**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
НАУКИ И КАДРОВ**

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
“ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ”**

КАФЕДРА АКУШЕРСТВА И ТЕРАПИИ

КОЗЕЛ А.А.

КУРС ЛЕКЦИЙ

по дисциплине:

“БИОТЕХНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦЫ”

Для студентов факультета ветеринарной медицины
дневной и заочной форм обучения,
специальность 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина»

Гродно, 2013

ЛЕКЦИЯ № 1

История развития, современное состояние и задачи искусственного осеменения и воспроизводства стада.

Вопросы лекции

1. История развития искусственного осеменения.
2. Значение и задачи искусственного осеменения самок сельскохозяйственных животных.
3. Современное состояние искусственного осеменения и воспроизводства стада сельскохозяйственных животных.

Вопрос 1. История развития искусственного осеменения.

История такой отрасли, как биотехника размножения животных начиналась с проведения первых опытов по искусственному осеменению самок сельскохозяйственных животных. Первые упоминания об искусственном осеменении кобыл относятся к 4-му веку до нашей эры, когда в древней Ассирии в половые пути кобылы в охоте был введен пучок конских волос и после ее покрытия извлечен и перенесен в половые пути другой кобылы в охоте, которая забеременела.

До 19 века научные сообщения и практический опыт носили разрозненный характер и только во 2-й половине 19 столетия, были обобщены в ряд учебников по акушерству, которые были изданных в Германии, Англии, Франции.

В 1677 г Антони ван Левенгук при помощи сконструированного им микроскопа наблюдал спермии всех доступных ему млекопитающих, изучал их проникновение в матку после совокупления.

В 1672 г. Ренье де Грааф описал яичниковый фолликул, который более ста лет принимали за яйцо у млекопитающих.

В 1763 году Якоби впервые было проведено искусственное оплодотворение рыб. Спустя более чем 70 лет профессор Коста увеличил процент оплодотворяемости икринок с 8% при естественном оплодотворении до 25% при искусственном.

В 1780-1782 годах Спалланцани и Росси искусственным путем получали сперму от кобелей, оплодотворяли сук и получали живых щенков. Однако их опыты были забыты почти на 90 лет.

В 1825 году Карл Фон Бэр обнаружил яйцеклетку у млекопитающих и человека.

В 1876 году Гертвих и Фоль наблюдали процесс оплодотворения.

В связи с формированием крупных воинских подразделений с большим количеством лошадей возникла необходимость не только в подготовке ветеринарных специалистов но и в разведении большого количества лошадей для армии.

Основоположником метода искусственного осеменения является русский ученый И. И. Иванов, работавший в институте экспериментальной медицины. В 1899 году Иванов И. И. получил заказ от Государственного Коннозаводства заняться разработкой вопроса об искусственном оплодотворении в применении к коннозаводской практике. Опыты проводились в течение 5 лет. Было установлено, что оплодотворяемость кобыл от искусственного осеменения остается достаточно удовлетворительной, различных заболеваний в половой сфере после искусственного осеменения не наблюдалось. В 1908 году при ветеринарной лаборатории министерства внутренних дел было открыто физиологическое отделение, где читались лекции и проводились практические занятия по искусственному осеменению животных.

В 1909-1910 годах искусственное оплодотворение кобыл применялось на конных заводах более чем в 10 губерниях России.

Весной 1910 года в Таврической губернии открывается зоотехническая станция – филиал физиологического отделения Ветеринарной лаборатории Министерства внутренних дел.

Дальнейшее развитие технологии было связано с разработкой новых способов и совершенствованием техники получения спермы.

В 1913 году Дж. Амантеа предложена конструкция искусственной вагины для получения спермы от кобеля.

В 1931 году Мак-Кензи предложил первый более современный прибор для получения спермы от хряков, напоминающий спермособиратель. В этом же году в России в ВИЖе была разработана искусственная вагина для хряков и баранов, а затем и для быков и жеребцов (1932 год).

1937 год был разработан наиболее надежный способ осеменения коров и телок – ректоцервикальный по Датской технологии.

В 1942 году были сконструированы искусственные вагины для получения спермы от баранов и быков, которая использовалась до 70-80-х годов прошлого века. В том же году ИВ для жеребцов с алюминиевым корпусом

В 1960 году создается ИВ с баллонообразным расширением.

Во второй половине прошлого века предложен мануальный способ получения спермы от хряков, который в настоящее время используется в большинстве хозяйств.

Параллельно проходили исследования по сохранению получаемой спермы. В 50-70-х годах разрабатывался способ высушивания спермы.

С 1948 года проводились исследования по замораживанию спермы в жидком кислороде.

В 1950-1951 годах разработан способ замораживания спермы на брусках твердой углекислоты при t=-79°С.

В эти же годы в Англии был разработан способ замораживания спермы в жидком азоте с использованием глицеринсодержащей среды. Оплодотворяемость коров при использовании такой спермы составляла 75%.

Вопрос 2. Значение искусственного осеменения самок сельскохозяйственных животных.

Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных имеет большое значение в системе зоотехнических, ветеринарных и хозяйственно-экономических мероприятий.

Экономическое значение.

1. Снижение стоимости осеменения по сравнению со случкой с 6-15 рублей до 1,5-2 рублей во времена СССР;
2. Уменьшение затрат на содержание самцов-производителей за счет увеличения нагрузки на производителя с 35-40 коров при вольной случке до 5-7 тысяч при ИО, с 20-25 до 300-500 кобыл, с 10-12 до 200-250 свиноматок;
3. Ускоренное качественное улучшение скота и повышение его продуктивности;
4. Снижение непроизводительных затрат на содержание бесплодных животных и снижение яловости;
5. Увеличение производства продукции животноводства и повышение экономической эффективности ведения животноводства в целом;

Зоотехническое значение.

1. Повышение процента оплодотворения осемененных самок за счет использования проверенной спермы, смешанной спермы (в товарном свиноводстве);

2. Улучшение качества потомства за счет более широкого использования ценных производителей;

3. Улучшение качества племенного и породного состава стада разводимых животных (при естественной случке замена низкопродуктивного скота осуществляется в 7-8 раз медленнее);

4. Более точное проведение зоотехнического учета;

5. Проведение обмена генетическим материалом между странами не животными, а спермой или эмбрионами;

6. Выведение новых породы животных (архаромериносовская порода овец, белорусская черно-пестрая порода крупного рогатого скота, белорусский мясной тип свиней);

Ветеринарное значение.

1. Профилактика заразных заболеваний, передающихся при естественной случке (трихомоноз, вибриоз, пузырьковая сыпь, случная болезнь лошадей). Бруцеллез, лептоспироз у крупного рогатого скота явился причиной внедрения искусственного осеменения в Англии);

2. Борьба с яловостью. При искусственном осеменении устанавливается более строгий и точный контроль за состоянием здоровья животных и полового аппарата в частности и у самцов и у самок;

3. За счет снижения бактериальной обсемененности спермы повышается уровень оплодотворяемости и снижается эмбриональная смертность.

4. Восстановление половой функции у животных за счет провоцированного осеменения.

Задачи биотехнологии репродукции сельскохозяйственных животных и птицы

1. Разработка и совершенствование технологии искусственного осеменения крупного рогатого скота, свиней, птицы;

2. Разработка приёмов повышающих оплодотворяемость самок.

3. Совершенствование нейроэндокринной регуляции воспроизводственной способности у животных;

4. Совершенствование методов получения качественной спермы от производителей, и ее сохранения в биологически полноценном состоянии вне организма;

Современные технологии, используемые в репродукции сельскохозяйственных животных и птицы

1. Внедрение технологии трансплантации эмбрионов с целью получения выдающихся потомков для комплектования госплемпредприятий;
2. Техника микрохирургического деления эмбрионов
3. Определение пола у эмбриона
4. Использование технологии получения, культивирования и оплодотворения ооцитов in vitro.
5. Получения потомков желаемого пола;
6. Получение химерных животных;
7. Клонирование животных;
8. Получение трансгенных животных.

Вопрос 3. Современное состояние репродукции сельскохозяйственных животных и птицы

На становление и развитие искусственного осеменения большое влияние оказали достижения и открытия в таких областях смежных дисциплин как физиология, эндокринология, иммунология, что позволило управлять процессами размножения сельскохозяйственных животных. В настоящее время большой прогресс достигнут в разработке и совершенствовании метода искусственного осеменения, трансплантации эмбрионов. Внедряется новый способ оценки качества спермиев по состоянию акросом спермиев. Для совершенствования бел ЧП породы КРС завозятся нетели из Венгрии (чистая страна), а также быки-производители из Венгрии, Дании, Швейцарии, закупается сперма в Европейских странах, Канаде, США, в том числе и сперма, разделенная по полу.

В 2004 году в свиноводстве республики было выбрано направление разведения свиней мясного направления продуктивности. С этой целью проводились закупки спермы и хряков пород ландрас, дюрок, пьетрен, йоркшир в ряде европейских стран. В настоящее время на 6 племенных предприятиях республики используются быки-производители черно-пестрой и голштинской пород с продуктивностью матерей от 10 тыс. кг и выше. Ежегодная реализация на внутреннем рынке составляет более 6 млн. доз спермы. Кроме того, име-

ются возможности поставлять за пределы республики не менее 0,5 млн. доз.

В 4 областях построены станции искусственного осеменения свиней. Они укомплектованы хряками-производителями пород йоркшир, ландрас, дюрок и пьетрен. На сегодняшний день имеющееся количество хряков обеспечивает около 40% потребности республики в спермопродукции.

Таблица 1. Современное состояние воспроизводства крупного рогатого скота (на 01.01.2012 г.)

Показатели	Области						РБ
	Бр.	Вит.	Гом.	Гр.	Мин.	Мог.	
Поголовье коров, тыс. гол.	252,6	201,3	203,5	184,2	296,6	168,5	1306,7
Искусственно осеменено коров во всех категориях хозяйств, тыс. гол.	368,4	366,4	305,5	302,5	474,6	247,1	2064,5
Индекс осеменения	1,46	1,82	1,5	1,64	1,6	1,47	1,58
Браковка коров, %	32,0	29,8	19,0	37,0	37,0	30,0	31,0
Браковка коров, тыс. гол.	77,5	59,1	35,1	63,3	105,1	46,9	387
Осеменено тёлок, тыс. гол.	115,4	108,0	82,4	92,1	138,5	74,9	611,3
Среднесуточный прирост ж.м. рем. телок, г	616	558	607	659	579	637	609
Процент охвата искусственным осеменением, %							
коровы	99,0	100,0	97,0	100,0	100,0	97,0	100,0
телки	100,0	99,1	93,0	99,0	100,0	92,0	98,0
скот населения	65,0	73,8	76,0	42,0	77,0	68,0	97,0
Выход телят, %							
на 100 коров и нетелей	96	94	99	101	91	98	96
на 100 коров	78	80	84	85	79	85	82

Таблица 2. Современное состояние воспроизводства свиней (на 01.01.2012 г.)

Показатели	Области						РБ
	Бр.	Вит.	Гом.	Гр.	Мин.	Мог.	
Поголовье свиноматок, тыс. гол.	36,8	46,9	32,5	56,2	69,7	33,5	275,6
Искусственно осеменено свиноматок и свинок, тыс. гол.	103,3	124,8	75,6	148,5	158,4	52,2	662,8
% охвата искусственным осеменением	93,0	97,0	86,0	92,0	76,0	67,0	85,2
Опоросилось свиноматок всего, тыс. гол.	81,5	96,2	68,1	123,6	144,3	55,2	568,9
Выход поросят на 100 основных и проверяемых маток, гол.	2803	2801	3185	3302	3244	2429	2961

.

ЛЕКЦИЯ № 2

Половой цикл у самок сельскохозяйственных животных. Его естественная и искусственная регуляция

Вопросы лекции

1. Половая, соматическая и физиологическая зрелость у самок. Сроки ее наступления.
2. Механизм естественной регуляции половой функции у самок.
3. Половой цикл, его стадии и феномены. Время их наступления и продолжительность.
4. Особенности течения полового цикла у самок различных видов сельскохозяйственных животных.
5. Способы искусственной регуляции половой функции у самок.

Вопрос 1. Половая, соматическая и физиологическая зрелость у самок. Сроки ее наступления.

Самки способны к воспроизводству потомства на протяжении всего репродуктивного периода своей жизни. Этому периоду предшествует наступление периода полового созревания, во время которого происходит рост и развитие половых органов. Это происходит постепенно, по мере общего роста и развития организма. Вследствие развития гипофиза и его гормонального действия происходит увеличение размеров и массы яичников, увеличение размера фолликулов. Созревающие фолликулы вырабатывают половые гормоны (эстрогены), контролирующие рост и развитие органов полового аппарата, приводят его в состояние функциональной готовности.

Под **половой зрелостью** понимают достижение молодым, растущим животным и его половыми органами такой степени развития, при котором животное становится способным к размножению и воспроизведению потомства. С наступлением половой зрелости половые органы достигают полного развития, что характеризуется появлением в крови половых гормонов, созреванием половых клеток и возникновением половых рефлексов. У самок возникают половые циклы со всеми фазами, у самцов проявляются половые рефлексы.

У самок половое созревание не заканчивается первой охотой и овуляцией. Постепенно устанавливается характерная для данного вида ритмичность проявления половой функции, происходят качественные и количественные изменения в половых органах (увеличивается число овулирующих в яичниках фолликулов, снижается гибель яйцеклеток, увеличивается количество нормальных эмбрионов и живых плодов при рождении).

Время наступления половой зрелости зависит от вида, породы, условий кормления и содержания животных, состояния их здоровья, сезона рождения и других факторов.

Половая зрелость наступает раньше, чем заканчивается основной рост и формирование организма животных.

Под **физиологической зрелостью** понимают завершение основного роста и развития, приобретение особью черт, характерных для взрослых животных данного вида (табл. 3).

Таблица 3. Сроки наступления половой и физиологической зрелости у животных.

Вид животного	Половая зрелость		Физиологическая зрелость	
	возраст, мес.	живая масса самок, кг	возраст, мес.	живая масса самок, кг
Крупный рогатый скот	8-12 (6-18)	160-270	15-22	380-400
Свиньи	5-7	68-90	10-12	110-130
Овцы, козы	5-8	27-34	12-13	38-45
Лошади	15-24	270-300	30-36	370-450
Собаки	6-10	-	11-18	-
Кошки	4-6	-	10-15	-
Кролики	3,5-4,5	2,8-3,2	4,5-5,5	3,6-3,8

Для дальнейшего воспроизводства допускаются самки, достигшие физиологической зрелости и живой массы тела не менее 70% от массы взрослых животных данной породы.

Соматическая зрелость – достижение организмом самки живой массы достаточной для наступления первого оплодотворения в возрасте более раннем, чем наступает физиологическая зрелость.

Преждевременное половое использование, особенно самок, за-

держивает общее развитие организма животных, обуславливает рождение слабого потомства, вызывает патологические роды вследствие узости таза. Длительное отсутствие оплодотворения после наступления возраста физиологической зрелости может приводить к снижению проявления репродуктивных функций и наступлению бесплодия (табл. 4).

Таблица 4. Оплодотворяемость телок в зависимости от возраста наступления физиологической зрелости (по данным ЛРСУП “Можейково” Лидского района Гродненской области

Показатели	Группы телок				
	1	2	3	4	5
Возраст телок при достижении физиологической зрелости, мес.	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**
Средний возраст телок в группе при первом осеменении, дн.	462,04 ± 3,78	490,8 ± 2,58	525,28 ± 2,35	556,09 ± 2,23	583,7 ± 2,05
Количество осеменений по группе, n	14	16	22	35	31
Оплодотворилось после 1-го осеменения, n / %	10 / **83,3%**	12 / **85,7%**	15 / **83,3%**	19 / **73,1%**	15 / **68,2%**
Оплодотворилось после 2-го осеменения, n / %	2 / 16,7%	2 / 14,3%	2 / 11,1%	5 / 19,2%	5 / 22,7%
Оплодотворилось после 3-го осеменения, n / %	-	-	1 / 5,6%	2 / 7,7%	2 / 9,1%
Индекс осеменения	1,17	1,14	1,22	1,35	1,41

Вопрос 2. Механизм естественной регуляции половой функции у самок

Основная роль в регуляции воспроизводительной функции отводится центральной нервной системе, гипоталамусу, гормонам гипофиза и половых желез, эндометрию.

Элементы, участвующие в регуляции половой функции у самок

Внешние факторы:

Температура, свет, наличие корма, наличие самца, его звуки и ферромоны;

Внутренние факторы:

Наличие и концентрация различных гормонов в крови;

Гипоталамус:

Рилизинг фактор – гонадотропин-рилизинг гормон (Гн-РГ) стимулирует выработку в гипофизе ФСГ и ЛГ

Гипофиз:

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) – стимулирует рост и развитие фолликула в яичнике

Лютеинизирующий гормон (ЛГ) – стимулирует овуляцию фолликула и образование желтого тела полового цикла

Яичник:

Растущий фолликул – эстрогенные гормоны – вызывает проявление признаков половой охоты, выделение течковой слизи, подготовку эндометрия к принятию спермы и яйцеклетки, стимулирует моторику матки

Желтое тело – прогестерон – угнетает моторику матки, подготавливает эндометрий к имплантации зародыша, стимулирует синтез эндометрием эмбриотрофа (маточного молочка)

Эндометрий:

Простагландин $Ф_2$-α – при отсутствии оплодотворения и имплантации вызывает рассасывание желтого тела полового цикла

Механизм естественной регуляции половой функции у самок

Гипоталамус – контролирует взаимодействие нервной и эндокринной систем. Благодаря рецепторными свойствам центральной нервной системы, гипоталамус воспринимает внутренние сигналы о состоянии организма (t, наличие и концентрация различных гормонов в крови) и из окружающей среды (t, свет, наличие корма, наличие самца, его звуки и ферромоны) анализирует и преобразует их в биологически активные вещества, называемые рилизинг-гормонами. Под влиянием различных раздражителей из гипоталамуса происходит выделение Гн-РГ в переднюю долю гипофиза, что вызывает секрецию ФСГ и ЛГ (рис. 1).

С 16 по 19 день полового цикла у коров, на 12-14 день у кобыл, на 15 день у овец и свиней уменьшается концентрация прогестерона в крови. Наблюдается первый выброс в гипофиз Гн-РГ, который стимулирует синтез ФСГ. Это способствует возобновлению роста фолликулов. По мере роста их стенка вырабатывает эстрогенные гормоны (эстрадиол, эстриол, эстрон). Они усиливают кровоснабжение тканей половых органов, способствуют разрастанию слизистой оболочки матки и влагалища и начинается подготовка эндометрия к принятию зародыша. Увеличивается секреция слизи, повышается тонус матки, она становится более устойчивой к инфекциям. Увели-

чение концентрации эстрогенов вызывает изменения в поведении животного, на характерные для течки и половой охоты. По мере роста фолликула увеличивается концентрация ингибина, который совместно с эстрогенами способствует снижению секреции ФСГ в гипофизе.

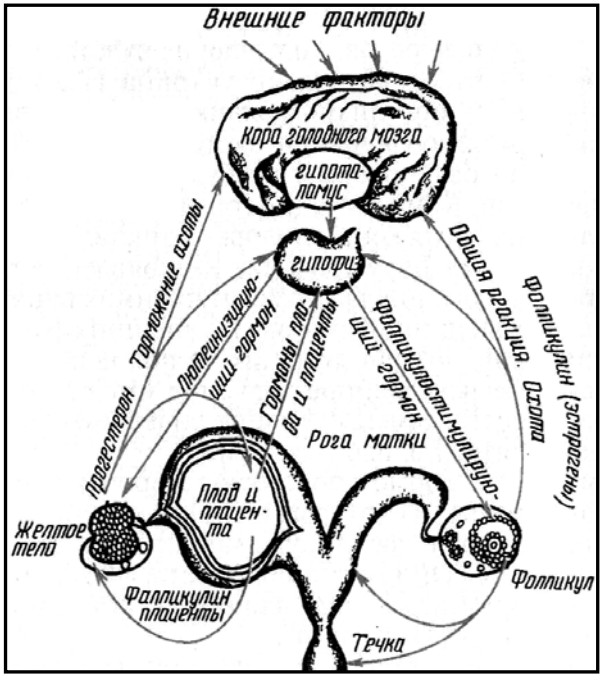

Рис. 1. Схема регуляции половой функции у самок (по А. П. Студенцову)

Затем наступает повторный выброс Гн-РГ, который стимулирует синтез ЛГ. К этому времени происходит затухание признаков охоты у самок. Лютеотропный гормон способствует наступлению овуляции, перерождению фолликулярных клеток в лютеальные и образованию желтого тела на 4-5 день после охоты. По мере формирования желтого тела происходит увеличение концентрации прогестерона. Он способствует превращению эндометрия их пролиферативного (нарастающего, созревающего) в секреторный. Повышается активность желез эндометрия, которые начинают синтезировать эмбриотроф (маточное молочко). Повышается ворсинчатость эпителия. Все это способствует прикреплению зародыша. Шейка матки и вла-

галище выделяют более густую слизь, которая закупоривает цервикальный канал. Также прогестерон препятствует возникновению самопроизвольных сокращений матки, понижает чувствительность миометрия к веществам, вызывающим ее сокращение. Высокая концентрация прогестерона тормозит выделение ФСГ и развитие новых фолликулов, способствует развитию альвеолярной системы вымени.

С 13 дня у овец и свиней по 16-17 день после осеменения у коров, кобыл и коз наступает распознавание зародыша организмом самки. Сам зародыш синтезирует трофобластный протеин, который блокирует синтез простагландина-$F_2\alpha$ слизистой оболочкой матки и, тем самым, препятствует рассасыванию желтого тела полового цикла и прерыванию беременности. При отсутствии протеина происходит эпизодическое выделение простагландина эндометрием, который препятствует синтезу прогестерона и способствует рассасыванию желтого тела полового цикла. На фоне низкой концентрации прогестерона гипоталамус снова выделяет Гн-РГ и процесс повторяется.

У беременных животных лютеолитический эффект эндометрия устраняется наличием плода. После естественного окончания беременности происходит восстановление эндометрия, который в норме на 15-17 день после отела начинает синтезировать простагландин.

Вопрос 3. Половой цикл, его стадии и феномены. Время их наступления и продолжительность.

