

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
ФАКУЛЬТЕТ ТВАРИННИЦТВА ТА ВОДНИХ
БІОРЕСУРСІВ**

Кафедра генетики, розведення та біотехнології тварин

Курс лекцій
з дисципліни «Біотехнологія»
розділ
«Технологія відтворення тварин»

2015 р.

Лекція №1

Історія розвитку штучного осіменіння твари

Штучне осіменіння - це метод інструментального осіменіння, в якому сім'я (сперма) поміщається в статевий апарат самки (тіло матки) під час статевої охоти з метою подальшого запліднення яйцеклітини.

Дуже давно людина почала робити спроби застосувати метод штучного осіменіння тварин. Його розвиток можна умовно поділити на шість періодів:

Перший період (від давніх часів до 1899 р.). Відомо, що ассірійці ще за 800 років до нашої ери осіменяли кобил спермою кращих жеребців, добуту із статевих органів після парування самок . Араби у XIV ст. нашої ери успішно осіменяли маточне поголів'я коней. У 1758 році німецький риболов Стефан Людвіг Якобі виводив мальків форелі змішуючи ікру з молочком у бочці з водою.

У 1855 р. російський учений Володимир Петрович Врасський розробив <<сухий>> спосіб запліднення ікри, обливаючи розведеним водою молочком ікру, яка була випущена в суху посудину. Однак вперше науково обгрунтований дослід зі штучного осіменіння провів італійський біолог Ладзаро Спалланцані у 1780 р. Він увів у статеві органи суки сперму самця і через 62 доби одержав трьох нормальних цуценят, схожих на своїх батьків. Цим було доведено можливість використання штучного осіменіння. У середині та наприкінці XIX ст. було проведено багато дослідів зі штучного осіменіння коней, кролів і собак, але вони мали суто емпіричний характер і розглядалися лише як метод, придатний для боротьби з безпліддям самок.

Другий період (1899-1927рр) тісно пов'язаний з ім'ям вченого Івана Івановича Іванова головною заслугою якого було наукове обгрунтування штучного осіменіння тварин - як зоотехнічного методу, що дає можливість значно прискорити якісне поліпшення худоби. Вченим було розроблено техніку осіменіння кобил та запропоновано ряд інструментів для осіменіння самок. Він одним із перших застосував штучно виготовлені розріджувачі для сперми і довів, що сперму можна зберігати поза організмом при низьких температурах без зниження її якості для заплідненості самок. Крім того, І.І. Івановим було доведено, що порцію сперми (еякулят), яку плідник виділяє під час однієї ссадки можна поділити на частини й осіменити кількох самок.

Він став розробником також і простої оцінки якості сперми, вперше одержав потомство після штучного осіменіння корів та овець, створив кілька дослідних станцій з біології розмноження тварин, організував навчання і підготовку кадрів для практичної роботи зі штучного осіменіння.

Третій період (1928-1940рр). Характеризується широким впровадженням штучного осіменіння у вівчарстві, скотарстві і конярстві. У цей період було заново розроблено або вдосконалено способи штучного осіменіння усіх основних видів сільськогосподарських тварин.

Наприкінці 30-х років було почато розробку і впровадження способів короткочасного зберігання і транспортування сперми, що мало велике значення для подальшого розвитку штучного осіменіння.

Четвертий період (1941-1954 рр.). У роки Великої Вітчизняної війни розвиток і застосування штучного осіменіння різко знизився. У після воєнні роки разом з відновленням тваринництва розширилось і застосування штучного осіменіння.

Тому в цей період почали організовувати станції штучного осіменіння, які комплектували висококласними плідниками, сперму яких використовували в господарствах. Надзвичайно важливим відкриттям для цього періоду стала розробка способу заморожування (кріоконсервації) і тривалого зберігання сперми плідників при низьких температурах (-196 С), уперше розроблене І.В. Смирновим 1911р.-1993р.

У 1947 році першим здійснив заморожування сперми баранів, бугаїв, жеребців та кролів в пакетах з алюмінієвої фольги на поверхні твердого діоксиду вуглецю.

У 1948 році першим у світі одержав повноцінне потомство кролів після осіменіння спермою, що зберігалася у замороженому стані (при температурі -79 — 183°C) — фактичний початок кріобіології; роботи проведені спільно з академіком Миловановим і професором І.І. Соколовською. У 1949 році для захисту кандидатської дисертації був змушений особисто ходити за дозволом до Трохима Лисенка, оскільки результати розходилися із пануючою тоді теорією.

П'ятий період (1955-1968рр). Характерною рисою цього періоду розвитку штучного осіменіння є повний перехід до нових організаційних форм, тобто створення широкої межі державних станцій штучного осіменіння, що значно підвищило використання племінних плідників. У скотарстві штучне осіменіння стало основним методом відтворення поголів'я худоби.

Шостий період (1969р. і понині) характеризується впровадженням у виробництво методу тривалого зберігання сперми у рідкому азоті, а також розробленням нових технологій її заморожування. Тривале зберігання сперми дало змогу запровадити великомасштабну селекцію у скотарстві. В цей період широкого поширення набуває метод трансплантації ембріонів як ефективний засіб створення високопродуктивних стад.

В плані здійснення науково-технологічного прогресу і підвищення ефективності відтворення у тваринництві, технологія штучного осіменіння сільськогосподарських тварин, як біотехнологічний засіб, має особливе значення, оскільки забезпечує раціональне використання племінних ресурсів, підвищення продуктивності тваринництва і зооветеринарної науки.

Технологія відтворення сільськогосподарських тварин, реалізація якої здійснюється шляхом штучного осіменіння, є профільною дисципліною, де вивчаються та викладаються такі питання, як запліднення, вагітність, пологи та післяпологовий період, профілактика безпліддя, спрямована регуляція відтворювальної функції тварин.

Штучне осіменіння в нашій країні є основним методом відтворення великої рогатої худоби свиней та овець. Крім того, розширюється застосування цього методу в конярстві та птахівництві.

Процес відтворення стад невід'ємний від процесу поліпшення продуктивних та племінних якостей худоби. Без відтворення неможливий прогрес тваринництва в цілому, оскільки багатовіковий зоотехнічний досвід показує, що в породистих тварин, які походять від високопродуктивних батьків, і, як правило, значно вищі продуктивність та оплата кормів і праці ніж у безпородних.

Щоб показати можливість цього передового зоотехнічного методу, наведемо кілька прикладів. Так, якщо при природному спаровуванні від бугая-плідника можна одержати за рік не більш як 100-140 телят, від жеребця-50-60 лошат, від барана -80-120 ягнят, а кнуром покрити 20-30 свиноматок, то застосування штучного осіменіння дає змогу збільшити ці цифри в кілька разів.

Нині в середньому навантаження на одного плідника при штучному осіменінні становить: для бугая -2500 голів (оцінених за якістю нащадків -5000-8000), барана - 2000 (оцінених - 3000-5000), жеребця-250 (оцінених-300-500) та кнура 250 (оцінених-300-700).

Однак при правильному і раціональному використанні плідників, а також науковій організації штучного осіменіння самок навантаження на одного плідника, тобто одержання приплоду, можна подвоїти, а то й потроїти.

Переваги та ефективність штучного осіменіння свідчать про те, що цей метод стає основним засобом відтворення поголів'я тварин і є складовою частиною зоотехнії і, насамперед, тісно пов'язаний з наукою про розведення сільськогосподарських тварин. За висловом І.В. Смирнова, наука так тісно не змикається з практикою, як у штучному осіменінні, і найменші відхилення від наукових рекомендацій можуть призвести до ураження або загибелі статевих клітин і серйозних порушень процесу відтворення тварин.

Лекція №2

Організація технології відтворення тварин

План

1. Організація роботи на станціях по племінній справі та штучному осіменінню с.-г. тварин.
2. Філіали та пункти по Ш.О. тварин.
3. Штати та кадри станцій, філіалів та пунктів.
4. Облік і звітність по проводимій роботі.
5. Кількість плідників на станціях та філіалах з обліком наявності маточного поголів'я та інтенсивності використання плідників.

Основними організаційними одиницями при широкому впровадженні Ш. О. є Державні станції штучного осіменіння (держплемстанції, племпідприємства) та їх периферичні пункти на тваринницьких підприємствах різних форм власності.

На Державні станції по племінній справі та штучному осіменінню с/г тварин покладені великі і відповідальні задачі по породному та продуктивному покращенню тварин шляхом ефективного використання високоцінних племінних плідників. Ці станції у відповідності з договорами забезпечують пункти штучного осіменіння тваринницьких ферм спермою високоцінних плідників планових і районованих порід; сприяють придбанню пунктами нових приладів, кріогенного і лабораторного обладнання, середовищ і хімічних реактивів; надають практичну допомогу операторам по осіменінню с.-г. тварин; проводять поліпшену селекційно-племінну роботу в зоні своєї діяльності.

КОМПЛЕКТАЦІЯ СТАНЦІЇ ПЛІДНИКАМИ.

Племінні плідники — це основний спосіб виробництва кожної станції і від правильного підбору залежить успіх в роботі.

Другим важливим моментом на кожній станції є підвищення відтворної здатності маточного поголів'я і боротьба з неплідністю і яловістю.

Підбір плідників для станцій проводять спеціалісти станцій разом з працівниками наукових закладів по тваринництву і спеціалістами племінних господарств, з обов'язковою участю ветеринарної служби.

Станції комплектуються чистопородними і висококласними плідниками планових порід, які походять від цінних в племінному відношенні родичів, оцінених по якості потомства.

Не менш як два ряди предків в родословній плідника повинні бути записані в

племкнигу.

На станції необхідно мати плідників, які повинні належати до 4-5 ліній не маючих близької спорідненості.

Кількість плідників, необхідних для станції, визначають виходячи з кількості маток (самок) даного виду тварин і інтенсивності використання плідників. Навантаження на дорослого бугая близько 2500 корів і телиць на рік, на барана — 2000 овець, на кнура -250 свиней, на жеребця — 25 кобил.

Якщо плідник оцінений по якості потомства і явився покращувачем, навантаження необхідно збільшити в 2-3 рази.

На станції треба мати 50% плідників, оцінених або перевірених по якості потомства, 25-30% також перевіряючих, або неповногодових, і 20-25% молодих плідників, які вирощуються на ремонт.

ОСНОВНІ ФОРМИ ОБЛІКУ І ЗВІТНОСТІ НА СТАНЦІЯХ.

Для обліку основних видів робіт, що проводяться на станціях ведуться наступні форми обліку і звітності.

1. Журнал використання плідників.
2. Журнал обліку якості сперми кожного плідника.
3. Ордера (накладні) на відправку сперми.
4. Графіки доставки сперми (маршрутні листи).
5. Відомості обліку використання сперми по кожному господарству.
6. Зведена відомість обліку Ш. О. самок з розрахунком запліднюючої сперми на кожного плідника.

7. Папка індивідуального обліку кожного плідника, в якій є:
 - А/ фотографія плідника
 - Б/ племсвідоцтво
 - В/ заводська карта
 - Г/ журнал обліку використання плідника
 - Д/ ветеринарний паспорт
 - Е/ акти переводу плідника з однієї вікової групи в іншу.

Лекція №3

Отримання сперми від плідників за допомогою штучної вагіни

План лекції

1. Фістульний метод отримання сперми.
2. Метод мастурбації.
3. Метод за допомогою спермозбирача.
4. Метод масажу.
5. Метод електроеякуляції.
6. Піхвові методи отримання сперми.

1. Фістульний метод отримання сперми.

Таким методом отримують чисту сперму, стерильну сперму, яка має високу переживаємість спермійів. Плідник з уретральною фістулою використовується тривалий час(роками). Для цього методу жеребцям роблять уретростомію. Вперше цю операцію запропонував в 1923 році Л.С.Сапожников при захворюваннях статевого члена у жеребців. Пізніше І.В.Глумаков почав застосовувати цей спосіб для отримання сперми від жеребців, а в 1936 – 1938р. широко застосовував цю операцію в конярстві Х.І.Животков. Уретростомію необхідно виконувати так, щоб нижній кінець фістули розташовувався на рівні дна тазу між сідничними буграми. Через декілька днів після операції жеребці пристосовуються до нових умов, тобто при сечовиділенні вони приймають позу характерну для пози кобили. Через 3 – 4 тижні після операції плідника можна використовувати для отримання сперми. Перед отриманням сперми корінь хвоста добре бинтують, а краї фістули протирають ватним тампоном, змоченим в розчині борної кислоти, фізіологічному розчині натрію хлориду, 50 – 60% розчині спирту. В момент садки жеребця на кобилу в охоті хвіст жеребця відводять в сторону і під фістулу підставляють спеціальний стерильний посуд з овальним отвором. Через декілька секунд сперма під сильним напором заповнює посуд. На весь процес необхідно 3 – 4 хвилини.

2. Метод мастурбації.

Здійснюється цей спосіб шляхом механічного подразнення головки статевого члена шляхом тертя об головку препуціального мішка. Цей спосіб дає

ефективним результат тільки у собак. Практикою доведено, що тільки у самців собак швидко виробляється рефлекс мастурбації, і вже при підготовці самця до взяття сперми, а саме розміщення самця на спеціальному столі для мастурбації, у самця відбувається ерекція, а після декількох торкань до головки статевого члена препуцієм, відбувається ерекція. У копитних цей спосіб не дає результатів.

3. Метод за допомогою спермозбирача.

Спермозбирач це прилад з тонкої гумової трубки, один кінець якої глухий, а вільний розтягнутий на гумовому кільці. Спермозбирачем збирають сперму двома способами:

1. введенням спермозбирача в піхву;
2. без введення спермозбирача в піхву.

4. Метод масажу.

У бугая перед отримання сперми підстригають волосся на препуційному мішку. Без попереднього контакту плідника з самкою(без збудження) сперму отримати не вдається. тому плідника підводять до корови для загального збудження, під дією якого сперма із придатка сім'яника переміщується в ампули спермієпроводів. Після чого руку змащену вазеліном вводять в пряму кишку плідника за ампулоподібне розширення, а потім відводять назад разом з частиною прямої кишки, яка вільно переміщується, в тазову порожнину де пальпують шийку сечового міхура на якій розташовані ампули спермієпроводів схожі на товсті шнури, а також пальпують пухирцеподібні залози. Ніжно погладжують ампули а потім видавлюють обережно вміст ампул і при виділенні вмісту на зовні збирають його в спеціальний посуд.

Від півнів отримання сперми шляхом масажу ампул сім'япроводів було запропоновано вченими Бюрроу і Куїні в 1939 році. Для отримання сперми технік сидячі на стільці, фіксує ноги півня колінами, правою рукою масує живіт і одночасно лівою – попереk. Масаж проводять шляхом легенького погладження з переду назад 3 - 4 рази протягом декількох секунд. Реакція на масаж це піднімання хвоста при цьому необхідно легко погладжувати задню частину черева великим та вказівним пальцем лівої руки викликають ерекцію, стискаючи пальцями клоаку, отримують сперму в спермоприймач. Час необхідний для цього 20 сек.

Від індики отримують сперму за допомогою спеціального станка М.М.Асланяна, в якому є яйцеподібне заглиблення для фіксації самки, зверху заглибина покрита сіткою для захисту самки від пошкоджень її самцем під

час садки. При вигляді самки самець збуджується і робить садку, при цьому легке погладжування нижньої частини черева приводить до виділення сперми.

5. Метод електроєякуляції.

В науково – дослідному інституті тваринництва в „Асканії – нова” ім. М.Ф.Іванова був розроблений метод електроєякуляції у баранів та козлів. Самцю вводять через пряму кишку срібний електрод і розташовують на сечовим міхуром. Другий електрод це пінцет Пеана, який прищепують на мошонку. Струм подається з батарейки 30 В. Після установки електродів замикають та розмикають електроланцюг. Під дією току ампули спермієпроводів скорочуються, сперма виділяється назовні

6. Піхвові методи отримання сперми.

Губковий метод – запропонував І.І.Іванов. Застосовували його для отримання сперми від биків, баранів, жеребців. Для свиней цей спосіб не застосовувався тому, що у свині піхва вузька і в піхву можна ввести лише вузьку губку, яка не може всмокстати в себе весь еякулят. В наш час цей метод не застосовують. Суть цього методу полягає в використанні губки, яку після відповідної підготовки вводять в піхву самки, яка знаходиться в стані статевої охоти, а потім дозволяють самцю зробити садку. Після еякуляції губку виймають з піхви самки і в спеціальній посуд видавлюють з губки еякулят.

Метод має такі недоліки:

1. губка потребує спеціальної підготовки;
2. губка є „інородним” тілом, тому може порушувати динаміку еякуляції;
3. під час вижимання еякуляту спермії травмуються;
4. губка всмоктує в себе велику кількість піхвового слизу.

Піхвовий або дзеркальний метод – збирання сперми з піхви піхвовим дзеркалом або іншими приборами зразу після коїтусу (статевого акту, парування, садки) таким способом збирали сперму у кобил, овець та корів, але тільки тоді коли шийка матки закрита.

У свиней отримують сперму після введення тампона в передню частину піхви, під час еякуляції сперма виливається назовні з вульви.

Піхвовий метод отримання сперми простий по техніці виконання але має недоліки:

1. сперма розсіюється в складках піхви;
2. еякулят з домішками слизу з піхви самки, що знижує якість сперми.

Від самців птиці К.Братановим був запропонований простий метод отримання сперми. Самку витримують на голодній дієті. Через 36 – 48 годин за допомогою звичайного кумового балончика або груші промивають клоаку фізіологічним розчином. Стерильною ватою намотаною на кінчик пінцету, висушують клоаку. Потім допускають самця для коїтусу, після якого самку тримають клоакою вниз та скляною паличкою або ложечкою видаляють вміст клоаки.

Піхвовий метод також практикують в звірництві. Відразу після коїтусу самку поміщають в тепле приміщення, де за допомогою скляних трубок з гумовим балончиком, підігрітих до температури тіла тварини, видаляють сперму з передньої частини тіла піхви самки.

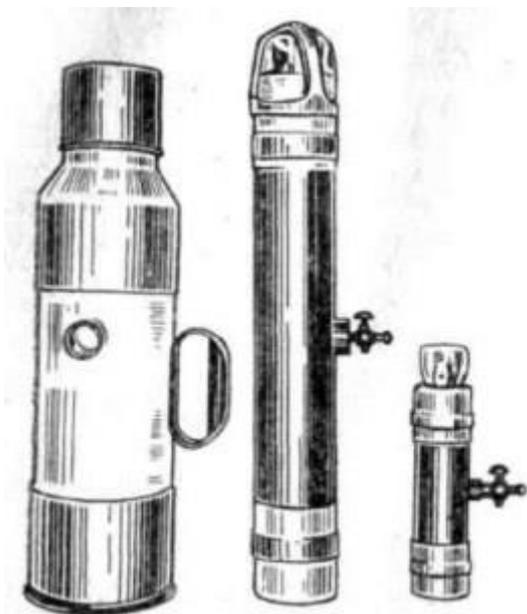
І.І.Іванов розробив метод отримання сперми від забитих самців птиці. Після розрізання черевної порожнини з ампулоподібних розширень видавлюють по направленню до клоаки сперму.

При загибелі цінного плідника, сперму добувають відразу після забою або загибелі плідника. Для цього проводять кастрацію, відокремлюють придаток сім'яника ріжуть його на дрібні шматки з яких фізіологічним розчином вимивають сперму.

Техніка штучного осіменіння складається з п'яти основних елементів: взяття сперми від плідника, оцінка сперми, розведення її, зберігання і власне осіменіння, тобто введення сперми у статеві шляхи самки.

