

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОДІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

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

Методичні рекомендації

***для виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Технологія
відтворення тварин» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої
освіти спеціальності 204 – технологія виробництва і переробки продукції
тваринництва***

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

завідувач кафедри технології виробництва
продукції тваринництва та кінології ПДАТУ,
кандидат с.-г. наук, доцент

Чухно Віталій Сергійович

директор ветеринарної клініки «Vitae Vet», м. Кам'янець – Подільський,
кандидат ветеринарних наук, доцент

Методичні рекомендації для виконання лабораторних робіт з навчальної
дисципліни «Технологія відтворення тварин» для здобувачів першого
(бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 204 – технологія
виробництва і переробки продукції тваринництва / В.П. Мізик – Кам'янець-
Подільський: ПДАТУ, 2021. - 107 с.

Виконання лабораторних робіт сприятиме кращій практичній підготовці
майбутніх технологів з виробництва і переробки продукції тваринництва. В
методичних рекомендаціях до кожної теми подано ґрунтовне пояснення
теоретичного матеріалу, сформовано мету та завдання. Контрольні питання
допоможуть здобувачам вищої освіти у самостійній підготовці при вивченні
курсу.

© ПДАТУ, 2021

ЗМІСТ

Тема 1. Будова і функція статевих органів самок сільськогосподарських тварин	4
Тема 2. Морфофункціональна характеристика статевих органів самців сільськогосподарських тварин.....	14
Тема 3. Приготування розчинів. Знезаражування посуду, матеріалів та інструментів, що застосовуються при штучному осіменінні сільськогосподарських тварин.....	21
Тема 4. Будова штучних вагін, їх підготовка та одержання сперми від плідників різних видів тварин.	30
Тема 5. Органолептичне та мікроскопічне оцінювання якості сперми. Вплив умов зовнішнього середовища на сперміїв.....	42
Тема 6. Визначення концентрації сперми. Підрахунок патологічних форм сперміїв.....	48
Тема 7. Розрідження сперми.....	55
Тема 8. Зберігання сперми та визначення живучості сперміїв.....	62
Тема 9. Діагностика тічки, статевого збудження, охоти та овуляції у самок сільськогосподарських тварин. Вибір оптимального часу осіменіння.....	70
Тема 10. Інструменти, що застосовуються для штучного осіменіння самок с.-г. тварин.....	79
Тема 11. Штучне осіменіння самок с.-г. тварин.....	86
Тема 12. Організація штучного осіменіння с.-г. тварин. Облік і звітність при штучному осіменінні.....	104

Тема 1. Будова і функція статевих органів самок сільськогосподарських тварин

Місце проведення заняття: лабораторія кафедри, лабораторія зоо-ветеринарної клініки університету, навчальний клас м'ясокомбінату.

Мета заняття: вивчити анатоμο-топографічні особливості будови статевих органів корів, овець, кіз, свиноматок, кобил.

Оснащення заняття: підручники, практикуми, методичні вказівки, схеми будови органів розмноження, гістологічні та музейні препарати, муляжі; свіжі статеві органи вбитих корів, овець, свиней, кобил; кістковий таз; анатомічні та хірургічні пінцети, анатомічні ножі, скальпелі, ножиці прямі та Купера, хірургічні зонди, сечові катетери; кювети для органів; мікроскопи, стекла предметні та накривні, піпетки очні, 2,9% розчин цитрату натрію, штангенциркулі, лупи, годинникове скельце, очний скальпель, ложка Фолькмана, гумові рукавички.

Короткі методичні вказівки.

Користуючись рисунками, схемами та препаратами музею кафедри студенти, під керівництвом викладача, ознайомлюються з морфологією та топографією статевих органів самок сільськогосподарських тварин: будовою зовнішніх та внутрішніх статевих органів, кровопостачанням, лімфатичною системою, іннервацією геніталій та видовими особливостями. Зупиняються детально на будові яєчника, його основних функціях; дозріванні та атрезії фолікулів, овогенезії, овуляції.

Оглядаючи та препаруючи свіжі органи забитих тварин студенти закріплюють свої знання з анатомії та топографії жіночих статевих органів. Тоді шляхом зовнішнього огляду, піхвового та ректального дослідження самок закріплюють набуті знання з анатомії статевих органів, вивчають їх топографію.

Завдання 1. Користуючись музейними та свіжими препаратами статевих органів тварин (забійний матеріал) вивчіть їх будову.

Статеві органи корови. Розпочинайте з огляду та вивчення будови статевих губ, які утворюють статеву щілину – *вульву*. Зверніть увагу на ніжну складчасту шкіру, в якій закладено багато потових і сальних залоз та внутрішній шар - слизову оболонку,

вистелену багатошаровим плоским епітелієм. Дорзально та вентрально статеві губи утворюють кути статевої щілини. Нижній кут гострий, а верхній – заокруглений.

Розкривши статеві губи, розгляньте слизову оболонку переддвер'я та розміщений у вентральному куті вульви клітор.

Переддвер'я піхви (присінок) нагадує коротку м'язову трубку, що почи-нається від статевої щілини і закінчується біля отвору сечовивідного каналу. Слизова оболонка його вкрита плоским багатошаровим епітелієм, утворює поздовжні та поперечні складки. Канал присінка у корів скерований знизу догори і в перед. У товщі бокових стінок розташовані великі вестибулярні (бартолінієві) залози, а поблизу клітора – слаборозвинені малі залози присінка.

Клітор - гомолог чоловічого статевого органа, який утворений двома кавернозними тілами. При осіменінні клітор сприймає нервово-сексуальні подразнення і може рефлексорно підсилювати чи, навпаки, ослаблювати моторику матки.

Тепер зробіть ножицями поздовжній розріз від верхнього кута вульви аж до шийки матки. Роздивіться окремі шари стінки: слизову оболонку, м'язовий шар та рихлу сполучну тканину навколо переддвер'я чи серозну оболонку в області піхви, знайдіть межу між переддвер'ям та власне піхвою, огляньте розміщені тут поперечну складку слизової оболонки та отвір сечовивідного каналу. У корів отвір сечовивідного каналу розділений поперечною складкою на дві частини: власне отвір і сліпий мішок – дивертикул.

М'язовий шар стінки переддвер'я піхви складається в основному з гладких поздовжніх м'язів. Зовнішній шар стінки переддвер'я піхви складається з рихлої сполучної тканини, яка проходить в тканини промежини, прямої кишки та сечового каналу.

Піхва - досить довга трубка, яка йде від переддвер'я піхви до піхвової частини шийки матки. Її стінки порівняно тонкі, пружні та еластичні, слизова оболонка вкрита плоским багатошаровим епітелієм, утворює велику кількість поздовжніх складок. В краніальній частині стінки піхви куполоподібно розширюються навколо шийки матки, створюючи склепіння. На межі переддвер'я та піхви (дещо вправо та вліво від серединної лінії) під слизовою оболонкою на кілька сантиметрів вперед тягнуться гартнерові ходи.

Продовжуючи дослідження забійного матеріалу промацайте статеві органи зовні, знайдіть шийку матки, її тіло, міжрогову борозну, спробуйте обхопити рукою і підтягнути роги матки.

Матка – місце росту і розвитку плода (плодів). Вона поділяється на шийку, тіло і роги. У корів матка двороздільна, відзначається коротким *тілом*, різко відмежованою *шийкою* і добре розвинутими *рогами*, які на значному протязі зливаються між собою, утворюючи перетинку. Це злиття рогів добре помітне у вигляді «міжрової борозни». Поступово звужуючись і дещо звиваючись краніально роги переходять у яйцепроводи.

Розрізавши вздовж *шийку матки*, розгляньте уважно її будову, розвиток окремих шарів, характер складчастості слизової оболонки. На розрізі можна виявити три шари: слизовий, м'язовий та серозний. Слизова оболонка вкрита циліндричним епітелієм, який продукує шийковий слиз. На її поверхні є велика кількість поздовжніх та поперечних складок різної висоти, спрямованих вершинами в бік піхви. М'язова оболонка шийки складається з трьох шарів: масивного внутрішнього циркулярного, судинного і зовнішнього поздовжнього шару.

Піхвова частина шийки матки у корів виступає на 2 - 3 см: в просвіт піхви у вигляді зібраної в складки „розетки”, в центрі якої знаходиться внутрішнє устя. Її канал у корів, як правило закритий. Розкривається шийка матки лише під час тічки, охоти, родів, у післяродовому періоді та при окремих цитологічних станах.

Зміряйте довжину цервікального каналу, підрахуйте кількість поздовжніх та поперечних складок.

Розріжте далі обидва *роги матки* вздовж великої кривизни, розгляньте уважно характер шарів стінки, знайдіть карункули на слизовій оболонці, розгляньте їх будову. Підрахуйте кількість карункулів, зміряйте їх розміри, за допомогою лупи знайдіть на них крипти.

Слизова оболонка матки (ендометрій) вкрита одношаровим циліндричним епітелієм, ворсинки якого скеровані у бік піхви.

М'язова оболонка (міометрій) складається із масивного внутрішнього циркулярного та значно слабшого поздовжнього зовнішнього шарів, між якими знаходиться судинний шар.

Серозна оболонка (периметрій) - зовнішня оболонка, яка одягає матку з усіх боків.

Після дослідження матки пропальпуйте *яйцепроводи* та *яєчники*.

Оглядаючи ззовні яйцепроводи, зверніть увагу на їх звивистість, знайдіть перешийок (на межі з рогом матки), ампули та лійку яйцепроводу. Нерівні зубчасті краї лійки яйцепроводу називаються каймою (бахромкою). За допомогою тонкого зонда знайдіть вхідний та вихідний отвори яйцепроводу. Відділивши яйцепровід від широкої маткової зв'язки, зміряйте його довжину.

Слизова оболонка яйцепроводу утворює численні складки, вкриті циліндричним миготливим епітелієм, війки якою скеровують рух рідини в напрямку матки.

М'язовий шар складається із зовнішніх поздовжніх та внутрішніх циркулярних волокон.

Знайдіть лівий та правий яєчник і визначте їх форму та величину, яка залежить від стадій та фаз статевого циклу. Зверху яєчники вкриті білковою оболонкою, внутрішня поверхня якої вкрита зародковим епітелієм. Користуючись схемою будови яєчника, згадайте головні його деталі, наявність. Зробивши розріз яєчника, розгляньте уважно його шари: корковий (фолікулярний) і мозковий (судинний).

Оглядаючи яєчник, знайдіть у ньому фолікули різного ступеня зрілості та жовті тіла. Проколите обережно очним скальпелем дозрілий фолікул і випустіть фолікулярну рідину на предметне скло і, розглядаючи під мікроскопом, знайдіть яйцеклітину.

Яєчники, яйцепроводи та матка підвішені в черевній порожнині на широких маткових зв'язках, які є подвійною складкою очеревини, між якими розміщені гладкі м'язові волокна, судини і нерви.

Запишіть результати зроблених вимірів за формою:

Виміри, см	Вид тварини
	корова, телиця
1	2

Переддвер'я піхви: довжина Піхва: довжина ширина передньої частини ширина задньої частини Шийка матки: довжина діаметр Тіло матки: довжина ширина Роги матки: довжина ширина Яйцепроводи: довжина загальна довжина лійки Яєчники: лівий: довжина ширина маса кількість фолікулів кількість жовтих тіл правий: довжина ширина маса кількість фолікулів кількість жовтих тіл	
--	--

Статеві органи овець та кіз.

Будова статевих органів овець та кіз аналогічна з органами корів, лише розміри значно менші. Довжина переддвер'я піхви (присінку) – 4-5 см, власне піхви – 8 – 12 см, шийка матки у ярок – 3-5 см, у дорослих – 5-7 см. Тіло матки виражено слабо - 2-4 см, довжина рогів – 8-20 см. Яєчники масою 3-6 г, розмір - 0,5 x 1 – 2 x 2,2 см.

Поряд з тим існують деякі особливості:

- піхвова частина шийки матки загострена і виступає в піхву у формі рота риби;
- поперечні складки слизової оболонки шийки матки утворюють при своїй основі кишенькоподібні заглиблення;
- на слизовій рогів матки наявні 88-96 карункулів, в центрі яких є заглиблення.

Статеві органи свиноматки.

Зовнішня частина статевих органів свині одержала назву *петлі*. Вхід до статевих органів починається двома статевими губами, які звужуються донизу у формі клину. Основу статевих губ складає м'язова тканина, яка утворює м'яз - звужувач переддвер'я піхви.

Переддвер'я піхви (присінок) має довжину від 5 до 12 см. В його нижньому куті розміщений клітор, який виступає у вигляді конусу довжиною 4-5 см. Слизова оболонка присінка вкрита плоским багатошаровим епітелієм, утворює поздовжні та поперечні складки. У товщі слизової розміщені численні вивідні протоки малих і двох великих парних бартолінієвих залоз. В задній половині переддвер'я, у товщині бокових стінок, розміщені два печеристих тіла, які при заповненні їх кров'ю під час охоти, звужують просвіт переддвер'я.

Піхва вузька, довжиною 13-18 см, слизова оболонка її зібрана в грубі поздовжні та поперечні складки, вона без різких границь поступово звужуючись переходить в шийку матки.

Матка свині двороздільна. Шийка матки добре розвинута, довжина коливається від 12 до 20 см. Слизова оболонка утворює великі виступи у формі валиків. Вершини валиків протилежних боків не співпадають, в результаті чого утворюються так звані «замки шийки», між якими залишається прохід, який відповідає штопороподібній формі головки пеніса кнура.

Шийка переходить у невелике тіло матки довжиною всього 5-10 см. Від тіла в сторони у вигляді петель відходять два довгих роги (1-2м кожен). Слизова оболонка рогів матки має глибокі кручені складки з великою кількістю залоз, які продукують секрет. Крім трубчатих залоз у слизовій присутні клітини залозистого епітелію, які самостійно виробляють слизово-серозний секрет. Краніально роги звужуючись переходять у матково-трубні сполучення (істмуси).

Яйцепроводи нагадують форму довгих і кручених канатиків. Довжина їх досягає 20-25см. Слизова оболонка вкрита одношаровим мерехтливим епітелієм з великою кількістю клітин секреторного епітелію. Краніально яйцепро-

води закінчуються лійкоподібним розширенням, яке щільно охоплює яєчник з усіх сторін.

Яєчники у нестатево зрілих свинок мають форму бобів та гладку поверхню. У статевозрілих свиноматок в результаті вирячування над поверхнею фо-лікулів та жовтих тіл, яєчники набувають форми грона винограду. Довжина яєчника коливається від 2 до 7 см, ширина – 1,5 до 4 см.

Статеві органи кобил відзначаються такими особливостями:

- статеві губи відрізняються формою, їх вентральний кут заокруглений, а нижній – загострений, у товщі статевих губ розміщується шар поперечносмугастих м'язів, який утворює стискач вульви;
- з боків присінку, під його слизовою оболонкою, є два печеристих тіла, вкритих щільною фіброзною оболонкою – «цибулина присінку», наповнення кров'ю якої, під час статевого акту, викликає зяяння статевої щілини;
- клітор має добре виражену голівку, слизова оболонка з боків утворює характерні складки, що закінчуються біля голівки так званою «вуздечкою»;
- піхва довга, широка з добре вираженим склепінням;
- матка дворога;
- шийка матки коротка (4-8 см) зі слабо розвиненим шаром м'язів та дрібною повздовжньою складчастістю слизової оболонки (поперечних складок немає), каудальна частина шийки виступає у піхву на 2-4 см у вигляді втулки з радіальними складками;
- тіло матки добре розвинене, розпочинається від шийки і закінчується біля біфуркації, його довжина 12-15 см;
- роги матки (прямі, плоскі), відійшовши від тіла, зразу розходяться, довжина складає 18-30 см; слизова оболонка рогів складчаста, утворена одношаровим циліндричним епітелієм, м'язова складається з добре розвинутого циркулярного і незначно розвиненого повздовжнього шару;
- яйцепроводи досить великі, мають форму сильно покручених трубок довжиною 14-30 сантиметрів з характерним лійкоподібним розширенням;
- яєчники великі, бобоподібні, з гладкою поверхнею, яка на всьому протязі (крім овуляційної ямки) мають масивну фіброзну оболонку.

Завдання 2. Проведіть зовнішнє клінічне дослідження статеві системи самок (корови, кобили, свиноматки, кози, вівці).

Зафіксуйте тварину в станку, у кобил і корів хвіст краще забинтувати і відвест набік. Наведіть туалет зовнішніх статевих органів. Зверніть увагу на форму, колір, величину, положення, напруження статевих губ, загострення їх кутів, наявність виділень та їх характер.

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

Завдання 3. Проведіть піхвове дослідження корови (телиці):

- *за допомогою піхвового дзеркала:* зафіксуйте тварину в станку, наведіть туалет зовнішніх статевих органів, відведіть хвіст корови набік і зафіксуйте бинтом. Візьміть в праву руку простерилізоване і зволожене фізіологічним розчином піхвове дзеркало з прикріпленням до нього освітлювачем і, привідкривши пальцями лівої руки вульву, введіть його обережно в піхву. Бранші дзеркала при цьому повинні бути зімкненими, а ручки скеровані на бік. Поверніть тепер дзеркало ручками вниз, натискаючи на них, розкрийте бранші дзеркала і огляньте стан піхви та шийки матки, звертаючи увагу на їх колір, наявність слизу чи ексудату, їх характер, розкриття чи закриття цервікального каналу, наявність у ньому слизистої пробки.

- *мануальне дослідження:* зафіксуйте корову в станку, наведіть у неї туалет задньої частини тулуба і відведіть хвіст набік. На звичну для себе руку одягніть одноразову рукавичку зволожите її фізіологічним розчином або ж змастіть нейтральним жиром (гліцериним чи антисептичною емульсією). Склавши пальці руки конусом, введіть її обережно в піхву, звертаючи увагу на стан слизових оболонок — гладкість, наявність на них дещо клейкого секрету, розкриття чи закриття цервікального каналу, складчастість піхвової частини шийки матки.

Завдання 5. Проведіть ректальне дослідження статевих органів корів і телиць.

Зафіксуйте тварину в станку і наведіть туалет задньої частини тулуба. Одніть халат, фартух, гумові чоботи, загорніть рукави халата по плече, одніть нарукавник та п'ятипалу поліетиленову рукавичку. На поверхню рукавиці нанесіть спеціальний гель або ж вазелін.

Підійдіть до тварини ззаду і дещо зліва, відведіть хвіст корови набік і, склавши пальці підготовленої руки конусом, введіть її через анальний отвір до рівня третіх фаланг. Розширте пальці так, щоб через утворену між пальцями щілину повітря могло проникнути в пряму кишку. Це викличе рефлекторне скорочення прямої кишки і звільнення її від калу. Якщо дефекація не наступила, то попробуйте викликати її, поглажуючи пучками пальців слизову оболонку прямої кишки чи просто увівши руку глибоко в пряму кишку, звільніть її рукою від калу.

Запам'ятайте, що приступати до пальпації статевих органів можна лише під час розслаблення прямої кишки тому почекайте її розслаблення.

Знайшовши шийку матки, підтягніть її трохи до себе і, просунувши руку вперед, віднайдіть тіло матки (коротке, м'яке) і за ним скеровані вперед два роги матки і добре виражену між ними міжрогову борозну. Помістивши середній палець в борозну і просуваючи його вперед, дійдіть до біфуркації матки, після чого обережно пропальпуйте пучками пальців роги матки. Дійшовши до верхівки правого рога матки, знайдіть зразу внизу чи дещо збоку яєчник. Повернувшись вздовж рога назад до біфуркації, пропальпуйте таким же чином лівий ріг матки.

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

Невагітна матка розміщується в тазовій порожнині, її роги симетричні; при пальпації і легкому погладжуванні матка скорочується, її можна зібрати під долонею і пальцями руки; міжрогова борозна чітко промацується, яєчники розміщені в тазовій порожнині.

Контрольні питання:

1.3 яких органів складається статевий апарат самок?

- 2.Будова зовнішніх статевих органів корови.
- 3.Будова внутрішніх статевих органів корови.
- 4.Видові особливості будови статевих органів самок сільськогосподарських тварин.
- 5.Будова яєчника та його основні функції.
- 6.Кровопостачання та інервація статевих органів самок.
- 7.Овогенез, овуляція та атрезія фолікулів.
- 8.Розвиток жовтого тіла та його фізіологічна роль. Види жовтих тіл.

Тема 2. Морфофункціональна характеристика статевих органів самців сільськогосподарських тварин

Місце проведення заняття: лабораторія кафедри, лабораторія зоо-ветеринарної клініки університету, навчальний клас м'ясокомбінату.

Мета заняття: вивчити анатомо-топографічні особливості будови статевих органів самців с.-г. тварин: бугая, барана, цапа, кнура, жеребця.

Оснащення заняття: підручники, практикуми, методичні вказівки, таблиці, схеми будови органів розмноження, гістологічні та музейні препарати, муляжі; свіжі статеві органи вбитих: бугая, барана, цапа, кнура, жеребця; анатомічні та хірургічні пінцети, анатомічні ножі, скальпелі, ножиці прями та Купера, хірургічні зонди, сечові катетери; кювети для органів; мікроскопи, стекла предметні та накривні, піпетки очні, 2,9% розчин цитрату натрію, штангенциркулі, лупи, гумові рукавички.

Короткі методичні вказівки.

Користуючись малюнками, схемами, муляжами та препаратами музею кафедри студенти, під керівництвом викладача, ознайомлюються з морфологією та топографією статевих органів самців різних видів тварин. Зупиняються детально на будові мошонки, сім'яників з придатками та сім'япроводами, статевого члена, додаткових статевих залоз. Тоді, оглядаючи та препаруючи свіжі органи вбитих тварин, закріплюють свої знання з анатомії та топографії статевих органів самців.

Завдання 1. Вивчіть будову статевих органів самця (бугая, барана, цапа, кнура, жеребця).

Статеві органи самців складаються з сім'яників, їх вивідних шляхів (придатки сім'яників та сперміопроводи), додаткових статевих залоз, сечостатевого каналу та статевого члена.

Вивчення статевих органів та їх препарування розпочинайте з *мошонки* (*калитки*) - шкірно-м'язового випинання черевної стінки. Оглянувши її зовні, розріжте пошарово і переконайтеся, що зовнішнім шаром мошонки є тонка шкіра, вкрита ніжними волосками, багата потовими та сальними залозами.

Внутрішній шар утворений мускульно-еластичною оболонкою. Відпрепарувавши від шкіри цю оболонку, розріжте її перегородку, що ділить порожнину мошонки на дві парні половини. При цьому побачите загальну піхвову оболонку, на зовнішній поверхні якої є мускул підіймач сім'яника. Розріжте загальну піхвову оболонку (праву та ліву), огляньте її порожнини та розміщені тут сім'яники.

Сімяники - парні складно-трубчасті статеві залози в яких утворюються статеві клітини (спермії) та чоловічі гормони – андрогени.

При огляді зверніть увагу на розміщення сім'яників з придатками в порожнині мошонки. Заміряйте довжину, товщину і ширину сім'яника; перемноживши ці три виміри, визначте індекс величини сім'яника. Розрізавши сім'яник вздовж на дві половини, роздивіться серозну оболонку - власне піхвову оболонку сім'яника, що вкриває його зовні, та розміщену нижче і зрощену з нею білочну оболонку. Під останньою видно сітку кровоносних судин. Біля верхнього полюса білочна оболонка проникає усередину сім'яника і утворює середостіння, від якого відходять в радіальному напрямку тонкі сполучнотканинні перегородки, що ділять сім'яник на 300 - 400 пірамідальних часточок. В кожній такій часточці є по 4-5 покручених сім'яних каналців довжиною 50-80 см, оточених рихлою сполучною тканиною; в них відбувається утворення та розвиток статевих клітин спермій.