С достижением половой зрелости у самок проявляется инстинкт спаривания, половые железы вырабатывают полноценные яйцеклетки, половой аппарат подчиняется определенному функциональному ритму. Процессы, которые лежат в основе этого ритма и его обусловливают, происходят в гипофизе и яичниках и контролируются гипоталамусом. Под **половым циклом следует понимать все многообразие структурных и функциональных изменений, происходящих в половом аппарате, эндокринной и других системах организма самки от одной половой охоты до другой (или от одной овуляции до другой).**

Половой цикл у самок – процесс стадийный. По Хиппу (1900 г) он состоит из 4-х стадий: проэструса, эструса, метэструса, анэструса.

Проэструс – это период подготовки половых путей и организма самки к плодотворному осеменению. Характеризуется ростом от-

дельных фолликулов, усилением кровоснабжения половых органов под действием эстрогенов, повышением активности маточных желез и увеличением секреции слизи.

Эструс (от греческого слова – неистовство) – завершение полового цикла, характеризующееся готовностью самки к осеменению и оплодотворению. Проявляется половая доминанта и самка стремится к спариванию.

Метэструс – период затухания половой активности. Прекращается половая охота, на месте овулировавшего фолликула формируется желтое тело.

Диэструс – период между следующими один за другим половыми циклами. Характеризуется наличием функционирующего желтого тела полового цикла, повышением активности маточных желез и секрецией эмбриотрофа, расслаблением миометрия.

Анэструс – это период функционального покоя половой системы, в течение которого развитие фолликулов не происходит или слабо выражено.

Студенцов А. П. (1953), на основании поведенческих реакциях самки и изменениях в репродуктивных органах, разделил половой цикл на 3 стадии: возбуждения, торможения, уравновешивания.

Стадия возбуждения – период яркого проявления основных феноменов полового цикла, которые возникают и проявляются не одновременно, но протекают взаимосвязано.

Феномены полового цикла:

1. Течка (эструс) - процесс выделения слизи из половых органов. Характеризуется гиперемией полового аппарата, отторжением поверхностных эпителиальных клеток, образованием и разрастанием секретирующих клеток и желез эндометрия.

2. Половое возбуждение (общая реакция) - изменение в поведении самки, характеризуется беспокойством, отказом от корма, проявлением положительной реакции к самцу, прыжками на него или других самок, но садку самца на себя еще не допускает.

3. Охота (половая охота, либидо) - положительная сексуальная реакция самки на самца. Самка принимает позу для спаривания, часто мочится, допускает садку и коитус.

4. Овуляция – процесс выделения в просвет яйцевода зрелой яйцеклетки из вскрывшегося фолликула.

Стадия торможения – период постепенного угасания феноменов стадии возбуждения. Характеризуется формированием желтых

тел в яичниках, началом их гормональной функции и подготовкой матки к принятию и имплантации зародыша.

Стадия уравновешивания – период отсутствия признаков течки и охоты, реакции к самцу. В яичниках отсутствуют зреющие фолликулы и присутствуют желтые тела, синтезирующие прогестерон.

Общая продолжительность полового цикла зависит от срока функционирования желтых тел (табл. 5)

Таблица 5. Характеристика продолжительности половых циклов у самок.

Животные	Время наступления после родов, дн.	Продолжительность		Время наступления овуляции
		полового цикла, дни	охоты, ч	
Корова	19-28	19-24 (21)	10-20	Через 11-12 ч после охоты
Свинья	19-20 после опороса, 4-5 после отъема поросят	18-24 (20-22)	36-96 (48-72)	Через 30-40 ч от начала охоты
Овца	15-30 дн. (1,5-2 мес.)	14-19 (17)	24-40	Через 24-32 ч от начала охоты
Кобыла	5-9	20-22	96-168	За 2 ч до конца охоты

Половые циклы самок разделяют на полный (полноценный) и неполный (неполноценный). При полном половом цикле в стадии возбуждения полноценно и последовательно проявляются все феномены. При неполном отдельные феномены стадии возбуждения проявляются слабо или полностью выпадают. В связи с этим различают следующие виды неполноценных половых циклов.

1**. Анэстральный –** отсутствует течка;

2. **Алибидный –** отсутствует охота ("тихая охота");

3. **Ареактивный –** отсутствуют признаки общей реакции;

4. **Ановуляторный** – отсутствует овуляция. Оплодотворение невозможно.

Неполноценные половые циклы могут быть смешанные (ареактивно-ановуляторные и др.).

Также половые циклы разделяются на:

1. **Ритмичные** – когда длительность каждого последующего цикла соответствует предыдущему;

2. **Аритмичные** – когда циклы нормальной продолжительности чередуются с удлиненными или укороченными.

Вопрос 4. Особенности течения полового цикла у самок различных видов сельскохозяйственных животных

Особенности чередования и продолжительности половых циклов у самок зависят не только от вида самок, но и от условий их существования. Улучшая условия можно моноцикличных животных превратить в полицикличных. При ухудшении условий существования продолжительность полового цикла нередко удлиняется, и полицикличные животные могут стать временно близкими к моноцикличным или к животным с выраженной сезонностью размножения.

Видовые особенности течения полового цикла у самок.

Коровы. Полициклические животные. Первый половой цикл после отела может быть укорочен из-за недостаточной активности желтого тела. До 70% коров в первую охоту после отела могут проявлять “тихую охоту”. С возрастом продолжительность охоты увеличивается, признаки проявляются ярче. В жаркое время охота укорачивается. У 4-5% коров овулируют 2 фолликула. Около 60% овуляций происходит в правом яичнике. В 85% случаев овуляция наступает в вечерне-ночное время. Желтое тело формируется на 4-й день после овуляции. У отдельных (особенно у высокопродуктивных) коров период половой охоты укорочен до 20-30 минут.

Овцы и козы. Наблюдается несколько подряд повторяющихся половых циклов, но чаще весной и осенью, затем они временно прекращаются. При хороших условиях содержания могут проявляться в течение всего года. После весеннего ягнения половая охота наступает позднее, после осеннего – раньше. Охота проявляется у овец менее ярко и определяется бараном-пробником. У старых маток охота короче, чем у молодых. В начале полового сезона она также короче, чем в разгар. В прохладные месяцы продолжительнее, чем в теплые.

Свиньи. Во время подсоса охота обычно отсутствует и проявляется только через 4-6 дней после отъема поросят. При раннем отъеме (15-20 дней) период до наступления охоты удлиняется, увеличивается частота образования кист. Повышение уровня кормления после отъема ускоряет наступление охоты, увеличивает число овулирующих фолликулов, оплодотворяемость и количество поросят. В

яичниках овуляторной зрелости достигают до 20 фолликулов, овулируют 14-17, оплодотворяемость около 70%.

Кобылы. Животные полицикличные, но чаще половая охота проявляется с февраля по июль-август. Первая охота после выжеребки короче, наступает на 5-9 день и продолжается 2-4 дня. В это время стараются провести покрытие кобылы. Овуляция происходит в области овуляционной ямки яичника. Признаки охоты ярко выражены, наблюдается мигание половой щели, кобылы становятся непослушными.

Вопрос 5. Методы искусственной регуляции половой функции у самок.

Использование различных методов искусственной регуляции воспроизводительной функции у самок во многих случаях сводится к введению в организм животного различных препаратов, которые являются синтетическими аналогами участвующих в регуляции гормонов гипоталамуса, гипофиза, яичников, эндометрия (табл. 6).

Таблица 6. Синтетические аналоги гормонов, участвующих в регуляции воспроизводительной функции у самок

Гормоны организма	Его синтетические аналоги
Гонадотропин-рилизинг гормон	Сурфагон, Фертагил, Гонавет-Вейкс
Фолликулостимулирующий гормон	ФСГ-Супер, Pluset, Ovagin, FSG-P, Folltropin, Фолликотропин и др.
Лютеинизирующий гормон	Хорулон
Эстрогенные гормоны	Агофоллин, Руфолон, Синестрол
Прогестерон	2%-й масляный раствор прогестерона, Крестар (имплантант)
Простагландин Ф2-α	Тимэстрофан, Магэстрофан, Фертадин, Биоэстровет, Эструмейт, Энзапрост

Основные направления в регуляции воспроизводительной функции у самок

1. Восстановление половых циклов.

При гипофункции яичников у коров.

1. Внутримышечно 5-10 мл Сурфагона (в зависимости от степени гипофункции), КМП – 10-15 мл, витамины – 10 мл, АСД-2 – 2 мл. Дополнительно – Агофоллин -1-2 мл.

2. Препараты ФСГ – 10-15 мг (10-15 Арм. ед.)

При персистенции желтого тела или лютеиновых кистах у коров.

Внутримышечно препараты простагландинового ряда: Эстрофан, Эструмейт, Эстрофантин, Биоэстрофан – по 2 мл, Магэстрофан – по 3-4 мл. Тимэстрофан – по 5-7 мл.

При фолликулярных кистах яичников у коров.

Отдавливание кисты. Внутримышечно 6-7 мл 2%-го раствора прогестерона, в последующие 3 дня – по 5-6 мл.

2. Синхронизация половой охоты.

В скотоводстве.

1. Внутримышечно препараты простагландинового ряда, через 10-11 дней не пришедшим в охоту повторно.

2. Введение прогестерона (по 2 мл) в течение 16-19 дней. Охота наступает через 2-6 дней после прекращения инъекций. Имплантанты с прогестероном (Крестар) – на 7-12 дней. Охота наступает через 2-3 дня после их удаления.

В свиноводстве.

1. Скармливание препарата Суисинхрон или эвертас в течение 20 дней по 5 г/гол ежедневно. Охота наступает через 4-5 дней поле прекращения дачи препарата.

2. В день отъема или на 8-й день после отъема, если охота не наступила, внутримышечно препарат ПГ-600 или Фертипиг.

3. Вызывание многоплодия

В скотоводстве. Препараты ФСГ – 8-15 мг. В скотоводстве стимулирование многоплодия связано с определенной опасностью. Организм коров по разному может отреагировать на экзогенный ФСГ. У одних животных внутримышечное введение такой дозы гормона может и не вызвать какую-либо ответную реакцию со стороны яичников. У других животных может вырасти и овулировать 2-3 и более фолликулов. Многоплодная беременность у коров связана с опасностью рождения мертвых, недоношенных, ослабленных и нежизнеспособных телят.

В овцеводстве. Пропускают первую охоту, через 14-15 суток СЖК по 1000 ме.

В свиноводстве. В период осеменения внутримышечно по 5-10 мл йод- и железосодержащих препаратов и Сурфагон – 10-15 мкг/гол. (2-3 мл).

4. Коррекция времени овуляции;

В скотоводстве. В период охоты по 2 мл (10 мкг) Сурфагона. Оплодотворяемость может повышаться на 10-20%, особенно летом.

В свиноводстве. 10-15 мкг сурфагона ускоряет овуляции на 5 ч.

ЛЕКЦИЯ № 3.

Получение спермы от самцов-производителей сельскохозяйственных животных.

Вопросы:

1. Классификация способов получения спермы от производителей и их характеристика.
2. Особенности получения спермы от самцов-производителей сельскохозяйственных животных. Режим полового использования самцов.

Вопрос 1. Классификация способов получения спермы от производителей и их характеристика.

Получение спермы является важным элементом в технологии искусственного осеменения. Правильное его проведение определяет общий успех использования метода искусственного осеменения. К получению спермы предъявляются определенные требования, как в отношении безопасности для здоровья производителей, так и в отношении количества и качества получаемой спермы. При взятии спермы необходимо:

1. Получить весь эякулят не загрязнив его:
2. Не причинить болевых ощущений самцу и не травмировать его;
3. Не допустить заражения производителя.

Все существующие способы получения спермы в той или иной степени отвечают предъявляемым требованиям.

В зависимости от вида животных, а также технологических особенностей использования производителей, времени разработки способа, индивидуальных особенностей производителей все способы разделяются на 3 группы:

1. Влагалищные.

1. Собственно влагалищный;
2. Губочный.

2. Уретральные.

1. Мастурбации;
2. Фистульный;
3. Спермособирателя;
4. Массаж ампул семяпроводов;

5. Электроэякуляции;

6. На искусственную вагину (проссолятор);

7. Мануальный.

3. Хирургические.

1. Отсасывание шприцом сперматогенной массы семенника и придатка семенника.

2. Измельчение семенника, удаление семени

Характеристика способов получения спермы

1.1. Собственно влагалищный. После естественной садки на здоровую самку в охоте сперму из влагалища извлекают шприцем, ложкой, при помощи влагалищного зеркала или рукой.

1.2. Губочный. Впервые предложен И. И. Ивановым. Обеззараженную греческую губку вводят во влагалище. После садки. губку извлекают и выжимают сперму рукой или прессом.

Недостатки: потери эякулята, загрязнение спермы, возможность распространения возбудителей. Не применяется, но может быть использован для оценки качества спермы у производителей в товарном хозяйстве.

2.1. Способ мастурбации заключается в механическом раздражении головки пениса рукой через кожу препуция в помещении, где находится самка в охоте. Может применяться для получения спермы от кобелей и лисов.

2.2. Фистульный. В промежность жеребца, на 10-12 см ниже ануса, вшивают фистулу в мочеполовой канал. Во время садки сперму получают через очищенную и продезинфицированную фистулу в подставленную посуду. Указанный способ практического использования не получил, но позволяет получать практически стерильную сперму.

2.3. С помощью спермособирателя. Сперму получают в резиновый мешок – спермособиратель, который вводят во влагалище перед садкой или надевают на половой член перед садкой. Практического применения не получил из-за быстрого остывания спермособирателя, а также из-за частых разрывов его резиновой стенки.

2.4. Массаж ампул семяпроводов. Предварительно быка или жеребца выдерживают возле самки в охоте, чтобы ампулы наполнились сперматозоидами из придатков. В прямую кишку на глубину 20-25 см вводят руку, находят ампулы семяпроводов и пузырьковидные железы, поглаживают их в течение 2-3 минут. Сперму собирают в

подставленную стерильную емкость. Недостатки: может произойти травмирование прямой кишки, повреждение пузырьковидных желез или отрыв ампул семяпроводов.

2.5. Способ электроэякуляции. Электроды вводят в прямую кишку быкам на глубину до 30 см, а баранам – на 7-15 см. Подают напряжение для быка – от 10 до 30 вольт силой 500-700 мА в течение 5 секунд с паузами в 5-10 секунд. Для баранов – 4-8 вольт при силе тока 1,5-2 мА. Каждый последующий импульс тока на 1-2 секунды продолжительнее, а паузы на 1-2 секунды короче.

Применяют в случае невозможности получения спермы на искусственную вагину (очень большой вес, старость, болезни копыт, поражение суставов, связок и мышц тазовых конечностей, анатомические дефекты и новообразования полового аппарата, торможение половых рефлексов).

2.6. На искусственную вагину. Наиболее распространенный. Получают от производителей всех видов с.-х. животных и птиц. Позволяет наиболее полно имитировать все условия, характерные для полового аппарата самок и процесса естественной случки:

А. Температура, близкая к температуре тела животного (40-42°). Создается за счет теплой воды в межстенном пространстве.

Б. Определенное давление (40-50 мм рт. ст.). Создается за счет столба воды в ИВ для жеребцов и быков (в ИВ с алюминиевым корпусом), а также накачиванием воздуха в межстенное пространство (для быков, хряков, баранов). К давлению особо чувствительны хряки, при его снижении тормозится эякуляция.

В. Скольжение. Создается за счет смазывания внутренней поверхности резиновой камеры разбавителем для спермы.

2.7. Мануальный. Используется для получения спермы от хряка. Соответствующие условия, особенно давление, обеспечивается за счет сжимания пениса пальцами руки в перчатке. При усилении совокупительных движений усиливают давление. Сперму получают в стерильный теплый спермоприемник, покрытый 3-4 слоями стерильной марли.

Особенностью процесса эякуляции у хряков является то, что хряки отдают сперму тремя фракциями, которые отличаются между собой по цвету и консистенции. При таком способе получения спермы очень удобно собирать вторую фракцию спермы, наиболее богатую спермиями. От первой и третьей фракций она отличается более жидкой консистенцией и белым цветом.

3.1. Отсасывание шприцом спермиев из придатка семенника. У пушных зверей и диких животных спермии извлекают из хвоста придатка семенника после прокола иглой, соединенной со шприцем.

3.2. Измельчение семенника, удаление семени. Вымывают спермии специальными разбавителями из отпрепарированных и измельченных придатков после кастрации или смерти производителя. Оценивают качество спермиев и осеменяют самок. Такую сперму ранее называли “искусственная сперма”. Таким путем получали сперму от отстреленных в горах диких баранов-архаров на первых этапах выведения ценной породы овец архаромериносов.

Вопрос 2. Особенности получения спермы от самцов-производителей сельскохозяйственных животных. Режим полового использования самцов.

Одним из факторов получения полноценных эякулятов является правильный режим полового использования самцов-производителей. Обращают внимание на вид животного, возраст, индивидуальные особенности (тип высшей нервной деятельности). Садки не должны быть частыми (ухудшается качество и количество спермы) и не должны быть редкими (сперматозоиды стареют, снижается активность семенников).

Быки: Молодых быков начинают использовать с 10-12 месяцев, не позднее 15 мес. и предоставляют 2 садки в декаду. При высокой спермопродуктивности используют дуплетом. Взрослых быков используют один раз в 2-3 дня – дуплетом с интервалом в 5-10 мин, но не более 15 мин.

Бараны: За 1,5 месяца до наступления случного сезона начинают получать сперму 1 раз в 5 дней и оценивают ее качество. В случной сезон получают 2-3, от лучших производителей по 4 эякулята ежедневно.

Хряки: Приучают к садке на чучело с 8-10 мес. при массе 130-140 кг. Получают: от молодых – 1 раз в 10 дней. От взрослых 1 раз в 3-4 дня при умеренном режиме. При интенсивном – 1 раз в 2 дня, но через 20 дней дают отдых 8-10 дней.

Жеребцы: Начинают использовать с 2-3 лет. От взрослых сперму получают 1 раз в день, от лучших – 2 раза, но через 5-6 дней предоставляют 1-2 дня отдыха.

ЛЕКЦИЯ № 4

Свойства спермы сельскохозяйственных животных

Вопросы лекции

1. Сперма и ее состав. Физические свойства и химический состав спермы.
2. Биологические свойства спермы.
3. Влияние различных факторов на качество и сохранность получаемой спермы.

Вопрос 1. Сперма и ее состав. Физические свойства и химический состав спермы.

Сперма – сложная по составу биологическая жидкость, состоящая из спермиев и плазмы (секрета придатков семенников и придаточных половых и уретральных желез. Соотношение между ними зависит от вида животных, условий кормления, содержания и эксплуатации, техники получения спермы.

Семенная плазма - продукт в основном придаточных желез, который стабилизирует оболочку спермиев, разбавляет и питает спермии, стимулирует их активность. Кроме того, плазма содержит ферменты, растворяющие акросому, простагландины, андрогены, антиагглютинины (в секрете простаты); аскорбиновую кислоту, фруктозу, лимонную кислоту.

Концентрация спермиев в расширенной части придатка семенника более или менее одинакова у всех производителей и колеблется от 3 до 5 млрд. в 1 мл. Во время эякуляции густая масса спермиев из придатка разбавляется секретами придаточных половых желез.

В зависимости от вида животных и типа естественного их осеменения состав эякулята различается (табл. 1).

Таблица 1. Соотношение плазмы и спермиев в эякулятах самцов-производителей

Вид животных	Объем спермиев	Объем плазмы всего	Степень разбавления в ампулах семяпровода
Быки	14%	86%	4-6 раз
Бараны	30%	70%	2-2,5 раза
Хряки	2-5%	95-97	20-45 раз
Жеребцы	1,75—2%	до 98%	30-50 раз

Физические свойства спермы.

Удельный вес спермы в пределах 1,2-1,4 г/см^3.

Вязкость спермы составляет от 2 до 11 единиц (вязкость воды 1). У быков при концентрации спермиев в 1 млрд. в 1 мл составляет 3,5-4, а при концентрации до 2 млрд. и больше достигает 7-10 и даже 11. Вязкость сыворотки спермы в среднем равна 1,8-2,2. Вязкость спермы зависит от концентрации спермиев, состояния производителей, условий их кормления и содержания, техники получения спермы и качества секретов придаточных половых желез.

Осмотическое давление спермы. Определяется количеством растворенных в плазме минеральных и органических веществ и колеблется в пределах 6,7-8,7 атм.

Химические свойства спермы.

Химический состав спермы зависит от состава секретов придаточных половых желез и концентрации спермиев (табл. 2).

Таблица 2. Химический состав спермы производителей.

Вещества	Содержание в сперме			
	быка	барана	хряка	жеребца
Вода, %	90	85	95	98
Сухое вещество, %	10	15	5	2
В том числе:				
Белок, г/100 мл	5,8	10	3,8	1,04-2,28
Фруктоза, мг/100 мл	540	442	22	5
Глюкоза, мг/100 мл	73	43	26	25
Липиды, мг/100 мл	152,4	440,7	29,1	42
Лимонная кислота, мг/100 мл	720	137	130	26
Молочная кислота, мг/100 мл	40-63	126	21	26
Калий, мг/100 мл	227,8	87,3	99,7	68
Натрий, мг/100 мл	227,8	142,6	284,5	68
Кальций, мг/100 мл	38,9	18,1	89	20
Фосфор неорганический, мг/100 мл	9	12	2	17

Кроме того, в сперме содержатся свободные аминокислоты, лимонная и молочная кислоты, мочевина, ферменты, витамины.

Химический состав спермы оказывает влияние на ее буферность – способность сохранять свою реакцию на более или менее постоянном уровне, что способствует сопротивлению спермиев накопляющимся кислым продуктам обмена веществ при хранении. Буферность спермы обусловлена наличием карбонатов, цитратов, лактатов, фосфатов, а также белков спермы, имеющих амфотерные свойства и способных связывать и кислые и щелочные вещества. Наиболее выражены буферные свойства у спермы баранов и быков.

Химический состав спермиев. В среднем содержат 75% воды и 25% сухого вещества. В сухом веществе 85% составляют белки, 13,2% липиды и 1,8% минеральные вещества.

В отличие от соматических клеток спермии обладают реотаксисом – способностью двигаться против тока жидкости со скоростью от 1 до 9 мм/мин, отрицательным электрическим зарядом, способностью переживать вне организма, переходить в состояние анабиоза и выходить из него, способностью к оплодотворению.

