**Федеральное образовательное учреждение**

**Высшего профессионального образования**

**«Санкт-Петербургского» государственного аграрного университета**

**Калининградский филиал**

**Контрольная работа**

По дисциплине: Акушерство и биотехника размножения сельскохозяйственных животных

На тему: «Замораживание и транспортировка спермы»

Выполнила: студентка V курса

зооинженерного факультета

заочной формы обучения

Пирожок Юлия Викторовна.

Полесск 2011

**Замораживание и длительное хранение спермы быка**

Широкое применение нашел метод замораживания и длительного хранения спермы быков в жидком азоте (-196°). Замороженную сперму можно доставлять в хозяйства 1—2 раза в год и использовать ее по мере надобности. Один раз в месяц сосуды, в которых содержится сперма, необходимо пополнять жидким азотом. На племпредприятиях (станциях) по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных сперму замораживают при помощи специального оборудования (приборов, аппаратов и т. д.) и хранят в стационарных емкостях, находящихся в хранилищах станций (филиалов). Отсюда ее отправляют в обслуживаемые хозяйства.

Для замораживания спермы на племпредприятиях (станциях) применяют следующие методы: **Метод двухмоментного разбавления и трехступенчатого режима замораживания спермы быков** при помощи специальных аппаратов (АХК-4, ПЗСС и др.). К замораживанию допускают сперму с подвижностью спермиев не ниже 8 баллов и их концентрацией не менее 0,8 млрд. в 1 мл. Затем сперму разбавляют глюкозо-цитратно-желточной средой (35—37°) двухмоментно: сначала без глиперина, а спустя 4 ч после охлаждения к разбавленной сперме путем подслаивания добавляют такую же среду, имеющую температуру плюс 2—5° и содержащую 16% глицерина. Сперму в глицеринизированной среде выдерживают в бытовом холодильнике 6—12 ч при температуре 2—5°. После эквилибрации (уравновешивания) проверяют подвижность спермиев (она должна быть не ниже 7 баллов), расфасовывают в стеклянные или полиэтиленовые ампулы по 1—1,2 мл. Ампулы запаивают и вкладывают в емкости, которые помещают в аппараты для замораживания. Замораживают сперму по трехступенчатому режиму со следующей скоростью: от 0 до 15° по 0,5° в 1 мин, от 15 до 50° по 2—3° в 1 мин и от 50 до 80° по 5—7° в 1 мин, после чего емкости (канистры) переносят в жидкий азот для хранения.

**Метод одномоментного разбавления и быстрого замораживания спермы в форме гранул.** В качестве разбавителей используют синтетические среды № 1 и №2. К разбавителям добавляют нетоксичный стрептомицин из расчета 1 г на 1000 мл жидкости. Свежеполученную сперму (после оценки) разбавляют средой № 1 в отношении 1:1, при этом концентрация глицерина в разбавленной сперме будет 3,5%; если качество спермы позволяет, ее дополнительно разбавляют средой № 2. При определении степени разбавления спермы для замораживания учитывают, что в одной грануле объемом 0,1 мл после оттаивания должно содержаться не менее 20—25 млн. подвижных спермиев. После разбавления сперму помещают в ванночку с водой, температура которой равна температуре спермы, и переносят на 30 мин в холодильник. При этом следят, чтобы сперма и вода охлаждались не быстрее 1° в минуту. Затем сперму при температуре 5° эквилибрируют в течение 5—6 ч. Для приготовления гранул берут блок сухого льда (двуокись углерода) и на его поверхности специальным нагревательным прибором (к электроутюгу прикрепляется пластина с выступами) делают лунки диаметром 5—7 мм. В каждую лунку 2-миллиметровым шприцем вносят по две капли спермы. Величина гранул должна быть 0,1 мл. После 5—10-минутной выдержки на поверхности сухого льда гранулы высыпают в сосуд (кружку) с жидким азотом. Гранулы со спермой разных быков высыпают в отдельные емкости. Сперму быков (замороженную) в гранулах можно расфасовывать в специальные трубочки из белой жести с продольным разрезом или в алюминиевые тубы, на которых записывают специальным карандашом кличку быка, дату получения спермы и название племпредприятия (станции). Кроме замораживания спермы на сухом льду, в настоящее время широкое применение нашел метод замораживания спермы в форме гранул в жидком азоте при помощи специальных пластин.

