

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ  
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

УДК 636.8.082.52

«ПОГОДЖЕНО»

Декан факультету ветеринарної  
медицини

Цвіліховський М.І.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

«ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО  
ЗАХИСТУ»

Завідувач кафедри акушерства,  
гінекології та біотехнології  
відтворення тварин

Вальчук О.А., к.вет.н., доцент

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

КВАЛІФІКАЦІЙНА МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

08.03.-КМР 1895 «С» 2020.12.01. 09

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

на тему: «ОЦІНКА ЯКОСТІ СПЕРМИЦІВ ЗА КОРОТКОТРИВАЛОГО  
ЗБЕРІГАННЯ»

Спеціальність 211 «Ветеринарна медицина»  
(код і назва)

Освітня програма «Превентивні ветеринарні технології забезпечення здоров'я  
собак і котів»  
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

к.вет.н., доцент

Виконав

(підпис)

Деркач С.С.

Коструб В.В.

(ПІБ студента)

Консультант з економічних питань

к.вет. н., доцент  
(науковий ступінь та вчене звання)

(підпис)

Ситнік В. А.

(ПІБ)

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

КИЇВ – 2021

# НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

## ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

НУБІП України

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
Завідувач кафедри акушерства,  
гінекології біотехнології  
вдтворення тварин

НУБІП України

к.вет.н., доцент О. Вальчук  
(науковий ступінь, вчене звання) (підпис) (ПІБ)  
" " 20 року

## ЗАВДАННЯ

НУБІП України

**ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ  
СТУДЕНТУ**  
Коструб Василь Васильовичу  
(Прізвище, ім'я та по-батькові)

НУБІП України

Спеціальність 210 «Ветеринарна медицина»  
Освітня програма "Магістр"  
Магістерська програма «Превентивні ветеринарні технології забезпечення  
здоров'я собак і котів»

НУБІП України

Орієнтація освітньої програми: освітньо-професійна  
**Тема магістерської роботи:** "Оцінка якості сперми псів за кофоткотривалого  
зберігання"  
затверджена наказом ректора НУБІП України від "01" грудня 2020 р. №1895 «С»  
Термін подання завершеної роботи на кафедру 19 листопада 2021р.  
(рік, місяць, число)

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи

НУБІП України

Вид тварин собаки.  
Утримання домашнє.  
Годівля корми, свіже м'ясо, овочі, сухі корми різних фірм згідно  
норми.

# НУБІП України

Кількість досліджуваних тварин 5 голів. Вік дослідних тварин від трьох до шести років. Всі пси здорові, репродуктивного віку.

**Перелік питань, що підлягають дослідженню:**

# НУБІП України

1. Опрацювати сучасні літературні джерела за темою магістерської роботи.
2. Дослідити якість свіжотриманої сперми псів породи німецька вівчарка.

3. Провести порівняльну оцінку підготовки еякуляту псів до розрідження синтетичними розбавниками.

# НУБІП України

4. Встановити виживаємість сперміїв за розрідження їх різними за складом розбавниками.

Дата видачі завдання “15” жовтня 2020 р.

**Керівник магістерської кваліфікаційної роботи**

**С. Деркач**

# НУБІП України

**Завдання прийняв до виконання**

**В. Коструб**

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

ЗМІСТ

|   |    |
|---|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....                               | 5  |
| ВСТУП.....  | 6  |
| РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....   | 8  |
| 1.1 Особливості будови сперматозоїда та їх хімічний склад.....  | 8  |
| 1.2 Фізіологія сперми.....  | 16 |
| 1.3 Особливості статевих рефлексів у псів.....  | 19 |
| 1.4 Методи отримання сперми від псів.....   | 22 |
| РОЗДІЛ 2. НАПРЯМИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....   | 28 |
| 2.1. Матеріали і методи дослідження.....  | 28 |
| 2.2 Характеристика бази виконання роботи.....   | 36 |
| РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....  | 40 |
| 3.1. Отримання та дослідження сперми пса.....   | 40 |
| 3.2 Розбавлення сперми пса.....   | 43 |
| 3.3 Активність сперміїв за різного складу розріджувачів.....  | 47 |
| РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОДЕРЖАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ, ЇХ ЕКОЛОГІЧНЕ ТА ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ..... | 51 |
| ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....   | 60 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....   | 61 |

НУБІП України

# НУБІП України

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,  
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

|               |                 |   |  |
|---------------|-----------------|---|--|
| НУБІП України | %               | - | відсоток   |
| НУБІП України | °C              | - | градус Цельсія   |
| НУБІП України | млн             | - | мільйон  |
| НУБІП України | мл              | - | мілілітр   |
| НУБІП України | год             | - | година   |
| НУБІП України | ПА              | - | поодинокі аглютинація  |
| НУБІП України | МА              | - | масова аглютинація   |
| НУБІП України | Баз + ЖПя       | - | Базовий + жовток перепелиних яєць  |
| НУБІП України | Баз             | - | Базовий  |
| НУБІП України | Баз+МК+Пір+Альб | - | Базовий + молочна кислота + піруват натрію + бичачий сироватковий альбумін |
| НУБІП України | Баз+МК          | - | Базовий + молочна кислота  |
| НУБІП України | Баз+МК+Пір      | - | Базовий + молочна кислота + піруват натрію                                 |
| НУБІП України | pH              | - | водневий показник  |
| НУБІП України | м <sup>2</sup>  | - | метр квадратний  |
| НУБІП України | мкм             | - | мікрометр  |
| НУБІП України | с               | - | секунд   |

# НУВІП України

## ВСТУП

Все частіше у ветеринарній практиці зустрічаються проблеми з неплідності у псів. Для багатьох заводчиків та кінологів, які розводять генетично цінних тварин або виводять та підтримують подальшу популяцію рідкісних, екзотичних порід собак, дуже важливо знати стан статевого здоров'я пса-репродуктора. Так, власники племінних тварин не тільки постійно відвідують лікарів ветеринарної медицини, але й вимагають від них нових, доступних і конструктивних діагностичних досліджень з лікування та профілактики патології репродуктивних органів.

Першим світовим поштовхом до розвитку штучного осіменіння був досвід Аббата Спалланцані (Італія) у 1780 році, який ввів сперму пса у статеві шляхи суки і через 2 місяці отримав здоровий приплід. Цей дослід зробив переворот в уявленні вчених про теорію запліднення. Вважалося, що сперматозоїди є мікроскопічні істоти, які розвиваються в організмі матері [1]. У подальшому тривалий час знання із репродуктивної здатності собак були фрагментарні і часто емпіричні у порівнянні з репродуктологією інших продуктивних тварин.

Слід відмітити досліди американських вчених доктора Фула, який у середині 20-го століття провів численні досліди на собаках і розробив рецептуру розріджувачів для консервації сперми, та досліди доктора Енгера (1973, Техас), який отримав перший приплід внаслідок осіменіння суки розмороженою спермою. Великий внесок зробили польські вчені професор А. Дюбель та доктор В. Ніжанський, створивши банк консервованої сперми генетично цінних порід псів-репродукторів [2, 3].

Хоча запити кінологів та власників в нашій державі є чисельні, але штучне осіменіння собак особливо охолодженою і заморожено-розмороженою спермою поки не знайшло широкого впровадження у щоденну практику ветеринарної медицини.

# НУБІП України

Обраний нами напрямок досліджень за магістерською роботою є актуальним і затребуваний на ринку послуг у клініках ветеринарної медицини.

Адже, охолоджена сперма шляхом короткотривалого зберігання дає

# НУБІП України

необмежені можливості щодо її транспортування, а саме головне зберігає запліднюючу здатність спермійв упродовж тривалого часу. Пес і сука можуть знаходитись на далекій відстані один від одного та мати спільне потомство.

Якісні показники спермійв при зберіганні у першу чергу будуть залежати від

# НУБІП України

складу розбавника та дотримання протоколу отримання, оцінки розрідження еякуляту.

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Особливості будови сперматозоїда та їх хімічний склад

Сперматозоїди складаються з голівки, шийки, тіла та хвоста. Розміри спермійв пса: довжина голівки 6,5 мкм, ширина голівки 4 мкм, товщина

плоскої голівки 1–2 мкм, довжина шийки – 8 мкм, довжина джгутика – 52–56 мкм, загальна довжина спермія з джгутиком 55–65 мкм. Встановлено, що не має ніякого співвідношення між розмірами тварини та розмірами спермійв. [4].

