

3. При мастите стрептомицин появляется в экссудате уже через 1 час после внутримышечного применения и длительнее выделяется, чем с молоком здоровых коров.

4. Неомицин появляется в молоке спустя 1 час после инъекции, концентрация его достигает максимума к 12—24 часам, а длительность выделения составляет 72—96 часов.

Методы определения качества неразбавленной и разбавленной спермы быков

А. Т. СТЕПАНОВ

С 1957 г. на Витебской областной госплемстанции часто отмечали, что неразбавленная сперма имела высокое качество по всем оценкам, а при разбавлении оказывалась непригодной к использованию на 2—3-и сутки.

В 1965—1966 гг. нами установлено, что из 2795 осеменений спермой 1-го дня хранения оказались оплодотворенными 54,4% коров. Спермой 2-го дня хранения осеменили 2654 коровы, а оплодотворилось 44,6% и спермой 3-го дня хранения из 1466 осеменений с положительным результатом — 28,4%.

Это объяснялось тем, что маложизнеспособные сперматозоиды при благоприятных условиях, искусственно создаваемых во время исследования, восстанавливали скорость прямолинейного движения, но погибали они через 8—24 и более часов после разбавления и хранения. Мы задались целью изыскать такие методы, которые бы позволили определить качество неразбавленной и разбавленной спермы только по количеству жизнеспособных сперматозоидов. Испытали действие многих солевых растворов различной концентрации на устойчивость маложизнеспособных и жизнеспособных спермато-

зоидов неразбавленной и разбавленной спермы быков. Исходя из того, что в наших опытах 0,5%-ный раствор химически чистого хлористого натрия вызывал быструю гибель маложизнеспособных сперматозоидов, но медленно действовал на жизнеспособных, мы использовали его в дальнейших исследованиях.

Для определения устойчивости неразбавленной и разбавленной спермы быков к 0,5%-ному раствору химически чистого хлористого натрия использовали: 1) термостатный ящик с электроламповым обогревом и терморегулятором, который поддерживал температуру 38°C ($\pm 0,5^{\circ}$); 2) микроскоп с увеличением 7×20 или 15×8 ; 3) часы; 4) камеры Горяева с нумерованными сетками (№ 1, 2, 3, 4) и 2—4 шлифованных покровных стекла; 5) четыре меланжера для эритроцитов (№ 1, 2, 3, 4) и восемь для лейкоцитов (№ 1, 2 и т. д. до 8); 6) чистые флакончики с пробками; 7) 0,5%-ный раствор химически чистого хлористого натрия; 8) резиновую грушу; 9) дистиллированную воду; 10) спирт-ректификат и эфир.

Перед началом работы в электросеть включали термостатный ящик, в котором находился микроскоп. На столик микроскопа помещали две камеры Горяева с притертыми стеклами. Кроме этого, в термостатный ящик помещали 4 меланжера для эритроцитов. К внутренней боковой стенке термостатного ящика, справа, крепили пенициллиновый флакон с 0,5%-ным раствором химически чистого хлористого натрия.

Полученную сперму предварительно оценивали по 10-балльной системе. Эякуляты одного быка с оценкой не ниже С-6 сливали в мензурку или в смеситель, перемешивали и в меланжер для эритроцитов (№ 1) брали пробу спермы до метки 1,0. Сперму в мензурке предварительно разбавляли 1:1 разбавителем. Степень окончательного разбавления устанавливали после определения качества спермы по предлагаемому методу.

В меланжер с отобранной пробой спермы до метки 101 набирали 0,5%-ный раствор химически чистого хлористого натрия и записывали время его смешивания со спермой. Меланжер с содержимым осторожно встряхивали 16—20 раз, сливали три капли, а четвертую наносили на сетку камеры Горяева. Качество спермы определяли с помощью микроскопа по среднему количеству движущихся сперматозоидов в большом квадрате и вре-

мени (в минутах) их движения. Показатели качества спермы записывали в журнал по нижеприлагаемой форме.

Форма записи в журнал для определения качества спермы быков-производителей

№ п.п.	Кличка быков	Оценка по 10-балльной системе	Объем закулятов, мл	Время смешивания спермы с 0,5%-ным раствором хлористого натрия	Номер меланжера	Номер сетки	Среднее количество сперматозоидов с прямолинейным, манежным и колебательным движениями в большом квадрате	Время прекращения прямолинейного движения сперматозоидов	Время прекращения манежного и колебательного движений сперматозоидов	Степень разбавления спермы	Примечание
23	Смирный	C-7 C-8	9,5	8 ч. 25 м.	4	4	3-5+3-5	8 час. 30 мин.	8 час. 40 мин.	1:20	

Расчет концентрации жизнеспособных сперматозоидов производили по формуле, $C = \frac{n \cdot 100 \cdot 4000}{16 \cdot 1000 \cdot 000} = \frac{n}{40}$, где C — концентрация устойчивых сперматозоидов в 1 мл исследуемой спермы (в млрд.); n — среднее количество сперматозоидов с активным движением в одном большом квадрате сетки ($3+5=8$; $8:2=4$). Расчет по формуле показал, что в 1 мл исследованной спермы содержалось $C = \frac{4}{40} = 0,1$ млрд. жизнеспособных сперматозоидов.