**Замораживание спермы в гранулах в жидком азоте на фторопластовых пластинах.** После получения и оценки сперму быков разбавляют лактозо-желточной средой с глицерином следующего состава: вода дистиллированная — 100 мл, лактоза — 11,5 г, желток куриных яиц —20 мл, глицерин —5 мл. Для предупреждения развития микрофлоры в сперме к среде добавляют препарат спермосан-3. Перед разбавлением среду подогревают до 30—35°. Этой средой сперму быков разбавляют в 2, 10 раз и более, в зависимости от объема гранул. Если применяют концентрированные гранулы спермы объемом по 0,1— 0,2 мл, то для них требуются меньшие степени разбавлении. Для замораживания спермы в гранулах объемом 0,5—1,0 мл сперму разбавляют в 10 раз и более. Такие гранулы перед осеменением коров не требуют дополнительного разбавления. Для замораживания сперму после разбавления охлаждают до температуры 2—4° в течение 4—5 ч, а затем разливают градуированными пипетками, шприцем или разливочной машиной в лунки (0,1—0,2 или 0,5 мл) охлажденной в жидком азоте фторопластовой пластины. Пластину со спермой выдерживают над поверхностью жидкого азота на расстоянии 5—10 см в течение 1,5—2 мин, а затем погружают ее в жидкий азот на 1—2 мин. После замораживания спермы пластину вынимают из жидкого азота, гранулы спермы собирают в сачок или контейнер, а затем пересыпают их в охлажденные чашки. На пунктах искусственного осеменения гранулы спермы хранят в сосудах Дьюара. Уровень азота в них должен быть значительно выше чашек с замороженной спермой в гранулах.

Метод замораживания спермы в облицованных гранулах. По этому методу для замораживания используют свежеполученную сперму, разбавленную средами следующего состава:

Среда № 1. 11%-ный раствор лактозы или сахарозы 63 мл

Желток куриных яиц 30 мл

Глицерин 7 мл

Среда № 2. Вода дистиллированная 100 мл

Лактоза или сахароза 6 г

Натрий лимоннокислый трехзамещенный пятиводный 1,4 г

Глицерин 5 мл

Приготовленные среды наливают в стерильные полиэтиленовые емкости по 200—400 мл, которые подсоединяют к специальному устройству для разбавления спермы. После получения спермы ее разбавляют средой № 1 в соотношении 1 : 1 и выдерживают при комнатной температуре 5—10 мин. Затем проводят дополнительное разбавление спермы средой № 2 до требуемой концентрации (20—25 млн. в дозе). Сперму разбавляют с помощью специального устройства, позволяющего дозирование вводить среды в отделенную часть одноразового полиэтиленового спермоприемника со спермой. Спермоприемник соединяют с тонкостенной полимерной трубкой и выдавливают в нее разбавленную сперму. Заполненную спермой трубку разделяют с помощью автомата АРС-2 на отдельные дозы по 0,33 мл с их герметизацией. Облицованные (герметизированные) гранулы помещают в алюминиевые контейнеры, которые закрывают пробками. Контейнеры закрепляют в обоймы специального устройства для эквилибрации и замораживания спермы. Это устройство помещают в холодильник для охлаждения до 2—5°. После 5—6-часовой выдержки при такой температуре обойму аппарата с контейнерами погружают в емкости с жидким азотом на 8—10 мин.