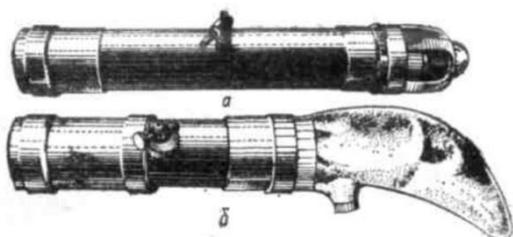
Розробка техніки взяття сперми від плідників пройшла тривалий шлях розвитку. Єдиним способом взяття сперми до початку досліджень І. І. Іванова був так званий піхвовий спосіб. Він дуже простий, але зате у нього багато недоліків. Після природної садки плідника на самку, у піхву останньої вводять незаражене піхвове дзеркало і за його допомогою беруть сперму, яка звичайно змішується із слизом, що заповнює піхву. При цьому як правило, вдається взяти лише частину виділеної самцем сперми; решта розмазується по стінках статевих шляхів або всмоктується в матку (у кобили). Тепер цей спосіб може бути застосований лише для перевірки рухливості спермій в разі неможливості взяти сперму у штучну вагіну. Самки, що використовуються для взяття сперми, повинні бути цілком здоровими. Для свиней цей спосіб зовсім непридатний через вузькість і велику довжину піхви, а також тому, що більша частина сперми всмоктується в матку.

У 1931 р. колективом радянських учених було сконструйовано штучну вагіну для взяття сперми від кнурів. Ця конструкція виявилася такою вдалою, що з деякими змінами застосовується для всіх сільськогосподарських тварин уже понад 40 років в усіх країнах світу.

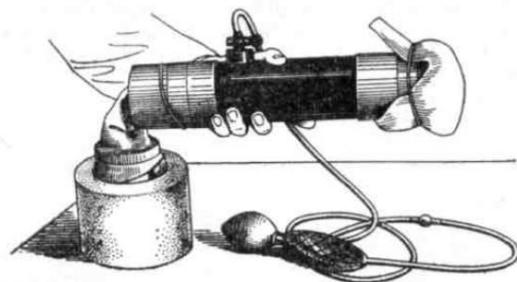


Будова штучної вагіни

Штучна вагіна (штучна піхва) – це простий прилад, в якому можна відтворювати основні умови, необхідні для нормального прояву рефлексу еяколяції: відповідну температуру, тиск і стикання статевого члена з гладкою, слизькою поверхнею. Для кожного виду сільськогосподарських тварин виготовляють спеціальні вагіни, розміри і будова яких відповідають величині статевого члена самця. Проте принцип будови штучних вагін однаковий для усіх видів тварин.



Мал. 15. Штучна вагіна для взяття сперми від бугаїв: а – із скляним спермоприймачем; б – із спермоприймачем з поліетиленою плівкою.



Мал. 16. Гумова штучна вагіна для кнура у зборі (отвір закрито поролоновою накладкою).

Основні частини штучної вагіни – циліндр, або корпус, тонкостінна гумова камера і спермоприймач. Крім того, є додаткові деталі: 2-4 гумових кільця для закріплення камери на циліндрі, ебонітовий краник (у вагіні для жеребця замість нього є загвинчувана гайка), гумовий тримач спермоприймача (застосовується тільки у вагіні для бугая), еластична поролонова накладка, призначена для механічного очищення статевого члена.

Циліндри для вагіни виготовляються з ебоніту (для баранів), з товстої гуми (для бугаїв), з алюмінію або оцинкованого заліза (для жеребців). Корпус вагіни для жеребців з одного кінця закінчується звужуванню горловиною і має ручку для тримання. У стінці корпуса є патрубок з отвором для вливання води і вдудвання повітря.

Циліндр для барана 20 см, для бугая 50 см, для жеребця 54 см завдовжки. За



Мал. 18. Сім'яприймачі (зліва направо):
одностінний для барана, двостінний для барана, двостінний для бугая.



Мал. 19. Сім'яприймач для кнурів:
1 — ковпак; 2 — фільтр; 3 — стакан; 4 —
гумова сполучна муфта.

кордоном і на деяких станціях в СРСР застосовують вагіну для бугая так званого „європейського” зразка – більш коротку і вузьку.

Для взяття сперми від кнурів застосовують вкорочений на 12-15 см циліндр вагіни для бугая або штучну вагіну конструкції Полтавського інституту свинарства, корпус якої виготовляється з оцинкованого заліза. Є варіант вагіни для кнура з електропідігріванням.

Тонкостінна гумова трубка (камера) виготовляється з спеціальної високоякісної гуми. Камера для бугая 70 см, для барана 33 см, для жеребця 90 см завдовжки. При взятті сперми від кнура використовують камеру для бугая або для барана. Обидва кінці камери завертають і натягають на кінці циліндра. Поверхня нової, яка ще не була у вжитку, камери з одного боку гладка, з другого – трохи шорстка.

Спермоприймач призначений для збирання виділюваної самцем сперми. Для барана і бугая застосовуються або одностінні спермоприймачі, що мають вигляд конічних пробірок, або (частіше) двостінні спермоприймачі. У між стінний простір останніх наливають теплу воду, що захищає спермії від різкого охолодження. Маючи такі спермоприймачі, сперму можна брати на відкритому повітрі або в неопалюваному приміщенні. Що ж до одностінних спермоприймачі, то їх можна застосовувати тільки при температурі не нижчій за 18⁰С.

В укороченій ("європейській") вагіні для бугая застосовують поліетиленові спермоприймачі одноразового використання: після взяття сперми від

бугая її переливають у скляні посудини, а спермоприймачі викидають.

Спермоприймач для жеребця являє собою широкий гумовий стакан, який накладають на горловину штучної вагіни. При взятті сперми на холодні на такий спермоприймач слід накладати ватний чохол. У кожного спермоприймача повинна бути кришка, якою він закривається негайно після виймання з вагіни. Спермоприймач вагіни для кнурів виготовлено з прозорої пластмаси; складається він з ковпака і градуйованого стакана, які з'єднуються між собою гвинтовою нарізкою. У ковпак вставляють пластмасовий або гумовий фільтр. Іноді користуються скляною банкою місткістю 0, 5 л, яку приєднують до вагіни за допомогою гумової трубки (куска камери). У верхній частині трубки роблять отвір для виходу повітря в міру надходження сперми в банку. У горловину банки вставляють пластмасовий фільтр, який затримує густий секрет цибулинних залоз.

Щоб запобігти перенесенню заразних хвороб від одного плідника до іншого, а також зменшити можливість потрапляння мікробів у сперму в тих випадках, коли від плідника беруть два еякуляти підряд, для кожного плідника слід мати по дві окремі вагіни, на яких білою фарбою, що не змивається, позначені кличка або номер плідника. Вагіни потрібно зберігати у спеціальній закритій шафі з полицями, де є гнізда для кожної вагіни.

Спермоприймачі, пінцети та інші інструменти, що застосовуються при підготовці штучних вагін, також повинні зберігатися в закритих шафах.

Лекція №4 Підготовка штучної вагіни

План

1. Вимоги до камери.
2. Стерилізація вагіни.
3. Приготування спермоприймачів.
4. Температурний режим.

1. Вимоги до камери.

Одержану з складу вагіну слід правильно скласти. Передусім зстругують ножом гострі краї циліндра вагіни для бугая з внутрішнього боку, щоб уникнути больових відчуттів у бугая при взятті сперми. Потім камеру пропускають всередину корпуса, кінці її завертають і рівномірно натягують на неї краї корпуса. При цьому гладка поверхня повинна бути звернена у просвіт вагіни (щоб не сталося гальмування еякуляції)

Натягнута камера має бути без складок і перекручувань. Не слід натягати камеру дуже сильно: стикання статевого члена з тугою, непіддатливою стінкою вагіни може загальмувати еякуляцію. Ознакою надто сильного натягу камери служить її лійкоподібні заглибини на кінцях вагіни. Складена вагіна не повинна мати тріщин і отворів, що пропускають воду і повітря. Кінці камери закріплюють на циліндрі гумовими кінцями або шпагатом (у залізній вагіні для кнура). Підготовка штучної вагіни до роботи складається з кількох послідовних операцій.

2. Стерилізація вагіни.

Спочатку вагіну миють (у складеному вигляді) за допомогою йоржа або куска марлі, намотаного на паличку, теплим 3% розчином двовуглекислої соди. Після миття вагіну споліскують чистою гарячою водою і насухо витирають чистим рушником.

Потім вагіну стерилізують в автоклаві при температурі 1050С і тиску 0,3-0,5 атмосфер протягом 15-20 хв. Перед стерилізацією на обидва кінці вагіни надівають ковпаки з полотна чи пергаментного паперу. Можна також кип'ятити вагіну у великому стерилізаторі (у дистильованій воді) протягом 20 хв. Як виняток допускається стерилізація 960-ним спиртом -

ректифікатором: протирають гумову камеру ватним тампоном, змоченим спиртом. Спирт швидко звірюється, і поверхня камери залишається цілком сухою.

У простерилізованій вагіні створюють відповідну температуру, вливаючи в між стінний простір теплу воду з температурою 55-65°C через отвір у корпусі.

У вагіну для барана вливають 150-180 *мл* води, для бугая – 350 - 500 *мл*, для жеребця – 1,5-2,0 *л*. У вагіну для кнура з гумовим циліндром вливають 300-400 *мл* води, а у вагіну Полтавського інституту свинарства – 1,2 *л*. Не слід переповнювати вагіну водою, оскільки стінка камери від цього стає тугою, непіддатливою, що може загальмувати еяколяцію. Внутрішню поверхню вагіни змазують за допомогою стерильної скляної палички тонким шаром очищеного нейтрального білого або жовтого вазеліну, заздалегідь простерилізованого при 100°C. Можна застосовувати також розріджувач для сперми. Один кінець вагіни, в який буде встановлено спермоприймач, залишають незмазаним на 3-5 *см*.

3. Приготування спермоприймачів.

Спермоприймачі готують заздалегідь. Їх ретельно миють у теплій воді, споліскують дистильованою водою і стерилізують кип'ятінням протягом 20-30 *хв.*, або в сушильній шафі при температурі 130°C протягом 1,5-2 *год*. Пластмасовий спермоприймач для кнура стерилізують за допомогою пароутворювача, а гумовий спермоприймач для жеребця протирають спиртовим тампоном. Одноразові поліетиленові спермоприймачі стерилізують промінням бактерицидних ламп.

Після нагрівання спермоприймач слід охолодити, а після кип'ятіння – чотири - п'ять разів промити 1% розчином натрію хлориду.

У між стінний просвіт двостінних спермоприймачі вливають воду, яка після обігрівання стінок спермоприймача повинна мати температуру 30-35°C для бугая і 28-30°C для барана.

Потім компресором або гумовим балоном нагнітають повітря у міжстінний простір вагіни так, щоб стінки камери зімкнулися й утворили подібність природної піхви. Необхідна кількість повітря залежить від індивідуальних особливостей плідника, які технік з штучного осіменіння повинен уважно вивчити. Деякі плідники краще виділяють сперму в сильно надуту вагіну, інші, навпаки, у вагіну із значним тиском. Слід зважати і на величину статевого члена плідника. У вагіну для жеребця повітря нагнітати не слід. Тиск у вагіні для кнура, запропонованій Полтавським інститутом свинарства, контролюється водяним манометром. Останній укріплюється на стінці біля чучела для взяття сперми і сполучається з вагіною тонкою гумовою трубкою.

На вхідний отвір штучної вагіни за допомогою гумового кільця укріплюють заздалегідь простерилізовану поролонову накладку з розрізом у центрі.

4. Температурний режим.

Перед самим взяттям сперми у вагіні вимірюють температуру незараженим термометром. Температура повинна бути в межах 40-42°C. В разі відхилення в той або інший бік потрібно додати трохи гарячої або, навпаки, холодної води (попередньо виливши частину води з вагіни), а потім знову виміряти температуру. При температурі нижче за 40°C може загальмуватися еякуляція, а температура вище за 42°C шкідлива для сперміїв.

Для того щоб температура у підготовлених вагінах не знизилася до моменту взяття сперми, слід тримати їх у спеціально зробленій для цього шафі – термостаті при температурі 40-42°C.

У вагіні для кнура з електропідігріванням камера вставляється в жерстяну конічну трубку (власне вагіну), а трубка вставляється всередину кожуха. Повністю складену вагіну вміщують в чучело свині і з'єднують з допомогою шнура та штепселя з розеткою, увімкненою в електричну мережу. Температуру води показує спиртовий термометр, вмонтований у кожух вагіни. Перед садкою кнура, а також перед тим, як вийняти вагіну з чучела, її обов'язково вимикають з мережі.

Недбале або неправильне застосування штучної вагіни призводить до утворення рефлексів або до ушкодження статевого члена. Тому технік з штучного осіменіння зобов'язаний строго додержувати правил підготовки вагіни і роботи з нею.

Погано продезинфікована вагіна може стати джерелом поширення заразних захворювань. Тому слід звернути особливу увагу на додержання санітарних правил.

Питання для самоконтролю

1. Назвіть вимоги до камери при одяганні її на циліндр.
2. Поясніть, як закріплюють камеру на циліндрі вагіни.
3. Назвіть послідовні операції при підготовці вагіни до роботи.
4. Назвіть способи стерилізації вагіни.
5. Поясніть способи приготування спермоприймачів для штучної вагіни.
6. Назвіть температурний режим в штучній вагіні для нормальної еякуляції.



Мал. 21. Миття штучної вагіни для бугая.



Мал. 22. Вливання теплої води у штучну вагіну.



Мал. 16. Гумова штучна вагіна для кнура у зборі (отвір закрито поролоновою накладкою).

Лекція №5

Взяття сперми від плідників за допомогою штучної вагіни

1. Манеж для взяття сперми від плідників.

Сперму беруть у спеціальному приміщенні – манежі. Манеж являє собою досить простору (для бугая 70-80 м², для жеребців 50 м², для баранів 20 м²) кімнату з асфальтовою підлогою, високою стелею і добрим природним та штучним (в разі роботи в темну пору доби) освітленням. У манежі встановлюють станки для взяття сперми від бугаїв і баранів або чучело свині для кнурів. Позаду станка для взяття сперми від бугаїв влаштовують площадку розміром 3х3 м, залиту м'яким бітумом або покриту гумовим килимком, щоб ноги бугая не ковзали під час садки.

Узимку температура в манежі повинна бути не нижче за 18⁰. Влітку допускається взяття сперми у дворі поблизу манежу під спеціальним навісом.

Щоб запобігти потраплянню у сперму бактерій, перед взяттям сперми у манежі розбризкують воду за допомогою розпилювача і зволожують підлогу, а також опромінюють приміщення бактерицидними лампами, установленими на стелі манежу і біля станка.

Перед взяттям сперми плідникам не слід давати багато води і грубих кормів. Перед тим як ввести в манеж плідника, його корисно поводити або поганяти протягом 5-10 хв. Проводку бугаїв практикують і в перервах між двома садками.

У жарку погоду бугаїв, кнурів і жеребців слід незадовго до садки купати або обмивати під душем. Незалежно від цього перед самою садкою потрібно чистити плідників пилососом або, у крайньому разі, щіткою. Особливо старанно очищають черево і спину. Після чищення препуція плідника обмивають теплим 2% розчином соди або розчином фурациліну (1:5000); можна користуватися при цьому пульверизатором. Потім витирають препуція і черево плідника стерильним туалетним папером, що зберігається у спеціальному закритому ящику, і підвішують за передніми ногами бугая або барана чистий фартух, щоб пил і мікроорганізми з шерсті тварини, яка стоїть у станку, не потрапили у сперму. Фартух роблять з клейонки або мішківини у вигляді зрізаного трикутника.

Технік повинен брати сперму у чорному, сірому або синьому халаті. Одягати білий халат не слід, оскільки у таких халатах ветеринарні працівники беруть від плідників кров, що викликає в останніх утворення захисних рефлексів.

2.Способи взяття сперми від плідників.

Сперму беруть під час стрибка плідника (тобто прояву обнімального рефлексу) на самку, поставлену в парувальний (кобилам накладають парувальну шлею). Майже всі бугаї і багато баранів виявляють обнімальний рефлекс і щодо кастрата або іншого плідника. Тому на станціях штучного осіменіння сперму від бугаїв беруть, як правило, на інших плідників. При цьому слід добирати такого партнера для кожного плідника, щоб останній виявляв статеві рефлекси з найбільшою силою. Подібні індивідуальні схильності плідників встановлюються повсякденними спостереженнями. Не слід вибирати надто високих тварин, а також тварин з широким крупом, оскільки в даному разі доводиться відводити статевий член плідника далеко вбік, що може викликати больові відчуття.

Зрозуміло, що самка, кастрат або плідник, які використовуються для взяття сперми, не повинні мати ніяких заразних захворювань.

В останні роки почали успішно використовувати при взятті сперми від бугаїв механічні чучела з амортизуючим пристроєм. Іноді застосовують чучела на колесах і з двигуном: деякі бугаї більш енергійно проявляють статеві рефлекси щодо чучела (або підставної тварини), яке рухається. застосування чучел має певні переваги: їх легше дезінфікувати і, крім того, відпадає необхідність використовувати цінних бугаїв як підставних тварин. Проте привчання бугаїв до чучела пов'язане з певними труднощами. Швидше привчаються бугаї, які вже робили садки на підставних тварин в тому ж приміщенні, де встановлено чучело. Сперму від кнурів беруть тільки з використанням спеціально виготовленого чучела свині. У зв'язку із значною тривалістю садки кнура взяти сперму на свиню дуже важко, до того ж відводити статевий член кнура вбік незручно.

Чучело для кнурів можна зробити з дерева або металевих труб. У задній частині чучела роблять гніздо для вагіотримача з вагіною. Гніздо закривається відкидною кришкою. Чучелу надають хоч би грубої форми тулуба і голови свині. Можна обтягнути чучело шкірою свині або будь – яким синтетичним матеріалом. При цьому важливо, щоб цей матеріал набув запаху свині. Висоту ніг розраховують так, щоб чучело було заввишки не більше 45 см від дерев'яної площадки розміром 2х2 м, до якої чучело прикріплюють болтами. Біля шиї чучела укріплюють дерев'яні або пластмасові бруски – опри для передніх ніг кнура. Позаду чучела прибивають до площадки ряд поперечних планок, щоб задні ноги кнура не ковзали.

Всередині чучела вставляють патрон для двох – трьох електричних лампочок, щоб підігрівати внутрішню порожнину в холодну погоду; це потрібно для обігрівання вагіни і спермоприймача. Розетку для вмикання лампочок влаштовують біля передніх ніг чучела.

Є модель чучела, задня частина якого вкрита м'якою гумою і підігрівається до температури тіла свині. Висоту чучела можна швидко змінювати спеціальним домкратом. Чучело має змінні брезентові чохла для запобігання інфекційним захворюванням.

Перед стрибком плідника витримують протягом 1-2 хв., щоб промивні секрети виділилися на землю і не змішувалися зі спермою.

Як тільки плідник стрибне на підставну тварину, технік відводить лівою рукою статевий член плідника трохи вбік, спрямовуючи його кінець у штучну вагіну, а правою рукою приставляє вагіну до таза підставної тварини, тримаючи вагіну похило під кутом 35-40° (в напрямі статевого члена). При цьому ні в якому разі не можна доторкатися до статевого члена бугая або барана, можна захоплювати пальцями тільки препуцію. У жеребців дотик до статевого члена не гальмує прояву статевих рефлексів.

Беручи сперму від жеребця, слід створювати упор для статевого члена жеребця, міцно тримаючи вагіну біля таза кобили. Якщо статевий член жеребця великий, то під час садки слід випустити з вагіни зайве повітря, повернувши гайку на півоберту, і потім знову щільно її закрутити.

Якщо вагіна правильно підготовлена і своєчасно підставлена, плідник виділяє сперму, яка стікає в спермоприймач. Бугай і баран виділяють сперму дуже швидко, після характерного поштовху вперед. Вагіну не слід відривати від статевого члена відразу після поштовху, бо при цьому сперма може бути виділена мимо вагіни. Як тільки плідник вийме статевий член з вагіни, її повертають вниз спермоприймачем і випускають крізь краник повітря, щоб сперма стекла у спермоприймач.

У жеребця і кнура ознакою початку еяколяції є ритмічні скорочення м'язів біля кореня хвоста. Садка у жеребця триває 1-2 хв, у кнура – 7-12 хв. Якщо під час садки температура у вагіні знизиться до 36-37°, виділення сперми може припинитися.

Відразу ж після взяття сперми вагіну виносять у тепле приміщення (лабораторію), відокремлюють спермоприймач і досліджують сперму під мікроскопом, а штучну вагіну негайно відмивають гарячою водою або содовим розчином від вазеліну. Вбираючись у гуму камери, вазелін викликає її набрякання і втрату міцності, внаслідок чого камера швидко стає непридатною.

