поза організмом може збільшуватись, вкорочуватись: або ж просто вони можуть гинути. Щоб цього уникнути, необхідно перш за все знати вимоги спермій до умов зовнішнього середовища.

Виживання спермій в значній мірі залежить від співвідношення в спермі електролітів (розчини солей) та неелектролітів (розчини цукрів). У чистих розчинах солей чи цукрів воно звичайно гірше ніж у їх сумішах. Ряд авторів доказали необхідність певного співвідношення між електролітами та неелектролітами в оточуючій спермії рідині.

Високе виживання спермій у придатку сім'яника обумовлюється зниженим вмістом тут електролітів. Під час еякуляції вміст електролітів у спермі збільшується. Чим сильніше сперма розбавлена секретами додаткових залоз, тобто чим вищий в ній вміст електролітів, тим швидше спермії гинуть. Сперма жеребця та кнура відзначається дуже високою концентрацією електролітів, тоді як в спермі жуйних їх значно менше.

Осмотичний тиск - це такий тиск, який необхідно прикласти до розчину для підтримання рівноваги з чистою водою, що знаходиться по другий бік напівпроникливої (для води) мембрани.

Залежить осмотичний тиск рідини від концентрації зважених в ній часток, включаючи йони, малі молекули неелектролітів та великі колоїдні частки. Величину осмотичного тиску виражають поняттям „депресія”, тобто величиною зниження точки замерзання розчину в порівнянні з дистильованою водою.

В плазмі сперми розчинено ряд органічних та неорганічних речовин, які проявляють осмотичний тиск на спермії. Осмотичний тиск сперми у с.г. тварин приблизно однаковий біля $0,6^0$, що відповідає 8-9 атмосферам.

При зберіганні сперми поза організмом осмотичний тиск її змінюється внаслідок накопичення продуктів обміну речовин. Ці зміни сильніше виражені в спермі барана та бугая і слабше у кнура та жеребця.

При збереженні найкраще виживання спермій спостерігається в середовищах, осмотичний тиск яких співпадає із середньою величиною осмотичного тиску свіжоотриманої сперми. Такі розчини вважають ізотонічними, тобто осмотичний тиск розчинених в них солей та інших речовин дорівнює осмотичному тиску всередині спермія.

Якщо в рідині розчинено більше речовин, ніж це необхідно для створення ізотонії, осмотичний тиск її буде вищий і такий розчин буде називатися гіпертонічним.

В чистій воді, тобто в гіпотонічному розчині спермії гинуть негайно внаслідок величезного осмотичного тиску.

Ізотонічними розчинами електроліту NaCl є 0,85%(0,9%), двовуглекислої соди – 1%, цитрату Na – 2,9%.

Із неелектролітів найчастіше застосування знаходить-глюкоза. Ізотонічними розчинами її для спермій окремих тварин є: для бугая - 6 %, барана - 6,4 %, кнура - 6,0 %, жеребця -7,0 %.

Спермії надзвичайно чутливі до зміни концентрації розчинів. В гіпотонічних розчинах вони гинуть внаслідок набухання від проникаючої в

них води, а в гіпертонічних розчинах, навпаки, настає зневоднення протоплазми та зморщування їх оболонок внаслідок виходу води в оточуюче середовище.

Реакція сперми.

Як відомо, більшість ферментних систем вимагає для оптимальної реакції певних меж рН. В кислому середовищі метаболічна активність клітин гальмується (що проявляється зменшенням рухливості сперміїв), а в лужному - стимулюється (рухливість сперміїв зростає).

Реакція свіжоотриманої сперми залежить від співвідношення в ній секретів статевих залоз.

В придатку сім'яника, де спермії дозрівають та зберігаються, реакція кисла, і це гальмує рухливість сперміїв. Після еякуляції реакція сперми зміщується в бік слабокислої чи навіть лужної. Так в спермії бугая вона слабокисла (рН 6,8 -7,2), барана, жеребця та кнура – дещо лужна

При зберіганні сперми реакція її поступово змінюється: барана і бугая – кислу, а у кнура, жеребця – в лужну сторону. Якщо сперму кнура та жеребця зберігати щільно закритою, реакція в ній майже не змінюється. Висока концентрація вуглекислоти в цій спермі свідчить про добре виражений процес дихання.

У барана та бугая зміни рН в лужний бік спостерігаються лише після тривалого зберігання, коли в ній вже наступить відмирання значної кількості сперміїв.

Буферність сперми – це здатність поглинати кислоти чи луги з малими змінами рН. В плазмі сперми ссавців містяться значні концентрації солей слабких кислот, карбонатів, цитратів, фосфатів. Віддаючи свій метал утворюваним в спермі більш сильним кислотам. Вони нейтралізують їх, а звільнені при цьому слабкі кислоти дають набагато разів менше водневих йонів, ніж сильні внаслідок чого не допускається виникнення значної кислотності. Крім того, слабкі кислоти можуть нейтралізувати лужні речовини, що виникають в спермі.

Отже, солі слабких кислот є буферами сперми. Буферними властивостями володіють також білки сперми, оскільки здатні зв'язувати кислоти та лужні речовини.

Вплив температури.

Життєздатність сперміїв у зовнішньому залежить від температури зберігання. Підвищення температури від 37-38 до 42 градусів активує рух сперміїв, вони швидко витрачають енергію і вкорочують час життя. Від 42 до 45 градусів вони втрачають запліднюючу здатність, а при 48градусів – гинуть внаслідок коагуляції білка. А тому з високих температур застосовують лише в межах 37-40⁰С для розморожування та оцінки активності сперміїв. Ще в 1908 році І.І. Іванов встановив, що спермії живуть значно довше при 0 градусів. Важливо лише щоб охолодження до 0 градусів відбувалося повільно. Інакше, тобто при швидкому охолодженні у сперміїв настає температурний шок (холодовий удар) - незворотна втрата рухливості та біохімічної активності. Щоб уникнути холодового удару температура в манежі та пункті штучного

осіменіння повинна бути в межах 18-25 градусів, застосовувані інструменти та розріджувачі повинні бути теплими, одержана сперма не повинна піддаватись різкому охолодженню.

Вплив світла.

В процесі еволюції ссавців пристосовувались до внутрішнього осіменіння. Тому денне світло є додатковим фактором, що діє на сперму при ш. о.

Прямі сонячні промені діють на сперму шкідливо. Вони як відомо складаються з ультрафіолетової та інфрачервоної частини.

Ультрафіолетові промені, проявляючи хімічну дію прискорюють хімічні реакції що врешті приводить до швидкого нагромадження молочної кислоти та гибелі спермій.

Інфрачервоні промені, володіючи тепловим ефектом, підвищують температуру сперми, прискорюють рухливість та вкорочують виживання спермій. Розсіяне штучне світло не шкідливе для спермій, тоді як яскраве теж негативний вплив.

Тому сперму слід оберігати від дії прямих сонячних променів, працювати з нею при неясковому денному або ж штучному освітленні. Бажано, щоб скло у вікнах лабораторії, а також застосовувані електролампи були матовими в крайньому випадку на вікнах повинні бути марлеві занавіски.

Вплив хімічних речовин.

Спермії дуже чутливі до дій різних хімічних речовин – лізолу, формаліну, скипідару, К, Мп, нашатирного спирту, ефіру, окису Cu, заліза, а також нікотину та інші.

Тому категорично забороняється зберігати ці речовини на пункті ш.о. Всі інструменти повинні бути скляні, а якщо металеві то обов'язково покриті нікелем.

Вплив мікробного та грибкового забруднення.

Сперма служить сприятливим середовищем для розмноження мікроорганізмів. Одержувана сперма дуже часто буває забруднена мікробами та грибками. Інфікування відбувається як правило в сечостатевому каналі, а також при контакті з зовнішнім середовищем. Ступінь забруднення залежить від здоров'я плідника, його гігієнічного стану, стерильності ш.в., манежу, лабораторії та інше.

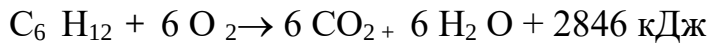
Через ш.о. забрудненою спермою можуть передаватися: трихомоноз, бруцельоз, туберкульоз, лептоспіроз, та інші. Осіменіння тварин інфікованою спермою може бути причиною ендометритів.

5. Обмін речовин спермій.

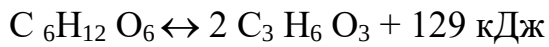
Спермії ссавців володіють високою рухливістю. Джерелом енергії для їх руху служить три біохімічних процеси: дихання, гліколіз, розпад АТФ. Ці процеси взаємозв'язані: внаслідок перших двох спермії виділяють енергію з поживних речовин, що проникають в них або ж знаходяться в складі їх цитоплазми, третій процес полягає в перетворенні цієї енергії в таку форму, яка може діяти на рухливий апарат спермія.

Названі три процеси екзотермічні і можуть бути виражені такими рівняннями.

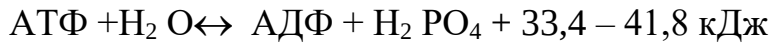
Дихання.



Гліколіз



Розпад АТФ



Друга і третя реакції – зворотні і можуть бути перехідними з права наліво за рахунок енергії виділеної в першій реакції. Про цьому АДФ що утворилась під час руху спермія переходить в АТФ за рахунок енергії дихання та гліколізу, а нагромаджена під час гліколізу молочна кислота може назад відновлюватися до фруктози за рахунок енергії дихання.

Акумулятором утвореної енергії служить АТФ. Це фосфорильований мононуклеотид, що складається з основи (аденозину) та трьох часток фосфорної кислоти. Остання молекула фосфорної кислоти в АТФ, приєднана макроергічним зв'язком, що виділяє під час розриву велику кількість енергії (8-10 ккал на моль). При дії на АТФ специфічного ферменту руйнується перший багатий енергією фосфатний зв'язок, звільнюється енергія і утворюється аденозинтрифосфорна кислота (АДФ) та неорганічний фосфат.

Другий багатий енергією зв'язок може також руйнуватися з виділенням енергії для скорочення волоконця утворюючи аденозинмонофосфат (АМФ) чи аденілову кислоту і неорганічний фосфат.

При відповідних умовах виділювана енергія може бути використана як механічна енергія (рух) чи як хімічна енергія (біосинтез). Якщо ж вона не використовується, то виділяється у вигляді тепла. Розрив макроергічних зв'язків у АТФ відбувається під впливом специфічних ферментів – аденозинтрифосфатаз.

Гліколіз (фруктоліз).

Гліколіз – одержання енергії для життєвих процесів шляхом розщеплення цукру без кисню. Оскільки основним цукром сперми є фруктоза, то його тут називають фруктолізом. Цукристі речовини звичайно зосереджені в плазмі сперми і проникають з відти в спермії.

Інтенсивність гліколізу залежить від концентрації цукру. В спермі бугая, барана міститься значно більше цукру, ніж в спермі інших тварин, з зв'язку з цим тут має місце значно інтенсивніший гліколіз. В спермі ж кнура і жеребця практично майже непомітно розкладу цукру та нагромадження молочної кислоти. Разом з цим у спермії усіх чотирьох видів добре виражене дихання. Виходячи з цих міркувань, В. Шергін розділив сперму с.-г. тварин на два типи:

1. Сперма з високим вмістом цукру та сильно вираженим гліколізом. Це сперма жуйних. Характерним для цього типу сперми є: малий об'єм сперми еякуляту, висока концентрація сперміїв, слабо кисла реакція сперми та добре виражена здатність впадати в анабіоз.

2. Сперма, що містить мізерні кількості цукру. Помітного гліколізу тут нема, енергія для руху постачається переважно за рахунок дихання. Це сперма кнура та жеребця. Вона характеризується також великим об'ємом еякуляту, малою концентрацією спермій, лужною реакцією сперми та слабкою здатністю в стан анабіозу.

Процес розщеплення цукру (гліколіз) проходить послідовно, при цьому спостерігається ряд хімічних реакцій, що протікають під впливом суворо специфічних ферментів. Кожен фермент атакує лише на певному етапі, а утворений продукт реакції вже є об'єктом атаки наступного ферменту. Майже всі атаки наступного ферменту. Майже всі проміжні реакції глі-колізу супроводжуються звільненням енергії. Виділення енергії поступове, інакше спостерігалось б перегрівання клітини.

Процес виражається формулою: $C_6H_{12}O_6 \leftrightarrow 2 C_3H_6O_3 + 129 \text{ кДж}$

Крім фруктози спермії можуть також розкласти мальтозу глікоген, глюкозу і в меншій мірі сахарозу та лактозу. В процесі гліколізу в спермії нагромаджується молочна кислота яка діє негвативно на виживання спермій. Залежно від концентрації вона може або гальмувати функції спермій, або ж цілком вбивати їх.

В свіжо одержаній спермі вже через 20-40 хв. концентрація молочної кислоти піднімається до рівня, що гальмує рухливість. При рН 6 настає перша фаза анабіозу. Нерухомі на цей період спермії можна „оживити” підігріванням до 37-40°. Якщо рН знижується до 5,4 то одного підігрівання мало, необхідно додавати лугу. Це друга фаза анабіозу. А якщо рН про-довжує знижуватися і сягає 4,5 більшість спермій гине.

Гліколіз може протікати не тільки в безкисневих, а й кисневих умовах, проте інтенсивність його значно нижча.

Аеробні процеси (дихання сперми).

Аеробні процеси відіграють важливу роль в життєдіяльності спермій. В метаболічному процесі дихання спермії можуть використовувати кисень, щоб окислювати субстрати для поповнення багатих енергією фосфатних зв'язків АТФ. Під окисленням розуміють звичайно, або приєднання або втрату електронів даною сполукою.

При диханні в наслідок більш глибокого розщеплення речовини спермії одержують значно більше енергії, ніж при гліколізі, і тому розхід поживного субстрату і виділення продуктів розпаду відносно не великий. Вперше дихання у спермій встановив І.І Іванов.

Для дихання спермії використовують ліпіди, білкові речовини, гліцерин, але основна сполука – це цукор. З різних цукрів спермії при диханні майже в рівній мірі легко окислюють в фруктозу і глюкозу. В аеробних умовах може також окислюватись наявний в спермії сорбіт.

Хімія дихання.

Окислення субстрату до $CO_2 + H_2O$ + виділена енергія - вимагає для завершення участі ферментних систем, такими є: флавопротеїни і залізо-вмісні цитохроми. На дихання впливає температура. Зниження темпера-

тури на 10^0C сповільнює дихальну активність спермійів в двічі при 0^0 дихання хоч і продовжується, але на дуже низькому рівні.

Процес дихання особливий. В першу чергу окислюються цукри, а так як вони зосередженні в плазмі, то їх використання не позначається негативно на сперміях. В подальшому починають використовуватись ліпіди та білки, а так як вони є складовими спермійів то, спермії починають поступово руйнуватися

Враховуючи значення дихання для життєдіяльності гамет слід мати на увазі, що для свого руху спермій використовує лише ту енергію, яка буде передана АТФ і піде на утворення макроергічних зв'язків, а та частина яка не передається у фосфорилуючі системи – виділяється у вигляді тепла.

Роль O_2 для дихання спермійів беззаперечно, однак кисень може проявляти на сперміїв також негативну дію. При підвищених його концентраціях в оточуючому середовищі в сперміях може утворюватись H_2O_2 (перекис водню), що шкідливо діє на них. Додавання з зовні каталази знімає шкідливу дію перекису водню.

Тема 1. 4. Оцінювання якості сперми плідників

Питання:

1. Візуальна оцінка сперми за зовнішніми ознаками.
2. Мікроскопічна оцінка сперми за густиною та активністю сперми.
3. Визначення концентрації спермій.
4. Визначення кількості живих, а також патологічних форм спермій.
5. Визначення редуційної здатності спермій.
6. Визначення мікробного забруднення спермій.

1. Візуальна оцінка сперми за зовнішніми ознаками.

Запліднюваність самок знаходиться в прямій залежності від якості застосованої сперми. Тому одержану сперму використовують для осіменіння лише після попередньої оцінки її якості.

Існує багато методів оцінки якості сперми, проте у виробничих умовах найширше застосування знайшли такі:

- а) візуальна оцінка сперми за зовнішніми ознаками (макроскопічна оцінка);
- б) мікроскопічна оцінка густоти сперми та активності спермій;
- в) визначення концентрації спермій.

Інші методи (біохімічні, бактеріологічні) використовуються лише в наукових дослідженнях, або у випадку необхідності. Результати оцінки заносяться в спеціальний журнал та карточки використання плідників, а на пунктах в ордері, одержаній із станції разом з спермою.

Візуальна оцінка (органолептична) свіжо отриману сперму в першу чергу оцінюють за: кольором, запахом, консистенцією та об'ємом.

Колір сперми – характерний для кожного виду тварин і залежить головним чином від концентрації сперми. Сперма барана – біла з жовтуватим відтінком; бугая – молочно-біла з жовтуватим відтінком; жеребця та кнура – сірувато-біла нагадує колір сильно розбавленого молока. Червонуватий або ж буро-червоний колір вказує на домішки крові, які можуть зустрічатись при частих садках чи кровотечах в статевій системі. Зеленуватий колір може бути ознакою домішок гною; жовтий – сечі; сіруватий або голубуватий відтінок сперми є ознакою дуже низької її концентрації (олігоспермія).

Запах сперми – в нормі сперма немає запаху, хоча в барана вона може бути із запахом жиропоту, у бугая – свіжовидоїного молока. При наявності запальних процесів у сім'яниках або придатках чи придаткових залозах сперма може набувати гнильного запаху, а при попаданні в сперму сечі, вона пахне аміаком.

Концентрація сперми – залежить від ступеня розбавлення її секретами придаткових статевих залоз. Сперма барана сметаноподібна; бугая – вершково подібна; жеребця – водяниста з домішками слизу; кнура – водяниста з домішками драглисто-клейких зерен. Поява в спермі пластівців свідчить про запальні процеси в придаткових статевих залоз, частіше всього – міхурцевидних. Домішки калу, бруду зустрічаються при антисанітарних умовах утримання плідників та недоодержанні правил отримання сперми.

Об'єм еякуляту – кількість сперми виділеної плідником за одну садку. Він залежить від ступеня розбавлення густої маси спермій секретами придаткових залоз. Об'єм еякуляту у кнура та жеребця вимірюють після фільтрації (відокремлення густих секретів купперових залоз).

Характеристика сперми сільськогосподарських тварин за зовнішніми ознаками.

Вид тварин	Об'єм еякуляту, мл	Колір	Запах	Консистенція
Баран	1 (0,8-4)	Білий з жовтуватим відтінком	Без запаху іноді запах жиропоту	Сметаноподібна
Бугай	4(2-15)	Молочно-білий, іноді жовтуватий	Без запаху,, або запах свіжого молока	Вершковоподібна
Кнур	260 (150-1000)	Сірувато-білий	Без запаху	Водяниста з клейкими зернами
Жеребець	60(40-300)	Сірувато-білий	Без запаху	Водянистий із домішками слизу

2. Мікроскопічна оцінка сперми за її густотою та активністю спермійв.

Під густотою сперми розуміють насичення її статевими клітинами (сперміями). Визначення проводять окомірно в роздавленій краплі за допомогою мікроскопа (збільшення 180-300 разів).

Для виготовлення краплі беруть чисте кімнатної температури предметне скло, наносять на нього краплю сперми і накривають покривним скельцем так, щоб не було пухирців повітря. Кладуть на предметний столик мікро-скопа (чи на столик Морозова) і розглядають в дещо затемненому полі зору.

Оцінка сперми за густотою застосовується для дослідження нерозбавленої сперми. При оцінці розрізняють: густу, середню та рідку сперму.

Густа сперма – все поле зору мікроскопа (Г) заповнена густою масою спермійв, між ними майже не видно вільних проміжків, спермії рухаються суцільною масою. Розрізнити рух окремих спермійв не можливо.

Середня сперма – (С) між сперміями добре помітні проміжки, рух окремих спермійв добре розрізняється.

Рідка сперма (Р) – в полі зору мікроскопа спостерігаються окремі спермії, проміжки між ними дещо більші на розмір одного спермія.

Олігоспермія (О) – в полі зору мікроскопа спостерігаються поодинокі спермії.

Аспермія (А) – відсутність в полі зору спермійв.

Для розбавлення можна використовувати сперму барана лише густу; бугая, жеребця, кнура – густу і середню.

Визначення активності (рухливості спермій), проводять в препараті „роздавлена крапля” одночасно з визначенням густоти. Для повного виявлення активності спермій оцінку проводять при температурі 38-40° застосовуючи ящик-термостат, або ж нагрівальний столик Морозова.

Показник активності як і густоти має пряме відношення до запліднюваності самок. Під активністю спермій розуміють здатність їх до прямолінійно-поступального руху. Оцінку проводять за десятибальною системою: за кожних 10% спермій з прямолінійно - поступальними рухами ставлять 1 бал , найвищий бал – 10 .

При наявності спермій з манежним рухом (М), коливальним рухом (К), а також мертвих спермій (М) їх до уваги не беруть. Наприклад: в полі зору мікроскопа 80% спермій рухаються прямолінійно-поступально, 10%- рух манежний, 5% - рух коливальний, а 5% - мертві – активність оцінюється у 8 балів.

В свіжоотриманій спермі барана та бугая важко встановити % співвідношення спермій з різними видами рухів. В подібних випадках керуються такими критеріями: при наявності в спермі активного вихрового руху спермій ставлять 10 балів. При дещо сповільненому вихровому русі – 9 балів. Слід мати на увазі, що в окремих еякулятах , особливо густих, спермії не встигають вийти повністю із стану анабіозу. В таких випадках на предметному склі змішують дві краплі теплого 3% розчину лимонно-кислого натрію з краплею сперми, покривають накривним склом і розглядають під мікроскопом .

Дозволяється використовувати для розбавлення сперму барана та бугая не нижче 8 балів, кнура – не нижче 7 балів; жеребця – 5 балів.

3. Визначення концентрації спермій.

Концентрація – насичення сперми сперміями (статевими клітинами).

Визначення концентрації спермій, тобто підрахунок кількості спермій в 1 мл можна проводити в лічильній камері (Горяєва, Тома-Цейса, Бюркера та ін.), за стандартами каламутності, за допомогою ФЕК та еритрогеметра.

Визначення концентрації спермій в лічильній камері Горяєва – лічильна камера являє собою товсте, відшліфоване скло, в середній частині якого розміщено три поперечні пластини. На середній пластині , яка опущена на 0,1 мм нижче бокових, ви гравійовано 2 квадратні сітки, що розділені на 225 великих квадратів, з яких 25 в свою чергу розділені ще на 16 малих. Разом це складає 400 малих площею $1/400 \text{ мм}^2$ кожен.

При визначенні концентрації спочатку необхідно притерти (до появи райдужних кілець) до опірних (бокових) пластинок камери накривне скло. А також для зручності підрахунку сперму слід розбавити і позбавити спермій рухливості. З цією метою сперму, використовуючи змішувачі (меланжери) , змішують з 3% розчином хлористого натрію. Для бугая, барана використовують еритроцитарний, а для сперми жеребця, кнура лейкоцитарний змішувачі.

Ступінь розбавлення сперми

Сперма	Меланжер	До якої мітки набирають в меланжер		Ступінь розбавлення
		Сперму	Розчин NaCl	
Барана	еритроцитарний	0,5	101	200
Бугая	еритроцитарний	1	101	100
Кнура	лейкоцитарний	0,5	11	20
Жеребця	лейкоцитарний	0,5	11	20

А далі затискають кінці меланжера великим і вказівним пальцями і струшують дві три хвилини. Тоді видують 3-4 краплі на ватку, а п'яту – наносять на середню пластинку камери біля краю покривного скла. Крапля проникає під накривне скло і рівномірно заповнює сітку.

Переносять камеру на предметний столик мікроскопа і при малому збільшенні намагаються віднайти сітку. Після чого підраховують кількість спермій в 5 великих (80 малих) квадратах при збільшенні в 400 разів. Підраховують лише тих спермій, головки яких знаходяться в середині квадрата, або ж лежать на лівій і верхній лініях .

Концентрацію спермій вираховують за формулою:

$$C = \frac{H \cdot D \cdot 400 \cdot 1000}{80}, \text{ де}$$

C-концентрація спермій,

H – кількість підрахованих спермій,

D – ступінь розбавлення сперми,

80 – кількість квадратів в яких рахували

4000 – число для переведення в кубічні мілілітри (об'єм одного малого квадрата 1/4000мл³)

1000 –число для переведення в мілілітри інколи використовують спрощену формулу:

$$\text{для бугая } C = \frac{H}{200}$$

$$\text{для барана } C = \frac{H}{100}$$

$$\text{кнур , жеребця } C = \frac{H}{1000}$$

Визначення концентрації спермій за стандартами

Приблизну концентрацію спермій жеребця та бугая можна визначати за допомогою стандартів каламутності. Запропонували методику Паршутін та Рум'янцева . Стандарти – запаяні скляні пробірки з каламутною рідиною, що імітує нерозбавлену сперму жеребця з різною концентрацією (5-10-5-100-200-300-500 млн. в 1 мл) або ж розбавлену сперму бугая з концентрацією 0,4-0,6 – 0,8 -1,0 -2,0 млрд. в 1 мл сперми.

При дослідженні сперми її наливають в спеціальну пробірку (додається до стандартів) і порівнюючи на світлі з стандартами, підбирають най-

оптимальніші по каламутності. Цей стандарт і приймають за відповідну концентрацію в досліджувальній пробі.

Визначення концентрації спермійв за допомогою ФЕК

Принцип роботи полягає в тому, що при пропусканні через вставлену в прилад кювету зі спермою електричних променів частина з них поглинається сперміями, а решта проходить і попадає на фотоелемент, який з'єднаний з гальванометром. При цьому через гальванометр проходить електричний струм величина якого обернено пропорційна до каламутності сперми. Чим вища каламутність сперми (умовно рахується концентрація спермійв), тим більше ослаблюється потік світла що проходить крізь неї.

Однак при визначенні концентрації цим методом спочатку необхідно приготувати криву оптичних щільностей для сперми різної концентрації. Для цього вибирають най густіший еякулят і користуючись 3,5% розчином лимоннокислого натрію виготовляють серію послідовних розбавлень : 2-4-6-8-10 разів і т.д. В кожній з цих проб визначають концентрацію спермійв в лічильній камері і паралельно встановлюють оптичну щільність на ФЕК.

Оптичну щільність встановлюють таким чином: в пронумеровані пеніцилінові флакони наливають по 10 мл 3,5% розчину лимоннокислого натрію і додають до кожного по 0,1 мл сперми з відповідних розбавлень. Сперму бугая розбавляють в 100 , барана в 400 раз, сперму кнура – 1:30. Старанно змішують рідину і переливають її в кювету ФЕК з робочою довжиною 10 мм і ставлять її в праве гніздо. В ліве гніздо приладу на таку ж віддаль ставлять подібну кювету з чистим розчином лимоннокислого натрію. Включають прилад, стрілка гальванометра починає відхиляться. Для вирівнювання світлових потоків вводять в лівий потік фотометричний клин (до тих пір , поки стрілка гальванометра не зупиниться на нулю). Тепер, щоб дізнатись, яку частину променів затримує сам цитрат натрію, ставлять кювету з цим розчином в праву лунку і при цьому знову порушується фотоелектрична рівновага. Обертаючи лівого барабана змінюють ширину діафрагми до повернення стрілки гальванометра в нульове положення. Після цього записують показник лівого барабана.

Середньоарифметичні дані концентрації спермійв та оптичних щільностей використовують для побудови калібрувальної кривої. На міліметровому папері відкладають по горизонтальній вісі концентрацію спермійв, а по вертикальній – відповідні величини оптичних щільностей. В місцях перетину перпендикулярів ставлять точки , які з'єднують і після чого отримують відповідну калібрувальну криву якою користуються враховуючи певний вид тварини. Тобто, отримавши наступний еякулят розбавляють його, пропускають через ФЕК, отримують показник оптичної щільності і порівнявши його до калібрувальної шкали отримують показник концентрації.

4. Визначення відсотка живих спермійв.

Оболонка живих, рухливих спермійв не проникна для деяких мікробіологічних фарб, тоді як у мертвих та ослаблених спермійв вона проникна для барвників. Тому в пофарбованому мазку спермії які були на момент фарбу-

вання живими, будуть виглядати блідими, а мертві навпаки приймають колір фарби. Для диференціовального фарбування спермійів запропоновано декілька рецептів фарб: 5% -ний розчин еозину за В.А. Морозовим; розчин еозину на фізрозчині; еозин-нігрозинова фарба; 1% розчин фарби конго-рот та інші.

На сухе обезжирене предметне скло наносять (ближче до одного краю) краплю сперми і поряд краплю фарби. Швидко змішують їх краєм шліфувального предметного скла, приставляють шліфоване скло так, щоб утворився кут 30^0 і лишки суміші сперми з фарбою виявились в гострому куті. Далі роблять тонкий мазок, ведучи скло плавно, попереду краплі. Мазок повинен бути настільки тонким, щоб міг швидко висихати на повітрі, в іншому випадку живі спермії можуть загинути раніше ніж висохне мазок. Після висихання мазка його розглядають під мікроскопом при збільшенні в 400-600 разів і підраховують окремо кількість живих (не зафарбованих) і мертвих спермійів (з пофарбованими голівками).

Процент живих спермійів визначають за формулою:

$$П = \frac{Ж \times 100}{500}, \text{ де}$$

П – процент живих спермійів;

Ж- кількість підрахованих живих спермійів.

5. Визначення відсотка патологічних форм спермійів.

В кожному еякуляті, паралельно з нормальними сперміями, можуть зустрічатися і патологічні. Звичайно, вміст їх не повинен перевищувати 14% у барана, 18% у бугая і 20% у кнура та жеребця. При виникненні хворобливих процесів у головних статевих залозах кількість патологічних форм збільшується, а це рідко знижує запліднюючу здатність сперми. Тому на станціях ш.о. необхідно 3-4 рази на рік визначати процент патологічних форм спермійів у спермі кожного плідника.

Такі патологічні зміни можуть бути першими і вторинними. До первинних змін відносять зміни величини та форми голівки тіла і хвостика та їх забарвлення. Це гігантські спермії, карликові з круглою, грушо-подібною голівкою, безголові, двоголові, двохвості. Вони спостерігаються при розладах сперміогенезу в сім'яниках, запальних процесах в них, при авітамінозах та інше.

Вторинні зміни спермійів (спермії з закрученими та обламаними хвостиками, безхвості, з проксимальною протоплазматичною краплею), в основному виникають при розладах процесу дозрівання спермійів, ураженнях придатка, сім'явиносних каналів, придаткових статевих залоз, при порушенні режиму використання плідників, при порушенні способу отримання сперми і послідовного поводження з нею. Вторинні зміни можуть виникати також в процесі виготовлення препарату, як результат механічної дії.