**Замораживание спермы в соломинках (пайеттах).** При замораживании используют полипропиленовые или поливинилхлоридные трубочки длиной 100 мм с внутренним диаметром 2,4 мм, одни конец которых предварительно закрывают специальным герметизирующим составом: парафин ГОСТ 13577—12,0, пентаэритритовый эфир канифоли — 44,8, тальк — 10,1, каучук натуральный — 1,5, глицерин ГОСТ 6259—71—8,0, краситель — 0,1. Сперму разбавляют трисбуферной средой, содержащей 6,056 г трисбуфера (трисгидрооксиметиланометан), 3,4 г лимонной кислоты, 2,5 г фруктозы, 166,3 мл бидистиллированной воды. Раствор делят на две равные части, к первой добавляют 15,8 мл бидистиллированной воды, 25 мл свежего яичного желтка, 100 тыс. ЕД антибиотиков, ко второй— 19,7 мл глицерина, желток и антибиотики в тех же количествах. Первый разбавитель добавляют к эякуляту, предварительно доведенному до температуры 25°. Вторую среду медленно добавляют к предварительно разбавленной сперме с таким расчетом, чтобы в соломинке (пайетте) содержалось 20—25 млн. подвижных спермиев. После разбавления сперму расфасовывают по 0,4 мл в стерильных условиях вакуумным способом. Для этого необходимое количество промаркированных соломинок (от 100 до 500 шт. в зависимости от количества спермы) ставят открытыми концами вниз в стеклянную плоскодонную посуду со спермой помещают в анаэростат, из которого насосом вначале откачивают воздух до давления 0,95 атм., а затем впускают его. Воздух нагнетает сперму в соломинку. Заполненные спермой пайетты зажимают в специальном держателе, при температуре 25° погружают в герметизирующий состав и закрывают второй конец. После герметизации соломинки помещают на медное сито (корзинку) и переносят в пары жидкого азота стационарного хранилища. Корзинку с соломинками опускают в хранилище до соприкосновения с поверхностью азота. Вскипание азота образует ток холодного газа, который охлаждает и замораживает сперму до 100—130° в течение 5 мин. Соломинки с замороженной спермой переносят в стаканчики, помещают в канистры и закладывают в хранилище с жидким азотом. Замороженную в соломинках сперму перед использованием оттаивают в стерильном полиэтиленовом мешочке, помещенном в теплую воду (38—40°) в течение 12—14 с. Независимо от метода замораживания сперму оттаивают и проверяют на подвижность спермиев сразу после замораживания, второй раз — через сутки, третий — через 7—10 дней и четвертый раз — через 14—20 дней. Замороженная сперма для дальнейшего хранения допускается при подвижности спермиев не ниже 4 баллов. Для оценки оттаянной спермы в пайеттах (выборочно) производят смешивание ее из одной соломинки с равным количеством изотонического раствора лимоннокислого или бикарбоната натрия. Для этого один конец соломинки обрезают ножницами и опускают в раствор, а затем этими же ножницами обрезают и второй ее конец. Полученную смесь спермы и раствора перемешивают соломинкой и с ее помощью берут каплю для оценки. Для осеменения используют сперму не раньше 14—20 дней после замораживания. Оттаявшую сперму вновь замораживать нельзя.

**Транспортировка спермы**

Для перевозки спермы в хозяйства используют различной конструкции емкости - сосуды Дьюара СДС-5 и др., термосы для ее сохранения и разные виды транспорта. Обычно со станции искусственного осеменения сперма производителей доставляется в хозяйства на пункты автотранспортом. Сперма высокоценных производителей нередко транспортируется в различные зоны страны авиа- и железнодорожным транспортом.

Основные требования к транспортировке спермы в термосах и емкостях — предохранить их от тряски (прокладки из поролона или других материалов), не допускать повреждения и нарушения температурного режима. Доставка спермы должна производиться в возможно короткие сроки. Вместе со спермой в хозяйство направляют ордер-накладную (2 экз., один возвращают на станцию), в которой указывают качество спермы. При транспортировке по железной дороге или самолетом термосы, упаковки со спермой пломбируют и снабжают этикетками с указанием места назначения и адреса отправителя. Для перевозки спермы производителей в хозяйства и хранения ее на колхозных и совхозных пунктах при температуре 0—4 и 5—20 °С пользуются термосами разной конструкции (термосы-ящики, бытовые сумки-холодильники). Чаще применяют пищевые термосы — это двустенные стеклянные колбы с безвоздушным пространством между стенками, помещенные в пластмассовый или жестяной футляр. Колбу закрывают корковой пробкой - крышкой. Эти термосы хорошо сохраняют температуру, но они очень хрупкие. Их удобнее использовать для стационарного сохранения спермы на пунктах, а для перевозки спермы лучше использовать более прочные термосы.