Сперму жеребця і кнура (якщо у спермоприймача немає фільтра) відразу ж після взяття слід процідити крізь стерильну марлю в чисту скляну посудину, щоб відокремити тягучі секрети придаткових статевих залоз, які знижують життєздатність сперміїв.

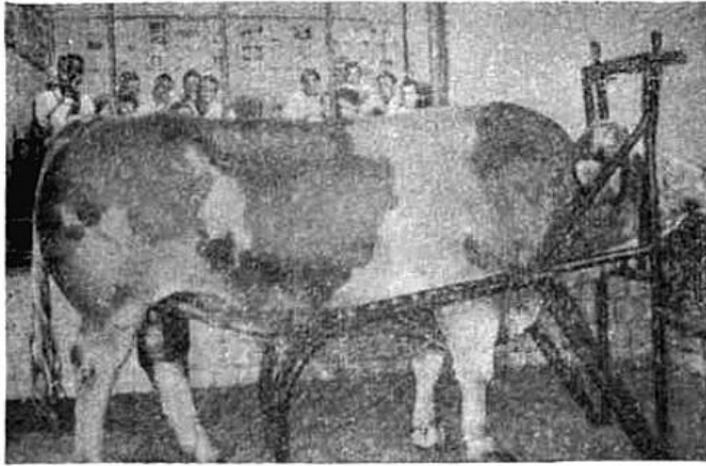
Взяття сперми за допомогою штучної вагіни від бугаїв, баранів і жеребців потребує певної вправності і швидкості. Вагіну потрібно підставити саме в той момент, коли плідник стрибнув на самку (або підставну тварину) і наближає статевий член до її крупа. Якщо технік запізниться, то ерекція статевого члена може піти на спад і доведеться чекати нового стрибка або плідник встигне спаруватися з самкою природним способом. З другого боку, не можна підставляти вагіну надто рано, тим більше накладати її на статевий член плідника.

В разі неправильної підготовки вагіни (дуже низька або, навпаки, дуже висока температура, вагіна погано змазана, недостатній тиск повітря) або при неправильному положенні вагіни плідник не виділяє сперми або навіть зовсім не вводить статевий член у вагіну. У таких випадках потрібно перевірити правильність підготовки вагіни й усунути виявлені недоліки.

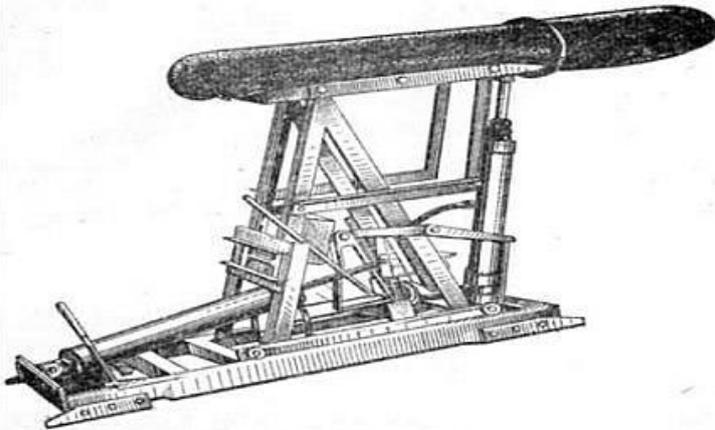
Беручи сперму від плідників, потрібно уважно стежити за їхньою поведінкою, щоб уникнути нещасних випадків. Особлива обережність потрібна при роботі з бугаями.

Питання для самоконтролю

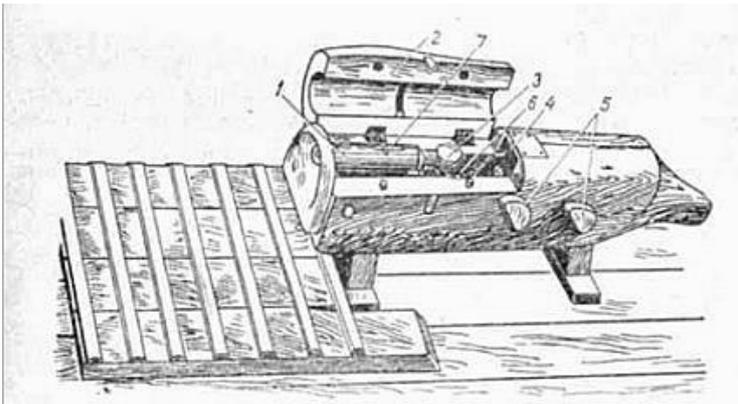
1. Опишіть манеж для взяття сперми у різних видів тварин.
2. Опишіть підготовку плідників до взяття сперми в різні пори року.
3. Назвіть ознаки еякуляції у різних видів самців.
4. Назвіть причини які викликають втрату рефлексів і неможливість отримання сперми від плідників.
5. Опишіть поведінку плідників під час взяття сперми за допомогою штучної вагіни.



Мал. 24. Бугай-плідник, поставлений в парувальний станок.

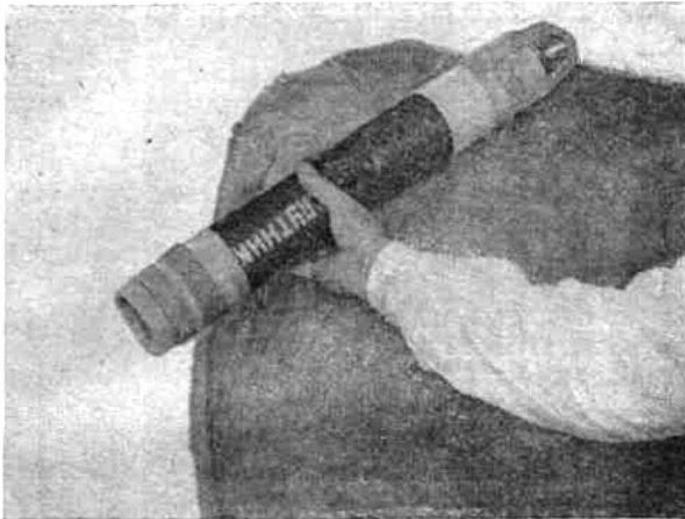


Мал. 25. Механічне чучело для взяття сперми від бугаїв.



Мал. 26. Дерев'яне вичело для кнуря:

1.— штучна вагіна; 2— відкидна спишка; 3— сім'яприймач; 4— електророзетка для вмкання підігріву вагіни; 5— упори для передніх ніг кнуря; 6— електрощнуур; 7— термометр на корпусі вагіни.



Мал. 27. Положення штучної вагіни при взятті сперми від бугая.

Лекція № 7

Короткочасне зберігання сперми



Мал. 49. Вакуумні (харчові) термоси.

1. Техніка короткочасного зберігання розведеної сперми при $+2—4^{\circ}$.

Сперму зберігають звичайно в термосі з льодом або в холодильнику. В останньому разі визначають за допомогою термометра, на якій полиці холодильника встановлюється (при зачинених дверцях) потрібна температура ($+2—4^{\circ}$). На випадок можливих коливань температури рекомендується поставити на цю полицю посудину з льодом, який розтає (найзручніша кюветка, що застосовується в фотографії), а в неї вмістити флакони з спермою; температура льоду залишається постійною, поки не розтануть усі його куски або не замерзне вся вода в кюветці.

На станціях і пунктах штучного осіменіння користуються термосами різних типів. Конструкція термоса повинна задовольнити такі вимоги: термос повинен 1) мати добру теплоізоляцію, щоб сповільнити танення льоду; 2) бути міцним, але не важким (особливо термос, призначений для перевезення сперми); 3) бути зручним для закладання і виймання посудин зі спермою, а також для зливання талої води і додавання льоду. На жаль, жодна з існуючих моделей термосів не задовольняє всіх цих умов разом узятих.

На пунктах штучного осіменіння найчастіше користуються харчовими вакуумними термосам. Основною частиною такого термоса є вакуумна посудина Дьюара — двостінна скляна колба, з міжстінного простору якої викачано повітря, завдяки чому теплопередача всередину із зовнішнього середовища зведена до мінімуму. Посудина має жерстяний або пластмасовий футляр, теплоізоляційну пробку і кришку.

Термос заповнюють дрібними кусками чистого, промитого у воді льоду приблизно до половини його об'єму. Засипати лід (особливо його перші

куски) треба дуже обережно, нахиливши термос, щоб не розбити вакуумну колбу, осколки якої розлітаються, як при вибуху. Лід повинен мати температуру 0° , показником чого є його танення, що почалося. Лід, взятий знадвору в сильний мороз (або з випаровувача побутового електрохолодильника), потрібно облити теплою водою і перевірити температуру термометром: при температурі, нижчій від нуля, сперма, яка спеціально не оброблялася, замерзає і спермії гинуть.

Якщо термос перевозять при температурі нижчій за -5° , його необхідно захищати від охолодження ватним або повстяним чохлам. Поверх льоду кладуть кружок з поліетиленової плівки і тонкий (0,5 см) шар сірої (або білої) вати. Плівка захищає вату від намокання. Вата потрібна для того, щоб сповільнити охолодження сперми. Проте шар вати не повинен бути надто товстим, щоб сперма охолоджувалася не занадто повільно

Є кілька моделей термосів з ізоляцією з полімерних матеріалів — пінопласту або поролону. Всередині пінопластового футляра є круглий алюмінієвий бачок для льоду. Ці термоси підготовляються так само, як харчові.

Досить часто використовуються термоси конструкції Всесоюзного науково-дослідного інституту конярства. Такі термоси, а також виготовлені на їх зразок, але більших розмірів, використовуються на деяких станціях для перевезення сперми бугаїв на пункти штучного осіменіння. Термос складається з внутрішнього бачка, виготовленого з цинкової жерсті, і двостінного фанерного футляра з теплоізоляційним шаром (повсть або шерстяні відходи) між стінками. У бачку є два круглі отвори для завантаження колотого льоду і циліндрична камера (гніздо) для посудин зі спермою. В нього вміщують круглі металеві коробки, в яких стоять флакони зі спермою. Коробки ставлять одна на одну і з'єднують металевими прутами, на зразок судків для перенесення їжі.

Перед взяттям сперми від плідників, готують відповідні розріджувачі, а також етикетки для флаконів із зазначенням клички і номера плідника і дати взяття сперми. Одночасно підготовляють термоси.

Взяту від плідника сперму негайно оцінюють за густотою й активністю спермійів, визначають концентрацію останніх. Оцінку сперми треба робити не більш як за 5 хв: у нерозведеній спермі (особливо у спермі барана) швидко нагромаджується молочна кислота, яка згубно діє й а спермійів.

До зберігання допускається тільки високоякісна сперма з оцінкою не нижчою за Г-8 для барана і не нижчою за С-8 для бугая. У спермі жеребця концентрація спермійів повинна бути не нижча за 150 млн. в 1 мл і рухливість їх не нижча за 6 балів.

Сперму жеребця перед оцінкою проціджують крізь стерильну марлеву серветку у чисту теплу (30—35°) скляну посудину, щоб відокремити тягучі секрети додаткових статевих залоз.

Відразу ж після оцінки сперму розводять одним з жовткових розріджувачів, виготовлених за правилами .

Якщо на станції застосовують способи оцінки, які потребують більш тривалих затрат часу (підрахунок спермійів, визначення резистентності та ін.), то рекомендується негайно після оцінки провести попереднє розведення сперми у відношенні: для сперми бугая 1 : 5, для барана і жеребця 1 : 1—2. Після закінчення оцінки сперму (якщо це потрібно) вдруге розводять до необхідного співвідношення.

Після розведення знову оцінюють активність спермійів під мікроскопом. Якщо розріджувач виготовлено правильно, активність не повинна знижуватися.

Розведену сперму розливають за допомогою піпетки, бюретки або спеціального дозатора по чистих, сухих і заздалегідь простерилізованих при температурі 160° флаконах, ампулах або баночках. Для сперми бугаїв звичайно застосовують пеніцилінові флакони, для сперми барана — інсулінові флакони або скляні ампули місткістю 2—5 мл. Сперму, призначену для перевезення, наливають у флакони до самої пробки, щоб уникнути збівтування, яке несприятливо впливає на., спермійів. Флакони щільно закривають спеціальними пробками з «харчової» неотруйної гуми, простерилізованими заздалегідь в окропи. Під гумові пробки слід підкладати. кусочки парафінованого паперу, оскільки тривале стикання сперми навіть з «харчовою» гумою шкідливо позначається на сперміях. Пробки з чорної гуми, яка містить отруйні для спермійів сірчасті сполуки, застосовувати не можна. Пробку закріплюють гумовим кільцем.

Добрим способом розфасування сперми бугая є розливання її по поліетиленових ампулах місткістю 1,5 мл. У кожній ампулі міститься доза сперми, достатня для осіменіння однієї корови. Для заповнення спермою ампулу стискають двома пальцями і опускають шийку ампули у посудину з розведеною спермою. Потім розтискають пальці і сперма всмоктується в ампулу. Отвір ампули запаюють, прикладаючи шийку ампули до гарячого (200—300°) предмета (електричного утюга, паяльника). Запаювання слід робити швидко, не допускаючи нагрівання сперми в ампулі. Сперму барана можна розфасовувати у скляні ампули місткістю 2—5 мл. Після заповнення ампул спермою (що зручніше робити за допомогою спеціального апарата або піпетки з відтягнутим кінцем) кінці їх запаюють на полум'ї газового пальника (який не коптить) або апарата, застосовуваного при виготовленні штучних металевих зубів, що має спеціальний компресор для подачі повітря під

тиском.

При запаюванні слід взяти заходів проти нагрівання сперми в ампулі. Для цього, тримаючи ампулу пальцями, вводять її відтягнутий кінець у полум'я пальника і, обертаючи ампулу, щоб скло рівномірно нагрівалося, захоплюють пінцетом вільну частину відтягнутого кінця (над полум'ям) і заплавляють частину ампули, що знаходиться у полум'ї. Усе це потрібно робити якнайшвидше.

На ампулах пишуть тушшю кличку або номер плідника і дату взяття сперми. Можна застосовувати для цього маркувальну машину, якщо така є на станції.

Перевага ампульного способу розфасовки сперми полягає в тому, що виключено потрапляння в неї мікробів із зовнішнього середовища, оскільки ампулу розкривають тільки перед самим введенням сперми самкам. Проте спосіб цей має і великі недоліки — складність і велику трудомісткість.

Сперму жеребця зберігають у простерилізованих скляних банках місткістю 100 мл з притертими пробками або у спеціальних скляних ампулах місткістю 30 мл, які закриваються корковими пробками з гумовим ковпачком. Банки або ампули зі спермою кладуть у двошаровий марлевий мішечок (без ватної прокладки), опускають у середнє гніздо термоса і закривають кришку останнього.

Підготовлені флакони, баночки або ампули зі спермою витримують при кімнатній температурі (18—25°) протягом 20—30 хв від моменту розведення сперми. За цей час сперма (що була розведена теплим розріджувачем) охолоджується до кімнатної температури. Крім того, витримка потрібна для того, щоб повністю проявилися захисні властивості жовтка.

Потім флакони і пробірки ставлять на шар вати в термосі. Через 3—4 год. вату і поліетиленову плівку прибирають і зберігають сперму прямо на льоду. Ампули укладають у круглі пластмасові коробки з кришками і ставлять прямо на лід. Теплоізолюючим шаром у цьому разі є пластмаса.

Якщо флакони зі спермою призначені для перевезення, то їх ставлять, у металеві піддони (судки) й опускають піддони один за одним у центральне гніздо термоса типу ВНДІК. Зниження температури в цьому разі сповільнюється завдяки тому, що охолоджується великий об'єм сперми (в термос опускають відразу кілька десятків флаконів).

В міру танення льоду в термосі слід зливати талу воду і додавати лід. Сперму зберігають при постійній температурі; відхилення від неї в той чи інший бік несприятливо позначаються на переживаності спермійв.

Додавати лід у харчовий термос слід до половини його місткості, щоб над флаконами залишався шар повітря, який є теплоізолятором. Якщо флакони стоятимуть занадто близько до пробки термоса, можливе небажане підвищення температури сперми.

При перевірці активності сперміїв, а також при відборі, частини сперми з флакона для введення самкам виймають флакон з термоса на дуже короткий час, тримають його за шийку, щоб не допустити нагрівання сперми, і якнайшвидше опускають назад у термос.

Перед взяттям сперми з флакона треба перемішати його вміст, оскільки спермії при зберіганні осідають на дно посудини. Рекомендується не набирати сперму, опускаючи у флакон катетер шприца або піпетку, а відливати, потрібний об'єм сперми в чисту градуйовану пробірку і вже з неї набирати у шприц.

Перед використанням збережену сперму обов'язково досліджують під мікроскопом при температурі 38—40° (в термостаті) або на нагрівальному столику Морозова.

Для осіменіння самок допускається збережена сперма бугая і барана з активністю сперміїв не нижчою за 7, жеребця — не нижчою за 5 балів.

При температурі 2—4° в жовтковому розріджувачі запліднювальна здатність сперміїв бугая зберігається на досить високому рівні протягом 2—3 (а іноді до 4) діб, сперміїв барана — протягом 24 (іноді до 36) год., сперміїв жеребця — протягом 2 діб.

Зберігання сперми бугая, барана і жеребця в молочно-жовтковому розріджувачі провадиться за тими ж правилами, що й при розведенні глюкозо-цитратно-жовтковим середовищем.

2.Зберігання сперми бугая в сульфатному середовищі НСС при температурах 10—18°.

Метод ґрунтується на гальмуванні обмінних процесів у спермі під дією лимонної кислоти і призначений, головним чином, для жарких південних районів нашої країни, де утруднено застосування льоду. Сперму розводять у відношенні 1 : 10—30 (зважаючи на якість сперми), розфасовують у флакони, пробірки або ампули, щільно закупорюють гумовими пробками, поліетиленові ампули запаюють за допомогою гарячого утюга (200—300°), а скляні — на полум'ї газового пальника.

Після витримки протягом 15—30 хв при кімнатній температурі флакони і ампули зберігають у прохолодному приміщенні, у холодильнику або у

харчовому термосі, який наполовину заповнений льодом. На поверхні льоду кладуть шар сірої вати 3—4 см завтовшки, а на вату ставлять флакони чи ампули. В холодну пору року сперму зберігають у термосах без льоду; теплоізоляція термоса охороняє сперму від надмірного охолодження.

Перед використанням сперми флакони і ампули кілька разів обережно перевертають, щоб спермії рівномірно розподілилися у рідині.

3. Зберігання сперми кнура в розріджувачах, що містять хелатон

Хелатон (двонатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти, або трилон Б) має здатність тимчасово зв'язувати іони металів і гальмувати активність ферментів, що входять до складу сперми, завдяки чому припиняється рух сперміїв і захищаються від руйнування акросоми й оболонки останніх. Цьому сприяють й інші компоненти середовища. Перебуваючи у стані глибокого анабіозу, спермії зберігають, за даними М. Т. Плішка, запліднювальну здатність протягом 2—3 діб, а в окремих випадках — 5—6 днів.

Перед взяттям сперми старанно стерилізують посудини для сперми і розріджувачів. Скляні колби закривають паперовими ковпачками і стерилізують у сушильній шафі при температурі 130—180° протягом 1,5—2 год. Поліетиленові флакони знезаражують в автоклаві в дистильованій воді протягом 20—25 хв.

Для приготування розріджувача в хімічну колбу наливають потрібний об'єм дистильованої води, всипають наважки реактивів, закривають паперовим ковпачком і кип'ятять 1—2 хв. Після охолодження розчину до 40—45° додають спермосан з розрахунку 250—300 тис. ОД на 1000 мл дистильованої води, а також жовток (якщо готують розріджувач з жовтком).



Мал. 51. Флакони зі спермою, підготовлені для перевезення.

Виготовлення розріджувача і розведення сперми треба провадити в стерильних умовах в настільній бактерицидній камері УНБК-1 або в лабораторії, яку заздалегідь опромінюють бактерицидними лампами.