При дослідженні сперми її попередньо розбавляють 1%-ним розчином хлористого натрію, сперму барана в 20-30 раз, бугая – в 10-15 раз, густу сперму жеребця і кнура в 2-4 рази, а якщо вона середня то її не розбавляють. Після чого її наносять на край обезжиреного предметного скла і за допомогою

шліфувального скла роблять тонкий мазок. Далі його висушують, після чого фіксують 96°-ним спиртом ректифікатом, обполіскують мазок дистильованою водою і фарбують гістологічними барвниками. Після цього досліджують мазок під мікроскопом при збільшенні в 400-600 разів. Підраховують не менше 500 спермій враховуючи загальну кількість та число патологічних форм. Потім вираховують процент патологічних спермій із загальної їх кількості.

$$П = \frac{T \times 100}{N}, \text{ де}$$

П- процент патологічних форм,

Т- кількість підрахованих патологічних форм,

Н - загальна кількість підрахованих спермій.

6. Визначення живучості спермій поза організмом.

Під виживанням спермій розуміють тривалість їх життя в зовнішньому середовищі при певних умовах. Воно тісно пов'язане із запліднюючою здатністю їх до зовнішніх впливів.

Прийнято визначати:

1. Абсолютний показник живучості
2. Відносний показник живучості.

Абсолютний показник живучості визначають 1-2 рази на місяць. Для цього беруть 11 стерильних сухих пробірки і наливають у всі крім першої по 0,5мл розріджувача. В першу та другу пробірки вносять по 0,5 мл нерозбавленої, свіжоодержаної сперми. Після чого в пробірці №2 змішують сперму з розріджувачем і переносять з неї 0,5 мл суміші в пробірку №3, змішують з розріджувачем і переносять 0,5 мл суміші в пробірку №4. В наслідок чого виникає серія розбавлень. З кожної пробірки беруть краплю сперми і оцінюють активність при температурі 38-40° С. А пробірки закривають корками і ставлять в холодильник для зберігання при 0° + 4°С.

Щоденно в один і той же час з кожної пробірки беруть краплю сперми і визначають активність спермій під мікроскопом (при температурі 38-40). Результати оцінки заносять в спеціальний журнал. Це продовжують робити до тих пір поки буде живий хоча б один спермій. Коли спермії загинуть в усіх пробірках, вираховують абсолютний показник живучості для кожного розбавлення за формулою :

$$S = \sum at, \text{ де}$$

S – абсолютний показник живучості;

Σ – знак суми;

A- активність спермій у балах;

t – показник часу, який обраховують за формулою:

$$t = \frac{(T_{\text{п}} + 1) - (T_{\text{п}} - 1)}{2}, \text{ де}$$

$T_{\text{п}} + 1$ – час в годинах від початку досліду до наступного визначення активності спермій ;

$T_{\text{п}} - 1$ – час в годинах від початку досліду до попереднього

Визначення активності спермій.

В перший день визначення активності користуються формулою:

$$t = \frac{T}{2}, \text{ де}$$

T- час в годинах від початку досліду до другого визначення активності. На основі одержаних даних можна також визначити відносний показник живучості спермій, тобто відношення абсолютного показника живучості спермій у розбавленій спермі до абсолютного показника живучості спермій у нерозбавленій спермі.

Деякі автори вважають що найбільш доцільно проводити визначення живучості спермій прискореним методом, при температурі 46,5° С. Вони помітили, що повне гальмування рухливості спермій, які зберігались одну годину при температурі 46,5°С, відповідає 10 дням зберігання при 5°С. Чим повільніше знижується живучість спермій, тим більший процент їх зберігає здатність поступального руху при температурі близько 0°.

7. Визначення редуційної здатності сперми.

Метод базується на здатності метиленової синьки приєднувати водень, який відокремлюється від окислювального субстрату в процесі дихання, і відновлюватися в безбарвну форму.

Існує два методи визначення редуційної здатності спермій:

1.метод Шергіна

2. метод Серенса

Згідно Шергіна на чисте предметне скло наносять піпеткою краплю сперми і краплю 1% розчину метиленової синьки (на 0,9% розчині хлористого натрію) їх змішують і суміш засмоктують у скляну трубочку діаметром 1 мм та довжиною 10 см. Кладуть трубку на чистий (білий) аркуш і слідкують за часом знебарвлення. Дослідження проводять при температурі 20-22 °С.

Якість сперми	Час знебарвлення суміші у хвиликах	
	бугай	баран
Добра	5-10	3-7
Середня	11-30	8-12
Погана	більше 30	більше 12

8. Визначення мікробного забруднення сперми.

Визначення колітитру – тобто найменшої кількості сперми, або змиву з препуція, в якому міститься хоча б одна E. coli.

Дослідження проводять методом посіву змивів. Або ж розбавленої сперми на середовище Буліржа. Перед посівом змиви, або ж сперму розбавляють шляхом серійного принципу, а вже потім з кожного розбавлення (1:10;

1:100; 1:1000 і 1:10000) роблять висів на середовище Буліржа і ставлять на добу в термостат (37- 37,5°C). Зміна кольору середовища та утворення газу вказує на наявність в посіві бактерій групи колі. Колі - титр не повинен перевищувати – 1:1- 1:10 для сперми і змиву.

Для визначення мікробного забруднення в 5 стерильних пробірок наливають по 9 мл стерильного фізіологічного розчину. В першу пробірку вносять стерильною піпеткою 1 мл досліджуваної сперми і добре змішують тоді переносять 1 мл в пробірку №2 і знову добре змішують, далі 1 мл суміші переносять в пробірку № 3 і т.д., внаслідок утримуємо серію розбавлень. З кожної пробірки роблять в стерильних умовах посів на МПА і ставлять в термостат на 24-48 годин при температурі 37°C.

Після чого підраховують кількість колоній (1 мікроб утворює 1 колонію), множать підраховану кількість колоній на ступінь розбавлення і ще на 10 для переводу в мл (так як при посіві вносили на МПА 0,1 мл суміші).

Згідно інструкції, до ш.о. допускається сперма з вмістом не більше 5000 мікробів в 1 мл.

За забрудненням сперму розрізняють:

- а) не значно забруднена – до 0,1 тис мікроб в 1 мл
- б) слабо забруднена – до 2 тис. мікробів в 1 мл
- в) середньо забруднена - до 5 тис. мікробів в 1 мл
- г) сильно забруднена - понад 5 тис. мікробів в 1 мл.

Тема 1.5. Теорія і практика розрідження сперми плідників

Питання:

- 1. Умови та тривалість зберігання спермій в придатках сім'яника. Причини загибелі спермій поза організмом.*
- 2. Мета розрідження сперми. Вимоги до розріджувачів.*
- 3. Застосування синтетичних середовищ для розрідження сперми. Склад середовищ.*
- 4. Допустимі ступені розрідження сперми.*
- 5. Санітарно-гігієнічні вимоги при виготовленні середовищ та розрідженні сперми.*

1. Умови та тривалість зберігання спермій в придатках сім'яника. Причини загибелі спермій поза організмом.

Скопи чуючись в придатках сім'яників спермії зберігають свою життєвість в стані анабіозу біля 2 місяців. Цьому сприяє:

1. Високий вміст іонів водню, калію та H_2CO_3 (вуглекислота)
2. Низька концентрація кисню.
3. Відсутність фруктози.
4. Інтенсивне виділення з током крові продуктів обміну.
5. Знижена температура в порожнині мошонки.

Однак під час еякуляції спермії змішуються з секретами додаткових статевих залоз, багатих на фруктозу, солі, іони окремих металів, внаслідок чого падає тиск CO_2 , змінюється реакція середовища у жуйних до нейтральної, а у кнура та жеребця – до слабо лужної, обмін речовин спермій активізується, вони виходять із стану анабіозу і починають енергійно рухатись. Це приводить до швидкого втрачання поживних речовин і нагромадження шкідливих продуктів обміну. Наявні в секретах додаткових статевих залоз хлористі солі натрію та калію сприяють набуханню та сповзанню ліпопротейного покриву спермій, зниженню, а то і втраті ними електричного заряду, що врешті обумовлює спочатку зірчасту аглютинацію (склеювання голівками), а потім масову коагуляцію.

Нерозбавлена сперма дуже чутлива до різних коливань температури.

В процесі еякуляції сперма забруднюється мікроорганізмами, які негативно впливають на живучість та запліднюючу здатність спермій. Не поліпшивши живучості спермій поза організмом, важко розрахувати на високу результативність ш.о.

Проведені дослідження показали, що живучість спермій поза організмом можна зберегти і збільшити шляхом співвідношення їх рухливості, зниження інтенсивності у них обмінних процесів, ослаблення несприятливої дії секретів додаткових статевих залоз. А досягти цього можна шляхом розбавлення сперми та відповідного режиму її зберігання.

2. Мета розрідження сперми. Вимоги до розріджувачів.

1. Зменшити концентрацію та ослабити несприятливу дію на спермії шкідливих речовин;
2. Створити середовища, яке захищає спермії від холодового удару;
3. Захистити спермії від мікробного забруднення;
4. Збільшити об'єм використовуваної сперми і за рахунок цього – інтенсивність використання плідників;
5. Створити оптимальні умови для виживання та зберігання запліднюючої здатності спермій на більш тривалий час.

Виходячи з таких передумов розріджувач сперми повинен відповідати таким вимогам:

- а) нейтралізувати шкідливу дію плазми сперми і продуктів життєдіяльності спермій;
- б) мати оптимальну електропровідність;
- в) мати достатню буферну ємність по кислотному та лужному показнику;
- г) захищати спермії від шкідливої дії факторів зовнішнього середовища (вплив світла, холодовий удар);
- д) мати нейтральну або близьку до неї концентрацію водневих іонів (6,2-7,0), в залежності від призначення середовища;
- ж) мати оптимальний осмотичний тиск;
- з) максимально зберігати запліднюючу здатність спермії.

3. Застосування синтетичних середовищ для розрідження сперми. Склад середовищ.

Проблема розбавлення сперми вирішувалася поступово. Перші дослідження проведені ще в 19 ст. Келікер, Анкерман, Енгельман та ін. Вивчали вплив на життєдіяльність спермій сироватки крові, молока, білків, цукрів, окремих солей, кислот та лугів.

В кінці 19 ст. І.І. Іванов вперше застосував ізотонічні розчини NaCl, NaN_3 , CO_3 а також рідину Лока для розбавлення сперми. Він відмітив надзвичайно високе пристосування спермій до штучних середовищ. Пізніше вченими було відмічено, що чисті фізіологічні розчини діють дещо токсично на живі організми, проте ця дія нейтралізувалася при додаванні будь-якої іншої солі, внаслідок існуючого, між ними антагонізму. На цій основі такі розчини отримали назву еквівалентових. На цьому підході в Японії (1928) був запропонований розріджувач для сперми жеребця – 5% розчин глюкози з фосфатним буфером глюкози з фосфатним буфером.

Удосконалюючи вище названий розріджувач В.К. Мілованов (1930) встановив, що крім відповідно осмотичного тиску та рН розріджувач повинен складатися з електроліту (солі) та неелектроліту (цукри чи інші органічні речовини).

Однак, як вияснилось, цього недостатньо для збільшення живучості спермій. Як відмічав в свій час Спаланцані, а згодом І.І. Іванов та В.К. Мілованов збільшити виживання спермії можна застосовуючи поряд з розбавленням ще й охолодження. Проте було відмічено і те, що при швидкому

охолоджені велика кількість спермійв гинула внаслідок так званого „холодового удару.” З метою захисту спермійв від цього явища Біріло, Пухальський, Гладіцинова та Морозов запропонували застосовувати поступове охолодження (до 0 градусів на протязі 3-4 годин).

У 1932 році Мілованов та Селіванова повідомили про те, що фосфоліпіди мають здатність захищати спермії від холодного удару. На цій основі Філіпс та Ларсон (1940) включили в склад розріджувач жовток курячого яйця, який містить біля 7% лецитину.

Досліджуючи міхурцеві залози бугая В. Шерстеня виявив у них лимонну кислоту. Додаючи лимоннокислий натрій до розбавленої сперми бугая він відмітив покращення виживання спермійв.

А в 1941 році Солсбері, Віллет та Фаллер враховуючи кращу розчинність жирових кульок жовтка в цитраті натрію ніж у фосфаті запропонували жовтково - цитратний розріджувач .

Б. Ратнабазаран запропонував глюкозо-цитратно-жовтковий розбавник, який набув широкого вжитку. Заслужують уваги дослідження М.Шергіна, який встановив, що сперма бугая може бути розбавлена молоком. Згодом М.Михайлов запропонував молочний розріджувач для сперми жеребця. Слід відмітити, що для використання молока, в якості середовища для розрідження сперми, його спочатку слід позбавити альбумінової фракції білка (кип'ятінням), яка шкідливо діє на спермії. Працюючи в плані пошуку розріджувачів вчені також пропонували витяжку з тканинних препаратів , рослинні соки. А взагалі склад розріджувача повинен відповідати особливостям сперми того виду тварин, для якого він призначений. Так для сперми жуйних, в якій швидко нагромаджується молочна кислота, він повинен містити лужні солі (цитрати, фосфати). Розріджувач для сперми жеребця, містить як правило лише цукор, оскільки солей і так вистачає в плазмі сперми. У розріджувач для сперми кнура солі входять в невеликих кількостях.

На даний час розрізняють: А. Синтетичні розріджувачі. Б. Біологічні середовища.

Прийнято також розрізняти для якого виду тварин та для якого режиму збереження розбавник призначений:

- 1.Розріджувачі для короткотривалого збереження протягом 2-3 діб;
 - а) зберігання сперми при кімнатній температурі
 - б) зберігання сперми при +2; +4° С.
2. Розріджувачі для зберігання сперми в замороженому стані.

У свій час класифікацію запропонував В.К. Мілованов:

Клас А (екстендори) – застосовують для збільшення об'єму сперми, використовуються при негайному розрідженні та осіменінні;

Клас Б (протектори) – захисні середовища . По суті це ті ж екстендори до складу яких додають речовини, що захищають спермії від несприятливих умов зовнішнього середовища (холодовий удар) – жовток яйця; антибіотики – захист від мікрофлори; гліцерин – захист від кристалізації вільної води.

Клас В (імплементації) – це середовища , збагачені фізіологічно активними речовинами, що проявляють дію на статеві органи самок при осіменін-

ні. Наприклад: додавання до розріджувача окситоцин – підсилює скорочення матки і прискорює просування спермійів по статевих шляхах внаслідок чого підвищується запліднюваність самок.

Компоненти та їх вплив.

Неелектроліти. Моно – і полі цукри вони підтримують в розчинах осмотичний тиск, проявляють захисну дію під час заморожування, ін активують антитіла, зменшують електропровідність сперми, сприяють збереженню електричного заряду спермійів, перешкоджають їх аглютинації. Амінокислоти в розчинах створюють осмотичний тиск, виконують роль атмосферного буфера. Окремі лужні амфотерні розчинні амінокислоти виконують захисну функцію, знижують активність ферментів та інтенсивність обмінних процесів в сперміях. Зв'язуючи O_2 та H_2O_2 амінокислоти можуть виконувати роль антиоксидантів. Однак не електроліти слабо захищають спермії від холодного удару, не забезпечують буферності та електропровідності середовища.

Електроліти: (цитрат натрію, бікарбонат натрію, сульфат амонію і ін.) підтримують обмін речовин, нейтралізують шкідливу дію токсичних продуктів обміну, захищають оболонку спермійів від набухання і знижують її проникність. Електроліти утворюють в середовищах буферну ємкість, електропровідність, створюють рН розчинну, частково захищають спермії від температурного шоку. Речовини, що утворюють електролітичну основу, складаються з аніонів та катіонів. Аніони проявляють сильнішу дію на зберігання сперми ніж катіони. Чим вища валентність аніонів, тим краще виживання спермійів в їх розчинах.

Хелатон (трилон Б) проявляє сильну дію на окисно-відновні процеси в сперміях. Будучи сильним комплексоном він тимчасово зв'язує іони металів Ca і Mg гальмує активність протеаз, аденозинтрифосфатаз та інших ферментів, знижує обмінні процеси в сперміях. Крім того, він володіє високими буферними властивостями і гальмує розвиток мікроорганізмів в спермі.

Жовток курячого яйця - захищає спермії від холодного удару, при температурі 16^0C підвищує стійкість клітин проти дії токсичних речовин, гіпота гіпертонічних розчинів, світла та інших факторів.

Гліцерин – кріопротектор який затримує початок кристалізації і сповільнює ріст кристалів, знижує осмотичний тиск розчинених речовин при заморожуванні до евтектичної точки - $46,5^0\text{C}$. Гліцерин завжди знаходиться у фазі розчину, внаслідок чого концентрація осмотично активних речовин зменшується, що сприяє зберіганню клітин. Однак при зменшенні концентрації гліцерин в розчині знижується його захисна дія, а при збільшенні концентрації і часу контакту при + температурі він проявляє руйнівний вплив на структуру спермійів.

Сануючі речовини - (антибіотики, сульфаніламід і ін.) – поряд із пригніченням росту мікроорганізмів вони дещо знижують обмінні процеси спермійів, підвищуючи за рахунок цього їх виживання та запліднюючу здатність.

Ферменти та гормони (муциназа; окситоцин) розріджують матковий секрет, підвищують скоротливість матки, тим самим сприяють просуванню спермій в гені таліях самки і заплідненню. Слід наголосити, що вищевказані компоненти можуть підсилювати або послаблювати дію інших. Необхідно також пам'ятати, що ефективність розріджувача залежить не лише від складу компонентів, але і від якості вихідних компонентів.

4. Санітарно-гігієнічні вимоги при виготовленні середовищ та розрідженні сперми.

Пристаючи до виготовлення розріджувача слід пам'ятати, що для цього можна використовувати лише хімічно чисті матеріали, не слід використовувати відсирілі реактиви. Медичні препарати повинні відповідати вимогам фармакопеї. Жовток курячого яйця повинен бути яскраво помаранчевого кольору, його отримують із свіжих курячих яєць (3-5 денного зберігання) від здорових курей. Яйця із забрудненою шкаралупою непридатні.

Молоко для виготовлення молочних розріджувачів має бути свіжим, від здорових корів. Можна також використовувати сухе напівжирне молоко.

Дистильована вода повинна бути чистою, прозорою, без слідів металу.

Готують розріджувач лише в скляній посудині і безпосередньо перед одержанням сперми з таким розрахунком, щоб від моменту його виготовлення і до застосування пройшло не більше 1-2 годин.

5. Технологія розрідження. Допустимі ступені розрідження сперми.

Компоненти розріджувача (крім жовтка та антибіотиків) відважують на терезах згідно рецепту, висипають в стерильну колбу. Далі в колбу вливають заздалегідь відмірену кількість дистильованої води, прокип'яченої та охолодженої до 35⁰ С. Після розчинення речовин розчин фільтрують. Далі беруть свіже куряче яйце старанно миють і витирають спочатку чистою серветкою, а потім спиртовим тампоном. Розбивають шкаралупу відділяють жовток від білку. Підсушують жовток на фільтрувальному папері і прибравши оболонку забирають вміст (12-14 мл) та переносять в колбу з приготовленим розбавником (35-40⁰ С) та старанно змішують. Антибіотики, ферменти і гормони вносять в розріджувач після розчинення всіх компонентів.

Як перевірити якість виготовленого розріджувача? Його перевіряють по активності в ньому спермій. На предметне скло наносять краплю свіжого розріджувача і краплю сперми відомої активності - змішують і розглядають під мікроскопом при температурі 38-40⁰ С. Якщо активність сперми не знизилась розріджувач можна використовувати.

Сперму розбавляють не пізніше як через 10-15 хвилин від одержання.

Ступінь розбавлення встановлюють залежно від концентрації і активності сперми. Допускається розбавлення сперма бугая, барана з активністю не нижче 8 балів; кнура - не нижче 7 балів, а жеребця - 5-6 балів.

При концентрації спермій у бугая не менше 0,6- 0,7 ; барана – 1,0; кнура – 0,15 млрд/мл., жеребця - 0,1 млрд/мл.

Сперму бугая можна розбавлять в 10-30 раз (в розбавленій спермі повинно бути не менше 25-30 млн. активних сперміїв). Сперму барана розбавляють в 2-3 рази, жеребця і кнура -2-5 раз.

Оптимум розбавлення – це такий ступінь розбавлення при якому досягають найвищої живучості сперміїв.

Максимум розбавлення - це найбільший ступінь розбавлення, при якому живучість сперміїв не падає нижче живучості нерозбавленої сперми.

Тема 1.6. Способи зберігання та транспортування сперми

Питання:

1. Зберігання та використання розрідженої сперми
2. Методи короткотривалого зберігання сперми.
3. Довготривале зберігання сперми. Суть кріоконсервування біологічних об'єктів. Механізми кріопошкоджень і кріозахисту статевих клітин.
4. Способи транспортування сперми.
5. Контроль за якістю сперми в спермобанках і на пунктах ш. о.

1. Зберігання та використання розрідженої сперми.

Штучне осіменіння с.-г. тварин проводиться на даний час переважно збереженою спермою. Тому однією з головних умов роботи станцій і пунктів штучного осіменіння є збереження високої активності та запліднюючої здатності сперми з моменту одержання і аж до введення в статеві органи самки. Чим довше вдається зберігати запліднюючу здатність сперми у зовнішньому середовищі, тим раціональніше можна буде використати цінних плідників і вести з ними племінну роботу незалежно від територіального їх розташування.

Виживання сперміїв у зовнішньому середовищі залежить від запасів енергетичного матеріалу та інтенсивності його використання. Чим інтенсивніше проходить обмін речовин в спермі, тим швидше спермії гинуть внаслідок нагромадження молочної кислоти та інших токсичних продуктів обміну. Спочатку спермії втрачають запліднюючу здатність, а потім вже здатність рухатися. *Сповільнюючи інтенсивність обмінних процесів можна збільшити виживання сперміїв!*

Є два способи зниження рівня обміну речовин у спермі:

1. Шляхом зниження температури;
2. Додавання до сперми речовин, що гальмують рух сперміїв (вугільна, лимонна, аскорбінова кислоти, хелатон та ін.).

Оскільки нерозбавлену сперму можна використовувати не довше 6-12 годин при умові, якщо активність її буде не нижча 7-6 балів, в практиці штучного осіменіння зазвичай використовують лише розбавлену сперму.

Необхідними умовами для зберігання сперми є:

1. Висока активність одержаної сперми;
2. Розбавлення її;
3. Суворий температурний режим зберігання.

Залежно від технічного оснащення станцій та пунктів штучного осіменіння застосовують два методи зберігання сперми:

1. Короткочасне зберігання сперми:
 - а) при температурі, близькій до 0 градусів (2-4⁰C);
 - б) при кімнатній температурі.
2. Тривале зберігання сперми в глибоко замороженому вигляді.

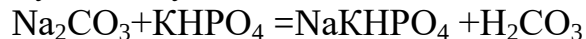
2. Методи короткотривалого зберігання сперми.

Короткотривале зберігання сперми за кімнатної температури (+16...+18⁰С)

Зберігання сперми *можливе при умові*, що розбавник, яким проводять розрідження, містить у своєму складі слабкі кислоти або хелатон які мають властивість гальмувати обмінні процеси і на деякий час обмежувати рух та витрати запасів енергії в сперміях.

Застосування вугільної та інших слабких органічних кислот для інактивації спермій, цікавила вчених давно. Ще у 1924 році К.А. Кржишковський і Г.Н. Павлов, а пізніше В.К. Мілованов, Н.П. Хронопуло, Н.П. Шергін проводили такі дослідження. При цьому встановлено, що при дії на спермії розчинним в плазмі двоокисом вуглецю (СО₂) частина його з'єднується з молекулами води, утворюючи вугільну кислоту (Н₂СО₃). Остання легко проникає крізь оболонку спермій і гальмує обмінні процеси. На цій основі Ван Демарк і Шарм запропонували в 1957 році розбавник **ІВТ** (*Іллінойський для варіюючих температур*) для зберігання сперми бугая при кімнатних температурах. В якості кислотного інактиватора спермій використано вуглекислий газ. При цьому виникають умови, які дещо нагадують середовище придатка сім'яника. Після розбавлення сперми розбавник насичують 10 хвилин вуглекислим газом, поки рН не досягне 6,2-6,4.

В 1959 р. В.К. Мілованов і М.В. Ситіна розробили *бікарбонатно-фосфатне середовище (БКФ)*, яке базується на хімічній взаємодії компонентів, а в 1962р. вони ж запропонували другий варіант цього розбавника бікарбонат натрію, взаємодіючи з одно заміщеним фосфатом калію, утворює вугільну кислоту:



Залишаючись в середовищі в розчиненому стані, вугільна кислота викладає зворотну інактивацію спермій. Флакони з розбавленою спермою слід щільно закупорювати, щоб не вивітрювалась вугільна кислота.

ІВТ середовище та БКФ піддавались широкому вивченню та численним модифікаціям. Однак ефект вугільної кислоти виявився нестійким і тому цей метод не знайшов широкого застосування.

В 1954 р. Кок в Нідерландах запропонував середовища з *етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА)*. Через деякий час А.П. Волосевич (1963) Н.Т. Плішко (1964, 1965). М.Т. Садовнікова (1966) застосували її в складі розбавників для зберігання сперми кнура: О.І. Архиповець (1965), П.С. Попов (1968) та інші – для сперми бугая та барана.

Методика. Взятую на штучну вагіну й оцінену сперму кнура розріджують середовищами ГХЦС чи ГХЦ, визначають у ній активність спермій, розливають у скляні колби чи поліетиленові флакони, накривають їх негерметично поліетиленовою плівкою, вміщують у невелику картонну коробку і зберігають в затемненому місці при температурі 16...20⁰С. Для зберігання сперми при дещо нижчих температурах (не нижче +6⁰С) її розріджують середовищами ГХЦСЖ або ГХЦЖ, розливають в ампули, поступово охолоджують її до температури 6-14⁰ С. Практично це роблять так: кладуть на

дно термоса целофановий мішечок з льодом і накривають його шаром вати товщиною 1-1,5 см. Зверху ставлять флакони зі спермою і закривають термос кришкою. У такому вигляді сперму транспортують гос-подарства. На пунктах штучного осіменіння термоса або коробки за спермою краще зберігати в підвалі або спеціальній ямі обладнаній під підлогою в кутку лабораторії. Два рази на день перевіряють температури в середовищі термоса чи коробки. В гарячі дні під коробку на дно ями кладуть куски льоду.

Строк зберігання сперми бугая та кнура при кімнатній температурі до трьох діб. При умові, що активність спермійв не нижча: бугая 7 балів, кнура – 6 балів.

Короткотривале зберігання сперми за температури $+2; +4^{\circ}\text{C}$.

При охолодженні сперми до $0; +4^{\circ}\text{C}$ обмінні процеси в ній різко сповільнюються. Знижується нагромадження шкідливих продуктів життєдіяльності, різко зменшується витрачання на енергетичні цілі пластинних речовин протоплазми, рН середовища змінюється повільно. Внаслідок цього спермії впадають в стан анабіозу і живучість їх зростає. Проте спермії чутливі до холодного удару і при швидкому охолодженні вони гинуть або ж втрачають свою запліднюючу здатність. Для запобігання холодного удару спочатку користувалися поступовим охолодженням протягом 4-5 годин. Проте за цей час нагромаджувались значні кількості молочної кислоти. Тоді було запропоновано другий метод – застосування жовткових розбавників. Але слід не забувати, що жовткові розбавники лише підвищують стійкість спермійв до температурного шоку, проте повністю їх не усувають. Тому розбавлену сперму спочатку витримують (20-30 хвилин) при кімнатній температурі. За цей час її звичайно розфасовують по ампулах. Після цього сперму охолоджують з таким розрахунком, щоб температура $0; +4^{\circ}\text{C}$ наступила через 2-2,5 години. Для цього флакони, ампули чи пробірки зі спермою обгортають ватно-марлевым шаром товщиною 1-2 см і охолоджують в побутовому холодильнику або ж ставлять в гнізда спеціальних поролонових вкладишів, поміщають у водо непроникливий поліетиленовий чи гумовий мішечок і ставлять в термос, заповнений на 1/3 дрібними кусками льоду. По мірі танення льоду додають свіжий і видаляють з термоса воду.

У спермі кнура та жеребця, як вже відзначалось, кислотний анабіоз відсутній. При доступі повітря відбувається інтенсивне дихання і рН ще більше збільшується в лужний бік. Тому необхідно перш за все обмежити доступ кисню.

Методика. Розбавлену сперму кнура призначену для зберігання при $+2...+4^{\circ}\text{C}$, розливають у флакони чи ампули, закривають їх корками або ковпачками, поміщують у двошарові ватномарлеві мішечки і повільно охолоджують у внутрішньому гнізді металового бачка-термоса. Всесоюзного науково-дослідного інституту конярства або вакуумному термосі. В останньому випадку шар льоду накривають кусочками целофану і прошарком вати товщиною 4-5 см. Зверху ставлять флакони зі спермою. Через 15-20 годин вату виймають. Щоб ватно-марлевий мішечок з флаконами не промок, лід кладуть у поліетиленові мішечки.

Розбавлену сперму жеребця розливають в ампули об'ємом 30 або скляні банки з притертою пробкою об'ємом на 100 мл. Щоб уникнути збовтування сперми при перевезенні, а тому з метою обмеження доступу кисню ампули та флакони заповнюють розбавленою спермою як можна пізніше.

Розбавлену та розфасовану в флакони сперму жеребця упаковують вату чи паралонові вкладиші і охолоджують до 2-4 °С протягом 2-3 годин в побутовому електрохолодильнику, або ж у звичайному термосі з льодом, або у термосі Всесоюзного інституту конярства.

Розбавлену та збережену при 0°С сперму використовують для осіменіння овець протягом 2-х діб, корів-протягом 2-3 діб при умові, коли активність сперміїв барана та бугая не нижче 7 балів, жеребця – до активності 4 бали, кнура 5-6 балів.

Охолоджуючи спермії до +2; +4 °С або викликаючи у них кислотний анабіоз при кімнатній температурі, ми значно знижуємо обмінні процеси, проте в них не настає глибокого анабіозу. Тому спермії досить швидко старіють, визначають свої поживні речовини і отруюються продуктами обміну. Життя їх виявляється обмеженим, запліднююча здатність зберігається лише декілька діб.

Негативними моментами короткочасного зберігання є також великі транспортні витрати: кожного другого-третього дня необхідно доставляти сперму на пункти штучного осіменіння. До того ж значна частина її залишається невикористаною.

Нерівномірно використовуються і плідники станції. Літом, в період масових осіменінь, від них приходить отримувати сперму частіше, а зимою навпаки, рідше.

Всього цього можна уникнути з переходом на глибоке заморожування сперми.

2. Довготривале зберігання сперми. Суть кріоконсервування біологічних об'єктів. Механізми кріоповшкоджень і кріозахисту статевих клітин.

Протягом усього року, на станціях штучного осіменіння створюються сховища сперми, що дозволяє безперервно постачати нею пункти і забезпечити 100% її використання.

Застосування глибоко замороженої сперми створює необмежені можливості для племінної роботи, оскільки сперму бажаного плідника тепер можна доставляти у будь-яку точку країни (а від одного бугая за рік можна отримати 50-150 тис. доз сперми). Це дозволяє вести племінну роботу з цілими породами худоби, незалежно від ареолу її розповсюдження.