Сперматозоїди крім кінцевої частини хвоста, вкриті щільною прозорою білковою оболонкою (мембраною), яка при тривалому зберіганні набрякає. За розмірами сперматозоїди в 10–20 тис. раз менше за яйцеклітину. Голівка сперматозоїда представляє овальну пластинку, вгнуту з однієї сторони та випуклу з другої (в ній знаходиться ядро). Передня частина голівки містить особливе утворення – акросому, що утворює на витонченому в цьому місці ядрі двопаровий ковпак. Вона виділяє фермент гіалуронідазу, що сприяє проникненню спермійв в яйцеклітину при заплідненні. Голівка, з'єднана з тілом шийкою в якій розрізняють три пучки тонких фібрил, що утворюють осьову нить. Осьова нить переходить в тіло та хвіст спермія. Тіло являє собою паличкоподібну частину сперматозоїда та є основою більш тонкому хвосту. Кінцева частина хвоста не вкрита спіральною шийкою та оболонкою. Шийка, тіло та хвіст – рухова частина сперматозоїда [5]. Швидкість руху спермійв пса складає 43 мкм/с або 2,58 мм/хв, або 155 мм/год.

Осмотичний тиск сперми псів дорівнює 5,7 % розчину глюкози. Межі осмотичного тиску, в яких спермії тварин зберігають нормальну життєдіяльність в індексах Галлеотті складають 1,1. Спермії пса при раптовому переведенні в 2 % розчин хлористого натрію, гинуть, а при



# НУБІП УКРАЇНИ

поступовому доведенні розчину до тієї ж концентрації залишаються деякий час рухливими [6].

В додатку сім'яника спермії можуть зберігати свою запліднюючу здатність від 1 до 2 місяців, а рухливість до 3 місяців. Тривалість зберігання сперміїв в додатку сім'яника обумовлена особливими умовами внутрішнього середовища. Рідина протоки сім'яника володіє певними властивостями.

Поєднання кислої реакції з зниженням температури середовища в додатку створює умови для гальмування рухливості сперміїв, сповільнює обмін речовин в них, що сприяє більш тривалому зберіганню їх. Сім'яна рідина або сперма складається з сперміїв та рідкої частини плазми [7].

Кількість та зовнішній вигляд сперми, відношення рідкої частини до сперміїв та багато інших властивостей варіює в залежності від розмірів, породи, віку, умов утримання та годівлі псів. Від псів отримують великі еякуляти, але в них низький рівень статевих клітин.

Спермії містять 92,6 % води і 2,4 % сухих речовин, переважно – білків, ліпідів і мінеральних речовин. Суха маса одного знежиреного спермія складає біля  $2-2,5 \times 10^{11}$  мг.

Голівка спермія на 9 % побудована з білка, 3/4 якого складають нуклеопротейди та 1/4 ліпопротейди (нуклеопротейд – комплексна сполука нуклеїнової кислоти з простим білком). Нуклеїнова кислота голівок сперміїв за своєю будовою є дезоксирибонуклеїновою. На одну молекулу ДНК у нуклеопротейді припадає біля 100 молекул протаміну.

Дослідження останніх років показали, що спадкові якості тварин визначаються порядком та кількістю азотистих основ у ДНК. Зв'язок між ДНК та протамінами електростатичний: позитивно заряджені аміногрупи протамінів взаємодіють з негативно зарядженими фосфатними групами ДНК.

При цьому короткі ланцюжки протаміну обмотуються навколо подвійної

# НУБІП УКРАЇНИ

спіралі ДНК. Серед амінокислот у сперміях найбільше аргініну, значно менше лізину, цистину, лейцину, глютамінової кислоти та інших амінокислот.

Таким чином, у голівці спермія є два білки: нуклеопротейд і ліпопротейд.

# НУБІП УКРАЇНИ

Нуклепротейд зосереджений головним чином у ядрі, а ліпопротейд – у акрозомі. Тут також виявлено вуглеводи з групи мукополісахаридів, нейрамінову кислоту, ферменти кислу фосфатазу і гіалуронідазу. Крім того, у

голівці спермія містяться невеликі кількості вільного ліпиду, солей та інших речовин. Особливо високий у них вміст фосфору, який знаходиться в складі ДНК.

# НУБІП УКРАЇНИ

Загальна кількість фосфору у сухій речовині спермія складає 2,7 %, а у голівці спермія – 4 %.

Тіло і хвостова частина спермія на 73 % складається з простих білків і 23 % з ліпідів. Основна маса ліпідів фосфоліпідного характеру, певну частину складає лецитин. Із жирних кислот, що входять до складу ліпідів, 40,9 % припадає на пальмітинову кислоту, 26,4 % – на міристинову, 12,9 % – на стеаринову, 10,5 % – на олеїнову, 7,4 % – лінолеву, решту – 1,9 % – складають пальмітоолеїнова, лауринова, пентадецилова та маргарінова кислоти.

# НУБІП УКРАЇНИ

Оболонка спермія на 17–19 % складається з азоту, тобто є в основному білкової природи. Вона багата на аргінін, гістидин та цистин. Спермії містять всі ферменти, що входять до гліколітичної системи використання вуглеводів і ресинтезу. АТФ, та ферменти пов'язані з аеробним обміном речовин. У них виявлено цитохроми А, В, С, цитохромоксидазу, дегідрогеназу, амінокислотні оксидази [1].

# НУБІП УКРАЇНИ

Частина з наявних у спермі ферментів містяться і у сперміях, і у плазмі сперми (наприклад, рибофлавін); лужна фосфатаза, цитохромоксидаза, гіалуронідаза, аконітаза, амілаза, сукциндегідрогеназа – головне у сперміях, причому кожен з них – у певному місці локалізації. Так, лужна фосфатаза виявлена у спіральній обмотці шийки, тіла та вісьової нитки, мітохондріях, а

# НУБІП УКРАЇНИ

# НУБІП УКРАЇНИ

кисла фосфатаза – на поверхні висьової мембрани; сукциндегідрогеназа зосереджена у тілі та шийці, молочнокисла – більше у тілі і менше у шийці;

АТФ-аза – в шийці, тілі та хвості, тобто, в скоротливій частині спермія, а

# НУБІП УКРАЇНИ

гексофосфатаза – у всіх частинах спермія.

Германюк Я. виявив у спермі рибонуклеазу, зосереджену, очевидно, у поверхневому шарі спермія. У плазмі сперми цього ферменту виявилось мало,

зате у ній встановлені значні кількості рибонуклеотиду фосфорилази. Перший

# НУБІП УКРАЇНИ

фермент здійснює розщеплення РНК, а другий – дефосфорилування. У

сперміях виявлено багато мікроелементів (цинк, мідь, марганець, залізо, алюміній, цинк, бор та ін.), які входять в основному до складу органічних

сполук, зокрема ферментів.

Виділювані спермії завжди оточені певною кількістю плазми, що

# НУБІП УКРАЇНИ

утворюється під час еякуляції із суміші секретів додаткових статевих залоз.

Вона розріджує густу масу сперміїв, створює для них ізотонічне буферне середовище, полегшує їх просування по статевих шляхах самця і самки,

збуджує їх рухливість, забезпечує їх енергетичним матеріалом. Склад плазми

# НУБІП УКРАЇНИ

та її властивості залежать від розвитку у самців додаткових статевих залоз, їх секреторної активності [5].

Секрет придатка сім'яника, на відміну від інших секретів, кислої реакції, має високий вміст білка, гліцерофосфорилхоліну та солей кальцію.

У секреті передміхурової залози мало білка, зате багато вільних

# НУБІП УКРАЇНИ

амінокислот, зокрема глютамінової, простагландину та вазогландину, які викликають скорочення матки, а також антаглютиніну

Важлива роль у формуванні плазми сперми належить секрету міхурцевої

залози, який відзначається високим вмістом білка, ліпідів, проте

# НУБІП УКРАЇНИ

найхарактернішими компонентами його є фруктоза – фізіологічний цукор сперми та лимонна кислота – головний буфер сперми.

# НУБІП УКРАЇНИ

У секреті міхурцевої залози кнур високий вміст інозиту та ерготіонеїну. Інозит належить до вітамінів групи В, ерготіонеїн викликає скорочення мускулатури матки і гальмує окислювальні процеси.

# НУБІП УКРАЇНИ

Лужні секрети цибулинно-сечівникових та уретральних залоз "промивають" сечостатевиий канал перед еякуляцією і нейтралізують кислу реакцію придатка сім'яника. Під впливом наявної у секреті міхурцевої залози кнур везикулази із секрету цибулинно-сечівникової залози утворюються згустки у вигляді сагових зерен [1,8].

# НУБІП УКРАЇНИ

Таким чином, внаслідок змішування секретів вищезгаданих залоз утворюється плазма сперми зі своєрідним хімічним складом. Через деякий час після змішування сперміїв із секретами додаткових статевих залоз відбувається врівноваження їх хімічного складу, причому вміст неелектролітів

# НУБІП УКРАЇНИ

у плазмі та сперміях урівноважується швидше, тоді як іони врівноважуються повільно та неповно.

# НУБІП УКРАЇНИ

Біля 90% маси сперми складає вода. Сперма містить високі концентрації білка. Методом електрофорезу у ньому виявлені альбуміни, альфа-, бета-та гамаглобуліни. Вступаючи у сполуки з іншими речовинами, білки сперми утворюють такі комплекси, як ліпопротеїди, фосфопротеїни, нуклеопротеїди, глікопротеїди та ін. У білках сперми найбільше аргініну, лейцину, лізину, цистину і глютамінової кислоти, а серед ліпідів найбільше лецитину, що відзначається високим вмістом фосфору.