Взяту від кнура сперму фільтрують через два-три шари марлі, визначають активність та концентрацію спермійів і витримують при температурі 18—20° у темному місці 1—2 год; густу сперму з концентрацією спермійів понад 300 млн. витримують 20—30 хв. Потім приливають середовище до сперми невеликими порціями, старанно помішуючи. Температура середовища і сперми повинна бути однаковою. Розріджувачами ГХЦ і ГХЦС розводять сперму, залежно від концентрації й активності спермійів, у відношенні від 1:1 до 1:5 і зберігають при температурі 16-20°.

Розріджувачі ГХЦЖ і ГХЦСЖ використовують для зберігання сперми при температурі 6—10°. Ступені розведення такі ж самі.

Сперму, розведену середовищем з жовтком, охолоджують поступово за таким режимом: від початкової температури до 18° із швидкістю 4—6 градусів за годину, від 18° до 6—10° із швидкістю 2 градуси за годину. Практично сперму охолоджують у харчовому термосі. На його дно кладуть колотий лід (приблизно 1/4 об'єму термоса), поверх льоду — поліетиленову плівку, а на неї — шар сірої вати 1 — 1,5 см завтовшки. На вату ставлять посудину з розведеною спермою і закривають термос пробкою та кришкою.

Колби або флакони зі спермою закривають (не герметично) целофаном або пергаментним папером і зберігають у темному місці при відповідній температурі. Рівень сперми в посудині повинен бути не нижчий за третину і

не вищий за дві третини висоти посудини. Під час зберігання сперму один - два рази на добу обережно перемішують для збагачення на кисень. Первозять збережену сперму в термосах при температурі 16—20° або 6—10° (відповідно до застосованого варіанту середовища). На час перевезення целофанові ковпачки закріплюють гумовими кільцями, які слід зняти після доставки сперми на місце призначення (щоб забезпечити доступ кисню до сперми).

Оскільки спермії в хелатоновому середовищі перебувають у стані глибокого анабіозу, активність їх оцінюють за особливими правилами у підлугованому глюкозо-сольовому розчині. Для осіменіння дозволяється використовувати

Питання для самоконтролю:

1. Назвіть посудину для зберігання сперми і опишіть її.
2. Назвіть конструкції термосів для короткочасного зберігання сперми.
3. Опишіть послідовність заповнення термоса та складові які розміщують в термос, для зберігання сперми.
4. Опишіть підготовку сперми до короткочасного зберігання.
5. Назвіть ємкості в які розфасовується сперма плідників різних видів тварин.
6. Поясніть термін – хелато, та його дію в розріджувачах для сперми кнура.
7. Поясніть зберігання сперми кнура в сульфатному середовищі.

Лекція №8

Кріоконсервація сперми

План лекції

1. Глибоке охолодження сперми.
2. Техніка довгочасного зберігання сперми бугая в рідкому азоті
3. Заморожування сперми бугая у формі гранул.

1. Глибоке охолодження сперми

Строки зберігання сперми при температурах від нульової до кімнатної дуже обмежені. Проте їхня запліднювальна здатність уже через 3, рідше через 4—5 днів різко спадає. При плюсових температурах обмінні процеси в спермі хоча й сповільнюються, але не припиняються. Продовжується нагромадження шкідливих продуктів розпаду і починається процес руйнування сперміїв, в першу чергу руйнування передньої частини головки сперміїв — акросоми, яка відіграє важливу роль при заплідненні яйцеклітини.

Теоретичні міркування доказують, що подовжити строки зберігання сперми можна способом дальшого зниження температури, зберігання. Проте вже при температурі — 0,6° сперма починає замерзати і спермії гинуть.

Основна причина загибелі клітин — кристалічне замерзання води. Лід спочатку утворюється в рідкій, фазі сперми — плазмі. Внаслідок вимерзання води в плазмі утворюються концентровані розчини цукрів і солей, які згубно діють на сперміїв. При дальшому зниженні температури кристали льоду утворюються і в протоплазмі сперміїв, викликаючи пошкодження її тонкої структури. На початкових стадіях охолодження причиною загибелі сперміїв може бути і холодовий удар.

Щоб уникнути таких явищ, застосовують спеціальні способи обробки і охолодження сперми. Перед заморожуванням її розводять середовищами, які містять жовток курячого яйця і гліцерин, а також деякі цукри (найчастіше лактозу). Жовток, крім того що він значно зменшує небезпеку холодового удару, є, очевидно, своєрідним «осмотичним буфером» і захищає сперміїв від шкідливої дії концентрованих розчинів, які утворюються в плазмі сперми при її замерзанні.

При введенні гліцерину знижується точка замерзання сперми, і вона стає здатною до досить глибокого переохолодження. Це стосується не тільки рідкої фази (плазми) сперми, а й протоплазми сперміїв, оскільки гліцерин швидко проникає крізь оболонку клітин.

При певних умовах дія гліцерину на спермії може бути несприятливою. Якщо швидко розвести сперму сольовим розчином з добавкою гліцерину (понад 5%), то спермії гинуть або пошкоджуються: відбувається перегин спермія в точці з'єднання тіла з хвостом, спермії ніби складається удвоє, але продовжує рухатися з відігнутою назад головкою. Така характерна деформація спостерігається тільки у сперміїв, які рухаються. Тому сперму розводять гліцеринізованими середовищами після попереднього охолодження і витримки при температурі 2—5° протягом 3—6 год. При зниженій температурі рух сперміїв припиняється і шкідлива дія гліцерину значно зменшується.

Можна також додавати гліцеринізоване середовище поступово, невеликими порціями. У всіх випадках середовище і сперма повинні мати однакову температуру.

Дуже велике значення має режим охолодження сперми при її заморожуванні. Тепер застосовують два режими заморожування: 1) швидке заморожування малих об'ємів сперми у вигляді гранул або в поліетиленових чи полістиролових трубочках - капілярах та 2) більш повільне заморожування в поліетиленових чи скляних ампулах.

Теоретичною основою методу швидкого заморожування сперми є гіпотеза про можливість склоподібного некристалічного затвердіння (вітрифікації) біологічних об'єктів, у тому числі і сперми.

Щоб зрозуміти, як можна досягти вітрифікації клітин, треба пригадати, як відбувається процес кристалізації води при замерзанні. В охолоджуваній воді утворюються зародкові центри кристалізації — скупчення молекул з малою кінетичною енергією (або які-небудь сторонні включення, наприклад дрібні пухирці повітря). В'язкість води, яка зростає із зниженням температури, а також уповільнення теплового руху молекул спочатку полегшують утворення таких центрів і зростання утворених кристалів, але потім починають перешкоджати переміщенню молекул у рідині, що необхідне для утворення «кристалічної решітки». Тому при дальшому зниженні температури швидкість кристалізаційних процесів зменшується і, нарешті, падає майже до нуля.

Нижня межа температурного інтервалу, у якому інтенсивно відбувається кристалізація, досі точно не визначена. При заморожуванні сперми вона лежить, мабуть, між —40° і —50°.

Якщо сперму охолоджувати повільно, то вся вода, яка міститься в ній, встигне закристалізуватися, і спермії загинуть. Але при швидкому охолодженні вдається «проскочити» небезпечну температурну зону кристалізації і досягти зони вітрифікації, де протоплазма сперміїв застигає як єдине ціле, без вимерзання води, і без утворення льоду; при цьому зберігається тонка структура протоплазми і ядра.

Високі швидкості охолодження досягаються лише при певних умовах. По-перше, треба охолоджувати дуже маленькі об'єми сперми (0,1—0,5 мл); при заморожуванні великих об'ємів охолодження уповільнюється і в спермі вся вода перетворюється на кристалічний лід.

По-друге, необхідні охолоджувачі з досить низькою температурою. Звичайно використовують рідкий азот, який має температуру кипіння — 196°. Рідкий кисень (температура кипіння — 183°) вогнебезпечний і тому для зберігання сперми не застосовується. Твердий двоокис вуглецю (сухий лід) останнім часом перестали застосовувати через відносно високу температуру його випаровування (—78°); ця температура лежить недалеко від нижньої межі зони кристалічного замерзання.

Склоподібний стан нестійкий. За певних умов, зокрема внаслідок підвищення температури, у вітрифікованій спермі може початися утворення кристалів (девітрифікація). Щоб запобігти цьому, сперму треба зберігати при достатньо низьких температурах (нижче —100°), не допускаючи навіть короткочасного нагріву. Розморожувати сперму треба з максимальною швидкістю. У цьому випадку при проходженні через небезпечну температурну зону кристали льоду не встигнуть утворитись, і сперма безпосередньо із склоподібного стану перейде в рідкий.

Слід зазначити, що деякі вчені мають сумнів щодо можливості вітрифікації сперми і вважають, що внаслідок швидкого охолодження відбувається не вітрифікація, а дрібнокристалічне замерзання води, менш шкідливе для спермій, ніж утворення великих кристалів льоду при повільному заморожуванні. Це питання остаточно не вирішено, але, в усякому разі, всі визнають доцільність швидкого заморожування та розморожування сперми.

Ще у 1949 р. І.В.Смирнов вперше висловив гіпотезу про можливість одночасного (або, вірніше, майже одночасного) перебігу процесів кристалізації та вітрифікації при заморожуванні сперми. У цьому розумінні процес кристалізації у плазмі сперми розглядається як позитивне явище, яке сприяє вітрифікації самих спермій.

Згідно з цією гіпотезою, при не занадто швидкому (але й не занадто повільному) охолодженні сперми починається кристалізація так званої вільної води у рідкій фазі (плазмі) сперми. Поміж кристалами льоду утворюється концентрований розчин цукрів і солей, під дією якого з клітин витягується вільна вода, слабо зв'язана з білками та іншими колоїдами протоплазми. Спермії при цьому не гинуть, оскільки за низьких температур вони менш чутливі до гіпертонічних розчинів, ніж за плюсових. Втрата вільної води зменшує можливість утворення кристалів усередині клітин і сприяє вітрифікації протоплазми.

З наведеного випливає, що сперму, яка зберігається в рідкому азоті, слід оберігати від підвищення температури. Для цього необхідно своєчасно доливати рідкий азот у посудину, де зберігається сперма, і якнайрідше витягати з них мішечки або каністри

зі спермою: при кожному такому взятті температура сперми може підвищитись.

Усі існуючі методи глибокого заморожування сперми передбачають попереднє повільне охолодження (протягом 3—4 год) від кімнатної температури до 2—4° та витримування при цій температурі протягом деякого часу (так звана а д а п т а ц і я сперміїв). Значення адаптації полягає в тому, що спермії при температурі близько 0° переходять у стан неповного анабіозу і легше переносять осмотичні зміни в процесі заморожування, ніж у тому випадку, коли обмінні процеси відбуваються на високому рівні. Крім того, внаслідок охолодження сперми, від нульової температури, скорочується час перебування сперми у рідкому стані, а отже, зменшується небезпека холодового удару, який спостерігається тільки в рідкій спермі.

До останнього часу в літературі часто застосовували термін «еквілібрація», розуміючи повільне проникнення гліцерину всередину сперміїв. Оскільки тепер встановлено, що гліцерин проникає у клітини досить швидко, від цього терміну, мабуть, треба відмовитись.

Незважаючи на те, що для зберігання сперми у рідкому азоті потрібне складне і дороге обладнання, цей метод з кожним роком дедалі ширше застосовується. Це пояснюється великими перевагами заморожування сперми порівняно з іншими способами її зберігання. При температурі рідкого азоту обмінні процеси в спермі уповільнюються у мільйони разів (а, можливо, і зовсім припиняються), завдяки чому не відбуваються ті необоротні зміни, які у звичайних умовах призводять до загибелі сперміїв. Перебуваючи у стані глибокого анабіозу, спермії можуть зберігати свої біологічні властивості, у тому числі здатність запліднювати яйцеклітини і передавати генетичну інформацію протягом багатьох років і навіть десятиріч (звичайно, в разі суворого додержання правил зберігання). У зв'язку з цим уже тепер організовуються спеціальні спермосховища (спермотеки) для зберігання зразків сперми від найвидатніших плідників. Ці зразки можуть бути використані через багато років після смерті плідників, що великою мірою розширить можливості племінної роботи.

І, нарешті, тривале зберігання сперми в рідкому азоті відкриває широкі перспективи для впровадження на всіх фермах (у тому числі і на неплемінних) найдосконаліших методів племінної роботи, зокрема індивідуального добору батьківських пар.

Тепер досить досконало розроблено техніку заморожування сперми бугаїв і ведуться успішні досліді із заморожування сперми жеребців, баранів і кнурів.

В розробці методів тривалого зберігання сперми важливу роль відіграли досліді радянських учених. Потомство від самок (кролиць, овець та корів), осіменених спермою, яка зберігалася в умовах глибокого охолодження протягом тривалого часу, було вперше у світі одержано в СРСР (І.В. Смирнов, 1948—1951).

Метод швидкого заморожування сперми бугая у формі гранул існує в двох варіантах: 1) заморожування на полімерних пластинах у парі рідкого азоту і 2) заморожування на блоках сухого льоду (твердого двоокису вуглецю). Перед взяттям сперми від бугая треба підготувати холодильник або термос з льодом для її попереднього охолодження та посудини з рідким азотом, простерилізувати посуд і обладнання, а також приміщення, де провадитиметься заморожування (бактерицидними лампами). Потім готують спеціальний розріджувач з гліцерином і жовтком курячого яйця. Найчастіше застосовують середовища такого складу:

Середовище № 1	Вода дистильована	100 мл
	Лактоза	11,5 г
	Жовток	20 мл
	Гліцерин	5 мл
	Пеніцилін	75—100 тис. ОД
	Стрептоміцин	75—100 тис. ОД
Середовище № 2	11% розчин лактози	63 мл
	Жовток	30 мл
	Гліцерин	7 мл

Для приготування 11% розчину лактози розчиняють 11 г останньої в 100 мл дистильованої води. До 100 мл готового середовища (з жовтком і гліцерином) додають 0,1 г стрептоміцину.

Середовище № 1 звичайно застосовують при заморожуванні сперми на фторопластовій пластині, середовище № 2— при заморожуванні на блоці сухого льоду.

Оцінивши взятую від плідника сперму за густиною, активністю і концентрацією сперміїв, її розводять у відношенні від 1 : 1 до 1 : 3 (в залежності від якості). В одній гранулі розведеної сперми (0,1—0,2 мл) після її заморожування та відтавання повинно бути не менш як 20—25 мл активних сперміїв.

Заздалегідь відміряну дозу середовища, яке містить гліцерин, підливають до сперми поступово, невеликими порціями по стінці флакона і обережно похитуючи флакон для перемішування сперми з розріджувачем. Поступове розведення триває 2—5 хв. При швидкому розведенні гліцерин викликає деформацію сперміїв, про яку йшлося вище.

Закриті пробками флакони з розведеною спермою кладуть на полицю електричного холодильника або в харчовий термос, наполовину заповнений льодом, і охолоджують до температури 2—4° із швидкістю до 1 градуса за хвилину. Для цього флакони ставлять не прямо на лід, а кладуть поверх нього шар вати 1—2 см завтовшки, а при охолодженні в холодильнику ставлять флакони в плоску кювету з

водою, яка має температуру 30°.

Сперму витримують при температурі 2—4° протягом 4—6 год, після чого заморожують в охолоджену стані не допускаючи нагріву.

Заморожування, сперми на фторопластовій пластині. Пластина під час заморожування повинна мати температуру — 80—90° Для охолодження її витримують у парі рідкого азоту протягом 10 хв. Якщо є широкогорла посудина Дьюара (наприклад, «Харьков-37»), то пластину підвішують всередині її на відстані 6 см від поверхні рідкого азоту. Якщо такої посудини немає, наливають рідкий азот у ванну (металеву емальовану кювету) з теплоізоляцією з пінопласту не менш як 10 см завтовшки. Фторопластову пластину занурюють у рідкий азот на 1 хв, а потім витягають і поміщають на відстані 2—3 см від поверхні азоту.

Пластмасовий шприц з приєднаною до нього голкою для взяття крові (або поліетиленову крапельницю) заздалегідь стерилізують і охолоджують у холодильнику до температури 2—4°. Після охолодження фторопластової пластини у парі рідкого азоту набирають у холодний шприц (намагаючись не нагрівати його) охолоджену сперму і швидко накрапають у маленькі лунки, що є на поверхні пластини, по 2—4 краплі у кожен лунку. Сперма швидко замерзає у формі маленьких кульок (гранул). Об'єм кожної гранули дорівнює 0,1—0,2 мл. Гранули витримують на пластині протягом 5—6 хв, занурюють пластину з гранулами на 5—10 сек. у рідкий азот, витягають з нього і зчищають гранули охолодженою у рідкому азоті лопаточкою з органічного скла в кювету або кухоль з рідким азотом.



Мал. 60. Гранулювання сперми на фторопластовій пластині.

Заморозивши еякулят одного бугая, зсипають гранули з кювети чи кухля в пластмасові чашечки або у марлеві мішечки, які заздалегідь охолоджують у рідкому азоті. Прикріпивши бірки з кличкою бугая і датою заморожування сперми, чашечки

та мішечки опускають у стаціонарне сховище або в посудину Дьюара («Харків-30» чи іншого типу), заповнену рідким азотом.

На всіх етапах заморожування не можна допускати хоча б короткочасного нагріву гранул, чашечок або мішечків.

Для перевірки активності сперміїв після заморожування і перед використанням сперми для осіменіння корів сперму відтають у теплому 2,9—3% розчині цитрату натрію. Один мілілітр розчину відмірюють стерильною піпеткою в стерильний пеніциліновий флакон, закривають пробкою і ставлять у термостат або на водяну баню (стежачи, щоб вода не потрапила всередину флакона) при температурі 40°. Охолодженим до температури рідкого азоту довгим анатомічним пінцетом витягують з чашечки або мішечка гранулу сперми і якнайшвидше опускають у нагрітий розчин. Пінцет слід тримати рукою у шкіряній рукавичці, щоб уникнути опіків. Для прискорення відтавання гранул злегка похитують флакон. Відразу ж після розтавання гранул флакон витягують з теплої води.

Досліди І.В. Смирнова та О.Е. Бруєнко показали, що при підвищенні температури розчину до 60° і навіть 80° активність сперміїв після розморожування, значно підвищується. Але при таких температурах необхідно вживати заходи проти перегріву сперміїв.

3% розчин цитрату натрію готують на станціях штучного осіменіння в стерильних умовах, розфасовують по флаконах чи ампулах і відсилають на пункти.

Активність сперміїв після розморожування визначають у термостаті при температурі 38—40°. Для осіменіння корів і телиць допускається сперма з активністю не нижчою як 4 бали. Численні досліди та практика роботи станцій показали, що така активність забезпечує досить високу запліднюваність корів. Цілком ймовірно, що в процесі заморожування і відтавання гинуть найслабкіші спермії і залишаються живими найбільш життєздатні.

Щоб не допустити плутанини, кожна чашечка чи мішечок повинні мати бірку з написом, який не змивається. Стаціонарне сховище повинно мати план розміщення сперм різних плідників, щоб можна було швидко знайти потрібну посудину.

Заморожування сперми на блоках сухого льоду провадиться майже за такими ж правилами, що й заморожування на фторопластових пластинах. Різниця полягає в тому, що сперму накрапають у лунки, видавлені на поверхні сухого льоду за допомогою гарячої праски з виступами. Застосування сухого льоду обходиться досить дорого. Але воно має ту перевагу, що гранули не прилипають до сухого льоду, як це відбувається на фторопластових пластинах внаслідок електризації їх.

При заморожуванні сперми не слід дихати на фторопластову пластину чи поверхню сухого льоду, оскільки водяна пара осідає у вигляді снігу, що утруднює

заморожування і погіршує його результати. Треба працювати у марлевій масці. Наліт снігу час від часу зчищають або здувають за допомогою гумового балону.

Заморожування сперми у вигляді облицьованих гранул. Сперму після взяття та оцінки розводять середовищем, до складу якого входять: вода дистильована—100 мл, лактоза — 6 г, глікокол — 0,2 г, цитрат натрію тризаміщений 5-водний— 1,7 г, жовток — 20 мл, гліцерин — 5 мл, тетрациклін солянокислий — 5 тис. ОД. В одній дозі (0,2 мл) розведеної сперми повинно міститися не менш як 50 млн. активних спермійв.