Використання глибоко замороженої сперми набуває особливо великих перспектив тепер, коли опрацьовано методи синхронізації охоти у тварин. Вчені передбачають можливості зберігання запліднюючої здатності сперми бугая протягом 50-100 років і створення таким чином «музею ліній крові» великої рогатої худоби – для використання в майбутньому.

В даний час широкого практикується міжнародний обмін сперми.

Собівартість осіменіння замороженою спермою нижча, а запліднюваність самок значно вища, ніж при використанні охолодженої сперми.

Застосування замороженої сперми відіграє позитивну роль в профілактиці окремих інфекційних захворювань. Так при виникненні, наприклад, епізоотії ящура пункт штучного осіменіння не відчуває забруднень в спермі. Він працює на запасах замороженої сперми.

Проблема біологічної дії охолодження привернула до себе увагу вчених давно. Ще в 1787 році Спаланцані описав відношення рухливості спермійв теплокровних після заморожування до -15°C , а в 1866 році Монте-гацца спостерігав відношення активності спермійв після відігрівання сперми людини, замороженої до -17°C .

В 1907 році І.І.Іванов спостерігав відновлення коливального руху спермійв після заморожування і наступного відігрівання в межах -15°C . Однак значна кількість спермійв при цьому гинула.

У 1922-1927 рр. К.А. Кржишківський і С.Н. Павлов встановили, що спермії вищих тварин та комах здатні переносити заморожування до -23°C .

У 1936 році А.Д. Берштейн і В.В. Петропавловський провели широкі дослідження по замороженню сперми кролика, морської свинки, бугая, барана, жеребця, кнура, півня і селезня, в яких встановили, що додавання до сперми гліцерину в концентрації 1 моль (9,6%) захищає спермії від загибелі при багатогодинному зберіганні при -21°C . На жаль, ці досліді не були далі продовжені, а отримані дані – забуті.

В 1946 році Жан Ростак виявив, що спермії жаби здатні відновлювати високу активність протягом 20 діб, якщо їх зберігати при температурі -4 ; -6°C у середовищах, що містять 10-20% гліцерину. Автор, на жаль, також не звертав уваги, що він стоїть на порозі великого біологічного відкриття.

І лише коли в 1948 році англійські вчені С. Полдж, О. Сміт і О. Паркс цілком випадково в третій раз підтвердили захисні властивості гліцерину, глибоке заморожування сперми набуло широкого використання.

Гліцерин малотоксичний і навіть у великих концентраціях нешкідливий для більшості тваринних та рослинних клітин і їх ферментних систем. Доданий до сольових розчинів він різко сповільнює швидкість кристалізації та сприяє склоподібному затвердінню протоплазми при глибокому заморожуванні. Завдяки своїй гідрофільності він утримує певну кількість води і цим перешкоджає дегідратації протоплазми. Проникаючи в клітину, він розбавляє сольові розчини і створює сприятливі умови для відтворення осмотичної рівноваги. Проте захисна дія гліцерину проявляється лише в присутності жовтка. Заслуга англійських вчених полягає в тому, що вони правильно осмислили і реалізували це відкриття. Завдяки цьому протягом декількох років були розроблені методи зберігання сперми бугаїв і запропоновані для широкого виробничого використання.

Перші, повні надії, результати по глибокому заморожуванню сперми до температури -78°C та одержанню життєздатного приплоду проведені в 1948 році І.В. Смірновим. Він поміщав краплину сперми в пакетик з алюмінієвої фольги, опускав його в зріджений газ чи спирт, охолоджені до температури -

78,9⁰C. Сперма раптово замерзала, а після її розморожування 10-30% спермійів відновлювали свою активність. І.В.Смірнов осіменив збереженою спермою протягом 32 діб 61 кролицю і отримав потомство нормально розвинених кроликів. В 1949-1950р. він одержав потомство від овець і корів, осіменених замороженою спермою.

Однак при опрацюванні практичних прийомів зберігання та осіменіння замороженою спермою виявилось багато забруднень.

Сперма, як відомо, являє собою суміш зважених клітин у водних розчинах електролітів та неелектролітів. В процесі заморожування вона повинна пройти через три температурних зони (за О. Смітом):

від +20⁰C до 0⁰C – зона субнормальних температур;

від 0⁰C до -70⁰C – зона низьких температур;

від -70⁰C до -273⁰C – зона дуже низьких температур.

При повільному проходженні цих діапазонів у плазмі сперми і в самих сперміях утворюються кристали льоду, які руйнують їх.

Для утворення кристалів необхідний певний час протягом якого молекули повинні перегрупуватися і розміститися в такому порядку, який утворює кристалічну сітку. Якщо ж швидкість охолодження буде настільки велика, що молекули не встигнуть переміститися, замороження води відбудеться без утворення кристалів (*вітрифікація*). Для здійснення вітрифікації чистої води необхідно, щоб швидкість падіння температури була не менше 5 тисяч градусів на секунду.

Не менше значення має і швидкість розморожування сперми. Підвищення температури від -196 до -150 ⁰C не викликає помітних змін фізичного стану і структури спермійів. Про те в температурному проміжку від -150 до -51 ⁰C настає інтенсивна рекристалізація твердої фази в напрямку збільшення розміру кристалів, що небезпечно для спермійів; в температурній зоні від -51⁰C до 0⁰C, в зв'язку з появою рідкої фази, починаються осмотичні зрушення. Тому при розморожуванні сперми ці температурні зони необхідно проскочити з такою швидкістю, при якій не встигне наступити рекристалізація або зміни осмотичного стану.

Оскільки глибоко заморожена сперма чутлива до коливань температури, при зберіганні необхідно суворо дотримувати постійної температури, не допускаючи повного випаровування холодового агента з посудин чи сховищ, а також уникати механічних трясінь при перевезенні.

Всі існуючі методи зберігання сперми в замороженому вигляді передбачають:

а) захист спермійів від температурного шоку при охолодженні до 0⁰C;

б) захист від несприятливих наслідків кристалізації та пов'язаних з нею процесів при заморожуванні від 0⁰ до -50⁰; до -79⁰ чи -196⁰C.

Необхідними умовами тривалого зберігання є:

а) суворе дотримання встановленої технології розбавлення, охолодження та заморожування;

б) безперервне підтримання постійної низької температури протягом усього часу зберігання.

В якості холодоагентів при глибокому заморожуванні сперми можна використовувати сухий лід (температура сублімації $-78,9^{\circ}\text{C}$ рідке повітря і його складові частини – рідкий азот ($-195,8^{\circ}\text{C}$), кисень ($-182,8^{\circ}\text{C}$), водень (-250°C), гелій (-272°C).

З кріогенних рідин найбільш придатним для заморожування сперми виявився *рідкий азот*. Він не отруйний, хімічно інертний не утворює вибухових сумішей з іншими речовинами, не горить і не підтримує процеси окислення.

Початкова методика заморожування сперми була такою: свіжо одержану сперму розбавляли в 5 разів жовтково-цитратним буфером охолоджують до 5° протягом 3-4 годин. Тоді методом відшаровування її розробляли повторно тим же розбавником, але охолодженням до 4° і в складі якого містилось 20% гліцерину. Після цього витримували сперму при температурі 4° протягом 12-18 годин, розфасовували в ампули, запаювали і помішали в спеціальний апарат для заморожування при температурі -70° . Зберігали сперму в термосах, заповнених сухих льодом.

На сьогоднішній день розроблені придатні для виробництва способи глибокого заморожування сперми бугаїв, буйволів, баранів та козлів.

При розбавленні сперми, призначеної для заморожування, до неї додають підігріте до $30-35^{\circ}\text{C}$ середовище, легко похитуючи змішують. Ступінь розбавлення встановлюють залежно від якості сперми з таким розрахунком, щоб в 1 мл її містилось 25-50 млн. активних спермій.

Тривале зберігання сперми в замороженому стані.

Залежно від методики підготовки сперми до заморожування, вона може бути розфасована в ампули пробірки, піпетки, флакони, пайєти та інше.

Згідно інструкції по організації та технології роботи станцій штучного осіменіння рекомендовані такі *методи низькотемпературного заморожування сперми від бугаїв*:

А.Метод двохмоментного розбавлення і триступінчатого режиму заморожування сперми за допомогою спеціальних апаратів (АХК-4 і ЛЗОС -1)

Свіжоодержану сперму бугая у активністю не нижче 8 балів та концентрацією не менше 0,8 млрд/мл не пізніше 10 хв після взяття розбавляють в два прийоми – спочатку 1:4 чи 1:9 (залежно від концентрації спермій) звичайним глюкозо-цитратно-жовтковим середовищем і протягом 3 годин охолоджують до температури $2-5^{\circ}\text{C}$). Щільнозакриті флакони з розбавленою спермою ставлять в широку банку з водою кімнатної температури і переміщують в побутовий холодильник.

Через 3 години проводять друге розбавлення методом підшарування 1:1 тим же середовищем, але вже з вмістом у ньому 16% гліцерину і охолодженим попередньо до температури $2-5^{\circ}$. В 1 мл розбавленої сперми повинно бути не менше 50 млн. активних спермій.

Після цього розбавлену сперму витримують 12-20 годин, в холодильнику при температурі $2-5^{\circ}\text{C}$. За цей час відбувається «еквілібрація» - повільне проникнення гліцерину в спермії.

Перевіряють активність спермій і якщо вона не нижче 7 балів – то на спеціальному столику охолоджені до $2-5^{\circ}\text{C}$ проводять розфасовку сперми по 1-1,5 мл в ампули чи флакони, заливають, поміщають у металічні каністри і переносять в робочі ємкості апарату для заморожування.

Заморожування проводять за температурним режимом:

від 0 до -15° – з швидкістю $0,5-1^{\circ}$ в хвилину

від -15 до -50° – з швидкістю $2-3^{\circ}$ в хвилину

від -50 до -80° – з швидкістю $5-7^{\circ}$ в хвилину

Каністри з замороженою спермою швидко переносять в ємкості з рідким азотом для тривалого зберігання.

Б. Метод одномоментного розбавлення та швидкого заморожування сперми у формі гранул, об'ємом 0,1 мл (японська технологія).

Дану технологію запропонували японські вчені Нагазе і Ніва. Для розбавлення сперми застосовують лактозо-жовтково-гліцериновий розбавник №1 і №2.

	Середовище №1	Середовище №2
1% розчин лактози	63	81,5
жовток курячого яйця	30	15,0
гліцерин динамічно- подвійної дистиляції	7	3,5

При концентрації спермій 0,8-1,5 млрд/мл – сперму додатково розбавляють 1:1 середовищем №1. При концентрації вище 1,5 млрд/ – сперму додатково розбавляють 1:1 середовищем №2. Якщо ж концентрація вище 1,5 млрд/мл, а активність вище 8 балів – ступінь розбавлення доводять до 1:3.

В ході заморожування допускається загибель біля 50% спермій. В одній гранулі (об'ємом 0,1 мл) після розморожування повинно міститись 20-25 млн активних спермій.

Розбавлену сперму розливають у флакони, щільно закривають пробками ставлять у ванночку з водою $+35^{\circ}\text{C}$ і поміщають на 30 хвилин в холодильник для охолодження до 5°C . Тоді флакони виймають з води і залишають при температурі 5°C ще на 5-7 годин.

Для виготовлення гранул беруть блок сухого льоду і на його поверхні спеціальною металічною пластинкою з виступами, прикріпленою до електропраски, роблять заглибини глибиною 5-7 мм.

Розбавлену і охолоджену сперму набирають в 2 мілілітровий пластмасовий шприц з голкою і в кожен ямку блока вносять по 2 краплі. Утворюються гранули. Через 5-10 годин блок перевертають і гранули обережно висипають в посудину з рідким азотом. З метою очищення та отримання більш повноцінних гранул рідкий азот в посудині змінюють два рази. Після цього гранули швидко переносять в посудину Дьюара з рідким азотом. Сперму кожного бугая заморожують окремо.

В. Метод заморожування сперми над холодним газом рідкого азоту.

Одержану сперму розбавляють лактозним середовищем (30%), поміщають в теплоізолюючі вкладиші і ставлять на 5-6 годин в холодильник за

температури 2-5⁰С. Після цього сперму заморожують одним із наступних мето-дів:

1. Заморожування сперми у формі гранул на полімерних плівках.

Розбавлену і охолоджену до 2-5 ⁰С сперму бугая накачують по 0,1-0,15 мілілітра на поліетиленову чи фторопластову плівку (з лунками чи гофровану), попередньо охолоджену до тієї ж температури. Наносити краплі на плівку можна також зразу після розбавлення і разом з плівкою охолоджувати. По дну жолобків гофрованої плівки можна натягнути різнокольорні капронові нитки і накачувати сперму на них.

Плівку з краплями сперми витримують 3хв. над поверхнею рідкого азоту, тоді пересипають гранули в марлеві мішечки і переносять в рідкий азот. Капро-нові нитки з гранулами знімають за вільні кінці і також переносять в рідкий азот.

2. Одержання облицьованих гранул (Харківська технологія).

Розбавлену сперму ЛЖЦГ розливають в стерильні поліетиленові тонкостінні трубочки і у формуючому пристрої перетискають на рівні ділянки об'ємом по 0,2 мл. Заморожування проводять над рідким азотом. При цьому утворюються облицьовані в полімерну плівку гранули.

3. Заморожування сперми в капілярах (пайєтах) (Французька технологія)

Французький вчений Кассу запропонував проводити заморожування сперми в спеціальних капілярах (пайєтах) – товстостінних полістиролових трубках довжиною 140 мм, внутрішнім діаметром 2 мм, зовнішнім -5 мм. Один кінець пайєти закупорений полівініловим алкоглем.

Пайєти заповнюють розбавленою (с-ще «Лецифос», «Кріоцефос») спермою у спеціальному вакуумному апараті, поміщають їх в кошичок з перфорованого металу і переносять в холодильник для поступового охолодження протягом 5-6 годин до 2-5⁰. Тоді погружають їх на 3 хвилини в широкогорлу посудину Дьюара після чого переносять пайєти в сховище.

Для розморожування сперми перед осіменінням поміщають капіляр в теплу воду з температурою 38 +0,5 ⁰С.

Заморожування сперми в гранулах на пластинці з фторопласту

Одержану та оцінену сперму бугая розбавляють в 2-3-10 і більше раз залежно від того, які гранули будуть виготовляти – концентровані, об'ємом 0,1 -0,2 мл (вимагають додаткового розбавлення на пунктах), чи розбавлені в достатній мірі, об'ємом 0,5-1мл.

Розбавляють сперму, підігрітим до 30-35 гліцериновим лактозо-жовтково-вим чи глюкозо - жовтково - цитратним середовищем, охолоджують 4-6 годин до 2-5⁰С і тоді заморожують. Для цього фторопластовому пластинку з лунками на 0,1-0,2 чи 0,5 -1 мл закріплюють на краю широкогорлої посудини Дьюара , наповнені на 1/3 рідким азотом. Перед заморожуванням пластинку опускають на декілька хвилин в азот , а тоді підіймають і накачують в лунки сперму. Витримують пластинку над поверхнею рідкого азоту протягом 1,5-2 хвилин, а тоді занурюють в нього на 2 хвилини.

Підіймають пластинку й охолодженою лопаткою згрібають гранули в сітчатий контейнер, чи капроновий сачок і переносять в сховище.

4. Контроль за якістю сперми в спермобанках і на пунктах ш. о.

Заморожену сперму обов'язково перевіряють на придатність:

разу після заморожування сперми, на другий, 8-10 і 15-20-й день її розморожують і перевіряють на активність. Для подальшого зберігання залишають лише сперму з активністю спермійів не нижче 4 балів. Відправляють сперму на пункти не раніше 15-20-го дня після заморожування.

Розморожування гранул перед осіменінням проводять так:

а) гранули об'ємом 0,1-0,2 мл виймають з каністри охолодженим пінцетом і кладуть у флакон чи ампулу з 1 мл підігрітою до 38⁰С стерильного розбавника.

Цим розбавником може бути: 2,9% - ним розчином лимоннокислого натрію, пастеризоване молоко чи глюкозо - цитратний розчин (вода дистильована 100 мл, глюкоза медична 1 гр та натрій лимоннокислий -3,1 г);

б) гранули об'ємом 0,5-1 мл не вимагають додаткового розбавлення, охолодженим стерильним пінцетом технік виймає з каністри одну одномілілітрову або 0,5 – мілілітрових гранул, кладе їх у стерильний флакон чи пробірку і занурює флакон у воду з температурою 38-38,5⁰С до повного розморожування. Не дозволяється проводити розморожування, залишаючи флакон з гранулою на столі при кімнатній температурі.

Використовувати сперму для осіменіння можна лише після оцінки активності спермійів.

Для цього на чисте предметне скло наносять краплю 2,8-3%-ного розчину лимоннокислого натрію або ж 1% -ного розчину бікарбонату натрію і поряд – краплю сперми. Накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом при температурі 38-40⁰ на границі злиття двох крапель. Допускається до використання сперми з активністю не нижче 4 балів.

Зберігання сперми у посудинах Дьюара.

Заморожена сперма бугаїв зберігається на станціях і пунктах штучного осіменіння в спеціальних ємкостях (типу ХСЖА, КВ-6202 і ін.) і доставляється на пункти по мірі необхідності (один раз на 1-2 місяці). Для перевезення замороженої сперми та зберігання її на пунктах користуються посудинами Дьюара різної гідравлічної ємкості (АТ-4, СД -65, СД-50, Харків -15 та інші).

При роботі з посудинами Дьюара *слід дотримуватись правил безпеки.*

З метою уникнення опіків від попадання азоту на оголені ділянки шкіри, заправку судин азотом та звільнення їх роблять лише в рукавицях та захисних окулярах. При швидкому заповненні посудин азотом він може викидатися назовні. Приміщення, де зберігаються посудини, повинні мати добру вентиляцію. При попаданні до азоту кисню повітря, особливо при концентрації понад 15%, він стає вибухонебезпечним.

В останні роки появилось багато модифікацій замороження сперми жуйних, розроблена технологія заморожування сперми жеребця та кнура, запропоновані нові розбавники, в тому числі й молочні. В окремих країнах сперму заморожують в желатинових капсулах. Проведені досліді по осіменінню корів не розмороженими гранулами.

4. Способи транспортування сперми.

В даний час немає значення, на яку відстань перевозиться сперма. Важливо лише, щоб під час транспортування вона була правильно упакована не збовтувалась і не переверталась, щоб температура в термосі була оптимальною і постійною. Перевозять сперму всіма видами транспорту автомобільним, авіаційним, залізничним, водним, гужовим і т.п.

Для перевезення та зберігання сперми бугаїв і баранів при температурі 2-4⁰ та 16-20⁰ користуються звичайно широкогорлими харчовими термосами. Можна також користуватися пінопластовим термосом поролоновим термосом моделі Р.В. Ожіна, В.Ф. Турбіна і Е.Т. Кудрявцевої (1964) термосом Всесоюзного науково-дослідного інституту конярства. Сперму можна перевозити і в одноразових термосах, яких не повертають на станцію. Особливе значення це має при перевезенні сперми в карантинні господарства. Такий термос має вигляд поліетиленового мішечка в який кладуть лід і флакони зі спермою. Мішечок поміщають у коробку з гофрованого картону, а простір між ними заповнюють опилками чи іншим ізоляційним матеріалом.

Призначені для відправлення флакони зі спермою загортають у вату чи спеціальні поролонові амортизатори, поміщають їх в поліетиленові мішечки і запаюють. Кладуть мішечки зі спермою в термос, заповнений на $\frac{3}{4}$ льодом.

При відправленні сперми поїздами, літаками, через передаточні пункти термоси запломбовують, а зовні прикріплюють ярлики з зазначення місця направлення та адреси відправлення.

Разом зі спермою на пункти направляють ордер або накладну у двох екземплярах. Всі флакони, пляшечки, пробірки зі спермою повинні мати етикетки з зазначенням дати її одержання, клички плідника, числа доз і кому направляється.

Щоб уникнути збовтування транспортованої сперми флакони і пляшечки наповнюють нею якнайповніше, термоси і посудини ставлять в передній частині машини і добре закріплюють. Щоб не допустити коливання температури в середині термоса літом, в сильну спеку термоси ставлять у фанерний ящик чи коробку з м'якою упаковкою. Зимом, при температурі навколишнього повітря нижче – 5⁰С термос загортають в поролонові, пінопластові, або ватні чохлаи.

Для перевезення сперми *кнура* користуються різними термосами («Харків МС-3», поролоновим термосом, термос - ящиком і т. д.). Флакони з розбавленою спермою щільно закривають на час перевезення, а потім зберігають їх негерметично закритими.

Сперму жеребця зберігають і перевозять лише в розбавленому вигляді, при температурі +2 ...– 4⁰С. Загортають флакони чи ампули зі спермою у двостінний марлевий або поліетиленовий мішечок і переносять в термоси, заповнені дрібноколотим льодом. Поверхню льоду в харчовому термосі попередньо накривають целофаном та шаром вати.

Для перевезення сперми в рідкому азоті користуються спеціальними двостінними посудинами ТРЖК-7, ТРЖК-8, а також Харків -30, Х-34Б, АТ -4, СД-50, СД-65 та ін.

Розділ 2. Технологія штучного осіменіння тварин

Тема 2.1. Морфологічна структура та функція статеві системи самок.

Статевий цикл та нейро-гуморальна регуляція статеві функції

Питання:

- 1. Зовнішні та внутрішні статеві органи самок с.-г. тварин. Видові та вікові особливості будови статевих органів самок с.-г. тварин.*
- 2. Фізіологія статевого апарату самок. Фолікулогенез. Жовте тіло, його розвиток та значення.*
- 3. Статевий цикл та статевий сезон. Видові особливості статевого циклу.*
- 4. Методи діагностики ознак статевого циклу у самок с.-г. тварин.*
- 5. Нейрогуморальна регуляція статеві функції.*

1. Зовнішні та внутрішні статеві органи самок с.-г. тварин. Видові та вікові особливості будови статевих органів самок с.-г. тварин.

За розташуванням в організмі самки жіночі статеві органи діляться на:

А. Зовнішні:

- а) статеві губи, що формують статеву щілину (vulva);
- б) переддвер'я піхви (vestibulum, vaginae);
- в) клітор (clitoris, cunnus).

В. Внутрішні:

- а) піхва (vagina, kolpos);
- б) матка (metra, uterus, hystera)
- шийка - cervix
- тіло - corpus
- роги - cornua
- в) яйцепроводи (tuba uterina, oviductus; salpinx, tuba fallopii);
- г) яєчники (oophoron, ovaria).

За своєю будовою статеві органи окремих видів тварин мало чим різняться.

Майже на всьому протязі статеві органи (за виключенням яєчників) мають тришарову стінку, що складається:

1. Слизові оболонки;
2. М'язового шару;
3. Серозної оболонки.

Статеві губи – валикоподібні шкірно - м'язові випинання з боків статеві щілини. Зовнішня поверхня їх покрита ніжною складчастою шкірою, внутрішня – слизовою оболонкою, що вистелена багатошаровим епітелієм. В товщі губ знаходиться сполучна тканина та м'язові волокна, що формують стискач переддвер'я та вульви.

Переддвер'я піхви – мускульна трубка, що переходить краніально в піхву, а каудально закінчується статевими губами. По боках переддвер'я в зоні клітора в товщі слизові розміщено 2-а ряди трубчатих залоз (малі вестибулярні залози). Ближче до верхнього кута вульви в слизовій оболонці розташовані великі залози переддвер'я (бартолієві вестибулярні залози) вони

секретують весь час, лише з різною інтенсивністю, зволожуючи стінки і очищаючи їх від механічного забруднення, а також мікрофлори.

На нижній стінці переддвер'я на межі з піхвою знаходиться отвір сечовипускного каналу. У корів, рідше у свиней і овець в цьому отворі є поперечна складка, що утворює сліпий мішок – дивертикул.

У сук та кобил в підслизовому шарі знаходиться два кавернозних тіла, які набухають під час коїтусу.

Просторово переддвер'я розміщено косо вниз і назад, що сприяє стіканню сечі і слизу. Довжина переддвер'я піхви:

кобила, корова – 10-14см.;

свиня 7-8см.

Клітор – гомолог чоловічого статевого члена, лише без сечовипускного каналу. Утворений двома печеристими тілами, що вкриті фіброзною оболонкою. Клітор ніжками кріпиться до сідничних горбів. Він сприймає подразнення під час спаровування.

Піхва – служить органом парування і вивідним каналом, під час родового акту. Це відносно широка м'язова трубка, що охоплює спереду шийку матки, а каудально переходить і в переддвер'я. На межі переддвер'я та піхви іноді у молодих тварин зберігається дівоча плівка.

Довжина піхви:

кобили – 30-32 см; кози – 10-12 см;

свині до 18-20 см; корови – 28-30 см.

Матка – є органом в якому під час вагітності розвивається плід. За своєю будовою матку савців поділяють на три типи:

1. Дворогі (кобили, ослиці) – добре розвинуте тіло і два роги;
2. Двороздільні (корови, кози, вівці) – тіло матки слабо розвинуте, задня частина рогів (ближче до біфуркації) зросла перетинкою.
3. Подвійні (гризуни) – в наявності дві самостійні шийки.

Шийка матки – товстостінний м'язовий канал, що з'єднує порожнину матки з піхвою. Це тришаровий орган, слизова якої утворює чисельні поздовжні і великі поперечні складки котрі скеровані гребенями до виходу, що сприяє вільному виходу слизу із матки, а також плодів під час родів, паралельно перешкоджаючи проникненню з піхви в матку.

Задня піхвова частина шийки виступає в порожнину в піхви:

у корови – форма розетки; у вівці – форма риб'ячого рота; у кобили – форма немов сосок.

Слизова шийки продукує секрет, густий по консистенції, який скупчуючись під час вагітності виконує бар'єрну функцію. Однак під час статевої охоти слиз стає малов'язким і виділяється у великій кількості.

Довжина шийки матки:

корова – 6-12 см; вівця – 5-7 см; свиня – 12-20 см; кобила – 5-8 см;

У свиноматок немає піхвової частини шийки матки; порожнина піхви поступово звужуючись без різких границь переходить в шийку. Слизова шийки у них зібрана у складки, що розташовані гвинтоподібно.

Тіло матки – добре виражено лише у кобил. Знаходиться між шийкою і рогами. Довжина у корів -2-3 см; у кобили – 10-15 см.

Роги матки – відходять від тіла матки. Розрізняють правий і лівий ріг. Довжина рогів:

корови – 15-20 см; кобили – 15-25 см; свині 100-200 см; вівці, кози -10-15 см.

Місце де роги роз'єднуються називається біфуркацією від цього місця роги тягнуться латерокраніально, а потім вентральна і дорсально (корови, вівці, кози). Роги матки у кобил стрічковидні сплюснуті з боків. У свино-маток вони кишкової форми які утворюють багаточисельні петлі.

Тіло і рога матки мають тришарову будову. Слизова оболонка вистелена одношаровим циліндричним епітелієм на якому є війки направлені в сторону піхви. В слизовій матки містяться велика кількість залоз.

У жуйних на слизовій матки є спец. утворення карункули (*carunculae uteri*).

М'язова оболонка (*myometrium*) поділяється на сильний циркулярний і слабший поздовшній шари між якими розміщується судинний шар.

Серозна оболонка (*perimetrium*) – утворює зовнішній шар матки. Вона є продовженням серозного покриву черевної порожнини.

Матка у одноплідних розташована в тазовій порожнині, а у багатоплідних та корів, що родили – в черевній порожнині.

Матка підвищена до хребта на широких маткових зв'язках. В місцях прикріплення зв'язок до малої кривизни рогів є рихла сполучна тканина – параметрій.

Яйцепроводи – тонкі покручені трубочки, розміщені в стінках широких маткових зв'язок, що з'єднують черевну порожнину з маткою. Черевний кінець яйцепроводу розширений лійкоподібно і має нерівні зубчасті краї (кайма яйцепроводу), що сприяє попаданню яйцеклітини з яєчника в яйцепровід.

Довжина яйцепроводу: свині, кобили, корови – 20-30см; кози, вівці – 10-15 см.

Стінка яйцепроводу складається з трьох шарів – слизового, м'язового і серозного.

Слизова оболонка вкрита циліндричним миготливим епітелієм, що сприяє просуванню яйцеклітини в матку.

Яєчники – жіночі статеві залози, в яких утворюються та дозрівають яйцеклітини і виробляються жіночі статеві гормони – естрогени і прогестерон.

Форма яєчників у корів, овець овально-видовжена; у кобил – бобовидна, у свиней - гроноподібна. Величина та форма яєчників залежить від віку самки і її фізіологічного стану.

Більша частина поверхні яєчника жуйних вкрита зародковим епітелієм, а у кобил – серозною оболонкою, в них зародковий епітелій вкриває лише ділянку заглибини на яєчнику – овуляційну ямку.

На розрізі яєчника розрізняють дві зони: зовнішню – фолікулярну (коркову) і внутрішню - судинну (мозкову).

В фолікулярній зоні яєчника знаходиться велика кількість яєчникових пухирців – фолікулів, на різній стадії дозрівання.

У фолікулі розвиваються яйцеклітини, які після розриву фолікула виходять у яйцепроводи.

Яєчники, труби, роги, шийка матки і частина піхви підвішені в черевній і тазовій порожнині на широких маткових зв'язках прикріплених по боках хребта до поперекових м'язів.

Кровопостачання статеві органи постачаються кров'ю головним чином через три артерії:

1. Внутрішню сім'яну;
2. Середню маткову;
3. Задню маткову.

Внутрішня сім'яна артерія починається у корів в області 4-го поперекового хребця від аорти і поділяється на :

- а) яєчникову гілку
- б) передню маткову (живить передній край рога)

Середня маткова артерія розгалужується в рогах і тілі матки.

Задня маткова артерія відходить від сечостатевої артерії і постачає кров'ю каудальну частину матки і піхву.

Переддвер'я піхви і піхва живляться за рахунок внутрішньої соромітної артерії.

Відтікає кров з статевих органів по одноіменних венах.

Лімфатична система в жіночих статевих органах добре розвинена. В слизовій оболонці та між волокнами сполучної тканини розсіяні лімфоцити, а в м'язовому шарі є ще і сітка капілярів. Із щілин та капілярів лімфа спрямовується по судинах у поперекові і тазові лімфатичні вузли.

Іннервуються статеві органи симпатичними нервами, які утворюють в окремих ділянках статевого апарату нервові сплетіння. Особливою є іннервація шийки матки в стінках якої переплітаються численні волокна вегетативної нервової системи.

Особливістю жіночої системи є те, що вона є системою „порожніх трубок”, кожна з яких виконує свою функцію і має в невагітному стані більш менш визначений діаметр.

Виключенням є лише яєчник, який має особливу будову і виконує особливу функцію.

2. Фізіологія статевого апарату самок. Овогенез. Фолікулогенез. Жовте тіло, його розвиток та значення.

Овогенез - процес розвитку і дозрівання яйцеклітин.

Розрізняють три стадії овогенезу:

1. Розмноження.
2. Росту.
3. Дозрівання.

Розмноження оогоній розпочинається ще в ембріональний період шляхом мітотичного еквіаційного поділу і закінчується до або незабаром після народження самки. В результаті цього в яєчнику утворюється до 100-300 тисяч овоцитів.