Сімяники бугаїв яйцеподібної форми, дещо сплюснуті з боків, довжина їх 12-14 см, товщина 6-7 см, маса – 300 г. Розташовані в калитці перпендикулярно поздовжній осі (вертикально), форма видовженого еліпсоїда.

У барана сім'яники досить великі, овально-бобоподібної форми, розміщені вертикально в порожнині калитки. Довжина 8-12 см, товщина 4-6 см, маса – 200-250г.

У жеребця довжина сім'яників 10-12 см, товщина – 5-6 см, маса – 200-300 г. Розташування сім'яників горизонтальне (поздовжнє) до тіла, форма яйцеподібна.

У кнура довжина сім'яників 10-12 см, товщина – 5-6 см, маса – 200 – 300 г. У калитці сім'яники знаходяться в похилому положенні. Форма – овально-бобоподібна.

На таблиці-схемі прослідкуйте, як в середині сім'яника звивисті каналці звужуються і впадають в прямі, що утворюють сітку сім'яника; звідси через спермовиносні каналці і ворота середостіння спермії надходять в канал придатка сім'яника.

Придаток сім'яника – орган накопичення, дозрівання та зберігання спермій, що знаходяться у стані анабіозу.

Відпрепаруйте придаток від сім'яника і зверніть увагу на величину та форму його головки, тіла, хвоста. У бугая, барана та цапа придаток слабо розвинений. Головка розміщена на верхньому полюсі сім'яника, тонке довге тіло прилягає до його каудального краю, а хвіст знаходиться на нижньому полюсі. У кнурів головка і хвіст придатка виражені добре, але межа між ними майже відсутня, задня частина хвоста придатка тісно зростається з сім'яником.

Подивіться на схему будови сім'яника та придатка. Ви помітите, що головка придатка сім'яника утворена 13-15-ма сперміовиносними каналцями, а тіло і хвіст - довгим петлеподібно покрученим каналом придатка сім'яника; в розправленому вигляді він досягає 40-80 м довжини. Просвіт каналу, особливо його хвостовий кінець, переповнений секретом і сперміями. Тут вони дозрівають, вкриваються захисною ліпідною оболонкою і переходять у стан анабіозу, зберігаючи свою запліднюючу здатність до двох місяців.

Надріжте хвіст придатка сім'яника, наберіть піпеткою краплю вмістимого, нанесіть його на чисте предметне скло, додайте краплю теплої фізіологічного розчину, чи 2,9% розчину цитрату натрію, накрійте накривним склом і розгляньте під мікроскопом.

Канал хвоста придатка сім'яника переходить в *сперміопровід* - тонку, (до 4 мм) трубку, стінка якої складається з серозної, мускульної (кільцева та поздовжня) і слизової оболонки. В складі сім'яного канатика сперміопровід,

разом з судинами, нервами, та м'язовими волокнами, підіймається через паховий канал в черевну порожнину і досягає зовнішньої поверхні сечового міхура. Недалеко від шийки сечового міхура лівий і правий сперміопроводи впадають у сечовивідний канал, перетворюючи його в сечостатеви́й канал.

Сечостатеви́й канал по тазовому зрощенню скеровується в бік сидничної дуги, а тоді обгинає її і розміщується на вентральній поверхні статевого члена, на головці якого і закінчується малим отвором.

Оболонка сечостатевого каналу складається з трьох шарів: слизового, судинного та мускульного. В слизовій оболонці є численні малі уретральні залози. В судинному шарі є велика кількість кавернозних розширень, наповнення яких кров'ю сприяє зиянню каналу під час ерекції.

В сечостатеви́й канал відкриваються вивідні протоки придаткових статевих залоз: міхурцевидної, простати та цибулинних. Познайомтеся з топографією та зовнішнім виглядом придаткових статевих залоз.

Міхурцевидні залози, розміщені над шийкою сечового міхура з боків ампул сперміопроводів. В бугая вони досить тверді з горбкуватою поверхнею. Це складні трубчастоальвеолярні утворення, що відкриваються в сечостатеви́й канал однією, рідше двома вивідними протоками. Секрет залоз у бугая, барана, козла та кнура — водянистий, а в жеребця — густуватий. Зміряйте довжину, ширину та товщину міхурцевидної залози; відпрепаруйте вивідну протоку та добудьте з неї секрет.

Простатична залоза - залозисте утворення, що складається з тіла (у вигляді невеличкої стрічки), що лежить на початковій частині сечостатевого каналу, і розсіяної частини, розміщеної в стінці сечостатевого каналу. Тіло залози найкраще розвинене в жеребця, розсіяна частина — в бугая та кнура; в барана є лише розсіяна частина. Відпрепаруйте простату, огляньте її і зробіть виміри.

Цибулинні (бульбо-уретральні, куперові) залози — парні, розміщені на згині сечостатевого каналу під цибулинно-кавернозним мускулом. Найкраще вони розвинені у кнура (довжина 12-18 см, ширина 3-4, товщина 2-3 см), тоді,

як у барана та бугая вони величиною в лісовий горіх. Відпрепаруйте залози, зміряйте їх та добудьте з них секрет.

Статевий член — орган парування. Двома ніжками (корінь) він прикріплений до сідничних кісток; тіло його проходить між загальними піхвовими оболонками сім'яників під черевною стінкою і переходить в головку, розміщену в спеціальній шкіряній складці *препуціальному мішку (крайня плоть)*.

В бугая, цапа, барана, кнура статевий член циліндричної форми, в ділянці промежини він утворює S-подібний згин, від якого відходять до кореня два мускули, що втягують статевий член в препуцій.

Головка статевого члена у бугая загострена, на її шийці є закручена наліво зв'язка, яка під час еякуляції натягується і кінцева частина статевого члена описує майже повне коло, діаметром 12-14 см. В козла і барана сечостатевий канал у вигляді відростка виходить на 3-4 см за межі статевого члена. В кнура на кінці статевого члена є штопороподібний згин, що сприяє введенню його в канал шийки матки. Головка статевого члена жеребця має грибоподібну форму.

Зверху статевий член вкритий сполучнотканинною оболонкою, від якої відходять всередину численні перегородки, утворюючи кавернозне (печеристе) тіло. При статевому збудженні каверни сильно наповнюються артеріальною кров'ю, статевий член твердіє і висувається з препуція (ерекція). Зміряйте довжину статевого члена, розріжте його впоперек і уважно розгляньте деталі його будови.

Завдання 3. Вивчіть гістроструктуру сім'яника та стадії сперміогенезу.

Згадавши основні принципи будови сім'яного каналіка за схемою, розгляньте під мікроскопом гістологічний препарат сім'яника. Знайшовши в полі зору сім'яні каналці, ви побачите, що їх стінки утворені клітинами різної форми. По периферії видно рожеві з темними ядрами довгасті клітини сполучної тканини. Ближче до центру в один - два ряди розміщені невеликі темно-

фіолетові круглі клітини (сперматогонії). Далі видно декілька рядів великих клітин з чіткими ядрами і слабо забарвленою протоплазмою. Це - сперматоцити I та II порядку.

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

Завдання 4. Проведіть зовнішнє дослідження статевих органів бугая.

Зафіксуйте тварину в добре освітленому природним світлом манежі. Підніміть голову бугая дещо вгору, відведіть хвіст набік. Огляньте мошонку, спочатку визначте її форму, характер складок, консистенцію і чутливість, а тоді, захопивши ззаду (між задніми кінцівками обидва сім'яники і промацуючи їх рівномірно згори до низу, визначте величину і форму сім'яників, їх положення в мошонці, рухливість, консистенцію та тургор.

Сім'яники здорових самців гладкі, легко переміщуються догори, щільно-еластичної консистенції. Правий сім'яник звичайно дещо більший за лівий. При наявності тестиметра можна зробити проміри сім'яника: у статеводозрілих бугаїв він має 12-20 сантиметрів у висоту, 6-10 см - в ширину і 7-10 см товщини.

Дослідіть одночасно придатки сім'яників. У бугая на вентральному кінці сім'яника промацується у вигляді невеличкого напівкруглого утворення хвіст придатка. На дорсальному кінці сім'яника важко промацується головка придатка.

Пальпуючи сім'яні канатики та сперміопроводи, зверніть увагу на їх товщину, консистенцію і болючість.

Визначте довжину, рухливість та чутливість препуціального мішка, діаметр препуціального отвору, стан його слизової оболонки. Промачайте крізь стінку препуціального мішка статевий член.

Контрольні питання:

1. З яких органів складається статевий апарат самця?
2. Будова сім'яника і придатка, їх фізіологічна роль.
3. Сперміогенез.
4. Придаткові статеві залози і їх значення.
5. Статевий акт і статеві рефлекси.

Тема 3. Приготування розчинів. Знезаражування посуду, матеріалів та інструментів, що застосовуються при штучному осіменінні сільськогосподарських тварин

Місце проведення заняття: навчальна лабораторія кафедри.

Мета заняття: Оволодіти методикою приготування розчинів, матеріалів, посуду та інструментів, які використовують при одержанні, розрідженні і зберіганні сперми. Опанувати способи стерилізації інструментів, посуду і матеріалів.

Матеріали та обладнання: ваги аптекарські з різновагами до них, банки для тампонів, циліндри мірні, мензурки, колби місткістю 100-500 мл, лійки, скляні палички, піпетки різного об'єму, спиртометри, пінцети анатомічні або корнцанги, ножиці прямі, шпателі, ложки рогові, баня водяна, стерилізатор чи каструля емальована, спиртівки, електроплитка, праска електрична, су-шильна шафа, автоклав, пароутворювач, піхвові дзеркала, шприци- катетери, спермоприймачі, папір фільтрувальний, марля, марлеві серветки, вата гігроскопічна біла, вазелін білий і жовтий, миска емальована, йоржі для миття посуду, рушники, вода дистильована та водопровідна, спирт етиловий 96⁰, натрій двовуглекислий, сода кальценована, натрій хлористий, натрій лимоннокислий тризаміщений п'ятиводний у порошку та ампулах, фурацилін, пергідроль, калій двохромовокислий, сірчана кислота.

Короткі методичні вказівки

Перед проведенням заняття студенти одягають чисті білі халати, шапочки або косинки. Викладач розподіляє групу на ланки по 3-4 в кожній, після чого вони отримують необхідні матеріали та обладнання.

На початку викладач коротко знайомить студентів із змістом заняття, демонструє правила приготування розчинів, тампонів, марлевих серветок, паперових фільтрів, потім кожна ланка самостійно виконує завдання наведені нижче.

Завдання 1. Приготування фізіологічних розчинів.

Приготування 2,9% розчину натрію лимоннокислого (натрію цитрату).

На 100 мл прокип'яченої і охолодженої до 80° С дистильованої води візьміть 2,9г натрію лимоннокислого (трьохзаміщеного п'ятиводного хімічно чистого) і старанно розмішуйте стерильною скляною паличкою, профільтруйте через ватний чи паперовий фільтр, закрийте і простерилізуйте у киплячій водяній бані протягом 5-10хв або витримайте 30 хвилин в автоклаві при температурі 108° С і тиску 0,4 атм.

Готувати розчин необхідно щодня. Цитрат натрію має слаболужну реакцію і буферні властивості, він не токсичний для сперміїв, нейтралізує молочну кислоту, що нагромаджується у спермі. Його використовують при оцінці якості сперми, її розморожуванні, споліскуванні спермоприймачів, а також для промивання інструментів якими користуються при введенні сперми тощо.

Приготування 1% розчину натрію бікарбонату.

Розчин готують із розрахунку 1г хімічно чистого натрію гідрокарбонату (натрію бікарбонату або питної соди - NaHCO_3) на 100 мл попередньо прокип'яченої і охолодженої до 40-45 °С дистильованої води, так як при температурі вище 60°С бікарбонат натрію розкладається з виділенням вуглекислого газу і перетворюється у токсичний для сперміїв карбонат натрію - Na_2CO_3 . Влийте дистильовану воду в колбу з наважкою бікарбонату натрію і розмішуйте стерильною скляною паличкою до повного розчинення.

Готують розчин щоденно. 1%-ний розчин бікарбонату натрію має властивості буфера та слаболужну реакцію. Оскільки він не токсичний для сперміїв, його використовують при оцінці якості сперми, для зволоження піхвового дзеркала, поліетиленових рукавичок, промивання спермоприймачів та інструментів для введення сперми.

Приготування 0,85% розчину натрію хлориду.

Розчин готують із розрахунку 0,85(0,9) г хімічно чистого натрію хлориду (нейодованої солі) - NaCl , або беруть таблетку натрію хлориду по 0,9 г на 100 мілілітрів попередньо прокип'яченої дистильованої води. Для кращого роз-

чинення сіль розмішують скляною паличкою, після чого ставлять на вогонь і доводять до кипіння.

Розчин готують щодня і використовують його за відсутності розчину цитрату натрію або бікарбонату натрію для зволоження та промивання спермоприймачів, інструментів і посуду після стерилізації їх у кип'яченій воді, видалення залишків спирту, а також для зволоження піхвових дзеркал.

Завдання 2. Приготування дезінфікувальних розчинів.

Приготування 70% спирту.

70% етиловий спирт готують з 96°-чи 95°-ного етилового спирту-ректифікату. Перш ніж приступити до приготування 70%-ного потрібно попередньо визначити міцність “маточного” спирту-ректифікату. Для цього налейте в 500 мілілітровий циліндр спирт-ректифікат, обережно занурте туди спиртометр (він повинен вільно плавати, не торкаючись дна) і по верхньому меніску визначте його міцність.

Розрахунок на приготування 70% спирту проводять за такою пропорцією:

N - 100 мл

70% - x

де, N- міцність “маточного” спирту-ректифікату в градусах;

X - число мілілітрів спирту-ректифікату;

Якщо взяти 96°-ний спирт, то: $X = (70 \times 100) : 96 = 72,8 \text{ мл}$

Відмірявши 72,8(73) мл 96% етилового спирту, долейте 27 мл прокип'яченої дистильованої води до мітки 100 мл і перемішайте скляною паличкою. Міцність одержаного спирту перепроверте спиртометром. Якщо вона виявиться нижче 70 відсотків то не виймаючи спиртометра, долейте спирту-ректифікату, аж поки спиртометр не підніметься до мітки 70 і навпаки, якщо міцність спирту буде вищою, то долейте необхідну кількість води.

Відомо, що 70% спирт менш коагулює білки і тому глибше проникає у протоплазму мікробів і цим сприяє їх загибелі. 70%-ний спирт-ректифікат готують на 2-3 доби, зберігають у банці з притертою пробкою та використовують для знезараження інструментів, спермоприймачів, баночок і приладів.

Приготування 0,02% (1:5000) розчину фурациліну.

Враховуючи те, що фурацилін погано розчиняється у воді, розчини частіше готують на 0,9% розчині натрію хлориду і значно рідше на дистильованій або просто кип'яченій воді.

Для цього в 1 л киплячої дистильованої води розчиніть 9 г NaCl і 0,2 фурациліну. Після чого розчин охолодіть, профільтруйте і перелийте в стерильну скляну посудину. Оскільки розчин фурациліну на світлі швидко розкладається його потрібно зберігати в затемненому місці або ж в посудині із темного скла.

Використовують розчин фурациліну для промивання і обмивання препуція у плідників, обмивання зовнішніх статевих органів самок перед осіменінням, миття штучних вагін, а також рук перед і після осіменіння тварин.

Приготування 3% розчину перекису водню.

Робочий розчин перекису водню готують з 30% водного розчину пергідролу або з таблеток гідропериту, який містить 30-35% перекису водню. Готуючи робочий розчин перекису водню відміряйте 10 мл 30% розчину пергідролу і додайте 90 мл кип'яченої води або розчиніть 6 таблеток гідро-периту у 100 мл води.

Розчин використовують для дезінфікування препуція у плідників.

Завдання 3. Приготування мийних розчинів.

Приготування 2-3% розчину натрію бікарбонату або 1-1,5% розчину кальцинованої соди.

Для цього в чистій емальованій посудині (миска, каструля) готують розчин із розрахунку 2-3 г натрію бікарбонату (натрію гідрокарбонату - NaHCO_3) або 1,0-1,5 г кальцинованої соди (натрію карбонату, Na_2CO_3) на 100 мл гарячої води.

Розчин використовують для миття посуду, штучних вагін, піхвових дзеркал, клейонки, інструментів, термосів, посудин Дьюара.

Потрібно пам'ятати, що вимиті в содовому розчині посуд, інструменти та інший інвентар обов'язково споліскують кілька разів чистою гарячою водою.

Приготування хромової суміші.

На 1л дистильованої води розчиніть 100 г калію двохромовокислого, після чого дуже обережно додайте 100 мл сірчаної кислоти.

В хромовій суміші замочують посуд, який забруднений спермою, жовтком або ж розбавником. Посуд замочують на 24 години після чого обережно виймають і кілька раз промивають в проточній воді і ополіскують дистильованою водою.

Завдання 4. Приготування матеріалів які використовуються при штучному осіменінні тварин.

Приготування ватних тампонів.

Готують тампони із білої гігроскопічної вати. Тампони для протирання великих приладів готують діаметром 6-7 см, а для мілких - 3-4 см.

Для приготування тампонів візьміть шар вати, відділіть від нього невеликі куски, розпушіть і заверніть їх кінці до середини, так щоб утворились плоскі кружечки. Щоб тампон не розривався і був міцним та тонким, відтягніть від країв тоненькі шматочки і, не відриваючи, заверніть їхні кінці аж за середину, на протилежний бік так, щоб волокна вати перехрещувались під прямим кутом. Кожний тампон здавіть між долонями рук і складіть у тампонницю.

Підготовлені тампони використовуйте сухими (стерильними), або зволоженими (для зволоження застосуйте 70% етиловий спирт або 0,02% розчин фурациліну). Зволожені тампони відіжміть між чистими долонями рук або за допомогою пінцета і перекладіть по одному в окрему банку-тампонницю з притертою кришкою.

Зволожені тампони використовують для знезараження рук, підставок для інструментів, штучних вагін, зовнішньої поверхні спермоприймачів та шприців-катетерів, піхвових дзеркал, скляних паличок, шкаралупи яєць, термометрів. Сухими стерильними тампонами знімають із приладів та інструментів залишки фізіологічного розчину, спирту, фурациліну, вазеліну тощо.

Приготування марлевих серветок.

Чисту марлю розріжте на шматки розміром 20х20, 30х30, 40х40 після чого простерилізуйте одним із доступних способів і складіть у стерильну банку з притертою кришкою.

Використовують серветки для заворачивання стерильних інструментів, видалення з інструментів крапель води, протирання предметних та покривних скелець, протирання оптики мікроскопу, висушування штучних вагін тощо.

Завдання 5. Знезаражування посуду, інструментів та матеріалів.

Інструменти, посуд та матеріали повинні завжди бути чистими, сухими і стерильними. Це важливо для запобігання забруднення, інфікування та агібелі спермій, а також профілактики інфекційних та інвазійних хвороб.

Стерилізація кип'ятінням.

Кип'ятінням знезаражують штучні вагіни, скляний посуд, спермоприймачі, ширици-катетери, металічні інструменти і гумові корки. Для цього потрібно мати електричні стерилізатори або емаліровані каструлі.

Перед стерилізацією шприци-катетери ретельно промийте, розберіть. Циліндр оберніть бинтом або марлею і прикріпіть до поршня (кожен поршень індивідуально притертий до циліндра, а тому його міняти неможна). Склянки, банки та спермоприймачі оберніть шаром марлі. На дно стерилізатора (каструлі) покладіть шар вати або марлі, а зверху на нього скляні банки, шприци-катетери, спермоприймачі і налейте до 2/3 об'єму стерилізатора (каструлі) дистильованої води. Закрийте кришкою і кип'ятіть 15-20 хвилин.

Після охолодження зніміть кришку, стерильним пінцетом вийміть інструменти та посуд, поставте їх на кришку стерилізатора. Шприци зберіть, залишки води ззовні видаліть стерильними марлевими серветками, а внутрішню поверхню промийте 1% розчином NaHCO_3 або 0,9% розчином NaCl . Після цього шприци-катетери заверніть в стерильні марлеві серветки, склянки закрийте стерильним папером (ковпачками), а банки та спермоприймачі - кришками.

Металічні інструменти (піхвові дзеркала, пінцети, підставки, ножиці) опускайте лише в киплячу воду, в іншому випадку вони швидко будуть іржавіти. Стерилізуйте 15-20 хв, після чого вийміть і поставте на кришку стерилізатора. Металічні інструменти швидко висихають, залишки води видаліть стерильними серветками.

Стерилізація парою.

Текучою парою можна знезаражувати внутрішні поверхні штучних вагін, спермоприймачів.

У пароутворювач налейте 3/4 води, закрийте його кришкою і нагрійте до кипіння. Пара, яка утворюється, буде надходити у гумову трубку, а потім спрямовується на знезаражувальний інструмент.

Пари знезаражуванні штучної вагіни закріпіть її похило в спеціальному штативі, приєднайте до звуженого кінця вагіни дерев'яну муфту з надітою на неї гумовою трубкою від пароутворювача і пропускайте пару в межах 10 - 15 хвилин. Закінчивши стерилізацію закрийте краї вагіни стерильними марлеви-ми серветками.

Оброблені парою інструменти потрібно промити стерильним 1% розчи-ном бікарбонату або 2,9% розчином лимоннокислого натрію, щоб видалити з них краплі води, які залишились, що може несприятливо відобразитися на якості сперми.

Стерилізація сухим жаром.

Проводиться в електричній сушильній шафі, духовій шафі газової плити. Стерилізують чистий скляний посуд, спермо приймачі, шприци-катетери в розібраному вигляді,

Перед стерилізацією колби, циліндри, мірні циліндри закрийте паперови-ми ковпачками, шприци-катетери заверніть в папір, із флаконів та банок зні-міть кришки.

Підготовлений посуд помістіть в сушильну (духову) шафу, задайте по-трібну температуру (160-180° C) і стерилізуйте протягом 45 хв. Після чого шафу відключіть, дайте їй охолонути і лише тоді вийміть посуд. Якщо шафу

попередньо не охолодити, то при відкритті дверей на скляному посуді можуть появитися тріщини від різкого перепаду температури.

Стерилізація фламбуванням.

Знезаражують піхвові дзеркала та скляні спермоприймачі, скляні палички, піпетки, ножиці, підставки для інструментів (безпосередньо перед застосуванням).

Стерилізацію посуду та інструментів проведіть над полум'ям (без кіптяви) спиртової або газової горілки, палаючого спиртового тампона або паяльної лампи. Фламбуючи посуд, його спочатку витримайте деякий час на віддалі 15-20 см від вогню, а потім, поступово наближаючись, обробляйте над полум'ям з усіх сторін. Щоб вогонь не обпікав руки, посуд та інструменти утримуйте над полум'ям за допомогою пінцета.

Знезаражування спиртом. Для стерилізації шприців-катетерів, спермоприймачі в та рук застосовують 70% спирт, а для обробки пінцетів, ножиць, склянок - 96%-ний спирт-ректифікат.