# НУБІП УКРАЇНИ

Серед органічних сполук важлива роль належать фруктозі – фізіологічному цукру сперми, головному енергетичному субстрату. Тут також містяться помітні кількості глюкози і проміжного продукту перетворення її у фруктозу – багатоатомного спирту сорбіту.

# НУБІП УКРАЇНИ

Сперма також багата на такі складні органічні сполуки, як лактацидоген, фосфаген, холестерин, сечовина, холін, лимонна кислота (38,5 ммоль/л). Соли цієї кислоти виконують буферну роль. Крім того, у спермі містяться великі

# НУБІП УКРАЇНИ

кількості таких вітамінів групи В, як тіамін, рибофлавін, пантотенова кислота, ніацин. Сперма багата ферментами, частина з яких може дифундувати у плазму із сперміїв. У ній, зокрема, виявлені три фосфатази (дві лужних і одна

# НУБІП УКРАЇНИ

кисла) 5-нуклеотидаза, гіалуронидаза, ксантинооксидаза, глюкозидаза, ацетилхолінстераза та ін. Їх вміст у спермі різних тварин сильно коливається і залежить від багатьох факторів, вирішальними серед яких є годівля, догляд,

# НУБІП УКРАЇНИ

утримання та експлуатація. Дослідники сперми виявили не лише міжвидові, індивідуальні та сезонні різниці її якості, а й навіть добові коливання у межах однієї тварини.

# НУБІП УКРАЇНИ

Секрет міхурцевидних залоз мають слабкокислої реакцію. Головним компонентом секрету є лимонна кислота та фруктоза. Їх виділення регулюється тестостероном. Також містяться аскорбінова кислота, ліпіди,

# НУБІП УКРАЇНИ

білки та вільні амінокислоти – аланін, гліцин, тирозин, серотонін. З мінеральних речовин в секреті натрію більше ніж калію.

# НУБІП УКРАЇНИ

Секрет передміхурової залози водянистий, має слабкокислої (рН – 6,5) або нейтральну реакцію. Містить багато протеолітичних ферментів та вільних амінокислот, особливо глютамінової кислоти; дуже багато електролітів – натрію, калію, хлору, кальцію, бікарбонату, цитрату, причому переважає хлористий натрій (до 90 %), також секрет містить лимонну кислоту, простогландини та аглютиніни. [9,10].

# НУБІП УКРАЇНИ

У спермі пса є ферменти: фенолаза, пероксидаза, каталаза, а також трипсин, антитрипсин, амілаза, ліпаза. Пепсин, ерипсин та нуклеаза відсутні.

Спермії досить стійкі до етилового спирту. Так при додаванні в сперму пса від 0,5 до 10 % спирту отримували нормально розвинутий, життєздатний та плодовитий приплід [6].

# НУБІП УКРАЇНИ

Спермії можуть викликати запліднення в середовищі, що містить дифтерійний токсин та антитоксин. Дія радіо позбавляє сперміїв запліднюючої здатності, але вони можуть зберігати дуже активний рух.

# НУБІП України

У статевозрілого пса продукція сперми безпосередньо пов'язана з розмірами сім'яників. Сперма зберігається в придатку сім'яника та в сім'япроводі. Кількість збереженої сперми залежить від частоти та перерви між еякуляціями. Запаси сперми вичерпуються при еякуляції один раз на день протягом 5–7 діб, після цього виділяється тільки добова продукція сперми.

# НУБІП України

Сперматогенез охоплює розвиток спермів від первинної клітини, дозрівання незрілих сперматид, та утворення зрілих сперматозоїдів. Для розвитку зрілого сперматозоїда у псів необхідно 50–60 днів, з яких

# НУБІП України

тестикулярна стадія займає приблизно 46 діб, а епідідимальна стадія приблизно 14 діб.

Найважливіші біологічні властивості сперматозоїдів – рухливість, виживаність та запліднювальна здатність. Перші дві властивості є основою для визначення запліднюючої здатності сперми, але запліднювальна здатність не завжди залежить від рухливості сперматозоїдів [11].

# НУБІП України

Відношення натрію до калію складає 1:16,7, сперма псів містить мало буферних аніонів, але багато хлору. Сперма не міститься, як така в статевих органах тварини, вона формується в момент еякуляції. У тварин в стані спокою запас спермів в придатку сім'яника достатньо великий та розбавлений секретом його залози, в інших додаткових статевих залозах міститься деяка кількість специфічних секретів.

# НУБІП України

Під час еякуляції відбувається з'єднання секретів з сперміями. Секрети в додаткових залозах утворюються з різною швидкістю та виходять неодноразово. На це дуже впливає ступінь статевого збудження та умови еякуляції.

# НУБІП України

Секреція передміхурової залози збуджує в сперматозоїдах максимальну рухливість, але значно знижує тривалість життя спермів, які можуть жити без секрету передміхурової залози від 10 до 12 діб і навіть до 30 діб при

# НУБІП України

# НУБІП України

температурі 1–2 °С. Сперматозоїди звичайно не живуть довше декількох годин в секретах придаткових статевих залоз.

Таблиця № 1.1.

## Фізико-хімічні властивості сперми псів [5]

| Показники  | Середнє значення | Коливання   |
|--|------------------|-------------|
| Питома вага  | 1,11             |             |
| Депресія точки замерзання (°С)                         | 0,59             | 0,58–0,60   |
| Осмотичний тиск при 38 °С (атм)                        | 8,1              |             |
| Концентрація водневих іонів                            | 6,8              | 6,7–6,8     |
| Електропровідність зворотних омів (x 10 <sup>4</sup> ) | 145,2            | 141,3–151,1 |

Продукція сперми сім'яниками регулюється лютеїнезуючим гормоном гіпоталамуса та фолікулостимулюючим гормоном (ФСГ). ФСГ стимулює клітини Сертолі, що виробляють андрогени та через інтрацелюлярні перетворення перетворює естроген в тестостерон. Клітини Сертолі також виробляють інгібін, який керує ФСГ через механізм зворотного зв'язку.

Лютеїнізуючий гормон стимулює клітини Лейдига до продукування тестостерону. Тестостерон надходить в сперматогенні каналці, де він використовується в сперматогенезі, а саме для ініціації мейозу. Тестостерон необхідний для дозрівання сперміїв в придатку сім'яника, а також для утворення вторинних чоловічих ознак та нормального лібідо.

# НУБІП України

# НУБІП України

Таблиця №1.2

Хімічний склад сперми пса [5]

| Показники               | Значення |
|-------------------------|----------|
| Вода                    | 97,6     |
| Суша<br>речовина в т.ч. | 2,4      |
| Білки                   | 0,9      |
| Ліпіди                  | 0,2      |
| Фруктоза                | 0,0006   |
| Лимонна кислота         | –        |

## 1.2 Фізіологія сперми

Сім'яна рідина або сперма – складається з двох основних частин:

сперміїв та рідкої частини плазми. Колір та консистенція сперми залежить в основному від концентрації сперміїв: чим вище їх концентрація тим більш в'язка консистенція сперми та біліший колір. Сперма має сірувато-білого кольору, в'язкої консистенції. Об'єм еякуляту складає в середньому 3 мл (2–

30 мл), концентрація сперміїв 0,15 млрд/мл. У пса секрет сім'яників складає 0,5–3,5 мл, уретральних залоз 0,25–5 мл та передміхурової залози 2–30 мл [12].

Плазма сперми складається з секретів придатків сім'яників та секретів придаткових статевих залоз. Секрет придатка сім'яника має кислу реакцію (рН 5,8–6,2), високий парціальний тиск вуглекислого газу та високий осмотичний тиск, містить мало електролітів, особливо іонів натрію та хлору, також мало фруктози, такий склад секрету сприяє тривалому зберіганню (до 30 днів та більше) запліднюючої здатності сперміїв, що знаходяться в каналі



# НУБІП України

придатка сім'яника в стані відносного спокою. У пса сперміопроводи не мають ампулоподібних розширень. Еякуляція відбувається повільно і спермії потрапляють в уретру невеликими порціями безпосередньо з каналу придатка сім'яника [8].

# НУБІП України

Секрет міхурцеподібних залоз має слабо кислу реакцію. Головним компонентом секрету є лимонна кислота та фруктоза, їх виділення регулюється тестостероном [13]. Секрет передміхурової залози водянистий, має слабкокислу (рН 6,5) або нейтральну реакцію.

# НУБІП України

Amann R.P. (1986) вирахував залежність між вагою тіла, розмірами сім'яників та продукцією сперми у дорослих псів за нормального фізіологічного стану [14]. У статевозрілого пса, продукція сперми безпосередньо пов'язана з розмірами сім'яників.