Стадія росту овоцитів розпочинається зразу після народження самки і продовжується протягом всього статевого життя. При цьому розрізняють короткий період цитоплазматичного росту (шляхом асиміляції) і тривалий період дейтоплазматичного, або великого росту (при участі фолікулярних клітин).

Овоцити збільшуються в розмірі, в них синтезується протоплазма і закладається основна жовткова маса, вони готуються до поділу. Такий овоцит називається овоцитом І-го порядку.

Стадія дозрівання – відбувається лише у статеві дозрілих особин. Проходить дозрівання шляхом послідовних поділів:

1. Редукційного, спрямованого на зменшення кількості хромосом.
2. Еквацийного – вирівнюючого.

В результаті першого поділу утворюється овоцит II-го порядку, а внаслідок другого дозріле яйце.

Ці поділи не рівномірні і вони зачіпають лише ядро.

При цьому одне з новоутворених ядер (велике) переходить в половину хромосом і основна маса каріоплазми, а в друге – абортівне (перше полярне, або напрямне кільце) – друга половина хромосом і незначна частина каріоплазми. Направне тільце виштовхується в позажовтковий простір тобто при першому поділу овоцити першого порядку утворюється:

а) овоцит II-го порядку;

б) полярне тільце (виштовхується в позажовтковий простір).

Еквацийний поділ після виходу яйцеклітини з фолікула (в яйцепроводі) і контакту яйця і спермієм.

В результаті поділу утворюється дозріла яйцеклітина, в якій викидається в позажовтковий простір друге полярне тільце. Між іншим перше полярне кільце також ділиться на два. Отже, в процесі овогенезу овоцит першого порядку перетворюється на дозріле яйце з трьома полярними тільцями.

Фолікулогенез

Ріст і дозрівання яйця супроводжується ростом та дозріванням фолікула – *цей процес називається фолікулогенезом*. Він досить складний і може завершуватись:

1. Овуляцією
2. Лютеїнізацією
3. Атрезією фолікула

Процес фолікулогенезу згідно А. П. Студенцова проходить за три стадії:

1. Первинний фолікул (примордіальний)
2. Вторинний фолікул
3. Третинний фолікул (графів міхурець)

Згідно Г.Г. Харути (1998) таке трактування фолікулогенезу:

1. Примордіальний фолікул – ооцит, розміром до 30 мкм оточений одиничними фолікулярними клітинами;
2. Первинні фолікули - об'єм до 300 мкм, оточений циліндричними фолікулярними клітинами в кілька шарів;

3. Вторинні (везикулярні) – діаметр до 5 мм. У фолікулі порожнина що заповнюється рідиною. Навколо ооцита знаходяться клітини променистого вінця, між ними і ооцитом утворюється прозора оболонка;

4. Третинні (граафові міхурці) – розвивається на час стадії збудження. Фолікул контурує на поверхні яєчника, діаметр міхурця більше 6 мм, діаметр ооцита близько 160 мкм.

В ембіональний період в яєчнику утворюється велика кількість овоцитів які оточуються одним шаром плоских фолікулярних клітин. Такий фолікул називається примордіальним. В подальшому вони перебувають наче в дрімотному стані.

Після народження самки фолікулярні клітини, що оточують овоцит, збільшуються в об'ємі і перетворюються з плоских в кубічні, а опісля в циліндричні, їх кількість зростає. Вони оточують овоцит кількома шарами, утворюючи так звану зернисту оболонку. Такий фолікул називається вторинним, або фолікулом II-ої стадії. Клітини самого внутрішнього шару, що розташовані променисто стосовно яйця утворюють променевий вінчик.

З настанням статевої зрілості вторинні фолікули далі збільшуються в об'ємі і в певній послідовності перетворюються в третинні (граафові) фолікули. Між оточуючими овоцит фолікулярними клітинами виникають порожнини, які поступово заповнюються фолікулярною рідиною, вони поступово об'єднуються в одну велику (антрум). Внутрішня поверхня якої вистелена фолікулярними клітинами – зернистим шаром, а зовнішня утворена багатою на кровоносні судини сполучнотканинною оболонкою.

Клітини зернистого шару фолікула виконують секреторну функцію тут утворюються естрогенні гормони. В потовщенні цього ж шару клітин – яйценосному горбику, знаходиться яйцеклітина. Рідина, що заповнює порожнину відтискає яйценосний горбик до його периферії.

Граафів фолікул досягає досить великих розмірів і його можливо промацати через пряму кишку(кобили – 3-4 см (діаметр); корови – 2 см свині -0,8-1 см;вівці, кози – 0,5-0,8 см .

ОВУЛЯЦІЯ – процес лопання дозрілого фолікула. Істотну роль в механізмі регуляції відіграють гормони немаловажну – нервова система (зовнішні та внутрішні подразники).

Незадовго до овуляції до яєчника зростає приплив крові, підвищується тургор стінок яйцепроводу. Лійка яйцепроводу щільно охоплює яєчник. Зовнішній шар стінки фолікула поступово розрихлюється на його вершині виникає, одне або кілька вторинних підвищень крізь які просвічується рідина. Нарешті фолікул лопає і яйцеклітина разом з фолікулярною рідиною поступово витікає в яйцепровід.

У корів, овець, свиноматок овуляція відбувається в будь якому місці поверхні яєчника, тоді як в кобил – лише в овуляційній ямці. В більшості с.-г. тварин овуляція відбувається спонтанно. У кобил – в період найяскравішого прояву охоти.

Однак в природі зустрічається ще і спровокована овуляція тобто внаслідок нервового збудження під час коїтусу (гризуни).

ЛЮТЕЇНІЗАЦІЯ – (утворення жовтого тіла). Після лопання фолікула стінки його спадаються, збираються в складки і заповнюють майже всю порожнину. Кров, що виливається з розірваних капілярів – зсїдається, поступово про-ростає фолікулярними клітинами, які розмножуються з зернистого шару та внутрішньої оболонки фолікула. В протоплазмі цих клітин відкладається пігмент – лютеїн, який надає всьому утворенню жовтого вигляду, тому воно і називається жовтим тілом.

В розвитку жовтого тіла виділяють три стадії:

1. Росту
2. Розквіту
3. Регресії

Стадія росту (формування) триває біля 5 діб. Сформоване жовте тіло поступово випинається над поверхнею яєчника. Період розквіту жовтого тіла у корів триває з 6-7 по 15-16 день статевого циклу. Жовте тіло інтенсивно продукує прогестерон, який підтримує проліферативні процеси в матці, попереджує ріст нових фолікулів. Якщо запліднення не відбулося, то вже з 13 дня гормональна функція жовтого тіла починається поступово згасати. Цей період від стадії росту до стадії регресії жовтого тіла характерний для жовтого тіла циклу.

В період регресії жовте тіло втрачає свій колір, його клітини під-даються жировому переродженню, розростаються сполучнотканинні елемен-ти.

У випадку якщо пройшло запліднення і наступила вагітність то жовте тіло функціонує, виділяє прогестерон і підтримує розвиток плода. Таке жовте тіло називається жовтим тілом вагітності.

У випадку затримання регресії жовтого тіла в яєчнику більше 30 діб (після родів чи овуляції) то його називають персистентним (перестоялим). Воно затримує настання нового статевого циклу і сприяє неплідності.

АТРЕЗІЯ ФОЛІКУЛА

Грунтовні вивчення фізіології яєчника показали, що біля половини фолікулів не дозрівають до кінця, а піддаються атрезії, тобто яйцеклітина гине, а фолікул заміщується тканиною яєчника. Атрезія може наступати як на рівні первинного фолікула, так і на пізніших стадіях їх розвитку.

Час настання статевої зрілості в тварин залежить від умов оточуючого середовища – кліматичних і географічних факторів, догляду, утримання та годівлі тварин, їх породи та інше.

3. Статевий цикл та статевий сезон. Видові особливості статевого циклу.

Встановити статеву зрілість у тварини можна по змінах, що відбуваються в її статевій системі, в поведінці, по наявності в її крові статевих гормонів.

Однак осіменяти тварин лише при досягненні ними статевої зрілості зарано! Справа в тому, що молода самка повинна закінчити свій ріст і розвиток, а при умові вагітності поживні речовини, котрі надходять з кормом

використовуються як для задоволення життєвих потреб самки так і для росту плода. Як правило поживних речовин не вистачає, не дотримує їх материнський організм, не дотримує і плід. В результаті чого плід народжується мало життєздатним, роди проходять важко, виникають часто після-родові ускладнення.

Тому крім статевої зрілості розрізняють ще племінну (розведенську) зрілість чи зрілість тіла: під нею розуміють такий ступінь розвитку тварини коли вона може бути запліднена і вагітність не відіб'ється негативно на її дальшому рості і розвитку. Така самка повинна мати не менше 75% ваги дорослої тварини.

Вид тварин	Статева зрілість, міс.	Племінна зрілість, міс.	Згасання стат. активності
кобила	18	30-36 (Зр.)	25-30
телиця	8-12	16-18	15-20
вівця	7-8	12-16	6-10
коза	7-8	12-16	6-10
свиня	5-8	9-12	8

Статеві функції самок відзначаються виразною періодичністю, тобто мають циклічний характер.

Статевий цикл – комплекс фізіологічних і морфологічних змін, що відбуваються в організмі самки від одної овуляції до слідуючої овуляції. Тобто, це складний нейрогуморальний ланцюговий рефлекторний процес, який розвивається поступово і спрямований на створення в організмі самки сприятливих умов для запліднення гамет та розвитку зародка.

Характерними є і специфічні зміни, що проходять в статевій системі, поведінці і в цілому організмі самки. Вони пов'язані перш за все з ростом в яєчниках фолікулів і дозріванням в них статевих клітин (яйцеклітин), овуляцією, утворенням і зворотним розвитком жовтих тіл.

Циклічну природу статевих процесів вперше відмітив Латаст. Хіп, а за ним Маршалл описали фази статевого циклу тварин.

Зміни, що відбуваються в організмі самки в першу чергу стосуються статевої системи, тому окремі автори описують:

1. Зміни в яєчнику (оваріальний цикл)
2. -//- в матці (матковий цикл)
3. -//- в піхві (піхвовий цикл).

У ветеринарній та зоотехнічній практиці їх розглядають як сукупний цикл, разом.

В біологічну літературу увійшла класифікація статевого циклу згідно Хіпа і Маршала, яку деталізував для с.-г. тварин Асделл. Вони назвали цикл естральним від слова „еструс” – пристрасть, тічка.

В. Хіпп виділив в статевому циклі 4 стадії :

1. Проеструм
2. Еструс
3. Метеструм
4. Діеструм.

Проєструм – підготовча стадія статевого циклу, коли статеві органи перебувають під (діючим) домінуючим впливом дозріваючого фолікула, а секреторна активність жовтого тіла поступово знижується. Під впливом ФСГ в яєчнику дозріває фолікул, в ньому нагромаджуються естрогенні гормони які викликають проліферативні зміни в статевих органах. В слизовій матки відмічають інтенсивну гіперемію і проліферацію епітелію, маткові залози гіпертрофуються і починають активно секретувати. Поступово зростає перестальтика рогів матки. Епітелій слизової піхви грубшає і ороговіває, внаслідок чого лейкоцити не можуть виходити в піхву і поглинати спермії. Шийка матки поступово починає відкриватися. *Розпочинається стадія у:* корів, свиноматок на 16-18, а овець – 14 день циклу.

Еструс – найважливіша і найбільш виражена стадія статевого циклу. Тут вже морфологічні зміни в статевій системі доповнюються змінами поведінки тварини. Через розкриту шийку матки в піхву виділяється муциновий секрет, який разом із секретом залоз переддвер'я виділяється назовні. У вигляді тічкового слизу. Спочатку слиз чистий, рідкий, а під кінець мутніє стає в'язким, поступово зменшується і нарешті припиняється. В піхвовому мазку знаходять багато ороговілих без'ядерних клітин. Тургор матки зростає, вона починає скорочуватися. Тварина стає неспокійною.

Метеструм – це коротка перехідна стадія, що охоплює час від овуляції до виходу заплідненої яйцеклітини в матку. Вплив естрогенів спадає. На місці розірваного фолікула в яєчнику формується жовте тіло. Однак секреція прогестерону ще незначна. Продовжується дальший розвиток матки, її залози далі виділяють секрет, хоча гіперемія матки вже зникає; скорочення матки припиняються, вона переходить в стан спокою.

Зменшується об'єм піхвового слизу. В мазку з'являються лейкоцити, багато епітеліальних клітин.

Якщо тварина запліднилась, то статевий цикл закінчується на цій стадії, жовте тіло розвивається далі в жовтому тілі вагітності, а матка піддається дальшій еволюції.

Дієструм – це період статевого спокою, протягом якого відбувається зворотний розвиток статевих органів і вони повертаються до попереднього стану. Слизова статевих органів стає анемічною, шийка матки закрита, роги матки зменшені, маткові залози атрофічні. В яєчниках дрібні фолікули і великі жовті тіла.

В мазку з піхви виявляють невелику кількість епітеліальних клітин з чітко вираженими ядрами, багато лейкоцитів та слизу. Статеві органи в цій стадії знаходяться під домінуючим впливом прогестерону.

Тривалість стадії: корови, вівці, свині - 10-13 діб.

Для диких тварин виділяють ще стадію *Анеструм* – це видовжений період затримки статевої активності, тобто стан відносного статевого спокою, спокою статевих органів.

За проявом вказаних фаз циклу у тварин їх поділяють на декілька груп:

1. Тварини з функціонуючим жовтим тілом в яких вирізняють усі чотири стадії;

2. Тварини із статевим циклом без функціонуючого жовтого тіла (гризуни). В них відмічають стадії проєструм, еструс і медеструм – відсутня стадія дієструм.
3. Тварини з функціонуючим жовтим тілом в яких вирізняють статевий сезон. Тобто у них буває декілька циклів з проявом усіх чотирьох стадій, тоді настає тривала стадія анеструм.

А.П. Студенцов запропонував свою класифікацію статевого циклу. В основу її поклав зміни поведінки тварини.

1. Стадія збудження включає 4 феномени:
 - а) тічка (морфологічні зміни в статевих шляхах);
 - б) реакція (зміни загального стану тварини);
 - в) охота (позитивна реакція на самця);
 - г) овуляція (зміни в яєчнику).
2. Стадія гальмування
3. Стадія зрівноваження

В кожній із вище вказаних стадій властиве слідує поєднання ознак:

Стадія збудження – загальний стан тварини збуджений, тічкові зміни в піхві та матці, позитивна реакція на самця (рефлекс нерухомості), дозрівання фолікула і овуляція.

Стадія гальмування – характерне згасання вказаних ознак стадії збудження. Відмічається негативне ставлення до самця, післятічкові зміни в піхві та матці, формування жовтого тіла на місці фолікула, що овулював.

Стадія зрівноваження - настає біодинамічна рівновага між процесами збудження та гальмування. Спостерігається спокійний зрівноважений стан тварини, байдуже ставлення до самця в яєчнику вторинні фолікули і жовті тіла.

Розрізняють додатково ще:

1. Повноцінний цикл
2. Неповноцінний цикл

1. Повноцінний цикл – це такий, стадія збудження якого проявляється всіма чотирма ознаками (феноменами): тічкою, реакцією, охотою, овуляцією.

2. Неповноцінний цикл – це такий, в стадію збудження якого випадає хоча би один феномен:

- а) немає тічки (еструс) – анестральний;
- б) без змін поведінки (реакції) тварини – ареактивний;
- в) випадає охота (лібідо) – алібідний;
- г) без овуляції (овуляції) – ановуляторний.

Враховуючи той факт, що у одних тварин статева активність спостерігається лише раз на рік, а в інших – декілька, а то і багато разів тварини поділяються на:

1. Моноциклічні
2. Поліциклічні

До моноциклічних належать дикі тварини, які спаровуються в певну пору року. До поліциклічних належать тварини такі: ВРХ, коні, свині. В окрему, проміжну групу виділяють овець. У них буває декілька статевих циклів

протягом короткого періоду (період нагулу) – статевого сезону. Тому їх називають поліциклічними із вираженим статевим сезоном.

В більшості тварин ритм статевих циклів залежить від таких факторів як: світло, t° , рівень годівлі та догляд.

Особливості статевого циклу с.-г. тварин.

Вид тварин	Середня тривалість статевого циклу, дні	Тічка	Реакція	Охота	Овуляція
Корова	21 (19-24)	3-5 діб	24-36 год.	12-18 (13) год.	через 10-15 год. після охоти
Кобила	21 (16-37)	4-20 діб	-	2-12 діб	в період „пik” охоти
Вівця	16-17	24 год.	24 год.	36 год. (20-60)	в кінці охоти
Коза	17-18				
Свиня	21	3-4 доби	3-4 доби	48 год.	20-30 год. від початку прояву „нерухомості”

4.Діагностика тічки, статевого збудження, охоти та овуляції.

1. Рефлексологічний (проба на самця; часто використовують пробників).
2. Ректальна діагностика на основі промацування фолікула (у великих тварин).
3. Огляд тварин та встановлення зміни в поведінці тварини (спостереження).
4. Лабораторне дослідження:
 - а) крові, сечі, молока на вміст та зміну концентрації гормонів (естрогенів, прогестерону);
 - б) тічкового слизу, виготовлення мазків із вмістимого піхви та дослідження їх;
 - в) біопроба на білих мишах (сироватка кобил → інтактним мишам → забій і дослідження яєчників).
5. Врахування журнальних записів.
6. Використання спеціальних приладів: „Естрометр” (чутливість слизової, так як змінюється „опір” слизової піхви).

Спостереження та огляд зовнішніх статевих органів.

Тічка – характеризується почервонінням та набряком слизової переддвер’я, піхви і піхвової частини шийки матки. Канал шийки матки розкритий, через нього виділяється слиз; спочатку прозорий та рідкий, а пізніше мутнуватий та тягучий. Слиз виділяється назовні із вульви, його можна замітити на корені

хвоста, сідничних горбах, а при лежанні тварини – на підлозі у вигляді невеличкої калюжі.

Реакція – тварина веде себе неспокійно, вигинає спину, видає звуки (корова –реве; свинка – скавулить; кобила –ірже; вівця та коза - бекає); у тварин пропадає апетит, знижуються надії та прирости; самки розшукують самця, знаходячись в стаді (корови, свинки) плигають на інших, але не дозволяють пливати на себе.

Охота – з настанням її у тварин проявляється рефлекс „нерухомості” – тобто при стрибках на самку в охоті інших тварин із стада або ж самця вона стоїть нерухомо, приймаючи позу для статевих актів.

Овуляція – лопання фолікула. Встановити можна лише ректально або за допомогою УЗД.

5. Нейрогуморальна регуляція статевої функції.

Органи розмноження сільськогосподарських тварин перебувають під постійним впливом нервової і гуморальної систем, взаємодія яких обумовлює вираженість та повноцінність у них статевих функцій.

Регуляція статевих функцій здійснюється шляхом складних нейро-секреторних процесів, що перебігають ритмічно в гіпоталамо-гіпофізарній сфері з виділенням:

1. Вивільнюючого (релізінг) фактора в гіпоталамусі.
2. Гонадотропних гормонів в гіпофізі.
3. Гонадальних (статевих) гормонів у яєчниках і сім'яниках.

Крім згаданих гормонів у регуляції статевих функцій приймають також участь гормони наднирників, щитовидної залози, тімуса. Однак вони впливають на ці процеси не прямим шляхом.

I. Вивільнюючі (релізінг) фактори гіпоталамуса.

Нервовими клітинами гіпоталамуса виробляються хімічні сполуки – релізінг фактори (РФ). Відомо до 10 сполук: 7 з яких стимулює звільнення з гіпофіза в кров відновних гормонів (ліберин), а 3 – гальмує їх виділення (статин).

II. Гонадотропні гормони

Утворюються постійно в малих кількостях в передній долі гіпофіза протягом всього життя тварин. В період статевого дозрівання і під час окремих стадій статевого циклу секреція їх значно зростає. Вони обумовлюють розвиток статевих органів, підтримують їх функцію і стимулюють біосинтез статевих гормонів.

Відомо такі гормони:

1. Фолікулостимулюючий (ФСГ) – альбумін з вуглеводним радикалом. Стимулює овогенез і розвиток вторинних фолікулів до „антральної” стадії. У самців ФСГ стимулює розвиток звивистих каналіків сім'яників та сперматогенез.
2. Лютеїнізуючий гормон (ЛГ) – глікопротеїд. Прискорює дозрівання фолікула, викликає овуляцію та утворення жовтого тіла. Його дія буває чітко виражена лише після попередньої дії ФСГ. У самців стимулює

секреторну діяльність інтерстиціальних клітин сім'яників (клітини лейдіга).

3. Лютеотропний гормон (ЛТГ) – виділяється гіпофізом лише після утворення жовтого тіла. Він стимулює секреторну діяльність жовтого тіла і лактацію. Секреція ЛТГ після родів різко зростає і постійно підтримується нервово-рефлекторним шляхом при ссанні, доїнні. При тривалому надходженні гормону жовтого тіла розростається ще більше і виділяє значну кількість прогестерону, а він пригнічує ріст фолікулів. Тому при інтенсивній лактації тварини не приходять довгий час в охоту.

Статеві гормони:

1. Жіночі статеві гормони:
 - а) фолікулярні або естрогенні (естрадіол, естріол, естрон);
 - б) гестагени – гормон жовтого тіла (прогестерон),
 - в) гормон плацентарний (прогестерон).
2. Чоловічі статеві гормони – андрогени виробляються в сім'яниках (андростерон, тестостерон, дигідроандростерон).

Дія статевих гормонів.

Естрогени діють на статеві шляхи (матку, піхву) викликаючи гіперемію, секрецію, проліферацію, а також розслабляють шийку матки і звільнюють її від слизу; стимулюючи скорочення мускулатури матки та яйцепроводів.

Естрогени підготовляють геніталії самки до послідувочої дії прогестерону. Крім того естрадіол посилює розвиток системи проток молочної залози, прискорює окостеніння у них епіфізарних хрящів кісток, сповільнюючи цим ріст самок у висоту.

Під час вагітності естрогени обумовлюють ріст матки та морфологічну і функціональну перебудову її нервово-м'язового апарата.

Естрогени крім яєчників можуть утворюватися і в інших тканинах організму: наднирники, сім'яники, м'язи і ін.

Гормон жовтого тіла – прогестерон, закінчує те, що розпочали естрогени:

- а) підготовляє ендометрій до імплантації зиготи і зберігає плід протягом вагітності;
- б) знижує тонус міометрію, посилює його ріст (гіперфункцію);
- в) стимулює ріст молочної залози.

Можливий його синтез і в корі наднирників та плаценті.

Схема регуляції сексуальних процесів

Імпульси, що надходять в кору головного мозку із зовнішнього середовища (через слухові органи, зір, нюх та інше) сумуються тут з іншими імпульсами, що надходять від внутрішніх органів → переробляються → передаються в гіпоталамус (викликаючи підвищення виділення –ліберини, або зниження виділень –„статини”) → гіпофіз → циклічне виділення ФСГ → стимулює розвиток вторинних фолікулів, що супроводжується синтезом в фолікулярних клітинах естрогенів → діючи на хеморецептори та аналізатори викликають тітку та охоту, а високі концентрації естрогенів пригнічують секрецію ФСГ і стимулюють виділення ЛГ → виділення якого викликає овуляцію і лютеїнізацію зернистої оболонки фолікула. Жовте тіло, що виникає

на місці овульованого фолікула починає виділяти прогестерон, який тормозить подальше виділення ЛГ не перешкоджаючи секреції ФСТ, внаслідок чого проходить поступовий розвиток вторинних фолікулів і статевий цикл повторяється.

При настанні вагітності проліферативні процеси в матці підсилюються, утворюється плацента яка в комплексі із жовтим тілом підтримує розвиток плода, а сексуальні процеси тимчасово припиняються.

Тема 2.2. Теоретичні передумови та технологія відтворення великої рогатої худоби

Питання:

1. Наукові основи технології штучного осіменіння.
2. Технологія штучного осіменіння корів і телиць.
3. Виявлення оптимального часу для введення сперми та кратність осіменіння корів і телиць.
4. Об'єм і дози сперми залежно від методу зберігання.
5. Техніка і правила осіменіння корів і телиць візоцервікальним способом.
6. Техніка і правила осіменіння корів маночервікальним способом.
7. Техніка і правила цервікального осіменіння корів і телиць з ректальною фіксацією шийки матки.

1. Наукові основи технології штучного осіменіння.

Термін штучне осіменіння вперше був вживаний ще у 19ст. біологом В.Хіппом. Під цим терміном вчений розумів спосіб зближення чоловічих та жіночих статевих клітин. На сьогоднішній день розроблено ряд методів як зовнішнього так і внутрішнього осіменіння.

Суть штучного осіменіння зводиться до введення сперми у статеві шляхи самки за допомогою спеціальних інструментів.

Успіх ш. о. савців залежить:

- 1.Правильного вибору часу осіменіння;
- 2.Способу та місця введення сперми;
- 3.Від якості та кількості введеної сперми;
4. Від дотримання ветеринарно-санітарних правил при осіменінні;
5. Від фізіологічного стану статевих органів самки.

При виборі оптимального часу осіменіння самки потрібно враховувати такі обставини:

по-перше – яйцеклітина володіє обмеженою здатністю до запліднення, яка вимірюється 6-8год. від моменту овуляції, після цього у ній настають дегенеративні зміни, а тому до виходу яйцеклітини у яйцепровід там уже повинні бути активні спермії;

по-друге – проникати у яйцеклітину здатні лише зрілі активні спермії, які пройшли процес капацитації, тобто спермії мають бути введені у статеві органи самки не пізніше 5-6год. до появи яйцеклітини;

по – третє - живучість сперміїв також обмежена в часі і становить всього лише 12-24год., а тому вводити сперму у геніталії самки слід не раніше як за 12 годин до очікуваної овуляції.

На сьогоднішній день для введення сперми у статеві шляхи самок запропоновано декілька методів:

- 1.Піхвовий;
- 2.Цервікальний;
- 3.Матковий;
- 4.Інтраабдомінальний.

При виборі методу штучного осіменіння враховують:

- 1.Вид тварин та тип природного осіменіння;

2. Виживання спермійів у окремих ділянках статеві системи самки

При всіх методах осіменіння *слід дотримуватися таких правил:*

1. Правильно визначити наявність «охоти»;
2. Перед осіменінням слід навести вологий або ж сухий туалет зовнішніх статевих органів;
3. Застосовувані інструменти повинні бути стерильними, а також вони не повинні бути холодними чи навпаки гарячими;
4. Технік ш. о. повинен працювати в чистому спеціальному одязі, перед кожним осіменінням він повинен мити та дезінфікувати руки;
5. При фіксації тварини, а також при проведенні осіменіння не слід обходитися без зайвої грубості, застосування сили та нанесення ударів.

2. Технологія штучного осіменіння корів і телиць.

При виборі оптимального часу осіменіння корів та телиць необхідно, враховувати стадії статевого циклу – тічку, загальне збудження, охоту та овуляцію. Тічка проявляється набуханням та почервонінням слизової оболонки присінку, піхви та шийки матки. Канал шийки матки буває привідкритим, із статевої щілини виділяється тічковий слиз, який на початку тічки буває склоподібно прозорим, в середині її – в'язким, під кінець тічки – мутним та густим. Тривалість тічки – 2–6 діб. Через 24–36 годин від початку тічки виникає загальне збудження – тварина стає неспокійною, у неї зменшується апетит, знижується надій молока, корова чи телиця плигає на інших самок і дозволяє їм стрибати на себе. Статева охота проявляється готовністю до спаровування: вона стоїть спокійно і дозволяє іншим коровам чи телицям плигати на себе. Овуляція відбувається через 10–15 годин після закінчення чи через 24–30 годин від початку охоти.

Осіменіння корів і телиць проводять лише при наявності у них ознак тічки та охоти. В цей час у статевих органах самки створюються оптимальні умови для виживання гамет, їх зустрічі та запліднення. Наявність у тварини статевої охоти та тічки свідчить про готовність її до осіменіння – канал шийки матки у неї відкритий, тічковий слиз, що виділяється у великій кількості, володіє високою бактерицидністю, еластичністю та низькою в'язкістю, він має лужну реакцію, що стимулює обмін речовин та рухливість спермійів. Крім того, під час охоти пожвавлюються антиперистальтичні скоро-чення матки, що сприяє засмоктуванню у неї спермійів. Головним критерієм при виборі часу осіменіння є ознаки статевої охоти.

3. Виявлення оптимального часу для введення сперми.

Для визначення статевої охоти та оптимального часу введення сперми у *корів та телиць* в основному застосовується метод самця-пробника (рефлексологічний), клініко-візуальний метод (за симптомокомплексом тічки і загального збудження) та метод оцінки стадії зрілості фолікулів. Рідше застосовують методи: гормональний (визначення концентрації естрогенів у молоці), електрометричний (визначення електропровідності тічкового слизу),

метод мікроскопії краплі тічкового слизу, педометрії (за зміною частоти кроків), актометрії (за визначенням рухливості самок).

Рефлексологічний метод - бугаїв-пробників випускають щоденно вранці і ввечері на 1,5-2 години в загони, де утримуються неплідні, отелені (з 3-4-го дня після родів), осіменені (з 10-го по 30-й день після осіменіння) корови. За одним бугаєм-пробником закріплюють 100-150 корів і телиць. Спостерігають за поведінкою корів. Самка, яка знаходиться в охоті, допускає садку самця. Таку самку виділяють із стада і осіменяють дворазово, з інтервалом 10-12 годин. При визначенні охоти вазектомованим бугаєм-пробником (з коїтусом), сперму вводять одноразово, зразу ж після виявлення позитивної реакції.

Клініко-візуальний метод - імовірним показником того, що корова знаходиться в охоті, є "рефлекс нерухомості", коли тварина опускає підняття на себе інших тварин. До додаткових ознак відносять: потертості в ділянці крупа, кореня хвоста і сідничних горбів, зміна поведінки, стрибання на інших самок, підвищення рухливої активності, набряк статевих губ і почервоніння слизової оболонки переддвер'я піхви, витікання еластичного, прозорого тічкового слизу з статевих органів, зниження продуктивності, погіршення якості молока.

Підготовка сперми до введення

Розморожування сперми проводять з використанням приладів: біотермостат ТБ-010, "Росинка", "Росинка-1", АЗСУ-3,-4 (активатор замороженої сперми універсальний). Сперму відтаюють при температурі $38 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в ампулах з розчином натрію цитрату або в стерильних флакончиках з-під антибіотиків. У флакончик з-під антибіотиків наливають 1 мл 2,9 %-ного розчину лимоннокислого натрію. Флакони (не більше 2-3) ставлять на 2-3 хв. у водяну баню для підігрівання розчину. Рівень води у водяній бані повинен лише закривати стовпчик розчину у флаконі. З посудини Дьюара охолодженим у рідкому азоті пінцетом дістають необлицьовану гранулу і відразу опускають у флакон з підігрітим розчином лимонно - кислого натрію. При безперервному погойдуванні флакончика рукою, відтаюють гранулу до повного розморожування. Потім флакончик виймають і ставлять при кімнатній температурі на фільтрувальний папір. Після оцінки якості сперму набирають в інструмент для введення.