Стерилізація шприца-катетера. Для цього візьміть чисто вимитий шприц-катетер і наберіть в нього розчин 70% спирту - ректифікату. Верхню частину шприца-катетера обробіть з допомогою спиртового тампону. Після стерилізації необхідно видалити залишки спирту із стінок інструмента, для цього шприц-катетер промийте 0,9% стерильним розчином натрію хлориду (1% -ним розчином натрію бікарбонату; 2,9%-ним розчином цитрату натрію).

Стерилізація в автоклаві.

В автоклаві стерилізують штучні вагіни, посуд, металічні інструменти, розчини тощо.

В робочий автоклав помістіть чисті штучні вагіни (попередньо одягнувши на обидва кінці полотняні або паперові чохли), металічні інструменти або посуд. Включіть його в електромережу і автоклавуйте при температурі 105° С (0,3-0,4 атм) протягом 15-20 хв. Після чого прилад відключіть, дайте охолонути, після цього відкрийте кришку автоклава і дістаньте за допомогою стерильного корнцанга необхідні інструменти або посуд.

Стерилізація гарячою праскою. Стерилізують халати, рушники, марлеві серветки.

Ультрафіолетове опромінювання.

Застосовують для знезараження поліетиленових рукавиць, ампул та піпеток, а також інших інструментів із поліетилену. Проводять з допомогою спеціальних ультрафіолетових ламп.

Стерилізація вазеліну.

Візьміть неповну скляну банку з білим, або жовтим вазеліном, закрийте нещільно кришкою (пробкою). На дно стерилізатора чи каструлі покладіть ватну, або марлеву прокладку, поставте на неї банку з вазеліном і залийте водою так, щоб рівень води був вище рівня вазеліну в банці. Нагрійте воду до кипіння і кип'ятять 30 хвилин. Тоді вийміть банку із стерилізатора і після охолодження щільно закрийте кришкою (пробкою).

Вазелін можна стерилізувати і в автоклаві. Стерилізують його щоденно і використовують в основному для змащування камери штучної вагіни.

Контрольні запитання:

1. Чому розчини: 0,9% натрію хлориду, 2,9% натрію лимоннокислого та 1% бікарбонату натрію є ізотонічними у відношенні до спермійів?
2. Як приготувати 70% спирт ректифікат і для чого він використовується ?
3. Якої концентрації готують розчини фурациліну і з якою метою він використовується ?
4. Які розчини використовують для миття посуду та інструментів ?
5. Для чого використовують марлеві серветки і ватні тампони?
6. Які існують методи знезаражування посуду та інструментів?

Тема 4. Будова штучних вагін, їх підготовка та одержання сперми від плідників різних видів тварин.

Місце проведення заняття: лабораторія кафедри, манеж пункту штучного осіменіння (зооветеринарна клініка університету).

Мета заняття: ознайомитися з будовою штучних вагін, оволодіти технікою їх підготовки та методами одержання сперми від плідників.

Оснащення заняття: штучні вагіни в розібраному та зібраному вигляді, підставки для штучних вагін, штативи для спермоприймачів, електро-еякулятор, гумові груші, корнцанги великі та малі, пінцети, електроплитка, автоклав, стерилізатор для штучних вагін, сушильна шафа, термостат для штучних вагін, 70-процентний спирт, 0,9% розчин хлористого натрію, 2-3% розчин соди, ватні спиртові тампони, стерильні марлеві серветки, рушники, стерильний вазелін, скляні лійки, мірні циліндри, скляні палички, емальовані кружки, йоржі для миття штучних вагін, капронові протирки, термометри, емальовані тази, каструлі, компресор для нагнітання повітря в штучну вагіну, плідники та підставні тварини, чучело для одержання сперми від кнура, парувальна шлея для фіксації кобили.

Короткі методичні вказівки.

Студенти згадують основні способи одержання сперми, переваги методу штучної вагіни над іншими методами, вивчають детально будову штучних вагін усіх конструкцій і техніку їх підготовки. Після з'ясування теоретичної підготовленості викладач резюмує порядок одержання сперми від плідників за допомогою штучної вагіни, нагадує про основні правила техніки безпеки та ветеринарно-санітарні вимоги при одержанні сперми. Далі студенти під контролем викладача отримують сперму від наявних плідників

Завдання 1. Порівняйте будову штучних вагін для бугая, барана, кнура та жеребця.

Вивчаючи штучні вагіни для плідників різних видів тварин, зверніть увагу на особливості їх будови, зміряйте довжину і діаметр циліндра, визначте з якого матеріалу він виготовлений.

Штучні вагіни для всіх видів тварин побудовані за одним принципом і складаються з циліндра(корпуса), що має патрубок для наливання води та нагнітання повітря, ебонітового краника спермоприймача (спеціальної гайки у вагіні для жеребця), гумової камери, гумового тримача спермоприймача у вагіні для бугая чи сполучної трубки для приєднання спермоприймача у вагіні для кнура, гумових кілець для закріплення камери на циліндрі у вагіні для бугая, кнура і жеребця, водяного манометра з гумовим балоном чи кулями Річардсона у вагіні для кнура конструкції О.В. Квасницького.

Для одержання сперми від бугая раніше користувалися штучною вагіною зразка 1942 року або ж вагіною, що була запропонована І. І. Родіним з алюмінієвим чи пластмасовим циліндром, один кінець якого ампулоподібно розширений. Дещо пізніше Д. Д. Логвінов запропонував спеціальний пристрій для асептичного одержання сперми від бугая, який складався з укороченої вагіни, насадки до неї з прозорого терmostійкого органічного скла із заглибленням-відстійником та герметично пригвинчуваного спермоприймача. На даний час для отримання сперми від бугая користуються укороченими вагінами та вагінами Minitube. Конструкція цих вагін дозволяє отримувати еякулят безпосередньо у одноразовий спермоприймач, не забруднюючись.

Штучна вагіна *для одержання сперми від барана та цапа* відрізняється порівняно від таких, що використовуються для бугаїв, лише меншими розмірами.

Для отримання сперми від жеребця користуються штучними вагінами моделей: «Hannover», «Missuori», «Colorado», а також ВНДІ конярства, яка має алюмінієвий циліндр, з одного кінця звужений у вигляді горловини, на яку надягають спермоприймач. Збоку до циліндра припаяна металева ручка.

Від кнурів сперму отримують за допомогою укороченої штучної вагіни бугая, або ж мануально з використанням спеціальних спермоприймачів. У свій час використовувалась штучна вагіна конструкції Полтавського науково-дослідного інституту свинарства, яка могла бути водоналивною чи електричною. Зовнішній циліндр-кожух цієї вагіни був металічний, двостінний. В нього

вставляли власне вагіну - конусну металеву трубку із одягненою і закріпленою на її кінцях гумовою камерою. Тонкостінна гумова камера з одного боку гладка, з другого - шорстка, а діаметр - дещо менший, що забезпечує добру її фіксацію на циліндрі. В штучній вагині конструкції Полтавського інституту свинарства використовують гумову камеру від штучної вагини барана.

Спермоприймачі у вагінах бувають одноразового чи багаторазового використання, одно або ж двостінними і виготовлені з різних матеріалів. Одностінні можна використовувати при температурі повітря в манежі не нижче 18-20 °С. В усіх інших випадках користуються двостінними, як правило скляними, в міжстінний простір яких наливають теплу воду.

При отриманні сперми від кнура спермоприймачі обов'язково повинні мати фільтри для відокремлення драглистих секретів передміхурової залози, які погіршують якість одержаної сперми.

Завдання 2. Складіть штучну вагіну для бугая, барана, жеребця чи кнура.

Перш ніж скласти штучну вагіну, перевірте цілість та справність усіх її частин, щоб перекопатися, чи немає тріщин та отворів у циліндрі, чи ціла гумова камера, ебонітовий краник повинен вільно відкриватися і закриватися та щільно входити в отвір патрубку або в гумовий корок.

Візьміть гумову камеру, виверніть її гладкою поверхнею всередину і пропустіть її крізь циліндр так, щоб вона виступала рівномірно з обох боків. Заверніть один край камери на циліндр, натягніть її рівномірно і поверніть цим кінцем циліндр донизу. Підніміть вагіну за незавернений кінець камери так, щоб краї її вільно розправились в циліндрі і тоді натягніть другий кінець камери на циліндр. Для полегшення завертання країв камери на циліндр можна спочатку згорнути кінець її валиком всередину, а тоді натягнути згорнуту частину на кінець циліндра і акуратно розгорнути. Натягнута камера не повинна мати складок, перекосів і провисань, діаметр її внутрішнього просвіту повинен бути однаковим на всьому протязі. При дуже сильному на-

тяганні (коли отвір камери приймає форму лійки), слабкому натягненні та утворенні складок порушується еякуляція, погіршується якість сперми і статеві активність плідника.

Закріпіть завернені па циліндр кінці камери гумовими кільцями - одним з боку, де буде приєднуватися спермоприймач, і двома — з вхідного кінця (в штучній вагіні для барана кілець не застосовують, а у вагіні для кнура Полтавського інституту свинарства кінці камери закріплюють мотузкою чи відрізанним кільцем гумової камери).

Вставте ебонітовий краник у патрубок циліндра, з'єднайте його з гумовою грушею і занурте вагіну в посудину з водою, перевірте, чи не витікає вода. У вагіні для барана вставте в патрубок спочатку корок з м'якої гуми з отвором для ебонітового краника. У вагіні для кнура зразка Полтавського інституту свинарства металічна трубка-патрубок, що з'єднується з водяним манометром та гумовими кулями.

Завдання 3. Підготуйте штучну вагіну до одержання сперми.

Підготовлена штучна вагіна має відповідати таким вимогам: температура 40-42 °С, тиск біля 40 мм ртутного стовпчика, слизька поверхня та стерильність.

Підготовку складеної вагіни проведіть в такій послідовності:

1. *Механічне очищення.* Нові штучні вагіни і ті, що були у використанні спочатку необхідно помити. Для цього у спеціальній посудині приготуйте 2-3% теплий розчин двовуглекислої чи 1-1,5% розчин кальцинованої соди і за допомогою поролонової протирки, йоржика чи куска марлі, захопленого корнцангом, старанно помийте вагіну. Сполосніть її чистою гарячою водою, витріть всередині і ззовні чистим рушником чи серветкою;
2. *Знезараження штучних вагін* проведіть автоклавуванням, кип'ятінням в дистильованій воді, обробкою 96⁰ спиртом чи текучою парою.

При стерилізації, автоклавуванням чи кип'ятінням одягніть на обидва кінці штучної вагіни полотняні чохла або закрийте кінці вагіни пергаментним

папером і закріпіть його гумовими кільцями. Помістіть вагіни в автоклав та автоклавуйте 15-20 хвилин при температурі 105 °С (0,3—0,4 атм).

При стерилізації вагіни шляхом кип'ятіння помістіть її у спеціальний великий стерилізатор, налийте туди дистильованої води і кип'ятіть протягом 20 хвилин. Вийміть спеціальними довгими щипцями простерилізовану вагіну з стерилізатора, дайте воді стекти, а тоді помістіть її на підставку.

Для знезаражування штучної вагіни спиртом візьміть профламбованим корнцангом ватний спиртовий тампон, попередньо зволожений 96⁰ розчином і спіралеподібними рухами протріть ним спочатку внутрішню, а тоді зовнішню поверхню вагіни. Кінці штучної вагіни закрийте стерильною марлевою серветкою.

При знезаражуванні штучної вагіни для кнура текучою парою, закріпіть її похило в спеціальній підставці, приєднайте до звуженого кінця вагіни дерев'яну муфту з приєднаною до неї гумовою трубкою від пароутворювача і пропускайте пару. Закінчіть стерилізацію через 3-5 хвилин після припинення конденсації пари та нагрівання вагіни. Закрийте кінці вагіни стерильними серветками.

Простерилізуйте спермоприймач одним із таких способів:

а) сухим жаром (чисто вимиті спермоприймачі витримайте в сушильній шафі при температурі 160-180 °С протягом 20-30 хвилин;

б) кип'ятінням (чисто вимитий спермоприймач покладіть в теплу воду, нагрійте її до кипіння і кип'ятіть 5 хвилин;

в) споліскування спиртом (налийте в спермоприймач для бугая чи барана 3-4 мл 70-% спирту, сполосніть його, вилийте спирт в банку для відпрацьованого спирту і промийте спермоприймач 4-5 раз 1% стерильним розчином двовуглекислої соди, 2,9-% розчином лимоннокислого чи 0,9-% розчином хлористого натрію;

г) поліетиленові одноразові спермоприймачі знезаражують промінням бактерицидних ламп.

Значно рідше спермоприймачі дезинфікують фламбуванням, автоклавуванням чи текучою парою.

3. *Наповнення штучної вагіни гарячою водою.* Вийміть ебонітовий крапник (спеціальну гайку у ш.в. жеребця) із штучної вагіни, вставте у патрубок скляну лійку і влийте у міжстінний простір відповідну кількість води температурою 55-65 °С. У вагіну для бугая – 350-400мл, барана (цапа) – 150-180мл, кнура – 300-400-1200мл (залежно від конструкції вагіни) і жеребця – 1,5-2,0л.

4. *Надання слизькості внутрішній поверхні вагіни.* Користуючись незараженою скляною чи пластмасовою паличкою, змажте круговими рухами внутрішню поверхню камери тонким шаром стерильного вазеліну (трагакантовою, силіконовою водо-гліцеріно-крохмальною змазкою або синтетичним середовищем) залишивши незайманим той кінець вагіни (2-3 см у вагіні для барана, 4-5 см - у вагіні для бугая та кнура), до якого буде приєднуватись спермоприймач.

5. *Приєднання спермоприймача.* Якщо температура в манежі для одержання сперми нижче + 18°С, то до вагіни для бугая та барана приєднують лише двостінний спермоприймач, в міжстінний простір якого наливають воду температурою 30-35 °С і закривають отвір гумовим корком. Одягають на спермоприймач стерильний захисний поліетиленовий мішечок.

У незмащений кінець вагіни бугая вставте спермоприймач і закріпіть його гумовим тримачем; у вагіні для барана спермоприймач притримують одним - двома пальцями під час одержання сперми.

Гумовий спермоприймач для вагіни жеребця конструкції НДІ конярства надягають на звужений кінець. Штучні вагіни моделей «Hannover», «Mis-suogi» та «Colorado» обладнані спеціальними спермоприймачами і мають власні особливості щодо їх кріплення.

До штучної вагіни для кнура конструкції Полтавського НДІС спермоприймач приєднують за допомогою товстостінної гумової муфти, а у вкороченій вагіні конструкції ВІТ - незараженим відрізком гумової камери від вагін для бугая.

6. *Нагнітання повітря.* За допомогою гумового балона, куль Річардсона чи спеціального компресора нагнітайте повітря до помірного зіткнення стінок гумової камери. Створений отвір повинен набути вигляду правильного трикутника.

У вагіні для кнура конструкції Полтавського НДІС повітря нагнітають за допомогою куль Річардсона, з'єднаних через трійник манометром (для контролю за тиском) та за вагіною. Вставивши підготовлену вагіну в чучело свині, відкривають кран манометра і нагнітають повітря доти, поки вода не підніметься з нижньої посудини до риски у верхній посудині, відміченій за шкалою в межах 40-50 см, після нього кран манометра перекривають.

У вагіну жеребця повітря не нагнітають, а тиск регулюють кількістю влитої води.

7. *Прикріпіть стерильну поролонову накладку на вхідний отвір в штучну вагіну і зафіксуйте її гумовим кільцем.*

8. Вставте незаражений хімічний або спеціальний термометр у вхідний отвір вагіни, тримаючи її в похилому положенні спермоприймачем догори, і *зміряйте температуру* в ній; вона повинна бути в межах 40-42 °С. Якщо температура виявиться вищою, відлийте частину води з вагіни і додайте приблизно стільки ж холодної і, навпаки, якщо температура у вагіні нижча потрібної, додайте гарячої води.

Щоб температура у підготовлених вагінах не знизилась до моменту взяття сперми, їх тримають в шафах-термостатах, з відрегульованою температурою на 42 °С.

У штучній вагіні для кнура температуру вимірюють після закріплення її в чучелі.

Завдання 4. Одержання сперми від бугая.

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. Сперму від бугаїв

отримують «дуплетною садкою», тобто двічі підряд, з перервою 5-7хв. Для цього за кожним із бугаїв закріплюють по дві штучних вагіни. Таким чином наступний еякулят одержують на другу вагіну.

Для кращого закріплення умовних рефлексів і збереження високої активності плідників сперму в них слід брати завжди в один і той же час (не раніше двох годин після годівлі та напування).

У приміщенні манежу попередньо проводять вологе прибирання і опромінюють приміщення бактерицидними лампами.

Перед отриманням сперми бугаїв спочатку протягом 15-20 хвилин прогулюють, після чого чистять шкіру (щітками чи пілососом), обмивають теплою водою в душовій і висушують в сушилці. Мошонку і зовнішню частину препуція обмивають теплою водою і витирають насухо індивідуальним рушником, серветкою чи папером. Підв'язують пліднику чистий сухий пропрасований нагрудний фартух. Плідника заводять у манеж для одержання сперми лише тоді, коли підготовчі операції завершені.

Отримайте сперму від бугаїв на підставну тварину (поставлених в станок вола чи бугая) або на механічне чучело в такій послідовності:

1. Візьміть у праву (для лівші - у ліву) руку підготовлену штучну вагіну, утримуючи її під кутом 40-45° спермоприймачем догори. Станьте трохи осторонь і обличчям до заду зафіксованої у станку підставної тварини та уважно слідкуйте за плідником, якого підводять за палицю-води́ло.

2. Веліть затримати бугая біля станка на 2—5 хвилин, не допускаючи грубого поводження з ним.

3. Як тільки плідник зробить стрибок(садку) на підставну тварину, поставте вагіну до її крупа під кутом 40—45° до горизонтальної лінії спермоприймачем вгору і лівою (для лівші правою) рукою обережно захопіть за шкіру препуція, відведіть статевий член дещо вбік(не більше ніж на 30-35°) і спрямуйте його в отвір штучної ва́гни. При цьому не можна доторкатися рукою до статевого члена бугая, відводити його сильно вбік або ж надівати вагіну на статевий член. Все це гальмує статеві рефлекси.

Після характерного різкого поштовху бугая, коли він почне опускатися передніми кінцівками на підлогу, поступово опускайте за ним штучну вагіну вниз. Коли бугай витягне статевий член із вагіни, поверніть її спермоприймачем вниз, випустіть через краник повітря і, оглядаючи спермоприймач, перевірте сперму на колір та на чистоту. Якщо сперма доброї якості відокремте спермоприймач від вагіни і передайте його в лабораторію, а вагіну – у мийну кімнату.

Завдання 5. Одержання сперми від барана (цапа).

Готувати баранів-плідників до парувального сезону розпочинають за 1-1,5 місяці перед початком осіменіння овець. За цей час їх привчають до садки на штучну вагіну, досліджують якість отриманої сперми. Спочатку від плідників беруть по два еякуляти через 5-6 днів, а потім по два через 2-3 дні. Перші два еякуляти беруть дуплетною садкою вранці після годівлі і 1-1,5-годинної прогулянки, а третій – у другій половині дня. Від молодих баранів за сезон беруть 10-12 еякулятів.

Отримайте сперму від барана на підставну тварину. Для цього заведіть в станок та зафіксуйте вівцю, валуха чи малоцінного барана-плідника.

Взявши в праву руку штучну вагіну і притримуючи вказівним та середнім пальцями спермоприймач, присядьте навпочіпки справа біля станка із зафіксованою твариною. Штучну вагіну тримайте під кутом 35-40° спермоприймачем вгору. Під час стрибка барана на підставну тварину обережно захопіть лівою рукою за шкіру препуція і відведіть статевий член дещо вбік, правою рукою підставте штучну вагіну до крупа тварини і скеруйте статевий член у вагіну.

Після характерного поштовху барана поверніть штучну вагіну спермоприймачем вниз, відкрийте кран і проведіть решту маніпуляцій так, як і при отриманні сперми від бугая.

Завдання 6. Одержання сперми від кнура.

Молодих кнурців починають привчати до садки на чучело з 6-8 місяців, допускаючи не більше двох садок за декаду. З 8-10 місячноговіку, коли вони

досягають маси тіла 130-140 кг, отримують по дві садки на тиждень.

Дорослих кнурів використовують помірно (одна садка на 3 дні) або інтенсивно (одна садка на 2 дні з наданням 8-10 денного відпочинку через місяць після використання).

Сперму від кнура отримують на чучело, яке може бути дерев'яним, гумовим або металевим, з амортизуючим пристосуванням або без нього. Відкидна стінка чучела дозволяє легко вкладати в неї і виймати штучну вагіну, яка закріплюється в спеціальному заглибленні так, що вхідний отвір співпадає з отвором у задній стінці чучела. На бокових стінках чучела є упори для передніх кінцівок кнура.

Чучело у манежі (станку) закріплюють на помості оббитому гумовим килимком з ребристою поверхнею і ставлять так, щоб воно впиралося передньою частиною в стінку, це виключає спроби кнура зробити садку з передньої частини.

Для отримання сперми від кнура його спочатку необхідно привчити до садки на чучело. З цією метою пліднику дають покрити декілька свиноматок, а потім у станку встановлюють чучело і проводять спробу отримати сперму. Якщо кнур не йде, чучело покривають шкурою свині, можна також задню частину чучела змастити спермою кнура або виділеннями з піхви свиноматки в стані охоти.

До і після кожного отримання сперми чучело миють теплою водою з милом і витирають насухо рушником. Задню частину чучела протирають тампоном змоченим у розчині фурациліну (1:5000).

Отримайте сперму від кнура:

1. Вставте підготовлену вагіну в чучело і закріпіть її так, щоб отвір вагіни співпадав з отвором в задній частині чучела.
2. Під'єднайте манометр до вагіни та прослідкуйте за тиском у штучній вагіні (тиск не повинен перевищувати 40-50 см водяного стовпа).
3. Приженіть кнура в манеж(клітку) і простежте за його поведінкою.

Садка у кнура триває 5-10 хвилин, інколи 15-20. Про еякуляцію можна судити з таких ознак: припинюються парувальні рухи у кнура, він заспокоюється, хвіст його закручується вгору, м'язи біля ануса ритмічно скорочуються, а сім'яники підтягуються. В кінці еякуляції хвіст ритмічно скорочується, а тоді опускається вниз.

4. Після закінчення еякуляції, коли кнур зійде з чучела, вийміть штучну вагіну з чучела, від'єднайте спермоприймач, видаліть фільтр з секретом куперових залоз, закрийте спермоприймач кришкою(серветкою) і передайте в лабораторію.

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 термокварту 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 спермопродукції є виділення слизової пробки. Після отримання сперми оператор відпускає головку статевого члена, забирає термокварту із спермою і передає її в лабораторію.

Завдання 7. Одержання сперми від жеребця.

Для одержання сперми від жереця у більшості випадків як підставну тварину використовують 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 і утримують її за вуздечку. Два конюхи виводять жеребця „в розтяжку”. Технік у цей час стоїть з підготовленою вагіною з правого боку кобили на відстані 6-8 кроків. Садку жеребцеві дозволяють робити лише при добре вираженій ерекції статевого члена. Якщо вона не настає або слабо ви-

ражена, то жеребця спочатку підводять до голови, а тоді до паху кобили і дозволяють обнюхати її.

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. Тривалість садки у жеребця 1-2 хвилини, еякуляція триває 10-30 сек. про це свідчить ритмічна пульсація сечостатевого каналу та припинення штовхальних рухів крупом. 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

Від жеребця у парувальний сезон можна брати один, інколи два еякулята на день. Через кожні 6 діб їм дають одноденний відпочинок.