Как правило, сперма хорошего качества имела в одном квадрате сетки в среднем по 6—8 и более сперматозоидов, сохранивших прямолинейное поступательное движение в течение 8 и более мин. при температуре 38°C; средняя — 2—5 сперматозоидов, с продолжительностью движения в тех же условиях 2—7 мин. Низкого качества сперма не имела или имела единичные с прямолинейным, а также 2—4 и больше сперматозоидов с манежным и колебательным движением.

На основании определения качества спермы быков по концентрации устойчивых сперматозоидов, а также продолжительности устойчивости к действию 0,5%-ного раствора поваренной соли и с учетом оплодотворяющей способности использованной спермы, нами предлагается

Таблица 1

Определение качества и возможной степени разбавления спермы быков по концентрации жизнеспособных сперматозоидов и времени их устойчивости в 0,5%-ном растворе хлористого натрия

Среднее количество сперматозоидов в большом квадрате с прямым линейным движением	Количество активных сперматозоидов в 1 ж.л., млн.	2—3 мин.	4—5 мин.	6—7 мин.	8—10 мин.	11—12 мин.	13 и более мин.
		15*	12	10	8	6	5
1—2	37	—	1:3	1:4	1:5	—	—
1—3	50	1:3	1:4	1:5	1:6	1:8	—
2—4	75	1:5	1:6	1:7	1:9	1:12	1:15
3—5	100	1:7	1:8	1:10	1:12	1:16	1:20
4—6	125	1:8	1:10	1:12	1:16	1:21	1:25
5—7	150	1:10	1:12	1:15	1:19	1:25	1:30
6—8	175	1:12	1:15	1:17	1:22	1:29	1:35
7—9	200	1:13	1:17	1:20	1:25	1:33	1:40
8—10	225	1:15	1:19	1:22	1:28	1:37	1:45
9—11	250	—	1:21	1:25	1:31	1:41	1:50
10—12	275	—	1:23	1:27	1:34	1:45	1:55
11—13	300	—	1:25	1:30	1:37	1:50	1:60
12—14	325	—	—	1:32	1:40	1:54	1:65
13—15	350	—	—	1:35	1:48	1:58	1:70
14—16	375	—	—	—	1:49	1:62	1:75
15—17	400	—	—	—	—	1:66	1:80
16—18	425	—	—	—	—	1:70	1:85
17—19	450	—	—	—	—	—	1:90
18—20	475	—	—	—	—	—	1:95

таблица определения возможной степени разбавления свежеполученной спермы быков (табл. 1).

Одновременно мы предлагаем методику оценки качества разбавленной спермы быков.

Для исследования брали 1,5—2,0 мл разбавленной спермы каждого быка и хранили ее в флаконах с этикеткой при 0°—+4°С в течение всего опыта. Затем на столик микроскопа в термостатном ящике помещали две чистые камеры Горяева с притертыми стеклами. К правой наружной стенке термостатного ящика крепили пенициллиновый флакон с 0,5%-ным раствором химически чистого хлористого натрия. Рядом с термостатным ящиком клали смесители для лейкоцитов. Размещенные

таким образом раствор и меланжеры имели комнатную температуру, что позволило предупредить отрицательное действие ее на качество исследуемой спермы.

Для определения качества спермы брали подлежащие исследованию пробы и помещали их в чашку с тающим льдом. После перемешивания пробы в смеситель с № 1 насасывали исследуемую сперму до метки 1,0 и до метки 11 заполняли 0,5%-ным раствором хлористого натрия, отмечали время их смешивания и после 8—10-кратного встряхивания смесителя помещали его в термостатный ящик на 30 мин.

Через 30 мин. меланжер извлекали из последнего, содержимое перемешивали, сливали две капли, заряжали камеру и под микроскопом определяли в одном большом квадрате среднее число сперматозоидов с прямолинейным, с манежным и колебательным движениями (2—4+2—4). Наблюдение за сперматозоидами продолжали до тех пор, пока в больших квадратах сетки камеры отмечали по 1—3 сперматозоида с колебательным движением, прекращающимся в следующие 1—3 мин.