При розморожуванні сперми, що зберігається в облицьованих гранулах, з біотермостату виймають штатив. Гранулу опускають у воду ($38 \pm 0,5^\circ\text{C}$) і витримують до появи тонкого стержня льоду. Потім пінцетом виймають гранулу, струшують воду, по чергово протирають стерильними марлевими серветками та ватним тампоном, змоченим у 96°-ному спирті, і вводять в зоошприц. Технологія розморожування пайєт (соломинок) об'ємом 0,25, 0,5 мл і мінітуб 0,25 мл така ж, як і для облицьованих гранул.

Розріджену сперму, яка зберігається при температурі талого льоду або при кімнатній температурі, перед введенням необхідно підігріти водяній бані до $30-35^\circ\text{C}$ протягом 5-7 хвилин Використовувати розморожену спермодозу

необхідно лише при кімнатній температурі (18-25°C) протягом 10-15 хвилин. Необхідно дотримуватися режимів відтаювання сперми: не виймати ємкості з гранулами сперми за межі нижньої третини горловини посудини Дьюара і поміщати їх зразу ж після взяття гранули назад.

4. Об'єм і дози сперми залежно від методу зберігання.

Об'єм і дози сперми залежно від методу зберігання приведені у таблиці. Потрібно пам'ятати, що при використанні сперми бугаїв-поліпшувачів, перевірених за якістю потомків, допускається використання спермодоз з 10 мільйонами активних спермій та рухливістю 3 бали, а сексованої сперми – з 2-4 мільйонами активних спермій та рухливістю 4 бали.

Об'єм і дози сперми залежно від методу зберігання

Вид тварин	Метод зберігання сперми	Об'єм сперми, мл	Рухливість, бал	Мінімальна кількість спермій у дозі з ППР
Корови, телиці	Температура льоду (+2 +4 °C)	1,0	7	25-30 млн
	- 196° в гранулах	1,1-1,2	4	15 млн
	- 196° в гранулах	0,25-0,35	4	15 млн
	- 196° в пайстах і мінітубах	0,25-0,5	4	15 млн

Способи штучного осіменіння корів та телиць.

Осіменіння корів проводять ректо-, ману- та візоцервікальним способами; телиць – ректо- і візоцервікальним способами, а в окремих випадках рекомендують ще так званий *епіцервікальний* – введення сперми на піхвову частину шийки матки.

Перед введенням сперми обов'язково проводять "вологу" або "суху" обробку зовнішньої поверхні статевих губ і промежини. Для "вологої" обробки використовують теплий розчин фурациліну (1:5000) або фурацилін такої ж концентрації, виготовлений на ізотонічному розчині NaCl. Зволожену поверхню статевих губ ретельно витирають ватними тампонами зверху до низу статевої щілини. При "сухій" обробці зовнішню поверхню статевих губ протирають сухими ватними тампонами.

5. Техніка і правила цервікального осімення корів і телиць з ректальною фіксацією шийки матки.

Ректоцервікальний спосіб введення сперми (цервікальний з ректальною фіксацією шийки матки, бімануальний). При цьому способі осіменіння однією рукою, введеною у пряму кишку корови чи телиці, фіксують шийку матки, а

другою вводять у її цервікальний канал стерильний інструмент зі спермою на глибину 6-8 см .

Головними позитивними моментами цього способу є масаж статевих органів перед осіменінням, що, з одного боку, дозволяє оцінити їх стан, а з другого – підсилює моторику матки, прискорює овуляцію; застосування одноразових стерильних інструментів, що вимагає значно менше часу для їх підготовки та осіменіння; глибоке введення сперми у цервікальний канал, що виключає зворотне витікання сперми у піхву, сприяє кращому виживанню спермій та швидшому проходженню їх до місця запліднення.

Підбір інструментів залежить від методу і форми зберігання сперми. При використанні сперми, що зберігається при температурі $+2+4^{\circ}\text{C}$ або замороженої у формі відкритих гранул, застосовують одноразові стерильні полімерні катетери довжиною 45 см, полістиролову або гумову ампулу чи полімерний шприц з муфтою та поліетиленову п'ятипалу рукавицю.

Чисто вимитими і продезинфікованими руками беруть пакет з одноразовими ампулами, знезаражують кут пакету і надрізають його, через отвір виштовхують шийку ампули та зрізають її конус стерильними ножицями. Таким же чином на 2 см виштовхують кінець катетера із пакета і відразу ж приєднують до нього підготовлену ампулу. Отвори пакетів запаюються або затискуються скріпками. У катетер набирається сперма без пухирців повітря у стовпчику. Катетер розміщують на підставці, яка знаходиться у ящику-термостаті при кімнатній температурі. На інструмент одягається санітарний чохол.

При використанні сперми, *розфасованої в пайети*, розморожується спермодоза і пайета протирається стерильною серветкою від залишків води, струшується так, щоб повітряна кулька піднялася до верхньої (запаяної) пробки, і знезаражується її поверхня. Стержень пайетовводжувача відтягують на довжину пайети, яку заводською пробкою вставляють в циліндр до упору. Кінець її відрізають перпендикулярно біля самої пробки (на середині повітряної кульки) і на інструмент фіксують стерильний одноразовий полімерний чохол. При цьому слідкують, щоб пластикове фіксаційне кільце було зняте з конуса шприца, оскільки чохол буде заблокований раніше, ніж щільно зафіксує пайету. Впевнившись в надійному з'єднанні пайєти з конусом чохла, останній фіксують до циліндра інструмента одним із способів, залежно від конструкції фіксаційного пристрою: чохла з розрізом за допомогою фіксаційного кільця; без розрізу шляхом нагвинчування його на різьбу циліндра або за допомогою спеціального затискувача. Готовність приладу до роботи перевіряють повільним проштовхуванням стержня до появи крапельки сперми на вершині інструменту.

Для використання пайет різних об'ємів (міді – 0,5 мл та міні – 0,25 мл) застосовують універсальний пайетовводжувач, циліндр якого виготовлений окремо від фланця із внутрішнім отвором різного діаметру по краях (відповідно для міді- та мініпайет). Замість фланця інструмент має металеву муфту.

Перед використанням пайетовводжувач стерилізують, збирають циліндр з муфтою так, щоб вільним залишався його край з отвором, який відповідає розміру пайети (0,25 чи 0,5 мл). Подальші операції проводять аналогічно, як звичайним пайетовводжувачем.

При використанні сперми, *замороженої в облицьованих гранулах*, застосовують циліндр (наконечник) зоошприца (призначений для ману-цервікального способу осіменіння в який вставляють розморожену і знезаражену гранулу і приєднують до нього спеціальний подовжувач, що складається з металевого трубчатого корпусу і дротяного стержня з дисковим упором. Один кінець корпусу має круглий фланець для фіксації подовжувача пальцями, а інший – зовнішню різьбу для з'єднання з одноразовим циліндром. На корпусі є замок для фіксації одноразового чохла.

Для збирання інструмента в канал зоошприца вкладають облицьовану гранулу зі спермою, з'єднують зі стерильним подовжувачем і досилають гранулу до переднього краю циліндра. З боку вихідного отвору стерильною голкою проколюють гранулу. При використанні одноразового полімерного інструмента довжиною 50 мм (ОСХАР-2) гранулу не проколюють, оскільки в його кінцевій частині знаходиться голка із твердого полімеру, за допомогою якої гранула розкривається безпосередньо в цервікальному каналі у момент натискування на дротяний стержень.

На зібраний інструмент одягають тонкостінний полімерний санітарний чохол. Перед введенням наконечника в канал шийки матки, інструмент розчохлають шляхом подання чохла в бік штовхача.

Техніка осіменіння. Зафіксувавши у станку корову і провівши санітарну обробку її зовнішніх статевих органів, технік одягає на праву руку поліетиленову рукавицю та зволожує її мильним розчином або вазеліном, а в праву руку бере підготований відповідно і заправлений спермою інструмент для осіменіння. Великим та вказівним пальцями лівої руки розкриває у тварини соромітні губи і, не доторкуючись інструментом зовнішніх статевих органів, вводить його у піхву, спочатку косо знизу вгору під кутом 30–45 ° на глибину 10–15 см, а тоді – горизонтально до упору в шийку матки. Праву руку вводить у пряму кишку, звільняє її при потребі від калу, промацує місце знаходження інструмента, знаходить і фіксує шийку матки. Якщо інструмент попав у складку піхви, то, зміщуючи його рукою через пряму кишку в різні боки і подаючи дещо шийку матки наперед, виправляє положення інструмента. Досліджує стан матки і яєчників, звертаючи увагу на їх розташування, величину, форму, можливу флуктуацію. Дослідження супроводжує легким масажем матки. Пересвідчившись, що тварина готова до осіменіння, зафіксують рукою шийку матки і знаходять її отвір для введення інструмента. При цьому слід мати на увазі, що коли під час фіксації захопити не шийку, а тіло матки, то піхвова частина шийки опуститься вниз і потрапити в її канал неможливо. Інколи кінець піпетки може попадати у складки піхви, що також затрудняє введення його у цервікальний канал. Тому зафіксовану шийку матки завжди подають дещо наперед для розправлення складок піхви. Існує декілька прийомів фіксації шийки матки:

1. Захоплюють шийку матки всією кистю лівої руки так, щоб великий палець охоплював її справа, а три наступних – зліва і знизу, і мізинцем знаходять отвір шийки матки і спрямовують в нього кінець інструмента.

2. Фіксують шийку матки між вказівним і середнім пальцями, а великим пальцем відшукують отвір шийки матки і вводять по ньому інструмент.

3. Кладуть кисть руки на шийку матки, притискають її до дна кісткового таза і під контролем долоні вводять інструмент в отвір шийки матки.

Після введення катетера захоплюють шийку матки всіма пальцями руки і обережно, повертаючи її в боки, наче насаджують на інструмент. Другою рукою просувають інструмент вперед, щоб він ввійшов у шийку матки приблизно на 6–8 см. Натискають на штовхач інструмента (поршень шприца, ампулу чи кульку піпетки) одночасно відтягуючи інструмент дещо назад так, щоб сперма розподілилась по всій довжині каналу шийки матки. Виймають обережно інструмент з піхви, а праву руку з прямої кишки.

Використовувані для осіменіння поліетиленові рукавиці та одноразові інструменти знищують.

Переваги цервікального введення сперми коровам і телицям з ректальною фіксацією шийки матки полягають у підвищенні заплідненості самок за рахунок підсилення ригідності матки та прискореного потрапляння спермій до яйцепроводів. Тварин можна осіменяти безпосередньо в місцях їх утримання, у звичайних для них умовах та проводити прогнозування і корекцію заплідненості.

6. Техніка і правила осімення корів mano-цервікальним способом.

Маноцервікальний спосіб. При цьому способі сперму вводять у шийку матки за допомогою поліетиленової ампули чи зоошприца, затиснених у руці, без застосування піхвового дзеркала. Спосіб придатний лише для корів. У телиць піхва вузька і можливі розриви її при введенні руки.

При використанні сперми, що зберігається при $+2+4^{\circ}\text{C}$ та замороженої у відкритих гранулах, використовують стерильні поліетиленові катетери довжиною 80 мм, ампулу і пятипалу (трипалу) рукавицю. Підготування інструментів до використання проводиться аналогічно, як і при ректо-цервікальному введенні сперми. Після забору сперми у конусоподібну ампулу і катетер, проводиться оцінка її рухливості.

Якщо сперма розфасована в облицьовані гранули, то застосовують спеціальний інструмент одноразового використання – зоошприц, який складається із циліндра з фланцем та штовхача.

Інструмент виймають з герметичної упаковки, а висушену від води і протерту ватним тампоном зі спиртом облицьовану гранулу вводять у циліндр та дотискають її у передній край за допомогою штовхача. Знезараженою голкою через вихідний отвір циліндра проколюють оболонку гранули, після чого використовують спермодозу.

Для manoцервікального способу використовують також одноразовий полімерний інструмент довжиною 100 мм (ОСХАР-1), в передній (частині

якого вмонтована голка з твердого полімеру, що проколює плівку гранули при натискуванні штовхача під час введення.

Техніка осіменіння. Після виявлення охоти корову заводять до пункту штучного осіменіння і фіксують у станку, наводять туалет зовнішніх статевих органів. Технік одягає на руку стерильну рукавицю, зволожує її стерильним 0,9-1%-ним розчином натрію хлориду, бере інструмент зі спермою на долоню катетером до пальців і прикриває кисть руки відгорнутим рукавом рукавиці. Біля корови рукав рукавиці відгортається у попереднє положення, а інструмент, затиснутий у руці, яка повертається по осі з боку в бік, вводиться у краніальний відділ піхви до шийки матки. У передній частині піхви інструмент кладуть на нижню її стінку, знаходять шийку матки і пальцями проводять масаж протягом 45 сек. до появи антиперистальтичних скорочень. Після цього беруть інструмент із спермодозою і під контролем вказівного пальця вводять катетер на глибину 6-8 см. Ампулу підіймають догори і натискають на неї, одночасно відводячи кінчик катетера до середини цервікального каналу, де й закінчують введення сперми. Не розтискаючи ампули (щоб запобігти зворотному засмоктуванню), інструмент виймають з шийки і знову розміщують на нижній частині піхви. Додатково періодичним стискуванням проводять масаж шийки матки протягом 15 сек., а потім обережно виводять з піхви руку з інструментом. Проводять масаж клітора через товщу статевих губ.

При використанні маночервікального способу введення сперми обов'язковою умовою є обладнання лабораторії пункту штучного осіменіння бактерицидною лампою для стерилізації одноразових інструментів.

Позитивними рисами маночервікального способу є масаж піхвової частини шийки матки, що знімає захисну реакцію самки на введення інструментів, посилює скорочення матки і сприяє кращому просуванню сперміїв до яйцепроводів. Крім того, досить глибоке введення сперми перешкоджає витіканню її у піхву, а застосування одноразових інструментів підвищує гігієнічність цього способу. Негативними моментами маночервікального способу є неможливість застосування його для осіменіння телиць, а також небезпека травмування слизової оболонки геніталій та контамінування їх мікрофлорою при введенні руки у піхву.

7. Техніка і правила осіменіння корів і телиць візо-цервікальним способом.

Візоцервікальний спосіб осіменіння. Цей метод простий, доступний, він дозволяє оглядати стан слизової оболонки піхви та шийки матки у тварини. Методика полягає у введенні в піхву корів або ж телиць стерильного тепло-го, зволоженого стерильним ізотонічним розчином NaCl, піхвового дзеркала з освітлювачем, а потім вводять сперму в шийку матки за допомогою скляного шприца-катетера, пайетовводжувача або металевого подовжувача (залежно від форми зберігання сперми).

Для корів використовують піхвове дзеркало більшого, а для телиць меншого розміру.

Техніка осіменіння. Піхвове дзеркало зрошують теплим (38-40°C) 0,9 % розчином натрію хлориду або 2,9 % - ним чином натрію цитрату і, взявши шприц-катетер із спермою, йдуть до зафіксованої в станку тварини, у якій заздалегідь оброблені зовнішні статеві органи. Тримавши шприц вказівним і середнім пальцями вгору і назад, розкривають статеві губи і, тримавши розведені ручки піхвового дзеркала вбік, вводять його бранші у піхву. Потім дзеркало повертають ручками вниз і, натискаючи на них, розкривають бранші. Відшукавши шийку матки, вводять в неї кінець шприца на глибину 3-4 см і повертають його кінець вниз. Коли корова заспокоїться, злегка натискають на поршень шприца, повільно вводять сперму, відтягуючи катетер.

Після введення сперми обережно виймають шприц-катетер, а потім і піхвове дзеркало, поступово відпускаючи його ручки (для зближення бранш) і повертаючи їх вбік. Бранші дзеркала слід змикати не повністю, щоб не затискувати слизову оболонку піхви. Після осіменіння масажують клітор.

При використанні піхвового дзеркала з поздовжнім вирізом верхньої бранші (модифікація Л. Овчиннікова), катетер інструмента зі спермодозою вводять таким же чином, а потім катетер притискають до верхньої стінки піхви і, притримуючи шприц другою рукою, обережно виймають дзеркало з піхви. Як тільки тварина заспокоїться, обережно вводять сперму в шийку матки і виймають катетер зі статевих шляхів.

При осіменінні кількох корів спермою одного бугая, зовнішню поверхню катетера після кожної тварини витирають стерильною серветкою, а потім дезінфікують змоченими у спирті тампонами. Для цього, тримавши шприц-катетер вертикально канюлею вниз, старанно і коловими рухами спиртовим тампоном витирають канюлю, просовуючи тампон від кінця до середини катетера. Останню частину катетера і циліндр шприца протирають іншим спиртовим тампоном.

При осіменінні корів одним шприцом-катетером спермою різних бугаїв, спочатку обробляють зовнішню поверхню шприца, як вказано вище, а потім 5-6 разів промивають від сперми внутрішню поверхню, для чого і використовують 2,9% розчин натрію цитрату із банки № 1, дезінфікують 70°-ним спиртом із банки № 2, залишки спирту відмивають 2,9 % розчином натрію цитрату із банок № 3 і № 4 по 3-4 рази.

Піхвове дзеркало після осіменіння кожної корови миють теплим і 2-3% розчином соди, потім споліскують кип'яченою водою, насухо витирають рушником і знезаражують спиртовими кульками або фламбуванням.

Після роботи шприц-катетер ззовні витирають марлевою серветкою, відмивають від сперми розчином з банки № 1, споліскують дистильованою водою, розбирають, стерилізують кип'ятінням і зберігають. Можна зберігати шприц-катетер заповненим 70°-ним спиртом.

Візоцервікальний спосіб осіменіння має деякі недоліки. Насамперед це великі затрати часу на щоденну підготовку інструментів, розчинів, матеріалів (що важко виконувати в умовах пасовищного пересувного пункту).

Тема 2.3. Технологія штучного осіменіння овець та кіз

Питання:

- 1. Біологічні основи відтворення овець.*
- 2. Організація осіменіння овець.*
- 3. Техніка штучного осіменіння овець.*
- 4. Біологічні основи відтворення кіз.*

1. Біологічні основи відтворення овець.

Ефективна організація відтворення стада овець як в умовах фермерських господарств, звичайних традиційних ферм, так і на великих фермах та комплексах забезпечується в першу чергу глибоким знанням біології розмноження овець, рівнем зоотехнічної і ветеринарної роботи, організаційно-господарськими постійно діючими і разовими заходами, рівнем кваліфікації кадрів, умовами утримання.

Вівці належать до тварин із сезонним типом статевої функції. У овець примітивних порід спостерігається короткий осінній парувальний сезон лише з одним статевим циклом, тоді як у більш одомашнених порід (наприклад, у мериносів) цей сезон триває 6–8 місяців, протягом якого у овець проявляється багато циклів. Тривалість статевого циклу у овець коливається в межах 16 - 19 діб. Із збільшенням віку маток тривалість статевого циклу дещо продовжується.

Якщо раніше сезонність статевої циклічності у овець пояснювали зміною довжини світлового дня, то зараз вважають, що у овець і кіз є уроджений ритм відтворної здатності. Початок статевого сезону у овець в центральному та західному регіоні припадає на серпень – вересень, а у південній півкулі – на лютий – березень.

2. Організація осіменіння овець.

Оптимальні строки осіменіння вівцематок встановлюють з врахуванням особливостей біології розмноження овець, природно-кліматичної зони, господарських умов (наявність кормів, приміщень, кваліфікованих кадрів), щоб забезпечити окоти у найбільш вигідні для конкретного господарства терміни.

Парувальну кампанію у вівчарстві слід підрозділяти на три періоди: *підготовчий, основний та заключний ("зачистка").*

Підготовчий період за тривалістю повинен становити 1,5-2,5 місяців. Починається цей період з відлучення ягнят, формування маточної отари, проведення профілактичних ветеринарних обробок і купок. Основною метою підготовчого періоду є доведення вгодованості маток до середньої та вище середньої. Оскільки цей період припадає на жаркі літні місяці, коли вівці вдень пасуться погано, то доцільно забезпечити випасання маточних отар у нічні години.

Тривалість основного періоду - штучного осіменіння маток, повинна становити не менше двох статевих циклів, тобто 33-40 днів.

Штучне осіменіння овець в умовах різних форм господарств та різної технології ведення вівчарства проводиться в умовах стаціонарних типових і пристосованих, тимчасових або пересувних пунктів штучного осіменіння, де у залежності від форми організації осіменіння можуть використовувати свіжоодержану нерозбавлену чи розбавлену транспортовану або сперму, яка зберігається у замороженому стані.

Пункти штучного осіменіння овець, як правило обладнують в маточних кошарах. На великих вівцефермах пункти будують біля кошар з східної чи південної сторони. Це дозволяє раціонально використовувати сонце для освітлення і підтримання температурного режиму в приміщеннях (манежі, лабораторії) пункту.

Пункт штучного осіменіння овець включає: баз, обладнаний спеціальними оцарками для виявлення овець у стані статевої охоти; накопичувач з розколом (струнка) для розподілу овець по оцарках згідно плану закріплення за баранами маток; оцарок-накопичувач для розміщення маток перед осіменінням; оцарок-накопичувач для вже осіменених овець; манеж для осіменіння, обладнаний фіксаційним станком; лабораторію; мийну; приміщення з високими риштаками для утримування баранів-пробників.

Баз для виявлення овець у стані статевої охоти облаштовують поруч з пунктом. Щоб в ньому було сухо, бажано його розміщувати на підвищеному місці або схилі. Щоб під час вибірки овець не підіймався пил у ньому роблять товсту підстилку з соломи. Окрім того, у негоду це дозволяє відбирати овець чистими. У дощову погоду баз для виявлення овець в охоті обладнують безпосередньо в маточній кошарі. Обладнують його з переносних щитів (читунів) довжиною 3-4 м, висотою 1,15-1,25 м. Розміри базу визначають з розрахунку 3,5-4,0 м² на одну вівцю. По кутках базу обладнують оцарки для відокремлення маток, виявлених у стані статевої охоти. Ці оцарки обладнують з розрахунку 1-1,5 м² на вівцю, а загальна їх площа повинна бути розрахована на 6-8% маток від загальної їх кількості в отарі.

Оскільки, на базу для виявлення овець у стані статевої охоти поверхня повинна бути не слизькою, не брудною, не створювати пилу, то в ньому не можна утримувати овець вночі, тирлувати, годувати і напувати. У цьому базу вівці знаходяться тільки під час виявлення у них статевої охоти вранці і ввечері по 1,5-2 години. На вівцекомплексах його розміщують на майданчиках з асфальтним покриттям, хоча такий баз суттєвих переваг у порівнянні з описаним традиційним не має.

Якщо на пункті проводиться осіменіння декількох отар, то базів для виявлення овець в охоті необхідно мати стільки, скільки маточних отар підлягає штучному осіменінню. Але закріплювати за одним пунктом більше 3-4 маточних отар не практикується, оскільки буде розтягуватись період осіменіння. Ряд маток у такому випадку буде осіменятись через тривалий час після завершення вибірки, в результаті буде знижуватися запліднення і багатоплідність маток.

Накопичувач з розколом (стрункою) служить для розподілу овець за баранами, згідно плану закріплення (особливо ретельно ця робота прово-

диться в племінних господарствах) або розподілу маток за класністю і по отарах (в умовах товарних господарств). Цей накопичувач повинен бути розрахований на 6-8% маток від їх загальної кількості в отарі чи отарах. Він повинен з'єднуватися безпосередньо з оцарками для відділення маток закріплених за тим чи іншим бараном і манежем пункту штучного осіменіння. Обладнується з розрахунку площі підлоги 1 м² на вівцю, адже коли він тісний, то чабанам буде значно простіше відловлювати маток для подачі їх до манежу для осіменіння. На пунктах з механічною подачею овець до манежу – накопичувач для неосіменених маток відсутній, а транспортер механізованої установки є ніби продовженням розколу.

Манеж для осіменіння овець повинен забезпечувати санітарно-гігієнічні умови проведення штучного осіменіння тварин, а також оптимальні умови для роботи і мати нормальний температурний режим. Розміри манежу визначаються технологією осіменіння, що застосовується на пункті й можуть бути від 6 до 20 м² і навіть більше, коли, наприклад, застосовується карусельна установка. Підлога в манежі повинна бути не слизькою і легко митися, краще її покривати асфальтом або робити з дерев'яних дощок. Стіни в манежі на висоту до 1,5-1,7 м бажано облицьовувати кахельною плиткою, а верхню їх частину і стелю білять водоемульсійною фарбою білого кольору.—

Виявлення охоти.

Осіменяють овець лише при наявності у них ознак тічки та охоти. Ці ознаки виражені у овець не чітко – самки можуть проявляти локомоторний рефлекс у вигляді загострення зорових та нюхових реакцій, але на відміну від корів, вони не плигають одна на одну. Тому єдиним методом виявлення у овець охоти є *рефлексологічний* – з використанням баранів-пробників.

На пробників підбирають молодих енергійних баранів, малоцінних у племінному відношенні, з розрахунку 1–2 пробники на 80–100 вівцематок. Щоб пробник не міг покрити самки, на живіт йому підв'язують полотняний або брезентовий фартух. Крім того, процедуру виявлення у овець охоти за допомогою баранів-пробників доповнюють вагінальним їх дослідженням під час осіменіння. Виявлення овець у охоті проводять на протязі всього періоду штучного осіменіння.

Враховуючи той факт, що у більшості маток (60%) статева охота починається в нічні та передранкові години виявлення ознак охоти проводять з 5-ї до 7-ї години ранку. Матки, що знаходяться в стані охоти, стоять спокійно при наближенні пробників, дозволяють їм робити на себе садку, тоді як інші втікають. Чабани зразу виловлюють овець у охоті і поміщають їх в окремий загін. Так поступово перевіряють всю отару. Поряд з виявленням овець в охоті барани-пробники також стимулюють охоту у інших вівцематок. Встановлено, що введення баранів до стада вівцематок стимулює появу у них через 3–6 днів овуляції з подальшим проявом ознак статевих циклу. Щоб у пробників не гальмувалися статеві рефлекс, один раз на 5 днів від них отримують сперму на штучну вагіну. В ролі пробника можуть також ви-ступати дозрілі барани-кастрати чи вівцематки, оброблені попередньо тестостероном чи естрадіолом. Триразове введення тестостерону в дозі 100 мг або 1 мг естрадіолу з тижневим

інтервалом викликає у них поведінку, характерну для самців, що зберігається впродовж кільканадцяти тижнів.

Закінчивши виявлення овець в охоті, видаляють пробників з отари, випускають отару на пасовище, а відібраних овець в охоті осіменяють

Осіменяють овець двічі: перший раз – зразу ж після виявлення у них охоти і в друге – на наступну добу, вранці. Якщо виявлення овець у охоті проводять двічі на добу, то осіменяти їх можна один раз: овець, відібраних вранці, осіменяють о 12–14-й годині, відібраних ввечері, о 6–7-й годині ранку наступного дня.

Осіменіння овець проводять у манежі пункту штучного осіменіння. Враховуючи чутливість нерозрідженої сперми до холодового удару, температура в манежі повинна бути в межах 18–25 °С. Безпосередньо перед осіменінням проводять вагінальну діагностику стану геніталій у відібраних овець. Зовнішні статеві органи у овець в охоті бувають гіперемічні, іноді навіть посинілі, слизова оболонка присінку набрякла, почервоніла; цервікальний канал розслаблений, привідкритий, з нього витікає слиз, що скупчується на дні піхви. Осіменіння овець можна проводити розрідженою і нерозрідженою спермою при умові, що рухливість спермійів у ній не менше 8 балів і концентрація спермійів (до розрідження) не нижче 2 мільярдів у 1 мл. Вводять сперму в канал шийки матки. Доза нерозрідженої сперми на одне осіменіння – 0,05 мл, розрідженої – 0,1–0,15 мл; у дозі сперми повинно міститися не менше 80 млн активних спермійів.

Штучне осіменіння проводять *цервікально*, використовуючи скляний шприц-катетер (мікрошприц) з дозуючим пристроєм або шприц - напівавтомат конструкції А.Н. Лихачова та піхвові дзеркала двох розмірів (для овець і ярок).

3. Техніка штучного осіменіння овець.

Вівцематку в охоті фіксують у спеціальному станку, встановленому на обертальному диску проти вікна чи спеціальної освітлювальної лампи. Позаду станка роблять облицьовану яму для ніг техніка глибиною 40 см, а справа і зліва ставлять столики для інструментів.

Овець, що прийшли в охоту, чабани та підсобні працівники заводять по черзі у станок і обробляють у них зовнішні статеві органи. Технік лівою рукою вводить у піхву овечки чисте, незаражене та зволене дзеркало, оцінює фізіологічний стан статевих шляхів, знаходить шийку матки і через дзеркало вводить у неї кінець катетера на глибину 1–2 см; відтягує дзеркало дещо назад і, натискаючи на поршень чи курок шприца напівавтомата, вводить у шийку матки необхідну дозу сперми. Виймає з піхви шприц і дзеркало, передає дзеркало для обробки санітарці, а сам обробляє зовнішню поверхню шприца спиртовим тампоном і встановлює дозу для осіменіння наступної овечки; чабани за цей час видаляють осіменену овечку з станка і заводять на її місце іншу. При осіменінні молодих овець не завжди вдається ввести у піхву дзеркало. У таких випадках проводять піхвове (парацервікальне) введення сперми без застосування піхвового дзеркала. При цьому способом мікрошприц

(краще з вкороченим та оплавленим кінцем) вводять по верхньому склепінню піхви до упору, тоді відтягують його приблизно на 1 сантиметр і витискають вдвоє більшу дозу сперми на шийку матки.

При осіменінні овець заморожено-розмороженою спермою користуються скляним шприцом-катетером з гелікоїдною (гвинтоподібною) кінцевою частиною, обертання якої наліво під час осіменіння забезпечує вгвинчування інструмента в краніальну частину шийки матки.

Після закінчення осіменіння інструменти промивають гарячою водою і стерилізують кип'ятінням або фламбуванням (піхвові дзеркала).

З осіменених овець формують групи (отари) по кожній чабанській бригаді, приєднуючи до осіменених за перший день самок, осіменених на 2-й, 3-й і т. д. день. З 12-го дня від початку штучного осіменіння починають виявляти овець у охоті і в отарі осіменених самок.

Можна осіменених за день овець повертати назад в отару. В цьому випадку, починаючи з другого дня, у отарі щоденно виловлюють тих самок, які прийшли у охоту вперше, і тих, у яких охота продовжується.

По закінченні штучного осіменіння в отари пускають баранів-плідників, попередньо оцінених за якістю сперми для так званої "зачистки" (покриття маток, які регулювали після штучного осіменіння). Доцільно цих плідників розподілити на 2 групи і пускати до маток по чергу. На ніч баранів слід вилучати з отари в окремі оцарки, підгодовувати їх сіном, соковитими та концентрованими кормами.

"Зачистку" отар бажано проводити в межах 1-1,5 статевих циклів, тобто впродовж 20-25 днів.

4. Штучне осіменіння кіз.