Агглютинация спермиев – процесс склеивания спермиев в результате нейтрализации электрического заряда. Возникает при увеличении кислотности спермы и наличие в ней ионов некоторых металлов, а также при наличии спермиоагглютининов, вырабатываемых при многократных введениях спермы в половые пути.

Агглютинация может быть обратимой (при склеивании спермиев только головками так называемая звездчатая) и необратимая – когда спермии склеиваются беспорядочно (массовая коагуляция).

Вопрос 2. Биологические свойства спермы.

Для обеспечения движения спермиев необходимо постоянное пополнение энергии от внешних источников (сахара, липиды, аминокислоты). Разложение их в спермиях может происходить двумя путями:

1. Гликолиз – расщепление только сахаров до молочной кислоты без доступа кислорода с выделением 33 ккал энергии. Наиболее интенсивно протекает при 37°С, при 15°С протекает значительно медленнее, и при 0°С практически прекращается. Может протекать и в присутствии кислорода, но значительно медленнее. При этом расход сахаров снижается на 30%.

2. Дыхание – процесс расщепления органических веществ в присутствии кислорода. Наиболее легко разлагаются глюкоза и фруктоза, при этом липиды и белки почти не разлагаются. При ды-

хании образуется 680 ккал энергии. При дыхании также образуется перекись водорода и аммиак, которые вызывают гибель спермиев, поэтому в анаэробных условиях спермии живут дольше, чем в аэробных. При снижении температуры и изменении pH в кислую сторону интенсивность дыхания снижается (при 10°С интенсивность дыхания снижается почти в 2 раза). При сдвиге pH в щелочную сторону интенсивность дыхания усиливается.

Получаемая при гликолизе и дыхании энергия идет на образование АТФ. За счет 12 ккал энергии, выделяемых при распаде АТФ до АДФ, происходит сокращение молекулы белка спермозина и движение спермия. Расщепление АТФ более интенсивно протекает в присутствии ионов кальция и калия, медленнее при наличии ионов магния.

В зависимости от обмена веществ в спермиях, содержания сахара и преобладания способа получения энергии сперму с.-х. животных делят на 2 типа.

1-й тип – сперма быков, баранов, оленей. Содержит много сахаров, образование энергии происходит при дыхании и гликолизе. Реакция спермы слабокислая (6,7-6,9) за счет накопления молочной кислоты при гликолизе, которая переводит спермии в состояние анабиоза.

2-й тип – сперма хряков, жеребцов, собак. Содержит мало сахара и образование энергии происходит за счет дыхания. Реакция спермы слабощелочная (7,3-7,5). Это обуславливает интенсивное дыхание спермиев при комнатной температуре, большую подвижность и быстрый расход запаса энергии.

Анабиоз спермиев.

При интенсивном протекании гликолиза повышается концентрация молочной кислоты и pH сдвигается в кислую сторону. Это тормозит движение спермиев и может вызывать их гибель. При незначительном снижении pH спермии переходят в неподвижное состояние, замедляются обменные процессы. Также анабиоз наступает при снижении температуры. При повышении температуры и подщелачивании среды активность восстанавливается.

Первая фаза анабиоза наступает при снижении pH с 7,0 до 6,0, при этом из такого состояния спермии можно вывести нагреванием до 37-40°С.

При дальнейшем снижении pH до 5,0-4,5 наступает вторая фаза анабиоза, и выход из нее возможен только при подщелачивании среды. В эту фазу часть спермиев погибает. При снижении pH ниже 4,5 большинство спермиев погибает.

Вопрос 3. Влияние различных факторов на качество и сохранность получаемой спермы.

Влияние температуры. Температура является важнейшим условием, определяющим срок жизни и оплодотворяющую способность сперматозоидов вне организма. Во внешней среде сперматозоиды могут подвергаться действию относительно низкой или высокой температуры и различным образом реагировать на это.

При температуре 38-40°С активность спермиев высокая, но срок жизни их уменьшается из-за усиления обменных процессов и накопления продуктов обмена (молочная кислота, перекись водорода, аммиак). Повышение температуры до 43-45° ведет к усилению активности сперматозоидов. При 47°С спермии теряют оплодотворяющую способность, а при 50°С они погибают.

При резком охлаждении до 18-16°С у спермиев наступает температурный шок спермиев, который характеризуется прекращением их движения и гибелью. При выдержке спермы при комнатной температуре в течение нескольких часов, чувствительность их к резкому охлаждению уменьшается. При последующем охлаждении спермы от 20 до 0°С около 30-50% спермиев остаются живыми, но снижается оплодотворяющая способность. В щелочной среде чувствительность к холодовому удару выше. Повышение чувствительности спермиев к быстрому охлаждению появляется после смешивания их с секретами придаточных половых желез.

При замораживании спермиев в специальных средах прекращаются обменные процессы, и при отогреве сохраняют активность до 50% спермиев.

Влияние осмотического давления. Для жизни спермиев требуется, чтобы в плазме было растворено столько веществ, сколько их находится внутри спермиев. Гипотонические и гипертонические растворы губительно влияют на спермии. Иванов И. И. установил, что сперматозоиды лучше переносят слегка гипертонические растворы, чем гипотонические. При попадании спермиев в гипотонический раствор происходит диффузия воды внутрь спермиев. При этом объем

спермия увеличивается и возможен разрыв его оболочки (осмотический шок). В гипертоническом растворе вода выходит из спермиев наружу и приводит к сморщиванию оболочек спермиев, что не так опасно.

Наиболее опасно резкое изменение осмотического давления. При постепенном изменении среды спермии успевают приспособиться к новым условиям и могут долго переживать в растворах, значительно отличающихся от изотонических.

Влияние ионного состава. Растворы солей повышают возбудимость живой клетки, усиливают подвижность спермиев и расход запасов энергии. Катионы Ca, Al, Mg нейтрализуют отрицательный электрический заряд, что ведет к агглютинации. Анионы хлора вызывают разрыхление и разрушение липидной оболочки, повышают ее проницаемость, что уменьшает устойчивость спермиев. Анионы фосфатов, сульфатов, цитратов вызывают уплотнение оболочки спермиев и улучшают их переживаемость.

Влияние света. Сильный искусственный свет, а также прямые солнечные лучи, особенно ультрафиолетовые, обладающие бактерицидным действием, и инфракрасные лучи вызывающие тепловой эффект убивают спермии через 20-40 минут. Рассеянный солнечный свет или искусственный дневной свет вредного действия на сперму не оказывает.

Влияние химических веществ. Окислы металлов (свинца, меди, цинка, железа, серебра) вызывают гибель спермиев. В практике искусственного осеменения принято пользоваться стеклянными, пластмассовыми, никелированными или хромированными инструментами.

Вредно действуют на спермии запахи одеколона и духов, мыла, дегтя, обувного крема, табачный дым, пары спирта, чеснока и лука и т. д. Губительно действуют все дезинфицирующие вещества. Пары лизола, креолина, скипидара, нашатырного спирта, эфира, йода, различных кислот – убивают спермии.

Влияние микроорганизмов. Размножаясь в сперме бактерии изменяют ее свойств и качество, снижают оплодотворяющую способности спермиев. Образующиеся токсины и продукты метаболизма губят спермии, приводят к их агглютинации. Оседая на спермиях бактерии снижают их подвижность. Ферменты бактерий вызывают разрушение оболочки спермиев и их гибель.

ЛЕКЦИЯ № 5

Оценка качества спермы самцов сельскохозяйственных животных

Вопросы лекции

1. Значение оценки качества. Классификация способов оценки.
2. Оценка качества по внешним признакам.
3. Методы микроскопической оценки качества.
4. Биологическая оценка качества спермы.

Вопрос 1. Значение оценки качества. Классификация способов оценки.

Полученную от производителя сперму перед использованием всегда подвергают оценке. Это необходимо делать потому, что качество спермы не является строго постоянным, а подвержено резким изменениям в зависимости от условий кормления и содержания производителя, ухода за ним, режима полового использования самца-производителя, состояния его здоровья и даже времени года и погоды.

Цель исследования спермы: 1) определить плодовитость производителя и пригодность его к использованию; 2) оценить правильность режима полового использования производителя и его физиологическое состояние; 3) определить пригодность каждого эякулята к использованию и установить наилучшую степень разбавления спермы.

Классификация способов оценки.

Все методы оценки качества разделяются на макроскопические (органолептические, по внешним признакам), микроскопические и биологические. Также разделяют обязательные и дополнительные методы оценки.

При органолептической оценке качества спермы определяют объем эякулята, цвет, запах и консистенцию.

При микроскопической оценке определяют концентрацию спермиев, их активность, густоту спермиев, количество мертвых спермиев, количество патологических спермиев, состояние акросом спермиев.

К методам биологической оценки относятся: определение интенсивности дыхания спермиев, абсолютного показателя выживаемости, определение резистентности спермиев.

К обязательным методам оценки качества спермы относятся: определение внешнего вида (цвета, запаха и консистенции) и объема эякулята, густоты, активности и концентрации спермиев. После этого можно определить пригодность к использованию и степень разбавления.

К дополнительным методам оценкикачества спермы относятся: определение числа патологических спермиев, количества живых и мертвых, состояние акросом спермиев, определение метаболической активности, резистентности (устойчивости) и живучести спермиев во внешней среде. При более глубокой оценке производителя в сперме определяют содержание фруктозы и вычисляют фруктозный индекс, pH, содержание молочной кислоты, ферментов, гиалуронидазную активность спермиев, микробную загрязненность.

Вопрос 2. Оценка качества спермы по внешним признакам.

Полученная от производителя сперма подвергается вначале оценке по внешним признакам. Такую оценку еще называют макроскопической или глазомерной (санитарной). Она позволяет судить о качестве каждого эякулята и целесообразности дальнейшего его исследования с целью определения пригодности для искусственного осеменения в целом.

Внешним осмотром определяют: цвет, запах, консистенцию и объем. На оценку по внешним признакам должно затрачиваться не более 2-3 минут.

При осмотре обнаруживают посторонние примеси, соответствие цвета и запаха стандарту (табл. 1). При несоответствии сперма подлежит выбраковке.

Наличие розового или красноватого цвет свидетельствует о наличии крови при свежей травме. При разрыве капилляров слизистой оболочки уретры во время эрекции (в случае длительного неиспользования самца) цвет темно-красный. При старых травмах цвет спермы буро-красный. При наличии мочи цвет интенсивно желтый, появляется специфический запах мочи, мочевой кислоты или аммиака. Синеватый, зеленоватый, неспецифический сероватый оттенок свидетельствует о воспалительных процессах. При воспалении прида-

точных половых желез появляются хлопья гноя или агглютинированных спермиев. При этом появляется неспецифический прелый запах или запах гноя.

Таблица 1. Органолептические показатели свежеполученной спермы самцов

Вид животных	Показатели			
	цвет	запах	консистенция	объем средний / допустимые разбежки
Быки	Белый. Допускается слегка желтоватый оттенок	Без запаха, допускается запах парного молока	Сливкообразная	4-5 (2-15)
Бараны	Белый с желтоватым оттенком	Без запаха, допускается запах жиропота	Сметанообразная	1-1,5 (0,5-3,5)
Хряки	Белый с сероватым оттенком	Без запаха	Водянистая, со студенистыми зернами	200-250 (150-1000) в зависимости от способа получения)
Жеребцы			Водянистая, часто с примесью слизи	50-150 (до 500)

Консистенция зависит от степени разбавления спермиев секретами придаточных половых желез. У баранов наибольшее процентное количество (до 30%) спермиев в эякуляте и поэтому его консистенция наиболее густая – сметанообразная. К хряком и жеребцов спермиев в эякуляие 2-5% и поэтому консистенция водянистая.

Объем эякулята определяют:

У барана: в градуированном спермоприемнике, мерной пипеткой, либо осторожно, по стенке переливают в градуированную мензурку, предварительно добавив к уже оцененному по активности и концентрации эякуляту 1 мл разбавителя при температуре 36-38°С.

У быка взвешивают одноразовый полиэтиленовый спермоприемник на аналитических весах. 1 г приравнивается к 1 мл.

У жеребца и хряка: в градуированном спермоприемнике (для хряков), переливанием в мерный цилиндр, профильтровывая через 3-

4 слоя стерильной марли для отделения секрета куперовых желез у хряка и пузырьковидных у жеребца, а также взвешиванием полиэтиленового семясборника.

Вопрос 3. Методы микроскопической оценки качества.

Микроскопическая оценка позволяет определить качество полученного эякулята, его пригодность к использованию, и устанавливать степень разбавления.

Определение концентрации.

Определяют путем прямого подсчета их в счетных камерах, с помощью специальных электронных счетчиков. Также концентрацию можно определить косвенными методами: фотоэлектроколориметрически, по степени мутности, весу или объему осадка при центрифугировании, по содержанию ДНК (в 1-м спермии 3,3 пкг ДНК).

Оценка по активности спермиев.

Проводят в раздавленной капле при увеличении в 120-280 раз, при рассеянном свете, температуре 38-40°, разбавив каплю свежеполученной спермы несколькими каплями 2,9%-го раствора цитрата натрия. Не менее чем в 3-х полях зрения подряд подсчитывают по 10 спермиев и количество спермиев с прямолинейно-поступательным движением. Выражают в баллах.

Оценка по густоте спермиев.

Определяют в неразбавленной сперме визуально, по расположению спермиев относительно друг друга или исходя из их концентрации. Разделяют густую, среднюю и редкую сперму.

При густой сперме поле зрения микроскопа полностью заполнено спермиями, между ними едва заметны промежутки. Густая сперма обозначается буквой “ Г ”.

При средней по густоте в поле зрения между отдельными спермиями наблюдаются промежутки, приблизительно равные длине и размеру одного сперматозоида. Обозначается буквой “ С “.

При редкой сперме между отдельными спермиями имеются промежутки, превышающие длину и размер одного сперматозоида. Обозначается буквой “ Р “.

Исходя их концентрации по густоте сперму разделяют следующим образом (таблица 2).

Таблица 2. Разделение спермы по густоте.

Вид животного	Густая	Средняя	Редкая
	Концентрация спермиев, (млрд./мл)		
Бык	> 1,0	0,6-1,0	< 0,6
Баран	> 2,0	1,0-2,0	< 1,0
Хряк	> 0,2	0,1-0,2	< 0,1
Жеребец	> 0,25	0,15-0,25	< 0,15

Также, в зависимости от взаимного расположения и движения спермиев различают следующие виды спермы:

Олигоспермия (О) – незначительное количество спермиев в поле зрения;

Аспермия (А) – отсутствие спермиев в поле зрения;

Некроспермия (Н) – в поле зрения видны только мертвые спермии;

Тератоспермия– наличие патологических форм (Т).

После оценки по густоте и активности к дальнейшему использованию допускается сперма со следующими показателями:

Таблица 3. Минимальные показатели пригодных эякулятов по густоте и активности.

Быки	Бараны	Хряки	Жеребцы
С-8, Г-8; С-7 и Г-7	Г-8	С-8, Г-8; С-7 и Г-7	С-6 и Г-6

Количество живых и мертвых спермиев определяется путем окрашивания капли свежеполученной спермы с каплей 5%-го водного раствора эозина или 1,7% раствор на 3,9% растворе лимоннокислого натрия. Головки мертвы спермиев и с колебательным движением окрашиваются в красный цвет, головки живых остаются светлыми.

Подсчет патологических сперматозоидов проводят в окрашенном фуксином или эозином мазке предварительно разбавленной цитратом натрия сперме (барана в 20-30, быка в 10-15, жеребца и хряка в 2-3 раза). Мазок высушивают и микроскопируют при увеличении в 400-600 раз. Подсчитывают 500 спермиев, учитывая отдельно нормальные и патологические.

Допускается сперма, с содержанием патологических спермиев не более 18% у быка, 14% у барана, 20% у хряка и жеребца (25%).

Состояния акросом спермиев определяют после смешивания капли свежеполученной спермы с каплей жидкой фракции белка куриного яйца. Просматривают под микроскопом с увеличением в 280 раз и более. У полноценных спермиев целая акросома покрывает головку в виде чехлика и отсвечивает.

На племпредприятиях, в центрах селекции и генетики в свиноводстве качество свежеполученного эякулята оценивают по 4-м органолептическим показателям и 3-м микроскопическим (концентрация, активность и густота). Каждый из дополнительно применяемых микроскопических методов оценки свежеполученной спермы вносит свои коррективы в определение степени разбавления эякулята. Использование одного из дополнительных методов микроскопической оцеенки, за счет коррекции степени разбавления может повысить оплодотворяемость самок на 5-10%.

Вопрос 4. Биологическая оценка качества спермы.

При определении биологической полноценности спермиев определяют время обесцвечивания метиленовой сини, абсолютный показатель живучести спермиев, резистентность спермиев.

Определение времени обесцвечивания метиленовой синmrи основано на способности спермиев отнимать кислород от метиленовой сини, которая при этом обесцвечивается. Для этого каплю спермы быстро смешивают с такой же по объему каплей 0,01% метиленовой синьки на физрастворе. Набирают в стеклянную трубочку диаметром 0,8-1 мм и кладут на белый фон и засекают время обесцвечивания. Сперма по качетву разделяется на хорошую, среднюю и плохую (табл 4).

Таблица 4. Скорость обесцвечивания метиленовой синьки

Качество спермы	Время обесцвечивания (в минутах)	
	Быка	Барана
Хорошее	5-10	3-7
Среднее	11-30	8-12
Плохое	Более 30	Более 12

Увеличение скорости обесцвечивания обусловлено большей концентрацией спермиев, большей их активностью, большим количеством полноценных спермиев, что и способствует повышению оплодотворяемости самок.

Определение времени обесцвечивания метиленовой сини для спермы жеребцов и хряков не практикуется в связи с низкой концентрацией спермиев и длительным периодом проведения исследований (до 1-1,5 часов).

Абсолютный показатель выживаемости (живучести) спермиев. После стандартного разбавления 1-2 мл спермы хранят при положенной температуре хранения и ежедневно определяют активность при температуре 38-40°С до полной ее гибели. Суммируют ежедневные произведения времени (в часах) на активность спермиев и получают абсолютный показатель выживаемости. Для спермы барана он должен быть не менее 1600, быка – 1000-1400, жеребца – 400-730, хряка – 700-800.

Пример определения абсолютного показателя выживаемости спермы хряка:

Показатели	Дни хранения						Сумма
	1	2	3	4	5	6	
	часы хранения						
	24	48	72	96	120	144	
Активность, балл	7	6	6	3	2		
Произведение времени на активность	168	288	432	288	240	-	1416

Определение резистентности спермиев. Определяют устойчивость спермиев к разбавлению теплым 1%-м раствором хлористого натрия, обладающим растворяющим действием на липопротеидную оболочку. Выражается числом миллилитров раствора прибавленного к 1 мл свежеполученной спермы до прекращения прямолинейно-поступательного движения спермиев.

Показатели резистентности следующие: у барана и быка от 5000 до 50000 и выше, хряка – от 2000 до 3000, иногда до 5000, жеребца – от 500 до 1500.

ЛЕКЦИЯ № 6

Разбавление, хранение и транспортировка спермы самцов-производителей сельскохозяйственных животных.

Вопросы лекции:

1. Принципы сохранения спермы. Компоненты разбавителей для спермы.
2. Разбавление, расфасовка, хранение и транспортировка спермы быков.
3. Разбавление, расфасовка, хранение и транспортировка спермы хряков.

Вопрос 1. **Принципы сохранения спермы. Состав разбавителей для спермы**.

С момента получения спермы до введения ее в половые пути самки проходит определенный период времени, в течение которого оплодотворяющая способность спермиев не должна снижаться.

Гибель спермиев при хранении может происходить по следующим причинам:

1. Вредное влияние секретов придаточных желез, особенно у хряков и жеребцов;
2. Накопление молочной кислоты и отравление спермиев продуктами обмена;
3. Расход питательных веществ;
4. Набухание оболочек спермиев, потеря электрического заряда и агглютинация;
5. Резкое колебание температуры;
6. Воздействие микроорганизмов.

Для продления жизнеспособности спермиев вне организма и сохранения оплодотворяющей способности необходимо затормозить их движение, замедлить обменные процессы, уменьшить накопление продуктов обмена, защитить от воздействия секретов придаточных желез и условий внешней среды.

В настоящее время существуют два подхода к сохранению спермиев.

1. Обеспечение спермиев веществами необходимыми для их жизнедеятельности и одновременное удавление или нейтрализация продуктов метаболизма. Это требует глубоких знаний о метаболизме

в спермиях. Данный подход не позволяет долго поддерживать жизнедеятельность половых клеток из-за их биологических особенностей;

2. Торможение метаболических процессов в половых клетках, до минимума. Это достигается несколькими путями:

А) Высушиванием под вакуумом замороженной спермы – Такая технология находится на стадии разработки. Ее перспективность заключается в отсутствии необходимости сосудов Дьюара. Спермии должны восстанавливать свою активность после смешивания навески высушенной спермы с изотоническим раствором.

Б) Снижением температуры. При этом движение спермиев замедляется. При 7°С они становятся неподвижными. При температуре около 0°С биохимические процессы снижаются, но не полностью, что позволяет сохранять спермии в течение нескольких дней в емкостях со льдом.

В) Прекращением метаболизма в спермиях и введением их в состояние анабиоза. Достигается путем медленного постепенного охлаждения до 4-5°С и последующего замораживания на пластинах сухого льда при -79°С или в парах жидкого азота при -120°С и окончательное замораживание в жидком азоте при температуре -196°С.

Г) Сохранение спермиев при помощи химических веществ. При прекращении доступа кислорода к спермиям (при плотной укупорке сосудов со спермой или добавления мела к сперме) происходит накопление угольной кислоты и снижение pH до 6,2-6,4. При доступе кислорода кислота улетучивается, нормализуется pH и восстанавливается активность спермиев.

В настоящее время при сохранении спермы используется комплексные методы, основанные на понижении температуры, снижения подвижности и уровня обменных процессов, обеспечении спермиев питательными веществами, введении их в состояние анабиоза. Для этого используются разбавители, состоящие из многих компонентов, выполняющих определенные функции.

Компоненты разбавителей для спермы.