Витримавши сперму при температурі 2—4° протягом 4—6 год, нею заповнюють тонкостінну поліетиленову трубку, яку потім пропускають через спеціальний апарат. Цей апарат розрізує трубку на окремі маленькі (по 0,2 мл сперми) частини і одночасно герметизує кожну облицьовану гранулу. Гранули заморожують у парі рідкого азоту, для чого витримують їх на відстані 3—5 см від поверхні азоту протягом 3—4 хв.

Для відтаювання гранули занурюють у теплу (38— 40°) воду.

Лекція № 9

Заморожування сперми в соломинках

1.Заморожування сперми в трубочках з полімерних матеріалів (капілярах, пайєтах, «соломинках»).

Цей спосіб з кожним роком набуває дедалі більшого поширення. У Франції, наприклад, він став основним способом зберігання сперми. Сперма в трубочках захищена від бактеріального забруднення.

Не потрібне додаткове розведення сперми після відтаювання. І, нарешті, ці ж самі трубочки застосовуються не тільки для зберігання сперми, а й для осіменіння корів.

Трубочки виготовляють з різних матеріалів — ацетилцелюлози, поліетилену, поліпропілену, полістиролу. Варіюють і розміри трубочок: довжина від 10 до 14 см, внутрішній діаметр від 1,8 до 2,2 мм, місткість від 0,2 до 0,5 мл. В останній час застосовують переважно тонкостінні трубочки (0,18 — 0,19 мм), в яких охолодження сперми відбувається швидше.

Перед взяттям сперми від плідників підготовлюють холодильник, матеріали та устаткування для оцінки і розведення сперми. Знезаражують приміщення промінням бактерицидних ламп.

Заморожування сперми в товстостінних капілярах. Після оцінки розводять сперму лактозо-жовтково-гліцеринним середовищем № 1 з таким розрахунком, щоб після заморожування і відтаювання в дозі розведеної сперми, призначеної для осіменіння однієї корови (0,4 мл), було не менш ніж 30 млн. активних спермій. Для цього в 1 мл розведеної сперми до заморожування повинно бути близько 200 млн. активних спермій. Розрахунки можна вести за формулою

$$D = \frac{C \cdot a}{1,5}$$

де D — допустимий ступінь розведення сперми, при якому в 0,4 мл міститься 30 млн. активних спермій;

C — концентрація спермій у нерозведеній спермі, виражена у мільярдах на 1 мл;

a — активність спермій перед розведенням (за 10-бальною шкалою).

При виведенні формули врахована можлива загибель 50% спермій у процесах заморожування та відтаювання.

Приклад: концентрація сперміїв у свіжовзятій спермі дорівнює 1 млрд./мл, активність — 9 балів.

$$D = 1 \cdot 9/1,5 = 6,$$

тобто сперму можна розвести у 6 разів, або у відношенні 1 : 5.

Відразу ж після розведення сперму розфасовують вакуумним способом по товстостінних (1,5 мм) полістиролових піпетках (капілярах) 14 см завдовжки і з внутрішнім діаметром 2 мм. У кожний капіляр вміщується 0,4 мл сперми. Один кінець капіляра запаятий. На капілярах попередньо позначають номер плідника і дату заморожування сперми за допомогою спеціальної маркувальної машини.

Для розфасовки пачку капілярів (100—300 штук) ставлять відкритими кінцями вниз у скляну плоскодонну чашку з розведеною спермою і вміщують під ковпак спеціального повітряного насоса (анаеростату). Відкачуючи повітря, створюють під ковпаком вакуум (близько 1 мм ртутного стовпа). Потім впускають в анаеростат повітря, яке нагнітає сперму в капіляри. Капіляри зі спермою вміщують у металеву корзинку і повільно охолоджують до 2—4° протягом 5—6 год.

Потім корзинку з капілярами опускають у сховище з рідким азотом до самої поверхні останнього. Стикання дна корзинки з рідким азотом викликає його кипіння, і капіляри охоплюються течією холодного газу. При температурі— 80—100° заморожування триває 3 хв. Після цього капіляри пересипають за допомогою широкогорлої лійки у марлеві мішечки або пластмасові стаканчики й опускають у посудину Дьюара з рідким азотом для зберігання. Лійку, стаканчики і мішечки попередньо охолоджують у рідкому азоті, щоб не допустити нагріву капілярів із замороженою спермою. Капіляри при зберіганні повинні бути у вертикальному положенні.

Перед використанням сперму відтають при температурі 38—40°, вміщуючи капіляри у стерильні поліетиленові конверти й опускаючи конверти у теплу воду. При осіменінні відкритий кінець капіляра приєднують за допомогою спеціальної муфти до полістиролової піпетки з шприцом, проколюють запайку капіляра стерильною голкою і вводять сперму в шийку матки.

Заморожування сперми в тонкостінних «соломинках» широко практикується у Франції. В Україні застосовується два модернізовані способи: один запропонований Литовським науково-дослідним інститутом тваринництва, а другий—Башкирським науково-дослідним інститутом сільського господарства.

Технологія обробки сперми подібна до обробки при заморожуванні у товстостінних капілярах, але «соломинки» заповнюють спермою в удосконаленому анаеростаті. Під ковпаком анаеростату спочатку висмоктують повітря з соломинок, а потім вже заповнюють їх спермою за допомогою спеціального пристрою. Обидва кінці соломинок закупорюють спеціальною пастою чи парафіном. Соломинки із спермою заморожують у

парі рідкого азоту, причому вони лежать у горизонтальному положенні на спеціальних рамках. Завдяки цьому заморожування сперми відбувається рівномірно у всіх частинах соломинки.

Відтаюють сперму в соломинках у теплій воді (38 ~ 40°) без поліетиленових конвертів.

2. Заморожування сперми в поліетиленових ампулах

Заморожування сперми в поліетиленових ампулах відбувається більш повільно, ніж у гранулах чи капілярах.

Перед взяттям сперми від бугаїв готують два розріджувачі такого складу:

Середовище № 1	Вода дистильована	100 мл
	Глюкоза безводна медична	3 г
	Цитрат натрію тризаміщений 5-водний	1,4 г
	Жовток курячого яйця	15—20 мл
	Тетрациклін солянокислий	7,5 тис. ОД
Середовище № 2	Вода дистильована	100 мл
	Глюкоза безводна медична	5 г
	Цитрат натрію тризаміщений 5-водний	2,4 г
	Жовток	15 мл
	Гліцерин	18,4 мл

Середовища готують в такому порядку: кип'ятять потрібний об'єм дистильованої води протягом 20 хв, знімають колбу з нагрівача і насипають в неї наважки глюкози та цитрату натрію, доводять об'єм до 100 мл стерильною дистильованою водою. Після охолодження розчинів до 35—40° додають в середовище № 1 тетрациклін і жовток, а в середовище № 2 — гліцерин і жовток.

Не пізніше як через 10 хв після взяття сперму розводять теплим (30—35°) середовищем № 1 з розрахунком, щоб в 1 мл розведеної сперми містилося 100 мл активних спермійв.

Баночки або флакони з розведеною спермою закривають стерильними пробками і ставлять у холодильник для поступового (з швидкістю 0,5 градуса за хвилину) охолодження до температури 2—4°. Щоб уповільнити охолодження, обкутують кожний флакон ватою. Сперму витримують при зазначеній температурі протягом 3 год. У тому ж холодильнику охолоджують до 2—4° середовище № 2 (з гліцерином). Через 4 год після того, як сперма була вміщена в холодильник, під охолоджену сперму обережно підшаровують рівний об'єм (1:1) холодного середовища № 2. Підшаровування провадять повільно (протягом 3—6 хв), опускаючи охолоджену піпетку із середовищем № 2 на дно флакону зі спермою. Потім флакони залишають у холодильнику на 5—6 год для так званої еквілібрації — зрівноважування осмотично активних речовин та гліцерину між

спермою і середовищем.

Після еквілібрації розфасовують сперму в ампули (по 1—1,2 мл у кожену) за допомогою спеціального розфасовувального апарата або вручну. В останньому випадку в стерильну чашку Петрі наливають сперму і опускають в неї шийку ампули, стиснутої між пальцями. Розтискуючи пальці, всмоктують сперму в ампулу. Отвір ампули запаюють гарячою праскою. Усі ці операції здійснюють при температурі 2—5° у спеціальній холодильній камері або у низькотемпературному приладку.

Ампули попередньо маркують спеціальною машиною (або вручну — тушшю), позначаючи номер або кличку бугая і дату взяття сперми. Запаєні ампули кладуть догори дном в заздалегідь охолоджені до температури 2—4° алюмінієві стаканчики (чашечки) від посудини Дьюара «Харків-30» або «Харків-15». На кожному стаканчику підписують кличку і номер плідника, а також дату взяття сперми. Стаканчики вміщують у каністри посудини Дьюара та розпочинають заморожування сперми за допомогою апарата ПЗСС-1.

Апарат ПЗСС-1 складається з посудини Дьюара АСД-15 (зі спеціально порушеним вакуумом, щоб прискорити випаровування рідкого азоту), з'єднаної трубками із звичайною посудиною Дьюара для транспортування та зберігання сперми («Харків-15» або іншого типу). У посудину АСД-15, наповнену рідким азотом, установлюють (майже на дно посудини) мідну трубку з олов'яною пробкою, яка щільно закриває отвір посудини. Трубка з'єднана з ширшою мідною трубкою — випарником; від його вільного кінця відходить третя трубка (охолоджувач), опущена у посудину Дьюара, де містяться каністри зі спермою. Апарат має манометр і спускний кран для вимірювання і регулювання тиску у посудині АСД-15. Іноді до апарата приєднують термопару з гальванометром для вимірювання температури в посудині із спермою.

У посудині АСД-15 під дією тепла, яке надходить із зовнішнього середовища, частина рідкого азоту випаровується. Утворений газ давить на рідкий азот, який по трубці подається у випарник і перетворюється на холодний газ. Цей газ надходить у посудину Дьюара і охолоджує ампули зі спермою. Спочатку охолодження відбувається відносно повільно, але потім, підвищуючи тиск у посудині АСД-15, посилюють подачу холодного газу, внаслідок чого швидкість охолодження збільшується.

До загрузки каністр з ампулами у посудину Дьюара його порожнину охолоджують до температури — 150—180°. Для цього у посудину вливають 2—3 л рідкого азоту, через 1—3 год. виливають рештки азоту, опускають в посудину каністри з ампулами, охолодженими до 2—4°, і відразу ж починають заморожування. Регулюючи тиск у посудині АСД-15 за допомогою манометра та спускного крана, дотримують потрібного режиму охолодження.

В перші 15 хв підтримують тиск у посудинах «Харків-15» та СД-50 на рівні 40—50 мм ртутного стовпа, її наступні 20 хв — 60—70 мм. Для посудин «Харків-30», і АТ-4 відповідний тиск — 30—40 мм і 50—60 мм ртутного стовпа. За таких умов сперма

охолоджується від 0° до -15° із швидкістю 0,6—2,5 градуса за хвилину, від 15° до -51° — 3 — 5 градусів за хвилину і від -51° до 196° —5 і більше градусів за хвилину.

Коли з посудини АСД-15 випаровується увесь азот, тиск падає до нуля і процес заморожування закінчується. Ампули із замороженою спермою зберігають за такими ж правилами, що й гранули.

При перевезенні посудин Дьюара каністри з ампулами підвішують на гачках, а при зберіганні на пунктах — опускають на дно посудини.

Ампулу зі спермою відтаюють у воді з льодом або ж у воді з температурою $38-40^{\circ}$. В останньому випадку через 1—1,5 хв (коли в ампулі залишиться тонкий стерженець нерозталої сперми) ампулу витягають з води і закінчують відтаювання при кімнатній температурі, щоб уникнути зайвого нагріву сперми.

В обох випадках слід швидко переносити ампули з рідкого азоту в воду, оскільки у повітряному середовищі уповільнюється швидкість відтаювання і знижується активність спермій.

3. Техніка довгочасного зберігання сперми бугая в рідкому азоті.

Зберігання сперми в рідкому азоті (-196°) є тепер найдосконалішим методом довгочасного зберігання запліднювальної здатності спермій.

Для зберігання потрібно мати складне обладнання, яке випускається вітчизняною промисловістю. Рідкий азот станціям штучного осіменіння постачають спеціальні заводи.

На станціях штучного осіменіння заморожену сперму зберігають у великих стаціонарних сховищах КВ-6202 або ХСЖА). Такі сховища вміщують 535—580 л рідкого азоту, 12—25 тис. ампул зі спермою або 120—200 тис. гранул. Вага порожнього сховища 525—530 кг. Повне випаровування азоту із сховища КВ-6202 відбувається через 45 діб, зі сховища ХСЖА — через 74 доби.

На колгоспних і радгоспних пунктах штучного осіменіння використовуються спеціальні посудини Дьюара менших розмірів, виготовлені з нержавіючої сталі або з алюмінієвих сплавів. Схема будови всіх посудин однакова. У середині зовнішнього кожуха знаходиться двостінна посудина Дьюара з вакуумно-порошковою або багатошарово-вакуумною теплоізоляцією. В останньому випадку ізоляція складається з кількох шарів алюмінієвої фольги та склопаперу. Теплоізоляція значно уповільнює випаровування рідкого азоту.



Мал. 56. Посудина Дьюара «Харків-30».

Найчастіше застосовують для зберігання замороженої сперми посудини «Харків-30» місткістю 30 л, СД-20 (20 л), СД-50 (52 л), АТ-4 (42 л), АТ-6 (33 л). Для внутрішньогосподарського транспортування сперми (наприклад, при осіменінні корів у літніх таборах) призначена посудина СД-5 на 5 л рідкого азоту.

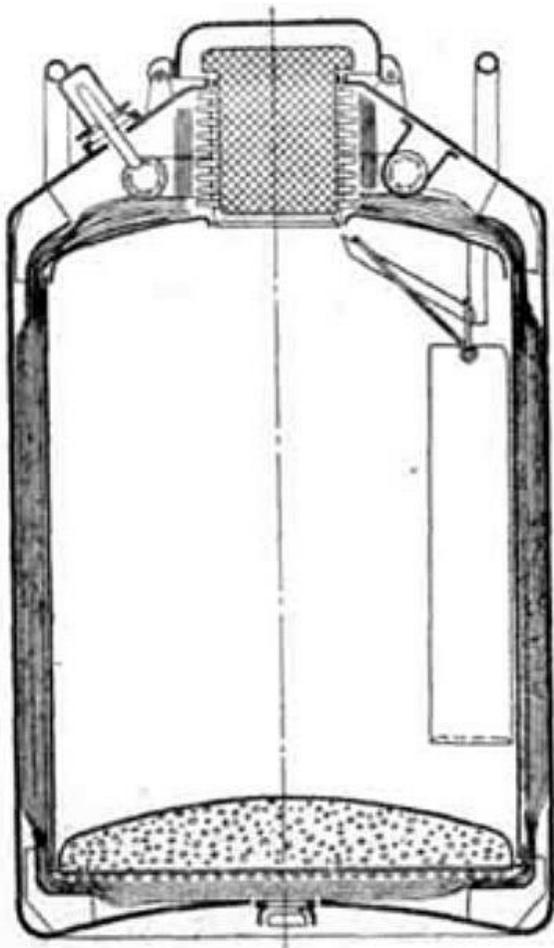
Залежно від місткості посудини вміщують різну кількість ампул або гранул замороженої сперми. Так, наприклад, посудина «Харків-30» розрахована на зберігання 800 ампул або 8—10 тис. гранул. Сперма міститься в спеціальних металевих каністрах, підвішених на горловині посудини. Гранули зберігають у марлевих мішечках або у пласмасових стаканчиках.

Оскільки рідкий азот безперервно випаровується, необхідно періодично поповнювати посудини. Звичайно доводиться це робити кожні 3—4 тижні. Щоб температура сперми під час зберігання не підвищувалася, у посудині будь-якого типу повинно залишатися перед доливанням не менш як 30—40% рідкого азоту (від повної місткості).

Для перевезення рідкого азоту із заводів до станцій штучного осіменіння і від станцій до колгоспних та радгоспних пунктів застосовують транспортні резервуари різної місткості, встановлені на автомашинах і обладнані спеціальними пристроями для наповнення та спорожнення резервуару. Транспортний резервуар ТРЖК-4М уміщує 320 л рідкого азоту, ТРЖК-2У—1155 л, ТРЖК-7М—1830 л, ТРЖК-8—2620 л, ТРЖК-3—7100 л.

Правила поведінки з рідким азотом. Рідкий азот - безбарвна рідина з питомою вагою 0,8 кг/л, яка кипить при температурі —196°. Потрапляючи на незахищені ділянки тіла, рідкий азот викликає тяжкі опіки, тому поводитися з ним слід з великою обережністю.

Металеві предмети (каністри, пінцети), витягнуті з рідкого азоту, можна брати тільки руками у шкіряних рукавичках. Працювати слід у захисних



Мал. 59. Термос АТ-4 в розрізі.

окулярах і щільному одязі. Брюки мають бути без манжет і закривати верх взуття. Якщо рідкий азот потрапить на незахищену шкіру, її слід негайно обмити водою.

Треба заливати рідкий азот у посудину Дьюара повільно. При цьому забороняється заглядати у горловину посудини, оскільки можливі викиди азоту наверх. Якщо азот переливають з другої посудини, то краще лити через широку металеву лійку не великими порціями.

Температура рідкого азоту підтримується на належному рівні (-196°) тільки при його безперервному випаровуванні. Тому категорично забороняється щільно закривати горловину посудини, особливо при її перевезенні.

При щільному закупорюванні можливий вибух посудини. Якщо верхня частина горловини обростає льодом, це свідчить про порушення теплоізоляції. Такі посудини використовувати не можна.

При заливанні посудин з транспортних резервуарів треба опускати гнучкий шланг у посудину до дна, інакше струмінь азоту може викинути шланг з посудини і облити азотом людей, які стоять поблизу.

Випаровуючись, рідкий азот перетворюється в газоподібний, підвищена концентрація якого може викликати в людини непритомність. Тому в приміщеннях, де знаходяться посудини з рідким азотом, обов'язково повинна бути добра вентиляція.

При перевезенні посудин з рідким азотом на автомашиних та інших транспортних засобах необхідно надійно закріплювати посудини, щоб запобігти падінню, пошкодженням їх та можливим вибухам.

Питання для самоконтролю:

1. Назвіть матеріал з якого виготовляють трубочки для заморожування сперми.
2. Опишіть підготовку сперми до заморожування.

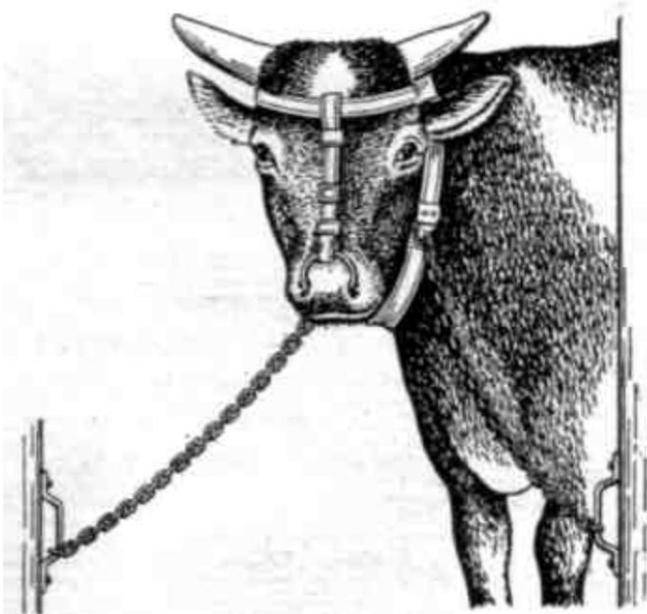
3. Назвіть спеціальні середовища якими розріджують сперми для заморожування в поліетиленових трубочка.
4. Опишіть посудину в якій зберігають заморожену сперму.
5. Назвіть температуру кипіння рідкого азоту, опишіть правила поводження з рідким азотом.
6. Назвіть посудини відомих вам конструкцій для зберігання замороженої сперми.