При проведенні штучного осіменіння кіз необхідно враховувати такі особливості: по-перше кози більш скороспілі у порівнянні з вівцями, статевої зрілості вони досягають у віці 5-7 місяців; по-друге на відміну від овець кози приходять в охоту нерівномірно, у незапліднених тварин статеве збудження повторюється через 18-22 доби, хоча є випадки повторення охоти через 5-7 діб; по-третє, якщо незапліднені вівці починають приходити в охоту повторно з 12-го дня після осіменіння, то кози з 5-го, а тому виявлення не-запліднених самок серед кіз починають проводити уже з 5-го дня після осіменіння. Має місце суттєва різниця між вівцями і козами в динаміці прояву статевого збудження. Вівці протягом перших трьох тижнів парувального сезону приходять в охоту майже рівномірно, і пробники виявляють щоденно близько 5-7% тварин, тоді як у кіз за цей період спостерігається три підйоми статевого збудження і приходять в охоту 13% і більше кіз, після чого на-стають різкі спади, при яких цапи-пробники виявляють лише 0,5-1% кіз з ознаками статевої охоти.

Тривалість спонтанної охоти в кіз у середньому становить 42 години, разом з тим при природному паруванні охота скорочується до 34 годин. Овуляція фолікулів у кіз настає через 28-34 години від початку охоти, життєздатність виділених при овуляції яйцеклітин триває понад 5 годин.

У дні масового приходу кіз в охоту слід практикувати дворазове її виявлення: о 7-8 годині ранку та о 15-16 годині дня. Основним методом виявлення ознак охоти є *рефлексологічний* – з використанням цапів-пробників. Кіз, відібраних уранці, осіменяють через 3-4 години після закінчення вибірки, а кіз, відібраних увечері, - якомога раніше наступного дня.

При штучному осіменінні кіз дотримуються тих самих ветеринарно-санітарних правил і користуються тими ж самими інструментами, що й при осіменінні овець. Об'єм і доза сперми при осіменінні залежать від методу зберігання та місця введення: при цервікальному введенні нативної сперми доза становить 0,05 мл, розрідженої – 0,1-0,15 мл; при піхвовому – 0,2-0,3 мл. Мінімальна кількість спермій з ППР у спермодозі має бути відповідно 80 млн та 160-240 млн.

Тема 2.4. Технологія штучного осіменіння свиноматок

Питання:

1. Біологічні основи відтворення свиноматок.
2. Організація штучного осіменіння свиноматок.
3. Технологія штучного осіменіння свиноматок.

1. Біологічні основи відтворення свиноматок.

Статевої зрілості свині досягають у віці 7-8 місяців, а господарської зрілості свинки досягають при масі тіла 100 кг. Тривалість статевого циклу у них становить 19-21 доба, а статеві охоти – 24-72 години. Зрілі фолікули починають овулювати з другої доби від початку охоти і відбувається овуляція асинхронно. Тривалість життя яйцеклітин після овуляції становить 6-10 годин. Свині багатоплідні і здатні давати потомство у всі сезони року, але найкращих поросят одержують від зимового поросіння.

2. Організація штучного осіменіння свиноматок.

Штучне осіменіння – прогресивний метод відтворення поголів'я, який дозволяє за рахунок максимального використання кнурів-поліпшувачів швидко і масово підвищити продуктивні якості свиней. Цей метод дає високу зоотехнічну і економічну ефективність і по праву вважається основним методом відтворення свиней.

Штучне осіменіння проводиться по двох організаційних формах. У господарствах з невеликою кількістю свиноматок облаштовують так званий *підсобний пункт штучного осіменіння*, який працює на привозній спермі (отримують із державних станцій штучного осіменіння, районних і міжрайонних племпідприємств). У великих спеціалізованих свинарських господарствах організовують внутрішньогосподарські *основні пункти штучного осіменіння*, де утримують кнурів-плідників від яких одержують сперму, оцінюють її якість, розбавляють і використовують для осіменіння маток.

Основний пункт штучного осіменіння включає такі виробничі приміщення: лабораторію; мийну; стерилізаційну; манеж для одержання сперми від кнурів; приміщення зі станками (2,5х3,5 м) для утримування кнурів (основних та ремонтних). До основного пункту мають входити допоміжні приміщення - кімната для працівників, духова, комора. На підсобному пункті достатньо мати, окрім цеху осіменіння, лабораторію і мийну.

Орієнтовна потреба кнурів на основному пункті визначається з розрахунку: один плідник, перевірений за якістю потомства, на 450-500 маток. Бажано мати резерв – 50-60% кнурів більше норми. На основному пункті важливою є робота по привчання молодих кнурів віддавати сперму на чучело. Починають привчати тварин до садок на чучело з 7-8 – місячного віку. Цю роботу проводять у манежі для одержання сперми, де має дотримуватись тиша, не яскраве освітлення, категорично забороняється присутність сторонніх людей. З кнурами поводяться спокійно, впевнено, але не грубо, оскільки грубе відношення до тварин буде викликати у них прояв захисного рефлексу і взагалі гальмування статевих рефлексів.

На фермі має бути визначений порядок осіменіння. Потреби сперми планують з розрахунку дворазового осіменіння протягом статевої охоти. На одне осіменіння витрачається від 100 до 150 мл розбавленої сперми з вмістом 3-5 млрд. спермій.

3. Технологія штучного осіменіння свиноматок.

Виявлення охоти. Виявлення статевої охоти у свиней проводять трьома способами: з допомогою кнурів-пробників; клініко-візуально (огляд зовнішніх статевих органів, пробні натискання рукою на поперек, спостереження за поведінкою тварин); з допомогою спеціального приладу естрометра. Слід зауважити, що головним методом виявлення охоти у свиней залишається рефлексологічний (за допомогою кнура-пробника).

Виявлення маток у стані статевої охоти з допомогою кнурів-пробників. Пробниками використовують плідників, які не представляють племінної цінності. Потреба кнурів-пробників визначається з розрахунку один пробник на 100 маток. Використовують пробників з 8-9 місячного віку. Для того щоб підтримувати статеві рефлексі і вони не згасали у пробників їм рекомендується 2-3 рази протягом місяця давати садку на матку в стані статевої охоти. Щоденне використання пробників обумовлює їх виснаження. Оптимальним режимом є один день використання, а потім два дні відпочинку і т.д. В зв'язку з цим слід мати три групи пробників.

Виявлення охоти проводять один або два рази протягом дня (вранці і ввечері). Дворазове виявлення маток в охоті забезпечує більш високі результати запліднення. Виявлення маток в охоті проводять в один і той же час, як правило після годівлі тварин. У прохід свинарника між клітками, де утримуються матки, вибрані для осіменіння, заганяють пробника. Свиноматок, які реагують на пробника, по чергово випускають у прохід і дають пробникові можливість зробити пробу садки. Якщо свиноматка стоїть спокійно під кнуром, то вважають, що охота у неї розпочалася і її можна осіменяти. Свиноматок, у яких виявлено охоту, переганяють у манеж для штучного осіменіння, розподіляють їх по станках-боксах і витримують там певний час (до 12 год.) Протягом цього часу вони звикають до місця в станках і заспокоюються. Лише після цього їх осіменяють з таким розрахунком, щоб потрапляння сперми у яйцепроводи співпадало з виходом туди яйцеклітин.

При одноразовому виявленні охоти (вранці) молодих і дорослих свиноматок осіменяють двічі: безпосередньо після виявлення та через 24 години після першого осіменіння. Якщо охоту виявляють двічі на добу (вранці та ввечері), то перше осіменіння проводять через 12 годин після виявлення охоти, а друге – через 12 годин після першого. При триразовому виявленні охоти протягом доби свиноматок осіменяють одноразово: молодих через 30 годин, дорослих – через 24 години від початку охоти.

Осіменяти свиноматок можна безпосередньо у станку, де вони утримуються або ж у спеціальній клітці; влітку клітку ставлять у розкіл, над яким влаштовують навіс. Слід не забувати, що статевий акт у свиноматок тривалий (3–4 хв.), тому і штучне осіменіння їх повинно бути такої ж тривалості.

Техніка осіменіння.

Існує два методи штучного осіменіння свиноматок: *розрідженою спермою і фракційний метод* Полтавського інституту свинарства, запропонований академіком А. В. Квасницьким.

Осіменіння свиней розрідженою спермою. При цьому способі осіменіння у статеві шляхи свиноматки вводять попередньо розріджену або збережену сперму в об'ємі біля 1 мл на 1 кг маси тіла, але не більше 150 мл. Розрідження сперми проводять з таким розрахунком, щоб у дозі на одне осіменіння було 4–5 млрд. рухливих спермій. Для введення розрідженої сперми у статеві шляхи свиноматок користуються поліетиленовим приладом ПОС–5 запропонованим С. І. Сердюком і А. Л. Беліковим або ж його модифікація-ми, універсальним приладом УКП-1 та скляним приладом з пробкою і гумовими трубками (спосіб ВІТа).

Перед введенням флакони зі спермою підігрівають у водяній бані до 30–35°C протягом 5–7 хв. Після перевірки рухливості спермій флакони ставлять у паралоновий термос, а стерильні катетери – в стерильні поліетиленові чохла.

Свиноматку фіксують у клітці, наводять туалет зовнішніх статевих органів (обмивають теплою водою з милом, споліскують розчином фурациліну (1 : 5000) і витирають ватним тампоном). Монтують прилад для осіменіння (сперми кришку флакона знімають і приєднують катетер з муфтою), вільною рукою злегка розсувають статеві губи свині і обережно вводять катетер у піхву, спрямовуючи спочатку догори, під кутом 20–25°, а тоді – горизонтально на глибину 25–40 см до упору. Підіймають флакон вище рівня спини свиноматки і перевертають його догори дном; сперма вільно поступає у матку. Бажано, щоб катетер при цьому був уведений якомога глибше у шийку матки. Після звільнення флакона від сперми катетер залишають на 1–2 хвилини у попередньому положенні, а тоді виймають його легкими обертальними рухами. Якщо сперма витікає з флакона дуже повільно, то можна стиснути флакон чи гумову грушу в руках або ж зробити надріз в області дна одноразового флакона. Проте не слід вливати сперму швидко. Звичайно на осіменіння однієї великої свиноматки затрачають 2–5 хв., а дрібної – до 10 хвилин. Якщо ж сперма цілком не вливається, а це може трапитись при несвоєчасному (передчасному чи запізнілому) осіменінні, стресових ситуаціях, що супроводжуються викидом наднирниками епінефрину (гормон “страху”), що блокує антиперистальтичні скорочення матки, закупорюванні просвіту катетера погано профільтрованою спермою чи при щільному приляганні отвору катетера до стінки шийки матки, то необхідно усунути вказані причини і завершити осіменіння. При щільному приляганні катетера до стінки шийки матки його легко повертають і дещо відтягують назад. Коли ж сперма під час осіменіння витікає з піхви, то введення її припиняють, повертають флакон, опускають його нижче спини і змінюють положення катетера. Після цього продовжують введення сперми.

Засмоктуючи активність матки можна стимулювати шляхом масажу клітора через стінку нижнього кута вульви, попереми́нним натисканням на

спину свиноматки рукою чи, нарешті, можна сісти на свиноматку задом наперед і таким чином імітувати тиск кнура під час коїтусу.

При фракційному способі осіменіння у статеві шляхи свиноматки вводять спочатку невелику кількість нерозрідженої чи слабо розрідженої сперми, тоді у 1,5–2 рази більший об'єм розріджувача-заповнювача, який проштовхує сперму у роги матки і, нарешті, нагнітають повітря. Для введення сперми користуються ампульним приладом, універсальним термос-приладом або ж універсальним зондом з флаконами (УЗК–5 чи УЗК–6).

Ампульний прилад складається з двох градуйованих скляних ампул місткістю по 100 мл, закріплених на дерев'яній дощечці і з'єднаних внизу через трійник з гумовою трубкою, що йде до катетера. Зверху у корок кожної ампули вмонтовано трубку, що з'єднує її через трійник з повітряним фільтром з кулями Річардсона. Якщо температура у приміщенні, де проводять осіменіння, нижча 18 °С, то краще користуватися термос-приладом. Це той же ампульний прилад, лише вмонтований у дерев'яний футляр з обігрівальними колонками з боків, розрахований на осіменіння 5–7 свиноматок. Підготований прилад заповнюють спермою і розріджувачем, вішають його на спеціальній планці клітки, де вже стоїть зафіксована свиноматка, і проводять осіменіння. Вводять обережно катетер приладу у піхву свині, спочатку знизу догори, а тоді горизонтально до упору його гумової голівки у складки шийки матки. Відкривають затискач ампули зі спермою і, нагнітаючи повітря кулями Річардсона, виштовхують сперму в матку; закривають затискач ампули зі спермою і відкривають затискач ампули з заповнювачем. Сперма при цьому проштовхується до яйцепроводів. Зразу ж після введення заповнювача нагнітають 100 см³ повітря. Дозу сперми встановлюють залежно від її якості, віку свиноматки та кваліфікації технік. Якщо осіменіння проводить мало досвідчений технік, то свиноматці спочатку вводять 50 мл нерозрідженої сперми, а тоді – подвійну дозу заповнювача та повітря, якщо ж технік добре володіє навиками визначення густини та рухливості спермій, то дозу сперми та розріджувача визначають у відпо-відності з наявною в інструкції таблицею. Загальна кількість спермій з ППР у дозі на одне осіменіння повинна складати для молодих свиноматок – 2, а для дорослих – 3 млрд. У якості розріджувача застосовують глюкозо-сольовий розчин. Виготовляють розріджувач і додають його до сперми безпосередньо перед осіменінням.

Осіменіння свиноматок фракційним способом можна також проводити за допомогою універсального зонда (УЗК–5 чи УЗК–6), який складається з напівжорсткого металевого катетера з гумовою голівкою на кінці, двох флаконів із з'єднуючими трубками, ручки, повітряного фільтра та куль Річардсона. На вільному кінці зонда є голівка з м'якої гуми, яка щільно прилягає до стінок каналу шийки матки і закриває її просвіт. Перед осіменінням монтують прилад: приєднують до зонда два флакони (один зі спермою, другий – з розріджувачем-заповнювачем). Свиноматку фіксують у спеціальній клітці, наводять туалет зовнішніх статевих органів, після чого злегка розсувають статеві губи, вводять катетер до упору в шийку матки, відкривають затискач ампули з спермою і, нагнітаючи повітря кулями Річардсона, вводять

сперму в матку. Після введення закривають затискувач від ампули зі спермою і відкривають затискувач ампули з синтетичним середовищем (друга фракція). Іноді вводять третю фракцію (повітря) в об'ємі 200 см³ дорослим свиноматкам і 50-100 см³ – молодим самкам. Введення сперми свиноматкам триває 2-3 хв. Після введення зонд обережно виймають, очищають стерильною серветкою і перед наступним введенням знезаражують кип'ятінням фламбуванням на полум'ї спиртівки. Після закінчення роботи прилад розбирають, миють 2-3 % розчином двовуглекислої соди, споліскують і стерилізують.

З недавнього часу для фракційного введення сперми свиноматкам почали використовувати універсальний комплексний прилад УКП-1, який складається з катетера, сполучної муфти та двох поліетиленових флаконів на 100 мл. Як стверджують автори запропонованого інструменту, його перевага полягає в тому, що під час осіменіння у матку не вводиться повітря і тим самим попереджується попадання сапрофітної мікрофлори у статеві органи свині.

Техніка осіменіння маток приладом УКП-1 така. Один із флаконів заповнюють розбавленою спермою в кількості 35 - 40 мл, де повинно бути 2 млрд. прямолінійно-рухливих спермій, а другий - розбавником (заповнювачем) - 70 - 80 мл. Як заповнювач використовують глюкозо-сольовий розчин. Потім до корпусу приладу приєднують заповнені флакони та стерильний катетер.

Свиноматку фіксують у спеціальній клітці, наводять туалет зовнішніх статевих органів, після чого злегка розсувають статеві губи і вводять катетер до упору в шийку матки. Після введення катетера в статеві шляхи свиноматки прилад повертають так, щоб флакон зі спермою зайняв верхнє положення. При натисканні на верхній поліетиленовий флакон клапан відкриває отвір у клапанній парі, і сперма надходить через канал у катетер. Одночасно під тиском рідини клапан перекриває канал, який веде до флакона із заповнювачем, що припиняє надходження в нього сперми. Увівши потрібну кількість розбавленої сперми і не виймаючи катетера із статевих шляхів свиноматки, прилад обережно повертають навколо поздовжньої осі катетера на 180°. У цьому разі флакон із заповнювачем займає верхнє положення, а порожній - нижнє. При натисканні на флакон із заповнювачем останній у кількості 70 - 80 мл надходить через катетер у матку. Зачекавши 15 - 20 сек., катетер обережно виймають із статевих шляхів свиноматки. Сперму і заповнювач потрібно вводити повільно. При осіменінні наступної свиноматки використаний катетер замінюють на стерильний.

При осіменінні свиноматок будь-яким способом сперма, заповнювач та катетер приладу повинні мати температуру біля 30°C, оскільки холодна сперма майже повністю витікає із статевих органів свині. Щоб запобігти зворотному витіканню сперми з піхви, свиноматок витримують до кінця охоти в індивідуальних станках або ж 1–2 доби у тих станках, де їх осіменяли, оскільки у загальних станках тварини з незавершеною охотою плигають одна на одну. У тих випадках, коли під час осіменіння розлилася значна частина сперми або ж витекла з піхви, свиноматку осіменяють повторно. Для своєчас-

ного виявлення незапліднених свиноматок з 16–18-го дня після осіменіння встановлюють старанний нагляд за ними (можна допускати пробника) і при появі охоти – осіменяють.

Тема 2.5. Технологія штучного осіменіння коней

Питання:

- 1. Біологічні основи відтворення коней.*
- 2. Організація штучного осіменіння кобил.*
- 3. Технологія штучного осіменіння кобил.*

1. Біологічні основи відтворення коней.

Відомо, що кобили мають певні особливості відтворення порівняно з самками інших видів сільськогосподарських тварин. Насамперед, це стосується тривалості статевого циклу і охоти, особливостей овуляції, міграції зиготи, функціонування яєчників та ін.

Кобил відносять до самиць із сезонною поліциклічністю, що проявляють статеву активність в період довгого світлового дня і не проявляють її зимою. У березні – квітні у них збільшуються яєчники і біля 70 % кобил проявляють уже в присутності жеребця прояви охоти, але, лише у 50–60 % з них настає овуляція. У травні – червні статеве збудження у кобил вже яскраво проявляється. Охота вже буває коротшою (5–6 днів) і майже завжди завершується овуляцією. Сприяє цьому випасання кобил, заміна “сухого” раціону свіжою зеленою травою, а також моціон, що активізує загальний кровообіг. Вкорочення світлового дня з серпня по жовтень зменшує частоту пульсації ФСГ, знижується функціональна активність яєчника (осінній перехідний період). Значно знижується концентрація в крові ФСГ і ЛГ. Дуже низькою концентрація ЛГ в сироватці крові буває зимою (біля 1 нг/мл). Анестральний період у кобил становить біля 110 днів (Tischner Jr., 1996).

Органи розмноження у кобил починають функціонувати вже у віці 12... 18 міс., тобто з цього часу в яєчниках відбувається процес утворення і дозрівання яйцеклітин (овогенез). Однак господарської зрілості коні досягають лише у віці 3 років. У цьому віці молодих кобил вперше парують чи штучно осіменяють. Тривалість статевого циклу у кобил коливається від 19 до 22 днів, а статєва охота триває в середньому від 3 до 7 діб з коливаннями від 2 до 12. Фолікули в яєчниках кобил розвиваються в фолікулярній ямці – малій кривизні яєчника, тому при ректальному дослідженні їх порівняно легко знаходити. Овулюють фолікули зазвичай у другій половині охоти, ближче до її закінчення, однак у кобил нема визначеного зв'язку між початком охоти та часом настання овуляції. Зовнішні ознаки охоти у кобил затухають на протязі 24...36 год після овуляції. Сам процес овуляції відбувається на протязі декількох годин. В цей період м'язи стінок яйцеводу скорочуються хвилеподібно, сприяючи просуванню яйцеклітини по яйцеводу.

Після виділення з фолікулу яйцеклітина зберігає здатність до запліднення на протязі 5-6 год., тому парування (осіменіння) кобил варто проводити до овуляції, як можна ближче до її початку. Треба враховувати і те, що спермії жеребця зберігають запліднювальну здатність у статєвих шляхах на протязі 1-2 діб.

2.Організація штучного осіменіння кобил.

Широке запровадження штучного осіменіння коней довгий час гальмувалося негативним ставленням до цього заходу асоціації кіннозаводчиків. Останнім часом з'явилися певні зрушення у цьому питанні. Відбулася деяка лібералізація поглядів на штучне осіменіння. Нині штучне осіменіння коней застосовується у багатьох країнах. Тим не менше, в окремих країнах, боячись поширення інбридингу серед окремих порід коней, не дозволяється отримання від одного жеребця більше 120 лошат за рік і 700 лошат протягом його життя.

Строки початку і закінчення парувального сезону залежать від природно-кліматичних умов і прийнятої в господарстві технології утримання коней. Особливу увагу звертають на забезпеченість кормами і конярськими будівлями. В племінному конярстві при конюшинному і конюшинно-пасовищному утриманні оптимальним для штучного осіменіння і парування вважають період з 1 лютого по 15 червня, а при культурно-табунному, в залежності від наявності конюшень для ранньої вижеребки кобил, з 1 квітня по 15 липня або ж з 1 травня по 1 липня. В робочокористувальному конярстві з метою ефективного використання кобил на роботах в весняно-літній період бажано починати парувальну кампанію з 1 березня і закінчувати 15 липня.

Штучне осіменіння кобил, як правило проводять в умовах пункту, який розміщують в типових або пристосованих приміщеннях, що відповідають технологічним та ветеринарно-санітарним вимогам. Вони повинні мати манеж, лабораторію і мийну. А міжгосподарські пункти повинні мати ще і приміщення для утримування жеребців-плідників, підсобне приміщення для комору для зберігання упряжі і фуражу та вигульний майданчик для моціону жеребців.

Манеж для одержання сперми і осіменіння кобил повинен мати площу 50м², висоту 4м з природнім освітленням 1 : 10. Підлогу манежу покривають м'яким асфальтом і облаштовують стік для води. Стіни манежу фарбують світлими фарбами. Температура повітря в манежі має бути не нижче 18°C. Для фіксації кобил у манежі встановлюють дерев'яний або металевий станок.

Лабораторію для дослідження, розбавлення і зберігання сперми розміщують у світлому приміщенні з дерев'яною підлогою і опаленням. Стіни лабораторії фарбують світлими фарбами. Температуру повітря в лабораторії необхідно підтримувати на рівні 18-25°C. Біля стін встановлюють лабораторні столи для інструментів, мікроскоп з термостатом, посуд та інші прилади. У лабораторії бажано мати лабораторні табуретки, шафу для зберігання інструментів і матеріалів, шафу-термостат, що відрегульована на температуру 30-35⁰ С для посуду та інструментів.

Мийна кімната служить для миття і стерилізації всіх інструментів, посуду, підготовки штучних вагін для одержання сперми від жеребців. У мийній необхідно мати холодну і гарячу воду, сушильну шафу, два столи – один для використаного, а інший для чистого посуду.

На філіях пунктів, де осіменяють кобил тільки транспортованою спермою, обладнують манеж для осіменіння кобил та приміщення-лабораторію (що опалюється) для зберігання термосів зі спермою, інструментів і підготовки посуду та апаратури.

3. Технологія штучного осіменіння кобил.

Виявлення охоти. Штучне осіменіння кобил проводять при наявності у них ознак тічки та охоти. Тічка у кобил виражена значно слабше, ніж у корів. Рідкий прозорий слиз у них починає виділятися з шийки матки у піхву лише незадовго до овуляції. Значно сильніше у них змінюється поведінка, знижується апетит. Охота з'являється у більшості кобил через 7–10 днів після вижеребки, іноді раніше, тому виявляти її починають з 3–4-го дня після вижеребки. І роблять це за допомогою жеребця-пробника. З цією метою підводять кобилу і жеребця з різних боків до дерев'яного бар'єра або загороді і спостерігають за поведінкою кобили. При відсутності бар'єра, жеребця підводять на довгих поводях (розтяжках) спочатку до голови кобили, а тоді, якщо вона стоїть спокійно, до крупа. Вигідніше проводити пробу в станку, оскільки так легше втримати кобилу, а жеребець не може покрити її і він захищений від ударів. Кобила у стані охоти проявляє неспокій, часто виділяє сечу, мигає петлею. Проте кращі результати, згідно В. С. Шипілова, дає поєднання ручного виявлення охоти за допомогою жеребця-пробника з використанням оперованого жеребця-пробника. Як встановив Х. І. Животков, іноді молоді, нервові, слабо привчені до обстановки ручної проби кобили відбивають жеребця, тоді як у табуні вони допускають садку з оперованим жеребцем-пробником, з чого було зроблено висновок про доцільність подвійного виявлення охоти за допомогою ручної проби та оперованого жеребця-пробника.

Виявлення кобил у охоті повторюють через день. З метою виявлення незапліднених тварин серед осіменених через 8–10 днів після осіменіння знову проводять серед них пробу на наявність охоти.

Крім прямого виявлення охоти у кобил можна також застосовувати ректальне дослідження яєчників для встановлення ступеня зрілості фолікула. При цьому досліджують форму фолікулів, їх розміри, консистенцію (пружність, м'якість), флуктуацію (переміщення) рідини в дозрілому фолікулі. За цими ознаками визначають різні стадії зрілості фолікула, які умовно позначають літерою "Ф" з цифрою наступних стадій зрілості:

Ф⁰ – нормальний яєчник у спокої, форма бобоподібна, розміри в середньому такі: довжина 5-7 см, ширина 3 см, товщина 2 см, консистенція щільна, фолікул відсутній;

Ф₁ – початок зрілості фолікула, яєчник набуває форми неправильного бобу внаслідок збільшення овуляційної ямки, де настає ріст фолікула, який прощупується у вигляді невеликого пом'якшення;

Ф₂ – зріючий фолікул, яєчник збільшується за розмірами, набуває грушоподібної форми, у фолікулі прощупується слабка флуктуація рідини;

Ф₃ – фолікул майже досяг зрілості, яєчник збільшений, має грушоподібну форму: фолікул кулеподібний і має значну флуктуацію;

Ф₄ – фолікул зрілий, має форму кулі (нагадує куряче яйце без шкаралупи), стінки його дуже потоншені, добре відчувається флуктуація;

ОВ — після завершення овуляції яєчник порівняно менший від Ф₄ за розмірами; місце яєчника, де розвивався фолікул, м'яке, складчасте.

Осіменіння кобил розпочинають при яскраво вираженій охоті і повторюють через кожних 1–2 дні, аж до припинення тічки та охоти. Якщо у господарствах практикується діагностика зрілості фолікула, то кобил осіменюють на 3–4-й стадії його дозрівання.

Способи осіменіння та інструменти.

При штучному осіменінні кобил застосовується маточний спосіб, коли сперма вводиться безпосередньо в матку. Осіменіння проводять як розрідженою, так і нерозрідженою спермою. Нерозрідженою спермою осіменюють лише у тих випадках, коли отриманої сперми вистачить для осіменіння усіх кобил, що прийшли в охоту. Використовувати таку сперму можна не довше 30 хв. з моменту її отримання. У тих випадках, коли для осіменіння кобил необхідно більше часу, сперму розріджують. Дозволяється використовувати для осіменіння нерозріджену сперму жеребця з концентрацією у ній спермійів не менше 50 млн в 1 мл і рухливістю не менше 5 балів. Розріджена і збережена до двох діб при 0 °С сперма повинна мати рухливість не менше 4 балів. Доза як розрідженої, так і нерозрідженої сперми на одне осіменіння однако-ва: 40 мл для великих і старих кобил та 25–30 мл для молодих кобил. У дозі сперми повинно бути не менше 5 млрд рухливих спермійів.

В деяких країнах практикують осіменіння кобил кріоконсервованою спермою. Якщо рухливість спермійів оцінена не менш ніж 2,5 бали, то розпочинають штучне осіменіння при III-IV ступені зрілості фолікула і повторюють через кожні 24 год. до настання овуляції. Якщо ж рухливість спермійів у відтанутій спермі оцінена 2 балами, то осіменіння повторюють через кожні 12-16 год.

Осіменіння проводять мануально за допомогою спеціального полістеро-лового або ж гумового катетера та шприца об'ємом 20-50 мл. В окремих випадках для осіменіння використовують піхвове дзеркало, катетер Криво-ручко або ж ебонітовий катетер.

Техніка осіменіння.

Для осіменіння кобилу заводять у станок чи тримають за повід. Щоб вона не могла вдарити тазовою кінцівкою, їй одягають парувальну шлею або підіймають передню ногу. Хвіст кобили забинтовують і відводять на бік, зовнішні статеві органи обмивають з кружки теплою водою і витирають ватним тампоном. При осіменінні кобил за допомогою гумового катетера і шприца технік одягає на зручну для себе руку одноразову поліетиленову рукавичку, зволожує її спеціальним гелем, бере у підготовлену руку звужений кінець

катетера, притискає його великим пальцем до долоні і вводить у піхву без дзеркала (мануально-маткове осіменіння). Вказівним пальцем знаходить отвір шийки матки, спрямовує туди кінець катетера і вільною рукою просуває його на глибину 10–15 см. Помічник приєднує до вільного кінця катетера шприц (або ампулу) зі спермою і, натискаючи на поршень, вводить сперму у матку.

Якщо ж на пункт сперму доставляють у спеціальних ампулах, то кобил осіменяють ампульним способом. Таку сперму можна вводити у матку безпосередньо з ампули. Для цього, знявши ковпачок із звуженого кінця ампули зі спермою, одягають на нього трубку, з'єднану з гумовою грушею, беруть ампулу в руку, відкривають її тупий кінець, затуляють його вказівним пальцем і вводять руку у піхву. Знайшовши шийку матки, вставляють в її отвір кінець ампули і, стискаючи гумову грушу, вводять сперму в матку.

Якщо для осіменіння використовують ампулу Растяпіна, то після обтирання її ззовні спиртовим тампоном, знімають з вузького кінця ампули гумовий ковпачок і приєднують її до ебонітового або гумового катетера, введеного у шийку матки кобили. Виймають корок з широкого кінця ампули і сперма самопливом поступає в матку.

Якщо осіменіння кобил проводять з використанням твердого катетера, то вводять його в матку лише через піхвове дзеркало (візуально-маткове осіменіння). З'єднують катетер зі шприцом за допомогою спеціальної муфти, обрізка гумового катетера довжиною 2,5–3 см або металевого хомутика. Технік вводить лівою рукою у піхву кобили чисте незаражене і зволене піхвове дзеркало, знаходить шийку матки і правою рукою вводить у неї катетер на глибину 10–15 см. Помічник приєднує до кінця катетера шприц, наповнений спермою, і вводить її в матку. Цим методом користуються у господарствах, небезпечних за заразними захворюваннями, оскільки тверді катетери і піхвові дзеркала легко незаражуються. Якщо готовність кобили до осіменіння визначали шляхом ректального промацування яєчників і виявляли, у якому з них є дозрілий фолікул, то при осіменінні катетер скеровують у той ріг матки, що з'єднаний з цим яєчником.