Углеводы (глюкоза (Г), лактоза (Л), фруктоза (Ф), раффиноза (Р) – препятствуют агглютинации спермиев, являются источником энергии, повышают вязкость среды и в некоторой степени препятствуют развитию микроорганизмов.

Цитрат натрия (Ц) – поддерживает осмотическое давление и буферность среды, нейтрализует метаболиты, препятствуют набуханию оболочек спермиев.

Хелатон или трилон Б (Х) – тормозит биохимические реакции, связывает ионы кальция и препятствует агглютинации и набуханию оболочек спермиев.

Сульфат аммония (С) – предохраняет от разрушения мембраны спермиев, задерживает электролиты в спермиях.

Глицерин (Г) – обладает криопротекторными свойствами, понижает температуру замерзания (кристаллизации), связывает свободную воду и препятствует образованию крупных кристаллов льда, раздавливающих спермии.

Желток куриных яиц (Ж) – является источником питательных и биологически активных веществ. Содержит лецитин, предохраняющий спермии от температурного шока. Лецитин относится к жироподобным веществам с низкой температурой плавления. Встраиваясь в оболочки спермиев лецитин способствует сохранению пластичности оболочек при температуре ниже 20°С, когда липидный слой оболочек животных клеток (в том числе и спермиев) становится плотным и теряет пластичность.

Антимикробные вещества (спермосан, полиген, гентамицин) – препятствуют развитию микрофлоры. В настоящее время к разбавителям для спермы быков добавляют препарат полиген,состоящий их полимиксина и гентамицина. Сперму хряков, как правило, санируют 4%-м раствором гентамицина.

Все компоненты разделяются на термостойкие и не термостойкие. От термостойкости компонентов разбавителя зависит очередность растворения компонентов в дистиллированной воде. Первоначально в воду вносят термостойкие компоненты (углеводы, некоторые минеральные вещества). Очередной компонент вносят после полного растворения предыдущего. После этого смесь кипятят на водяной бане 5-10 минут. После охлаждения вносят компоненты разбавителя, теряющие свои свойства при высоких температурах (глицерин, желток куриных яиц, антибиотики, бикарбонат натрия).

Для разбавления применяют синтетические среды, выпускаемые в виде сухих заготовок (для хряков, быков) или приготовленные из отдельных компонентов непосредственно перед применением (для быков).

Состав сред зависит от технологии расфасовки и режима хранения спермы.

ЛЖГ – лактозо-желточно-глицериновая – используется для разбавления спермы быков, замораживаемой в гранулах;

ЛФРМГЖ – лактозо-фруктозо-рафинозо-магниево-глицерино-желточная используется для разбавления спермы быков, замораживаемой в пайетах.

ГХЦС – глюкозо-хелато-цитрато-сульфатная, используется для разбавления спермы хряков.

ЛХЦЖ – лактозо-хелато-цитрато-желточная для разбавления и хранения спермы жеребцов.

ГЦЖ – глюкозо-цитратно-желточная и **ГФЖ** - глюкозо-фосфатно-желточная для разбавления и хранения спермы баранов.

Вопрос 2. Разбавление, расфасовка, хранение и транспортировка спермы быков.

От момента получения до разбавления должно пройти не более 10 мин.

Разбавляют так, чтобы в одной дозе (гранула или пайета) до замораживания находилось не менее 37,5 млн. спермиев с прямолинейным поступательным движением, а после оттаивания не менее 10-15 млн. с активностью не ниже 4-х баллов.

Расфасовка спермы в пайетах.

Температура среды перед разбавлением должна быть одинаковой со спермой, но не ниже 27±1°С. Среду осторожно приливают к сперме. Первоначально разбавляют в соотношении 1 : 1 (около 20% среды). Через 15 минут при температуре 18-20°С приливают оставшийся объем разбавителя. Перед вторым разбавлением проверяют активность спермиев после первого разбавления.

При замораживании в пайетах после разбавления доза спермы объемом 0,25 мл расфасовывается в полипропиленовые соломинки, которые закупориваются стеклянными шариками (литовская технология). При расфасовке по французской технологии объем спермодозы составляет 0,3 мл и пайета запаивается с одной стороны. С противоположной стороны пайета закрыта пыжом.

После расфасовки спермы по литовской технологии встряхиванием перемещают пузырек воздуха к середине пайеты. Расфасованная сперма, раскладывается на металлических рамках и выдержи-

вается в течение 3-4 часов в холодильнике при температуре 4-5°С. Это так называемый процесс эквилибрации (медленного постепенного охлаждения). При замораживании охлажденные пайеты на рамках располагаются на расстоянии 6-8 см от поверхности жидкого азота на 7 минут, после чего опускаются в жидкий азот и собираются в пластиковые стаканы для хранения в жидком азоте при -196°С.

Расфасовка в гранулах.

Разбавляют сперму при температуре 31±1°С однократно. В той же емкости разбавленную сперму охлаждают (эквилибрируют) при температуре 2-5°С в течение 4 ч. Расфасовывают на охлажденные до -160-170°С фторопластовые пластины. После выдержки пластины со спермой в течение 1-2 мин. над жидким азотом, а затем в жидком азоте собирают гранулы и переносят на хранение в стационарное хранилище. Хранят в марлевых мешочках.

Транспортируют замороженную сперму в сосудах Дьюара объемом 5-20 литров, не допуская их падения и механического повреждения. При транспортировке воздушным транспортом сосуды заполняют на 2/3 от их емкости.

Вопрос 3. **Разбавление, расфасовка, хранение и транспортировка спермы хряков.**

Разбавляют сперму через 20-30 мин после ее получения. Технология разбавления и расфасовки зависит от применяемого способа осеменения. При нефракционном способе осеменения свиноматок сперму разбавляют с таким расчетом, чтоб в 1 мл разбавленной спермы должно содержаться не менее 50 млн. активных спермиев, а в дозе для осеменения взрослых свиноматок не менее 3 млрд., для осеменения ремонтных свинок – не менее 2 млрд. активных спермиев.

Разбавленную сперму расфасовывают в полиэтиленовые флаконы от прибора ПОС-5, либо в колбы, хранят в темноте при 16-18°С в термостате или в термосах для хранения и транспортировки. Флаконы при хранении закрывают не герметично, а только слегка навинтив крышки. Во время хранения не менее двух раз в сутки сперму осторожно перемешивают для предотвращения осаждения спермиев на дно емкости и их агглютинации. При хранении допускается кратковременное (на 1-3 ч) постепенное снижение температуры до 14-15°С или повышение до 24°С. Сперму транспортируют через 30 мин после разбавления в специальных термосах с теплоизоляцией из поролона

или пенопласта, флаконы плотно укупоривают, а после доставки расслабляют крышки флаконов.

При более низкой температуре хранения (но не ниже 6°С) к 1 л среды добавляют 30-40 мл желтка куриных яиц.

Разбавленную сперму хряков хранят в течение 3-х суток и используют для осеменения при активности не менее 6 баллов.

При использовании технологии, оборудования и инструментов компании Minitub разбавление спермы проводят с таким расчетом, чтоб в 1 дозе после расфасовки было не менее 2,5 млрд. активных спермиев. Сперму разбавляют средой ГХЦС или аналогичными, позволяющими хранить ее при температуре 16-18°С в течение 2-3 суток. После разбавления сперму расфасовывают в полиэтиленовые тюбики по 90 мл. Затем верхнюю часть тюбика запаивают и маркируют (указывают номер хряка, его породу и дату получения спермы). Хранят в термостатах или термоконтейнерах.

Способы замораживания спермы хряков и длительного хранения ее разработаны, однако практического применения в странах СНГ пока не имеют в связи с гибелью значительного количества спермиев. Для получения 1 дозы замороженно-оттаянной спермы хряков необходимо затратить весь эякулят.

ЛЕКЦИЯ № 7

Искусственное осеменение крупного рогатого скота.

Вопросы лекции.

1. Оптимальное время осеменения. Выявления самок в охоте и подготовка их к осеменению.
2. Правила оттаивания замороженной спермы.
3. Способы осеменения коров и телок.
4. Организация проведения искусственного осеменения коров и телок в Республике Беларусь.

Литература

1. Валюшкин К. Д., Медведев Г. Ф. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных.
2. Полянцев Н. И., Подберезный В. В. Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных.
3. Методические рекомендации по литовской технологии кормления, содержания, подготовки быков к взятию семени, его криоконсервирования и использования. Вильнюс, 1987 г. – 64 с.

Вопрос 1. Выявления самок в охоте и подготовка их к осеменению.

Одно из главных условий достижения высокой оплодотворяемости это правильный выбор времени осеменения в период половой охоты. При этом учитывают время наступления половой охоты, сроки выхода яйцеклетки из фолликула, сроки переживаемости ее и спермиев в половых путях и период сохранения ими способности к оплодотворению, влияние изменений условий среды в матке и яйцеводах в период охоты на передвижение и выживаемость спермиев.

Наиболее благоприятные условия для оплодотворения складываются тогда, когда осеменение и овуляция взаимосвязаны во времени, а в половых клетках проходят необходимые изменения (капацитация спермиев и отслоение клеток лучистого венца яйцеклетки).

Процесс капацитации представляет собой целый комплекс биохимических и структурных изменений в спермиях, которые происходят в период их нахождения в половых путях самки. При этом происходит активация ферментных систем в акросоме спермия. Выделяется фермент гиалуронидаза, который разъединяет клетки кумулюса

яйцеклетки и дает возможность достичь спермиям прозрачной оболочки. После достижения оболочки наступает кортикальная реакция, облегчающая проникновение спермиев через прозрачную оболочку. Окончательная подготовка яйцеклеток к оплодотворению заключается в освобождении ее от клеток кумулюса (чему способствуют спермии), а также в активации яйцеклетки

Уже спустя 8 ч после осеменения спермии из шейки матки способны в достаточном количестве накапливаться в яйцеводах и к этому времени завершается процесс их капацитации. Выход яйцеклетки повышает активность спермиев. При прохождении яйцеклетки по яйцеводу происходит некоторое отслоение клеток кумулюса, что облегчает проникновение спермиев.

Наиболее благоприятным периодом времени для осеменения считается период спустя 8-10 часов от начала охоты и на протяжении следующих 12-15 часов. Поэтому при выявлении охоты вечером или рано утром осеменяют до обеда, при выявлении днем – осеменяют вечером. Повторно, спустя 24 часа от выявления охоты осеменяют только тех коров, у которых охота еще продолжается.

Осеменение сразу после выявления охоты практикуется только при двукратном осеменении. При этом повторно его проводят спустя 10-12 часов.

Способность к оплодотворению у яйцеклетки сохраняется в течение менее 12 ч, и поэтому осеменение даже после окончания охоты в течение 6 ч (т.е. за 4-6 ч до овуляции) нередко оказывается результативным.

Выявление в охоте.

Определяют в основном визуально, по поведению и признакам течки. У животного проявляется беспокойство, оно мычит, прогибает спину, приподнимает и опускает корень хвоста, обнюхивает половые органы и вспрыгивает на других коров, спокойно стоит и допускает прыжки на себя и проявляет рефлекс неподвижности. Коровы теряют аппетит, иногда резко снижают удои, у них расширяется хрусталик глаза, появляется томный взгляд, иногда могут ходить за человеком, особенно за техником-осеменатором. До 75% коров приходят в охоту вечером, ночью и утром и 25% – во второй половине дня (с 15 до 17 ч). Охоту у коров выявляют не менее 4 раз в сутки по 20-30 минут (при однократном в течение дня выявлении охота устанавливается только у 50-60% коров).

Вспомогательные способы и признаки выявления охоты.

1. Опрос работников фермы.

2. Использование детекторов охоты и специальных меток на крестце животных. Использование детекторов охоты может привести к выборке и осеменению самок, которые на самом деле признаков половой охоты и не проявляют. Такое может встречаться в случае массового использования детекторов с краской на коровах, неприходящих в охоту в течение длительного срока после отела. Это объясняется тем, что на таких животных может вспрыгивать та корова, у которой уже наступило время проявления феномена общей реакции, но еще не наступило время проявления феномена половой охоты, когда самка уже допускает вспрыгивание других коров на себя. Поэтому использование таких детекторов не должно быть основным методом выявления самок в охоте.

3. Ободранная кожа на крестце и маклоках (Рис.).

Рис. 1. Потертости на крестце у коровы в охоте.

4. Появление капель пота на шерсти в области крестца (рис. 2).

Рис. 2. Появление капель пота или испаряющейся влаги на поверхности шерсти

5. Повышение температуры задней части туловища. Повышение температуры можно выявить положив ладони в области крестца двум рядом стоящим коровам. Такой прием можно использовать при привязной системе содержания дойного стада в зимнее время, когда из-за низкой температуры животных не выпускают на прогулку.

6. Наличие испарения от крестца и боков, а также следов от копыт в виде полос на боках в сырую погоду.

7. По степени зрелости фолликула(Рис. 3) и наличию прозрачной течковой слизи, выделяющейся при массаже матки (Рис. 4).

Рис. 3. Яичники коров с фолликулами 3-4 степеней зрелости

А Б В

Рис. 4. Выделение течковой слизи у коров в охоте (А - нормальная, Б и В – с включение гноя при воспалительных процессах)

Подготовка коров и телок к осеменению.

Телок осеменяют в 16-18 месяцев, при достижении ими живой массы не менее 70% от массы взрослого животного – 380-400 кг. Коров осеменяют после окончания инволюции матки (но не ранее чем через 28-30 дней после отела) в полноценную половую охоту. Наиболее эффективно осеменять через 40-45 дней после отела во вторую половую охоту.

Коровы и телки к осеменению должны быть хорошо упитаны. Организуется моцион. При систематическом его отсутствии все стадии полового цикла проявляются слабо. При этом затрудняется выявление половой охоты, и определение оптимального времени осеменения коров и телок. Продолжительность половой охоты может значительно укорачиваться. У отдельных животных период половой охоты может длиться до 20-30 минут. У части коров она проявляется только в период моциона. При привязном содержании коров признаки половой охоты хорошо проявляются в момент выгона коров после доения на выгульные площадки или на пастбища. Больше приходит в охоту коров и признаки охоты проявляются ярче в том случае, если в течение дня животное проходит расстояние в 3-4 км.

Перед осеменением ректально проверяется состояние полового аппарата, определяется степень зрелости фолликула и уточняется наличие признаков охоты. Массажируется правый, затем левый рог в течение 1-2 минут до момента сокращения матки и выделения слизи. Слизь должна быть прозрачной, наподобие белка куриных яиц. При наличии гнойных или кровянистых выделений в слизи животное не осеменяют и проводят соответствующее лечение. На основании ректального исследования в некоторых случаях определяют целесообразность проведения осеменения.

Перед введением инструментов наружные половые органы обтирают ватным тампоном. Также необходимо рукой раскрыть вульву чтоб выявить наличие загрязнений в наружных половых органах. В случае загрязнения промывают преддверие влагалища и влагалище 0,02%-м раствором фурацилина, раствором перманганата калия (1:5000). В момент промывания можно рукой через прямую кишку зажать шейку матки, чтоб предотвратить попадание раствора в матку, так как в период половой охоты шейка матки приоткрыта.

Вопрос 2. Правила оттаивания замороженной спермы.

Для искусственного осеменения коров и телок может использоваться сперма замороженная в гранулах и пайетах. В зависимости от способа расфасовки техника оттаивания различается.

Оттаивание спермы замороженной в гранулах. Сперму оттаивают в водяной бане при температуре 38-40°С в течение 10 сек. Гранулу оттаивают в 1 мл 2,9%-го раствора цитрата натрия. Перед оттаиванием верхнюю часть ампулы с цитратом натрия расширяют для свободного прохождения гранулы. За 10 секунд оттаивания гранула может полностью и не раствориться. Тем не менее ампулу с цитратом и спермой вынимают из водяной бани. Окончательное растворение гранулы происходит в последующие 10-15 сек. После полного оттаивания ампулу слегка встряхивают для перемешивания цитрата с оттаянной спермой.

Оттаивание спермы замороженной в пайеты по литовской технологии. Размораживание спермы проводят в водяной бане при температуре 37,5-38,5°С. Время оттаивания – 10 сек. После выемки пайеты их жидкого азота ее встряхивают и погружают в водяную баню вертикально. В таком случае снижается вероятность того, что пайета останется плавать на поверхности воды в случае погружения ее горизонтально в какую-либо плоскую посуду. После погружения пайеты желательно ее немного пошевелить, чтоб от ее поверхности отделились пузырьки воздуха, которые могут препятствовать нормальной передаче тепла от воды к сперме. По истечении времени оттаивания пайету вынимают и вытирают насухо ватным тампоном. Взяв за один их концов, соломинку встряхивают так, чтоб пузырек воздуха переместился вверх.

Оттаивание спермы замороженной в пайеты по французской технологии. При размораживании температура водяной бани должна быть 38-40°С, время оттаивания – 20 сек. Техника проведения оттаивания аналогична, как и для спермы, замороженной по литовской технологии. Особенность погружения соломинки по состоит в том, что в воду она погружается не полностью. Верхняя (запаянная часть – 3-5 мм) должна оставаться над поверхностью воды. Если такую соломинку полностью погрузить в воду, то есть вероятность разгерметизации места запайки и попадания воды в сперму. Температурный режим и продолжительность оттаивания спермы, закупленной за рубежом может быть различным, в зависимости от страны и

фирмы производителя. Температура и время оттаивания зависят от состава среды для разбавления и замораживания спермы и в разных странах они могут быть различными и могут колебаться в пределах 32-40°С и 10-60 сек. Поэтому при закупке и использовании зарубежной спермы необходимо уточнять режим размораживания. При несоблюдении соответствующего режима оттаивания высока вероятность гибели спермиев из-за нарушения скорости оттаивания спермы. При оттаивании, кроме таяния замерзшей воды в спермиях при температуре -60-80°С происходит повторное образование кристаллов льда. При низкой скорости оттаивания они могут успеть вырасти до значительных размеров и разрушить спермии.

Вопрос 3. Способы осеменения коров и телок.

Визоцервикальный способ

Был предложен еще в 30-е г. В.К. Миловановым.

Инструменты и материалы:

1. Гинекологическое зеркало с осветителем (Рис. 4 А).
2. Стеклянный шприц-катетер (Рис. 4 Б).

Рис. 4. Инструменты для осеменения визоцервикальным способом

3. Водяная баня.
4. Сперма, замороженная в гранулах.
5. Баночки с притертыми пробками с изотоническим раствором бикарбоната или цитрата натрия и 70° спиртом-ректификатом.
6. Тампонница.
7. Пинцет.
8. Подставка для инструментов.
9. Ампулы с цитратом натрия.

Преимущества:

1. Прост в освоении;

2. Позволяет визуально контролировать место и глубину введения спермы;

3. Позволяет достичь высокой оплодотворяемости. В отдельных случаях использование визоцервикального способа осеменения и замороженной в гранулы спермы может увеличить вероятность оплодотворения в сравнении с другими способами осеменения, где сперма расфасована в пайеты. Это можно объяснить тем, что при использовании спермы замороженной в гранулах общий объем спермодозы составляет 1,2-1,3 мл. В таком случае увеличивается вероятность того, что данный объем спермодозы сможет достигнуть места оплодотворения у коров старых, с большой живой массой и, соответственно, с бóльшим размером внутренних половых органов (в некоторых случаях в 2 раза бóльшим, чем у молодых животных). С возрастом снижается сократимость матки при массаже и осеменении, скорость засасывания спермиев из шейки матки в рога и яйцеводы.

Недостатки:

1. Ежедневная подготовка инструментов (мытье и стерилизация);

2. Ежедневное приготовление растворов;

3. Гинекологическое зеркало является источником раздражений и вызывает антиперистальтичекие сокращения мускулатуры матки;

4. Используется сперма, замороженная в гранулах (повышенная бактериальная обсемененность, неудобство оттаивания);

5. Используется только на обустроенных пунктах искусственного осеменения, что снижает нагрузку на техника-осеменатора.

Визоцервикальный способ по методу Овчинникова.

Инструменты и материалы:

1. Модифицированное гинекологическое зеркало (Рис. 6);

2. Те же инструменты ми материалы, что и для обычного визоцервикального способа осеменения..

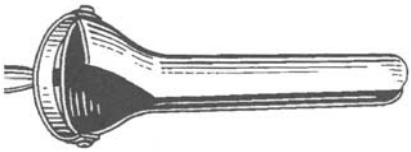

Рис. 6. Модифицированное влагалищное зеркало

Преимущества:

1. Те же самые;

2. Сперма вводится в момент отсутствия зеркала, как раздражителя в половых путях самки.

Недостатки:

1. Те же самые;

2. Гинекологическое зеркало не имеет механической жесткости и при сильных сокращениях мускулатуры влагалища створки зеркала могут закрываться.

Маноцервикальный способ

Инструменты и материалы:

1. Полиэтиленовая ампула;
2. Полиэтиленовый катетер;
3. Одноразовая полиэтиленовая трехпалая перчатка (Рис. 7);

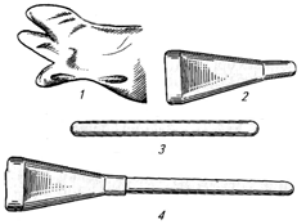

Рис. 7. Инструменты для маноцервикального способа осеменения

1 – Полиэтиленовая перчатка
2 – Полиэтиленовая ампула
3 – Полиэтиленовый катетер
4 – Инструмент в сборе

4. Сперма, замороженная в гранулах.
6. Тампонница.
7. Пинцет.
8. Подставка для инструментов.
9. Ампулы с цитратом натрия.

Преимущества:

1. Прост в освоении;
2. Применяются одноразовые инструменты;
3. Массаж влагалищной части шейки матки стимулирует моторику матки и скорейшее перемещение спермиев к месту оплодотворения;
4. Осеменение можно проводить в стойлах на привязи.

Недостатки:

1. Наносится раздражение половым органам и животному;

2. Высокая вероятность занесения инфекции во внутренние половые органы из наружных;

3. Сперма заморожена в гранулах;

4. Невозможность осеменения телок из-за узости половых путей;

5. До 10% спермиев могут оставаться в инструментах для осеменения.

Ректоцервикальный способ по датской технологии

Инструменты:

1. Полистироловая пипетка;

2. Многоразовый нейлоновый зоошприц или одноразовый медицинский шприц (Рис. 8. А);

3. Полиэтиленовая пятипалая перчатка;

4, 6, 7, 8, 9.