# НУБІП України

Сперматогенез охоплює розвиток сперміїв від первинної клітини, дозрівання незрілих сперматид, та утворення зрілих сперматозоїдів. Для розвитку зрілого сперматозоїда у кобелів необхідно 50-60 днів, з яких тестикулярна стадія займає приблизно 46 днів, а епідімальна стадія приблизно 14 днів.

# НУБІП України

Найважливіші біологічні властивості сперматозоїдів – рухливість, виживаність та запліднювальна здатність. Перші дві властивості є основою для визначення запліднюючої здатності сперми, але запліднювальна здатність не завжди залежить від рухливості сперматозоїдів [11].

Таблиця 1.3

Характеристика зовнішніх ознак сперми кобелів.

| Показники           | Середній      | Максимальний |
|---------------------|---------------|--------------|
| Об'єм еякуляту (мл) | 10            | 40           |
| Колір               | Молочно-білий |              |

# НУВБіп України

Консистенція

Водяниста

Таблиця 1.4

Залежність між вагою тіла, розмірами сім'яників та продукцією сперми у дорослих псів.

| Вага тіла (кг)   | 4,5–15,5  | 15,5–17,7 | 27–38     |
|--|-----------|-----------|-----------|
| Ширина мошонки (мм)  | 36±2      | 50±1      | 56±1      |
| Об'єм еякуляту (мл)  | 2,4±0,3   | 3,9±0,5   | 5,4±1,3   |
| Щоденна продукція спермійв                                 | 287±33    | 472±32    | 750±111   |
| Після статевого відпочинку                                 |           |           |           |
| Концентрація спермійв<br>(10 мл)                           | 209±42    | 359±72    | 228±58    |
| Повна сперма   | 0,4±0,11  | 1,12±0,13 | 1,43±0,46 |
| Позагонадні запаси сперми після 7 діб статевого відпочинку |           |           |           |
| Голівка придатка   | 0,07±0,01 | 0,23±0,04 | 0,23±0,05 |
| Тіло придатка  | 1,10±0,18 | 1,85±0,16 | 2,27±0,24 |
| Хвіст придатка   | 2,06±0,31 | 3,30±0,36 | 4,68±0,39 |
| Сперміопровід  | 0,06±0,02 | 0,21±0,03 | 0,23±0,04 |

# НУБІП УКРАЇНИ

Секрет передміхурової залози збуджує в спермію рухливість, але значно знижує тривалість життя сперміїв, тоді як вони можуть жити без секрету передміхурової залози при зниженні температури до 1–2°C.

# НУБІП УКРАЇНИ

## 1.3 Особливості статевих рефлексів у псів

Безумовні рефлекси самців і самок складаються з комплексу взаємопов'язаних та взаємообумовлених фізіологічних процесів, спрямованих для досягнення однієї мети – запліднення. Розрізняють такі безумовні статеві рефлекси: статевий потяг, або рефлекс зближення самців і самок, обнімальний, ерекції, парувальний та еякуляції. При ідентичності їх назви у самців та самок вони мають свої особливості клінічного прояву. Всі ці рефлекси виявляються у відповідній послідовності, а гальмування одного унеможливує запліднення і, як результат цього, виявлення інших рефлексів стає вже непотрібним і втрачає будь-яке фізіологічне значення [15].

*Статевий потяг (локомоторний)* виявляється у взаємному прагненні самців і самок (в охоті) відшукати та наблизитися одне до одного за запахом, звуком, а також за іншими ознаками (тепляргоновий зв'язок). У самців продуктивних тварин цей рефлекс малоспецифічний, на відміну від самців диких тварин та псів. Вони наближаються для проведення статевого акту як до самок в охоті, так і до самок без охоти, і як правило, не знаходять цієї різниці навіть на близькій відстані. У зближенні самки із самцем активна роль відводиться самкам. Це, мабуть, обумовлено тим, що самки в охоті реагують на сильний специфічний запах плідника. Досліди із застосуванням Т-подібного лабіринту показали, що самки з феноменом загальної реакції чітко знаходять різницю між самцем-плідником та кастратом [16].

*Обнімальний рефлекс*, або рефлекс фіксації починає виявлятися у самців з моменту проявлення в них статевої зрілості. Виявляється цей рефлекс досить

# НУБІП України

інтенсивно, а це в свою чергу дозволяє досить легко виробити умовний рефлекс у самців продуктивних тварин до виявлення обіймального рефлексу на фантом самки при одержанні від них сперми на штучну вагіну .

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

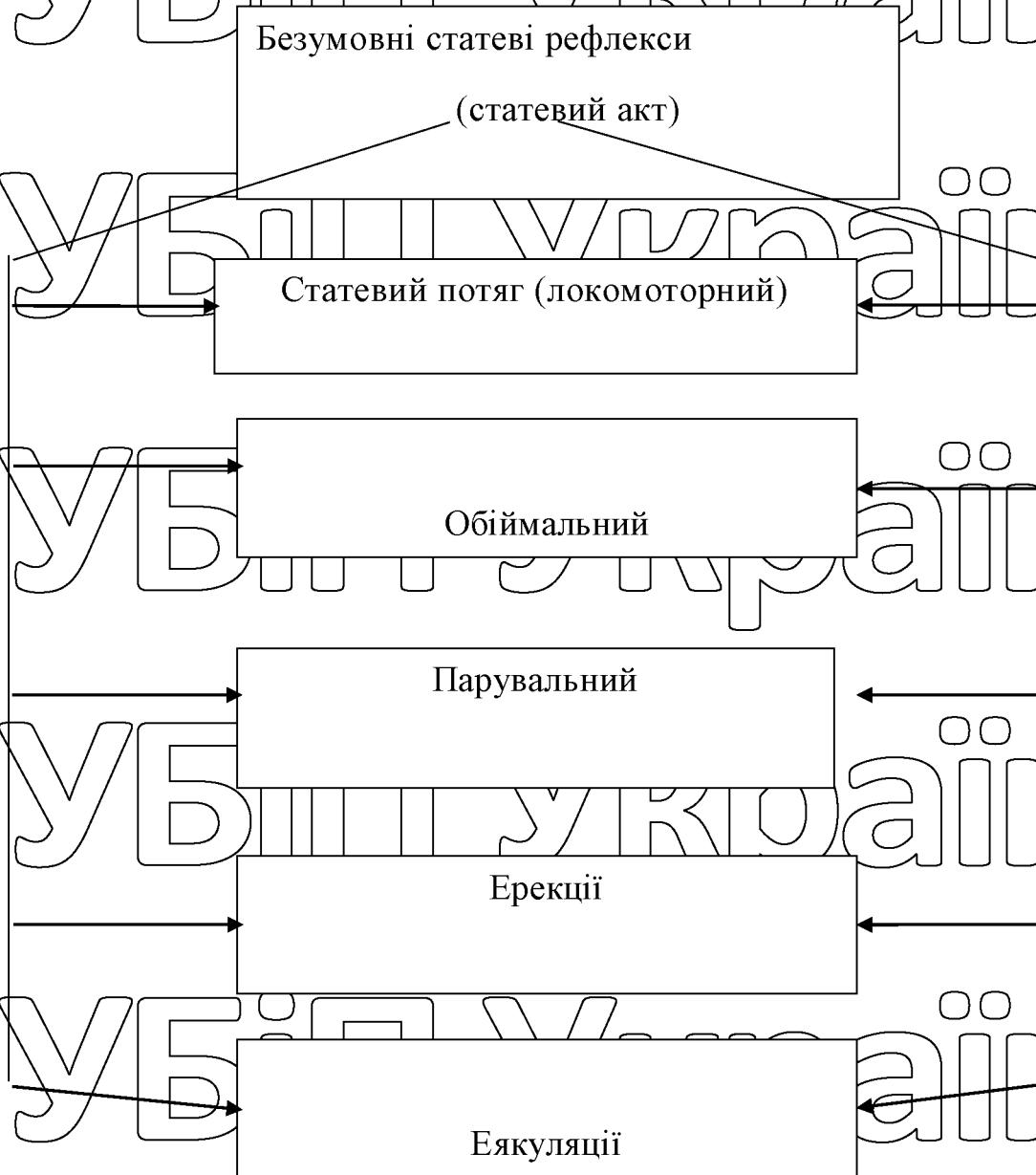


Рис. 3.1 – Безумовні статеві рефлекс та їх послідовність у псів

# НУБІП України

Обіймальний рефлекс у самок характеризується проявом феномену охоти стадії збудження статевого циклу, або так званім „рефлексом

# НУБІП УКРАЇНИ

нерухомості”, тобто можливістю природного парування на відміну від феномену загального статевого збудження, коли самка виявляє помітний інтерес до самця, наближається до нього, але до парування не підпускає.