Після кожного осіменіння кобил треба витримувати у деннику чи стійлі не менш 1–2 год. чи водити на повідку не менш 20 хв.

Тема 2.6. Теоретичні передумови і технологія штучного осіменіння кролів

Питання:

- 1. Морфологічні та фізіологічні особливості статевих органів кролів.*
- 2. Особливості біології розмноження кролів .*
- 3. Технологія штучного осіменіння кролів.*

1.Морфологічні та фізіологічні особливості статевих органів кролів.

Видові особливості морфології статевих органів самців кролів:

- у кроля пахвинні кільця широкі, сім'яники овальної форми становлять 0,2-0,3% від маси тіла, легко просуваються з черевної порожнини в мошоку і назад. Придатки сім'яників добре розвинуті, мають потовщення на задньому кінці. Сім'явиносні протоки впадають у загальний сечостатевий синус, на краніальному кінці мають розширення (ампули) в яких знаходяться слизові залози. Передміхурова залоза добре розвинута, складається з п'яти долей. У кролів є так звана «чоловіча матка» - залоза, яка відповідає сім'яним міхурцям і відкривається в сечовивідний канал поблизу місця де впадає сім'япровід. Міхурцеві залози редуковані, а бульбоуретральні навпаки – великі, розташовані на межі з печеристими тілами сечостатевого каналу. Статевий член невеликий, хоча під час стадії ерекції сягає до 4 см в довжину;

Видові особливості морфології статевих органів самок кролів:

- у кролиць, як у всіх гризунів матка подвійна, тобто, у них є дві самостійні матки, кожна з яких має свою шийку, тіло і ріг, що підвішені на широкій матковій зв'язці; яйцепроводи порівняно невеликі, малопомітні. Яєчники мають овальну форму, що нагадує невелику горошину чи квасольку. Поверхня яєчників у статеві дозрілих самок нерівна, горбкувата.

2.Особливості біології розмноження кролів.

Час настання статевої та фізіологічної зрілості кролів.

Кролі мають високу інтенсивність розмноження (багатоплідність), короткий період вагітності, ранню фізіологічну зрілість та можуть поєднувати лактацію з сукрільністю. Самки дають приплід протягом всього року і лише в осінній період їх статеві активність дещо знижується.

Статева зрілість у кролів настає в 3–4,5 місячному віці. Однак навіть самок крупних порід парують у віці старше 5 місяців. При цьому їх жива маса повинна складати 3,5 кг, а у середніх порід – 2,5 кг або, коли їх жива маса досягає 2/3 живої маси дорослих кролів.

Добре розвинених самців можна використовувати для парування з 5–6 місячного віку до 4 років.

Строк використання племінних самок у стаді, в середньому 3 роки, але може сягати і 4–5 років.

Більшість авторів схильні вважати, що у кролиць статевий цикл перебігає без чіткого проявлення феноменів стадії збудження. Це підтверджується

тим, що кролиця може бути запліднена вже в 1- 2- у добу після окролу, а овуляція в них відбувається через 10 – 12 годин після природного спарювання, або ж механічного подразнення піхви в ділянці шийок матки. Саме цю особливість кролиць і використовують при організації стислих окролів з метою отримання від них більшої кількості приплоду.

Інші автори вважають, що охота у кролиць спостерігається в усі пори року. Тривалість статевої охоти кролематок 5–6 днів, повторюється охота у них через 5–7 днів у теплу пору року, та через 8–9 днів в холодний період року, але взимку вона настає переважно після потепління, а під час морозів цей феномен, як правило, не проявляється. Охота характеризується почервонінням і набряком зовнішніх статевих органів, а також збудженим станом і, якщо ці ознаки добре виражені, то самка лягає на підлогу клітки і витягується при погладжуванні рукою. Вважається, що кролиці з чітко вираженою охотою добре підпускають кроля до спарювання, народжуючи потім велику кількість кроленят. З інших ознак у кролиць можна спостерігати: зниження апетиту, розкидання корму, збирання і піднесення в зубах підстилки.

Динаміка статевого циклу терміни і кратність парування кролиць після родів. Без чіткого розуміння особливостей перебігу статевого циклу у кролематок після родів або відлучення (відсадки приплоду) практично неможливо успішно вирішувати складні технологічні питання щодо відтворення цих тварин на будь якому комплексі, фермі чи фермерському господарстві, а тим більше, інтенсивно використовувати маточне поголів'я. У більшості випадків передбачається парування самок на 42 день після окролу, а відсадка молодняку – на 46.

Динаміка статевого циклу після родів

№ з/п	Вид самки	К-ть циклів	Прояв охоти після родів	Строки і кратність осіменіння
1.	Кролиця	Особливий фізіологічний стан	2 доба	На 2 добу (1-2)

3. Технологія штучного осіменіння кролів.

Штучне осіменіння полягає в тому, що сперму плідника попередньо збирають у штучну вагіну, а потім частину зібраної сперми вводять за допомогою спеціальних інструментів в статеві шляхи самки.

Метод штучного осіменіння має велику перевагу перед природним паруванням. Він дозволяє раціонально використовувати високопродуктивних самців цінних порід, швидко та ефективно займатися розмноженням кращих породних ліній і покращувати породні якості тварин. Штучне осіменіння дозволяє отримувати турові окроли, прискорювати отримання покращених племінних якостей тварин та суттєво збільшити виробництво кролятини за рахунок інтенсивнішого використання маточного стада. Штучне осіменіння – це реальна можливість отримувати більше продукції при мінімальних затратах праці.

Метод штучного осіменіння кролів розроблений давно, але на практиці поки що мало застосовується. В сучасних умовах назріла необхідність перейти на штучне осіменіння кролематок, так як дана методика дозволяє відбирати генетично цінних самців за якістю сперми і тим самим підвищувати заплідненість самок до 90%. Поряд з тим скорочується до 20% виробничих площ, які раніше були задіяні для утримання самців так як полігамне співвідношення при штучному осіменінні становить 1:40 (при 1:8 за природного парування), тобто потрібно в 5 разів менше самців-плідників.

При розведенні кролів потрібно враховувати, що саме на період з грудня по травень припадає пік активного розмноження тварин. Восени у кролів знижується статева активність, і потомство практично не народжується. Завдяки способу штучного осіменіння вирішується проблема природного періодичного зниження народжуваності. Таким чином вдається планувати появу кроленят протягом усього року, що дозволяє програмувати виробництво м'яса, виходячи із запитів ринку, пришвидшувати одержання продукції і покращувати її якість.

На практиці видно, що більшість крупних кролеферм Європи, Китаю та ряду сільськогосподарських підприємств України (україно-угорські кролівничі ферми на території Закарпаття, україно – англійське підприємство на Черкащині та ін.) переходять на широке застосування штучного осіменіння. На території країн Європейського Союзу уже створено понад 25 центрів із постачальником генетичного матеріалу, що стало таким собі «банком сперми». Це дозволяє виробити генетичне ядро самців з високими показниками.

На кролефермах Італії штучне осіменіння почали впроваджувати з 1986 року. Причиною, яка заставила фермерів застосовувати штучне осіменіння, була велика проблема із природним покриттям самок в літній період.

Відома фірма "Корн'є" (Угорщина), що має 12 тис. самок, уже багато років штучно осіменяє кролиць. Послуги в осіменінні тварин, в тому числі і кролів, надає найбільша у світі французька компанія *JMV Technologies S.A.*, що одночасно спеціалізується з випуску обладнання для штучного осіменіння.

Технологічний процес штучного осіменіння кролів подібний до осіменіння інших видів тварин, тільки набір пластикових інструментів більш мініатюрний. Технологія штучного осіменіння кролів включає такі етапи: відбір самців, взяття сперми, лабораторні дослідження сім'я, розрідження сперми та осіменіння самок.

Відбір самців. Для ролі плідників відбирають молодих, здорових самців з міцною статуєю, які мають високі господарсько-корисні ознаки, перевірені якістю нащадків, з міцною конституцією, високим проявом статевих рефлексів та найвищим абсолютним показником живучості спермійів. Заводчики відзначають, що використання сперми саме таких самців призводить до високої народжуваності кроленят.

Отримання сперми. У кролівництві використовуються два основних ритми отримання сперми: *екстенсивний ритм* (два збори через 15 хв.) раз в

тиждень; *інтенсивний ритм* (три - п'ять разів на тиждень, одноразово).

Сперму від самців беруть в тих клітках, в яких їх утримують, застосовуючи штучну вагіну, температура якої на момент взяття повинна становити 40–45°C. Вагіну обладнують спермоприймачем, який слугує резервуаром для збору еякуляту, температура якого повинна бути в межах 37–38 °C. Під час взяття сперми у кроликів потрібно дотримуватися тих же правил, що і при отриманні сперми від інших сільськогосподарських тварин: дотримуватися гігієни, оберігати еякулят від впливу сонячних променів, температурного і осмотичного шоку, не використовувати матеріали і речовини, які можуть бути токсичні для сперми.

Техніка отримання сперми полягає у наступному: перед отриманням еякуляту готують штучну вагіну зі створенням необхідних умов (температура, тиск, наявність вологості), задню частину черева і тазові кінцівки самця протирають вологою серветкою. З метою швидкого одержання сперми, що передбачає попереднє стимулювання, до самця у клітку на 5-10с підсаджують кролицю-провокатора (самка в стані охоти). Через 5-10 хв. після стимуляції беруть сперму у самця в його ж клітці з підкладеною уже спокійною неплідною самкою, яка використовується в якості фантома. Під час садки самця технік-оператор з допомогою правої руки встановлює та добре фіксує заздалегідь підготовлену штучну вагіну між задніми лапами кролиці, повернувши її отвором вгору під кутом 40-45° і підтримуючи спермоприймач вказівним пальцем. Проводити вище згадані маніпуляції рекомендується притримуючи самця лівою рукою за шкіру в області лопаток. Після того, як відбулася еякуляція (самець падає на бік з характерними звуками), штучну вагіну обережно забирають, спермоприймач від'єднують і передають його у лабораторію для проведення досліджень отриманої сперми, а на підготовлену іншу штучну вагіну отримують від даного самця сперму вдруге через 10-15 хвилин після першого еякуляту.

Лабораторні дослідження сперми.

У нормі сперма кроликів має однорідний матово-білий колір (червоне або жовте забарвлення свідчить про домішки крові або сечі). Стандартними показниками свіжоодержаної сперми кроликів є: об'єм – 0,3–0,9 мл, консистенція – сетаноподібна, показник активності спермійів не менше 6-8 балів, концентрація – від 0,05 до 1млрд./мл, рН – 7,1, максимальна кількість лейкоцитів у відібраному матеріалі - 1%, а клітин з патологіями - 5%.

Після оцінки активності і концентрації для раціонального використання і збереження біологічної повноцінності сперми вона повинна бути розбавлена, інакше вона швидко гине.

Розрідження та зберігання сперми сперми кролів.

Після оцінення еякулят розбавляють спеціальним середовищем, підігрітим до температури сперми, у співвідношенні 1:5 – 1:20 в залежності від концентрації.

В якості середовища використовують розчинники такого складу:

1. *Глюкозо-цитратний*. Даний тип розчинника виготовляють із застосуванням 3,9 г глюкози медичної безводної, 5 мл жовтка зі свіжого курячого яйця, 0,55 г лимоннокислого натрію п'ятиводного і 100 мл дистильованої води.

2. *Кергіпол*. До розчинника входить: 1,7 г глікоколу, 0,2 г бікарбонату натрію, 5 мл жовтка зі свіжого курячого яйця, а також 0,8 г ЕДТА, 1 г полівінілового спирту і 100 мл дистильованої води.

3. «*Тіхані*» (європейська ліцензія).

4. Непогано зарекомендував себе *розчинник, який використовують для розбавлення сперми кнурів*. Цей розчинник не вимагає додавання яєчного жовтка і при зберіганні в холодильнику така сперма зберігає свою запліднюючу здатність і через 24 години.

Розріджену сперму кролів зберігають використовуючи в основному короткотривалі методи зберігання. Разом з тим в лабораторіях таких країн, як Італія, Франція, Угорщина практикують зберігання сперми кроля в глибоко замороженому стані.

Для транспортування спермодоз використовують спеціальні термоси та посудини Дьюара.

Техніка штучного осіменіння кролиць.

Раніше застосування штучного осіменіння кролиць не вдавалось. Невдалі спроби штучного осіменіння самок в минулому полягали в тому, що не було достатньо вивчено проходження статевого циклу у кролематок. Пізніше було встановлено, що кролематки відносяться до групи тварин, у яких овуляція відбувається на зовнішні подразнення (запах самця, спроба самця покрити, статевий акт). Зовнішні подразники діють на кору головного мозку і на гіпоталамус, внаслідок чого у мозку утворюється гонадотропін-релізінг гормон (Гн-РГ), який поступає в передню частину мозку і звільняє там фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) та лютеїнізуючий гормон (ЛГ).

При штучному осіменінні зовнішні подразники відсутні (введення катетера недостатньо) відповідно і утворення гонадотропін-релізінг гормону не відбувається. Тому для результативного штучного осіменіння кролематок необхідно застосовувати Гн-РГ або ж їх синтетичні аналоги, які сприяють підвищенню в крові як ФСГ так і ЛГ та прискорюють дозрівання фолікулів. В основному застосовують такі препарати: *оварелін, рецентал, фертагіл*. Їх вводять внутрішньом'язово в кількості 20 І.О. на кролематку.

Зараз вважають, що для стимуляції дозрівання яйцеклітин у кролиць поряд із Гн-РГ можна застосовувати також гонадотропні препарати – *фолікулостимулюючий гормон та PMSG (Верфазер)*. Дослідженнями встановлено, що внутрішньом'язове введення 20 І.О. на кролематку вище згаданих препаратів здатне на протязі 48 годин утворювати на поверхні яєчника зрілі яйцеклітини.

Стимуляцію овуляції у кролематок за допомогою гонадотропних гормонів здійснюють у поєднанні з простагландином F2α або його аналогами. Перевагою ГСЖК є в тому, що він має тривалий період піврозпаду (50–120 годин), що зумовлено наявністю в його молекулі сілової кислоти, а отже вистачає однієї ін'єкції для викликання овуляції. Фолікулостимулюючий

гормон має нетривалий період піврозпаду (біля 6 годин), тому його вводять на протязі 4–5 днів ранком і вечером, з інтервалом між ін'єкціями у 12 годин для підтримання необхідної концентрації гормону в крові кролематки.

На даний час овуляцію яйцеклітин у кролиць викликають також введенням гормонального *препарату «Хоріогонадотропін»* у вушну вену. Проводити це необхідно як мінімум за дві години до запланованого осіменіння.

Доцільно, замість використання гормональних препаратів, для стимуляції охоти застосовувати інші фізіологічні заходи: це перестановка маток в іншу клітку, де в сусідній клітці знаходиться самець; використання вазектомованого самця; заміна складових частин корму – жирних кролематок переводять на «дієтичну» годівлю, згодовування самкам у весняно-літній період зеленої маси багатой на фітоестерогени (конюшина, люцерна, бобово-злакова суміш), випоювання підсоленої води; збільшення тривалості світлового дня (освітлення) в зимовий період.

Після проведення попередньої підготовки кролиць проводять штучне осіменіння. Метод осіменіння цервікально-матковий. Для проведення штучного осіменіння використовують спеціальні інструменти.

При осіменінні кролематок *застосовують два способи фіксації:*

1. Помічник техніку здійснює фіксацію самки *черевом доверху* так щоб голова тварини знаходилась у нього на лівому лікті, а круп на правому коліні; лівою рукою притримує самку за кінцівки, а правою легенько відтягує хвіст до низу.
2. Техніка другого способу така: помічник фіксує самку у лежачому положенні на спеціальному станку *хребтом догори* при цьому хвіст піднімає трохи вгору.

У шприц-катетер набирають свіжо-розбавлену сперму (0,3 мл) або сперму, яка зберігалася не довше 5-6 годин при температурі 0°C градусів (0,4 мл). Сперма повинна мати оцінку не нижче 6 балів і містити близько 5-10 мільйонів спермій. Для штучного запліднення кролиць також можна використовувати сперму, розморожену в термостаті при температурі 38 градусів, з активністю 3 бали, в дозі 1 мл якої міститься не менше 4,5 млн рухомих спермій.

Статеві органи самки ретельно знезаражують з використанням тампона змоченого в розчині фурациліну. Оператор зі штучного осіменіння бере у праву руку заздалегідь підготовлений інструмент (в основному використовують інструмент для осіменіння кіз та овець), а пальцями лівої руки розсовує статеву щілину кролиці. Після цього правою рукою обережно вводить шприц-катетер, направляючи його спочатку вниз, а потім за лобковим зрощенням повертає паралельно до осі хребта. Все робити треба повільно. Шприц рекомендується ввести на глибину 12-14 см, після чого вприскується спермодоза.

Після осіменіння кролематки (не пізніше 2 год.), для покращення овуляції внутрішньом'язово вводять 0,4 мл препарату «Супрефект» (робочий розчин готується перед осіменінням розчинивши 1 мг препарату у 20 мл фізіологічного розчину), а потім переносять до її клітки. Щоб переконатися в

ефективності штучного осіменіння, на 12–14 добу методом обережної глибокої пальпації матки через черевну стінку проводиться діагностика сукрільності. У сукрільній кролематки добре пальпуються еластичні овальної форми плоди величиною 2,0–2,5 см (як лісовий горіх розміщені у два ряди).

Тема 2.7. Теоретичні передумови і технологія штучного осіменіння сільськогосподарських птахів

Питання:

- 1. Значення штучного осіменіння у відтворенні птахів.*
- 2. Морфологічна структура та фізіологічна функція органів розмноження статевої системи птиці.*
- 3. Особливості біології розмноження птахів.*
- 4. Техніка одержання, розбавлення і зберігання сперми різних видів птахів.*
- 5. Організація штучного осіменіння птахів.*
- 6. Техніка штучного осіменіння птахів.*

1. Значення штучного осіменіння у відтворенні птахів.

Штучне осіменіння сільськогосподарських птахів вважають економічно вигідним і прогресивним способом розмноження. Потреба в розвитку штучного осіменіння виникла у зв'язку з переходом галузі птахівництва на промислову основу, вагомою різницею в масі між самцями і самками, що значно знижує результати природного парування.

Штучне осіменіння сільськогосподарської птахів широко застосовується на великих птахофабриках. Метод штучного осіменіння птахів широко впроваджено в Голландії, Великобританії, США, Канаді та Німеччині. Штучне осіменіння стало головним методом відтворення птахів. У Німеччині та США при штучному осіменінні курей і клітковому їх утриманні домагаються до 92,8 - 96,2 % запліднення яєць. Воно дає можливість у 8-10 разів скоротити потребу в самцях, вдосконалює селекційну роботу, так як при ш. о. використовують тільки кращих самців, перевірених за якістю нащадків. Штучне осіменіння дало можливість створення високопродуктивних ліній м'ясного і яєчного напрямків. Штучне осіменіння індичок виключає їх травми, підвищує запліднення яєць на 7-15%. Штучне осіменіння дає можливість одержувати від одного племінного плідника у 5-10 разів більше нащадків, отримувати вищу заплідненість яєць, ніж за природного парування і одночасно попередити поширення інфекційних захворювань статевих органів. При штучному осіменінні більш економічно використовується площа приміщень, оскільки при клітковому утриманні птахів в однакових по площі приміщеннях можна розмістити в 2-3 рази більше голів, ніж при підлоговому утриманні.

Великий вклад в розвиток штучного осіменіння птахів внесли Ілля Іванович Іванов, Серебровський, Нікітіна, Огородній, Соколовська, Кушнер та інші.

2. Морфологічна структура та фізіологічна функція органів розмноження статевої системи птиці.

Методи штучного осіменіння птахів ґрунтуються на морфологічних та фізіологічних особливостях органів розмноження птахів.

Статеві органи самців птахів складаються із парних сім'яників, придатків сім'яників, сім'яних міхурців та | статевих сосочків. *Сім'яники* у самців птахів овальної форми, розміщені біля передніх часток нирок (правої та лівої)

і тісно прилягають до черевного повітропровідного мішка. Величина обох сім'яників у самців неоднакова. Лівий сім'яник, як правило, більш розвинений, ніж правий. Величина та маса сім'яників змінюються залежно від віку, тривалості світлового дня та статеві активності самців. Сім'яники самців зовні вкриті сполучною оболонкою і складаються з великої кількості тонких покручених сім'яних каналців. Стінки сім'яних каналців укриті тонкою волокнистою оболонкою, яка містить деяку кількість сполучних клітин Сертолі та 5-6 шарів клітин сперматогенного епітелію на різних стадіях розвитку. Ближче до базальної (внутрішньої) мембрани каналця розміщені первинні статеві клітини-сперматогонії, над ними сперматоцити першого і другого порядку, потім сперматиди та спермії. Спермії, що сформувалися, надходять у просвіт покручених каналців, а звідти - у сім'явивідні шляхи придатка сім'яника і в сім'япровід.

Придаток сім'яника у самців розвинений слабо. Він оточений спільною капсулою сім'яника і складається із численної кількості каналців, по яким із сітки сім'яника просуваються спермії, тут спермії дозрівають. Враховуючи слабкий розвиток придатка сім'яника самців птахів навіть у період їхньої найвищої статевої активності, придаток сім'яника самців не може повністю виконувати функцію органа, де відбувається біологічне дозрівання сперміїв. Тому у самців птахів, на відміну від ссавців, місцем біологічного дозрівання сперміїв є сім'япроводи (їх каудальні ділянки).

Сім'япровід має вигляд звивистого канатика, стінки якого складаються із слизової, м'язової та серозної оболонок. Сім'япроводи індіків розміщені паралельного до хребта і проходять поряд із сечоводом. Вони починаються від проток придатка сім'яника і закінчуються на початку еякуляторного жолоба пеніса. Каудальна, кінцева частина сім'япроводу закінчується пухироподібним розширенням - сім'яними пухирцями, які заповнюються сперміями. Сім'яні пухирці на кінці мають так звані статеві сосочки, які закінчуються отворами, що виходять в еякуляторний жолоб. Придаткові статеві залози у самців сільськогосподарських птахів відсутні.

Орган парування у півня, індика і цесаря як такий відсутній, а є тільки незначний його рудимент (пігостиль), який представлений двома печеристими (судинними) тілами, що утворюють жолоб, між якими відкриваються статеві сосочки. При ерекції або статевому збудженні вказані судинні тіла набрякають. У проміжку між двома судинними тілами знаходиться складчаста слизова оболонка, яка і утворює поздовжній еякуляторний жолоб. По еякуляторному жолобу відбувається просування та еякуляція (виділення) сперми. При паруванні самець придавлює свою клоаку до клоаки самиці. Піхва самиці вип'ячується і сперма поступає в піхву, не попадаючи в клоаку. У качурів і гусаків для парування є статевий орган, який спірально скручений і має червякоподібну форму, довжина його від 5-7 см до 12-18 см. По всій довжині пеніса у качура проходить спіралеподібний жолоб, по якому в момент еякуляції виділяється сперма.

Анатомо-фізіологічні особливості будови статевих органів самок птахів.

Статеві органи самок птахів характеризуються асиметрією, як правило, розвивається і функціонує лише лівий яєчник і яйцепровід. Правий яєчник залишається в ембріональному стані протягом всього життя самиці. Розмір і форма яєчника залежить від виду, віку та фізіологічного стану птахів.

Яєчник знаходиться в черевній порожнині, біля переднього краю нирки, зліва від середньої лінії тіла. Він має зовнішній корковий – фолікулярний шар і внутрішній центральний – мозковий. У фолікулярному шарі закладені яйцеклітини. В міру росту жовтка росте і фолікул. Після закінчення яйцекладки, яєчник різко зменшується в об'ємі, в ньому відсутні фолікули.

Яйцепровід розміщений безпосередньо під яєчником. Це трубчастий орган, який, на відміну від савців, не просто виконує функцію «труби», а продукує поживні речовини (білок яйця) і утворює оболонку яйця (м'яку – підшкаралупну і тверду – шкаралупну). Крім цього, він виконує функцію довготермінового зберігання спермій (кури – 12-16 днів, качки – 6-8, індички 35-40 і навіть 90 днів) і є місцем злиття чоловічих і жіночих статевих клітин.

Яйцепровід підвішений на зв'язках до черевної порожнини. Верхній (внутрішній) – розширений кінець яйцепроводу відкритий в черевну порожнину біля яєчника, а нижній закінчується в клоаці. Внутрішня поверхня яйцепроводу складчаста з ворсинками і в слизовій оболонці розміщено багато залоз. Яйцепровід може скорочуватися, розширяться, робити перистальтичні рухи. Форма, розміри яєчника та яйцепроводу змінюються в залежності від віку птахів, функціональної активності статевого апарату.

У молодих самиць яйцепровід представлений гладенькою трубкою, однакового діаметру по всій довжині. Якщо у молодих курок довжина яйцепроводу 10-18 см і діаметр 0,5-1,8 см, то в період максимального несення яєць відповідно – 60-70 см та 8-12 см.

У статевозрілих птахів добре виражена *лійка (воронка)* – що знаходиться біля яєчника – це верхній кінець. Лійка має власне воронку і шийку, яка переходить у *білковий відділ* (довжина 35-45 см). Тут формується білок навколо жовтка.

За білковим відділом яйцепроводу знаходиться так званий *перешийок* – звужена частина довжиною 7-10 см. В цій частині яйце затримується від однієї до чотирьох годин і покривається підшкаралуповою оболонкою.

За перешийком знаходиться *матка* у формі мішка, тобто розширення довжиною 6-14 см. Секрети залоз матки формують шкаралупу, виділяють також і пігменти для шкаралупи. Шкаралупа має тонку оболонку та отвори – пори для обміну повітрям під час розвитку ембріона.

Із матки яйце попадає у *піхву (вагіну)* через звужену частину – *шийку*, яка має сильне м'язове кільце – сфінктер. Кінцева частина піхви відкривається в середній відділ клоаки біля лівого сечоводу.

3. Особливості біології розмноження птахів.

Відтворення стада птиці розпочинається з інкубації (насиджувння) яєць. Показники роботи визначаються кількістю проінкубованих (насиджуваних) яєць і відсотка виходу добового молодняку.

Майже всі види сільськогосподарської птиці, за виключенням курей яйценосних порід, мають *чітко виражений сезонний характер розмноження*. Виняткова особливість розмноження птахів полягає в тому, що *спермії самців довгий час зберігають запліднюючу здатність у статевому тракті самок*. У наслідок чого самки можуть нести запліднені яйця тривалий час після припинення спаровування.

Строки досягнення статевої зрілості у різних видів птахів різні: у м'ясних курей – 90-110, мясояєчного напрямку продуктивності - 145-150 днів; качок- 180-210; індиків – 200-210 у гусей - 260-280 діб. Необхідно зауважити, що у самиць птахів статева зрілість настає після знесення першого яйця, а у самців - після отримання першого еякуляту.

Курей, качок та індиків доцільно використовувати 2-3 роки, гусок 5-6, гусаків – 4-5 років. За одним самцем, як правило, закріплюють наступну кількість самок: за півнем та індіком – 12-15; за качуром – 5-6 качок; за гусаком – 3-4 гуски. Найбільшою статевою активністю в природному паруванні відзначаються півні яєчних порід (до 15-20 парувань за добу), потім качури, півні м'ясних порід, індики (5-6 парувань за добу) і цесарі.

Характеристика репродуктивної функції с.-г. птахів

Показники	Кури	Індики	Гуси	Качки	Цесарки
Початковий вік викорис-тання в племінних цілях, міс.	6-7	9-10	9-10	6-7	7-8
Норма закріплення самок за 1 самцем, гол.	12-15	12-15	3-4	5-6	12-15
Після припинення спаровування несуть запліднені яйця, днів	12-16	35-40	9-10	6-8	10-12

Якщо впровадити штучне осіменіння, то норми навантаження на одного самця доцільно збільшити у декілька разів.

Показники	Кури	Індики	Гуси	Качки	Цесарки
Норма закріплення самок за 1 самцем у природному паруванні, гол.	12-15	12-15	3-4	5-6	12-15
Норма закріплення самок за 1 самцем при ш.о., гол.	50-60	20-30	20-30	20-30	50-60

4.Отримання сперми у самців сільськогосподарських птахів.

Одержання сперми – перший і найвагоміший захід в системі ш. о. птахів. Техніка одержання сперми від самців птиці досить добре розроблена. Інструменти, що для цього використовуються прості і легко доступні.

На теперішній час розроблені такі методи одержання сперми у с.-г. птиці:

1. З клоаки самки за допомогою відсмоктуючих приладів;
2. За допомогою гумових спермозбирачів;
3. Метод ручного масажу живота;
4. Метод електроеякуляції;
5. Метод штучної вагіни.

Отримання сперми від півнів.

Перші досліди по штучному осіменінню курей проводив І.І. Іванов в 1902 році. Він одержував сперму *від забитих* півнів.

Для штучного осіменіння відбирають півнів міцної конституції від високопродуктивних, здорових батьків (пар). Основна вимога - у відповідь на масаж півні повинні виділяти достатню кількість сперми, тобто позитивно реагувати на масаж.

Перший раз відбирають півників у 60-70-денному віці, з добре розвиненим гребенем (позитивна кореляція з якістю сперми). Півнів відбирають з розрахунку один самець на 10 курок.

Другий раз відбирають у віці 90-100 днів. Залишають півників з м'яким черевом, реагуючих на масаж вивертанням пігостиля, його ерекцією і виділенням сперми. У цьому віці відбирають півнів з розрахунку один самець на 20 курок.

Заключно відбирають півнів яєчних порід у 7 місяців, м'ясних 7,5-8 місяців. Їх розміщують у клітки, щоб вони звикли до нових умов утримання один до одного і обслуговуючого персоналу. При остаточному відборі залишають одного півня з розрахунку на 40-60 курей.

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

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

Сперму від півнів можна одержати *методом ручного масажу* (був розроблений вченими Барроусом і Квінном в 1935 році) і *за допомогою електроеякулятора*.

Сперму одержують 5 разів на тиждень по 1-2 еякуляції (другий через 30 хв. після першої еякуляції). Дні відпочинку надають півням через 2 чи 3 дні їх використання. Другий еякулят отримують лише тоді, коли першого недостатньо для осіменіння курей, закріплених за цим півнем. Необхідно мати на увазі, що сперма другого еякуляту часто буває більш рідкою.

Якість сперми півнів:

Колір - білий, молочно білий з жовтуватим відтінком.

Консистенція - вершкоподібна.

Об'єм: леггорн - 0,3-0,4 мл; корніш - 0,8-1 мл.

Отримання сперми від індиків.

Перший відбір молодняка індиків для ремонту стада проводять в 120-денному віці (4 місяці). Звертають увагу на масу тіла, здоров'я, конституцію і відбирають 120 % від потреби.

Другий відбір проводять у віці 180 днів (6 місяців). Заключний відбір проводять за показниками якості сперми. Стадо комплектують із розрахунку: 1 самець на 30-40 індичок, а в племінних господарствах - 1 самець на 15-20 індичок.