Контрольні питання:

1. Особливості та зовнішні ознаки еякуляції у плідників різних видів тварин.
2. Які існують методи одержання сперми від плідників?
3. Гальмування статевих рефлексів при одержанні сперми та методи їх профілактики.
4. Санітарно-гігієнічні вимоги при одержанні сперми.
5. Переваги методу штучної вагіни над іншими методами.
6. Основні складові частини штучних вагін для плідників різних видів тварин.
7. Яким вимогам повинна відповідати штучна вагіна, умови для нормальної еякуляції.
8. Порядок та послідовність підготовки штучних вагін до одержання сперми.
9. Техніка одержання сперми у самців с.-г. тварин.

Тема 5. Органолептичне та мікроскопічне оцінювання якості сперми.

Вплив умов зовнішнього середовища на сперміїв.

Місце проведення заняття: навчальна лабораторія кафедри.

Мета заняття: оволодіти методиками макро- та мікроскопічної оцінки якості сперми, вивчити дію на сперміїв окремих фізичних та хімічних факторів, які можуть знижувати їх виживання поза організмом.

Оснащення заняття: спермоприймачі зі спермою бугая та барана, градуйовані мензурки з профільованою спермою кнура та жеребця, розбавлена сперма, піпетки на 1, 5, 10 мл, очні піпетки, пеніцилінові флакони, предметне і накривне скло, скляні трубки завдовжки 4-5 см з внутрішнім діаметром 0,8-1 мм, чашки Петрі, столики Морозова, скляні палички, мікроскопи, термостат, універсальний індикатор, дистильована вода, розчин хлорису-того натрію: 0,5%, 0,9% та 3%; 2,9% розчин цитрату натрію, 1% розчин лізолу чи креоліну, 70% спирт, настойка йоду, 1% розчин молочної кислоти, 5% водний розчин еозину, 3,5% розчин цитрату натрію, 0,1% розчин метиленової синьки виготовлений на 0,9% розчині хлористого натрію, стандарти для визначення концентрації сперміїв у спермі жеребця, стерильні марлеві серветки, фільтрувальний папір, чашка з льодом, ванночки кювети для фіксації, промивання та фарбування мазків, вата, марлеві серветки, фільтрувальний папір, рушники, гаряча вода.

Короткі методичні вказівки:

Після перевірки теоретичної підготовленості студентів до заняття і з'ясування незрозумілих питань, що виникли в процесі самостійної підготовки, студенти виконують самостійно нижче наведені завдання. Наслідки виконуваних завдань записують в робочі зошити

Завдання 1. Проведіть оцінювання сперми за зовнішніми ознаками.

Сперма, особливо свіжоотримана, дуже чутлива до змін температури. Тому дослідження проводять у лабораторії за температури приміщення не нижче 18-20 °С.

Не виливаючи еякуляту із спермоприймачів, визначте його колір, запах, консистенцію і співставте їх з показниками нормальної сперми. Тоді за поділками спермоприймача визначте об'єм еякуляту. Якщо ж спермоприймач неградуйований, то виміряйте його об'єм за допомогою чистих, сухих, теплих (30-36 °C) градуйованих піпеток, шприців, мензурок чи циліндрів.

Об'єм еякуляту у кнура та жеребця вимірюйте лише після попередньої фільтрації – для відокремлення густих секретів цибулинно-сечівникових залоз.

Характеристика сперми сільськогосподарських тварин за зовнішніми ознаками.

Вид тварин	Об'єм еякуляту, мл	Колір	Запах	Консистенція
Баран	1 (0,5 - 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 драглисто-клейкими зернами
Жеребець	60 (40 - 300)	Сірувато-білий	Без запаху	Водяниста із домішками слизу

Завдання 2. Визначте густоту сперми.

Оцінка густоти сперми у нерозбавленій спермі проводиться одночасно з оцінкою активності сперміїв у препараті «роздавлена крапля». Для цього візьміть з чашки Петрі чисте, тепле предметне скло і стерильною скляною паличкою чи очною піпеткою нанесіть на нього краплю досліджуваної сперми та обережно накрийте сухим, чистим і підігрітим накривним склом так, щоб вона заповнила весь простір під склом, але не витікала за його краї і в ній не було бульбашок повітря.

Поставте мікроскоп в спеціальний термостат, відрегульований на температуру 38-40°C або покладіть на його предметний столик нагрівальний столик Морозова, поставте його на стіл дзеркалом до вікна чи іншого джерела світла і протріть м'якою чистою серветкою його дзеркало, окуляр та об'єktiv. Опустивши об'єktiv мікроскопа за допомогою макрогвинта майже до предметного столика і, дивлячись в окуляр та повертаючи дзеркало з боку в бік, встановіть найкраще освітлення поля зору.

Покладіть препарат на предметний столик мікроскопа або ж на столик Морозова під об'єktiv 8^x або 20^x і, дивлячись в окуляр, повільно піднімайте тубус за допомогою мікрогвинта до появи зображення в полі зору. Повертаючи мікрогвинт у той чи інший бік створіть більш чітке зображення. Визначте густину сперми в декількох полях зору і з'ясуйте, чи відповідає вона мінімальним вимогам для сперми даного виду тварин.

За густиною не розріджена сперма може мати певну якість:

Густа (скорочено позначається літерою Г) – все поле зору мікроскопа суцільно заповнене сперміями, між ними майже не видно вільних проміжків, спермії рухаються суцільною масою. Розрізнити рух окремих спермій не можливо.

Середня (С) – в полі зору мікроскопа між сперміями добре помітні проміжки, але їх розміри менші довжини спермія. Рух окремих спермій добре помітно.

Рідка (Р) – в полі зору мікроскопа спостерігаються окремі розкидані спермії, проміжки між ними більші довжини одного спермія.

Якщо в полі зору мікроскопа спостерігаються поодинокі спермії, то це явище називають олігоспермією (О), а у випадку відсутності в полі зору спермій – аспермією (А).

Сперма різних плідників значно відрізняється за густиною. Так, барани в нормі виділяють тільки густу сперму, бугаї - густу і середню, а жеребці і кнури – частіше рідку та середню.

Завдання 3. Визначте активність спермійв.

В тій же «роздавленій краплі» сперми, в якій визначали густоту, визначте на око, який відсоток спермійв у полі зору має *прямолінійний поступальний* рух. Оцініть його в балах, за десятибальною системою, враховуючи що 10% таких спермійв прирівнюються до 1 балу. Спермійв із маневрним та коли-вальним рухами, а також мертвих спермійв до уваги не беруть.

При оцінці активності спермійв у розбавленій спермі, для кращого огляду їх між кульками жовтка чи молочного жиру беріть малу краплю, яка утворює під склом тонкий шар. Для оцінки активності збереженої сперми нанесіть на предметне скло поряд з краплею сперми краплю 2,9% розчину лимоннокислого натрію або ж 1% розчину двовуглекислої соди чи 0,9% розчину хлористого натрію, підігрітих до 38 °C; накрийте обидві краплі покривним склом і розглядайте рухливість спермійв на стику крапель.

Запишіть результати другого та третього завдання двома знаками (Г9, С8, Р6 і т. д.).

Завдання 4. Вивчіть дію на спермійв різної температури.

Візьміть чисте сухе предметне скло, нанесіть на нього за допомогою скляної палички чи очної піпетки краплю нерозбавленої жовтковим середовищем сперми, накрийте її покривним склом і помістіть, на столик мікроскопа. Визначте активність спермійв. Тоді помістіть препарат під мікроскоп з нагрівальним обладнанням, спочатку з температурою 38-40 °C, а тоді – 45-50 градусів і прослідкуйте за зміною активності спермійв.

На інше предметне скло нанесіть таку ж краплю сперми і покладіть його на 1-2 хвилини на лід. Тоді протріть фільтрувальним папером нижню поверхню предметного скла, помістіть на столик мікроскопа і перевірте активність спермійв спочатку при 18-20°C, а тоді при температурі 38-40 °C.

Завдання 5. Вивчіть дію на спермійв різного осмотичного (дифузного) тиску.

На чисте сухе предметне скло нанесіть скляною паличкою чи піпеткою краплю нерозбавленої сперми, накрийте її покривним склом і оцініть актив-

ність спермійв під мікроскопом при температурі 38-40°C. На інше предметне скло нанесіть таку ж краплю сперми і покладіть поряд з нею краплю дистильованої води. Накрийте їх, не змішуючи, накривним склом і спостерігайте на межі злиття крапель сперми та води за змінами активності та форми спермійв.

Повторіть цей дослід з розчинами хлористого натрію 0,5 - 0,9 - та 3% концентрації.

Завдання 6. Вивчіть дію на спермійв хімічних речовин.

Дія на спермійв 70% спирту. Спочатку перевірте активність досліджуваної сперми під мікроскопом, потім нанесіть на чисте, сухе предметне скло краплю сперми, додайте до неї краплю 70% спирту, змішайте краплі, накрийте накривним склом і простежте під мікроскопом за змінами активності спермійв.

Вивчіть дію йоду на спермійв. Нанесіть краплю сперми з відомою активністю на чисте сухе предметне скло і навколо неї нанесіть розчин йоду у вигляді кільця накриваючи накривним склом, простежте під мікроскопом за змінами активності спермійв.

Вивчіть дію на спермійв 1% розчину лізолу чи креоліну. Порядок роботи аналогічний як у випадку із спиртом та йодом.

Завдання 7. Вивчіть дію на спермійв змін реакції середовища.

На чисте сухе предметне скло нанесіть краплю сперми і визначте активність під мікроскопом; перевірте рН сперми за допомогою універсального індикатора.

На інше предметне скло нанесіть краплю цієї ж сперми, додайте до неї краплю 1% розчину молочної кислоти і дослідіть під мікроскопом зміни рухливості спермійв. Перевірте рН такої сперми за допомогою універсального індикатора.

Тепер виготуйте в пеніциліновому флаконі підкислений 1% розчин хлористого натрію, додавши до 5 мл його 1 мл 1% розчину молочної кислоти.

Нанесіть на предметне скло краплю сперми, додайте до неї краплю підкисленого розчину хлористого натрію і визначте активність спермійв

спочатку при кімнатній температурі, а тоді при температурі 38-40°. Визначте рН цієї сперми.

Підніміть покривне скло, додайте до підкисленої сперми 1-2 краплі 2,9% розчину лимоннокислого натрію і перевірте тепер активність сперміїв. Визначте рН сперми.

Контрольні питання:

1. Які існують методи оцінки сперми?
2. В чому полягає загальна макроскопічна(органолептична) оцінка сперми?
3. Оцінка сперми за її густиною та рухливістю сперміїв.
4. Вплив складу середовища на сперміїв.
5. Значення осмотичного тиску. Вплив ізотонічного, гіпо- та гіпертонічних розчинів на життєдіяльність сперміїв.
6. Реакція середовища та її значення для виживання сперміїв.
7. Вплив температури на виживання сперміїв. Температурний шок.
8. Вплив хімічних речовин на виживання сперміїв.
9. Вплив світла на виживання сперміїв.

Тема 6. Визначення концентрації сперми. Підрахунок патологічних форм спермійв.

Місце проведення заняття: навчальна лабораторія кафедри.

Мета заняття: оволодіти методиками визначення концентрації, а також підрахунку живих, мертвих та патологічних форм спермійв.

Оснащення заняття: спермоприймачі зі спермою бугая та барана, градуйовані мензурки з профільованою спермою кнура та жеребця, розбавлена сперма, піпетки на 1, 5, 10 мл, очні піпетки, пеніцилінові флакони, предметне і накривне скло, змішувачі еритроцитні та лейкоцитні (меланжери), лічильні камери, фотоелектрокалориметр, скляні трубки завдовжки 4-5 см з внутрішнім діаметром 0,8-1 мм, чашки Петрі, столики Морозова, скляні палички, мікроскопи, термостат, універсальний індикатор, дистильована вода, розчин хлористого натрію: 0,5%, 0,9% та 3%; 2,9% розчин цитрату натрію, 1% розчин лізолу чи креоліну, 70% спирт, настойка йоду, 1% розчин молочної кислоти, 5% водний розчин еозину, 3,5% розчин цитрату натрію, 0,1% розчин метиленової синьки виготовлений на 0,9% розчині хлористого натрію, стандарти для визначення концентрації спермійв у спермі жеребця, стерильні марлеві серветки, фільтрувальний папір, чашка з льодом, ванночки кювети для фіксації, промивання та фарбування мазків, вата, марлеві серветки, фільтрувальний папір, рушники, гаряча вода.

Короткі методичні вказівки:

Після перевірки теоретичної підготовленості студентів до заняття і з'ясування незрозумілих питань, що виникли в процесі самостійної підготовки, студенти виконують самостійно нижче наведені завдання. Наслідки виконуваних завдань записують в робочі зошити

Завдання 1. Визначіть концентрацію спермійв у спермі за допомогою лічильної камери Горяєва.

Візьміть чисту лічильну камеру, покладіть на опірні пластинки її накривне скло і, протискаючи великими пальцями, притріть його до пластинок

до появи райдужних кілець. Тепер візьміть чистий сухий обезжирений еритроцитарний змішувач (для сперми жеребця та кнура береться лейкоцитарний змішувач), наберіть в нього сперму бугая до мітки 1,0 або сперми барана, кнура чи жеребця - до мітки 0,5, швидко витріть кінець піпетки ваткою і наберіть 3%-го розчину хлористого натрію до верхньої позначки (101, 11). Внаслідок цього сперма барана розбавиться у 200 разів, бугая - в 100, а кнура і жеребця у 20 разів, а спермії загинуть під дією гіпертонічного розчину хлористого натрію. Це полегшує їх підрахунок. Затисніть кінці змішувача між великими та вказівними пальцями і струшуйте протягом 2-3 хвилин. Видаліть перші чотири краплі рідини із змішувача на ватку, в них немає сперміїв, а п'яту краплю нанесіть збоку на сітку камери під накривне скло. Крапля повинна рівномірно заповнити простір камери і в ній не повинно бути бульбашок повітря. Лишки сперми витріть марлевою серветкою.

Покладіть заправлену камеру на столик мікроскопа в суворо горизонтальному положенні, наведіть мікроскоп і підберіть оптимальне освітлення, спускаючи конденсор, змінюючи просвіт діафрагми чи повертаючи дзеркало. Знайдіть спочатку сітку камери під малим збільшенням, а тоді переведіть на збільшення в 400 разів, при цьому в полі зору поміститься один великий квадрат сітки камери і починайте підрахунок сперміїв. Необхідно підраховувати їх кількість в п'яти великих тобто у 80 малих квадратах, розміщених по діагоналі. При підрахунку сперміїв приймайте до уваги лише їх головки і в кожному малому квадраті враховуйте спермії, розміщені всередині квадрата, а також ті що лежать головками на лівій і верхній лініях квадрата. Кількість підрахованих у кожному великому квадраті сперміїв записуйте окремо, а тоді підсумуйте. Концентрацію сперміїв вирахуйте за формулою:

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

$$C = (H \times D \times 4000 \times 1000) : 80, \text{ де}$$

C- концентрація сперміїв;

H- число сперміїв у 80 малих квадратах;

D- ступінь розбавлення сперми у змішувачі (20, 100 чи 200);

400- число для переведення в квадратній міліметри;

4000- число для переведення в кубічні міліметри (об'єм одного малого квадрата дорівнює $1/4000$ куб. мм);

1000- число для переведення у мілілітри (в одному мілілітрі міститься 1000 куб. мм);

И- кількість малих квадратів, в яких проводиться підрахунок;

p- глибина камери в міліметрах (0,1).

Тепер вирахуйте концентрацію спермійв за спрощеними формулами, поділивши кількість підрахованих у 80 малих квадратах спермійв на 200 для сперми барана чи 1000 для сперми кнура і жеребця.

Порівняйте отримані дані.

Після виконання завдання старанно помийте лічильні камери та шліфовані стекла спочатку простою, а тоді дистильованою водою і витріть насухо марлевою серветкою. Видаліть із змішувача лишки сперми, промийте його послідовно дистильованою водою, тоді 96% спиртом і ефіром, висушіть, продуваючи через них повітря з гумової груші чи кулі Річардсона.

Завдання 2. Визначте концентрацію спермійв за допомогою фотоелектроколориметра.

Визначення концентрації спермійв на фотоелектроколориметрі розпочинайте через 15-20 хвилин після включення лампи. Встановіть червоний світлофільтр, лівий відліковий барабан встановіть на нульову поділку за червоною шкалою оптичної щільності.

Візьміть стільки чистих сухих пеніцилінових флаконів, скільки проб сперми будете досліджувати; прономеруйте їх відповідно і в кожен з них налейте по 10 мл 3,5% розчину цитрату натрію з температурою в межах 18-25 градусів.

Наберіть у мікропіпетку по 0,1 мл сперми з кожної досліджуваної проби, не допускаючи попадання туди піни та вазеліну, витріть кінчик піпетки чистою марлевою серветкою і видуйте сперму у відповідний флакон з

розчином. Промийте мікропіпетку декілька разів розчином з цього ж флакону і старанно розмішайте рідину у флаконі. Тепер кожен такий флакон містить розбавлену у співвідношенні 1:100 сперму бугая.

При дослідженні сперми барана розбавте її у співвідношенні 1:400, додаючи до 10 мл 3,5% розчину цитрату натрію 0,025 мл сперми. Сперму кнура розбавте 1:30, додаючи до 6 мл 3,5% розчину цитрату натрію 0,2 мл сперми, профільтрованої через два шари капронової тканини.

Налийте старанно розмішану розбавлену сперму в одну з кювет фотоелектроколориметра з робочою довжиною 10 мм до позначки, а дві інші такі ж кювети наповніть розчином цитрату натрію. Помістіть кювету з розбавленою спермою в правий кюветотримач приладу на шляху проходження світлового пучка ближче до джерела світла, а в лівий кюветотримач у таке ж положення помістіть одну з кювет з розчином цитрату. Другу кювету з розчином цитрату помістіть в праве гніздо кюветотримача в запасне положення.

Закрийте кришку приладу і ввімкніть гальванометр на малу чутливість (положення 1). Обертаючи ручку грубого налаштування фотометричних клинів, установіть стрілку гальванометра на нуль, тоді переключіть гальванометр на високу чутливість (положення 2) і знов приведіть стрілку гальванометра в нульове положення. Вимкніть гальванометр.

Дещо підійміть правий кюветотримач і, повернувши його навколо осі, змініть положення кювет так, щоб на шляху проходження світлового пучка стала кювета з розчином цитрату.

Закрийте кришку приладу, знов включіть гальванометр (спочатку на грубу чутливість) і, не чіпаючи вже ручки фотометричних клинів, а обертаючи вимірювальний барабан, поверніть відхилену стрілку гальванометра в нульове положення; тоді переключіть прилад на високу чутливість і обертанням вимірювальних барабанів, уточніть нульове положення стрілки.

Вимкніть гальванометр і відлічіть за червоною шкалою лівого барабана оптичну щільність досліджуваної проби і подивіться, якій концентрації сперміїв вона відповідає на градуовальній кривій.

Градувальну криву будують заздалегідь для сперми кожного виду тварин.

При відсутності кривої можна користуватись спрощеним підрахунком: кожні 0,05 поділки шкали барабана відповідають ста мільйонам спермій в одному мілілітрі нерозбавленої сперми.

Завдання 3. Визначте відсоток живих і мертвих спермій методом диференціювального фарбування.

На чисте обезжирене предметне скло, ближче до одного кінця, нанесіть стерильною скляною паличкою чи піпеткою невелику краплю нерозбавленої сперми і поряд з нею краплю 5% розчину еозину. Перемішайте швидко краплі краєм шліфованого скла. Дещо відступивши, притесніть торцевий край скла із залишками суміші до предметного скла під кутом 40—45 градусів і швидким плавним рухом потягніть його до протилежного кінця скла. Зробіть тонкий мазок. Решту суміші сперми з фарбою витріть ватним тампоном. Мазок повинен бути настільки тонким, щоб міг швидко висохнути на повітрі.

Покладіть висушений мазок на предметний столик мікроскопа і огляньте його при збільшенні в 400-600 разів. Спермії, які на час фарбування були живими, мають незабарвлені головки (оболонка їх непрониклива для фарби), тоді як головки мертвих спермій забарвлюються в рожевий колір.

Підрахуйте в декількох полях зору підряд 500 спермій, позначаючи окремо живих і мертвих. Обчисліть процент живих спермій (П) за формулою:

$$П = (Ж \times 100) : 500, \text{ де}$$

П - процент живих спермій;

Ж - число підрахованих незабарвлених спермій.

Завдання 4. Визначте відсоток патологічних спермій.

Високий процент патологічних спермій в спермі може бути причиною неплідності плідників. Процент патологічних форм спермій визначають в спермі кожного плідника 3-4 рази на рік, а також у випадку помітного по-

гіршення якості сперми, зниження запліднюваності корів в господарствах, куди завозять сперму даного плідника тощо.

Свіжоодержану сперму для зручності підрахунку розбавляють 1% розчином хлористого натрію; сперму барана 20-30 разів, бугая — в 10-15, жеребця і кнура — в 2-3 рази або зовсім не розбавляють. Для цього до краплі сперми очною піпеткою додайте відповідну кількість крапель 1% розчину хлористого натрію і обережно перемішайте їх.

З цієї суміші візьміть невеличку краплю сперми і зробіть тоненький мазок. Висушіть мазок на повітрі протягом 1-2 хвилини і зафіксуйте його в 96° спирт-ректифікаті шляхом опускання мазка в спирт чи шляхом покриття його шаром спирту (1-2 хвилини). Сполосніть дистильованою водою і зафарбуйте його розчином еозину чи метиленової синьки (3-5 хвилин).

Змийте фарбу водою, висушіть мазок і розгляньте його під мікроскопом. Мазок краще розглядати при збільшенні в 600 разів. В кожному полі зору підрахуйте і запишіть окремо нормальних і патологічних спермій, при цьому загальне число тих і других повинно складати не менше 500.

Процент патологічних спермій вирахуйте за формулою:

$$\% = (П \times 100) : (П \times Н), \text{ де}$$

П - число підрахованих патологічних спермій;

Н - число нормальних спермій.

Завдання 5. Визначте інтенсивність дихання спермій за швидкістю знебарвлення метиленової синьки.

Робота виконується за температури 20-24 °С. Візьміть 10 мл 0,1% розчину метиленової синьки, виготовленого заздалегідь на 0,9% розчині хлористого натрію (настояному три доби), і додайте до 90 мл 0,9% розчину хлористого натрію. Старанно змішайте.

На чисте предметне скло нанесіть за допомогою очної піпетки одну краплю свіжоотриманої сперми бугая, додайте до неї краплю розчину метиленової синьки. Змішайте краплі і наберіть суміші в канал скляної трубки,

надівши для цього на один її кінець гумову трубку, стовпчик суміші в каналі трубки повинен бути завдовжки близько 2 см і в ньому не повинно бути бульбашок повітря.

Покладіть трубку зі спермою на аркуш білого паперу і визначте за секундоміром час, протягом якого голубий стовпчик знебарвиться на кінцях стовпчика можуть залишитися голубі смужки. Співставте отримані наслідки з наведеною нижче таблицею.