Лекція №10

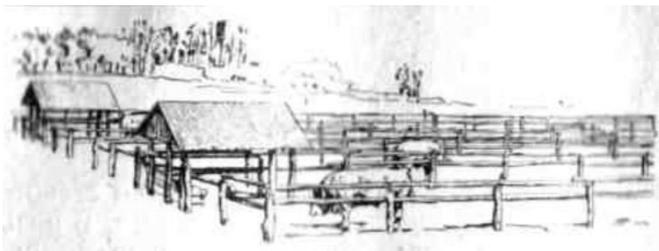
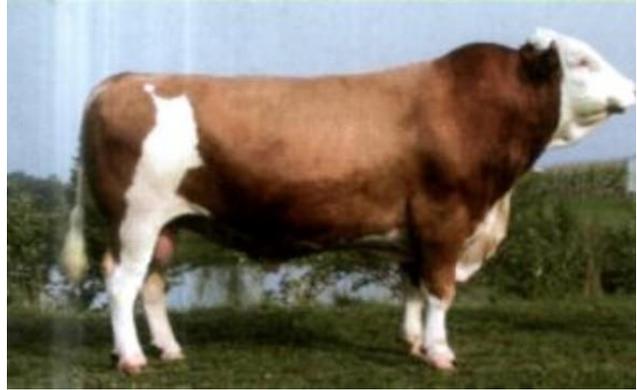
Утримання та використання плідників

План лекції

1. Утримання плідників.
2. Використання плідників.



Мал. 6. Двобічна прив'язь бугая-плідника.





1. Утримання самців плідників

Приміщення для утримання плідників мають бути сухими, світлими, з доброю вентиляцією, з дерев'яними підлогами

Бугаїв-плідників утримують у стійлах, відокремлених одне від одного роздільниками, або в денниках. Стійла обладнують 2,5 м завдовжки і 1,8—2 м завширшки. Над стійлом вішають дощечку з позначенням клички, породи, року народження, походження і живої ваги бугая.

У денниках бугаїв утримують звичайно без прив'язі, а в разі потреби вивести бугая з денника фіксують його голову біля зовнішньої годівниці під час годівлі спеціальним пристроєм, а потім беруть за носове кільце.

У стійлах бугаїв прив'язують за нашійник з грубого ременю або за допомогою звичайної ланцюгової прив'язі.

У носову перегородку кожному бугаєві вставляють у молодому віці металеве кільце. Виводячи бугая з стійла, в кільце просувають кінець спеціальної палиці-води́ла. Смирних бугаїв виводять за допомогою однієї або двох вірьовок прив'язаних до нашійника. Щоб кільце не заважало поїданню корму, його підв'язують ременем до рогів. У теплу пору бугаїв слід утримувати в літніх таборах під навісами. У приміщенні для бугаїв не повинно бути протягів, особливо небезпечні вони взимку. Холодний вітер, що дме зі щілин дверей, часто буває причиною ревматичних захворювань кінцівок.

Бугаїв слід щодня чистити щітками і підмивати забруднені місця теплою водою. Особливо старанно слід стежити за чистотою статевих органів. (Довге волосся на препуції звичайно не підрізують і тільки в разі потреби підстригають наполовину, оскільки кінці коротко підрізаного волосся можуть поранити статевий член під час садки. Влітку, а якщо є тепле душеве приміщення, і взимку, бугаїв треба щодня купати під душем. Влітку для цього можна використати водойму з не дуже крутими берегами.

Ратиці слід очищати від бруду і гною і два-три рази на рік підрізувати. Не слід забувати, що навіть незначне захворювання ратиць може надовго вивести бугая з ладу. Особливу увагу слід приділити правильній організації моціону бугаїв-плідників. Кращий вид моціону влітку — утримання на пасовищах, якщо можливо — цілодобове. На випадок спеки або дощу на пасовищах повинні бути спеціальні навіси (або високі дерева). Бугаїв

утримують на пасовищі поодинці або групами. Групи слід комплектувати з тварин, які не б'ються одна з одною.

Щоб запобігти бійкам, а також щоб бугаї не стрибали один на одного, у перші дні прогулянок можна підвішувати до носових кілець гирі вагою 3—5 кг. Після того як бугаї звикнуть один до одного, гирі знімають. Іноді на станції штучного осіменіння застосовують для групового моціону бугаїв вигульні круги (мал. 8). Для найцінніших бугаїв-плідників улаштовують спеціальні вигульні ділянки площею 700 м² на кожного бугая, обнесені досить міцними дерев'яними огорожами

На вигулах є навіси з годівницями й автонапувалками. Форма кожної ділянки повинна бути витягнута в довжину; на таких ділянках бугаї більше перебувають в русі, ніж на квадратних. Огорожі слід робити із залізобетону, протягнувши вздовж них дріт, приєднаний до “електропастуха”, щоб бугаї не ламали огорожу. Звичайно бугаї досить швидко освоюються з електропастухом і не намагаються наблизитися до дроту, по якому йде переривчастий струм високої напруги.

На великих станціях штучного осіменіння для моціону бугаїв застосовують механічні водила, що приводяться в дію електромоторами (мал. 10). Бугаїв прикріплюють за носові кільця до рухомого нескінченного ланцюга. Таким способом проводять водночас до 20 бугаїв.

Добрим способом моціону є щоденна робота бугаїв у запряжці протягом 2—3 год (мал. 11). Бугай може возити вантажі (корми, гній, воду та ін.) вагою до 500—600 кг по добрій дорозі. До воза можна прив'язувати з допомогою довгої колоди двох-чотирьох інших бугаїв і таким способом організувати моціон відразу для кількох плідників. Однак застосовувати цей спосіб на великих станціях не завжди зручно.

Бугаям потрібно забезпечувати моціон не менш ніж 3—4 год на день як влітку, так і взимку, за винятком днів з дощами, снігопадами, сильними вітрами і морозами. На обгороджених ділянках бугаїв можна утримувати цілими днями (влітку).

Якщо бугаї-плідники протягом довгого часу не користувались моціоном, слід привчати їх до роботи, прогулянок та інших способів моціону, які потребують значного напруження організму, обережно, поступово збільшуючи навантаження.

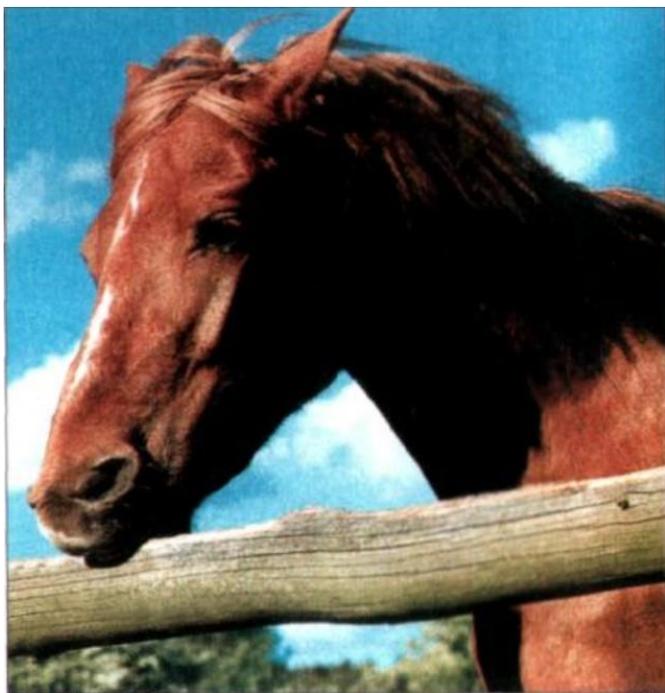
На станціях штучного осіменіння треба суворо дотримуватися встановленого розпорядку дня: його порушення призводять до погіршення статевої активності бугаїв та зниження якості сперми.

Слід враховувати також, що брати сперму від плідників можна тільки через 2 год після годівлі та напування їх. Орієнтовний розпорядок дня догляду за бугаями - плідниками наводиться нижче.

Години	Вид роботи
6.00— 8.30	Взяття сперми, приготування кормів та годівля бугаїв

8.30—10.30	Чищення і моціон бугаїв, прибирання приміщення
10.30—11.00	Годівля
11.00—15.00	Відпочинок
15.00—17.30	Чищення і моціон бугаїв, приготування кормів
17,00—18.00	Годівля

Баранів-плідників слід тримати в теплу пору на пасовищі цілу добу, за винятком найжаркіших годин. Взимку в добру погоду баранів слід виганяти на баз на цілий день. Баранів-плідників, призначених для використання на станціях і пунктах штучного осіменіння, цілий рік утримують окремою групою під наглядом досвідченого чабана. Приміщення для баранів-плідників розгороджують переносними щитами на клітки для групового або індивідуального утримання. Регулярно підрізують ратиці і підстригають шерсть біля очей. Ветеринарно-діагностичні щеплення і протикоростяне купання проводять не пізніше як за 1,5 місяця до початку осіменіння.



Жеребців-плідників утримують у світлих і сухих денниках площею 16—18 м² не менш ніж 3,5 м заввишки. Підлогу в денниках краще робити глинобитною. Прив'язувати жеребців у денниках не слід.

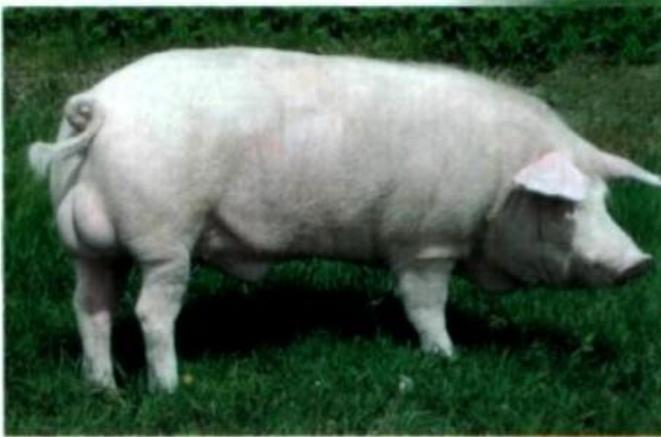
У теплу пору року жеребців більшу частину доби утримують в окремих огорожених левадах, вкритих зеленою травою, площею не менш ніж 15x15 м. У жарку пору дня жеребців заганяють у денники. Взимку жеребців випускають у левади або варки не менш ніж на 3—4 год щодня.

Жеребців треба чистити два рази на день (вранці й увечері). При кожному чищенні гриву і хвіст розчісують гребенем, копита очищають від гною, мошонку і препуцій обмивають теплою водою з милом і витирають рушником. Через кожний місяць розчищають копита

копитним ножем.

Влітку жеребців купають протягом 10—15 хв або обмивають водою з відра. Не слід купати жеребців після садки або роботи.)

Верховим і рисистим жеребцям ранками і вечорами дають прогулянку по 50—60 хв легкою риссю. Жеребців - ваговозів протягом 3—4 год на день використовують для перевезення вантажів середньої важкості. Тривалі переїзди і важкі роботи не допускаються.



Кнурів - плідників утримують в одиночних станках з суцільними перегородками. Поряд з станком для кнура не слід утримувати свиноматок: це викликає у кнура часте статеве збудження, що може призвести до онанізму.

Приміщення повинно бути сухим, світлим і чистим, підлога тепла. Площа станка 8—9 м².

Для кнурів потрібний щоденний моціон у вигляді прогулянки два рази на день) на пасовище або прогону спокійним кроком на відстань 1—1,5 км (в обидва кінці). Тривалість прогулянок — від 1 до 4 год на день, залежно від погоди.

Влітку кнурів утримують в окремих загонах з навісами, що захищають від сонця і дощу, й обов'язково виганяють на пасовище з доброю травою, краще якогось виду бобових.

Влітку потрібно щодня купати або мити кнурів, а взимку — чистити. Треба регулярно підрізувати відрослі ратиці, а вінчик ратиць змазувати вазеліном один раз на два тижні.

Статева зрілість і вік першого спаровування плідників.

Основною ознакою настання статевої зрілості у самців є утворення у сім'яниках сперміїв, здатних запліднювати яйцеклітини. Сформовані спермії з'являються у сім'яниках кнурців уже в 4-місячному віці, у баранців — у 5 місяців, у бугайців — у 8—9 місяців.

Прояв статевих рефлексів спостерігається у ще більш ранньому віці. Уже у 5-місячному віці деякі бугайці виявляють обіймальний рефлекс, стрибаючи на інших бичків і

теличок. (Здатність до парування виявляється трохи пізніше — у 6—8 місяців.

Проте поява перших ознак статевого дозрівання аж ніяк не означає, що молодого самця можна використати для відтворення. У перших еякулятах самців виділяється дуже мало спермій, і зони, як правило, не досягають на цей час фізіологічної зрілості. Та найважливіше те, що ріст і загальний розвиток організму закінчується набагато пізніше від настання статевої зрілості.

Раннє парування тварин, пов'язане з посиленою затратою енергії і пластичних речовин на вироблення статевих продуктів і спаровування, призводить до затримки росту і розвитку, до пригнічення дальшої статевої діяльності і тому не допускається. Лише з настанням так званої зрілості тіла, коли в основному завершується формування організму, слід використовувати тварин для розмноження.

З другого боку, не рекомендується надто зволікати з першим паруванням самців, оскільки це може призвести до зниження сперміогенезу, онанізму й імпотенції.

Строки настання статевої зрілості і зрілості тіла залежать від виду тварин, породи, годівлі, утримання, а також від кліматичних умов. У скороспілих порід статеву зрілість настає раніше, ніж у пізньоспілих. Незадовільна годівля затримує як статеве дозрівання, так і загальне формування організму. Теплий клімат сприяє значно швидшому настанню статевої зрілості.

Визначаючи вік першого парування, слід звертати увагу не стільки на вік, скільки на загальний розвиток тварини. Орієнтовний вік першого парування (або взяття сперми за допомогою штучної вагіни) молодих бугаїв сментальської, чорно-рябої, шортгорнської порід— 12— 13 місяців, червоної степової і білоголової української — 13—14 місяців.

Жеребчиків ваговозних порід слід спаровувати в перший раз у 2—3-річному віці, рисистих і верхових порід — у 3—4 роки.

Вік першого парування баранів скороспілих (м'ясних) порід— 12—13 місяців, пізньоспілих порід (мериносів) — 13—15 місяців.

Кнурців пускають до парування у віці 10—12 місяців при досягненні ними живої ваги 150—180 кг.

Протягом перших 6—12 місяців після початку парування молодих самців слід використовувати помірно, у два-три рази рідше, ніж дорослих тварин.

Використання плідників

Основною ознакою настання статевої зрілості у самців є утворення у сім'яниках спермій, здатних запліднювати яйцеклітини. сформовані спермії з'являються у сім'яниках кнурів уже в 4-місячному віці, у баранів — 5 місяців, у бугайців — у 8-9

місяців.

Прояв статевих рефлексів спостерігається у ще більш ранньому віці. Уже у 5-місячному віці деякі бугайці виявляють обіймальний рефлекс, стрибаючи на інших бичків і теличок. Здатність до парування виявляється трохи пізніше – у 6-8 місяців.

Проте поява перших ознак статевого дозрівання аж ніяк не означає, що молодого самця можна використати для відтворення. У перших еякулятах самців виділяється дуже мало спермій, і зони, як правило, не досягають на цей час фізіологічної зрілості. Та найважливіше те, що ріст і загальний розвиток організму закінчується набагато пізніше від настання статевої зрілості.

Раннє парування тварин, пов'язане з посиленою затратою енергії і пластичних речовин на вироблення статевих продуктів і спарування, призводить до затримки росту і розвитку, до пригнічення дальшої статевої діяльності і тому не допускається. Лише з настанням так званої зрілості тіла, коли в основному завершується формування організму, слід використовувати тварин для розмноження.

З другого боку, не рекомендується надто зволікати з першим паруванням самців, оскільки це може призвести до зниження спеобіогенезу, онанізму й імпотенції.

Строки наставання статевої зрілості і зрілості тіла залежать від виду тварин, породи, годівлі, утримання, а також від кліматичних умов. У скороспілих порід статеву зрілість настає раніше, ніж пізньоспілих. Незадовільна годівля затримує як статеве дозрівання, так і загальне формування організму. Теплий клімат сприяє значно швидшому наставанню статевої зрілості.

Визначаючи вік першого парування, слід звернути увагу не скільки на вік, скільки на загальний розвиток тварини. Орієнтовний вік першого парування (або взяття сперми за допомогою штучної вагіни) молодих бугаїв симентальської, чорно – рябої, шортгорнської порід – 12-13 місяців, червоної степової і білоголової української – 13-14 місяців.

Жеребчиків ваговозних порід слід спаровувати в перший раз у 2-3-річному віці, рисистих і верхових порід – у 3-4 роки.

Вік першого парування баранів скороспілих (м'ясних) порід – 12-13 місяців, пізньоспілих порід (мериносів) – 13-15 місяців.

Кнурів пускають до парування у віці 10-12 місяців при досяганні ними живої ваги 150-180 кг.

Протягом перших 6-12 місяців після початку парування молодих самців слід використовувати помірно, у два – три рази рідше, ніж дорослих тварин.

На більшості станцій штучного осіменіння беруть сперму від бугаїв один раз на три дні,

причому бугаєві дають дві садки з проміжками між ними 5—10 хв (так звана дуплетна садка). При такому способі використання бугаї виділяють більше сперми і кращої якості. Звичайно у спермі від другої садки завдяки посиленому збудженню активність і концентрація сперміїв буває вища, ніж у спермі від першої садки. Якщо проміжок між першою і другою садками більший, ніж 10 хв, збудження згасає і якість другого еякуляту не поліпшується.

За рубежем і на деяких станціях у нашій країні часто застосовують менш напружений режим використання: беруть одну дуплетну садку на 5—7 днів, вважаючи, що при такому режимі різко підвищується здатність сперміїв до тривалого зберігання.

У бугаїв віком до 2 років сперму треба брати не частіш ніж один раз на 7 днів разом з тим не слід забувати, що раннє привчання до взяття сперми на штучну вагіну (починаючи з 12—13-місячного віку за умови доброго розвитку бугайця) приносить велику користь, запобігаючи появі онанізму.

Баранам-плідникам в період осіменіння овець дають звичайно від двох до трьох садок на день, а в окремі дні допускається чотири садки при умові доброї годівлі й утримання баранів. При цьому рекомендується перші дві садки (з проміжками між ними 5—10 хв) дати о 7—8 год ранку, а останні садки дати після тривалої перерви — о 15—16 год дня або увечері. Сперму від останніх садок використовують для зберігання.

Молодим баранам зменшують парувальне навантаження у два-три рази.

У зв'язку з тим, що використання баранів має сезонний характер, до початку парувального сезону в їхніх придатках сім'яників скупчується велика кількість мертвих сперміїв. Щоб поступово очистити від них придатки, слід за 0, 5—2 місяці до початку парувальної кампанії починати брати сперму, причому поступово збільшувати кількість садок з двох на тиждень до двох на день.

Сперму від жеребців беруть, як правило, один раз на добу і лише дуже рідко допускають другу садку в той же день (через 7—8 год після першої).

Лекція № 13

Виявлення статевої охоти і оптимального часу для введення сперми. Підготовка сперми до введення. Дози сперми.

План

1 Виявлення статевої охоти

2. Підготовка сперми до введення

3. Дози сперми

Оптимальним часом для введення сперми самкам сільськогосподарських тварин є феномен стадії збудження – статевая охота. Під час статевої охоти самки проявляють позитивну сексуальну реакцію на самців – допускають плигання на себе і статевий акт. При організації штучного осіменіння вибір статевої охоти або оптимального часу для введення сперми має надзвичайно велике значення для забезпечення заплідненості. Несвоєчасне (раннє або пізнє до часу овуляції) введення сперми, осіменіння самок поза статевою охотою та вже вагітних є поширеними помилками при використанні недосконалих методів визначення оптимального часу осіменіння або низькій кваліфікації техніків штучного осіменіння.

Для визначення статевої охоти застосовується лише метод самця-пробника (рефлексологічний), а виявлення оптимального часу для введення сперми проводять за допомогою клініко-візуального методу (за симптомокомплексом тички і загального збудження) та за стадією зрілості фолікулів. Рідше для визначення оптимального часу застосовують методи: електрометричний (визначення електропровідності тичкового слизу), метод мікроскопії краплі тичкового слизу, алергічний, комп'ютерний (за зміною температури шийки матки), метод педометрії (за зміною частоти кроків), актометрії (визначення рухливості самок), мисливських і службових собак, биків-кастратів і корів (телиць)-виявниць.