Використовують індиків для отримання сперми з 8-9 місячного віку до 5 років.

Серед існуючих способів одержання сперми від індиків найбільш ефективними є два – ручний масаж (метод Ф.М Кушнера) і асканійський (одержання сперми з використанням індички).

У індика отримують сперму 2-3 рази на тиждень, тобто 2 рази через 2 дні і один раз через день.

Якість сперми індиків:

Колір: молочно-білий, жовтуватий.

Консистенція: вершкоподібна.

Об'єм: 0,2-0,4 мл.

Отримання сперми у гусаків.

Гусаки характеризуються досить слабо вираженою репродуктивною функцією, розповсюдженою серед них імпотенцією. Тому відбір гусаків, придатних для племінного використання має особливе значення.

Для штучного осіменіння гусаків починають відбирати із 2-х місячного віку, залишають їх в 1,5-2 рази більше, ніж потрібно. Самців вибраковують за різних причин до 35-40 %. Частина з них не дає сперму при масажі або це сперма низької якості. Реакцію гусака можна вважати гарною, якщо після 5-10 секундного масажу він реагує на нього ерекцією полового органу і виділенням сперми.

Другий відбір проводять у 240-260-денному віці (8-9 місяців). Для відтворювання залишають самців з об'ємом еякуляту не менше 0,2 мл і активністю не нижче 3 бали.

Отримання сперми проводять методом ручного масажу з використанням вакуумного спермозбирача.

Перед одержанням сперми від гусака в спермоприймач між внутрішньою і зовнішньою стінками корпусу навивають теплу воду (30-35°C), а у внутрішню частину, в яку збирається сперма, ополіскують теплим (30-40°C) розріджувачем.

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

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

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

Особливо важливо, щоб сперму від гусаків одержували одні й ті ж люди у спокійній, звичній для птахів обстановці. Для отримання чистої сперми пух і пір'я навколо клоаки обрізають, а клоаку протирають розчином фурациліну 0,02%.

Об'єм еякуляту у гусаків коливається від 0,1 до 1,3 мл (у середньому 0,3-0,4 мл). Густа сперма має білий колір, а рідка - голубуватий відтінок. Консистенція: вершкоподібна Концентрація спермій у гусаків коливається від 0,2 до 2,5 млрд/мл у залежності від породних й індивідуальних особливостей. У якісній спермі рухливість спермій становить 9-10 балів. Якщо рухливість спермій становить нижче 7 балів, то її вибраковують.

Отримання сперми у качурів.

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

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

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

Качури, на відміну від півнів і індиків, мають копулятивний орган у вигляді штопороподібно закрученого пеніса довжиною 12-18 см. На зовнішній поверхні пеніса є загострені рогові підвищення. По всій довжині пеніса

проходить спіралеподібний жолоб, по якому в момент еякуляції виділяється сперма, стікаючи по всій поверхні пеніса. Ці особливості вимагають специфічного підходу до качурів.

Застосовують такі способи одержання сперми - з *допомогою масажу і з використанням електро-еякулятора*.

Більш зручним і простим є спосіб з допомогою масажу.

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

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

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

Сперму від качурів одержують, як правило, один раз протягом дня і значно рідше через день (три рази на тиждень). При одержанні сперми через 2 доби значно зменшує кількість сперми за рахунок самовиділення сперми. Часто слабких самців переслідують більш сильні й при цьому відбувається якби фіктивне спаровування з виділенням сперми. Сперму від качурів слід одержувати в одному і тому ж приміщенні, в один і той же час, бажано, щоб з ними працювали одні й ті ж люди. Присутність сторонніх людей, шум у приміщенні негативно впливають на еякуляцію сперми.

Нормальна сперма качурів має молочно-білий колір, вершковоподібну консистенцію, запах відсутній. Середній об'єм еякулята у качурів становить 0,2 мл (від 0,05 до 0,6 мл) з концентрацією спермій 3,2 млрд/мл (від 1,1 до 8 млрд/мл).

Отримання сперми у цесарів.

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

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

Одержувати сперму можна на третій день після відсажування самців від самок і повторюють через кожні 2-3 дні. Як правило отримують по одному еякуляту на день.

Об'єм еякуляту цесарів коливається від 0,02 до 0,12 мл з концентрацією спермій від 1,5 до 7 млрд/мл (у середньому 3-5 млрд/мл).

Строки і тривалість статевого використання самців птахів при ш.о.

Між строком настання статевої зрілості і початком використання плідників для штучного осіменіння самок проходить досить значний час - від 20-30 діб у качурів до 75-90 днів у півнів.

Найкоротший строк статевого використання за один племінний цикл спостерігається у гусаків - 3-4 місяці. Однак, на відміну від інших плідників, гусаки використовуються протягом 4-5 племінних сезонів як при одному, так і при двох племінних циклах упродовж одного календарного року.

Строки і тривалість статевого використання самців птахів при штучному осіменінні

Вид птахів	Самці	Час настання статевої зрілості, днів	Початок отримання сперми для штучного осіменіння, днів	Тривалість статевого використання самців, міс
Кури м'ясні	Півні	90-110	180	11-12
Кури яєчні	Півні	140-150	210	9-10
Індики	Індики	200-210	240	4-5
Качки	Качури	150-160	180	7-8
Гуси	Гусаки	260-270	290	3-4
Цесарки	Цесарі	180-190	210	5-6

5. Загальна характеристика сперми самців птахів.

Сперма самців птахів складається із спермійів, рідкого секрету, який виділяють сім'яники, спермівиносні протоки, сім'япроводи, а також рідина клоачних залоз.

На якість сперми птахів впливають:

1. Рівень повноцінної годівлі.
2. Линька знижує запліднювальну здатність.
3. Негативно впливає висока температура.
4. Травмування гребеня у півнів.

Загальна характеристика сперми самців с.-г. птиці

Показники		Півні	Індики	Гусаки	Качури	Цесарі
Характеристика еякуляту	Об'єм, мл	0,2-0,5	0,24-0,4	0,3-1,3	0,05-0,6	0,12
	Колір	Молочно-білий	Молочно-білий	Молочно-білий	Молочно-білий	Молочно-білий
	Концентрація спермійв млрд/мл	2-4	3-8	0,5-1,0	1,5-8	1,5-7
	Рухливість, балів	7-10	7-10	7-10	7-10	7-10

Спермій птахів має акросому, голівку, шийку, тіло, хвостик. Голівка спермія не кругла, а дещо подовжена, кінець її загострений або спірально закручений (у гусака).

Спермії птахів, порівняно із ссавцями, мають менший об'єм, меншу рухливість та менш інтенсивний метаболізм. Для прикладу: швидкість спермійв півня 61 мм/год., а барана - 276 мм/год., бугая - 540 мм/год.

Спермії птахів *in vitro* швидко втрачають запліднювальну здатність при плюсових температурах, але рухливість при цьому зберігається. Проте вони довго зберігають запліднювальну здатність в статевих органах самиць: у курей - 12-16 днів, у качки - 6-8, індички 35-40 (навіть 90 днів). Місцем збереження, знаходження спермійв у самиць є крипти (щілини), складки біля місця з'єднання матки з вагіною

6.Розрідження сперми плідників птахів.

У нерозбавленій спермі самців птахів при плюсових температурах спермії швидко втрачають запліднювальну здатність, хоча рухливість при цьому зберігається. Тому отриману сперму потрібно розріджувати відразу ж після отримання і проведення оцінки її якості.

Розріджування дозволяє збільшити кількість спермодоз із одного еякулята, підвищити статеве навантаження на одного плідника. Крім того, застосування розріджувачів сприяє більш тривалій підтримці запліднювальної здатності спермійв і збереженню нормального ходу початкового процесу ембріогенезу.

Така дія розріджувачів можлива за наявності в них таких речовин, які не порушують енергетичних процесів у сперміях, підтримують у спермі осмотичний тиск, рН і водночас нейтралізують шкідливу дію продуктів життєдіяльності спермійв.

Розбавляють сперму свіжоприготовленим якісним розріджувачем.

Багато, щоб розріджувачі мали бактерицидну дію, перешкождали виходу із спермій іонів калію, магнію і ферментів. Тому до складу розріджувачів входять цукри, солі слабких органічних кислот і таких кислот, як фосфорна, хлорна, сірчана, солі багатоатомних спиртів і різних амінокислот.

Для розріджувачів використовують дистильовану і бідистильовану воду, молочний перегін або суміш дистильованої води і перегону молока.

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

У процесі приготування розріджувачів ураховується взаємодія наявних хімічних компонентів відповідно до їхнього хімічного складу. Компоненти для розріджувачів можна готувати заздалегідь і фасувати у спеціальні паперові пакети в розрахунку на необхідні об'єми води або на визначену кількість спермодоз.

Склад середовищ для розрідження сперми птиці, г

Реактив	Середовище			
	Лейка	Тіроде	ВНДІП	ВІРГЖ
Натрію хлорид	-	0,8	-	-
Калію хлорид	-	0,02	-	-
Кальцію хлорид	-	0,02	-	-
Магнію хлорид	-	0,01	-	-
Натрій оцтовокислий	0,0676	0,01	-	-
Натрій фосфорнокислий двозаміщений	0,513	0,005	-	-
Калію цитрат	0,128	-	-	-
Натрій глютамат	1,92	-	1,67	2,8
Фруктоза (глюкоза)	1	1	0,31	1,8
Натрію цитрат	-	-	0,57	-
Вода дистильована, мл	100	100	100	100

Беручи до уваги особливості анатомічної будови статеві системи самців і можливий контакт сперми з вмістом клоаки, необхідно проводити санацію сперми. Для цього до розріджувача додають антибіотик. Наприклад, антибіотик оліморфоциклін у концентрації 25-50 ОД/мл проявляє бактерицидну дію на мікрофлору сперми півнів, індиків і водночас нетоксичний для спермій. Для санації сперми гусаків використовують спермосан-3 при концентрації 50000 ОД на 100 мл розріджувача.

Співробітники Інституту птахівництва УААН П.М. Каркач, В.П. Наливайко та інші пропонують для санації сперми індиків від мікоплазм застосовувати суміш двох антибіотиків – окситетрацикліну (10 мкг на 100 мл) і димексиду (0,5 мл на 100 мл розріджувача).

Синтетичні середовища потрібно *готувати щодня перед початком роботи*, оскільки тривале зберігання призводить до погіршення його якості.

Потрібно пам'ятати, що біохімічний склад сперми і її фізіологічні властивості у самців різних видів птахів неоднакові, тому розріджувач, що добре себе зарекомендував при розбавлянні сперми, наприклад, півня, може виявитись непридатним для сперми інших видів птахів.

Перед розрідженням визначають загальну кількість рухливих спермій в еякуляті. Для цього його показники об'єму множать на концентрацію. Потім одержаний показник ділять на потрібну кількість спермій у дозі осіменіння однієї самки і одержують показник кількості самок, яких можна осіменити розрідженою спермою.

Як правило розрідження здійснюють у відношенні 1:1 - 1:3. Для розрідження свіжої сперми температура розріджувача має бути 35°C.

Свіжорозбавлена має бути використана на протязі 30 хвилин, так як в подальшому її запліднююча здатність знижується. Для більш тривалого використання сперми птахів застосовують спеціальні методи зберігання.

7.Зберігання сперми птахів.

Для збереження життя спермій самців поза організмом при плюсових або мінусових температурах необхідно загальмувати обмінні процеси у сперміях. Такі умови створюються завдяки зниженню температури зовнішнього середовища або дії кислотного анабіозу.

А. Короткотривале зберігання сперми самців птахів.

Встановлено, що кращою температурою для збереження сперми птахів є температура +2...+4°C. Попередньо розріджена сперма розливається у ампули і охолоджується в побутовому холодильнику до температури +2...+4°C. Зниження температури має бути поступовим, а не різким. Це дозволяє запобігти явищу температурного шоку. Температура сперми має знижуватися поступово на 1-1,5° С за 1 хв. Тому для створення таких умов флакони з розрідженою спермою кладуть у хімічну склянку на 3-4-сантиметровий шар вати і розміщують її на нижній полиці холодильника.

В. Зберігання сперми самців птахів при - 196° С.

При дуже низьких температурах (-196° С) зберігання розрідженої сперми практично повністю припиняються обмінні процеси у сперміях, що дозволяє зберігати сперму протягом кількох років.

На даний час розроблена методика для заморожування сперми півнів та гусаків у пайєтах, флаконах та гранулах. Кріоконсервацію сперми індиків

вивчали багато вчених, але результати дослідів були низькі. Заморожування сперми селезнів вивчали мало і результати цих дослідів також були низькі.

Для заморожування сперми півнів застосовують методи Ватанабе та Лейка. Методом Ватанабе заморожують сперму у вигляді пайєт. Методом Лейка заморожують сперму півнів у ампулах. Для цього сперму об'ємом 0,15 мл в спеціальних тонкостінних пробірках висотою 75 мм охолоджують до температури $3-5^{\circ}\text{C}$ протягом 3-5 хвилин. Потім у кожен пробірку добавляють по 0,45 мл охолодженого гліцеринового розбавника. Змішують швидко і старанно, потім засмоктують в охолоджені пастерівські піпетки. Цими піпетками переносять по 0,6 мл розбавленої сперми в охолоджені ампули об'ємом 1 мл, які запаюють і опускають у гумовому тримачі в холодну водяну баню, а потім - в холодну спиртову баню. Потім, не допускаючи підвищення температури, ставлять у апарат для заморожування і заморожують зі швидкістю 10°C за хвилину до -35°C . Після цього ампули опускають в рідкий азот.

Сперму гусаків заморожують у вигляді гранул та пайєт. При заморожуванні сперми у вигляді гранул отриману сперму оцінюють під мікроскопом. Рухливість спермій повинна бути не менше 5 балів. Потім сперму розбавляють спеціальним середовищем ИГГКФ і в закритих пеніцилінових флаконах ставлять на 40 хвилин в холодильник при температурі $+2...+4^{\circ}\text{C}$. Потім забирають із холодильника і за 30-60 с перед заморожуванням добавляють диметилацетамід в кількості 4 % від загального об'єму розбавленої сперми і вмістиме флакона швидко перемішують. Заморожують сперму у напівавтоматичній апаратурі конструкції Курбатова А. і Котова О. в такій послідовності: фторопластову пластину опускають на 2 хвилини в рідкий азот, потім її піднімають на 1,5 см над рівнем азоту і через 15 с починають крапати сперму по 0,1-0,15 мл. Пластина в цей час має температуру -185°C . Через 2,5 хвилини її знову опускають в рідкий азот. Після піднімання пластини гранули збирають пінцетом і в каністрах зберігають в посудині Дьюара.

При заморожуванні сперми у формі пайєт сперму готують так само, як і при заморожуванні її у формі гранул. Її розбавляють середовищем ИГГКФ у співвідношенні 1: 3, на протязі 40 хвилин тримають в холодильнику при температурі $+2...+4^{\circ}\text{C}$, а перед заповненням пайєт спермою до неї добавляють 4 % диметилацетаміду і після перемішування ставлять в ексікатор для заповнення пайєт. Герметично закриті з одного кінця пайєти ставлять у флакон зі спермою і закривають ексікатор кришкою, яка з'єднана трубкою із вакуумним насосом. Його включають для утворення в ексікаторі слабого вакууму. При цьому гази, які є у спермі і пайєтах, виходять у вигляді пухирців. Після припинення виділення пухирців ексікатор з'єднують з атмосферою. Під дією різниці тиску сперма заповнює пайєти, після чого відкриті кінці

закривають пластиліном. Заморожування сперми в пайєтах проводять у термосі, який на 2/3 заповнюють рідким азотом.

Розморожують сперму на протязі 33 с в установці конструкції Курбатова А.Д., Забелло А.В. та ін. Потім сперму оцінюють під мікроскопом. Рухливість спермійів повинна бути не нижче 4 балів.

8.Транспортування сперми.

Траспортувати сперму, при умовах короточасного зберігання, можна в побутових 2-3-літрових термосах. Для цього в термос спочатку кладуть лід, на нього ставлять хімічну склянку, на дні якої має бути вата шаром 0,5-1 см. Ампули і флакони ставлять у склянку на вату і прикривають теж шаром вати. За таких умов сперма зберігається при температурі +2..+4⁰С і її можливо транспортувати.

При збереженні сперми при -196° С її транспортують у посудинах Дьюара любим видом танспорту, забезпечивши відповідні умови упаковки та температурного режиму.

9.Штучне осіменіння самок птахів.

Ефективність штучного осіменіння птиці значною мірою залежить від облаштування пункту, організації роботи і дотримання необхідних санітарно-гігієнічних вимог.

Пункт штучного осіменіння птиці обладнують в одному із пташників, де утримують самців. Він має включати три кімнати: лабораторію (10-15 м²), мийну (5-6 м²), побутову кімнату (15-20 м²) для працівників бригади з штучного осіменіння.

Приміщення пункту штучного осіменіння повинні бути теплими, сухими, світлими з доброю вентиляцією.

Самок птахів осіменяють розрідженою або нерозрідженою спермою. *Найбільш ефективне осіменіння за 3-4 години до і через 3-4 години після знесення яєць!*

Для осіменіння птахів користуються шприцами-напівавтоматами, що застосовуються при штучному осіменінні овець (тільки їх вкорочують на 10 сантиметрів і оплавляють кінець), індивідуальними полістироловими чи скляними піпетками і поліетиленовими (гумовими) кульками.

Проводять штучне осіменіння, як правило, у другій половині дня. Курок осіменяють один раз за 5 днів, гусок — один раз за 6 днів, індичок — на початку сезону 2 – 3 рази з інтервалом 1 – 2 дні, а потім через кожні 10 – 12 днів (при зниженні заплідненості яєць у весняно-літній період осіменіння повторюють через кожні 7 днів).

Доза сперми для осіменіння курок становить 0,028 – 0,03 мл з вмістом у ній 100 – 150 млн спермійів.

Гускам вводять 0,05 мл нерозрідженої і 0,1 –0,2 мл розрідженої сперми з вмістом у ній 30 – 50 млн активних спермійів; індичкам — 0,025 – 0,03 мл

нерозрідженої або розрідженої сперми із вмістом у ній 80 – 100 млн активних спермійв.

Показники	Кури	Індички	Гуски	Качки	Цесарки
Доза сперми, мл	0,03	0,03	0,05	0,1	0,03
К-ть спермійв у дозі, млн.	100-150	80-100	30-50	46-80	60-70
Рухливість спермійв, бали	7-10	7-10	7-10	7-10	7-10
Сперму вводять в яйцепровід на глибину, см	4-5	4-5	4-5	4-5	3-6
Кратність осіменіння	1р/5 діб	1р/10 діб	1р/6 діб	1р/4 доби	1р/10 діб

Штучне осіменіння курей.

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

Проводити осіменіння курей краще в другій половині дня, коли у більшості птахів відбудеться яйцекладіння. У більшості випадків курей осіменяють свіжою спермою протягом 20-30 хвилин після її одержання.

При організації штучного осіменіння курок-несучок їх утримують у батареях з індивідуальними клітками (для моноспермного осіменіння), батареях з груповими клітками (для поліспермного осіменіння змішаною спермою кількох плідників) і на підлозі.

Осіменіння курей проводять дволанковою бригадою у другій половині дня після закінчення яйцекладки. Одна ланка отримує сперму від півнів, друга проводить осіменіння курок.

При клітковому утриманні курку, не виймаючи з клітки, фіксують лівою рукою за хвіст, а правою натискають на лівий бік живота між лобковими кістками та заднім кінцем грудної кістки. Це викликає розкривання клоаки, всередині якої, лівіше виходу прямої кишки, видно яйцепровід. Вводять кінець мікропіпетки зі спермою в яйцепровід на глибину 4 – 5 см. *Натискання на живіт курки у цей час треба припинити!*

При підлоговому утриманні курку беруть під пахву лівої руки і, притримуючи її лівою рукою за ноги, легко натискають правою рукою на живіт між лобковими кістками і грудною кліткою, у місці розміщення яйцепроводу. При цьому розкривається клоака курки. Трохи розтягнувши її пальцями лівої руки, вводять у яйцепровід кінець піпетки зі спермою на глибину 4 – 5 см і видавлюють спермодозу.

Для того, щоб забезпечити насичення статевих шляхів курей необхідною кількістю спермійв під час першого осіменіння слід вводити подвоєну дозу сперми. В деяких випадках, коли якість сперми висока (одержана в

зимово-весняний період від півнів 9-14-місячного віку) осіменіння курей можна здійснювати один раз у 6-7 днів збільшеною у 1,5-2 рази дозою сперми. Збір яєць для інкубації краще починати через 48 годин після такого осіменіння.

Штучне осіменіння індичок.

Для штучного осіменіння індичок обладнують біля пташника невелику лабораторію, мийку, кімнату для отримання сперми і в кожному пташнику-маточнику ізольоване приміщення для осіменіння індичок.

Молодих індичок починають осіменяти після знесення ними перших яєць. Потім їх осіменяють повторно через кожні три дні до тих пір, поки в стаді не почне нести яйця більша кількість індичок стада. Після цього інтервал між осіменіннями збільшують до 10-12 днів.

Штучне осіменіння проводять двома способами:

1. Взявши індичку за основу крил, ставлять її на табуретку висотою 100 см і шириною 40 × 40 см. Притримуючи її однією рукою за спину, другою відводять хвостове пір'я і вивертають вказівним та великим пальцями лівої руки бічну частину клоаки так, щоб добре виступав отвір яйцепроводу. Вводять у нього кінець катетера на глибину 4 – 5 см і видавлюють сперму.
2. Оператор, який фіксує тварину, бере індичку лівою рукою за ноги спереду. Потім правою рукою допомагає зафіксувати її у захваті, утворюючи між плечем і передпліччям лівої руки і лівої сторони грудей. При цьому голова тварини спрямована назад оператора, а каудальна частина спереду. Правою рукою оператор завертає хвоста індички на спину і підносить до технік з штучного осіменіння.

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

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

Штучне осіменіння гусок.

Пункт штучного осіменіння гусей влаштовують у приміщенні, де утримують гусаків. Для виконання робіт створюють бригаду з чотирьох працівників: два з них одержують сперму, оцінюють її і розріджують, а два інші – виловлюють і осіменяють гусок.

Штучне осіменіння гусок бажано проводити після 12 годин дня, коли у більшості з них у матці (2–5-ти сантиметрова каудальна частина яйцепроводу) відсутнє яйце.

Техніка осіменіння. Приміщення, де утримують гусок, перегороджують легким переносним щитом. Всіх гусок переганяють до однієї з цих половин. Потім у відгороджений кут заганяють по 15-20 гусок. Помічник оператора, який знаходиться в середині відгородженого кута з тваринами, бере гуску і фіксує її на спеціальному столі-станку, що знаходиться по другий бік перегородки. Лівою рукою він тримає гуску біля кореня крил, притискує вказівним пальцем ліве крило, а правою рукою відтягує хвіст. Технік одягає рукавички, вводять у клоаку гуски вказівний палець правої руки, намагає на лівій її стінці, трохи нижче входу в сліпу кишку, отвір яйцепроводу. Після чого лівою рукою вводять у клоаку піпетку, а вказівним пальцем правої - він контролює введення піпетки в яйцепровід. Переконавшись, що піпетка знаходиться в яйцепроводі оператор натискає на еластичний наконечник піпетки і вприскує необхідну дозу сперми.

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

Для підтримання високого рівня заплідненості осіменіння гусок повторюють через кожні 5–6 днів. Яйця для інкубації відбирають починаючи з третього дня після першого осіменіння.

Штучне осіменіння качок.

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

Техніка штучного осіменіння качок зводиться до наступного: тварин заганяють у кут секції й відгороджують металевою сіткою висотою 70-80 см. Помічник технік бере качку із секції й фіксує в станку або під рукою. Лівою рукою тримає качку біля кореня крил, а правою злегка відхиляє хвіст. Технік одягає рукавички, вводять у клоаку качки вказівний палець правої руки, пальпацією знаходить яйцепровід, який розміщений лівіше і нижче входу в клоаку, і під контролем пальця правої руки, лівою рукою направляє катетер в яйцепровід на глибину 4-5 см. Потім виймає палець з клоаки і вприскує з катетера спермодозу. Після осіменіння кожної качки технік обробляє катетер шприца ватним тампоном, змоченим 70 % -вим спиртом.

Ефективне запліднення яєць (понад 90 %) зберігається протягом 4-х днів після осіменіння.

Штучне осіменіння цесарок

Цесарки характеризуються низькою відтворною функцією при утриманні на підлозі. Тому їх краще перевести на кліточне утримання із застосуванням штучного осіменіння.

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

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

Штучне осіменіння цесарок проводять через кожні 8–10 днів, пам'ятаючи, що заплідненість яєць забезпечується протягом 8–10-ти діб.

Перелік питань які виносяться на підсумковий контроль знань

1. Морфологічна структура і фізіологічна функція органів статеві системи самок.
2. Овогенез. Овуляція. Розвиток жовтого тіла та його фізіологічна роль. Види жовтих тіл.
3. Будова яєчника, фолікула, яйцеклітини. Дозрівання і атрезія фолікулів.
4. Морфологічна характеристика та видові особливості статевих органів самців. Сперміогенез.
5. Будова сім'яника та придатка сім'яника. Додаткові статеві залози та їх фізіологічне значення.
6. Вчення І.П.Павлова про умовні рефлекси та його значення для раціонального утримання та використання плідників. Статевий режим використання плідників.
7. Статевий акт та його видові особливості. Фактори, що збуджують і гальмують статеві рефлекси.
8. Ветеринарно-профілактичні вимоги при підборі та утриманні плідників на станціях та пунктах штучного осіменіння, контроль за станом здоров'я.
9. Фізіологічні основи одержання сперми на штучну вагіну. Будова штучної вагіни та її підготовка до одержання сперми.
10. Сперма та її склад. Спермії, їх будова, рухливість. Плазма сперми та її біологічні властивості.
11. Методи оцінки якості сперми сільськогосподарських тварин. Показники сперми, придатної для осіменіння самок.
12. Джерела енергії для життєдіяльності спермій. Вплив зовнішніх факторів на обмін речовин спермій.
13. Фізіологічні основи і технологія розрідження сперми. Санітарно-гігієнічні вимоги при виготовленні розріджувачів та розрідженні сперми.
14. Короткотривале зберігання сперми при кімнатній температурі та при +2 +4 °C.
15. Теоретичні основи кріоконсервування. Режим охолодження і заморожування сперми. Механізм кріозахисту статевих клітин. Основні технології заморожування сперми.
16. Оцінювання якості сперми на пункті штучного осіменіння. Вимоги щодо активності та кількості спермій у дозі для запліднення самок різних видів тварин.
17. Статевий цикл самок. Характеристика його ознак за А. Студенцовим та В. Хіппом. Видові особливості перебігу статевого циклу.

18. Нейрогуморальна регуляція статевої функції.
19. Статева та фізіологічна (господарська) зрілість організму самок сільсько-господарських тварин. Нормальний вік для осіменіння тварин.
20. Суть штучного осіменіння та його значення в тваринництві. Коротка історія його розвитку. Роль вітчизняних вчених у розробці методу штучного осіменіння.
21. Наукові історії штучного осіменіння тварин з піхвовим та матковим типом природного осіменіння. Засоби підвищення запліднюваності самок при штучному осіменінні.
22. Методи штучного осіменіння – піхвовий, цервікальний, матковий, трубний. Їх порівняння.
23. Штучне осіменіння корів та телиць.
24. Штучне осіменіння свиноматок.
25. Штучне осіменіння овець та кіз.
26. Штучне осіменіння кобил.
27. Штучне осіменіння кролів та с.-г. птахів.
28. Правила та обов'язки техніка по штучному осіменінні тварин.
29. Організація роботи станцій та пунктів по штучному осіменінню, облік та звітність на станціях та пунктах штучного осіменіння.
30. Положення про станції та пункти штучного осіменіння.

ВИКОРИСТАНА І РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Агій В.М. Синхронізація охоти та штучне осіменіння кролематок як надійний метод отримання турових окролів в умовах інтенсивного ведення галузі / В.М. Агій та ін. – с. Велика Бакта: ФОП Дишкант, 2012. 19 с.
2. Агій В.М. Теорія та практика нової репродуктивної технології у кролівництві /В.М. Агій, Ф.К. Нодь, Н.П. Грига та ін.// Науково-технічний бюлетень. Львів, 2011. №1–2. Вип. 12. С. 394–398.
3. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології /За редакцією В.А. Яблонського. Підручник. Вінниця: Нова книга. 2011. 600с.
4. Ветеринарное акушерство и гинекология /Студенцов А.П., Шипилов В.С., Л.Г.Субботина, О.И.Преображенский. Изд.6-е под. ред. Шипилова В.С.- М.: Агропромиздат, 1986. 480с.
5. Журавель М.П., Давиденко В.М., Технологія відтворення сільськогосподарських тварин. Підручник. К.: Видавничий Дім „Слово”, 2005. 336с.
6. Инструкция по искусственному осеменению сельскохозяйственных птиц. М.: Колос, 1973. С.33.
7. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных /А.Д. Курбатов, Е.М. Платов, Н.В. Корбан и др. Ленинградское отделение: "Агропромиздат", 1988. 256 с.
8. Пабат В.О., Вінничук Д.Т., Гончаренко І.В., Агій В.М. Кролівництво з основами генетики та розведення : навч. посіб. Київ : Видавництво Ліра-К, 2018. 164 с.
9. Плотников В.Г., Фирсова Н.М. Разведение, кормление и содержание кроликов. М.: Агропромиздат, 1989. 223 с.
10. Норе́йко А.Ю. Метод искусственного осеменения – перспективное направление при разведении мясных пород кроликов// Современные технологии сельскохозяйственного производства: сборник научных статей по материалам XVII Международной научно-практической конференции (16 мая 2014 года, г. Гродно,). Гродно : ГГАУ, 2014. С. 239-240
11. Себа М.В., Новицький В.П., Грищенко С.М., Павліченко С.В., Журавель М.П. Теорія і технологія відтворення сільськогосподарської птці / Методичні вказівки для самостійної роботи та виконання контрольних завдань з дисципліни «Технологія відтворення сільськогосподарських тварин» для підготовки студентів напряму 6.190102 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва». К.: Видавничий центр НУБіП, 2014. 23с.
12. Тимершин Т.Р., Мящерякова А.В. Искусственное осеменение кроликов во Франции // Кролиководство и звероводство. 2007. № 4. С. 30–31.
13. Фізіологія та патологія розмноження дрібних тварин /За загальною редакцією М.І. Харенка. Навчальний посібник. Суми: ВАТ «Сумська обласна друкарня», «Видавництво Козацький вал», 2005. 554с.

14. Фізіологія, патологія та біотехніка відтворення свиней / М.І. Харенко, С.П. Хомин, А.Й. Краєвський та ін. Суми: Видавництво «Козацький вал», 2010. 412с.
15. Фізіологія та патологія розмноження коней: Навчальний посібник/ За заг. ред. А.В. Березовського та М.І. Харенка. К.: ДІА, 2014. 440с.
16. Яблонський В.А. Практичне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології. К.:Мета, 2002. 319с.