Оцінка якості сперми за часом знебарвлення метиленової синьки

Якість сперми	Час знебарвлення сперми, хв	
	бугая	барана
Добра	5-10	3-7
Середня	11-30	8-12
Погана	понад 30	понад 12

Контрольні питання:

1. Які існують методи оцінки якості сперми?
2. Методи визначення концентрації сперміїв.
3. Порядок підрахунку сперміїв в лічильній камері Горяєва.
6. Визначення концентрації сперміїв за допомогою фотоелектрокалориметра
7. Як визначити процент патологічних форм сперміїв і які допустимі при цьому показники?
8. Як визначити процент живих сперміїв?
9. Як визначити інтенсивність дихання сперміїв?

Тема 7.Розрідження сперми.

Місце проведення заняття — лабораторія кафедри.

Мета заняття: вивчити склад основних синтетичних та біологічних середовищ для розрідження сперми, методику їх виготовлення, техніку та правила розрідження і зберігання сперми.

Оснащення заняття:

Свіжоотримана сперма бугая (барана, кнура, жеребця) дистильована вода, необхідні реактиви (трьохзаміщений п'ятиводний цитрат натрію, глюкоза, лактоза, глікокол, однозаміщений фосфат калію, хелатон. двовуглекислий натрій, сульфат магнію, цитратна кислота, хлористий калій, амоній-сульфат, вітамін В₁ в ампулах, гліцерин), бактеріостатичні речовини (стрептоцид, пеніцилін, стрептоміцин, спермосан), свіжі курячі яйця, свіже та сухе молоко, плоскодонні колби чи хімічні стакани, мензурки на 50 мл, змішувачі (великі та малі), чашки Петрі, шприци на 20 мл, скляні палички, пластикові та інсулінові флакони, гумові корки для них, марлеві серветки, спиртові тампони, паперові фільтри; пінцети, скальпелі, термометри хімічні, мікроскопи, нагрівальні столики, ящик-термостат, предметні та накривні стекла, термоси, лід, терези з важками, водяна баня електроплитки, каструля або таз з теплою водою.

Короткі методичні вказівки.

Після перевірки теоретичної підготовленості студентів до заняття і з'ясування незрозумілих питань, що виникли в процесі самостійної підготовки, студенти виконують самостійно нижче наведені завдання. Наслідки виконуваних завдань записують в робочі зошити

Завдання 1. Проведіть оцінку свіжоотриманої сперми під мікроскопом на густину та активність (див. попереднє заняття) і зробіть висновок про можливість та ступінь її розрідження. До розрідження допускається сперма, яка відповідає встановленим мінімальним показникам.

Мінімальні показники і ступені розрідження сперми

Плідник	Концентрація сперми, млрд/мл	Рухливість спермійів, бали	Ступінь розрідження	
			мінімальна	максимальна
Бугай	0,7	7	1:9	1:31
Баран	1,0	8	1:1	1:3
Кнур	0,15	7	1:1	1:9
Жеребець	0,15	6	1:1	1:3

Завдання 2. Ознайомтесь із основними рецептами розріджувачів сперми.

А. Рецепти розріджувачів для короткотривалого зберігання сперми

Компоненти	Сперма			
	бугая	барана	жеребеця	кнура
Вода дистильована, мл	100	100	100	100
Глюкоза, г	3	0,8	-	4
Лактоза, г	-	-	11	-
Цитрат натрію, г	1,4	2,8	0,089	0,38
Гідрокарбонат натрію, г	-	-	0,008	0,05
Натрій фосфорнокислий	-	3,0	-	-
Сульфат амонію, г	-	-	-	0,18
Хелатон, г	-	-	0,1	0,26
Жовток курячого яйця, мл	20	20	1,6	-

Спермосан – 3 тис. од.	75-90	50-75	25-30	25-30
t° зберігання розрідженої сперми	2-4	2-4	2-4	16-20
Максимальна тривалість зберігання, діб	72	24	48	72

Б. Рецепти розріджувачів для заморожування сперми

Компоненти	Дози за різної розфасовки сперми бугая			
	Гранули 0,1-0,2мл	Облицьовані гранули 0,25-0,33 мл		Пайєти (соломинки) 0,25мл
		№1	№2	
Вода дистильована, мл	100	-	100	100
Лактоза, г	11,5	-	6	8,05
11% розчин лактози, мл	-	63	-	-
Фруктоза, г	-	-	-	1,2
Рафіноза п'ятиводнева, г	-	-	-	1,95
Лимоннокислий натрій, г	-	-	1,4	-
Магній сірчаноокислий, г	-	-	-	0,01
Жовток курячого яйця, мл	20	30	-	20
Гліцерин, мл	5	7	5	5
Спермосан - 3, тис. од.	50	50-90	50-90	50-70

Завдання 3. Приготуйте глюкозо-жовтково-цитратний розріджувач.

Розріджувач готують не раніше ніж за три години до його використання.

Підвісьте аптечні терези на штативі та врівноважте їх; покладіть на обидві шальки терезів паперові фільтри однакових розмірів і ще раз зрівноважте їх.

Налийте у велику чисту хімічну колбу 3 літри дистильованої (бідистильованої) води (для всієї групи), накрийте її паперовим чи поліетиленовим ковпаком, поставте на електроплитку і стерилізуйте 5 хв, тоді охолодіть до температури 35 градусів.

Покладіть на ліву шальку терезів пінцетом, що є в коробці з важками, триграмову гирку, відкрийте банку з глюкозою, наберіть її чистою роговою ложечкою і всипте необхідну кількість на паперовий фільтр, що лежить на правій шальці терезів. Зсипте відважену кількість глюкози в чисту суху колбу на 100 мл і зробіть про це відмітку на колбі або покладіть біля колби аркушик паперу з рецептом розріджувача і робіть в ньому відповідні відмітки. Покладіть знову папірець на терези, старанно витріть рогову ложечку ваткою від решток глюкози, відважте таким же чином 1,4 г цитрату натрію і 90 мг спермосану-3 та всипте їх в ту ж колбу.

Відміряйте 100 мл прокип'яченої і охолодженої до 35°C дистильованої води, влийте в колбу з відваженими реактивами, розмішайте скляною паличкою до повного їх розчинення і профільтруйте через стерильний паперовий фільтр.

Тепер візьміть куряче яйце, помийте його щіткою, витріть насухо марлевою серветкою і протріть шкаралупу спиртовим тампоном, просоченим 70% спиртом або витримайте його 10-15 хвилин в настільній бактерицидній камері під ультрафіолетовими променями. За допомогою стерильного скальпеля чи пінцета розколiть шкаралупу яйця на дві половинки і, перекладаючи жовток з однієї половини в другу над чашкою, відокремте його від білка.

Перекладіть жовток на стерильний аркуш фільтровального паперу, обсушіть від решток білка. Складіть краї паперу вдвоє, дещо стиснувши жовток, проколiть стерильним скальпелем його оболонку і злийте його в стерильну мензурку, витисніть рештки жовтка, легко здавлюючи фільтр зовні.

Відміряйте 20 мл жовтка і внесіть в колбу з розчиненими в ній компонентами. Старанно розмішайте, накрийте стерильною серветкою і поставте в термостат чи на водяну баню з температурою 30-35°C.

Завдання 4. Приготуйте молочно-жовткове середовище для сперми бугая.

Візьміть свіжоздоєне молоко від здорових корів не раніше як через два місяці після отелу і не пізніше 30 днів до запуску, процідіть його через два шари стерильної марлі чи бинта в чисту скляну колбу, накрийте її паперовим фільтром, поставте на електроплитку і доведіть до кипіння. Щоб молоко не пригоріло, періодично похитуйте колбу. Охолодіть молоко до 35 градусів і знов профільтруйте. Налийте в чисту стерильну колбу 100 мл молока, додайте 20 мл жовтка 375 мг стрептоциду, 100 тисяч ОД пеніциліні, 100 тисяч ОД стрептоміцину. Розмішайте до повного розчинення препаратів. Накрийте стерильною серветкою і поставте в термостат чи на водяну баню з температурою 30-35°C.

Завдання 5. Приготуйте глюкозо-фосфатно-жовткове середовище.

Відважте послідовно 3,2 г глюкози безводної медичної, 2,08 г дво-заміщеного 12-водного фосфату натрію, 0,08 г однозаміщеного фосфату калію, 0,1- 0,2 г розчинного стрептоциду, по 50—75 тисяч ОД пеніциліну та стретоміцину.

Відміряй 100 мл прокип'яченої і охолодженої до 35°C дистильованої води, влийте її у колбу з відваженими реактивами, розмішайте скляною паличкою до повного розчинення складників і профільтруйте.

Додайте 20 мл жовтка курячого яйця (як це описано в завданні 2).

Накрийте колбу з розбавником стерильною серветкою і поставте в термостат чи каструлю з теплою водою (25-35°C).

Завдання 6. Приготуйте глюкозо-хелато-цитратно-сульфатне середовище для сперми кнура.

Налийте в чисту хімічну колбу 100 мл дистильованої води, додайте 4 г глюкози, накрийте паперовим ковпаком, поставте на електроплитку і кип'ятіть 5 хвилин. Зніміть колбу з вогню, охолодіть її вмістиме до 60°C, додайте

0,38 г цитрату натрію, 0,05 г двовуглекислої соди, а тоді при температурі 55-58°C – 0,26 г хелатону. Коли середовище охолоне до 40-45°C, додайте до нього 25-30 тис. ОД спермосану-3.

Завдання 7. Перевірте якість виготовлених розріджувачів.

Чистою стерильною скляною паличкою нанесіть на чисте, сухе предметне скло краплю нерозрідженої сперми з відомою активністю спермійів. Помістіть поряд з нею краплю перевірюваного розріджувача і накрийте накривним склом та оцініть під мікроскопом при температурі 38-40 °C активність спермійів на лінії злиття обох крапель. Якщо вона не знизилась, то розріджувач можна використовувати.

Завдання 8. Проведіть розрідження сперми бугая глюкозо -жовтково - цитратним розбавником у співвідношенні, вказаному викладачем (кожен студент отримує індивідуальне завдання з таким розрахунком, щоб група виготовила серію розріджень, розпочинаючи від 1:1 і до 1:100).

Посуд, в якому будете розріджувати сперму, нагрійте з термостаті чи водяній бані до температури 30-35°C. Незалежно від одержаного завдання, розрідіть спочатку сперму у спермоприймачі у співвідношенні 1:1, додавши обережно (по стінці) до неї рівну кількість розріджувача. Перенесіть тепер у підігрітий до 30-35°C градуйований змішувач 1 мл цієї сперми і долийте до неї поступово по стінці таку ж кількість розріджувача, щоб отримати не-обхідний ступінь розрідження. Після доливання кожної порції розріджувача старанно змішуйте його зі спермою.

Після розрідження сперми перевірте її на активність спермійів. Порівняйте під мікроскопом розбавлені краплі сперми з різними ступенями розрідження і визначте в них активність спермійів.

На чисте предметне скло нанесіть поступово краплі сперми різного ступеня розрідження (використовуючи також сперму, розбавлену іншими студентами) роздивіться їх уважно і оцінюйте в них активність спермійів. Дані оцінки запишіть у вигляді таблиці.

Завдання 9. Проведіть розрідження сперми барана (кнура, жеребця) виготовленим вами розбавником у вказаному викладачем співвідношенні і оцініть під мікроскопом активність сперміїв при різних ступенях розбавлення.

Контрольні питання:

1. Причини, що обумовлюють анабіоз сперміїв у придатку сім'яника.
2. Причини активування сперміїв в процесі еякуляції.
3. Для чого розбавляють сперму?
4. Вимоги до розбавників.
5. Причини холодового удару і його суть.
6. Склад глюкозо -жовтково -цитратного розбавника для сперми бугая та барана.
7. Класифікація розріджувачів.

Тема 8. Зберігання сперми та визначення живучості спермійв.

Місце проведення заняття: навчальна лабораторія кафедри.

Мета заняття: освоїти основні методи зберігання сперми та оцінки живучості спермійв у збереженій спермі; ознайомитися з обладнанням для зберігання і транспортування сперми бугая, барана, цапа, кнура, жеребця.

Оснащення заняття: свіжоотримана сперма бугая (барана), розріджена сперма бугая (барана, цапа, кнура, жеребця); синтетичні середовища для розрідження сперми, аптечні терези з важками, мензурки, дистильована вода, лактоза, гліцерин, спермосан, курячі яйця, мікроскоп з термостатним обладнанням, предметні та накривні стекла, скляні палички, 2,9% розчин цитрату натрію; пінцети анатомічні, хімічний термометр, чисті стерильні флакони з корками з харчової гуми, етикетки для флаконів та гумові кільця для їх прикріплення, одноразові скляні та поліетиленові ампули, пробірки, поліетиленові мішечки, градуйовані піпетки, розфасувальний апарат та апарат Флетчера, термоси різних конструкцій, кружки з поліетиленової плівки з діаметром, рівним отвору термоса, пластмасові круглі коробки для складання ампул, вата сіра, лід; посудини Дьюара, гумові рукавички, захисні окуляри, спеціальне обладнання для розрідження сперми, автомат ПРЖ; кріогенне обладнання, одноразові шприци з ін'єкційними голками, фторопластова пластинка, спеціальні каністри, марльові мішечки, ванна з пінопластового блока з вставленою емальованою металічною кюветою, рогова лопатка, побутовий холодильник, водяна баня.

Короткі методичні вказівки.

Після перевірки теоретичної підготовленості студентів до заняття і з'ясування незрозумілих питань, що виникли в процесі самостійної підготовки, студенти виконують самостійно нижче наведені завдання. Наслідки виконуваних завдань записують в робочі зошити

Завдання 1. Розфасуйте свіжорозріджену сперму бугая у флакони і поставте їх на зберігання за $t^{\circ} +2....+4$.

Візьміть широкогорлий харчовий термос і заповніть його на половину об'єму дрібними кусками чистого, промитого у воді льоду з температурою 0 градусів. Якщо температура льоду нижча нуля (не видно розтавання), то після промивання водою, дайте йому постояти в теплому приміщенні, поки не почне танути.

Заправте льодом термос конструкції Всесоюзного науково дослідного інституту конярства через бокові круглі отвори. Покладіть зверху льоду кружок з поліетиленової плівки, а тоді шар сірої вати товщиною 0,5 см.

Оцініть отриману сперму бугая за активністю спермійів під мікроскопом і розбавте її свіжовиготовленим глюкозо - жовтково - цитратним розріджувачем (температурою 30-35 градусів) у співвідношенні, вказаному викладачем.

Оцініть активність спермійів у розрідженій спермі і розлийте її у спеціальні флакони майже до самого верху; закрийте флакони гумовими корками, підклавши під корки аркушки парафінованого паперу, і закріпіть їх гумовими кільцями. Залишіть флакони зі спермою при кімнатній температурі на 20-30 хвилин, а тоді поставте їх вертикально чи похило в термос на шар вати над льодом, або опустіть в середнє гніздо термоса конструкції інституту конярства.

Через 3- 4 години видаліть шар вати і поставте флакони зі спермою безпосередньо на лід. Якщо сперму намічено зберігати в побутовому холодильнику, то помістіть флакони в кювету з льодом (додавши туди трохи холодної води), і поставте на полицю холодильника, де температура підтримується в межах $+ 1...+ 3^{\circ}\text{C}$.

Завдання 2. Розфасуйте свіжорозріджену сперму бугая в поліетиленові ампули і поставте на зберігання за температури $+ 2... + 4$ градуси.

Вийміть з пакети стерильну поліетиленову ампулу, стисніть її двома пальцями і занурте шийку ампули в мензурку з розрідженою спермою. Роз-

тисніть пальці і коли ампула наповниться спермою, запаяйте її отвір, притупивши шийку ампули до нагрітої праски. Складіть наповнені спермою ампули в пластмасові коробки з кришками і залишіть їх при кімнатній температурі на 20—30 хвилин. Після цього поставте коробку з ампулами втермос на шар вати над льодом.

Завдання 3. Проведіть заморожування сперми бугая у вигляді гранул в парах рідкого азоту на фторопластовій пластинці.

(Перша частин заняття - оцінка сперми, її розрідження та еквілібрація - виконується заздалегідь лаборантом кафедри (разом з черговим студентом).

Дотримуючись раніше зазначених вимог, приготуйте лактозо-жовткове середовище з гліцерином такого складу: води дистильованої 100 мл, лактози 11,5, жовтка курячих яєць 20 мл, спермосану 50 тис.од.

Оцініть свіжоотриману сперму за густотою, активністю та концентрацією сперміїв і розбавте, згідно вказівки викладача, у 2 або 10 разів (температура розріджувача повинна бути в межах 30-35 градусів).

Розлийте розріджену сперму у флакони, закрийте їх стерильними гумовими корками, поставте у ванночку з температурою води 30-35°C і помістіть на 30 хвилин на полицю холодильника за температури 2-4 градуси. Тоді вийміть флакони з ванночки і поставте їх ще на 4-6 годин безпосередньо на полицю холодильника. За цей час відбувається повільне проникнення гліцерину через оболонку сперміїв (*еквілібрація*).

Налийте рідкого азоту у ванну, зроблену з пінопластового блока, в яку вставлену емальовану металеву кювету. Опустіть фторопластову пластинку на 1 хвилину в рідкий азот (до припинення кипіння азоту), вийміть її, закріпіть на висоті 4—6 см над поверхнею рідкого азоту.

Наберіть розбавленої і витриманої протягом 4—6 годин при чотирьох градусах сперми в стерильний холодний двомілілітровий шприц чи в спеціальну крапельницю і швидко накапайте в кожну із лунок пластинки по 0,1—0,2 мілілітра сперми, а у великі ямки - по 0,5 мл.

Через кілька секунд (коли затвердіє сперма в останньому заглиблені) фторопластову пластинку знову опустіть у рідкий азот на 1-2 хвилини. Після цього пластинку вийміть, нахиліть набік і згорніть гранули заздалегідь охолодженою в рідкому азоті лопаткою з органічного скла в охолоджені до температури рідкого азоту туби (каністри, пластмасові стаканчики), прикріпіть до них бірки з кличкою бугая і датою замороження сперми і опустіть в посудину Дьюара з рідким азотом. Закрийте посудину кришкою (не щільно).

Завдання 5. Заморожування сперми бугая в облицьованих гранулах за Харківською технологією.

Свіжоотриману сперму оцінюють та розріджують з допомогою спеціальних середовищ.

Середовище №1

11% розчин лактози – 63 мл

Гліцерин – 7 мл

Жовток – 30 мл

Середовище №2

Лактоза – 6 г

Цитрат натрію – 14 г

Гліцерин – 5 мл

Вода дистильована – 100 мл

Спочатку сперму розведіть середовищем №1 у співвідношенні 1:1 в спеціальному приладі та витримайте за кімнатної температури 18-22°C протягом 5-10 хвилин. Після розбавте її таким же чином середовищем № 2 з розрахунку отримання концентрації 15 мільйонів спермій в дозі.

Під'єднайте до спермоприймача поліетиленову трубку діаметром 3,8—4 мм і товщиною стінки 120 мкм і витисніть у неї розбавлену сперму за допомогою простерилізованого апарату ПРЖ. Розділіть (розріжте) заповнену спермою трубку на окремі дози по 0,25—0,33 мл і загерметизуйте їх термічним шляхом. Одночасно проведіть маркування доз (номер бугая, порода, дата

взяття сперми). Перенесіть облицьовані гранули в алюмінієві туби, закрийте їх поролоновими корками і закріпіть в обоймах спеціального пристрою для еквілібрації та заморожування сперми. Помістіть заповнений гранулами пристрій в холодильник з температурою 2-5°C на 4—6 годин. Після чого занурте обойму апарату з тубами на 8—10 хвилин в ємкість з рідким азотом, тоді опустіть повністю в посудину Дьюара.

Завдання 6. Ознайомтесь із методикою заморожування сперми бугая в соломинках (пайєттах).

Розбавте сперму лактозо-фруктозо-рафінозо-магнієво-гліцеріно-жовтковим середовищем (ЛФРМГЖ) з таким розрахунком: щоб після розморожування в соломинці містилось не менше 15 мільйонів активних спермій. Промаркуйте соломинку і за допомогою машини розфасуйте в них по 0,25 мл сперми. Розкладіть соломинки на спеціальний штатив з зубцями, який покладіть на лічильну рейку з 125 пазами. Знявши штатив з рейки легким рухом долоні руки заповніть її соломинками. Соломинки при цьому розмістяться між зубцями штативу. Покладіть штативи з соломинками в пластмасові коробки і перенесіть їх на 3—4 години в холодильник при 4 °C. Після охолодження перевірте активність спермій, допускаючи до заморожування лише ту сперму, в якій активність спермій не нижча 8 балів.

Поклавши штативи з соломинками на охолоджене мідне сито, заморозьте їх, як вказано вище.

Завдання 7. Перевірте активність замороженої сперми.

Внесіть у чистий стерильний пеніциліновий флакон 1 мл свіжо виготовленого 2,9-3 % розчину цитрату натрію, закрийте корком і поставте у водяну баню з температурою 40 градусів.

Підтягніть за бірку чашечку з гранулами до горловини посудини Дьюара і довгим анатомічним стерильним пінцетом, охолодженим до температури мінус 196°, добудьте з неї одну малу гранулу сперми та опустіть її швидко у флакон з підігрітим до 38 - 38,5°C розчином цитрату. Похитайте флаконом для прискорення розморожування гранули. Зразу ж після розморожування

гранули вийміть флакон з теплої води, стерильною скляною паличкою візьміть краплю сперми і нанесіть її на чисте сухе предметне скло. Додайте одну—дві краплі теплої 2,9% розчину цитрату натрію, накрийте накривним склом і оцініть активність спермій під мікроскопом за температури 39 - 40°C. Для розморожування великих гранул (об'ємом 0,5 мл) помістіть в стерильний флакон дві гранули і занурте флакон у воду з температурою 38 - 40°C до повного розморожування гранул.

Завдання 10. Приготуйте серію проб розбавленої сперми для оцінки (на наступному занятті) абсолютного показника живучості спермій.

Візьміть 11 чистих сухих стерильних пробірок ємкістю по 2 мл і пронумеруйте їх за допомогою воскового олівця чи туші. Усі пробірки крім першої, заповніть розбавником, вказаним викладачем (по 0,5 мл). В першу (порожню) та в другу пробірки налейте по 0,5 мл нерозбавленої сперми. Змішайте в другій пробірці сперму з розбавником і перенесіть з неї 0,5 мл розбавленої сперми у третю пробірку, із третьої пробірки, після змішування суміші, перенесіть 0,5 мл в четверту пробірку і вилийте в таз. Таким чином, вийде ряд розбавлень: нерозбавлена сперма (контроль) і розбавлена в 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 250, 512, 1024 рази.

Негайно після розбавлення візьміть з кожної пробірки краплю сперми, оцініть в ній активність спермій під мікроскопом і запишіть в зошит за наведеною нижче формою. Закрийте в пробірки стерильними корками і поставте в холодильник для зберігання при температурі 2 - 4 °C (вказавши на штативі дату).

Зразок запису для визначення абсолютного показника живучості спермій

Дата					S
година					
T					
t ₁					

Ступінь розрідження	a	t	a	t	a	t	a	t	
Нерозбавлена сперма									
2									
4									
8									
16									
32									
64									
128									
256									
512									
1024									

Завдання 11. Визначте абсолютний показник живучості спермійів за температури +2...+4 °С.

Вийміть з холодильника штатив з серією розбавлених проб сперми і поставте його в кювету з танучим льодом. Змішавши в кожній пробірці вмістиме, візьміть з неї краплю сперми, нанесіть її на предметне скло, додайте 2 краплі 2,9% теплого розчину цитрату натрію, накрійте накривним склом і оцініть під мікроскопом активність спермійів при температурі 38 - 40 градусів. Наслідки оцінки заносьте в зошит. Повторюйте так через кожну добу, аж до відмирання усіх спермійів.