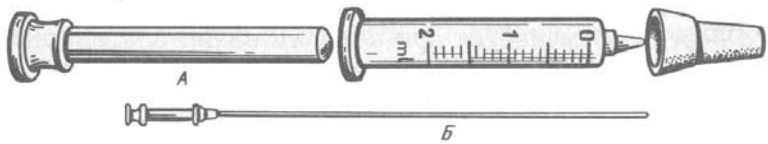

Рис. 8. Инструмент для осеменения ректоцервикальным способом по датской (классической) технологии.

Преимущества:

1. Имеется возможность контролировать состояние полового аппарата, определить степень зрелости фолликула, наличие беременности или патологии полового аппарата;

2. Наносится наименьшее раздражение половому аппарату и животному;

3. Одноразовые инструменты;

4. Нет необходимости приготовления растворов;

5. Сперма вводится глубоко в шейку матки, что исключает опасность ее вытекания;

6. Осуществляется массаж тела и рогов матки, что приводит к ее сокращению. При сокращении матки выделяется слизь, по внешнему виду которой можно судить о наличии или отсутствии воспалительных процессов в матке;

7. Можно осеменять непосредственно в стойлах;

Все эти преимущества позволяют повысить оплодотворяемость коров на 10-12% в сравнении с другими способами.

Недостатки:

1. Сложен в освоении, так как отсутствует визуальный контроль введения инструмента в шейку матки;

2. Не совсем гигиеничен для человека;

3. Некоторые затруднения при введении гибкой полистироловой пипетки;

4. Сперма заморожена в гранулах;

Ректоцервикальный способ по литовской технологии

Инструменты:

1. Металлический осеменительный инструмент ШО-1, ШО-2, ШО-3 (Рис. 9);

2. Одноразовый защитный чехол;

3. Одноразовая полиэтиленовая пятипалая перчатка;

4. Сперма замороженная в пайетах;

6, 7, 8.

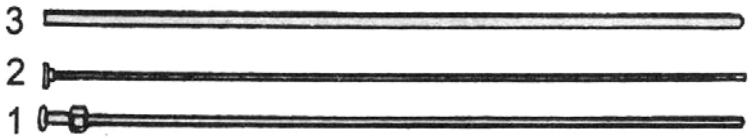

Рис. 9. Инструмент ШО-2
(1 – металлический инструмент,; 2 – металлический стилет;
3 – защитный чехол)

Преимущества:

1. Те же, что и при классическом способе;

2. Простота размораживания дозы спермы;

3. Сперма не контактирует с внешней средой;

4. Более жесткий металлический инструмент облегчает его введение в шейку матки

Недостатки:

1. Те же, что и при датском;

2. Более сложная технология расфасовки спермы на племпредприятии.

Ректоцервикальный способ по французской технологии

Данный способ осеменения не имеет существенных отличий от литовской технологии. Различие имеется в форме инструмента для осеменения, форме пайет для расфасовки, замораживания спермы и

технике их оттаивания, а также в способе фиксации защитного чехла. Также несколько отличается способ закрепления пайеты в защитном чехле. Для этого внутри защитного чехла имеется перемещающийся фиксатор, который плотно удерживает пайету со спермой. Современные инструменты для данного способа осеменения коров и телок могут фиксировать защитный чехол несколькими способами:

1. На специальной расширяющейся части металлического инструмента с помощью пластмассовой шайбы (технология Кассу);

2. Фиксируются непосредственно фиксаторами в самом инструменте (инструменты компании Minitub, Рис. 10).

Рис. 10. Инструменты для ректоцервикального способа осеменения по французской технологии

Техника проведения осеменения во всем остальном не отличается от литовской технологии.

Вопрос 4. Организация проведения искусственного осеменения коров и телок в Республике Беларусь

В настоящее время в республике используются 3 формы организации проведения искусственного осеменения крупного рогатого скота. Внедрение той или иной формы обусловлено размерами фермы, системой содержания животных, производственным направлением и специализацией, организацией труда и наличием специалистов.

Стационарная. Применяется на крупных комплексах. Штатный техник-осеменатор выявляет самок в охоте и осеменяет, участвует в проведении акушерской и гинекологической диспансеризации, стимуляции и лечении бесплодных животных, составляет графики запуска и отелов, ведет учет и нумерацию новорожденных. За осеменатором могут закреплять 1-2 соседние фермы. Нагрузка на техника-осеменатора порядка 400-500 голов осеменяемого поголо-

вья в год. При уменьшении количества дополнительных обязанностей, возлагаемых на техника-осеменатора годовая нагрузка может быть увеличена до 800-1000 голов.

Внутрихозяйственная маршрутно-кольцевая форма. Предполагает обслуживание одним или группой специалистов всех ферм хозяйства. В группу (звено по воспроизводству) могут входить осеменатор, ветврач-гинеколог, зоотехник-селекционер. Группа обеспечивается транспортом и оборудованием. Выявление самок в охоте проводится работниками ферм. Специалисты объезжают все фермы по установленному маршруту в строго определенное время. Проводят осеменение, ведут учет результатов осеменения, проводят акушерскую и гинекологическую диспансеризации, лечат животных с гинекологическими заболеваниями, отбирают животных на брак. Нагрузка на техника-осеменатора порядка 800-1200 голов осеменяемого поголовья в год.

Кооперативная форма. Кооперативы создаются на базе госплемпредприятий или райплемстанций. Его штат состоит из бригад, включающих специалистов осеменаторов, ветврачей-гинекологов, специалистов племотдела. За одной бригадой закрепляют несколько ферм одного или нескольких хозяйств и до 1800 коров и телок подлежащих осеменению. Объезд закрепленных ферм проводится по определенному маршруту 2 раза в день. С утра и до обеда проводится объезд ферм от начальной точки маршрута до конечной точки (фермы). После обеда – в обратной последовательности.

Такая форма проведения осеменения организовывается при отсутствии достаточного количества квалифицированных специалистов по осеменению в хозяйствах. Все работы проводятся на договорной основе с хозяйствами.

В некоторых хозяйствах Гродненской области организация искусственного осеменения осуществляется следующим образом. Техники-осеменаторы проживают на территории хозяйств, за которыми они закреплены. В их распоряжении (при необходимости) находится транспорт кооператива. При этом сокращаются расходы на ежедневный проезд от кооператива до ферм хозяйства. В тоже время специалисты по осеменению на находятся в подчинении и зависимости от хозяйств, что дает свои преимущества.

В настоящее время для обеспечения проведения искусственного осеменения скота в Республике Беларусь работают 6 Госплемпредприятий, по 1 в каждой области. На каждом их них содержится

около 100-120 быков производителей, от которых за год заготавливают до 7 млн. доз спермы. Годовой расход семени составляет более 6 млн. доз. За 2012 год в республике было осеменено 1537,7 тыс. коров и 629,1 тыс. телок. В общественном секторе практически 98% коров и 97% телок осеменяется искусственно.

ЛЕКЦИЯ № 8

Искусственное осеменение свиней

Вопросы лекции.

1. Оптимальные возраст и время осеменения. Выявления самок в охоте и подготовка их к осеменению.
2. Способы осеменения свиноматок.
3. Организация проведения искусственного осеменения свиней в РБ.

Вопрос 1. Оптимальное время осеменения. Выявления самок в охоте и подготовка их к осеменению.

Свиноматки. Ремонтных свинок осеменяют в возрасте 9-10 мес. при достижении живой массы 110-130 кг. При раннем осеменении отмечается малоплодие, понижение молочности, уменьшение продолжительности использования свиноматок. Задержка начала использования ремонтного поголовья способствует появлению кист яичников и бесплодию. Взрослых свиноматок осеменяют в первую охоту на 4-6 день после отъема поросят. Половую охоту выявляют с помощью хряков-пробников. Для этого прогоняют хряка по проходу между станками. При выявлении свиноматки с ярко проявляющимися признаками половой охоты проверяют наличие рефлекса неподвижности, когда при надавливании на спину рукой или телом свиноматка стоит неподвижно, принимает позу для коитуса. Таких свиноматок помечают. В спорных случаях животных переводят в отдельный станок или клетку и через 10-20 минут впускают хряка-пробника. Если садку не допускает, то свиноматку возвращают в станок для последующей проверки. Исключение могут составлять испуганные животные, а также имеющие травмы, ушибы, болезни конечностей, раны туловища.

Охота продолжается 48-60 часов, у молодых она короче, в условиях комплексов может удлиняться до 90-96 часов. Выявляют охоту или однократно (утром с 7 до 9 часов) или двукратно (утром с 7 до 9 и после обеда с 14 до 16 часов). В начале охоты появляется отечность вульвы, беспокойство свиноматки, она обнюхивает хряка, двигается за ним, но садку не допускает. Разгар охоты наступает спустя 18-24 часа от ее начала. В это время проявляется рефлекс неподвижности, и самка допускает садку на себя. Свиноматок допускающих

садку хряка-пробника метят и переводят в станки для последующего спаривания или осеменения. При отсутствии хряка-пробника охоту у свиноматок можно выявить по внешним признакам и по проявлению рефлекса неподвижности при надавливании на спину, поясницу, при поглаживании по бокам, молочным железам. Однако такой способ выявления половой охоты у свиноматок может давать ошибки в 20-25% случаев.

Если охоту определяют 2 раза в сутки, то первый раз осеменяют вскоре после ее появления, повторно через 24 часа после первого. При однократном выявлении утром осеменение проводят через 5-8 часов, повторно – утром следующего дня. Можно применять одноразовое осеменение в 17-19 часов вечера в день выявления охоты. Перед искусственным осеменением наружные половые органы обмывают раствором фурацилина.

Естественную случку применяют на небольших товарных фермах, в манежах. Пол засыпают опилками. В манеж сначала впускают матку, а затем хряка.

Вопрос 2. Способы осеменения свиноматок.

В практике применяется два способа осеменения: фракционный и нефракционный. Используется неразбавленная или разбавленная сперма с содержанием подвижных спермиев в 1 мл около 50 млн., но объем вводимой спермы различный. В одной дозе для взрослых свиноматок должно находиться не менее 3 млрд. активных спермиев, для молодых свинок – не менее 2 млрд.

Фракционный (Полтавский) способ. Используется прибор УЗК-5 (рис. 1), неразбавленная или разбавленная в 1,5-2 раза сперма, глюкозо-солевой раствор (на 1 л дистиллированной воды, 30 г глюкозы, 4,5 г натрия хлорида).

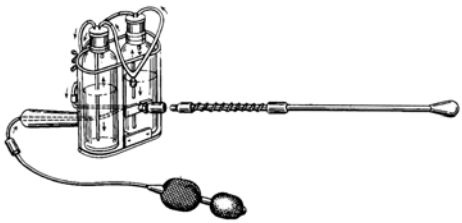

Рис. 1. Прибор УЗК-5 для фракционного способа осеменения свиноматок

Сперма вводится в объеме 50 мл взрослым маткам и 40 мл молодым свинкам, затем глюкозо-солевой раствор соответственно 100 мл и 70-80 мл. Содержимое флаконов выдавливается путем нагнетания в них воздуха при помощи шаров Ричардсона.

Преимущества:

1. После одной заправки прибора можно осеменить до 6-и свиноматок;

2. Визуально контролируется объем вводимой спермы.

Недостатки:

1. Громоздкий прибор для проведения осеменения.

2. Затруднения при его промывке (необходимо полностью разбирать прибор) и обеззараживании (внутренние каналы обеззараживаются перегретым паром).

Нефракционный (ВИЖевский) способ. Применяют прибор ПОС-5 (рис. 2). Он состоит из флакона емкостью 150 мл с навинчивающимися крышками и катетера с соединительной муфтой. Флаконы со спермой перед осеменением ставят в водяную баню при температуре 38-40°С на 10-15 минут. Сперму вводят в один прием, через 30 минут после выдержки в станке для осеменения с целью снятия стресса. Дозу определяют из расчета 1 мл на 1 кг массы животного, но не более 150 мл.

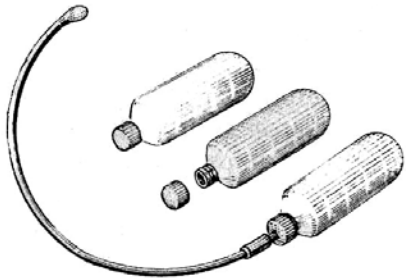

Рис. 2. Прибор ПОС-5 для нефракционного способа осеменения свиноматок

Перед введением катетер протирают спиртовым тампоном. После введения флакон поднимают вверх и слегка сдавливают для того, чтоб первая порция спермы вытекала в матку. После этого флакон немного отвинчивают от катетера, чтоб обеспечить доступ воздуха

во флакон взамен вытекающей спермы. При осеменении флакон удерживают рукой до полного вытекания спермы в половые пути.

В случае вытекания спермы из вульвы быстро наворачивают флакон на катетер и опускают его вниз на 2-3 минуты. За это время необходимо погладить свиноматку по крестцу,пояснице, бокам, молочным железам. Все это стимулирует моторику матки и засасывание спермы. После 2-3-х минут таких манипуляций обычно животные успокаиваются и флакон со спермой снова поднимают вверх и процесс введения спермы повторяют.

Преимущества:

1. Используются многоразовые инструменты, которые относительно легко промываются и обеззараживаются;

2. Флакон от прибора ПОС-5 является одновременно и емкостью для хранения спермы;

3. Более удобно проводить искусственное осеменение из-за меньшей громоздкости инструмента;

4. Дешевизна в использовании.

Недостатки:

1. При использовании ПОС-5 увеличена частота вытекания спермы из матки. Это происходит из-за того, что наконечник катетера не совсем плотно закрывает цервикальный канал. Однако во многих случаях причиной вытекания спермы является низкая ее температура при недостаточной отогреве. В таком случае холодная сперма, попадающая в полость матки вызывает антиперистальтические сокращения миометрия и выталкивание спермы.

2. Прибор изготовлен из полиэтилена и есть вероятность его деформации при повышенной температуре обеззараживания.

Осеменение по технологии Minitub. Внедрение технологии и инструментов компании Minitub в свиноводстве Республики Беларусь началось в 2005-2006 годах. По своей сути данная технология представляет собой нефракционный способ осеменения. Для этого используется разбавленная сперма, расфасованная в одноразовые полиэтиленовый флаконы по 90 мл. В каждом флаконе должно находиться не менее 2,5 млрд. активных спермиев. Перед осеменением флаконы со спермой отогревают в водяной бане при 38-40°С в течение 10-15 минут. Для введения спермы в половые пути используют одноразовые катетеры 2-х типов: Foamtip и Spirette. Катетер Foamtip

(рис. 3 А) используется для осеменения взрослых свиноматок, поскольку у них больший диаметр цервикального канала. Катетер типа Spirette (рис. 3 Б) используется для осеменения ремонтных свинок. Они чаще испытывают стресс при осеменении, вызывающий антиперистальтику миометрия. К тому же наконечник катетера Spirette напоминает головку полового члена хряка и более плотно закрывает цервикальный канал.

А Б

Рис. 3. Инструменты для введения спермы по технологии Minitub

После введения катетера в половые пути к нему присоединяют тюбик с отогретой спермой, с которого предварительно срезана верхушка наконечника (рис. 4)

Рис. 4. Тюбик Minitub с расфасованной спермой.

Для облегчения введения спермы используются различные фиксаторы, позволяющие удерживать катетер с тюбиком. Такой фиксатор, в виде металлической, пластиковой дуги или в виде ремня, одевается на поясницу свиноматки и к нему прикрепляется катетер (рис. 5)

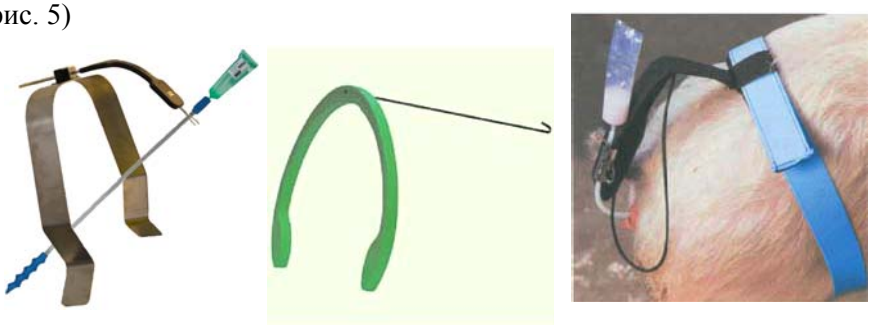

Рис. 5. Варианты фиксации катетера для осеменения свиноматки

После фиксации катетера сперма сама постепенно вытекает в матку. Через 10-15 минут оператор по осеменению извлекает инструмент, отсоединяет флакон от катетера. Через 5 минут снимает фиксатор.

Преимущества:

1. Плотная фиксация катетеров в цервикальном канале препятствует вытеканию спермы.

2. Одноразовые инструменты.

3. Облегчается техника введения спермы.

Недостатки:

1. Более высокая стоимость инструментов для осеменения.

Вопрос 3. Организация проведения искусственного осеменения свиней в Республике Беларусь.

Используется в основном **хозяйственный** способ. При этом на крупных комплексах создается пункт искусственного осеменения, который обслуживается пункт группой специалистов, в задачу которых входит подбор хряков, получение, обработка и хранение спермы, проведение осеменения.

Сервисный способ может быть использован при обслуживании небольших ферм хозяйств, в которых содержится небольшое количество свиноматок, а также фермерских и индивидуальных хозяйств. По заказам владельцев животных техник-осеменатор крупного пункта (или предприятия, если оно содержит хряков) может выезжать, взяв с собой сперму и инструмент, и осеменять выявленных в охоте животных.

ЛЕКЦИЯ № 9

Учет и отчетность в искусственном осеменении

Вопросы лекции.

1. Формы зоотехнического племенного учета в скотоводстве.
2. Характеристика и расчет основных показателей воспроизводства стада.

Вопрос 1. Формы зоотехнического племенного учета в скотоводстве.

Основой селекционной работы в любой отрасли животноводства является правильный и достоверный племенной учет, проводимый зоотехниками-селекционерами, племучетчиками, техниками осеменаторами, бригадирами ферм и комплексов.

Форма № 3-ио – **ордер на отправку спермы**. Этот документ заполняется обязательно в двух экземплярах. Один остается на племпредприятии или на райплемстанции, а второй передается получателю спермы. В ордере указывается дата отправки спермы, Кличка и номер быка-производителя, его порода и кровность, количество отпускаемых спермодоз, активность спермиев при оттаивании контрольной соломинки или гранулы.

На молочно-товарных фермах и комплексах первичным документом зоотехнического учета при искусственном осеменении является **журнал учета осеменений и отелов крупного рогатого скота** (форма 3-ио). В данном журнале отражается текущее физиологическое состояние каждого животного (коровы, телки или нетели), даты осеменения и номер используемого производителя, даты проверки на стельность, запуска, отела. В конце журнала заполняются таблицы, отражающие состояние воспроизводства стада крупного рогатого скота за текущее полугодие. Также в журнал можно заносить иную необходимую текущую информацию. Заводится журнал в начале каждого года или при формировании новой группы животных и заполняется ежедневно.

На основании данных журнала учета осеменений и отелов крупного рогатого скота составляются остальные необходимые формы зоотехнического и племенного учета.

Спустя 3 месяца после последнего осеменения проводится рек-

тальная диагностика стельности у коров и телок. По результатам проверки составляется акт проверки на стельность произвольной формы (табл. 1). В нем указывается кличка и индивидуальный номер коровы или телки, дата проверки и поставленный диагноз (**Ст** – стельная; **Н/ст** – не стельная; **Сомн.** – сомнительная). При положительном диагнозе на стельность указывается примерный срок стельности, так как при нескольких повторных осеменениях животных оплодотворение может наступить не от последнего, а от более раннего осеменения. В таком случае даты предыдущих осеменений сравниваются с анатомо-топографическими особенностями полового аппарата самки и развитием плода, на основании чего и устанавливается истинная дата плодотворного осеменения.

Таблица 1. Форма акта проверки на стельность самок крупного рогатого скота.

№ п/п	Кличка коровы	Инд. номер коровы или нетели	Дата проверки	Результат проверки	Срок стельности	Дата плодотворного осеменения
1	Беляна	325	27. 04.	Сомн.		
2	Рогуля	256	26. 04.	Ст.	3 мес.	25. 01. 2005
3	Зорька	654	15. 04.	Ст.	3 мес.	19. 01. 2005
4	Мышка	125	10. 04.	Н/ст.		
5	нетель	214	17. 04.	Ст.	4,5 мес.	29. 11. 2004
6	Чубка	754	23. 04.	Ст.	2,5 мес.	3. 02. 2005
7	Кобра	218	23. 04.	Ст.	3 мес.	10. 01. 2005
8	Ласка	2541	3. 04.	Ст.	2,5 мес.	27. 01. 2005

При отсутствии стельности техник-осеменатор или ветврач-гинеколог устанавливает причину бесплодия и назначает соответствующее лечение.

В случае постановки сомнительного диагноза в журнале учета отелов и осеменений крупного рогатого скота в строке текущей информации о животном ставится предположительная дата повторной проверки на стельность.

На основании установленной стельности и даты плодотворного осеменения в произвольно форме составляется график запуска коров (табл. 2).

Таблица 2. График запуска коров.

Кличка коровы	Инд. номер коровы или нетели	Дата плодотворного осеменения	Дата ожидаемого отела	Дата запуска	Состояние вымени
Рогуля	256	25. 01. 2005	31. 10. 2005	31. 08.	Норма
Зорька	654	19. 01. 2005	24. 10. 2005	24. 08.	Норма
Чубка	754	3. 02. 2005	7. 11. 2005	30. 08.	Л. З. не доится
Кобра	218	10. 01. 2005	14. 10. 2005	15. 08.	Норма
Ласка	2541	27. 01. 2005	31. 10. 2005	31. 08.	Норма

Спустя 7 месяцев после плодотворного осеменения (за 60 дней до ожидаемого отела) у коров должна прекратиться лактация. У отдельных животных это происходит самопроизвольно, особенно при значительном удлинении лактации (350-400 и более дней). В большинстве случаев лактация прекращается искусственно путем уменьшения кратности доения и снижения общего уровня кормления (главным образом за счет уменьшения дачи концентрированных и сочных кормов). После полного запуска у коров проверяется состояние молочной железы на наличие воспалительных процессов, определяется консистенция и остаточное количество секрета, которого в норме должно быть не более 50-100 мл в каждой четверти. После окончательного прекращения секреции молока коров переводят в цех для сухостойных коров (на комплексах с поточно-цеховой системой содержания скота). Перед запуском, а также в период сухостоя проводят необходимые ветеринарные обработки животных. Проводится вакцинация против колибактериоза (дважды, с интервалом в 10 дней), витаминизация (дважды, с интервалом в 10 дней внутримышечно вводятся витамины А, Д, Е). Также для профилактики различных осложнений в половом аппарате коровы обрабатываются препаратами микроэлементов (йод, селен, железо, кобальт) – дважды, с интервалом в 10 дней).