# НУБІП УКРАЇНИ

*Парувальний рефлекс* наступний за рефлексом ерекції у самців продуктивних тварин. Особливість парувального рефлексу у псів обумовлена будовою його пенісу який містить кісточку та робить прутень твердим за рахунок чого він потрапляє у піхву суки. Суть рефлексу введення пеніса в

# НУБІП УКРАЇНИ

статеві органи самки або штучну вагіну. Цей рефлекс є можливим у випадку, коли прояв всіх попередніх рефлексів був фізіологічним, що призвело до зустрічі статевих партнерів та підготовки їх статевих органів до копуляції.

Парувальний рефлекс у вигляді фрикційних рухів обумовлюється подразненням від тиску тактильних нервових закінчень на слизовій оболонці

# НУБІП УКРАЇНИ

головки пеніса у вісцеральному листку препуція після введення пеніса. Самець вводить пеніс у піхву і виводить його назад, що може продовжуватися протягом кількох хвилин. При парувальному рефлексі виділяється деяка

кількість секрету уретральних залоз, якими звільняється сечостатевий канал

# НУБІП УКРАЇНИ

від залишків сечі, мікроорганізмів та інших механічних домішок. Тривалість парувального рефлексу має значну індивідуальну відмінність. Залежно від ступеня статевого збудження вона може суттєво змінюватися навіть в одного й того ж плідника [17].

*Рефлекс ерекції* у псів виявляється після парувального рефлексу та відбувається безпосередньо у статевих органах суки. Центр рефлексу ерекції міститься у крижовому відділі спинного мозку. Виявляється рефлекс у самців сильним притоком крові до пеніса та збільшенням його печеристих тіл. Пеніс стає у декілька разів більшим та напруженим.

# НУБІП УКРАЇНИ

*Рефлекс еякуляції* — це завершення усього ланцюга статевих рефлексів як результат подразнення чутливих нервових закінчень пеніса за відповідних умов під час парувальних рухів. Суть рефлексу еякуляції обумовлена

# НУБІП УКРАЇНИ

виділенням сперми із статевих органів як результат ритмічного скорочення м'язів придатків, спермопроводів, додаткових статевих залоз і сечостатевого каналу. З початком еякуляції рухи задньої частини тіла самця закінчуються,

# НУБІП УКРАЇНИ

хвіст підіймається та закручується, сім'яники підтягуються вгору. Головна ознака початку рефлексу еякуляції – це пульсація в області ануса, яка пов'язана з ритмічним скороченням м'язів, які проштовхують через

# НУБІП УКРАЇНИ

сечостатевий канал сперму. Сперма виходить невеликими порціями. В кінці еякуляції пульсація ануса та сила м'язових скорочень, які проштовхують сперму, різко посилюються [18].

# НУБІП УКРАЇНИ

Еякуляція у кобелів проходить в три фази. Перша фаза еякуляції в середньому триває 20 с від початку масажу сім'яників її об'єм складає в середньому 0,35 мл. Друга фаза еякуляції є основною в якій отримується сперма, триває вона від 5–300с в середньому 52 с, об'єм може бути від 0,1–3 мл. Третя фаза еякуляції триває відносно довго від 60 с до 20 хвилин [19].

## 1.4 Методи отримання сперми від псів

# НУБІП УКРАЇНИ

Більшість авторів вказують на те, що сперму у псів отримують методом мастурбації або на штучну вагіну. При застосуванні ручного методу важлива

# НУБІП УКРАЇНИ

присутність суки в охоті. Як тільки пес проявить цікавість до самки, пальцями охоплюють цибулини прутня позаду. Докладаючи слабого тиску, підтримують

# НУБІП УКРАЇНИ

до тих пір, поки кобель не стане робити парувальних рухів та не почнеться еякуляція. Сперму збирають в стерильний спермоприймач, підставляючи її до голівки пеніса. Деяким породам псів наявність самиці в охоті не обов'язкова.

Так само як і при методі мастурбації, у псів стискають цибулини прутня та роблять масажні рухи, поки не настане ерекція прутня, після цього підкладають штучну вагіну. Регулюючи в ній тиск викликають еякуляцію [5, 20,21].

# НУБІП УКРАЇНИ

При взятті сперми методом мастурбації псові проводять масаж статевого члена протягом кількох секунд до настання стійкої ерекції. При цьому препуцієм рухають позаду цибулинних залоз. Після цього мастурбацію

# НУБІП УКРАЇНИ

припиняють, а рукою яка знаходиться позаду цибулинних залоз створюють тиск до закінчення еякуляції. Другою рукою утримують спермоприймач біля кінця статевого члена. В якості спермоприймача використовують будь-яку

# НУБІП УКРАЇНИ

стерильну посуду, або поліетиленові пакети фірми "Whirlpak". Не рекомендується використовувати циліндри від шприців та інші жорсткі предмети, так як статевий член легко травмується під час ерекції.

# НУБІП УКРАЇНИ

Еякуляція триває від 5 до 15 хв. Іноді еякуляція припиняється через декілька хвилин, а потім знов продовжується. Процес еякуляції можна контролювати шляхом пальпації пульсації на уретрі позаду цибулинних залоз,

# НУБІП УКРАЇНИ

також відмічають скорочення м'язів ануса.

# НУБІП УКРАЇНИ

Іноді після початку еякуляції пес починає інтенсивно підіймати статевий член та переступати з ноги на ногу, намагаючись стати в позу, як при природному паруванні. Якщо таке відбувається то лікар повинен дозволити

# НУБІП УКРАЇНИ

псу переступити через його руку так, щоб статевий член був повернутий каудально. Після цього як правило виділяється третя фракція сперми, яка збільшує об'єм сперми до 60 мл. Якщо сперма збирається для штучного осіменіння то достатньо отримати від 3 до 10 мл простатичної рідини [22].

# НУБІП УКРАЇНИ

Після закінчення взяття сперми, необхідно спостерігати за псом до закінчення спадання ерекції, для запобігання виникнення парафімозу деякі автори рекомендується змазувати препуцій після отримання сперми вазеліном

[23].

# НУБІП УКРАЇНИ

Суть методу мастурбації полягає в механічному подразненні голівки статевого члену рукою (або спеціальним вібратором) через шкіру препуція. Ця маніпуляція сприяє появі ерекції та еякуляції. Цей метод запропонував Дж.

# НУБІП УКРАЇНИ

Амантеа для отримання сперми у собак. Швидше вдається отримати сперму

# НУБІП УКРАЇНИ

цим методом, в тому випадку, коли поблизу самця знаходиться сука в охоті [23].

Значно простіше отримати сперму на штучну вагіну, коли присутня самка в охоті, при цьому порода та розмір її не мають значення. Також можна використовувати феромони. Перед взяттям сперми пса та суку утримують в тихій кімнаті на прив'язі, потім пса підпускають до суки, після чого, як кобель покриває суку, оператор переміщує препуцій назад тримаючи прутень позаду цибулинних залоз та направляє статевий член в штучну вагіну, яку тримає в лівій руці. Як тільки статевий член входить в штучну вагіну, правою рукою просовують штучну вагіну на статевий член і тримають до появи затвердіння навколо задньої частини цибулинних залоз. Як тільки це відбувається пес як правило починає рухати тазом і починається еякуляція [24].

Марінов М., Іванова-Кічева М. (1998) проводили дослідження 101 еякуляту від 22 псів трьох порідних груп (розмір тіла великий, середній та малий). сперму отримували методом мастурбації, при цьому у псів, які знаходилися в контакті з суками в період тічки (до отримання еякуляту), його об'єм був більшим, ніж при отриманні сперми від псів, що утримувалися окремо від сук, але відсутність контакту з суками не перешкоджала отриманню сперми високої якості. Середній об'єм еякуляту (відповідно до розміру тіла) складав  $20,44 \pm 4,82$  мл,  $11,0 \pm 3,85$  мл та  $1,78 \pm 0,85$  мл [25].

Вперше прилад з назвою штучна вагіна був запропонований Дж. Амантеа в 1913 році для отримання сперми від пса. Корпусом пристрою слугувала товстостінна гумова груша; всередину її наливалася тепла вода і потім вставлявся гумовий мішечок, який фіксувався за допомогою кільця на вузькому краї груши. В цей мішечок вставляли другий з більш тонкої гуми, він слугував спермоприймачем. Прилад фіксувався за допомогою металевого кронштейну Ch. Morel (1990) [26].

# НУБІП УКРАЇНИ



# НУБІП УКРАЇНИ

Взяття сперми у псів проводять масажем прутня попереk препуція в області між еректильними цибулинами та сім'яниками. Після досягнення ерекції прутень вводять в каучукову муфту, що забезпечує стискування навколо еректильних цибулин. Збирають сперму в градуйовану пробірку.

# НУБІП УКРАЇНИ

У псів сперму отримують по фракціям. Спочатку протягом 30–50 с виділяється водянистий секрет уретральних залоз. Друга фракція білого кольору – багата сперміям, виділяється з придатку сім'яника. Третя фракція також водяниста виділяється протягом 3–35 хв.. Проміжки між закінченням виділення однієї та початком виділення наступної фракції складають 10–20 секунд [27].