Абсолютний показник живучості спермійів для кожного ступеня розбавлення вирахуйте за формулою:

$$S = \sum at, \text{ де}$$

S — абсолютний показник живучості спермійів;

$\sum$ — знак суми;

a — активність спермійів у балах;

t — відрізок часу, обчислений за формулою:

$(T_{n+1} - T_n - 1) : 2$, де

T_{n+1} - час в годинах від початку досліду до наступного спостереження;

$T_n - 1$ - час в годинах від початку досліду до попереднього спостереження.

Для першого спостереження, що проводиться зразу після розбавлення сперми, показник вирахуйте за спрощеною формулою:

$$S = T : 2, \text{ де}$$

T - час в годинах від початку досліду до другою спостереження.

Сперма бугая та барана доброї якості повинна мати абсолютний показник живучості спермійв при розбавленні сперми у 16—32 рази не нижче 1400, сперма кнура — не нижче 900, сперма жеребця не нижче 400.

Завдання 12. Визначте живучість спермійв за спрощеною формулою.

Використовуючи дані щоденної оцінки сперми, поставленої на зберігання, визначте наскільки знижується активність спермійв за час зберігання за формулою: $\Pi = [(a_0 - a_1) + (a_0 - a_2) + (a_0 - a_n)] : 1 + 2 + \dots$, де

Π - живучість спермійв за n днів зберігання;

a_0 - початкова активність спермійв;

$a_1 \dots a_n$ - активність спермійв після 1, 2... днів зберігання;

1, 2 ... - дні зберігання.

Обчислений таким способом показник зниження активності спермійв у балах в середньому за добу зберігання є показником живучості.

Якщо активність спермійв знизилась в середньому за добу не більше ніж на 0,6 бала, то живучість спермійв добра, при пониженні на 0,6-0,9 балів - задовільна, якщо більше 0,91-живучість погана.

Контрольні питання:

1. Умови та тривалість зберігання спермійв у придатку сім'яника.
2. Причини загибелі спермійв поза організмом.
3. Анабіоз та його значення при зберіганні сперми.
4. Методи зберігання сперми: короткочасне і довготривале.
5. Температурний шок та способи його запобігання.
6. Правила упаковки та транспортування сперми.

Тема 9. Діагностика тічки, статевого збудження, охоти та овуляції у самок с.-г. тварин. Вибір оптимального часу осіменіння.

Місце проведення заняття: лабораторія зооветеринарної клініки університету, пункт штучного осіменіння.

Мета заняття: Оволодіти методами діагностики тічки, статевого збудження, статевої охоти та овуляції у самок сільськогосподарських тварин.

Оснащення заняття: корови, кози, вівцематки, свиноматки, кобили в охоті і станки для їх фіксації.

Короткі методичні вказівки: Обговоривши із студентами зміст роботи і конкретизувавши завдання, з'ясувавши незрозумілі питання, викладач розділяє групу на підрозділи по чотири чоловіки, визначивши обов'язки кожного. Після цього студенти приступають до виявлення тварин в охоті, виділяють їх, фіксують і підготовляють їх до осіменіння

Завдання 1. Ознайомтесь з клінічними проявами тічки, статевого збудження і охоти у корів та телиць.

Середня тривалість статевого циклу у корів 21 доба, з коливаннями від 18 до 22. Спочатку з'являються ознаки тічки, тоді (через 2-4 доби) статеве збудження і, нарешті, через 4-15 годин ознаки охоти. Тічку та охоту у корів, як правило виявляють застосувавши такі методи: *рефлексологічний, візуальний, ректальний, гормональний, електрометричний, ультразвуковий та автоматичне визначення охоти за допомогою «Му монітора».*

Рефлексологічний метод (проба самок на самця). Характерною ознакою статевої охоти є позитивна реакція самки на самця. Проводять пробу шляхом використання бугая – пробника, якого випускають щоденно вранці і ввечері на 1,5-2 години в загін, 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 тварин. За наявності статевої охоти корови та телиці допускають садку (позитивна реакція).

Візуальний метод (проводиться шляхом спостереження за зміною поведінки тварини та оглядом статевих органів).

Для діагностики статевого збудження придивіться уважно до поведінки корів у загоні, виявіть серед них тварин з ознаками збудження. Ймовірним показником того, що корова знаходиться в охоті, є "*рефлекс нерухомоті*", коли тварина допускає плигання 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 і почервонінням статевих губ, витікання еластичного, прозорого тічкового слизу з статевих органів, зниження продуктивності, погіршення якості молока.

Іноді у деяких корів ознаки охоти проявляються дуже слабо: в стаді вони приєднуються до інших корів в охоті, проте поведуться спокійно. Таких корів слід досліджувати за допомогою піхвового дзеркала.

Виділіть тварин з ознаками тічки із стада, зафіксуйте їх в станку, наведіть туалет зовнішніх статевих органів та кореня хвоста теплою водою з кружки Есмарха, витріть насухо ватою і зволожите розчином фурациліну.

Великим та вказівним пальцями рук розкрийте статеві губи і огляньте клітор та початкову частину переддвер'я піхви: під час тічки вони повинні бути набряклі, яскраво-червоні, вкриті прозорим слизом.

Піхвове дослідження. Візьміть чисте і сухе піхвове дзеркало, профламбуйте його над полум'ям спиртового тампона, зволожите 1% стерильним розчином хлористого натрію чи двовуглекислої соди і введіть у піхву тварини. При цьому дзеркало повинно бути закритим, а ручки його повернені вбік. Вводити дзеркало слід обережно, не застосовуючи сили і скеровуючи його дещо вгору. Ввівши дзеркало до упору, поверніть його ручками вниз і, обережно натискаючи на ручки, розкрийте лопаті. Підключивши живлення до освітлювача або, користуючись лобовим рефлектором чи, нарешті, відбитим

від дзеркала світлом від вікна, освітіть стінки піхви та шийку матки і огляньте їх. Слизова оболонка піхви і піхвові частини шийки матки повинні бути набряклі і почервонілі; канал шийки матки розкритий і з нього витікає слиз, спочатку тягучий і прозорий, а під кінець тічки в'язкий і мутний.

В *міжтічковий період* слизова оболонка піхви, як правило, суха і бліда, шийка матки - закрита, канал її заповнений густим слизом.

Визначте кількість, колір та консистенцію тічкового слизу. Розпал охоти звичайно співпадає з початком помутніння тічкового слизу, який ще не почав загусати, є найменш в'язким і найеластичнішим, що сприяє просуванню спермійів вздовж статевих шляхів. *Це найкраща пора для осіменіння.*

Під час піхвового дослідження зробіть мазок. Для цього візьміть дротяну петлю, профламбуйте її над полум'ям спиртового тампона, опустіть в дистильовану воду і нанесіть краплю на предметне скло. Тоді розкривши пальцями лівої руки статеві губи, введіть петлю в переддвер'я піхви на глибину 2—3 см і зробіть декілька колових рухів по слизовій оболонці. Вийміть петлю, опустіть її в краплю води на предметному склі і зробіть мазок. Висушіть його па повітрі, зафіксуйте в баночці з метиловим спиртом, сполосніть водою і пофарбуйте протягом 2—3 хвилин розчином метилен-блау. Змийте фарбу водою, висушіть мазок і огляньте його під мікроскопом.

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

Ректальний метод. Одягнувши на оголену праву руку гінекологічну чи поліетиленову рукавичку, змажте її нейтральним милом чи вазеліном, лівою рукою відведіть, корінь хвоста вбік і, склавши конусоподібно пальці правої руки, введіть їх обертальними рухами в пряму кишку; звільнивши кишку від калових мас, промацайте уважно матку, окремі її компоненти і знайдіть яєчники. Зверніть увагу на їх положення, величину, форму, поверхню, консистенцію, чутливість. Визначте стан фолікула та орієнтовний час овуляції.

На початку охоти фолікул промацується у вигляді пухирця розміром 0,5-0,75см, його стінки м'які в ньому добре відчувається флуктуація (коливання)

рідини. Після овуляції стінки фолікула спадаються і на місці нього утворюється заглиблення (порожнина) з дряблими краями.

Гормональний метод виявлення охоти заснований на визначенні у крові, сечі або молоці рівня естрогенів та прогестерону. Принцип аналізу заснований на тому, що жовте тіло яєчника корови припиняє виробляти прогестерон на 18...19-й день статевого циклу, вважаючи від попередньої охоти. В той же час у тільних корів прогестерон виробляється безперервно. При цьому рівень прогестерону в молоці, як правило, високий під час лютеальної фази циклу і низький протягом періоду статевого збудження.

Метод має надзвичайно високу точність визначення оптимального строку осіменіння, однак для його проведення необхідно мати спеціально обладнану лабораторію та відповідні реактиви.

Електрометричний метод базується на дослідженні зміни електричного опору слизової переддвер'я (присінка). Завдяки йому можна встановити зниження електричного опору слизової присінки, яке спостерігається під час максимального виділення слизу і збігається з оптимальним строком осіменіння. Однак неточні дані вимірів, а також зниження опору слизової при деяких захворюваннях статевого апарату (авітамінози та ін.) зменшують практичне значення цієї методики.

Ультразвуковий метод проводиться шляхом ультразвукового сканування передовуляційного (третинного) фолікула. Найпридатнішими для діагностики є сканери фірми «Pie Medical»-50 S Tringa, 485 VET, 100 S, 100 LC, 240 PARUS, LOGIO a 200, LOGIO a 100. Принцип дії приладів ультра-звукової діагностики (УЗД) ґрунтується на здатності різних тканин та рідких структур поглинати і відбивати хвилі високої частоти. Ультразвукові хвилі випромінюються датчиком, сприймаються ним, перетворюються на електричні імпульси — і зображення висвітлюється на екрані монітора. Рідкі структури є ехонегативними, і на екрані мають темний колір, а щільні, які відбивають промені, — ехопозитивними і на зображенні мають білий колір.

Ультрасонографічну діагностику розвитку фолікула проводять в основному через ректальний доступ. Для цього тварину фіксують, звільняють пряму кишку від калових мас, вводять у неї під контролем руки ультразвуково-вий зонд і спрямовують його діючу частину датчика краніально спочатку в ділянку сечового міхура, на рівні якого, трохи вбік на моніторі мають зображення матки, а потім скануються яєчники. В період тічки та охоти (19-21 доба циклу) на моніторі сканера добре помітно ехонегативне зображення Граафівого міхурця.

Автоматичне визначення охоти у корів (*Му монітор*). «Му монітор» - це пристрій, який кріпиться на ший корови за допомогою спеціального реміня (*рескаунтера*) і реєструє специфічні типи її активності. Вимірні дані активності підсумовуються в погодинному режимі, а потім з регулярними інтервалами передаються на базову станцію для подальшої передачі в комп'ютерну програму з метою аналізу та порівняння з нормальним рівнем активності певної корови і решти стада. Всі дані активності стада відображаються в програмі «Му монітор Аналіз» для визначення, аналізу та спостереження за активністю корів. Програмне забезпечення «Му монітор» повністю інтегрується з системою «Фарм Месенджер», яка може оповіщати фермера (техніка ш.о.) через СМС-повідомлення про корів, які прийшли в охоту. Програма також підключається до системи автоматичних селекційних воріт, це дозволяє здійснювати автоматичне відокремлення корів у стані охоти для їх подальшого переведення на п.ш.о. з метою проведення осіменіння.

Завдання 2. Ознайомтесь з клінічними проявами тічки, статевого збудження і охоти у овець та кіз.

Вівці належать до поліциклічних тварин з статевим сезоном, який продовжується з серпня по березень (залежно від місцевості). Тічка, статеве збудження та охота тривають 16—24 години, проте добре виражена в них лише охота, тому тічки і статевого збудження практично не виявляють.

Виявляють охоту за допомогою баранів-пробників, з розрахунку один пробник на 50—100 маток. Перед запуском в отару баранам-пробникам під-

в'язують фартухи розміром 40х50, а до підгрудка чіпляють «мітчики» з фарбувальною речовиною.

Вранці (з 5-ї до 7-ї години), відбивають від отари групу овець в 150—200 голів і заганяють у загін площею 180—200 квадратних метрів. Пускають до них 2-3 пробники і уважно стежать за поведінкою овець. В подальшому отару проганяють через розкол і виділяють мічених самок. Після цього отару випускають на пасовище, а овець в охоті переганяють у манеж пункту штучного осіменіння.

При відсутності мітчиків чабани уважно спостерігають за реакцією самок. Вівці в охоті не тікають від пробника, стоять спокійно при його наближенні, дозволяють зробити садку. Позитивно реагуючих самок виділяють із стада та переводять у манеж пункту штучного осіменіння.

У кіз статевий цикл проявляється подібно як і у овець, разом із тим ознаки загального збудження у них виражені сильніше. Кози у цей час бувають неспокійними, махають хвостом, мукають. Статеві губи у кіз набрякають, із статевої щілини виділяється слиз. Однак такі ознаки у кіз проявляються не завжди, тому для перевірки наявності тічки часто використовують цапів-пробників. У дні масового приходу кіз в охоту слід практикувати дворазове її виявлення: о 7-8 годині ранку та о 15-16 годині дня. Кіз, відібраних уранці, осіменяють через 3-4 години після закінчення вибірки, а кіз, відібраних увечері, - якомога раніше наступного дня.

Спостерігаючи за виборкою овець (кіз) в охоті, придивіться до їх поведінки. Тоді, розбившись на підгрупи по 3—5 чоловік, виберіть собі одну вівцю (козу) з ознаками охоти, зафіксуйте її в станку, наведіть у неї туалет задньої частини тіла та дослідіть стан статевих органів за допомогою піхвового дзеркала.

Завдання 3. Ознайомтеся з ознаками тічки, статевого збудження та охоти у свинок.

Виявлення статевої охоти у свиноматок проводять трьома способами: *візуально, спостерігаючи за поведінкою тварин і оглядаючи зовнішні статеві*

органи; з допомогою кнурів-пробників та з допомогою спеціального приладу естрометра.

При візуальній оцінці придивіться уважно до поведінки свиноматок у станку, виявіть серед них тварин з ознаками тічки, статевого збудження та охоти. Під час тічки у тварин буде спостерігатися набряк вульви, слабе почервоніння слизової оболонки присінку, яке з часом переходить у застійну гіперемію. М'язи присінку розслаблені, із статевої щілини може виділятися невелика кількість каламутного, в'язкого слизу. Свиноматки в стані статевого збудження проявляють занепокоєння, скавулять, крутяться по станку, відмовляються від корму, обнюхують перегородки, стіни, плигають на інших свиноматок, але не дозволяють їм стрибати на себе. Статева охота проявляється зростанням статевого збудження, але головною ознакою її є поява рефлексу “нерухомості”: свиноматка стоїть спокійно, якщо їй покласти на спину руку або навіть сісти на неї.

Виявлення маток у стані статевої охоти з допомогою кнурів-пробників проводять два рази протягом дня (вранці і ввечері), це забезпечує більш високі результати запліднення. Пробниками використовують плідників, які не представляють племінної цінності. Потреба кнурів-пробників визначається з розрахунку один пробник на 100 маток.

Виявлення свиноматок в охоті проводять в один і той же час, як правило після годівлі тварин. У прохід свинарника між клітками, де утримуються свинки, вибрані для осіменіння, заганяють пробника. Свиноматок, які реагують на пробника, почергово випускають у прохід. Свинка у стані охоти при наближенні кнура стоїть нерухомо, її важко відігнати від нього, вона дозволяє зробити на себе садку. Таких свиноматок переганяють в індивідуальні клітки і проводять штучне осіменіння. Якщо ж матка не проявляє рефлексу «нерухомості», то її повертають до станка, а в наступні дні у неї перевіряють наявність охоти особливо ретельно.

Завдання 4. Ознайомтеся з ознаками тічки, статевого збудження та охоти кобил.

Ознаки статевої охоти у кобили визначають з допомогою жеребця-пробника.

Для цього молодих тварин, починаючи з планового строку осіменіння, а дорослих починаючи з п'ятого дня після вижеребки та з 10-15-го дня після осіменіння підводять до дерев'яного бар'єра чи загороді, а з другого боку бар'єра підводять жеребця і спостерігають за поведінкою кобили. Якщо у господарстві немає такого бар'єра, то жеребця-пробника підводять за ремінні парні поводи до розкованої на тазові кінцівки кобили, спочатку до голови, а тоді (якщо вона стоїть спокійно) – до крупа.

Можна також підводити кобилу до жеребця. При цьому кобила в стані охоти проявляє занепокоєння, намагається підійти до самця, підпускає його до себе, відповідає іржанням на звуки жеребця, треться об його шию і голову. При дальшому наростанні ознак охоти кобила підіймає хвіст при зустрічі з жеребцем, розставляє тазові кінцівки, ритмічно мигає статевою щілиною, виділяє сечу та слиз. У розпалі охоти кобила, побачивши жеребця, наближається до нього, обнюхує його, повертається до нього крупом і дозволяє зробити садку на себе. Кобила поза охотою намагається вкусити пробника, втекти від нього або повернутися задом, щоб вдарити.

Оптимальний час для осіменіння визначають ректально або ж на основі УЗД. При ректальному дослідженні оцінюють 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: Φ^0 – нормальний яєчник у спокої, форма бобоподібна, розміри в середньому такі: довжина 5-7см, ширина 3 см, товщина 2 см, консистенція щільна, фо-лікул відсутній; Φ_1 –початок зрілості фолікула, яєчник набуває форми неправильного бобу внаслідок збільшення однієї його долі, де настає ріст фолікула, який прощупується у вигляді невеликого пом'якшення; Φ_2 – зріючий

фолікул, яєчник збільшується за розмірами, набуває грушоподібної форми, у фолікулі прощупується слабка флуктуація рідини; Φ_3 – фолікул майже досяг зрілості, яєчник ще біль збільшився, має грушоподібну форму: фолікул кулеподібний і має значну флуктуацію; Φ_4 – фолікул зрілий, має форму кулі, флуктуація напружена, стінки його дуже потоншені (за консис-тенцією нагадує куряче яйце без шкаралупи); ОВ — овуляція, напруженість стінок фолікула ослабла, за обережної пальпації розміри фолікула зменшуються, після завершення овуляції яєчник значно зменшується за розмірами; місце яєчника, де розвивався фолікул, м'яке, складчасте, флуктуація відсутня.

Осіменяють кобил за стадії зрілості фолікула третього і четвертого ступенів (Φ_3 і Φ_4).

Контрольні питання:

1. Які методи застосовують для виявлення тічки та охоти у корів?
2. Які тварини належать до поліциклічних із статевим сезоном?
3. Технологія виборки вівцематок та кіз в статевій охоті.
4. Технологія виборки свиноматок у статевій охоті за допомогою кнура-пробника.
5. Технологія визначення оптимального часу осіменіння кобил за допомогою жеребця-пробника, дозрівання фолікула на яєчнику.

Тема 10. Інструменти, що застосовуються для штучного осіменіння самок с.-г. твари

Місце проведення заняття: навчальна лабораторія кафедри.

Мета заняття: вивчити інструменти, що застосовуються для введення сперми при штучному осіменінні корів, овець, кіз, свиней, та кобил.

Оснащення занять: шприци-катетери, полістиролові піпетки та ампули, пластмасові двограмові шприци із з'єднувальними муфтами, шприци-катетери, пайєтовводжувачі, зоошприци, одноразові поліетиленові рукавиці, мікрошприци, шприци-напівавтомати, піхвові дзеркала різних розмірів, освітлювачі до піхвових дзеркал, підставки для інструментів м'який еластичний гумовий катетер Іванова, прилади ПОС-5 та УКП-1, скляний прилад для осіменіння свиней з гумовими трубками, універсальний термос-прилад, універсальний зонд УЗК-5 та УЗК-6, пінцети анатомічні, ножиці, ватні тампони, просочені 70%-м спиртом, 2,9%-й розчин цитрату натрію, 1%-й розчин натрію бікарбонату (0,9 %розчин натрію хлориду) у баночках № 1, 3 і 4; 7%-й розчин глюкози, 2 - 3 % розчин двовуглекислої соди (чи 1 – 1,5 %-й кальцинованої соди), стерильні марлеві серветки, рушники, електроплитка, стерилізатори, емальовані тази.

Короткі методичні вказівки. Нагадавши типи природного осіменіння тварин та способи введення їм сперми при штучному осіменінні, викладач ознайомлює студентів з інструментами для осіменіння того чи іншого виду тварин. Студенти розділяються на підгрупи, кожна з яких виконує своє завдання. В кінці заняття при підведенні підсумків і закріпленні матеріалу з'ясовують незрозумілі питання, роблять відповідні записи у зошитах для самостійного опрацювання тем.

Завдання 1. Вивчіть інструменти, що застосовуються при осіменінні корів і телиць та підготуйте їх до застосування.

Інструменти для візо-цервікального осіменіння: шприц-катетер, піхво-ве дзеркало. Шприц-катетер для осіменіння корів складається з градуйо-

ваного циліндра ємкістю 4 мл, притертого до нього скляного поршня, катетера завдовжки 39-40 см з трохи відігнутих кінцем.

Піхове дзеркало складається з ручок і гілок (лопатеї), з'єднаних рухомо. Його використовують для розкриття та освітлення зовнішніх статевих органів і піхви (дзеркальні поверхні його відбивають світло) та огляду їх. Інколи для кращого освітлення статевих органів до внутрішнього боку піхового дзеркала прикріплюють спеціальний освітлювач, який складається з лампи від кишенькового ліхтарика, її тримача з фіксуючим пристроєм, дроту з клемами та батарейки у спеціальному футлярі. Піхове дзеркало може бути звичайного зразка або у модифікації Овчиннікова.

Після кожного осіменіння піхове дзеркало миють гарячим содовим розчином (20-30 г на 1 л води), споліскують чистою водою і кладуть в стерилізатор з киплячою дистильованою водою. Після стерилізації ставлять на зберігання у шкафчик для інструментів або ж у термостат (t 35-36°C).

Інструменти для мано-цервікального осіменіння корів.

Підбір інструментів залежить від способу зберігання сперми на пунктах штучного осіменіння:

А). При зберіганні спермодоз при +2...+4°C та у відкритих гранулах, використовують стерильні поліетиленові катетери, ампули і одноразові поліетиленові пятипалі (трипалі) рукавиці.

Полістиролова ампула довжиною 18 мм виготовлена з нетоксичного для спермійв матеріалу. Ампула має форму зрізаного конуса і має тіло, шийку, ковпачок та дно. В ампулу входить 1,2 мл сперми. Полістироловий катетер довжиною 75мм - це трубка з оплавленими кінцями, яка служить для введення через неї в канал шийки матки сперми з ампули.

Перед осіменінням дістають стерильну ампулу із пакета, зрізають стерильними ножицями ковпачок ампули і з'єднують її з катетером. Для цього беруть пакетик з катетерами, протирають один кут його спиртовим тампоном, надрізають стерильними ножицями і, висунувши катетер на одну третину довжини, з'єднують його з шийкою ампули. Тоді виймають катетер повністю,

а надрізану частину пакетика з катетерами запаюють над полум'ям спиртівки чи, загорнувши декілька разів, затискають канцелярською скріпкою.

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

Б). Якщо ж сперма поступає на пункт штучного осіменіння в облицьованих гранулах, то в такому випадку застосовують спеціальний інструмент одноразового використання – зоошприц або ж одноразовий полімерний інструмент (ОСХАР-1), який складається із циліндра з фланцем та штовхача. В передній частині приладу вмонтована голка з твердого полімеру, що проколює плівку гранули при натискуванні штовхача під час введення.