За 7-10 дней до ожидаемого отела коров и нетелей переводят в родильное отделение или ставят в ту часть стойла, где наименьшее движение животных, ограничивают моцион, прекращают дачу концентрированных и сочных кормов. Скармливают только сено. При появлении первых признаков начала родов следят за их течением и при необходимости оказывают необходимую акушерскую помощь.

Не позднее 2-х часов с момента рождения теленку обязательно выпаивается молозиво (1-1,5 литра) и проводится его мечение различными способами. Данные о родившемся теленке заносятся в журнал учета осеменений и отелов крупного рогатого скота, а также заполняется акт на оприходование приплода.

Приплод должен быть оприходован не позднее 2-х часов с момента рождения. Также родившиеся телята регистрируются в журнале выращивания молодняка и в книге движения поголовья.

Вопрос 2. Характеристика и расчет основных показателей воспроизводства стада.

Под оплодотворяемостью понимают процент коров, оплодотворившихся после первого осеменения, которое определяют процентом маток, не пришедших в охоту спустя 60-85 дней после осеменения. Оплодотворяемость определяют по формуле:

$$O_1 = \frac{Mc}{Mo} \times 100, где$$

O_1 – оплодотворяемость маток от первого осеменения, %; Мс – количество маток, стельных после первого осеменения; Мо – общее количество осемененных маток.

Пример. На ферме в январе осеменено 60 коров, из них стельными стало 30 голов. Оплодотворяемость от первого осеменения составит 50 % (30 × 100 : 25).

Высоким показателем оплодотворяемости после первого осеменения у телок считается 65–70 % и у коров – 60–65 % и более.

Индекс осеменения – число осеменений, затраченных на одно оплодотворение. Его вычисляют по формуле:

$$Ио = \frac{Ко}{Кп}, где$$

Ио – индекс осеменения; Ко – количество осеменений, затраченных для оплодотворения группы маток; Кп – из них количество плодотворно осемененных маток.

Пример. За год на ферме осеменяли 400 коров из них стельными стали 260 голов, индекс осеменения составил 1,53 (260:400). Он считается отличным, если на корову затрачивается от 1,25 до 1,50 осеменения; хорошим – от 1,51 до 1,75; удовлетворительным – от

1,76 до 2,00; плохим – когда затрачивается более 2 осеменений в среднем по стаду.

Среднюю продолжительность сервис-периода по определенному стаду вычисляют по формуле:

$$Cn = \frac{365 \times 100 - C \times T}{100}, где$$

Cn – средняя продолжительность сервис-периода, дней; С – продолжительность стельности коровы, дней; Т – выход телят на 100 коров за год.

Межотельный период (МОП) – интервал между двумя стельными отелами и включает продолжительность сервис-периода (Cn) и стельности (С). Среднюю продолжительность межотельного периода по стаду вычисляют следующим образом:

$$МОП = \frac{количество\,дней\,между\,отелами\,всех\,коров}{численность\,коров}$$

Из данных зоотехнического учета определяют интервал (в днях) между последним и предпоследним отелами всех коров в стаде, делят на число коров и получают продолжительность межотельного периода. Оптимальный МОП – не более 12 мес., в высокопродуктивных стадах – не более 13 мес.

Многоплодие – рождение двух и более телят у коровы. В среднем в стаде бывает около 2 % двойневых отелов.

Индекс плодовитости – показатель пожизненной воспроизводительной способности отдельных коров или стада в целом за ряд лет определяют по следующей формуле:

$$ИП = \frac{(Ко - 1) \times 365}{Д} \times 100, где$$

ИП – индекс плодовитости; Ко – количество отелов; Д – число дней между первым и последним отелами.

Плодовитость оценивается как хорошая при индексе плодовитости коров 100 и более.

Коэффициент воспроизводительной способности коров (КВС) можно рассчитать по формуле:

$$КВС = \frac{365}{МОП}$$

Коэффициент воспроизводительной способности коров, рав-

ный 1,00 – 0,95, характеризует оптимальный уровень их плодовитости.

Выход телят на 100 коров – отношение числа коров, от которых получен живой приплод, к поголовью коров имевшихся на начало года.

Пример. В предприятии за год от 1000 коров, имевшихся на начало года, получено 930 живых телят. Выход телят (Вт) на 100 коров (%) составит:

$$Вт = \frac{930 \times 100}{1000} = 93\%$$

Выход телят на 100 коров и телок старше 2 лет рассчитывают аналогичным способом.

Пример. В кооперативе за год получено от коров 930, а от нетелей – 180 живых телят. На начало года было 1000 коров и 185 телок старше 2 лет. Выход телят составит:

$$Вт = \frac{(930+180) \times 100}{1000+185} = 94\%$$

Не совсем правильно считать коров, подлежащих выбраковке в текущем году и телок старше 2 лет не подлежащих осеменению.

Яловыми считают коров, которые не оплодотворились в течении 80-85 дней после отела и от них не получен приплод в течение года.

Показатель яловости рассчитывают как отношение числа маток, не давших приплод, к количеству коров на 1 января, умноженное на 100, т.е. недополучение приплода на 100 маток числившихся, на начало года.

Пример. На начало года было 1000 коров, отелилось 950 маток. Яловость составит:

$$\frac{1000 - 950}{1000} \times 100 = 5\%$$

Яловость коров наносит большой ущерб скотоводству, который включает потери молочной продукции, недополучение телят, расход на повторное осеменение коров и на лечебно-профилактические мероприятия. Каждый день яловости – это потеря 0,0035 теленка и недополучение 1,0–1,5 кг молока на каждую 1000 кг молока.

ЛЕКЦИЯ № 10

Современные биотехнологии в репродукции сельскохозяйственных животных и птицы

Вопросы лекции.

1. Трансплантация эмбрионов у крупного рогатого скота.
2. Получение потомства методом in vitro.
3. Получение телят-двоен у крупного рогатого скота.
4. Микрохирургическое деление эмбрионов.
5. Получение химерных животных (генетических мозаиков).
6. Технология получения трансгенных животных
7. Клонирование животных
8. Получение потомков желаемого пола.
9. Воспроизводство рыбы.
10. Воспроизводство пушных зверей (норок)

Вопрос 1. Технология трансплантации эмбрионов в скотоводстве.

Технология трансплантации эмбрионов включена в долгосрочные племенные программы по разведению существующих пород молочного и мясного скота многих развитых стран мира. Этот метод обеспечивает интенсивное размножение высокоценных животных, ускоренное получение племенных быков от матерей с высокой молочной продуктивностью, позволяет быстро размножить импортируемые группы животных. Кроме того, ввозить зародыши гораздо дешевле, чем животных. Технология замораживания эмбрионов обеспечивает длительное их хранение и создание криобанка зародышей выдающихся животных. В товарных стадах трансплантация эмбрионов дает возможность увеличить выход телят за счет получения двоен от пересадки или подсадки эмбрионов, а также получать телят мясных пород от коров молочных пород.

В нашей республике принята следующая структура управления данной работой:

1. Головным заказчиком, финансирующим и доводящим задания до исполнителя выступает Минсельхозпрод и Государственная служба по племделу в животноводстве.

2. Головное предприятие – Республиканский центр трансплантации эмбрионов совместно с Республиканским научно-практическим центром НАН Беларуси по животноводству осуществляют научно-методическую и практическую помощь в организации работ по трансплантации в республике; обеспечивают создание криобанка эмбрионов; ведут подготовку и обучение кадров по трансплантации, осуществляют и координируют всю научно-методическую работу в республике.

3. Областные центры (пункты) трансплантации (где сосредоточено поголовье высокоценных коров) выступают в роли основного исполнителя. Их функция – получение быков-производителей, эмбриоматериала с последующей пересадкой или замораживанием.

Одним из существенных моментов в трансплантации эмбрионов является отбор доноров и реципиентов.

Коровы-доноры должны иметь известное происхождение, подтвержденное документально по системам групп крови. В качестве доноров используют лактирующих или выбракованных коров (причина выбраковки не должна быть связана с гинекологической патологией), в возрасте от 4 до 8 лет, живой массой 500-650 кг, с удоем по наивысшей лактации не ниже 10 тыс. кг молока, жирностью 3,7-3,8% и более. Важным фактором при отборе доноров является состояние репродуктивных органов. Для гормональной обработки отбирают животных не ранее, чем через 2,5-3 месяца после отела, при наличии у коров 1-2 полноценных половых охот после отела.

В качестве реципиентов используют клинически здоровых телок, не представляющих племенной ценности, в возрасте 16-18 месяцев и живой массой 380-400 кг при работе с молочным скотом и 450-500 кг при работе с мясными породами, а также коровы после 2-4 отела, но не ранее, чем через 1,5-2 месяца после отела.

Препараты и схемы гормональной индукции полиовуляции у коров-доноров.

Первоначально проводят синхронизация половой охоты у отобранных коров – потенциальных доноров эмбрионов. С этой целью животным, у которых на одном из яичников обнаруживается желтое тело полового цикла, внутримышечно вводят аналоги простагландина $Ф_2$-альфа из расчета 500 мкг действующего вещества по клопростенолу. Гормональную обработку с целью вызывания полиовуляции начинают на 9-11 день после наступившей синхронизированной половой охоты.

Для вызывания полиовуляции у доноров используются гонадотропные препараты – гонадотропин сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК) и, чаще всего, препараты фолликулостимулирующего гормона гипофиза животных – ФСГ (ФСГ-Супер, ФСГ-Р, Ovogin, Pluset, Folltropin и др.). Для синхронизации половых циклов используются аналоги простагландина $Ф_2$-альфа (магэстрофан, эстрофантин, просольвин, энзапрост, эструмейт, биоэстровет, ПГФ-Вейкс и др.).

Препараты ФСГ вводятся многократно, так как период полураспада гормона очень короткий – 5-б ч. Применение ФСГ в сочетании с простагландинами может обеспечить получение 5-5,5 жизнеспособных эмбриона и 9-10 овуляций на донора. Общая доза ФСГ составляет 40-50 мг (Арморовских единиц), интервал между инъекциями – 12 часов.

Схема гормональной обработки коров доноров представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Схема обработки коров-доноров

Дни полового цикла	Проводимое действие
9-11	Введение препаратов ФСГ в дозе 8 мг утром и 8 мг вечером
10-12	Введение препаратов ФСГ в дозе 7 мг утром и 7 мг вечером
11-13	Введение препаратов ФСГ в дозе 6 мг утром и 6 мг вечером. Дополнительно инъецируют аналоги простагландина $Ф_2$-альфа из расчета 500 мкг по клопростенолу утром и 250 мкг вечером.
12-14	Введение препаратов ФСГ в дозе 4 мг утром и 4 мг вечером
13-15 (0-й день нового полового цикла)	Охота у коров-доноров. Проводят 1-е и 2-е осеменение. В это же время отбирают телок-реципиентов в охоте.
1-й день цикла	Третье осеменение
7-й день цикла	Извлечение эмбрионов

При осеменении коров-доноров необходимо придерживаться определенных правил. За счет того, что при вызывании множественной овуляции процесс овуляции созревших фолликулов у доноров растягивается, то и признаки охоты проявляются дольше, чем при

спонтанной половой охоте. Осеменение доноров проводят трехкратно, вскоре после выявления признаков охоты, а затем через каждые 12 часов. При каждом осеменении используют по 2 дозы спермы. Для повышения количества овулирующих фолликулов и снижения вероятности образования фолликулярных кист в яичниках при осеменении внутримышечно вводят препараты – синтетические аналоги гонадотропин рилизинг-гормона (Гн-РГ), регулирующие процесс овуляции: Сурфагон (5 мл), Фертагил (500 ед), Гонавет-Вейкс (5 мл) или аналогичные. Инъекция донору Гн-РГ в день охоты способствует выделению лютеинизирующего гормона и наступлению овуляции в фиксированное время. При осеменении коров-доноров необходимо выдерживать в стойле до прекращения признаков охоты

В то же самое время, когда проявляется охота у доноров, проводят отбот телок-реципиентов в охоте. Таким образом достигается соответствие возраста полученных эмбрионов физиологическому состоянию половых органов у реципиентов, что повышает вероятность их имплантации. Более высокие результаты приживляемости зародышей наблюдаются при пересадке их реципиентам со спонтанной, а не синхронизированной половой охотой.

На 7-8 дни после наступления охоты проводят извлечение эмбрионов. Перед их извлечением контролируют реакцию яичников проводится с целью определения готовности донора к извлечению эмбрионов, а также для ориентировочного определения возможного количества эмбрионов, что дает возможность вести контроль за качеством извлечения и планировать дальнейшую работу. У доноров, у которых желтые тела отсутствуют или их насчитывается не более двух, извлечение эмбрионов не производят.

Нехирургическое извлечение эмбрионов.

Для извлечения зародышей животное фиксируют в станке. Проводят туалет наружных половых органов. Специальный двухканальный катетер вводят в половые пути коровы, аналогичным образом, как и инструмент для ректоцервикального способа осеменения. Продвижение катетера контролируют рукой через прямую кишку. При извлечении интсрумент проводят через шейку матки и направляют в один из рогов. В тот момент когда верхушка катетера окажется на глубине 5-10 см в роге из катетера извлекается металлический стилет, который обеспечивает более жесткое его продвижение через влагалище, шейку и тело матки. Далее катетер вводят проталкивая его вперед на 4-5 см, постепенно вытягивая стилет. После того, как

инструмент окажется за малой кривизной рога матки в канал катетера нагнетают 12-15 см^2 воздуха. За счет этого происходит увеличение резинового шарика на верхушке инструмента, который перекрывает канал рога матки (рис. 1). Затем полностью извлекается стилет. Присоединяется система для введения промывной среды и ее сбора.

Рис. 1. Положение катетера в роге матки при извлечении эмбрионов.

В качестве промывной среды используются солевые растворы Хенкса или Дюльбекко. С помощью шприца в верхнюю часть рога матки через катетер вводится 50-60 мл промывной среды. После каждого введения жидкость самотеком поступает в стерильный цилиндр для сбора. Для этого рог матки поднимают за верхушку, осторожно оттягивают вдоль брюшной полости и слегка массируют. Процедуру введения промывной среды повторяют 8-10 раз. На промывание одного рога матки нужно 400-500 мл среды. Процесс извлечения эмбрионов контролируется ректально. После завершения промывания в рог подают 60 см^3 воздуха для полного удаления жидкости из рога и всей системы, выпускают воздух их баллончика, извлекают катетер. Емкость с собранной промывной жидкостью выдерживают на ровной поверхности 20 минут для осаждения полученного эмбриоматериала. Затем верхний слой сливают с помощью гибкой трубки и полистироловой пипетки. Оставшуюся часть (50-100 мл) переливают в чашку большую Петри, в которой и проводят поиск

извлеченных зародышей под микроскопом, при 15-20 кратном увеличении.

Обнаруженные эмбрионы стерильной пипеткой переносят в маленькие чашки Петри в один мл питательной среды для кратковременного культивирования. В состав среды входят раствор Дюльбекко или Хенкса, 20% эмбриональной сыворотки и антибиотики (12 мкг/мл гентамицина). После этого эмбрионы оцениваются под микроскопом при 100-120 кратном увеличении. Биологически полноценными считаются эмбрионы, имеющие шарообразную форму, гомогенную светлую цитоплазму, неповрежденную прозрачную оболочку, одинакового размера бластомеры с плотным межклеточным контактом. Пригодные к пересадке эмбрионы на 7-8 день после осеменения соответствуют стадиям развития: ранняя и поздняя морула, ранняя и поздняя бластоциста (рис. 2).

1

2

Рис. 2. Нормально развитые морула (1) и бластоциста (2)

После оценки качества, пригодные к пересадке эмбрионы помещают в пайеты (рис. 3) и пересаживают реципиентам.

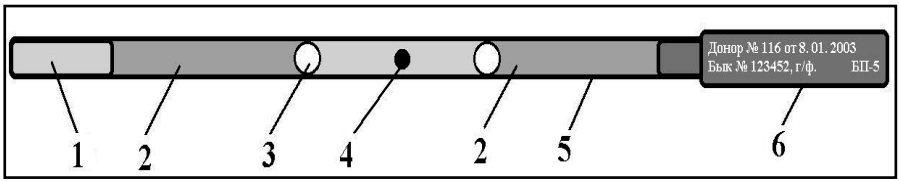

Рис. 3. **Схема заправки пайеты с эмбрионом**
1 - пыж, 2 - защитный раствор, 3 - пузырек воздуха, 4 - эмбрион, 5 - пайета, 6 - маркировочная пробка

Нехирургическая пересадка эмбрионов

Нехирургическая пересадка эмбрионов состоит из трех этапов: подготовки реципиентов; пересадки; контроля за реципиентами до

установления стельности или до выявления охоты. Основным критерием эффективности применения метода трансплантации эмбрионов является их приживляемость после нехирургической пересадки. Этот показатель во многом зависит от качества самих эмбрионов, степени синхронности проявления эструса между донором и реципиентом, квалификации специалиста и условий выполнения работы по пересадке.

При пересадке необходимо соблюдать асептику. У реципиента должно быть четко выраженное желтое тело полового цикла, качество которого определяется непосредственно перед пересадкой**.** Отобранных реципиентов фиксируют в станке, проводят туалет наружных половых органов и их дезинфицируют специальными аэрозолями (септонекс, денсол и др.) Проводят сакральную анестезию 2%-м раствором новокаина (5 мл) и при необходимости внутримышечную инъекцию миорелаксанта. Реципиентам с легковозбудимым типом нервной деятельности внутримышечно вводят 2,5% - й раствор аминазина в количестве 10 – 15 мл.

Пересадка эмбрионов выполняется специальными катетерами фирм (рис. 4).

Рис. 4. Положение катетера для пересадки в роге матки

Техника введения инструмента при пересадке аналогична технике введения катетера для извлечения, но катетер для пересадки, из-за своей жесткости, вводится не далее, чем за большую кривизну. После чего надавливанием на поршень выталкивается эмбрион из пайеты в просвет рога матки. Пересадка эмбрионов должна проводиться быстро и осторожно. Оптимальное время нехирургической пересадки 1-2 мин. После пересадки эмбрионов ведется контроль за

проявлением охоты у реципиентов. Через 2,5-3 месяца после пересадки телок исследуют на стельность.

Криоконсервирование эмбрионов.

Использование технологии криоконсервирования зародышей позволяет сохранить ценный эмбриоматериал при отсутствии животных-реципиентов, а также проводить пересадку эмбрионов в строго определенные сроки.

Для криоконсервирования используют свежеполученные эмбрионы только отличного и хорошего качества. Наиболее эффективно замораживание поздних морул и ранних бластоцист. В качестве защитных растворов (криопротекторов) используют 1,4 М раствор глицерина или 1,5М раствор этиленгликоля. В криопротекторных растворах эмбрионы выдерживают в течение 10 минут, затем перемещают в пайету (не более 2-х эмбрионов в 1 пайету), закупоривают ее пробкой и маркируют.

Замораживание проводят в специальном программном замораживателе, который позволяет охлаждать эмбрион с определенной скоростью до определенной температуры.

Соломинки с эмбриоматериалом переносят в камеру для замораживания и включают программу. Снижение температуры происходит автоматически до заданного программой уровня. Затем пайеты переносят в жидкий азот для хранения (рис. 5).

1

2

Рис. 5. Программные замораживатели для криоконсервирования эмбрионов (1 - DB1 EmbryoFreeze; 2 – Minitub).

Хранение замороженных эмбрионов осуществляется непосредственно в жидком азоте, в сосуде Дьюара. Используются стандартные канистры для хранения спермы. Для транспортировки эмбрио-

нов в замороженном состоянии применяют сосуды Дьюара емкостью 5 л с аналогичными канистрами.

Оттаивание замороженных пайет с эмбрионами проводят в водяной бане при t=37°С в течение 10-12 сек. до полного исчезновения льда, либо на воздухе при 20°С в течение 10 сек., а затем в водяной бане при 25°С также 10 сек. Отогретые пайеты освобождаются от маркерной пробки, верхний конец с пыжом отрезают и ее содержимое помещают на маленькую чашку Петри. Под микроскопом проводят подсчет количества оттаянных эмбрионов и предварительную морфологическую оценку. После этого эмбрионы отмывают от криопротектора. После морфологической оценки зародыши заправляют в пайеты и производят пересадку подготовленным реципиентам.

Вопрос 2. Получение потомства методом in vitro.

Технология выделения и кратковременного хранения ооцитов.

В настоящее время применение на практике нашел метод получения и созревания ооцитов in vitro. Их выделяют из яичников коров различными способами:

1-й способ. Яичники получают от животного после убоя, в процессе разделки туши в условиях мясокомбината. Их доставляют в лабораторию в термостатированном контейнере и не более 1,5-2 ч хранят в солевом растворе Хенкса с добавлением антибиотиков при температуре 10 - 20°С. Затем ооциты выделяют из фолликулов диаметром около 4-6 мм посредством предварительного иссечения яичников вдоль и поперек лезвием или скальпелем.

2-й способ. Из аналогичным образом полученных яичников ооциты получают путем отсасывания шприцем фолликулярной жидкости из фолликулов диаметром около 4-6 мм.

3-й способ. Вымывание яйцеклетки из яйцевода. У забитого животного вырезают яйцевод и осторожно освобождают его от окружающих тканей. Через расширенный (брюшной) конец яйцевода при помощи шприца пропускают по каплям физиологический раствор. Если необходимо сохранить яйцеклетки, то используют сыворотку крови (рис. 5). Жидкость, вытекающую из противоположного (маточного) конца яйцевода, собирают по каплям на 3-4 предметных стекла и под микроскопом отыскивают яйцеклетки.