Статеву охоту у корів і телиць визначають рефлексологічним методом.

Бугаїв-пробників випускають щоденно вранці і ввечері на 1,5–2 години в загони, де утримуються неплідні, отелені (з 3–4-го дня після родів), осіменені (з 10-го по 30-й день після осіменіння) корови. За одним бугаєм-пробником закріплюють 100–150 корів і телиць. Спостерігають за поведінкою корів. Самка, яка знаходиться в охоті, допускає садку самця. Таку самку виділяють з стада і осіменяють дворазово, з інтервалом 10–12 годин. При визначенні

охоти вазектомованим бугаєм-пробником (з коїтусом) сперму вводять одноразово, зразу ж після виявлення позитивної реакції.

Клініко-візуальний метод визначення оптимального часу введення сперми є найбільш поширеним, що пояснюється його простотою. Ймовірним показником того, що корова знаходиться в охоті, є “рефлекс нерухомості”, 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 статевих губ і почервоніння слизової оболонки переддвер’я піхви, витікання еластичного, прозорого тічкового слизу з статевих органів, зниження продуктивності, погіршення якості молока.

Для визначення оптимального часу введення сперми використовують також *Биків-кастратів та корів (телиць)-виявниць*, оброблених гормональними препаратами (табл.).

Таблиця–Схеми гормональних обробок биків-кастратів і корів (телиць)-виявниць

Схема	Методика
1	Тестостерон пропіонат 200–250 мг внутрішньом’язово через день протягом 20-ти днів, потім по 500 мг підшкірно через кожні 7 днів
2	Тестостерон пропіонат 200 мг підшкірно або внутрішньом’язово через день протягом 20-ти днів, потім тестостерон енантат 500 мг підшкірно або внутрішньом’язово через кожні 10–14 днів
3	Тестостерон енантат в перші 3 дні по 1000 мг підшкірно щоденно, потім по 500 мг підшкірно через кожні 14 днів
4	Естрадіол бензоат 10 мг на 250 кг маси тіла підшкірно або внутрішньом’язово через кожні 7 днів

Корів-виявниць відбирають з вибракуваних через неплідність; статевозрілих телиць оваріоектомують, або підбирають з фримартинних.

Підібрані тварини повинні бути клінічно здоровими, середньої або вищої вгодованості та з масою тіла середньою по стаду корів. Використовують їх через 2–3 тижні після початку гормональних обробок. При припиненні введення гормонів статева активність зберігається 10–18 днів. Одну тварину-виявницю використовують за тією ж методикою, що і пробників. На одну тварину-виявницю з мітчиком при безприв’язному утриманні навантаження складає 30–40 корів або телиць.

Осіменіння корів проводять відразу ж після визначення оптимальних показників для введення сперми і повторюють через 10–12 год. Неточність даного методу становить біля 40–50 %, що призводить до несвоечасного введення сперми, а у 10–12 % випадків осіменяють вже вагітних тварин.

У кобил статеву охоту визначають за допомогою жеребця-пробника, починаючи з 3-го дня після родів та з 10–15-го дня після осіменіння. Для цього кобилу, розковану на задні кінцівки, заводять в манеж і утримують під узду. Пробника підводять на поводях до голови кобили. Кобила поза охотою намагається вкусити пробника, втекти від нього або повернутися задом, щоб вдарити. Більш безпечною є проба на виявлення статевої охоти через дерев'яний бар'єр висотою 1,2–1,3 м і довжиною 2,5 м. Кобилу для проби підводять до бар'єру, а з іншого боку перешкоди підводять жеребця. Позитивною реакцією на жеребця є: покусування жеребця, частіше сечовиділення, “миготіння” статевих губ. Після виявлення позитивної реакції допускають безпосередній контакт тварин для визначення статевої охоти.

Статеву охоту можна визначати при щоденному контакті під час перебування пробника протягом 1,5–2 год в табуні (у 10–20) кобил.

За допомогою ректальної пальпації яєчників можна визначити ступінь зрілості фолікулів. Оптимальним часом для введення сперми є м'яка флуктуація фолікулів.

Об'єктивним методом визначення оптимального часу для осіменіння кобил є трансректальна сонографія, яка базується на визначенні змін форми і розмірів передовуляційних фолікулів. На початку охоти в яєчниках візуалізуються малі і середні фолікули діаметром $1,6 \pm 0,2$ см. В середині статевої охоти діаметр фолікулів зростає до $2,6 \pm 0,1$ см. За 24–72 год до овуляції спостерігається зміна форми фолікулів з округлої на грушоподібну або овальну. Горизонтальний і вертикальний розміри передовуляційних фолікулів складають $4,2 \pm 0,2$ см і $2,8 \pm 0,1$ см відповідно. Зміна форми фолікулів є показником оптимального часу для парування кобил.

Введення сперми починають на 2-й день після початку статевої охоти і повторюють через кожні 48 годин до “відбою” – прояву негативної реакції кобили на жеребця.

У свиней Статеву охоту визначають шляхом щоденного (вранці та ввечері) контакту з пробником. На 50 свиноматок використовують одного пробника. На крупних свинокомплексах самок відбирають в окремі станки, між якими по прогону проганяють кнура. Самок, які реагують на нього, відокремлюють і проводять індивідуальну пробу.

Виявляють ймовірність охоти за зміною поведінки самок, появою “рефлексу нерухомості”, позитивними реакціями при натискуванні на спину і боки, ознаками тічки. Статеву охоту починають визначати зразу ж після відбивки поросят і з 10-го дня після осіменіння. Вибір часу осіменіння залежить від кратності виявлення тварин в охоті. Якщо контроль проводиться чотири рази, осіменіння молодих свинок проводять одноразово через 17–18 год, а основних свиноматок – через 21–24 год після виявлення статевої охоти. При дворазовому контролі статевої охоти (з проміжком 10–12 год) сперму вводять двічі: якщо охота виявлена вранці, свиноматок осіменяють ввечері і навпаки. Другий раз тварин осіменяють через 10–12 год після першого введення сперми.

У овець і кіз статеву охоту визначають у статевий сезон. У отару з 50–100 самками щоденно рано і ввечері на 1,5–2 год випускають 5–6 баранів-пробників. Пробникам до підгрудка чіпляють “мітчики” з фарбуючими речовинами. Отару проганяють через розкол і видаляють мічених самок та осіменяють їх дворазово з інтервалом 24 год. При відсутності “мітчиків” чабани самі спостерігають за реакцією самок на пробника і виділяють тварин з позитивною сексуальною реакцією.

У сук статева охота починається з 9–11-го дня стадії збудження і збігається зі значним зменшенням кількості виділень з статевих органів, які набувають солом'яного кольору та зі зменшенням ознак набряку статевих губ. Для уточнення наявності охоти допускають контакт з кобелем.

Підготовка сперми до введення

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

При розморожуванні сперми, що зберігається в облицьованих гранулах, з біотермостату виймають штатив. Гранулу опускають у воду ($38 \pm 0,5$ °С) і витримують до появи тонкого стержня льоду. Потім пінцетом виймають

гранулу, струшують воду, по чергово протирають стерильними марлевими серветками та ватним тампоном, змоченим у 96°-ному спирті, і вводять в зоошприц.

Технологія розморожування пайет (соломинок) об'ємом 0,25, 0,5 мл і мінітюб 0,25 мл така ж, як і для облицьованих гранул. Розріджену сперму, яка зберігається при температурі таючого льоду або при кімнатній температурі, перед введенням необхідно підігріти у водяній бані до 30–35 °С протягом 5–7 хв.

Використовувати розморожену спермодозу необхідно лише при кімнатній температурі (18–23 °С) протягом 10–15 хв.

Необхідно дотримуватися режимів відтаювання сперми; не виймати ємкості з гранулами сперми за межі нижньої третини горловини посудини Дюара і поміщати їх зразу ж після взяття гранули назад.

Дози сперми

Об'єм і дози сперми залежно від методу зберігання приведені у таблиці 6.1.2. При відтаюванні сперми, що зберігається в необлицьованих гранулах, об'єм дози збільшується на величину об'єму гранул.

Таблиця– **Об'єм і дози сперми залежно від методу зберігання**

Вид тварин	Метод зберігання Сперми	Об'єм Сперми, мл	Рухливість, бал	Мінімальна кількість сперміїв у дозі з ППР
Велика рогата худоба	Температура таючого льоду (+2 +4 °С)			
	– 196° в необлицьованих гранулах	1,0	7	25–30 млн
	– 196° в облицьованих гранулах	1,1 –1,2	4	15 млн
	– 196° в пайетах і мінітюбах	0,25 – 0,35	4	15 млн
Коні	– 196° в алюмінієвих тубах (пакетах)	0,25 – 0,5	4	15 млн
	– 196° в алюмінієвих тубах (пакетах)	20–40 (крупним, старим і кобилам після родів)	2,5	3 млрд

		ВВОДЯТЬ		
--	--	---------	--	--

Продовження табл. 6.1.2

	+2 +5 °С	Максимальну дозу	5 5	3 млрд
Вівці, КОЗИ	Нативна Розріджена	0,05	7– 8	80 млн
		0,1–0,15 0,2–0,3 (при піхвовому введенні)	7– 8 7– 8	80 млн 160–240 млн
Свині	+2 +4 °С	1 мл/кг маси тіла, але не більше 150 мл	6– 7	3 млрд
	+14 +18 °С		6– 7	3 млрд

При використанні сперми бугаїв-поліпшувачів, перевірених за якістю нащадків, допускається використання доз з 10 млн рухливими сперміями та рухливістю 3 бали.

Лекція №14

Морфофункціональні зміни в організмі матері на яких базується діагностика вагітності

План лекції

1. Морфофункціональні зміни в організмі вагітної самки, на яких базується визначення вагітності.
2. Класифікація методів діагностики вагітності.
3. Клінічні методи діагностики вагітності.

1. Морфофункціональні зміни в організмі вагітної самки, на яких базується визначення вагітності

У період вагітності в організмі тварин відбуваються важливі процесії знання яких необхідне для діагностики вагітності.

Зигота розвивається з двох начал батьківського і материнського.

Відторгнення імунологічно стороннього аллотрансплантата не настає тому що у перші ж години після запліднення зародок утворює імунодепресивний фактор або фактор ранньої вагітності, який захищає його від імунної системи матері Він діє локально, інгібуючи імунні реакції ендометрію. Подібні системи аутоімуносупресії виявлені і з боку матері.

Характерною рисою вагітності є формування в яєчнику функціонально активного жовтого тіла, що продукує прогестерон. Останній зберігає і забезпечує розвиток вагітності. Важливо те, що жовте тіло вагітності продовжує функціонувати більше 2 тижнів після запліднення, тоді як у не запліднених тварин воно розсмоктується. Жовте тіло зберігається тому що до цього моменту настає імплантація і зародок утворює посередник, що продовжує життя жовтого тіла, тому статеві цикли припиняються.

У приматів і гризунів таким посередником є хоріонічний гонадотропіні (ХГ), який виділяється трофобластом-хоріоном зразу ж після імплантації. Діючи лютеотропно, він спасає життя жовтого тіла і продовжує його шляхом пригнічення місцевої лютеолітичної дії гормонів яєчника (естрадіолу і простагландину).

У кобил зародок сигналізує про свій розвиток за допомогою протейну а також шляхом виробки естрадіолу і естрону, котрі збільшують секрецію маткою глікопротеїну утероферину. Ці речовини пригнічують секрецію простагландину ендометрієм і жовте тіло продовжує існувати. У подальшому жовте тіло підтримується кінським ХГ (КХГ), що виробляється ендометріальними чашечками. Вони утворюються при вкоріненні спеціалізованих трофобластичних клітин хоріонічного поясу ембріона приблизно на 36-и день жеребності. Під дією КХІ порожнині фолікули, що реагують на ФСГ, повністю дозрівають, перетворюються на вторинні жовті тіла (звичайно без овуляції) і своїм прогестероном доповнюють його секрецію первинним (основним) жовтим тілом.

В овець, кіз і корів лютеотропний сигнал надходить від ембріона за 2-3 дні до початку еструсу шляхом секреції ним білка трофобластину, який пригнічує секрецію маткою лютеолізину — простагландину F2a. Пізніше життя жовтого тіла у цих тварин підтримується плацентарним лактогеном (ПЛ), що секретується плацентою.

У свиней механізм розпізнавання вагітності матір'ю має біохімічну і клітинну природу бластоцисти свині при їх елонгації (на 12-й день вагітності) все активніше конвертують прогестерон в естрон і естрадіол і, стимулюючи таким чином велику поверхню ендометрію, діють лютеотропно, підтримують жовте тіло вагітності.

У приматів уже після 3-го тижня вагітності, а у коней — з 35-го дня плацента виробляє достатньо прогестерону для підтримки вагітності і тому жовте тіло недовго бере участь у збереженні вагітності (приблизно протягом перших трьох місяців) У них рано формується новий ендокринний орган — фетоплацентарна система.

У корів жовте тіло необхідне для збереження вагітності до кінця 6-го місяця, в овець, — до половини вагітності. Тільки після цих термінів їх фетоплацентарна система виробляє достатню кількість прогестерону.

Фетоплацентарна система характеризується активною секрецією стероїдних гормонів (прогестерону і естрогенів) і гонадотропних гормонів (ХГ, КХІ, ПЛ)

У кролиць, свиней, кіз, собак і кішок плацента ніколи не секретує прогестерон у кількості, достатній для збереження вагітності, і жовте тіло залишається його основним продукувачем. Тому воно необхідне протягом всього періоду вагітності.

Наприклад, у сук концентрація прогестерону досягає максимального рівня між 15-м і 25-м днями вагітності, після чого знижується. Невелике нове збільшення концентрації прогестерону реєструється між 25-м і 40-м днем.

Ймовірно, у цих тварин також існують механізми підтримки діяльності жовтого тіла, але їх походження залишається невідомим. Одним із таких механізмів є лютеотропна дія ПРЛ, яка стає значимою з 2-го місяця вагітності. Плацента суки виробляє специфічний гормон релаксин, концентрацію якого можна визначати, починаючи з 19-28-го дня після овуляторного викидання ЛГ, релаксин досягає максимальних значень між 40—10-го днями вагітності. За рівнем релаксину можна діагностувати щенність.

Під впливом прогестерону у перші місяці вагітності знижується збудливість нервової системи і рецепторів матки, у корі головного мозку формується материнська домінанта. Самка поводить себе спокійно, флегматично, зовсім байдуже відноситься до самця. Краще поїдає і засвоює корм, асиміляція значно перевищує дисиміляцію. Створюються умови для покращення вгодованості та депонування жирів. Тканини вагітних тварин утримують воду, стають гідремичними. Це виробилось в процесі еволюції виживали і виношували плід ті самки, які запасалися за літо поживними речовинами.

Найінтенсивніші зміни при вагітності проходять у матці. Маса матки корови без и вмісту наприкінці вагітності збільшується в 6-9 разів і досягає 8,6-10 кг, а разом з плодом, плодовими оболонками і водами — від 50 до 70 кг. Довжина рога - плодомістилиця може складати 1,5-2 м. У свиней матка збільшується у 20 разів. Збільшення маси матки відбувається головним чином за рахунок гіперплазії і гіпертрофії її м'язових елементів, а також за рахунок збільшення сітки кровоносних судин і різкого покращення кровопостачання. По мірі розвитку вагітності змінюються топографія взаємовідношення матки з органами черевної порожнини. У перші 2 місяці вагітності у великих тварин збільшується величина, змінюється форма (стає округлою) і консистенція (відчуття наповненості рідиною) вагітного рога матки; матка стає асиметричною і виходить з тазової порожнини. У кобили матка, що збільшується, займає переважно ліву частину здухвини і черевної порожнини, а у корів — праву. У багатоплідних тварин роги матки симетричні, мають ампулоподібні розширення, у кожному з яких розвивається плід. Вони простираються по нижній черевній стінці з кожного боку від білої лінії і прогресивно просуваються до діафрагми. Збільшується внутрішньочеревний тиск, що призводить до почастишання дихання, актів дефекації і сечовиділення. Таке переміщення матки стає можливим завдяки значному розтягуванню широких маткових зв'язок у вертикаль ному напрямку. Кровоносні судини, які проходять у товщі широка маткових зв'язок, збільшуються у діаметрі у 4-5 разів і, забезпечуючи підсилений кровоток, пульсують або вібрують. Раніше вібрація реєструється з боку вагітного рога матки.

Шийка матки у процесі розвитку вагітності під вагою матки поступово зміщується у черевну порожнину, значно потовщується, а її канал

закривається густою слизовою пробкою. За даними професора Г. М. Калиновського, муцини цього слизу абсорбують з плодовмістилища продукти метаболізму, а у періоди змін гормонального фону, наприкінці 4-го і 7-го місяців тільності слизова пробка розплавляється, витікає і замінюється новою. Виділення слизу із зовнішніх статевих органів у вагітних корів може бути приводом для звертання до лікаря ветеринарної медицини з проханням про обстеження тварини на вагітність. У 1997 р. у тільних корів учгоспу ХЗВІ спостерігалось явище масового розплавлення і витікання цервікального слизу, спричинене незадовільною годівлею.

У видів з множинною плацентою котиледони після утворення хоріона гіпертрофуються. Збільшуються розмір і маса плацентам: з 20 мг у 1-й міс. до 255 г на 9-му міс. тільності у вагітному розі і з 70 мг на 2-му міс. до 66 г на 8-му міс. у невагітному розі.

У перші 100 днів тільності яєчники знаходяться на рівні переднього краю таза і в одному з них пальпується жовте тіло. Пізніше, у зв'язку з витягуванням матки, яєчники стають все більше важкодоступними, а отже й трудніше піддаються вивченню.

До 4-5-го міс. тільності у телиць добре виділяється на фоні черевної стінки вим'я. У дійках з'являється прозора клейка рідина світло-янтарного кольору, що є попередницею молозива і називається «сіркою».

Сума цих змін є елементами, які дозволяють, особливо у корів, проводити діагностику з визначенням строку вагітності.

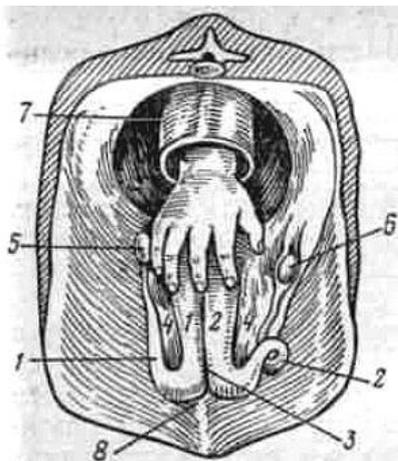


Рис. 20. Процупывание небеременной матки у старой коровы (по Студенцову):
1—правый рог матки; 2—левый рог матки; 3—межроговая борозда; 4—широкие маточные связки; 5—правый яичник; 6—левый яичник; 7—прямая кишка; 8—бифуркация рогов матки.

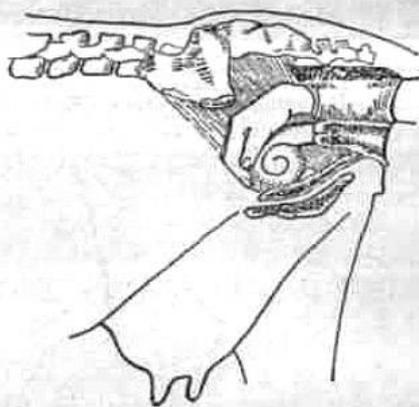


Рис. 21. Сокращенная небеременная матка коровы при ее ощупывании (по Студенцову).



Рис. 23. Прощупывание плода у козы.

Мал. 49.
Відшукування борозенки
між рогами
у корови
(за Г. К. Корчаком).





Діагностика вагітності

1.Класифікація методів діагностики вагітності

Методи діагностики вагітності підрозділяють на:

- клінічні;
- лабораторні.

У залежності від терміну діагностики вагітності розрізняють:

- ранні методи діагностики, які забезпечують встановлення вагітності у першу половину ембріонального періоду розвитку (у корів і кобил — до 30 дня, у свиней — до 24 дня);
- середньотермінові (до закінчення ембріонального періоду розвитку, тобто

у корів і кобил до 60 дня вагітності);

— пізньотермінові дозволяють визначати вагітність з моменту формування плода і несуть у собі багато екстенсивного.