Исследования записывали в журнал, заполняя следующие графы (см. форму записи).

Номер исследования и пробы	Кличка быка или выветарный номер	Номер меланжера	Номер сетки камеры	Время смешивания семени с 0,5%-ным раствором хлористого натрия	Среднее количество сперматозоидов в большом квадрате сетки с прямолинейным и колебательным и манежным движениями через 30 мин. действия 0,5%-ного раствора поваренной соли при температуре 38°С	Время прекращения колебательного движения сперматозоидов	Продолжительность движения сперматозоидов, мин.	Примечания
15	Жетон	6	3	12 час. 25 мин.	2—4+2—4	13 час. 10 мин.	45	

Чтобы определить качество разбавленной спермы быка на пункте искусственного осеменения животных, из флакона заряжали три меланжера для лейкоцитов, как описано выше. Отметив время смешивания спермы с 0,5%-ным раствором хлористого натрия в каждом меланжере, помещали их в термостатный ящик с температурой 38°С.

Первый раз определяли качество спермы по устойчивости сперматозоидов из меланжера № 1 через 10 мин., второй — из меланжера № 2 через 20 мин., а третий — через 30 мин. из третьего меланжера.

Исходя из того, что 1212 осеменений спермой с продолжительностью устойчивости сперматозоидов к действию гипотонического раствора хлористого натрия 10—15 мин. и концентрацией от 2 до 10 млн/мл обеспечило только 27,3% стельности, рекомендуем первое исследование использовать только в качестве предварительного ориентировочного подсчета активных сперматозоидов.

Спермой, имевшей по 2—4 (7,5 млн/мл) активных сперматозоида в каждом большом квадрате после 20-минутного воздействия 0,5%-ного раствора хлористого натрия при двукратном осеменении в одну охоту из 2371 коровы оплодотворились 1039, что составило 43,8% стельности.

Двукратное осеменение в одну охоту 2517 коров спермой, содержащей 7,5 млн/мл сперматозоидов с прямолинейным движением после 30-минутного воздействия 0,5%-ным раствором хлористого натрия, сопровождалось в 57,2% случаев стельностью. Однократное осеменение в одну охоту 79 коров такой же спермой дало 51,9% стельности.

При двукратном осеменении 641 коровы спермой с 12—15 млн/мл сперматозоидов было получено 54,4% стельности.

Концентрацию жизнеспособных сперматозоидов устанавливали по формуле $C = \frac{n \cdot 10 \cdot 4000}{16 \cdot 1000 \ 000} = \frac{n}{400}$, где C — концентрация активных сперматозоидов в 1 мл разбавленной спермы в млрд.; n — среднее количество активных сперматозоидов в большом квадрате сетки после 30-минутного воздействия 0,5%-ного раствора хлористого натрия.

Основываясь на том, что наибольший процент стельности был получен при осеменении разбавленной спермой, содержащей около 7,5 млн. активных сперматозоидов (3 сперматозоида в большом квадрате сетки Горяева), мы и приняли это число за необходимое количество сперматозоидов. Объем разбавленной спермы определяли по формуле $D = \frac{3}{n}$, где D — доза разбавленной спермы

в мл; 3 — необходимое среднее количество активных сперматозоидов в большом квадрате сетки; n — среднее число активных сперматозоидов в одном большом квадрате сетки Горяева.

На основании полученных результатов мы составили таблицу определения дозы разбавленной спермы быка на одно осеменение коровы (табл. 2).

Таблица 2.

Определение дозы разбавленного семени быка на одно осеменение коровы по количеству устойчивых сперматозоидов после 30-минутного воздействия 0,5%-ного раствора хлористого натрия при 38°C

Среднее количество активных живчиков в большом квадрате	Среднее количество активных живчиков в 1 мл разбавленного семени, млн.	Дозы семени на одно осеменение, мл	Примечание
1	2,5	2,0	
2	5,0	1,5	
3	7,5	1,0	
4	10,0	0,75	
5	12,5	0,6	
6	15,0	0,5	
7	17,5	0,43	
8	20,0	0,37	
9	22,5	0,33	
10	25,0	0,3	

Анализ результатов исследований по стельности указывает, что в зависимости от качества полученных эякулятов срок использования разбавленной спермы быков колеблется от 1 до 8 суток.

Обобщив многолетнюю работу по исследованию более 12 тыс. проб неразбавленной и разбавленной спермы более 200 быков Витебской, Миорской и Оршанской госплемстанций Витебской области, считаем возможным предложить описанные методы оценки качества спермы быков.