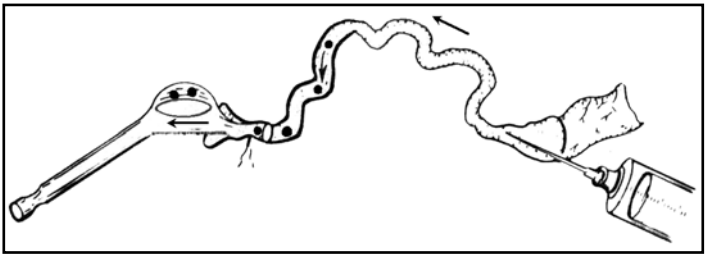

Рис. 5. Получение ооцитов из яйцевода

Можно вымывать яйцеклетки из яйцеводов и рога матки у животных, применяя специальную операцию лапаротомию (вскрытие брюшной стенки) по белой линии живота (рис. 6).

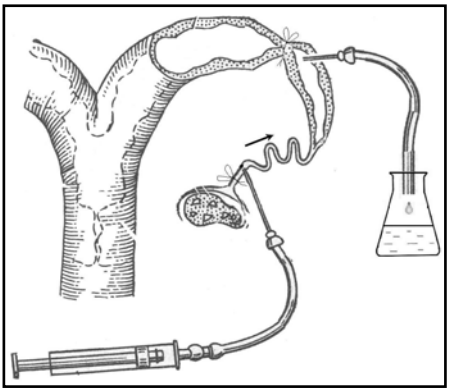

Рис. 6. Получение ооцита из яйцевода и верхушки рога матки

После выведения яйцеводов наружу берут маленький стеклянный шприц с тонкой иглой и вводят его в расширенный конец яйцевода, а в рог матки, фиксированный лигатурой, – иглу со шлангом для оттока жидкости в специальную емкость. Быстрым движением поршня шприца вводят жидкость в яйцевод и вымывают яйцеклетки.

4-й способ. Технология OPU (Ovum Pick-Up) – прижизненное извлечения ооцитов из яичников коров с помощью ультразвукового прибора лапароскопа. Ультразвуковой зонд вводят во влагалище коровы, под контролем руки через прямую кишку яичник подводят к головке ультразвукового зонда (рис. 7). При появлении около зонда фолликулов, диаметр которых не менее 5 мм, проводят их прокол специальной иглой на зонде и отсасывание фолликулярной

жидкости. Этим методом можно получать ооциты 1-2 раза в неделю от одного и того же животного. В среднем за один раз получают 5-6 ооцитов, из них от 30 до 50% пригодных для выращивания in vitro. Несмотря на низкий выход ооцитов при извлечении, остаётся реальной возможность многократного использования животных высокой племенной ценности, что открывает новые перспективы применения метода оплодотворения in vitro в практических целях.

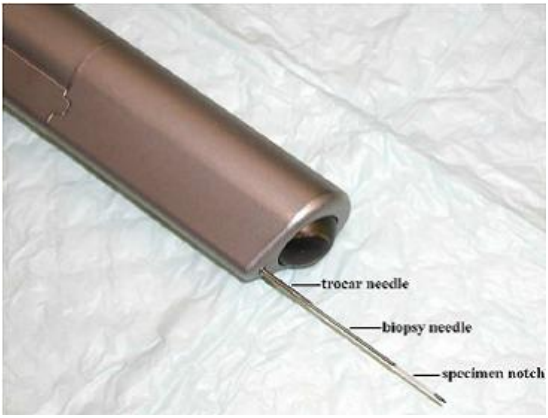

Рис. 7. Головка ультразвукового зонда аппарата OPU с иглой для отсасывания фолликулярной жидкости

Отобранные ооциты помещают в среду ТСМ 199, добавляют 20%-й раствор тёплой сыворотки крови от коровы в охоте и небольшое количество антибиотиков (50 ИЕ пенициллина, 50 мкг стрептомицина на 1 мл).

Важным этапом в оплодотворении ооцитов у млекопитающих является капацитация спермиев. Разработаны различные способы капацитации сперматозоидов домашних животных, основанные на удалении белков с их поверхности, которые тормозят процесс капацитации, с использованием сред с высокой ионной силой.

Из многочисленных способов капацитации спермиев, наибольшее практическое применение нашли следующие способы.

1. Подслоение спермы под среду для капацитации, в расчёте: каждые 250 мкл спермы на 1 мл среды. Затем промывают дважды центрифугированием при 3000 об. в течение 10 мин.

2. После 15 мин инкубации с гепарином (200 мкг/мл) суспензию со сперматозоидами разбавляют до концентрации 50 млн. /1 мл.

Экстракорпоральное оплодотворение ооцитов in vitro

Оплодотворение ооцитов in vitro и их культивирование у коров проводится следующим путем:

1. Оплодотворение проводят в капле модифицированной среды Тироде.
2. После созревания in vitro ооциты очищают от окружающих кумулюсных клеток.
3. Суспензия капацитированных спермиев объёмом 5 мкл вводится в капли с ооцитами..
4. Через 48 ч после оплодотворения in vitro определяют наличие дробления ооцитов.
5. Затем эмбрионы культивируют в течение 5-6 дней до стадий развития поздней морулы, ранней и поздней бластоцисты, т. е. до стадии, пригодной к пересадке постоянному реципиенту на 7 день цикла.

Вопрос. 3. Получение телят-двоен у крупного рогатого скота

Увеличение производства продукции животноводства на современном этапе требует привлечения прогрессивных методов ускоренного воспроизводства. В скотоводстве одним из путей увеличения производства продукции, без увеличения маточного поголовья, является получение телят-двоен.

В естественных условиях рождение двоен у крупного рогатого скота имеет весьма ограниченные пределы (0.1-4,5%) и зависит от породы, возраста животных и других факторов.

Повышение числа двойневых отелов возможно путем селекции на многоплодие, гормонального воздействия на организм и трансплантации эмбрионов. Осуществление на практике селекционных программ -дело сложное и требует времени в основном из-за низкого коэффициента наследуемости двойневости (0,012-0,025). Основной проблемой при гормональной стимуляции многоплодия является индивидуальная изменчивость и непредсказуемость овуляторной реакции яичников. Наряду с двойневой стельностью, отмечается трех-, четырех- и более плодные стельности, которые часто оканчиваются абортами.

Наиболее эффективным биотехнологическим методом получения телят-двоен у крупного рогатого скота является трансплантация

эмбрионов. Этот метод, прежде всего, позволяет обеспечить билатеральное (т.е. в обоих рогах) размещение эмбрионов в матке реципиента, способствующее благоприятному течению стельности и отелов.

Метод получения двоен включает те же этапы: отбор коров-доноров и реципиентов; гормональная обработка доноров; извлечение эмбрионов, поиск и оценка эмбрионов; подготовка реципиентов к пересадке; пересадка эмбрионов реципиентам.

Отличительными особенностями является то, что в качестве реципиентов необходимо использовать полновозрастных коров живой массой 550-600 кг. При проявлении признаков половой охоты параллельно проводится искусственное осеменение и коров-доноров, и реципиентов. На 7-8 день после осеменения, в случае наличия в яичнике хорошо выраженного желтого тела, реципиентам пересаживают один эмбрион в контралатеральный (противоположный) рог матки (т.е. в противоположный рогу, смежному с яичником, имеющим желтое тело).

В целом, данный биотехнологический прием позволяет получить до 63,1% стельных коров, из которых 66,6% - стельных двойнями (порядка 120-130 телят на 100 коров).

Результативность повышается, если осеменение коров-доноров проводить семенем быков не родственных быкам, семенем которых осеменяют реципиентов. В этом случае, трансплантация реципиентам гетерозиготных(неодинаковых по генетическим задаткам) эмбрионов относительно собственных обеспечивает стельность в 72,2% случаев, при этом двойневые стельности составляют 70,8%.

Диагностирование стельности ректальным методом необходимо проводить спустя 2-3 месяца после осеменения и эмбриопересадок. При наличии у коров флюктуации околоплодной жидкости в обоих рогах матки и относительно равных их размерах велика вероятность стельности двумя плодами. У коров с двойневой стельностью, особенно в заключительный период, повышаются обменные процессы и усиливается перенос питательных и биологически активных веществ к развивающимся плодам. Поэтому таким животным необходимо обеспечить полноценное кормление в сухостойный период, который, независимо от продуктивности, должен составлять не менее 60 дней.

Следует учитывать гот факт, что отелы двойней в 2-3 раза чаще, чем одинцом, сопровождаются оперативным родовспоможением, главным образом, из-за одновременного вступления плодов в родо-

вые пути коровы. Отёлы у коров должны проходить в родильном отделении под наблюдением ветспециалистов.

В связи с тем, что телята-двойни из-за более низкой живой массы при рождении (на 20-30% ниже живой массы одинцового теленка) характеризуются невысокой жизнеспособностью, то рекомендуется в зимне-стойловый период проводить внутримышечные инъекции эмульсии тетравит+АСД-ф-2 коровам, вынашивающим два плода, на 170, 200, 230, 260 дни стельности в дозе 15 мл+4 мл и, дополнительно, внутримышечные инъекции эмульсии данных препаратов их двойневому потомству на 15, 30, 45, 60 и 75 дни после рождения в дозе 2,5мл+0,5мл. Это позволяет на протяжении первых 90 дней выращивания телят-двоен довести их сохранность до 95%.

Вопрос 4. Микрохирургическое деление эмбрионов.

Необходимость быстрого увеличения количества высокоценных в племенном отношении животных дала толчок к поискам новых способов размножения, позволяющих получать относительно однородный в генетическом плане материал.

Используя метод микрохирургического деления эмбрионов представляется возможность получения клонов генетически идентичных животных с заданными хозяйственно-полезными признаками и желаемого пола.

Способ микрохирургического разделения эмбрионов разработан для повышения эффективности трансплантации эмбрионов за счет увеличения эмбриоматериала и состоит из двух этапов.

Первый этап включает в себя гормональную обработку коров-доноров, синхронизацию половых циклов доноров и реципиентов, осеменение доноров, нехирургическое извлечение у них 7-дневиых эмбрионов, оценку качества эмбрионов. На втором этапе проводится деление эмбрионов, их кратковременное культивирование и пересадка половинок зародышей реципиентам. Работа на первом этапе ведется согласно методическим рекомендациям Бел НИИЖ (1996 г).

Для деления отбираются эмбрионы только хорошего или отличного качества на стадии поздней морулы или бластоцисты, как свежеполученные, так и заморожено оттаянные.

В качестве рабочего инструмента для деления используется стеклянная микропипетка-игла, изготавливаемая из стандартных капилляров с внутренним диаметром 0,8 мм и внешним 1,2 мм.

Рабочей поверхностью служит чашка Петри с обрезанным краем. Для фиксации клетки на дно чашки наносятся металлической иголкой штрихи в разных направлениях.

Перед началом работы приготавливаются рабочие среды. Среда на основе фосфатно-солевого раствора Дюльбекко с добавлением 20% эмбриональной сыворотки и антибиотиков (100 ед./мл ампициллина и 12 мкг/мл гентамицина) используется для деления зародышей. Культивирование половинок проводят в среде ТС-199 с добавлением 20% эмбриональной сыворотки плодов коров, антибиотиков (100 ед/мл ампициллина или 12 мкг/мл гентамицина), лактата кальция (0,6 мг/мл), пирувата натрия (0.2 мг/мл) и глютамина (0,15 мг/мл).

Деление эмбрионом осуществляют следующим образом. После оценки пригодные для микрохирургии зародыши переносятся в среду Дюльбекко. Затем клетка в капельке среды помещается на подготовленную чашку Петри над штрихами. Над ней размещаю нож таким образом, чтобы плечо ножа не касалось чашки. Угол наклона ножа составляет 5-25°С к рабочей поверхности. Эмбрионы рассекаются опусканием ножа в медиальную плоскость клетки, одновременно разделяя оболочку и внутреннюю клеточную массу. При делении бластоцист необходимо разделять как эмбриобласт, так и трофобласт строго по середине. При проведении микрохирургической операции соблюдаются следующие правила: 1 - микроигла на эмбрион опускается постепенно, с паузами (нажим, пауза, нажим, пауза и т.д.); 2- после начала деления нельзя резко поднимать нож, т.к. клетка находится в напряженном состоянии и резкое поднятие ножа вызывает отрицательное давление, что приводит к гибели клетки. Эмбрионы делят двумя методами. В первом случае эмбрионы рассекаются полностью, полученные половинки в дополнительные зоны пеллюцида не пересаживаются. Во втором случае деление прозрачной оболочки проводится частично, а внутренняя клеточная масса делится полностью. Полученные полуэмбрионы остаются в собственной оболочке. Критерием успешного деления считают минимальное повреждение бластомеров и получение симметричных половин.

Затем полуэмбрионы переносятся в среду для культивирования и помещаются в термостат при температуре +38°С во влажную атмосферу, содержащую 5% CO_2 на 0,5-24 часа. Если в результате культивирования эмбрионы округлились, приняв обычную форму, считается, что деление прошло успешно. Их заправляют в пайеты по схеме и пересаживают реципиентам.

Пересадка прокультивированных половинок эмбрионов проводится нехирургическим методом по одной половинке в разные рога матки реципиента или обе половинки в один рог матки

Вопрос 5. Получение химерных животных (генетических мозаиков).

Химера – составное животное, несущее в себе признаки нескольких животных, отличающихся между собой по генотипу.

Сущность данной технологии заключается в искусственном объединении с помощью микрохирургических манипуляций эмбриональных клеток 2-х и более животных, относящихся к разным породам или даже видам.

Межвидовая пересадка эмбрионов (от овец козам или наоборот) приводит к абортам по причине иммунной реакции матери на инородные антигены плода и нарушения функции плаценты. Такая несовместимость может быть преодолена получением химерных эмбрионов.

В настоящее время существует 2 метода получения химерных животных.

1. Объединение бластомеров из эмбрионов одного вида, но от 2-8 родителей.

При этом 2-х, 4-х или 8-ми клеточные эмбрионы переносят внутрь эмбриона реципиента находящегося на стадии бластоцисты (т.е. на стадии 120-240 бластомеров). Далее химерные эмбрионы культивируют до стадии бластоцисты в яйцеводах, перевязанных лигатурой, а затем пересаживают реципиенту.

2. Слияние клеточной массы 2-х и более эмбрионов внутри 1-й прозрачной оболочки.

При этом 8-клеточные эмбрионы культивируют в среде с протеолитическими ферментами, растворяющими прозрачную оболочку. Освободившиеся бластомеры разных эмбрионов соприкасаются, их клетки сливаются и перемешиваются. Таким образом можно получать межвидовые химеры. Однако приживляемость таких химерных эмбрионов крайне низкая – около 10%.

Химерные животные поддерживают ценные хозяйственно-полезные признаки лишь на протяжении одного поколения, и не передают потомству характерную для них генетическую мозаичность. Однако в хозяйственном отношении представляют определенный

интерес, поскольку химерные животные могут сочетать в себе различные важные хозяйственно-полезные признаки, например мясную и молочную продуктивность, которые трудносовместимы в одном организме.

Вопрос. 6. Технология получения трансгенных животных

Получение рекомбинантных белков для медицины и ветеринарии с помощью трансгенных животных приобретает в последнее время всё больший интерес. Использование сельскохозяйственных животных в качестве “биореакторов” рассматривается в последние годы как альтернатива традиционным методам получения белков для фармацевтической промышленности. В результате генно-инженерных манипуляций домашние животные становятся живыми системами, синтезирующими рекомбинантные белки человека в крови, молоке или других жидкостях организма. При такой технологии производства биологически активных веществ предпочтение отдают молочной железе трансгенных животных. Рекомбинантные белки могут быть выделены из молока и использованы как сырье для производства медикаментов.

Существует несколько методов получения белков человека для медицины: экстракция из органов и тканевых жидкостей человека, ферментация с помощью генетически модифицированных микроорганизмов или культур клеток млекопитающих и получение с помощью трансгенных животных.

На начальных этапах развития технологии получения фармацевтических белков человека использовали метод экстракции этих белков из органов или тканей (гормон роста из гипофиз) и биологических жидкостей (фактор свертывания крови из крови человека). Однако эти белки содержатся в небольших концентрациях, что делает их выделение и очистку очень трудоемким процессом и требует большого количества исходного сырья. Кроме того, не смотря на проведение соответствующих мероприятий по безопасности, не всегда полностью удается исключить возможность контаминации патогенными микроорганизмами или вирусами (например, ВИЧ, вирус гепатита и др.).

Проблема ограниченности сырья и низкой концентрацией белка была частично решена с развитием методов генной и клеточной инженерии. На первом этапе производства рекомбинантных белков

использовали генетически модифицированные микроорганизмы. В настоящее время генно-инженерные манипуляции над микроорганизмами, методы их ферментации и способы переработки рекомбинантного продукта хорошо отложены. Но микроорганизмы могут синтезировать в основном только небольшие, простые белки, что является существенным недостатком. В бактериальных клетках отсутствует система посттрансляционных модификаций белка, поэтому продуцируемый белок не всегда обладает необходимой биологической активностью. Кроме того, взаимодействие рекомбинантного белка с иными синтезированными микробными белками может переводить его в нерастворимое состояние.

Продуцируемый рекомбинантный белок может быть правильно модифицирован только в эукариотических клетках. Трансгенные клеточные линии млекопитающих способны производить такие белки, но техника культивирования культур клеток млекопитающих является сложной, трудоемкой и относительно дорогой по сравнению с микроорганизмами.

В последнее время предпринимаются попытки получения трансгенных животных - продуцентов рекомбинантных белков. Производство фармацевтических белков с помощью трансгенных животных имеет следующие преимущества:

- в организме трансгенных животных могут осуществляться посттрансляционные модификации синтезируемого белка, что делает его биологически активным и идентичным белку человека;

- при получении рекомбинантных белков, с помощью трансгенных животных может быть достигнута очень высокая концентрация производства, что снижает стоимость получаемых биологически активных веществ. Трансгенное животное создается один раз и может воспроизводиться самостоятельно. К тому же стоимость его содержания является относительно низкой;

- в случае синтеза необходимых рекомбинантных белков в молочной железе трансгенных животных, молоко, содержащее рекомбинантный продукт, может быть получено путем простого сдаивания и в дальнейшем использовано в качестве сырья для фармацевтической промышленности

На сегодняшний день с помощью трансгенных животных получено более 50 различных белков.

При использовании трансгенных животных необходимо соблюдение определенных требований:

- получаемые рекомбинантные белки должны быть высокого качества и проявлять биологическую активность;

- белки не должны вызывать побочных эффектов и аллергических реакций;

- необходимо учитывать колебания качества молока и разработать оптимальную технологию переработки молока для получения рекомбинантных белков.

На сегодняшний день основным методом получения трансгенных животных остается метод микроинъекции ДНК в пронуклеус зигот. Однако при использовании данного метода возникает ряд трудностей, связанных с тем, что:

- в потомстве трансгенного животного только незначительный процент животных являются трансгенными;

- уровень синтеза чужеродного белка варьирует в зависимости от индивидуальных особенностей трансгенного животного и не может быть предсказан заранее;

- ген, кодирующий синтез белка человека и уровень, а также уровень его синтеза не стабильно передаются по наследству;

- переносимая в пронуклеус зигот генная конструкция ДНК может кроме специфических тканей (чаще ткани молочной железы) могут появляться и в других тканях.

В настоящее время трансгенными животными считаются такие животные, чей генотип был изменен путем введения чужеродного гена (ДНК) т.е. трансгена, а сам процесс получения такого животного – трансгенной технологией или трансгенозом.

Этапы получения трансгенных животных:

1. Получение яйцеклеток от самок-доноров после индукции полиовуляции и осеменения путем промывания яйцеводов;

2. Проведение микроинъекции в мужской пронуклеус зиготы трансгенной конструкции (чужеродной или созданной);

3. Культивирование зиготы до момента пересадки;

4. Пересадка зиготы суррогатной матери (реципиенту);

5. Получение приплода;

6. Отбор проб крови для доказательства интеграции ДНК в геном трансгенного животного.

Цели получения трансгенных животных.

1. В скотоводстве – выведены животные, резистентные к кровепаразитарным заболеваниям (трипаносомоз и др.), вирусу лейкоза. Получение животных способных синтезировать большее количество

лактоферина в тканях молочной железы и повысить резистентность к маститу

2. В РБ утверждена программа “БелРосТрансген” по получению трансгенных коз, вырабатывающих с молоком человеческий белок лактоферрин, который будет использоваться в производстве смесей для кормления детей. Наличие данного белка в смесях снижает заболеваемость детей гастроэнтеритами.

3. В 2004 году в России получены трансгенные овцы, которые с молоком продуцируют фермент химозин, применяемый в сыроделии. Ранее химозин получали из сычугов молочных телят и ягнят. Стоимость химозина, полученного от трансгенных животных в 10 раз ниже, чем полученного из сычугов. При этом сохраняется жизнь телятам и ягнятам. От 1 такой овцы за лактацию можно получить до 30 г фермента, которого достаточно для приготовления 30 т твердых сыров.

4. Получение белков для медицины: антитрипсин, интерферон, антитромбин, и др.

Вопрос 7. Клонирование животных.

Клон – это популяция клеток или организмов – потомков 1-й клетки или организма, полученных неполовым путем.

Все клетки организма животных несут одинаковую генетическую информацию. Однако в процессе морфогенеза соматические клетки дифференцируются, в результате чего часть генома репрессируется. Чем выше уровень специализации клеток, тем меньше их тотипотентность, т. е. у более специализированных клеток снижается возможность образования нового организма с исходным генотипом. Эта закономерность была установлена в экспериментах по пересадке ядер.

Впервые пересадку ядер соматических клеток зародышей в клетки лягушки осуществили в 1952 году. Пользуясь микропипеткой, были удалены ядра из яйцеклеток лягушки, а вместо них пересажены ядра клеток эмбрионов, находящихся на разных стадиях развития. Ядра ранних эмбрионов в стадии поздней бластулы и даже ранней гаструлы обладают тотипотентностью и обеспечивали нормальное развитие эмбрионов и далее головастиков примерно в 80% случаев. Если же развитие зародыша, донора ядра, продвинулось на следующую стадию - гаструлу, то лишь менее чем в 20% случаев оперированные яйце-

клетки развивались нормально. При пересадке ядер из более дифференцированных клеток (мезодермы и средней кишки) поздней гаструлы у эмбрионов наблюдалось недоразвитие и даже отсутствие нервной системы. После пересадки ядра из клеток более позднего развития яйцеклетки вообще не развивались.