# НУБІП УКРАЇНИ

Dr. Rob Lufstedt [28] рекомендує перед взяттям сперми надавати відпочинок псові упродовж декількох діб. Найбільш легким методом взяття сперми вважають мастурбацію, можна використовувати і штучну вагіну. Штучна вагіна і спермозбирач повинні бути температури тіла тварини.

# НУБІП УКРАЇНИ

Результат застосування штучної вагіни в значній мірі залежить від того, в якій послідовності були здійснені всі ланки рефлекторного ланцюга. Було б помилкою вважати, що кількість та якість виділеного самцем еякуляту залежить тільки від подразників рефлексу еякуляції, докладених безпосередньо до статевих органів.

# НУБІП УКРАЇНИ

.Іванов І. І. при взятті сперми у псів механічним подразненням встановив, що присутність самки в охоті при цьому прискорює настання еякуляції в 3,6 рази, продовжує час виділення сперми в 1,8 рази, збільшує об'єм виділеної сперми в 2,3 рази та число виділених сперміїв в 1,6 рази в порівнянні з дослідями, в яких механічне подразнення було застосоване без присутності суки [6].

# НУБІП УКРАЇНИ

Таким чином без впливу додаткового збудження (самка в період статевої охоти), явно більш напруженою стає активність передміхурової залози, секрецією якої є третя фракція сперми. Відносно в меншій мірі збільшується

# НУБІП УКРАЇНИ

# НУБІП УКРАЇНИ

активність придаткових залоз; таким чином не змінюється об'єм секретії виносних проток. Збільшення загального числа еякульованих сперматозоїдів вказує на більш енергійну роботу нейром'язового апарату, що виштовхує сперматозоїди.

# НУБІП УКРАЇНИ

Також сперму можна отримувати шляхом взяття її з хвостової частини ендідіміса після загибелі тварини, але не пізніше 15 хвилин. Але така сперма не активна, бо позбавлена секретів придаткових статевих залоз. Активізувати

# НУБІП УКРАЇНИ

сперму можна шляхом розбавлення її буферним розчином. Таку сперму можна зберігати, або використовувати безпосередньо для штучного осіменіння сук в стані еструсу.

# НУБІП УКРАЇНИ

Нами в літературі не було знайдено даних щодо отримання сперми методом електроеякуляції у псів, але є данні щодо отримання сперми цим методом у диких тварин, а саме сріблясто чорних лисиць, песців [29, 30, 31], вовків та інших тварин [32].

# НУБІП УКРАЇНИ

Робіт по вивченню механізму електроеякуляції не багато. З них виходить, що перемінний синусоїдальний електричний струм, що подається на слизову прямої кишки подразнює закладенні в ній рецептори. По центробіжним волокнам соромітного та зовнішнього сім'яного нерва подразнення передається в попереково-крижовий відділ спинного мозку, де розташовані спинні центри ерекції та еякуляції. Збудження центрів і є причиною еякуляції [33]. Але деякі факти змушують сумніватися в

# НУБІП УКРАЇНИ

правильності, або по крайній мірі, в повноті такої схеми. Відомо, наприклад, що сперма, отримана методом електроеякуляції по рухливості, густоті, об'єму та вмісту сперміїв в рідкій фракції (у приматів) уступає спермі еякульованній спонтанно [34]. В деяких умовах в залежності від сили стимулюючого струму

# НУБІП УКРАЇНИ

[35], або від розташування електродів в прямій кишці [34] еякуляція супроводжується виділенням сечі. Аналогічне явище спостерігається в дослідах по отриманню сперми у гризунів. Крім того спостерігається явище

НУБІП України

зворотної еякуляції, тобто сперма не виділялася в зовнішнє середовище, а попадала в сечовий міхур. Можливо це пояснюється тим, що при

електроеякуляції застосовується струм, доволі великої сили і тому впливаючи

НУБІП України

не тільки на ділянку спинного мозку а і на мускулатуру сім'япроводів, уретри, сечового міхура та судин пахвинної області.

За визначенням Уетсоном та Хаймом, (1981), методика отримання сперми від тварин повинна відповідати по крайній мірі двом необхідним

вимогам:

НУБІП України

бути безпечною для тварин;

безпечною для людини, що її здійснює.

Виконання в повній мірі першої вимоги – безпечність для тварини – найбільш складно, так як воно пов'язано з вибором оптимального режиму

НУБІП України

електроеякуляції. Вирішення цього питання – завдання дуже складне, що вимагає для кожного виду накопичення фактичного матеріалу, достатнього для отримання статистично достовірних даних.

Існуючі дані про режим електричного струму при електроеякуляції у різних видів тварин дуже широкого діапазону і тому виникає питання чи

НУБІП України

підійде однаковий режим для різних особин одного виду.

НУБІП України

НУБІП України

# НУБІП України

## РОЗДІЛ 2. НАПРЯМИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Матеріали і методи дослідження

НУБІП України

Робота виконувалась протягом 2021 року на кафедрі акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин НУБІП України. Всі дослідження проведені у навчально-науковій лабораторії «Центр репродуктології тварин з банком сперми та ембріонів» на псах, що поступали на прийом для оцінки їх репродуктивної здатності.

НУБІП України

Для виконання поставлених завдань щодо магістерської роботи, нами було проведено наступні етапи досліджень.

НУБІП України

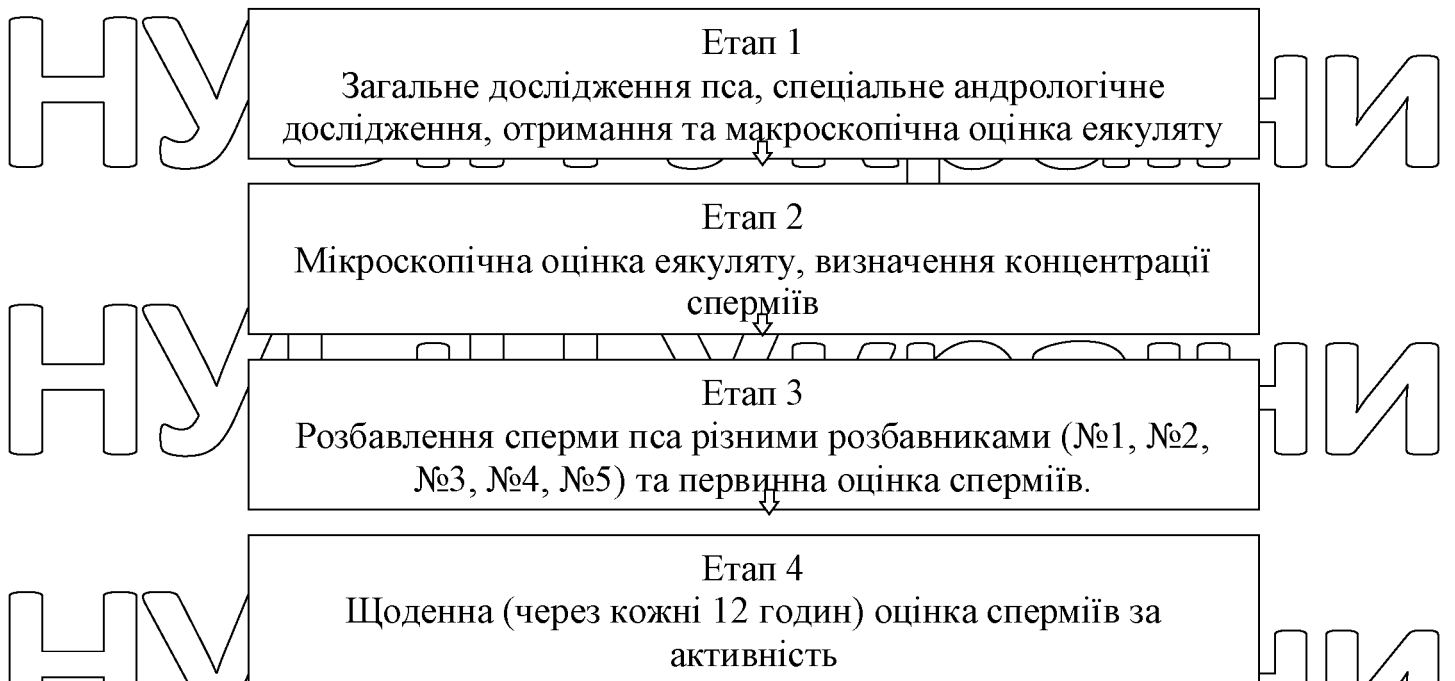


Рис. 2.1 – Загальна схема та етапи проведення досліджень

Н

1

# НУБІП Україна

## Макроскопічна оцінка сперми.

Визначення об'єму, запаху, кольору та консистенції проводять безпосередньо після отримання сперми в спермоприймачі або сперму переливають в градуйовану пробірку з прозорого скла.

Об'єм визначають в мілілітрах. Якщо сперму отримують фракційно, то визначають об'єм кожної фракції окремо. Визначають колір, запах та консистенцію звертаючи увагу на зміну кольору, запаху або наявності сторонніх домішок.