Сперму быков и баранов-производителей при температуре хранения 0—5°С перевозят в широкогорловых пищевых или пластмассовых термосах. Полиэтиленовый термос (конструкции ВИЖ и др.) — двустенный сосуд из полиэтилена с порошково-вакуумной термоизоляцией; емкость его 3,7 л. Температура 2— 4°С поддерживается в нем в течение 72 ч. Пробирки, ампулы, флаконы со спермой укладывают в вату или специальные поролоновые амортизаторы, которые с ордером помещают в прозрачные полиэтиленовые мешочки, и запаивают их, затем укладывают на лед термоса и сверху кладут небольшое количество льда или снега, имеющего температуру 0°С (лед или снег, взятый со двора во время сильных морозов, необходимо подержать в помещении до начала таяния и проверить температуру термометром). При температуре ниже 0°С спермии погибают.

При транспортировке спермы зимой следует учитывать, чтобы окружающая температура воздуха была не ниже минус 5°С, если она ниже, то принимают меры для утепления термоса.

В южных зонах страны для перевозки спермы быков и баранов, разбавленной специальными средами при температуре 10—18°С, используют те же термосы, но заполняют их прохладной водой, а для поддержания указанной температуры добавляют кусочки льда.

Разбавленную сперму хряков транспортируют в термосах различных типов («Харьков ТС-3», поролоновый термос, термос-ящик «Полтавский» или бытовые сумки холодильники и др.). При транспортировке спермы хряка в условиях температуры 10—20°С колбы (бутылочки, флаконы) со спермой плотно закрывают пергаментной бумагой или целлофаном и помещают в термос. После доставки ее на место необходимо снять с колбы резиновое кольцо и хранить сперму негерметически закрытой.

Сперму жеребцов после разбавления транспортируют при температуре 0—5 °С в баночках (50—100 мл) или флаконах из-под антибиотиков с притертыми пробками, фиксируют их резиновым кольцом и погружают в термос со льдом (конструкции ВНИИК. и др.). Чтобы сперма охлаждалась постепенно, сосуды с ней перед этим помещают в полиэтиленовые или марлевые мешочки, предварительно обернув их тонким слоем ваты. Сверху покрывают тонким слоем льда и закрывают термос крышкой.

При перевозке спермы следует принимать меры, предупреждающие ее взбалтывание и встряхивание в пути (прокладка ветошью, поролоном и др.). Термосы и сосуды, в которых перевозят сперму, нужно помещать в переднюю часть автомашины, где они будут подвергаться меньшему встряхиванию. Особенно важно соблюдать все эти правила при транспортировке спермы по плохим дорогам.

**Главное условие при транспортировке замороженной спермы — постоянное поддержание низкой температуры**

Замороженную сперму перевозят в сосудах Дьюара, в которых ее и хранят.

На пункте хозяйства при получении сосуда с замороженной спермой прежде всего должно быть выяснено, имеется ли в сосуде достаточное количество хладагента, т. е. покрыты ли ампулы им сверху. Если жидкий азот улетучился, то сперма может быть использована только после установления под микроскопом хорошей активности спермиев. Хранить сперму без хладагента нельзя, оттаянную ее можно использовать только в ближайшие часы.

Если в хозяйстве на пункте искусственного осеменения имеется сосуд с жидким азотом, где хранится замороженная сперма, то кассеты или канистры с гранулами, пакеты со спермой в капиллярах-соломинках быстро переносят из одного сосуда в другой, соблюдая технику безопасности.

Санитарно-гигиенические условия при перевозке спермы включают меры профилактики заразных болезней. Инструменты, термосы и посуду, отправляемые станцией для использования на пункте, после обеззараживания возвращают на станцию, где их вновь стерилизуют. Особенно за этим надо следить при обслуживании неблагополучных по инфекционным болезням хозяйств в данном случае обеззараживание проводят в обособленном помещении; мягкий упаковочный материал (бумагу, стружку и пр.) немедленно сжигают. Контролирует выполнение этих работ ветеринарный персонал.

**Список литературы**

1. Завертяев Б. П. «Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота» -"Агропромиздат", 1989г.
2. Никитин В.Я., Миролюбова М.Г. «Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения» М-«Колос» ,2000г.
3. Петров И.А., Порфирьев И.А. «Акушерство и биотехника репродукции животных» - «Лань»,2009г.