Пересадки ядер у млекопитающих начались в 80-х годах.

Этапы клонирования:

1. Извлечение яйцеклеток;

2. Удаление ядра из яйцеклетки (энуклеация яйцеклетки);

3. Культивирование соматических клеток. Чаще всего эпителиальные клетки молочной железы;

4. Перенос ядра соматической клетки в энуклеированную яйцеклетку;

5. Пересадка яйцеклетки.

Методом клонирования были получены лягушки, крупный рогатый скот, овцы. Самое знаменитое клонированное животное – овечка Долли.

В феврале 1997 года человечество было потрясено известием из шотландского Института Рослина о рождении и нормальном развитии первого млекопитающего, полученного путем переноса ядра - овечки Долли. При получении Долли в качестве донорской клетки использовались зрелые, дифференцированные фибробласты (один из типов клеток соединительной ткани) из нижней части вымени овцы, находившейся на четвертом месяце беременности. Беременное животное было выбрано из-за того, что при беременности клетки вымени овцы активно делятся и, следовательно, хорошо выживают в культуре. Кроме того, такие фибробласты содержат стабильные по физической структуре хромосомы, что позволяет надеяться на сохранность всей генетической информации.

По сообщениям специалистов Института, все полученные ими рекомбинантные яйцеклетки начали нормально делиться и развиваться. Однако при подсадке их суррогатной матери лишь немногие зиготы стали развиваться. Помимо этого, после рождения клонов были отмечены определенные патологии. Так, некоторые из новорожденных были ненормально велики. Таким образом, подтвердилась статистические данные предыдущих исследований по переносу ядра, согласно которым нормально развивается лишь один из тридцати полученных эмбрионов.

Информация о слишком быстром старении Долли объясняется той гипотезой, что старенрие происходит в силу запрограммированного ограничения количества делений и продолжительности жизни каждой клетки высших организмов. Поскольку в качестве донорской при создании Долли использовалась клетка уже взрослого животного, которая претерпела до этого по крайней мере несколько делений, что и могло определить общий биологический возраст клонированного организма.

Вопрос 8. Получение потомков желаемого пола.

Молочное скотоводство в ряде стран, в том числе России и Беларуси испытывает недостаток в ремонтных телках для расширенного воспроизводства стада. Этот дефицит составляет порядка 20-25%. Потомство у коров рождается разнополое, причем примерно половина из них составляют бычки, а половина телочки. В молочном скотоводстве стран Западной Европы рождение бычка приносит или убыток, или нулевую прибыль, в то время как в мясном скотоводстве наоборот. Решить такую проблему помогают различные технологии, позволяющие получать потомков желаемого пола. В 1999 году в США была разработана технология разделения спермы быков по полу.

Эта технология основана на том, что различные спермии, имея гаплоидный набор хромосом, несут либо X-хромосому, либо Y-хромосому. У спермиев с Y-хромосомой содержание ДНК на 4% меньше, чем в спермии с X-хромосомой.

В процессе разделения спермии окрашиваются специальным флуоресцентным красителем, и спермии с X-хромосомой поглощают красителя на 4% больше, чем спермии с Y-хромосомой. Далее спермии облучаются лазерным лучом, и у таких спермиев проявляется повышенная интенсивность свечения.

Далее поток спермиев пропускается через биметаллические пластины цитометра с разной полярностью, при этом спермии сортируются на содержащие X или Y хромосому в зависимости от их заряда. Кроме того данная технология позволяет отбирать спермии практически без каких-либо аномалий.

Эффективность данной технологии составляет порядка 90%, то есть после осеменения коров или телок вероятность рождения приплода желаемого пола составляет порядка 90%.

С учетом значительно более высокой стоимости дозы разделенной по полу спермы (jколо 80-90 $) в одной спермодозе для осеменения содержится немногим более 2 млн. активных спермиев, т. е. в 8-10 раз меньше, чем в обычной спермодозе для осеменения коров или телок. В связи с этим оплодотворяемость после первого осеменения составляет на уровне 35-50%

Вопрос 9. Воспроизводство рыбы.

В рыбоводных хозяйствах размножение карпа проводят двумя методами: прудовым или заводским, предусматривающими в первом случае естественный нерест рыб в прудах, во втором — инкубацию икры в искусственных условиях.

Прудовый метод включает подготовку нерестовых прудов и производителей, посадку их в пруды и проведение нереста, подращивание личинок и пересадку их в мальковые или выростные пруды.

Пруды начинают готовить к нересту ранней весной: очищают от мусора, ложе известкуют, удобряют и боронуют, формируют травостой, заливают водой за 1-2 дня до посадки производителей на нерест.

Производителей и ремонтный молодняк подвергают тщательному осмотру. Больных, исхудавших и травмированных производителей выбраковывают, остальных сортируют по полу на самцов и самок и рассаживают в садки для преднерестового передерживания.

При достижении температуры воды 16-18°С в пруды гнездами (одна самка и два самца) сажают производителей и проводят нерест в течение 5-8 часов при оптимальной температуре и при безветренной погоде. Перед посадкой производителей обрабатывают в антипаразитарных ваннах с 5%-ным раствором поваренной соли. Чтобы исключить передачу эктопаразитов на личинок, производителей после нереста желательно выловить и пересадить в маточные пруды.

При искусственной инкубации икры исключается совместное содержание производителей и потомства, благодаря чему возможно получение личинок, свободных от возбудителей инвазионных и инфекционных заболеваний.

В основу заводского метода положено стимулирование созревания производителей внутримышечной инъекцией суспензии гипофизов рыб или синтетических гормонов (хориогонина и др.).

Для раннего получения личинок производителей готовят также, как и при прудовом методе. Потом их помещают в бассейны с регулируемым температурным режимом (18-22°С), вводят гонадотропный гормон самкам и самцам из расчета 5-10 мг гипофиза на 1 кг массы рыб. Причем самок инъецируют дважды, а самцов – однократно.

После созревания гонад у самок отцеживают икру в эмалированную посуду, а у самцов собирают молоки в сухие стеклянные стаканчики. Затем проводят оплодотворение икры полусухим способом: добавляют молоки к икре из расчета 3-5 мл молок на 1 кг икры, перемешивают их гусиным пером, доливая небольшое количество воды. Спустя 2-3 мин жидкость сливают и производят отмывку икры. Этот метод наиболее пригоден для лососевых, сиговых и карповых рыб.

Икру осеменяют смесью молок от трёх – пяти самцов. В результате обеспечивается высококачественное оплодотворение. В обычных условиях осеменение производят не позднее чем через 10-20 мин после взятия икр, так как задержка может привести к ухудшению её качества.

Если икра карпа инкубируется во взвешенном состоянии, ее предварительно после оплодотворения обесклеивают с помощью фермента гиалуронидазы (препарат ПАС-Г) либо суспензии талька, молока, разбавленного водой в соотношении 1:8, или растительного масла.

Вопрос 10. Воспроизводство пушных зверей (норок)

Половой зрелости норки достигают к 9-10-и месячному возрасту и нормально размножаются на протяжении 5–6 лет, но с четвертого года их плодовитость снижается. Самки в среднем рождают 5–6 щенков. Продолжительность жизни – 8-10 лет. Характерная особенность порок в размножении – их моноэстричность, то есть способность давать приплод раз в год.

По данным Р. В. Клера (1941), М. Д. Абрамова (1960) и Хансена (1947), эстральный цикл у самок норки длится 10 мес и имеет три фазы.

Первая фаза – диэструс, или «покой», охватывает период с июня по декабрь. Происходит медленный процесс развития фолликулов. Рога и тело матки анемичны. Со второй половины декабря про-

цесс роста и размножения яйцеклеток активизируется. Фолликулы и яйцеклетки увеличиваются.

Вторая фаза – проэструс охватывает январь-февраль. Это период активной подготовки организма к размножению. В фолликулах продолжается активный рост яйцеклеток. С другой половины февраля отдельные фолликулы уже заканчивают рост, а в их фолликулярной жидкости плавают яйцеклетки. Некоторые самки в конце февраля спариваются, но в большинстве случаев, особенно в северо-восточных районах республики, попытки к спариванию остаются безрезультатными.

Третья фаза – эструс, или течка, длится 15-20 дней, иногда она сокращается или растягивается. В период эструса наблюдают от одного до четырех циклов половой охоты, в каждый из которых самка может спариваться с самцом и оплодотворяться. Каждый период длится 1–2 дня с повторением в среднем через семь дней, с вариациями от 5 до 10 дней. Овуляция у норок провоцированная, то есть фолликулы лопают, и зрелые яйцеклетки выходят в яйцеводы только при спаривании. Овуляция у норок наступает через 34–48 ч после спаривания. Но не исключена возможность как более ранней, так и более поздней овуляции.

Наличие нескольких периодов половой охоты в течение эструса свидетельствует о созревании яйцеклеток не всех одновременно, а волнами.

Подготовка к гону

Подготовка к гону практически начинается сразу же после отсадки молодняка. Основная цель в этот период – подготовить зверей к новому сезону размножения так, чтобы они имели племенную кондицию.

Упитанность на протяжении всей репродуктивной жизни у большинства животных не является стабильной, она может изменяться.

К концу декабря норки, как правило, имеют живую массу, значительно превышающую племенную упитанность, и поэтому, чтобы обеспечить нормальный ход гона, беременность и высокую плодовитость в течение января – февраля, необходимо добиться у самок снижения живой массы до уровня племенной.

В этот период строго следят за живой массой. На первое января, февраля или марта зверей основного стада взвешивают и регулярно через 10–15 дней осматривают. В зависимости от их упитанно-

сти регулируют количество корма (ожиревшим норму уменьшают, истощенным прибавляют). На клетках истощенных зверей ставят знак «–», ожиревших « + ».

Особое внимание уделяют подготовке к гону молодых самцов и самок. Этот период у них совпадает с окончательным формированием организма, что требует повышенного количества питательных веществ. Желательно, чтобы на первое января молодняк по живой массе не отличался от взрослых зверей.

Заводской упитанностью считают ту, при которой самки имеют высокую плодовитость и дают жизнеспособный приплод, а самцы проявляют большую активность в гоне и результативность (оплодотворяемость самок).

Очень важным мероприятием является проверка состояния семенников у самцов. Семенники на ощупь должны быть хорошо развитыми, крепкими и упругими. Встречаются самцы, у которых один или оба семенника не прощупываются или по величине меньше нормальных. Таких самцов пускать в гон нельзя. Некоторые из них могут очень активно и хорошо спариваться с самками, но не оплодотворяют их.

В этот же период подбирают пары для спаривания, вакцинируют их, исследуют на плазмоцитоз, заполняют производственные журналы. Проводят ремонт неисправных клеток и домиков, дезинфицируют их, утепляют.

Гон норок

Техника гона строится исходя из биологических особенностей эструса самок. Как уже отмечалось, самки норок в течение эструса могут иметь от одного до трех периодов половой охоты.

Исследованиями установлено, что с увеличением периодов половой охоты достоверно повышается плодовитость, причем, самая высокая наблюдается при трех периодах.

Самки с одним периодом половой охоты имеют разные сроки се наступления, при этом время наступления на плодовитости не отражается, но значительно влияет на количество пропустовавших самок, особенно при февральских спариваниях.

В некоторых зверохозяйствах всех самок, спаренных первый раз, на второй день не перекрывают, несмотря на то, что любой период половой охоты продолжается 2–3 дня и самки могут спариваться от 1 до 3 раз.

Если с увеличением периодов половой охоты плодовитость повышается, то кратность спариваний этой достоверности не дает, хотя снижает процент пустых самок, что особенно ярко проявляется при одном периоде половой охоты.

Сроки начала гона зависят от наступления эструса и обусловливаются световым режимом и подготовленностью самок к гону. При плохом кормлении наступление эструса затягивается, и гон проходит в более позднее время. Низкая половая активность наблюдается и у ожиревших самок.

Определить у самок эструс по внешним половым органам трудно, его определяют по поведению. Когда самка в охоте, то при подсадке к ней самца последний сразу же делает попытки к спариванию и самка его принимает. При отсутствии охоты звери друг к другу относятся враждебно, между ними начинается драка, которая может закончиться сильными покусами.

Спаривания могут проходить без вязки, и можно спутать попытку к спариванию с настоящим спариванием. Признаком настоящего спаривания является отвернутый в сторону хвост самки и урчание зверей. Как правило, после спаривания участок шеи, где держался самец, сильно обслюнявлен. Обычно после спаривания звери некоторое время валяются по сетке, облизывают себя, после чего начинают злобно относиться друг к другу. Если же спаривания не произошло, поведение зверей не меняется, и самец снова делает попытки к спариванию.

Спаривание продолжается 30-40 мин, но в отдельных случаях может варьировать от 3-5 мин до 2-3 ч. После окончания спаривания зверей нужно сразу же рассадить. Самец в течение дня может покрыть двух самок с перерывами между спариваниями не меньше 2-3 ч. Обычно утром подсаживают тех, которые еще не были спарены, а после обеда – которые идут па повторное спаривание.

Самок подсаживают к самцу в утренние часы через 30-40 мин после кормления. Самцов размещают в середине шеда и рабочим очень легко наблюдать за поведением пар. Можно подсаживать и самца к самкам, но это затруднит наблюдение за парами, так как они будут разбросаны по всему шеду. Самцы, как правило, имеют хорошо выраженный половой рефлекс и пересадка в клетку к самкам его не пугает, хотя и требуется некоторое время на привыкание к новой обстановке. За каждым самцом закрепляют пять самок.

На 7–10-й день после первого покрытия самку снова подсаживают к самцу в течение 2–3 дней, пока она не покроется повторно.

Если самка не приняла самца повторно, ее следует считать беременной и, очевидно, повторения половой охоты не будет. Самок, которые спаривались первый раз после 16–20-го марта, повторно через семь дней к самцу подсаживать не нужно, но на второй день следует подсадить обязательно.

Некоторые самки, несмотря на охоту, с подсаженным самцом не спариваются. В этих случаях надо подобрать другого самца. Бывает, что самец отказывается покрывать подсаженную самку, но охотно спаривается с другими.

Беременность, щенение, лактация и отсадка молодняка

У норок в отличие от лисиц и песцов общая продолжительность беременности колеблется от 33 до 84 дней от последнего спаривания. Это объясняется наличием латентной стадии или диапаузы, которая не является постоянной у одной и той же самки в разные годы.

Период беременности можно разделить на три стадии. Первая– оплодотворение и дробление яйцеклетки, продолжающееся 4–6 дней. При этом яйцеклетка проходит в яйцеводах, а затем попадает в рога матки. Вторая стадия – латентная, длится от 1 до 54 дней. Зародыш к стенкам рогов матки не прикрепляется, а некоторое время свободно перекатывается в них, приостановив свое развитие. Третья стадия – истинная беременность, начинается с момента прикрепления (имплантации) зародыша к рогам матки.

До начала 80-х годов считали, что зародыши в основном гибнут в период латентной стадии. Экспериментальным путем доказано, что основная масса их гибнет в период прикрепления к стенкам рогов матки. Этот период является критическим периодом беременности.

Перед началом критического периода беременности (20– 25 марта) в рацион самок норки необходимо включать сахар (1,5– 2 г на порцию), молоко, печенку, дрожжи и концентраты витаминов. Недостаток в рационе полноценного белка, витаминов и минеральных веществ приводит к рассасыванию плодов, а использование некачественных кормов – к абортам, преждевременным родам и неблагополучным щенениям.

После имплантации эмбрионы начинают быстро развиваться и через 26–30 дней наступают роды. Определить беременность самок по внешним признакам тяжело. Обычно за 10–15 дней до щенения у них увеличивается живот (но не всегда) и они становятся более осто-

рожными, медленными в движениях. У отдельных животных признаков беременности нельзя определить до дня щенения. Часто можно наблюдать самок с очень увеличенным животом, которые родят 1–2 щенков, а самки без всяких признаков беременности родят 5–8 щенков.

По данным А. П. Русских и Н. А. Русских, изучавших ход весенней линьки у самцов стандартных темно-коричневых норок, беременных, ощенившихся, прохолостевших и абортировавших самок, линька протекает в разные сроки, что указывает на взаимосвязь линьки с функциями половых желез. Кроме того, линька беременных самок настолько типична, что этапы ее могут быть эталонами, определяющими период беременности и ожидаемый срок щенения. Заметные изменения можно наблюдать на мордочке, которые начинаются в первые дни имплантации.

Случаи неблагополучного щенения у норок – явление сравнительно редкое. О состоянии новорожденных щенков судят по их писку. Нормальный, периодический писк в момент выхода самки из домика за кормом признак того, что щенение прошло благополучно. Через 2–3 дня после нормальных родов щенята обычно перестают пищать.

Если в гнезде слышен разноголосый непрекращающийся писк, а самка беспокоится, нужно немедленно вскрыть гнездо и осмотреть щенков. При осмотре гнезда подсчитывают количество норчат, мертвых удаляют, убирают кал, остатки корма, сырую и грязную подстилку и добавляют сухую. Обращают внимание на состояние и размер щенков. Если щенки слабые, их подкармливают 20%-м раствором аскорбиновой кислоты с глюкозой и добавкой 2–3 мл раствора витамина В2 и В6,. Делают это два раза в день, пока щепки не окрепнут. Хороший эффект дает использование слабым щенятам смеси: парное молоко, лучше козье – 0,25 л, хорошо взбитый яичный желток– 1, гидролизин– 4 мл, аскорбиновая кислота – 5 г, глюкоза с ампул – 10 мл, витамины В2 и В6 – соответственно по 0,1 и 0,2 г. Все компоненты доводят до эмульсионного состояния. Смесь должна иметь температуру парного молока, для чего флаконы помещают в посуду с теплой водой (температура воды 30–36°С). Одновременно со вскрытием гнезда самки щенкам с помощью пипетки дают по 5–10 капель смеси каждому.

Нередко бывает, что щенки в приплоде значительно отличаются по размерам. В таких случаях крупных оставляют с матерью, а

меньших подсаживают к другой самке. Если в приплоде более восьми щенков, часть их нужно подсадить к приемной матери. При наличии в приплоде нормально развитых и слабых щенков здоровых подсаживают к другой самке, а слабых оставляют с матерью. Для подсадки щенков подбирают самку, в приплоде которой не больше четырех хорошо развитых норчат.

Поскольку у норок очень хорошо развит инстинкт материнства, подсадка щенков к другим самкам – дело не сложное. Обычно щенков кладут возле входа в домик приемной матери, которая, услышав писк, быстро забирает их к себе в гнездо.

У некоторых самок не хватает молока для кормления приплода. Им следует увеличить количество молокогонных кормов, таких как мускульное мясо, печень, молоко и овощи.

У молочных самок наблюдается большой прилив молока и молочные железы огрубевают, щенки не могут сосать и, как правило, слабеют. Переполнение молочных желез приводит к их воспалению (маститу). В таких случаях самкам уменьшают количество корма и полностью исключают из рациона на несколько дней молоко.

На пятый день после щенения щенков регистрируют. При этом устанавливают количество рожденных норчат (живых и мертвых), отмечают их состояние и записывают в акт регистрации. Если в приплоде есть щенки слабые или подсаженные к другим самкам, в акте делают отметку. Как регистрацию, так и осмотр гнезда лучше .проводить в теплую и сухую погоду.

Щенки рождаются живой массой 8–13 г и длиной тела 5–7 см, слепыми, беззубыми и с закрытыми ушными раковинами. Нельзя путать щенков с меньшей массой и длиной, но здоровых, со слабыми, хотя и крупными. У нормального, здорового щенка полный, без морщинок животик. Кожица бархатистая и упругая на ощупь. Слабые норчата имеют впалый, сморщенный животик, слабо пищат.

На 28–30-й день жизни у норчат открываются глаза, зубы прорезываются на 24–26-й день. На 20–25-й день после рождения, а при недостатке у матери молока и па 15-й день еще слепые щенки начинают есть корм, который самка заносит в домик. С 20-дневного возраста молодняк начинают подкармливать. В качестве подкормки, особенно для слабых щенков, готовят смесь из молока, мясного фарша, печенки, яиц и концентратов витаминов. Подкармливают щенков в домике на специальной дощечке или в плоской металлической кормушке. Самку на это время из домика удаляют.

Как только щенки начали есть корм, нужно особенно строго следить за чистотой в домике. Пока щенки сосут мать, их кал съедает самка и в домике чисто. С поеданием щенками обычного корма самка перестает поедать кал, в домике образуется грязь. В это время наряду с подстилкой рекомендуется вне домика засыпать древесные опилки или класть сухой мох сфагнум, хорошо поглощающие сырость. В домике постоянно должна быть подстилка, которую необходимо регулярно сменять. При отсутствии подстилки или нерегулярной смене ее щенки загрязняются и намокают, что замедляет нормальное развитие и даже может вызвать падеж.

Не реже чем раз в два дня нужно промывать вставное деревянное дно домиков горячей водой с дезинфицирующими растворами и тщательно просушивать.

Лактирующих самок кормят три раза в день, отдельным многопометным семьям еще поздно вечером дают подкормку.

Самки норки часто часть корма отдают щенкам, а сами систематически недоедают. Они истощаются, и если не принять соответствующих мер, то могут погибнуть или в лучшем случае резко снизить плодовитость в будущем сезоне. Резкая потеря живой массы самок наблюдается с достижением молодняком 30-дневного возраста.

Чтобы не допустить сильного истощения лактирующих самок и сохранить высокую их плодовитость в будущем году, молодняк отсаживают не позже 40–45-дневного возраста, а иногда и раньше. Лучше всего это делать постепенно. Вначале отсаживают наиболее крупных и развитых щенков, а через 3–5 дней остальных. При одновременной отсадке самка несколько дней волнуется, отказывается от корма, что еще больше ее ослабляет.

После отсадки молодняка самок в течение 10–15 дней кормят по усиленному рациону, чтобы они могли быстрее восстановить свою упитанность, а затем переводят на рацион холостых зверей.

Первые дни после отсадки молодняк пищит, плохо поедает корм, что отражается на темпах его роста. Поэтому в первые 15-20 дней лучше содержать его группами по половине помета в клетке или, если он небольшой, целым пометом. Такая рассадка и содержание в первые дни положительно сказывается на росте молодняка.