Рис. 2.2. – Візуальна оцінка сперми



Рис. 2.3 – Зовнішній вигляд еякуляту пса

# НУВБІП України

## Визначення активності та густини сперми.

Активність та густину сперми визначають одночасно. Готують препарат роздавленої краплі. Для цього на попередньо підігріте до температури 38–40°C, вимите та знежирене предметне скельце піпеткою наносять краплю сперми та накривають покривним скельцем. Поміщаємо на предметний столик мікроскона, готовий препарат розглядаємо при середньому збільшенні мікроскопу, встановивши об'єктив 40 і окуляр 15.

Після встановлення доброго освітлення та чіткого зображення спермій визначають одночасно густину та активність спермій в одній і тій краплині та в декількох полях зору роздавленої краплі сперми, пересуваючи предметне скло під об'єктивом мікроскопу.

За густотою не розріджена сперма може мати такі оцінки: густа (Г), середня (С), рідка (Р), олігоспермія (О), аспермія (А).

Активність визначають в одному й то ж полі зору та враховують спермії, які рухаються прямолінійно-поступально. Оцінку проводять в балах десятибальною системою. Спермії з маневрним та коливальним рухом умовно вважають мертвими і не враховують. Якщо всі спермії не рухливі ставлять літеру (Н) некроспермія, маневрний рух спермій позначають літерою (М), коливальний рух (К).

Визначення концентрації сперми за допомогою лічильної камери Горєва.

Реактиви та обладнання. 3 %-ний розчин натрію хлориду з додаванням, мікроскоп біологічний, лічильна камера, лейкоцитарний меланжер.

Методика визначення.

Беруть чисту знежирену лічильну камеру. Покривне скло кладуть на опорні площадки камери, притирають його до появи в місцях доторкання з площадками райдужних кілець. Пальці при цьому не повинні зближуватись,

так як покривне скло може тріснути. Після притирання покривного скла над сіткою з'являється капілярна порожнина глибиною 0,1 мм.

Далі проводять розбавлення сперми. В лейкоцитарний меланжер набирають сперму до відмітки 0,5 та розчин кухонної солі до відмітки 11. Розведення сперми при цьому становить у 20 разів. Сперму обережно перемішують в меланжері протягом декількох хвилин. Випускають декілька крапель сперми з меланжеру, а наступну краплю обережно наносять на середню смужку біля краю покривного скла, залишки рідини забирають ваткою. Рідина заповнює щілинний простір та тонким шаром покриває сітку камери. Після цього ставлять камеру на предметний столик мікроскопу; через 2–3 хвилини (коли спермі опустилися на сітку) розглядають її під малим збільшенням, відшукують сітку, ставлять в центр поля зору лівий великий квадрат, поділений на 16 малих квадратів і розглядають під збільшенням 300–400 разів.

Спермі підраховують в 80 малих квадратах, тобто в п'яти великих, які лежать по діагоналі сітки. Рахують спермі, голівки яких знаходяться в середині квадрата, а також подвій та верхній лініях квадрата. Для точності визначення концентрації рекомендується підрахунок спермі проводити двічі їх різниця не повинна перевищувати 10 %.

Спермі підраховані в п'яти великих квадратах сумують та визначають їх кількість в 1 мл за формулою:  $C = N * Д * 4000 * 1000 / 80$ , де

C – концентрація сперми, млн/мл

N – кількість підрахованих спермій

Д – ступінь розрідження сперми

4000 – множник введений для перерахунку на 1 мм<sup>3</sup>

1000 – множник для перерахунку на 1 мл

80 – кількість малих квадратів.

# НУБІП України

Визначення відсотку живих та мертвих форм сперміїв

Реактиви та обладнання: мікроскоп, предметні скельця, шліфувальні скельця, 5%-ний водний розчин еозину, еякулят.

# НУБІП України

Методика визначення.

На край знежиреного предметного скельця наносять краплю сперми, поруч з нею наносять краплю 5%-го розчину еозину, приєднують до цих крапель шліфувальне скельце. Після перемішування фарби з спермою шліфувальне скельце не відривають і роблять тоненький мазок. Мазок висушують та мікроскопують під середнім збільшенням мікроскопу. У мазку підраховують 500 сперміїв в різних полях зору. Живі спермії будуть мати прозору голівку, а мертві зафарбовану. Процент живих сперміїв визначають за формулою:

# НУБІП України

$$Ж\% = M * 100 / 500,$$

де Ж% – процент живих сперміїв

M – кількість мертвих сперміїв

500 – кількість підрахованих сперміїв.

# НУБІП України

Визначення відсотку патологічних форм сперміїв.

Реактиви та обладнання: мікроскоп, предметні скельця, 2%-ний спиртовий розчин еозину, сперма.

Методика визначення.

# НУБІП України

Сперму розбавляють в 2–3 рази, (якщо концентрація сперми більше 200 млн/мл) готують препарат стікаюча крапля. Для цього на знежирене сухе предметне скло наносять досить велику краплю сперми, склу надають похиле положення. Крапля стікає, залишаючи слід, залишки краплі знімають ваткою.

# НУБІП України

Препарат сушать, фіксують спиртом (наносять на поверхню мазка спирт та витримують 2–3 хв), змивають водою, наносять 2 %-ний спиртовий розчин еозину, витримують 3–5 хв, зливають фарбу та висушують мазок. Мікроскопію проводять під середнім або великим збільшенням мікроскопу. Підраховують



НУБІП України  
 200 сперміїв в різних полях зору та визначають процентне відношення нормальних та патологічних клітин.

НУБІП України  
 Розбавники готують у спеціальному боксі який обладнаний бактерицидними лампами. Технологи працюють в пропрасованому халаті, косинці (шапочці), з маскою на обличчі. Руки після миття протірають спиртовими тампонами.

НУБІП України  
 Весь посуд, палички, піпетки, термометри та інше приладдя, що використовують, повинно бути абсолютно чистим і задалегідь простерилізованим.

НУБІП України  
 Розріджувач виготовляють із сухих заготовок або окремих компонентів. Останні зважують на аналітичних або технохімічних терезах, які перед цим перевіряють.

НУБІП України  
 Розріджувач готують безпосередньо перед отриманням сперми від самця. Час від моменту приготування і до використання розріджувача має становити не більше 1–2 години. Температура розріджувача в момент розрідження повинна бути 30–35 °С.

НУБІП України  
 Якщо сперма визнана придатною для використання, її розбавляють 1:1 або 1:2 безпосередньо в спермоприймачі і через 5–10 хвилин переливають в пробірки для подальшого збірвання. При розбавленні слід приливати розріджувач до сперми, а не навпаки (бо рухливість сперміїв може знизитися від великого розведення). Приливати треба тоненькою цівкою по стінці, злегка перемішуючи коливанням ємкості.

НУБІП України  
 Курячі яйця обтирають тампоном, змоченим 96 % спиртом-ректифікатом, розбивають навпіл шкаралупу стерильним скальпелем і перекладаючи з однієї половинки на іншу, звільняють його від білка і перекладають на стерильний фільтрувальний папір, перекочуючи жовток по ньому, осушують його від залишку білка, проколюють оболонку жовтка

стерильним скальпелем і зливають жовток (без оболонки) у стерильну мензурку.

Для пригнічення мікрофлори до складу розріджувачів додають сануючі речовини. При застосуванні антибіотиків, дивляться спершу, скільки його одиниць міститься у флаконі, тоді відкривають його, зважують на аптечних терезах масу препарату, і вносять необхідну кількість.

Для наших досліджень розріджувачі були попередньо розроблені співробітниками кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин НУБіП України, які є їх інтелектуальною власністю та захищені патентом на корисну модель. Наводимо їх склад:

#### Розбавник № 1

1. Деіонізована вода

2. Хлорид кальцію

3. Глюкоза

4. Нерес

5. Хлорид калію

6. Сульфат магнію

7. Хлорид натрію

8. Гідрокарбонат натрію

9. Гідрофосфатнатрію

10.Гентаміцин

11.Жовток перепелиних яєць

12.Розбавник № 2

13.Деіонізована вода

14.Хлорид кальцію

15.Глюкоза

16.Нерес

17.Хлорид калію

НУБІП України

18. Сульфат магнію

19. Хлорид натрію

20. Гідрокарбонат натрію

НУБІП України

21. Гідрофосфат натрію

22. Гентаміцин

23. Розбавник № 3

24. Деіонізована вода

НУБІП України

25. Хлорид кальцію

26. Глюкоза

27. Нерес

28. Хлорид калію

29. Сульфат магнію

НУБІП України

30. Хлорид натрію

31. Гідрокарбонат натрію

32. Гідрофосфат натрію

33. Гентаміцин

НУБІП України

34. Молочна кислота

35. Піруват натрію

36. Бичачий сироватковий альбумін

37. Розбавник № 4

38. Деіонізована вода

НУБІП України

39. Хлорид кальцію

40. Глюкоза

41. Нерес

42. Хлорид калію

НУБІП України

43. Сульфат магнію

44. Хлорид натрію

45. Гідрокарбонат натрію

НУБІП України

46. Гідрофосфат натрію

47. Гентаміцин

48. Молочна кислота

НУБІП України

49. Розбавник № 5

50. Деіонізована вода

51. Хлорид кальцію

52. Глюкоза

НУБІП України

53. Перес

54. Хлорид калію

55. Сульфат магнію

56. Хлорид натрію

57. Гідрокарбонат натрію

НУБІП України

58. Гідро фосфат натрію

59. Гентаміцин

60. Молочна кислота

61. Піруват натрію

НУБІП України

62.