Незважаючи на наявність чисельних методів діагностики вагітності, роботи над удосконаленням і розробкою нових методів активно ведуться і в наш час. Вважають, що ідеальний метод діагностики вагітності має бути:

— об'єктивним;

— раннім (визначати ранні строки вагітності);

— швидким (експрес-методом), який виконується за кілька хвилин;

— недорогим, тобто економічно доцільним;

— здатним визначати стать плода;

— здатним виявляти ембріо- і фетопатії;

— здатним визначати прогноз пологів для матері і плода;

— здатним визначати діагноз у разі неплідності.

2. Клінічні методи визначення вагітності

Клінічні методи діагностики вагітності включають:

1. Збір анамнезу.

2. Рефлексологічний метод (застосування самця-пробника).

3. Зовнішнє дослідження:

— огляд;

— пальпація;

— аускультация.

4. Внутрішнє (акушерське) дослідження:

— вагінальне;

— ректальне.

5. Фізичні методи:

- ультразвукове дослідження (УЗД);
- лапароскопія (з використанням ендоскопа);
- амніоскопія;
- рентгеноскопія і рентгенографія;
- електропунктурна рефлексотерапія.

З анамнезу можна виявити такі ймовірні ознаки вагітності:

- відсутність статевої циклічності протягом 30 і більше днів після чергового осіменіння;
- покращення апетиту і вгодованості тварини;
- інколи збочення апетиту (облизування каміння, стін, годівниць, намагання до поїдання мінеральних речовин), у собак іноді рвота;
- швидкі стомлюваність і спітнілість;
- почастішання пульсу і дихання;
- більш спокійна і покладлива поведінка;
- почастішання актів дефекації і сечовиділення;
- зниження або припинення функції молочної залози, зміна якості молока (у телиць — гіпертрофія молочної залози, збільшення діжок);
- поява набряків у ділянці кінцівок і нижньої черевної стінки;

зо-сідничних зв'язок наприкінці вагітності.

До цінних анамнестичних даних відносяться записи у журналі осіменіння.

Рефлексологічний метод базується на проведенні обліку реакції самки на самця або самця на самку. При цьому виходять з того, що при відсутності вагітності після осіменіння у тварини повинна проявитися чергова стадія збудження статевого циклу. Для виявлення її ознак рекомендують щоденно забезпечувати спілкування тварин з самцем-пробником або з самцем за системою, описаною Д. Д. Логвіновим, починаючи у кіз з 5-го дня після осіменіння, у кобил — з 8-го, в овець і корів — з 10-12-го дня і в свиней — з 15-го дня. Закінчують пробу до 30-го дня. Відсутність у ці строки охоти у тварин є ймовірною ознакою

вагітності.

Цей метод дозволяє діагностувати початкові стадії вагітності з точністю до 95-100 %. На сьогоднішній день більш точного і простого методу діагностики початкових стадій вагітності і неплідності немає. Він є основним для діагностики вагітності у свиней.

При огляді тварини встановлюють такі ознаки вагітності:

1. Ймовірні:

— зміна контурів живота (у корів збільшується права черевна стінка, у кобил — ліва, в овець і кіз — більше права, в інших тварин — обидві черевні стінки). Треба зазначити, що наприклад у суки, збільшення живота може бути тільки ймовірною ознакою вагітності, бо воно зустрічається при ожирінні, асциті, піометрі, новоутвореннях органів черевної порожнини;

— збільшення молочної залози;

— набряки кінцівок, молочної залози і черевної стінки;

— випадання волосся навколо очей і утворення обідків - «окулярів» у норок (ознака проявляється через місяць після парування).

2. Істинна ознака: рухи плода, які можна добре бачити у кобил вранці при напуванні водою, особливо, якщо ця вода прохолодна.

Пальпацією черевної стінки також виявляють істинну ознаку вагітності — наявність плода. У корів можна промацувати плід не раніше 5-6 го міс., у кобил — 7-го міс., в овець і кіз — тільки з другої половини вагітності, але навіть у останні тижні вагітності у них цей метод ненадійний. У собак, кішок і кролиць це основний метод діагностики вагітності. У собак і кішок уже з 3 тижнів пальпуються флюктуючі ампули, з 6 тижнів і плоди. У кролиць плоди пальпуються з 12-14-го дня після осіменіння у вигляді ампулоподібних потовщень величиною з вишню.

Аускультация — вислуховування серцебиття плода. Проводиться у тих же ділянках, що й пальпація. Користуються стетофонендоскопом, в медицині — акушерським стетоскопом. Прослуховуються тони серця плода, які звучать на фоні гучних і могутніх, але віддалених ударів серця матері і з частотою, приблизно у 2 рази більшою, ніж у матері. Аускультация можлива у великих тварин не раніше 6-го місяця вагітності.

До зовнішніх методів діагностики вагітності можна віднести офтальмологічний метод, описаний Г. В. Небогатиковим в 1984 р. для визначення тільності. Між

12-м і 26-м днями після осіменіння при огляді очей виявляють два діагностичні показники тільності:

— білі ореоли навколо райдужної оболонки;

— овальна форма зіниці.

Такі феномени пояснюють зміною механізму нейрогуморальної регуляції, підвищенням тону парасимпатичної нервової системи, яка у свою чергу здійснює іннервацію кільцеподібного м'яза, при скороченні якого звужується зіниця ока. Одночасно активуються процеси фоторецепції пігментів райдужної оболонки, що призводить до зміни її пігментації.

У неплідних корів ореоли відсутні, а зіниці округлі. Метод досить точний. В. Д. Недвига (2002), встановила, що найменший процент сумнівних діагнозів (8,6 %) та відсутність похибки при визначенні тільних корів виявляються на 22-26-й дні після осіменіння і рекомендує застосовувати цей метод як додатковий. Вагінальне дослідження дозволяє виявити такі ознаки вагітності:

1. Сухість і блідість слизової оболонки піхви, липкість слизу, особливо у кобил (після введення піхвового дзеркала слиз скачується у сірі кульки, як жуйка).

2. Щільне закриття шийки матки і наявність в ній слизової пробки. Шийка матки під тягарем матки зміщується вперед униз і вправо у корів і вперед униз і вліво у кобил.

3. Промачування передлеглих частин плода через склепіння піхви.

Метод має малу практичну цінність.

Ультразвукове дослідження (УЗД), або сонографія тварин з метою визначення вагітності використовується на Заході з 70-х років і зараз уже стало незамінним. Піонерами застосування сонографії у репродуктології в Україні є співробітники кафедри акушерства і штучного осіменіння Білоцерківського державного аграрного університету.

Ультразвук — це пружні коливання і хвилі з частотою від 20 кГц до 1 ГГц, тобто хвилі, які мають надвисоку частоту і малу довжину. Людське вухо їх не сприймає, але ними перекликаються кажани, риби, комахи.

Ультразвукові хвилі виробляються при подачі змінного струму на п'єзоелектричні кристали (кварцеві чи літєві), які у процесі поляризації змінюються у розмірі (пружна деформація) і створюють тиск, або ультразвукову хвилю. Зворотне відбиття цих хвиль деформує кристали і при цьому виробляється поверхнева напруга. Таким чином, завдяки п'єзоелектричному ефекту, електрична енергія перетворюється в акустичну

(коливання) і навпаки П'єзоелектричні кристали з'єднуються в ультразвуковому датчику, котрий знаходиться всередині ультразвукової головки і генерує звук необхідної частоти. Зворотне відбиття виявляється на моніторі у вигляді світлових крапок (ехо-позначок), яскравість яких пропорційна їх амплітуді. Вони утворюють зображення органа у поперечному розрізі.

Ультразвукові хвилі розповсюджуються в однорідному пружному середовищі, яке їх проводить, прямолінійно. Якщо на їх шляху зустрічається поверхня розділу двох середовищ з різними акустичними властивостями, то це призводить до часткового відбиття ультразвукових хвиль на межі цих середовищ. Чим більша різниця в акустичному опорі двох середовищ, тим більша частина ультразвукового випромінювання відбивається. На межі рідина — газ відбиття є практично повним, тому що газ не проводить ультразвуку.

На зображенні розрізняють ехо-негативні (вільні від внутрішніх структур органи і утворення або порожнини, заповнені рідиною, наприклад, ранній ембріон, кістки, які добре пропускають звук, мають на екрані і ємний колір) і ехо-позитивні структури (більш щільні тканини без порожнин, наприклад, гази, кістки, металеві деталі, пізній ембріон, що добре відображають звук, показуються на екрані світлим кольором). Інші тканини мають зображення різних відтінків сірого кольору залежно від їх ехогенності (здатності відображати ультразвукові хвилі).

Сучасні ультразвукові портативні сканери 100, 200, 480 VET виробляються голландською фірмою Pie Medical, яка є підрозділом концерну Philips. Ці прилади працюють на частотах 3,5 МГц, 5,0 МГц і 7,5 МГц у діапазонах 0-20 см, 0-16 см і 0-6 см, котрі вказують про глибину проникності ультразвукових хвиль. Вони вимірюють відстань, довжину кривої, площу, окружність, об'єм, зону, кут, порівнюють їх з даними. Норми, виводять, збільшують і передають зображення органа і його рухи на екран у реальному режимі часу, записують на жорсткий диск або на дискету і зберігають інформацію. Сканери працюють як від електромережі, так і від батарей напругою 12 В У кобил і корів УЗД проводять Трансректально за допомогою портативного датчика, підведеного до мат-й, а у дрібних тварин — трансабдомінально.

Лекція № 16.

Охорона праці при проведенні штучного осіменіння сільськогосподарських тварин.

План:

1. Вимоги ОП при догляді за бугаями-плідниками.
2. Вимоги ОП при догляді за кнурами.
3. Вимоги ОП при догляді за жеребцями.
4. Вимоги ОП до приміщення пункту штучного осіменіння.
5. Вимоги ОП при роботі з криогенним обладнанням.
6. Вимоги ОП при догляді за бугаями-плідниками.

Фіксація бугаїв-плідників при утриманні. Прив'язувати бугаїв-плідників у стійлах необхідно міцною двосторонньою прив'яззю — ланцюгом із катаного дроту діаметром 8 мм або інших рівноміцних матеріалів. Прив'язь має бути достатньо вільною, щоб вона не заважала тварині лягати. Під металевий ланцюг ошийника необхідно підкладати ремінь. Ланцюговий елемент прив'язі потрібно з'єднувати з ошийником за допомогою карабіна з автоматичною заскочкою.

Кожний бугай, призначений для відтворення стада, повинен мати металеве кільце, встановлене у 6-8-місячному віці в носову перегородку. Кільце фіксується у верхньому положенні до налобного ременя.

На прогулянку бугаїв виводять на повідку і обов'язково за допомогою палиці-води́ла довжиною не менше 2 м із карабіном, яким чіпляють за носове кільце. Не допускається одночасне виведення на прогулянку бугаїв і корів. На вигульних двориках дозволяється вигулювати на прив'язі лише одного бугая. Для виведення бугая з індивідуального дворика скотар повинен не заходячи у дворик зачепити бугая палицею-води́лом за носове кільце і тільки після цього відчепити карабін прив'язі і відкрити випускні двері.

Бугаям зі злим норовом на роги необхідно прикріплювати дерев'яні пластинки і надівати наочники прямокутної форми, виготовлені зі шкіри розміром 30x40 см. Виводити таких бугаїв необхідно на розв'язках двом скотарям. Чистити й мити бугаїв можна лише після фіксації їх на короткій прив'язі. При цьому тваринам дають невелику кількість корму й уважно спостерігають за поведінкою тварини під час чищення.

Під час чищення годівниць і роздавання корму голову бугая необхідно фіксувати ланцюгом із карабіном (скотар при цьому повинен знаходитися у кормовому проході).

Вимоги до персоналу та приміщень при утриманні бугаїв-плідників.

Територія з приміщеннями і вигульними майданчиками для утримання бугаїв повинна бути обнесена огорожею заввишки не менше ніж 1,5 м.

На території можливого перебування бугаїв необхідно обладнувати острівки безпеки для працівників. Якщо бугаїв утримують у манежі, то для обслуговуючого персоналу встановлюють захисну огорожу з вертикальних труб діаметром 75-100 мм на відстані 1 м від стіни з проміжком між трубами 0,4 м, закладеними нижнім кінцем на 0,5 м у бетон і піднятими над підлогою на 1,5-2 м. Не можна зварювати труби поперечними перегородками.

Підлога у манежі не повинна бути слизькою. Для бугаїв необхідно обладнувати майданчики з механічними пристроями для примусового водіння.

Перед привчанням бугая до нових працівників його потрібно кілька днів утримувати на зменшеному раціоні. У разі, якщо у бугая виявилася негативна реакція щодо скотаря, який його доглядає, скотар повинен замінити свій спеціальний одяг. Якщо це не допомагає, необхідно доручити доглядати цього бугая іншому скотарю з цього приміщення і при цьому додатково вивчити характер поведінки бугая. Всі плідники виявляють негативну реакцію на різкі запахи (наприклад, алкоголю). Дня усунення розвинутої буйної поведінки бугая необхідно перевести його на нове місце. У нових умовах розвинутий рефлекс затухає.

Технікам штучного осіменіння й особам, що постійно доглядають бугаїв, не дозволяється бути присутніми при болісних для бугая профілактичних і лікувальних процедурах, а також при розчищенні ратиць, обрізуванні рогів, вставленні носових кілець тощо. Сперму від бугаїв беруть у спеціальному приміщенні (манежі) із станком, який убезпечує обслуговуючий персонал.

2. Вимоги ОП при догляді за кнурами. Кнурів необхідно утримувати в індивідуальних або групових клітках із суцільними перегородками висотою не менше 0,9 м, а вище — до висоти 1,4 м — з перегородками із металевих труб.

У клітках для утримання кнурів годівниці та напувалки необхідно влаштовувати так, щоб свинар-оператор міг роздавати корм і наливати воду збоку проходу, не заходячи в клітку. Очищення кліток проводять у відсутності тварин.

Під час випасання і прогулянок кнурів свинарі повинні бути забезпечені щитами розміром не менше ніж 0,5x0,5 м і відрами з водою для обливання на випадок бійки кнурів. Неспокійних і задириливих потрібно випасати та вигулювати поодиночі.

У манежі для взяття сперми повинно бути освітлення відповідно до вимог, широкі двері для проходу плідників, підлога з м'якого асфальту, стіни, пофарбовані світлою олійною фарбою або облицьовані глазурованими плитками, водопровідний кран з раковиною, острівок безпеки для працівників (у разі нападу плідника), зроблений з металевих труб.

Манеж для плідників улаштовують за загальними правилами на відстані не менше 20 м від скотного двора. При взятті сперми необхідно одягати халати іншого кольору, ніж ті, в яких проводили ветеринарно-санітарні обробки. Не можна проводити ветеринарні обробки в манежі й у станку, де беруть від плідника сперму.

3. Вимоги ОП при догляді за жеребцями.

Основні вимоги ОП при утриманні жеребців. Жеребців необхідно утримувати в окремих денниках. Перегородки у денниках роблять суцільними з дощок завтовшки 50-60 мм і висотою 2,5-2,8 м. Передню стінку денника влаштовують із міцними дверима, що відчиняються назовні, завширшки 1-1,2 м. Стінку на висоту 1,5 м роблять із суцільних дощок, а вище ґратчастою. Годівниця повинна бути обладнана з боку проходу. Вікна розміщують на висоті 2,0 м, а із середини вставляють міцні ґрати або сітку. Денник із конем необхідно закривати на засув.

Неспокійних жеребців потрібно утримувати в денниках, розміщених в одному кінці стайні, ближче до виходу. Чистити й виводити таких жеребців слід окремо, коли решта коней перебувають у денниках і коридор стайні вільний.

На кожного жеребця повинен бути комплект міцних поводів із карабінами та вуздечками з простими вудилами, недоуздром із підборідним кільцем.

Не дозволяється стояти на шляху переміщення жеребців, залишати неосвітленими проходи або будь-які ділянки (навіть не робочі) у приміщеннях, де утримують жеребців.

Вимоги ОП при взятті сперми у жеребця. Різкі окрики й побої жеребців, особливо у манежі, відчуття болю, що виникає при неправильній підготовці штучної вагіни, порушення техніки взяття сперми часто призводять до появи у плідників захисних рефлексів відносно скотаря або техника.

Під час взяття сперми не можна завдавати жеребцеві болю різкими рухами вагіни вбік, не можна знімати її зі статевого члена після еякуляції доти, поки жеребець не стане передніми ногами на підлогу. При цьому не можна допускати різких і сильних окриків, категорично не дозволяється бити і дратувати жеребця.

При взятті сперми необхідно одягати халати іншого кольору, ніж ті, в яких проводили ветеринарно-санітарні обробки. Не можна проводити ветеринарні обробки в манежі й у станку, де беруть від плідника сперму.

Не дозволяється виконувати роботу без спеціального одягу, курити й використовувати пахучі речовини на робочому місці. Жеребців дратує також запах алкоголю.

4. Вимоги ОП до приміщення пункту штучного осіменіння.

Всі приміщення пункту штучного осіменіння, обладнання і територію біля пункту необхідно утримувати в чистоті і належному порядку. У приміщенні не повинно бути мух. Не дозволяється вхід до пункту стороннім особам. Щоденно, після закінчення роботи необхідно прибирати всі приміщення, мити станки і підлогу. Приміщення, де проводяться робота з рідким азотом, повинно бути обладнано припливно-витяжною вентиляцією.

Під час роботи в приміщенні, де можлива небезпека підвищеного вмісту азоту, працівників слід забезпечити справними ізолюючими протигазами з відповідними фільтрами. У разі запаморочення внаслідок вдихання парів азоту потерпілого необхідно вивести з приміщення на свіже повітря.

Курити в приміщенні, де заправляють і зберігають рідкий азот, не дозволяється.

Під час заморожування сперми необхідно виконувати загальні правила з безпеки праці з рідким азотом. Під час розморожування сперми в скляних ампулах слід працювати в захисних окулярах або із запобіжним щитком.

Персонал, який працює з рідким азотом, повинен бути в халатах, захисних окулярах або щитках із органічного скла та рукавицях. Одяг має бути без кишень, штани — без манжет і закривати верх взуття, рукавиці — сухими і вільно одягатися на руки. Одяг слід підбирати за зростом і розміром, повністю заправляти і застібати.

5. Вимоги ОП при роботі з кріогенним обладнанням.

При роботі з кріогенним обладнанням (посудинами Дьюара) слід виконувати такі вимоги:

1. При роботі з посудинами Дьюара необхідно виконувати вимоги експлуатаційної документації.
2. Посудини Дьюара встановлювати не ближче 1 м від нагрівальних приладів.
3. Не допускати падіння посудин Дьюара, а також ударів по них.
4. Горловини посудин повинні бути постійно закриті тільки пінопластовою кришкою, яка входить до комплекту посудини.
5. Не допускати попадання кисню в посудини.
6. Проводити контроль за накопичуванням кисню в рідині, що знаходиться в посудині, і своєчасно її видаляти при досягненні концентрації кисню 15%.
7. Не видаляти збагачену киснем рідину з посудини Дьюара випаровуванням.
8. Не заливати рідкий азот з домішками повітря і рідкого кисню.
9. Під час транспортування цистерн і посудин Дьюара з рідким азотом на автомобілях та інших видах транспорту необхідно закріплювати їх для запобігання падінню.
10. Для витягування із посудини Дьюара замороженої сперми необхідно користуватися попередньо охолодженим металевим корнцангом або великим пінцетом, кінці якого повинні бути щільно обтягнуті поліетиленовою або гумовою трубкою відповідного діаметра. Інструмент має бути попередньо охолоджений у рідкому азоті.
11. Заливати рідкий азот у посудину Дьюара (коли температура всередині її відповідає температурі навколишнього середовища) слід повільно. При цьому кінець гнучкого шланга повинен бути опущений до дна.
12. Заправляти посудини рідким азотом не дозволяється одному працівникові.
13. Забороняється відігрівати посудини Дьюара, які втратили вакуум і вибиваються шаром наморозі, у приміщенні, де можливе перебування людей. Такі посудини необхідно відігрівати в ізольованих приміщеннях не менше ніж 3 доби.