Інструменти для ректоцерві-кального осіменіння корів та телиць.

Комплект одноразових пластмасових інструментів для ректоцерві-кального осіменіння корів та телиць підбирається у залежності від форми зберігання та поступлення сперми на пункти штучного осіменіння:

а) при зберіганні сперми у формі не облицьованих гранул користуються полістироловими піпетками довжиною 450 мм, зовнішнім діаметром 5мм і внутрішнім — 1,8-2 мм; полістироловими ампулами та поліетиленовими рукавичками, які поступають на пункти стерильними в закритих поліетиленових пакетах.

б) при зберіганні спермодоз у формі пайєт – пайєтовводжувачами та доданим до них набором спеціальних захисних чохлаів, які випускаються в певній фасовці і зберігаються в стерильній поліетиленовій упаковці.

Після кожного осіменіння полістиролові піпетки та одноразові рукавиці знищують, а пайєтовводжувач стерилізують (обробляють ззовні тампоном, змоченим 70° спиртом).

Завдання 2. Вивчіть інструменти, що застосовуються при осіменінні овець та кіз.

Штучне осіменіння як овець так і кіз проводять *цервікально*. При використанні свіжоодержаної та збереженої охолодженої сперми застосовують скляний шприц-катетер (мікрошприц) з дозуючим пристроєм або шприц-напівавтомат конструкції А.Н. Лихачова, а також піхвове дзеркало або пластмасовий піхвовий розширювача двох розмірів (більші для маток, менші для ярок). У випадку використання заморожено-розмороженої сперми користуються скляним шприц-катетером з гелікоїдною (гвинтоподібною) кінцевою частиною, обертання якої наліво під час осіменіння забезпечує вгвинчування інструмента в краніальну частину шийки матки.

Скляний мікрошприц складається з циліндра довжиною 8 сантиметрів, ємкістю 1 мл і катетера довжиною 22 сантиметри.

Шприц-напівавтомат конструкції Л. Н. Лихачова сконструйований у вигляді пістолета, в руків'ї якого є дозуючий пристрій. При кожному натисканні на важіль (курок) з шприца-напівавтомата виштовхується 0,05 мл сперми. Якщо необхідно ввести більшу дозу сперми, то натискають на курок відповідну кількість разів.

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

Завдання 3. Вивчіть інструменти, що застосовуються для штучного осіменіння свиней і підготуйте їх до використання.

При введенні розрідженої сперми у статеві шляхи свиноматок користуються поліетиленовим приладом ПОС-5 або ж його модифікаціями, універсальним приладом УКП-1 та скляним приладом з пробкою і гумовими трубкою (спосіб ВІТа).

Поліетиленовий прилад ПОС-5 (запропонований С. І. Сердюком і А. Л. Беліковим) складається з тонкостінного полістиролового флакона ємкістю 100 мл, нагвинчуваної на нього кришки і катетера з сполучною муфтою. Флакон приладу служить ємкістю для зберігання та транспортування сперми, а також

для осіменіння свиноматок. При осіменінні свиноматок на флакон замість кришки нагвинчують одно-разовий катетер (різних модефікацій).

При введенні розрідженої сперми прилад УКП-1 використовується без застосування трійника. До складу входить лише тонкостінний полістироловий флакона ємкістю 100 мл та Г-подібна муфта з клапаном.

При фракційному способі осіменіння застосовують в основному універсальний зонд Квасницького (УЗК-5, УЗК-6), поліетиленовий прилад УКП-1 та універсальний термос-прилад.

Універсальний зонд Квасницького (УЗК-5) складається власне з зонда, укріплених на ньому двох флаконів (для сперми і розбавника) з механізмом для регулювання роздільного введення сперми, розбавника та повітря в матку свині, фільтра і куль Річардсона.

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

До універсального зонда додається термос-футляр, в яком міститься 5 флаконів зі спермою і 10 з розбавником. Футляр обладнаний електрообігрівом.

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

Поліетиленовий прилад УКП-1 складається із полістеролового катетера, трійника та укріплених на ньому двох флаконів ємкістю 50мл (для сперми і розбавника).

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

При осіменінні 1-2-х свиноматок користуються ампулами ємністю 100 мл - у них вміщується дві дози сперми (в одну ампулу) і дві порції розбавника — в дві інші ампули; коли ж осіменяють 3-5 і більше свиноматок, то використовують ампули на 250 мл.

Завдання 4. Вивчіть інструменти, що застосовуються при штучному осіменінні кобил.

Штучне осіменіння проводять за допомогою спеціального полістеролового (одноразового) або ж гумового катетера І.І. Іванова та шприца об'ємом 20-50 мілілітрів. В окремих випадках для осіменіння використовують піхвове дзеркало та катетер Криворучко або ж ебонітовий катетер.

Полістироловий катетер являє собою трубку з невеликим потовщенням на одному кінці (головка) і розширенням на другому. Перед осіменінням катетер з'єднується за допомогою муфти з шприцом в який попередньо набирають спермодозу.

М'який еластичний гумовий катетер Іванова — це товстостінна гумова трубка з діаметром каналу 1,5-2 мм. Один кінець катетера звужений, а на

другому є виступ у вигляді кільця з розширеним каналом, який з'єднується під час осіменіння з канюлею шприца або з скляною ампулою Растяпіна.

Ампула Растяпіна являє собою скляну, сигареподібної форми ємкість довжиною 17 см, діаметром близько 18 мм та місткістю 30 мл, яка має отвори з обох кінців. Використовується для зберігання (транспортування) сперми й для осіменіння кобил. Один кінець ампули тупий, інший – витягнутий у вигляді канюлі. Перед осіменінням з обох кінців ампули знімають ковпачки, а на вузький кінець надівають гумову трубку, з'єднану з гумовим балоном.

Катетер Криворучко та ебонітовий мають форму трубки з невеликим потовщенням на одному кінці (головка) і розширенням на другому. Перед осіменінням катетер з'єднують за допомогою гумової муфти з шприцом.

Піхове дзеркало за будовою та формою аналогічне до того, що використовується при візо-цервікальному осіменінні корів. Різниця полягає лише у розмірі.

Контрольні питання:

1. Інструменти і підготовка їх для проведення штучного осіменіння корів та телиць.
2. Інструменти та підготовка їх для штучного осіменіння вівцематок і ярок.
3. Якими інструментами користуються при штучному осіменінні кіз?
4. Інструменти і підготовка їх для проведення штучного осіменіння свино-маток.
5. Інструменти і підготовка їх для проведення штучного осіменіння кобил.

Тема 11. Штучне осіменіння самок с.-г. тварин.

Місце проведення заняття: лабораторія зооветеринарної клініки університету, пункт штучного осіменіння.

Мета заняття: оволодіти методикою штучного осіменіння корів, кіз, овець, свиней та кобил.

Оснащення занять: корови, телиці, кози, вівці, свиноматки, кобили в стані охоти; збережена сперма бугая, барана, кнура, жеребця; мікроскопи, термостати, обігрівальні столики, предметні та накривні стекла, скляні палички, анатомічні пінцети, металеві підставки для інструментів, скляні шприци й мікрошприци-катетери, шприци-напівавтомати, піхвові дзеркала для корів, телиць і овець, освітлювачі до них, комплекти поліетиленових інструментів для мано-цервікального та цервікального з ректальною фіксацією шийки матки способів осіменіння, зоошприц, три баночки з притертими корками для 0,9 % розчину хлориду натрію і одна для 70% спирту-ректифікату, спиртові ватні тампони, стерильні марлеві серветки, 1% розчин натрію бікарбонату, 2–3%-й розчин натрію бікарбонату, 2,9 % розчин натрію цитрату, спиртівки, рушники, вата, зливні чашки, стерилізатори, кружка Есмарха, вата сіра, умивальник, відро, мило, тепла вода.

Завдання 1. Проведіть штучне осіменіння корови (телиці).

Корів і телиць, як правило, осіменяють двічі в одну охоту: перший раз зразу після виявлення у них охоти і другий раз (при наявності охоти) - через 10-12 годин.

Одноразове осіменіння тварин в кінці охоти дозволяється в тих випадках, коли технік володіє методикою ректального визначення ступеня зрілості фолікула, або коли охоту у корів визначено за допомогою бугая-пробника.

При виявленні у корови охоти її слід осіменяти, а тоді вже доїти, а не навпаки.

Об'єм і доза сперми залежать від методу зберігання:

1. Температура талого льоду ($+2^{\circ}\dots+4^{\circ}\text{ C}$) – об'єм сперми 1мл з мінімальною кількістю рухливих спермійв 25-30 млн.
2. Температура -196°C , зберігання в необлицьованих гранулах – об'єм сперми 1,0–1,2мл, мінімальна кількість рухливих спермійв –15 млн.
3. Температура -196°C , зберігання в облицьованих гранулах (пайєти, мінітуби) – об'єм сперми 0,25-0,5 мл, мінімальна кількість рухливих спермійв –15 млн.
4. Сексована сперма, зберігання в пайєтах за температури -196°C , об'єм сперми 0,25 мл, мінімальна кількість рухливих спермійв –4 млн.

Дозволяється використовувати для осіменіння сперму бугая збережену при температурі $0^{\circ}\dots4^{\circ}\text{C}$, а також при кімнатній температурі - до трьох діб при активності спермійв не нижче 7 балів. Заморожену сперму можна використовувати при активності спермійв після заморожування не нижче 4 балів і, як виняток, сперму видатних бугаїв - плідників дозволяється використовувати при активності спермійв після розморожування не нижче трьох балів.

Техніка осіменіння корови (телиці) візоцервікальним способом.

Розставте на робочому столі мікроскоп, чашки Петрі з чистими предметними та накривними стеклами, чотири прономеровані баночки з притертими корками, баночку з стерильними марлевими серветками, тампонницю з спиртовими тампонами, товстостінну чашку для відпрацьованих розчинів, підставку з розміщеними на ній шприцом-катетером, пінцетом, скляною паличкою, хімічним термометром; піхвове дзеркало з освітлювачем. Налийте в баночку № 1, 3 і 4 свіжоприготовлений стерильний 1% розчин бікарбонату натрію, 2,9% розчин цитрату натрію чи 0,9% розчин хлористою натрію. Баночку № 2 наповніть 70% спиртом.

Заведіть корову, що прийшла в охоту, в манеж пункту і зафіксуйте у спеціальному станку. За допомогою кухля Есмарха, підвішеного біля станка,

обмийте старанно зовнішні статеві органи чистою теплою водою з милом, зробіть їх теплим розчином фурациліну і витріть насухо ватним тампоном.

Проведіть розморожування сперми використовуючи водяну баню або спеціальний розморожувач з автоматичним контролем температури.

Візьміть заздалегідь простерелізований шприц-катетер, промийте його теплим (38° – 40°C) розчином з баночки № 1 і видаліть його в чашку – поло-скальницю. Повторіть так 2—3 рази набираючи розчин з баночки № 3, а тоді з баночки №4.

Наберіть в підготовлений шприц-катетер одну дозу сперми. Для цього занурте кінець катетера у флакон зі спермою і, повільно відтягуючи поршень вгору, втягніть її в шприц. Тоді поверніть шприц катетером вгору і рухом поршня вгору витисніть повітря з циліндра і катетера до появи на кінці останнього краплі сперми. Помістіть цю краплю на предметне скло, покладіть наповнений шприц на стерильну підставку, а сперму перевірте під мікро-скопом на активність спермійв.

Візьміть в ліву руку чисте піхвове дзеркало, простерилізоване кип'ятін-ням або в сушильній камері чи автоклаві. Можна його продезинфікувати також фламбуванням. В цьому випадку візьміть пінцетом спиртовий ватний тампон, запаліть його і полум'ям обпаліть спочатку зовнішню, а тоді внутрішню поверхню дзеркала. Торкаючись тильною стороною вказівного пальця до внутрішньої сторони (вгнутої) розкритого дзеркала перевірте ступінь його нагрітості. Найкраще поміщати заздалегідь підготовлене дзер-кало в спеціальний термостат, відрегульований на температуру 30° — 40°C .

Прикріпіть до верхньої гілки дзеркала освітлювач (протертий поперед-ньо спиртовим тампоном), а батарейку з футляром покладіть у верхню кишеню халата. Взявши дзеркало і шприц-катетер зі спермою, вийдіть в манеж. Шприц-катетер положіть на стерильну підставку (на столику біля станка), а дзеркало зволожите теплим 1% розчином двовуглекислого хлорис-того натрію і перекладіть в праву руку. Пальцями лівої руки розкрийте статеві губи і обережно введіть дзеркало в піхву скеровуючи спочатку дещо вгору, а

тоді вперед до упору. Під час введення дзеркала лопаті його повинні бути закриті, а ручки повернені в один бік. Ввівши дзеркало, поверніть його ручками вниз, обережно розкрийте його лопаті і, легко переміщуючи його, відшукайте шийку матки. Огляньте уважно слизову оболонку піхви та шийки матки, і якщо вони в нормальному стані (немає гною, висипів, крові) і чітко виражені ознаки тічки, то перекладіть ручки дзеркала в ліву руку, а правою візьміть з підставки шприц - катетер і введіть його через розкрите дзеркало в піхву. Знайдіть отвір шийки матки і введіть в нього катетер на глибину 4—6 сантиметрів, обережно розсовуючи його кінцем поперечні складки слизової оболонки. Подайте дзеркало трохи назад і, обережно натискаючи на поршень, введіть в канал шийки матки дозу сперми. Після цього обережно вийміть з піхви шприц-катетер, поверніть дзеркало ручками вбік, стуліть трохи його лопаті і обережно виведіть з піхви в складеному вигляді.

При використанні дзеркала Овчинникова після введення шприца-катетера в канал шийки матки притисніть його трохи до верхнього склепіння піхви. Тоді, притримуючи шприц-катетер рукою, обережно вийміть дзеркало, повертаючи його зрізаною поверхнею до шприца-катетера. Через 20—30 секунд, коли тварина заспокоїться, повільно 3—4 рази натисніть на поршень і введіть сперму в канал шийки матки.

При осіменінні декількох корів спермою одного й того ж бугая, в шприц-катетер наберіть зразу необхідну кількість сперми і після осіменіння кожної корови проведіть лише зовнішню обробку катетера, спочатку сухим, а тоді спиртовим тампоном. Для цього, тримаючи шприц-катетер горизонтально канюлею вниз, коловими рухами спиртового тампону витріть канюлю, просуваючи тампон до середини катетера не допускаючи попадання спирту в канал катетера. Останню частину катетера і циліндр шприца протріть іншим спиртовим тампоном.

Під час осіменіння корів одним шприц-катетором спермою різних бугаїв спочатку обробіть зовнішню поверхню шприца, як вказано вище, а потім 5-6 разів відмийте внутрішню поверхню шприца від сперми 1% розчином

бікарбонату натрію з баночки № 1, простерелізуйте 70° спиртом з банки №2 і нарешті відмийте його від лишків спирту по 3-4 рази розчином з банки № 3 і 4. Розчин з шприца зливайте в чашку (зливну кювету), а не в банки назад.

При осіменінні телиць користуйтеся піхвовими дзеркалами менших розмірів. В тих випадках, коли неможливо ввести катетер в шийку матки випоркніть сперму на шийку матки, збільшивши її дозу до 2-3 мілілітрів.

Після осіменіння корови (телиці) обмийте піхвове дзеркало теплим 2-3% розчином двовуглекислої соди і сполосніть проточною, а потім дистильованою (кип'яченою) водою, витріть насухо чистим рушником і простерилізуйте кип'ятінням чи фламбуванням та поставте в шафу для зберігання інструментів

Шприц-катетер зовні протріть марлевою серветкою, промийте від залишків сперми зі склянки №1, сполосніть дистильованою водою, простерелізуйте одним із рекомендованих способів (кип'ятіння, обробка 70° спиртом) та поставте на зберігання.

Техніка осіменіння корови маночервікальним способом.

Осіменіння корів маночервікальним способом проводиться полімерними інструментами одноразового використання, які випускаються стерильними в спеціальній упаковці.

Перед осіменінням корови спермою у відкритих гранулах спочатку підготуйте інструмент. Для цього візьміть пакет з катетерами, обробіть один кут спиртовим тампоном, надріжте його стерильними ножицями і, витягнувши катетер з пакета на 1/3, прикріпіть полістиролову ампулу, попередньо зрізавши ковпачок. Тоді вийміть катетер повністю і запаяйте надрізаний кут мішечка над полум'ям спиртівки або, загорнувши його декілька разів, затисніть канцелярською скріпкою. Покладіть підготовлену ампулу з катетером на стерильну підставку.

Проведіть розморожування сперми та наберіть спермодозу у підготовлений інструмент.

У випадку, якщо сперма розфасована в облицьовані гранули, то для осіменіння корови застосуйте зоошприц. Облицьовану гранулу після розмороження, оцінювання і знезараження поверхні спиртовим тампоном вставте у циліндр зоошприца і рухом поршня проштовхніть до переднього краю циліндра. Через вихідний отвір стерильною голкою проколите оболонку гранули.

Перед осіменінням корову зафіксуйте в станку, проведіть вологу санітарну обробку зовнішніх статевих органів. Одягніть на руку стерильну поліетиленову рукавичку, зволожите її 1% розчином двовуглекислої соди чи 0,9% розчином хлористого натрію і введіть обережно в піхву корови. Знайдіть шийку матки, визначте ступінь її розкриття і у випадку доцільності осіменіння зробіть масаж піхвової частини шийки матки всіма пальцями руки протягом однієї хвилини. Щоб краще розправити піхвові складки навколо шийки матки, захопіть пальцями піхвову частину шийки матки і підтягніть її в порожнину піхви. Якщо цього не вдасться зробити через сильне напруження стінок піхви, то захопіть обережно пальцем піхвову частину шийки матки за складку і легко підтягніть її в порожнину піхви. Добившись скорочення шийки матки, зніміть пальцями слиз з її устя, тоді відтягніть дещо руку до виходу, а іншою рукою подайте підготовлену для осіменіння ампулу з катетером.

Затиснувши катетер між великим і вказівним пальцями, подайте руку знову вперед і під контролем вказівного пальця введіть катетер на глибину 1,5—2 см в цервікальний канал. Погладжуючи піхвову частину шийки матки пальцями, підштовхуйте долонею ампулу до тих пір, поки весь катетер (7 см) не ввійде в канал шийки матки. Тоді припідніміть ампулу вгору на 2-3 сантиметри і, вловивши момент розслаблення шийки матки, стисніть ампулу великим та вказівним пальцями спочатку скраю деньця, а тоді все ближче до шийки і видавіть сперму в канал шийки матки. Не розтуляючи пальців, вийміть катетер з каналу шийки матки і, поклавши інструмент на дно піхви, промасажуйте ще раз шийку матки протягом 1-2 хвилин. Тоді обережно вийміть руку з інструментом з піхви.

Після осіменіння використані ампулу, катетер (зоошприц) і рукавичку знищити.

Техніка цервікального осіменіння корови (телиці) з ректальною фіксацією шийки матки.

При цьому способі осіменіння корів (телиць) проводиться за допомогою стерильних одноразових полімерних інструментів чи пайетовводжувача фіксує шийку матки рукою через пряму кишку.

Полістиролові піпетки, полістиролові ампули-балончики, захисні чохла для пайетовводжувача надходять на пункти стерильними в закритих поліетиленових пакетах і при правильному зберіганні не вимагають попереднього миття та стерилізації, пайетовводжувач обробляється тампоном змоченим 70% спирт-ректифікатом.

Чисто вимитими і продезинфікованими руками візьміть пакет з одноразовими катетерами, протріть один з його кутів спиртовим тампоном і надріжте стерильними ножицями настільки, щоб можна було вийняти лише один катетер (чи прорвіть його кінцем піпетки зсередини). Вийміть катетер на одну третину довжини, з'єднайте його з стерильною ампулою, зрізавши перед тим ковпачок з її шийки.

Тепер вийміть повністю катетер і покладіть на стерильну підставку, зроблений у пакеті отвір запаяйте над полум'ям спиртівки чи сірника (складіть краї разом, затисніть їх пінцетом і обережно нагрійте над полум'ям) або ж, загнувши декілька разів, затисніть канцелярською скріпкою.

Наберіть в одноразовий інструмент спермодозу. Для цього опустіть кінець піпетки у флакон зі свіжо розмороженою спермою і, відпустивши попередньо стиснуті стінки ампули, наберіть в інструмент сперму.

Якщо сперма зберігається в замороженому стані у формі пайет (соломинок), то спочатку проведіть розморожування сперми на водяній бані, після чого вийміть пайету, користуючись одноразовою серветкою протріть від води. Візьміть пайетовводжувач, насадіть пайету заводською пробкою на кінець стержня приладу і опустіть в циліндр до упору. Далі зріжте запаяний край

пайєти стерильними ножицями або ж за допомогою гільятини і одягніть захисний чохол на інструмент.

Під час осіменіння корів і телиць з використанням сперми збереженої у формі облицьованих гранул візьміть спеціальний подовжувач, продезінфікуйте його спиртовим тампоном. В наконечник вставте попередньо розморожену облицьовану гранулу та проштовхніть її до переднього краю, після чого прикріпіть наконечник до подовжувача. Через отвір наконечника стерильною голкою проколите гранулу.

Покладіть підготовлений для осіменіння інструмент на стерильну підставку.

Одягніть на ліву руку поліетиленову рукавичку, в праву руку візьміть наповнену спермою інструмент. Розкрийте у тварини, підготовленої до осіменіння, соромітні губи і правою рукою введіть катетер в піхву, не торкаючись зовнішніх статевих органів, скеровуючи його спочатку косо вгору під кутом 30-45° на глибину 10-15 сантиметрів, а тоді горизонтально аж до упору в шийку матки.

Тепер зволожите рукавичку 1% розчином двовуглекислої соди чи мильною водою, введіть руку в пряму кишку і при потребі звільніть її від калових мас (відвівши інструмент дещо вбік або прикривши його серветкою). Знайдіть матку і визначте її стан. Зверніть увагу при цьому на величину та симетрію рогів, їх скоротливість. Дослідіть яєчники і якщо можливо, яйцепроводи. Яєчники дослідіть на наявність в них дозрілих фолікулів, їх величину, флуктуацію. Супроводжуйте дослідження легким масажем матки. Промасажуйте катетер в піхві і під контролем руки просуньте його до шийки матки. Якщо кінець інструмента впреться в складку піхви, то, зміщуючи його в різні боки, поправте положення. Або ж рукою, введеною в пряму кишку, подайте шийку матки дещо вперед.

Переконавшись, що тварина готова до осіменіння, зафіксуйте рукою шийку матки і введіть в її канал піпетку одним з таких трьох прийомів:

1. Зафіксуйте шийку матки між вказівним та середнім пальцями, а великим пальцем намагайтеся отвір цервікального каналу і введіть в нього піпетку по цьому пальцеві.

2. Зафіксуйте піхову частину шийки матки всією кистю руки і введіть піпетку в цервікальний канал під контролем мізинця.

3. Притисніть шийку матки до дна кісткового тазу і введіть піпетку в цервікальний канал під контролем долоні.

Тепер захопіть шийку матки всією кистю руки і, легко повертаючи її навколо поздовжньої осі, просуньте катетер в глибину каналу (на 6-8 см). Стиснувши ампулу-балончик або ж натиснувши на поршень пайєтовводжувача і, дещо відтягуючи одночасно катетер інструмента назад, введіть сперму в цервікальний канал. Ампулу не розтискуйте аж до виведення катетера з каналу шийки матки.

Вийміть обережно катетер з піхви, а руку - з прямої кишки.

Використані одноразові інструменти та рукавички знищіть. Якщо ви користувалися пайєтовводжувачем, то його слід протерти зовні спиртовим тампоном, і покласти на зберігання.

Завдання 2. Проведіть осіменіння вівці (кози) з використанням мікрошприца та піхового дзеркала.

Овець осіменяють як розрідженою, так і нерозрідженою спермою закріплених плідників.

Під час використання свіжоодержаної сперми (активність не нижче 8 балів) маток осіменяють відразу після виявлення охоти і повторяють через 24 години. У випадку використання збереженої охолодженої і замороженої сперми тварин осіменяють двічі з інтервалом 8-10 годин.

Свіжоодержану сперму дозують по 0,05 мл, охолоджену – по 0,10- 0,15 мл, а заморожено-відталу по 0,2 мл, виходячи із розрахунку щоб у спермо-дозі було не менше 80 млн. активних спермійів.

Штучне осіменіння овець проводять у спеціально обладнаному пункті де обладнується робоче місце для техніки. Навпроти вікна або лампи-

рефлектора розміщують спеціальний станок для фіксації самок. Для зручності техніка позаду станка знаходиться заглибина.

Встановіть справа і зліва робочого місця техніка два низьких столи для приладів та інструментів. Розставте на тому що справа з них мікроскоп, предметні і накривні стекла, банки з 70% спиртом та 1% розчином бікарбонату натрію, банку з спиртовими тампонами, чашку з використаними тампонами, чашку Петрі з предметними та накривними стеклами, підставку з мікрошприцями-катетерами, пінцети. На столику що зліва розмістіть піхвові дзеркала та спиртівки для фламбування.

При обробці піхвових дзеркал, шприців, набиранні в них сперми та оцінці активності сперміїв дотримуються тих же вимог, що й при осіменінні корів та телиць.

Зафіксуйте вівцю в спеціальному станку (краще обертовому), поміщаючи її шию у виріз вертикальної дошки. Підсобний робітник (чабан) повинен зафіксувати вівцю ногами, підняти вгору її хвіст і обтерти зовнішні статеві органи вийці чистою ватою.

Сядьте на край спеціальної заглибини позаду станка і опустіть ноги в цю заглибину. Дайте розпорядження своїм помічникам повернути станок з вівцею задньою частиною тулуба до робочого місця.

Обробіть відповідно мікрошприц, наберіть в нього оціненої під мікроскопом сперми і встановіть бігунком необхідну дозу сперми.

Візьміть в ліву руку незаражене піхвове дзеркало і зволожите його 0,9% розчином хлористого натрію чи 1% розчином бікарбонату натрію, а в праву руку-шприц зі спермодозою.

Введіть обережно дзеркало в піхву вівці, розкрийте його (не широко), огляньте стан піхви та шийки матки і, при наявності ознак тічки та відсутності ознак запальних процесів, осіменіть вівцю. Для цього введіть шприц канюлею вниз через розкрите дзеркало в шийку матки на глибину 2-3 см і, дещо відтягнувши дзеркало назад, натисніть на кінець поршня (чи на важіль шприца-напівавтомата) і виштовхніть в шийку матки необхідну дозу сперми.

Вийміть з піхви мікрошприц, а після цього дзеркало (в складеному вигляді) і віддайте дзеркало помічнику, який виконує роль санітара, для миття. Студент-санітар має використати дзеркало гарячою водою, витирає насухо рушником і ставить на столик, що стоїть зліва робочого місця. Перед осіменінням наступної вівці технік повинен знезаражувати дзеркало.

Зробіть зовнішню обробку шприца спиртовим тампоном і встановіть за допомогою бігунка нову дозу.

У тому випадку, якщо у ярок і переярок, не вдалося знайти шийку матки через вузьку піхву, проведіть осіменіння *парацервікально*, тобто сперму введіть у піхву як найглибше за допомогою мікрошприца-катетера з вкороченим та оплавленим кінцем без використання піхвового дзеркала. Дозу введеної сперми при цьому потрібно подвоїти.

При *штучному осіменінні кіз* дотримуйтеся тих самих ветеринарно-санітарних правил і користуйтеся тими самими інструментами, що й при осіменінні овець.

Завдання 3. Проведіть штучне осіменіння свиноматки.

Виявляють свиноматок в охоті за допомогою пробника. При щоденній триразовій вибірці свиноматок в охоті їх осіменяють — дорослих свиноматок через 20-24, а молодих — 24-30 годин від початку охоти. При дворазовій вибірці свиноматок, у яких охоту виявлено вранці, осіменяють ввечері, а тих, у яких охота виявлена ввечері, осіменяють ранком наступного дня. Якщо у великих господарствах охоту виявляють лише один раз на добу, то виявлених в охоті свиноматок осіменяють двічі: зразу після вибірки і через 10-12 годин повторно.

Доза розбавленої сперми на одне осіменіння -1 мл на 1 кг маси тварини, але не більше 150 мл з вмістом в ній 4—5 мільярдів активних спермій.

Під час осіменіння свиноматок фракційним способом спермодозу вводять пофракційно: дорослим спочатку 50 мл нативної сперми, а потім 100 мл глюкозо-сольового заповнювача, молодим - 30-35 мл сперми і подвійну

кількість розбавника. Для зручності підрахунку спермодози керуються наведеною таблицею.

Дози нерозбавленої сперми для ш. о. свиноматок фракційним методом

Якість сперми		Необхідно взяти для осіменіння			
концентрація спермій в 1 мл млрд	активність спермій в бали	дорослих маток		молодих маток	
		сперми, мл	розбавника, мл	сперми, мл	розбавника, мл
0,2 і більше	9	13	37	9	41
	8	14	36	10	40
	7	16	34	11	39
	6	19	31	12	38
0,11- 0,20	9	21	29	14	36
	8	24	26	16	34
	7	27	23	18	32
	6	31	19	21	29
0,10 і менше	9	40	10	26	24
	8	50	6	29	21
	7	44	-	33	17
	6	58	-	33	17

Осіменіння свиноматок розрідженою спермою.

Осіменіння проводять за допомогою поліетиленового приладу (ПОС-5, 6), скляного приладу (ВІТа), універсального комплексного приладу (УКП-1) або використовують одноразові інструменти інших виробників.

Зафіксуйте свиноматку в спеціальній клітці, наведіть туалет зовнішніх статевих органів. Вийміть з термоса флакони зі спермою і поставте їх в теплу (35-39⁰С) воду на 10-15 хвилин. Перевірте активність спермій під мікроскопом і якщо вона відповідає вимогам (не нижче 6 балів), помістіть флакони

з підігрітою спермою в поролоновий термос, а стерильні катетери - в стерильні поліетиленові чохла.

Прийшовши на місце осіменіння, візьміть один флакон (пакет) зі спермою і відгвинтіть кришку, а замість неї нагвинтіть стерильний катетер. Розкрийте дещо статеві губи свині і введіть обережно катетер в піхву на глибину 25-35 см до упору, скеровуючи його по верхній стінці присінка дещо вгору, щоб не попасти в отвір сечовивідного каналу, а потім горизонтально, роблячи катетером рухи вперед - назад. Якщо катетер впреться в складку слизової оболонки - відтягніть його трохи назад і, дочекавшись розслаблення мускулатури шийки матки, знову подайте катетер вперед.

Переверніть флакон чи пакет зі спермою догори дном і підніміть вище рівня спини тварини. При відкритій шийці матки сперма самопливом вилитиметься в матку. Для прискорення витікання сперми в матку поліетиленовий флакон (пакет) можна стиснути рукою або ж зробити надріз дна. У випадку витікання сперми з піхви - припиніть стиснення флакона і дочекайтесь розслаблення шийки матки. Скорочення і розслаблення м'язів шийки матки повторюються ритмічно приблизно через 40 - 50 секунд.

Не слід вливати сперму швидко: у великих свиней процес осіменіння триває 1-3 хвилини, у дрібних — до 10 хвилин.

Після введення потрібної дози сперми вийміть обережно катетер із статевих органів. Всі одноразові інструменти знищіть.

Штучне осіменіння свиноматки фракційним способом.

При цьому способі осіменіння сперму вводять у статеві органи свині фракціями: спочатку невеликий об'єм нерозбавленої сперми, слідом за нею розбавник (заповнювач), а в кінці закачують повітря, яке проштовхує сперму до верхівок рогів матки. Для введення сперми користуються універсальним зондом (УЗК-5, УЗК-6), спеціальним ампульним приладом (термос - приладом) або універсальним комплексним приладом (УКП-1).

Зафіксуйте свиноматку в спеціальній клітці. Для цього поставте в манежі клітку так, щоб її передня торцюва частина закривала половину

отвору вихідних дверей, другу половину дверей зачиніть. Відкрийте двоє дверцят клітки і заженіть у неї свиню. Коли свиноматка зайде в клітку, закрийте спочатку передні дверцята клітки, а потім затуліть планкою задній вхід у клітку. Наведіть у свині туалет зовнішніх статевих органів.

Простерилізуйте чисто вимиті ампули термос - прилада та зонд. За допомогою пароутворювача.

Промийте ампули та зонд 2—3 рази прокип'яченим 0,9% розчином хлористого натрію.

Заповніть одну (середню) ампулу приладу спермою, а дві крайні - глюкозо - сольовим розбавником: глюкоза медична - 30 г; натрій хлористий хімічно чистий - 4,5 г; вода дистильована - 100 мл.

Перед наливанням сперми із спермоприймача в ампулу зніміть з його патрубка гумову трубку і замість неї одіньте на патрубок трубку, з'єднану з нижньою частиною ампули. Відкрийте затискач ампули і підніміть в похилому положенні спермоприймач. Після того, як ампула наповниться спермою, закрийте затискач і від'єднайте спермоприймач.

Для наливання в ампули розбавника візьміть спеціальну колбу з канюлею, перелийте в неї виготовлений вами розбавник і, з'єднавши гумову трубку, що відходить від нижньої частини ампул, з канюлею колби і, піднявши останню вгору та відкривши затискувач ампул, наповніть їх розбавником; закривши затискачі, з'єднайте ампули з зондом (за допомогою нижньої трубки) і з кулями Річардсона з повітряним фільтром (верхньою трубкою).

Почепіть підготований термос-прилад на планці клітки для осіменіння. Перед осіменінням свиноматок обережно перемішайте сперму в ампулі, нахиляючи та обертаючи прилад.

Для видалення лишків розбавника із зонда та з'єднуючих трубок, опустіть зонд вниз і, тримаючи його головкою вгору, відкрийте затискач ампули зі спермою і пропустіть трохи сперми в з'єднуючу трубку до появи її в скляній трубці, що з'єднує зонд з приладом. Закрийте правою рукою затискач, а лівою введіть обережно зонд в піхву свині до упору в шийку матки.

Притиснувши обережно, але досить щільно, головку катетера до шийки матки, відкрийте затискач ампули з спермою і, натискаючи каючи на з'єднанні з ампулами кулі Річардсона, виштовхніть сперму в матку свині.

Тиск повітря повинен бути невеликий (до 100-110 мм. рт. стовпа). При цьому слід мати на увазі, що якщо шийка матки закрита, то сперма навіть під великим тиском в приладі не буде надходити в матку. В цьому разі слід почекати 5-40 секунд, поки шийка матки знову відкриється, і тоді сперма буде швидко надходити в матку.

Після введення сперми закрийте затискач ампули зі спермою, відкрийте затискач ампули з розбавником і введіть необхідну його кількість в матку.

Закінчивши введення розбавника, візьміть правою рукою наповнену повітрям кулю Річардсона і, легко стискаючи її, введіть дорослим свиноматкам не більше одної кулі, а молодим — півкулі повітря (50-100 кубічних сантиметрів); ручку зонда катетера при цьому слід опустити вниз так, щоб головка катетера дещо припідняла піхву та шийку матки догори і повітря проштовхнуло розбавник далі в роги матки, залишившись над ним у вигляді повітряної пробки. Через 20-30 секунд вийміть обережно катетер з піхви (повертаючи його легко навколо своєї осі) і витріть його від слизу ватним чи марлевым тампоном.

Якщо під час осіменіння частина сперми розлилася або ж значна частина її вилилась із статевих органів свині, то таку свиноматку осіменіть повторно.

Осіменену свиноматку слід витримати до кінця охоти в індивідуальному станку.

Промийте використані прилади та інструменти спочатку холодною, тоді гарячою водою, потім теплим содовим розчином, ополосніть водопровідною і дистильованою водою та простерелізуйте.

При осіменінні свиней фракційним методом за допомогою універсального зонда УЗК-5 підігрійте зонд до температури 35—38° і приєднайте до нього два флакони — один зі спермою, а другий з розбавником — також підігріті до 39 градусів; закрийте затискачем доступ в зонд розбавника.

Введіть зонд у піхву свині до упору і, нагнітаючи повітря кулями Річардсона введіть в матку дозу сперми. Тепер відкрийте затискач і введіть таким же чином розбавник.

Завдання 4. Проведіть штучне осіменіння кобили.

Осіменіння кобил розпочинають при яскраво вираженій охоті і повторяють до „відбою” через кожні 48 год. Якщо практикується діагностика зрілості фолікула, то кобил осіменяють один раз на 3–4-й стадії його дозрівання.

Осіменіння проводять як розрідженою, так і нерозрідженою спермою. 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°C сперма повинна мати рухливість не менше 4 балів.

Доза як розрідженої, так і нерозрідженої сперми на одне осіменіння однакова: 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.

У практиці застосовують два способи введення сперми – мануальний і візуальний. Вводять сперму безпосередньо у матку.

Мануальний спосіб осіменіння кобили за допомогою полістиролового катетера або м'якого гумового катетера І.І. Іванова.

Заведіть кобилу в станок або надіньте на неї парувальну шлею, забинтуйте її хвіст від кореня до половини ріпечі чистим полотняним бинтом і обмийте у неї зовнішні статеві органи тампоном, змоченим чистою, теплою водою.

Візьміть чистий стерильний катетер і шприц, обробіть їх 70% спиртом і промийте 3-4 рази 7% розчином глюкози. Протріть ззовні катетер спиртовим тампоном. Вийміть з термоса баночку з охолодженою до 2-4°C спермою, витримайте її 30 хвилин при кімнатній температурі або ж підігрійте 5-10 хвилин у теплій воді при температурі 18-25°C.

Перевірте активність спермій під мікроскопом. Наберіть в шприц спермодозу. Підготуйте руки для введення сперми в статеві шляхи (обріжте коротко нігті, помийте їх теплою водою з милом, витріть насухо чистим рушником і знезаразьте спиртовим тампоном). Одніть на праву руку стерильну поліетиленову рукавичку і зволожите її 0,9% розчином хлористого натрію. Візьміть у праву руку звужений кінець катетера, затисніть його між долонею та великим пальцем і введіть його в піхву кобили (без піхвового дзеркала), прикриваючи вказівним пальцем отвір на кінці катетера. Знайдіть отвір шийки матки, визначте ступінь її розкриття і спрямуйте кінець катетера в її канал, просуваючи його рукою в матку на глибину 10—15 см. Після цього помічник приєднує до вільного кінця катетера шприц чи ампулу зі спермою і, натискаючи на поршень, вводять її в матку. Після осіменіння кобили катетер виймають з піхви, миють і дезинфікують. Одноразові рукавиці знищують.

Мануальний спосіб осіменіння кобили за допомогою скляних ампул. Вийміть з термоса ампулу зі спермою, протріть її поверхню спиртовим тампоном, зніміть із за-гостреного кінця ампули гумовий ковпачок і приєднайте гумову трубку, з'єднану з кулями Річардсона. Знявши ковпачок з тупого кінця ампули, захопіть ампулу правою рукою так, щоб вказівним пальцем затулити отвір на тупому її кінці. Введіть руку з ампулою в піхву кобили (без піхвового дзеркала), знайдіть шийку матки і введіть ампулу в її канал на глибину 10-12 сантиметрів. Натискаючи на кулі Річардсона, введіть сперму в матку. Вийміть ампулу з піхви і обробіть відповідно ампулу, трубку та руки.

Візуальний спосіб осіменіння кобили.

Після фіксації кобили в станку помічник наводить туалет зовнішніх статевих органів. Візьміть стерильний скляний (ебонітовий) катетер промийте його 2,9% розчином цитрату. Поставте підготовлений інструмент на стерильну підставку.

Знезаражене піхве дзеркало зволожите ізотонічним розчином та обережно введіть у піхву. Розкривши дзеркало огляньте стан слизової піхви,

підкової частини шийки матки. Під візуальним контролем спрямуйте катетер через дзеркало у цервікальний канал. Після введення його у матку на глибину 10-15 см помічник повинен під'єднати шприц і ввести спермодозу.

Після осіменіння катетер та підкове дзеркало обережно, щоб не пошкодити слизової, заберіть із статевих шляхів. Використані інструменти помийте, простерелізуйте та поставте на зберігання.

Контрольні питання:

1. Які методи застосовують для штучного осіменіння корів та телиць?
2. В чому суть цервікального осіменіння корів з ректальною фіксацією шийки матки?
3. Вкажіть основні переваги та недоліки різних способів штучного осіменіння корів і телиць.
4. Охарактеризуйте технологію штучного осіменіння овець і кіз.
5. Які методи застосовують для штучного осіменіння кобил?
6. Охарактеризуйте методи штучного осіменіння свиней;
7. Яка технологія штучного осіменіння свиноматок фракційним способом.
8. Яка технологія штучного осіменіння свиноматок не фракційним способом.

Тема 12. Організація штучного осіменіння с.-г. тварин. Облік і звітність при штучному осіменінні.

Місце проведення заняття навчальна лабораторія кафедри, пункт штучного осіменіння.

Мета заняття: Ознайомитися з організацією обліку використання плідників на станціях штучного осіменіння, а також з формами обліку осіменіння самок на пунктах штучного осіменіння і контролю відтворення корів на фермах.

Завдання 1. Ознайомтеся з інструкцією по організації і технології роботи станцій з штучного осіменіння сільськогосподарських тварин.

При цьому зверніть увагу, що вся діяльність станції регламентується інструкцією, її окремими розділами. Прочитайте розділ «Положення про державну станцію по штучному осіменінню сільськогосподарських тварин, звернувши особливу увагу назавдання станції і яку роботу проводять станції для виконання цих завдань».

Ознайомтеся з основними документами обліку та звітності які ведуться на станціях по штучному осіменінню сільськогосподарських тварин.

1. Журнал обліку використання плідників та показники спермопродукції — ведеться окремо на кожного плідника. В журналі записуються загальні дані про плідника, результати використання плідника (підсумовують в кінці кожного року), годівля та режим утримання (в розрізі місяців за кожен рік використання), показники якості сперми плідника та результати його використання за кожен місяць (сумарно) на протязі використання плідника.

2. Лабораторний журнал обліку якості сперми плідника за період його використання (відомості на відправлення сперми в господарства). В журнал заносять дані про кожен еякулят, яку кількість з одержаної сперми використано для розбавлення, скільки виготовлено розбавленої сперми і яке її виживання протягом використання для осіменіння. В додатку реєструються дані про виконання заявок господарств на сперму.

3. Ордер на відправлення сперми містить відомості про плідника, час одержання сперми, її якість і рекомендовану дозу осіменіння по періодах зберігання. На зворотній стороні ордера на пункті реєструють всіх маток, осіменених даною спермою. Після використання сперми па пункті один примірник ордера повертають на станцію.

4. Графік завезення сперми плідника на пункти штучного осіменіння - це маршрутний лист, в якому вказують назви населених пунктів даного маршруту і сперму яких кості доставлено на пункти (згідно графіка і фактично); тут плідників (індивідуальний номер, номер ордера) та в якій кількості уточняють заявку сперми на наступний рейс.

5. Відомість обліку використання плідників на станції по штучному осіменінню, в розрізі кожного господарства. В ній відмічають кількість осіменених самок по днях зберігання сперми (згідно зареєстрованих в ордерах, що надійшли з пунктів) та затрати сперми на осіменіння.

6. Зведена відомість обліку штучного осіменіння маток за запліднюючою здатністю сперми плідника від першого осіменіння - складається на кожного плідника в кінці року в розрізі господарств. В ній підсумовують кількість маток, осіменених вперше, кількість осіменених повторно і виводять процент запліднення від першого осіменіння.

7. Акт ректального дослідження на тільність з доданням списку корів і телиць, які досліджувались ректально по наслідках штучного осіменіння. Складається комісійно головним (старшим) зоотехніком чи ветлікарем господарства, завідуючим фермою та техніком штучного осіменіння в присутності представника станції. В списку реєструються всі досліджувані тварини, з зазначенням дати останнього отелу, кількості осіменінь, дати останнього осіменіння, результатів ректального дослідження та тривалості сервісперіоду. В кінці акту подається список неплідних тварин.

8. Результати перевірки запліднюваності корів та телиць при штучному осіменінні спермою плідників, що належать станції. Складається комісійно в кінці року на підставі записів журналу штучного осіменіння великої рогатої

худоби та книги обліку осіменінь і отелень.

9. Ветеринарний паспорт плідника, в якому вказують загальні дані про плідника і роблять відмітки про диспансеризацію, наслідки лабораторних та ветеринарних досліджень.

10. Виробничий паспорт станції - містить загальні дані про станцію та зону її обслуговування (кількість господарств, поголів'я в них, наслідки осіменіння по роках), явність та характеристику плідників, комплектування складу плідників, результати використання плідників, економічні показники роботи станції, кваліфікація та стаж техніків, наявність та стан пунктів і . т. п.

11. Договори на проведення штучного осіменіння сільськогосподарських тварин, які станція щорічно укладає з господарствами своєї зони. В договорі вказується, які обов'язки бере на себе станція (організувати в господарстві штучне осіменіння, забезпечити доставлення необхідної кількості сперми, надавати допомогу в проведенні штучного осіменіння, здійснювати контроль за веденням племінної роботи і т. п.) і господарство (підготувати та обладнати відповідне приміщення під пункт, придбати необхідні інструменти, матеріали та реактиви, виділити необхідну кількість працівників для роботи па пунктах, своєчасно одержувати сперму, здійснювати заходи по боротьбі з яловістю, вести необхідний облік і т. п.). Встановлюється порядок розрахунків зі станцією.

Завдання 2.

Ознайомтесь з інструкціями з штучного осіменіння корів, овець, свиней, кобил та основними формами обліку і звітності, які ведуться на пунктах штучного осіменіння: облікова картка осіменінь та отелень корови; календарний план осіменіння; заявка на сперму; книга обліку осіменінь та отелень; звіти про штучне осіменіння, календар техніка штучного осіменіння, копії ордерів на відправку сперми.

Контрольні питання:

1. Розкажіть основний зміст інструкції по організації і технології роботи станцій з штучного осіменіння сільськогосподарських тварин.
2. Які питання відображені в інструкції по штучному осіменінню корів, овець, свиней, кобил?
2. Які основні завдання та коло діяльності станції по штучному осіменінню сільськогосподарських тварин?
3. Які основні документи обліку та звітності ведуться на станції штучного осіменіння? Дайте їх характеристику.
5. Які документи обліку та звітності ведуться на пункті штучного осіменіння?
5. Порядок ведення записів у журналі штучного осіменіння (чи книзі) обліку осіменінь та отелень (окотів, опоросів, вижеребки).
6. Як користуватися календарем техніки штучного осіменіння?