## 2.2. Характеристика бази виконання роботи

Навчально-наукова лабораторія «Центр репродуктології тварин з банком сперми та ембріонів» є структурним підрозділом кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин, факультету ветеринарної медицини Національного університету біоресурсів і природокористування України. Лабораторія створена на підставі рішення вченої ради за наказом ректора.

НУБІП України



Рис. 2.4 Зовнішній вигляд лабораторії  
Основні завдання та напрями діяльності Лабораторії

- сприяння науково-педагогічним працівникам Кафедри у виконанні плану науково-дослідної, науково-методичної та навчальної роботи;
- підготовка навчальних та науково-методичних розробок з урахуванням інноваційних методик викладання дисциплін закріплених за Кафедрою;
- об'єднання зусиль науково-педагогічних та наукових працівників, науково-технічного персоналу, здобувачів і слухачів вищої освіти Університету для виконання наукових досліджень;
- ознайомлення НПП і здобувачів вищої освіти з новими надходженнями наукової та науково-методичної літератури з дисциплін закріплених за Кафедрою;
- допомога студентам в оволодінні теорією зазначених дисциплін, а також у їх самостійній роботі з науковою та науково-методичною літературою;

# НУБІП України

- організація конференцій, семінарів, доповідей з актуальних питань науки, участь НПП і студентів Університету у науково-дослідній роботі;

- вивчення і узагальнення досвіду кращих науково-педагогічних

# НУБІП України

працівників вищих навчальних закладів і оформлення результатів досліджень;

Основними напрямками діяльності Лабораторії є:

- проведення наукових досліджень з репродуктології тварин, щодо

# НУБІП України

отримання та оцінки якості їх сперми її охолодження, кріоконсервацію,

штучне піхвове та внутрішньо маткове осіменіння з використанням

ендоскопії. Визначення оптимального часу осіменіння самок, контроль

перебігу статевого циклу, вагітності та родів. Лікування та діагностика

гінекологічних та андрологічних порушень дрібних домашніх та диких

тварин;

# НУБІП України

- дослідження проблем кріоконсервації чоловічих статевих клітин

дрібних домашніх та диких тварин їх зберігання, розморожування, розбалення

та введення в статеві органи самок.

Лабораторія складається з двох кімнат, які поділені на чисту та брудну

# НУБІП України

зону. Брудна зона обладнана шафами де співробітники зберігають

одноразовий стерильний одяг (халати, шапочки, бахіли) та переодягаються.

Також тут розміщений умивальник для попереднього миття рук. Є 2 робочі

місця обладнанні комп'ютером де дослідники мають можливість оформити

отримані результати. Стіни лабораторії облицьовані керамічною плиткою,

# НУБІП України

стеля натяжна. При вході розміщені вимикачі які обслуговують чисту і брудну

зону лабораторії.

Чиста зона лабораторії обладнана вентиляцією та бактерицидними

лампами, вона є умовно стерильною. Вхід дозволяється тільки в спеціальному

# НУБІП України

одязі. По периметру двох стін розміщені лабораторні столи за якими

проводяться дослідження з розрахунку на чотири робочих місця. Лабораторія

обладнана наступними приладами:

# НУБІП України

- баня водяна з терморегулятором;
- термостат;
- центрифуга;

# НУБІП України

- мікроскопи біологічні;
- CO<sub>2</sub> інкубатор;
- холодильник;
- посудина Дюара;

# НУБІП України

- ембріологічна станція;
- біноклярна лупа;



Рис. 2.57 Обладнання лабораторії

# НУБІП України

# НУБІП України

## РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1. Отримання та дослідження сперми пса

НУБІП України

Одержання сперми – перший найістотніший захід у системі штучного осіменіння тварин, який повинен забезпечити нормальний прояв статевих рефлексів у плідника з виділенням повноцінного, незабрудненого еякуляту.

Техніка його проведення повинна бути простою, легко доступною, безпечною для здоров'я псів, не викликати у них больових відчуттів.

Сперму у псів отримують за допомогою методу мастурбації. Проводять масаж сім'яників та статевого члену збуджують тварину, а при відчутті лікарем настання ерекції у кобеля статевий член висовують з припуція.

Захвачуючи його правою рукою позаду (bulbus glandis penis), продовжують ритмічні рухи до того часу, поки пес не робить спроби перекинути задню кінцівку через руку лікаря, який отримує сперму. При наявності такого рефлексу потрібно різко, але не болуче відвести статевий член назад між задні

кінцівкам



Рис. 3.1. – Отримання сперми методом мастурбації.

НУБІП України



# НУБІП УКРАЇНИ

У цей час виділяється перша фракція еякуляції. Лікар продовжує фіксувати статевий член позаду (bulbus glandis penis) і легкими натискуючими рухами долоні та пальців руки масажує (bulbus glandis penis), відбираючи другу та третю фракцію еякуляту.

# НУБІП УКРАЇНИ

Після отримання сперми проводити її візуальну оцінку результати представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

## Показники візуальної оцінки сперми псів

| № П/П | Кличка | Об'єм еякуляту 2 фракції (мл) | Колір                    | Запах      | Консистенція |
|-------|--------|-------------------------------|--------------------------|------------|--------------|
| 1.    | Дон    | 6                             | світло-молочний          | без запаху | водяниста    |
| 2.    | Рем    | 4                             | молока розведеного водою | без запаху | водяниста    |
| 3.    | Боря   | 3                             | водянисто-молочний       | без запаху | водяниста    |
| 4.    | Тоні   | 5                             | водянисто-молочний       | без запаху | водяниста    |
| 5.    | Амур   | 4                             | Світло-молочний          | без запаху | водяниста    |

Як видно з даних таблиці у пса №1 під кличкою Дон віком 5 років породи німецька вівчарка, об'єм другої фракції склав 6 мл, колір світло-молочний, без запаху, консистенція водяниста та без сторонніх домішок. У пса №2 під кличкою Рем породи німецька вівчарка, об'єм другої фракції – 4 мл, колір білуватий з водянистим відтінком, без запаху консистенція водяниста, домішки відсутні. У пса №3 під кличкою Боря, віком 3 роки, об'єм другої фракції – 2 мл, колір водянисто-молочний, без запаху, консистенція водяниста, домішок невідмічали. У пса №4 під кличкою Тоні, вік 4 роки, об'єм другої

фракції – 5 мл водянисто-молочний, без запаху, консистенція водяниста, без домішок. У кобеля №5 під кличкою Амур віком 5 років, об'єм другої фракції склав 4 мл, колір світло – молочний, без запаху, консистенція водяниста, без домішок.

Аналізуючи отримані результати ми бачимо, що об'єм другої фракції еякуляту псів породи німецька вівчарка в середньому по групі складає 4,4 мл.

Колір коливався від світло молочного до водянисто-молочного. Консистенція водяниста, як і всіх самців з великим об'ємом еякуляту та з природнім матковим типом осіменіння.

Після органолептичної оцінки проводили мікроскопічну отримані результати представлені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

### Показники мікроскопічної оцінки сперми псів

| № ПІІ | Кличка | Активність/<br>бали | Густина | Концентрація<br>млн/мл | %  |    |    |
|-------|--------|---------------------|---------|------------------------|----|----|----|
|       |        |                     |         |                        | Ж  | М  | П  |
| 1.    | Дон    | 9                   | Г       | 252                    | 90 | 8  | 2  |
| 2.    | Рем    | 8                   | Р       | 200                    | 80 | 16 | 4  |
| 3.    | Боря   | 8                   | Р       | 205                    | 80 | 10 | 10 |
| 4.    | Гоні   | 9                   | Г       | 263                    | 90 | 5  | 5  |
| 5.    | Амур   | 8                   | С       | 215                    | 80 | 12 | 8  |

За даними таблиці № 3.2, видно, що у пса №1 активність спермій складає 9 балів, сперма густа (Г), концентрація – 252 млн/мл, живих – 90%, мертвих – 8%, патологічних форм 2%. У пса №2 активність спермій складає 8 балів, сперма рідка (Р), концентрація – 200 млн/мл, живих – 80%, мертвих – 16%, патологічних форм 4%. У пса №3 активність сперми складає теж 8 балів, сперма рідка (Р), концентрація – 205 млн/мл, живих – 80%, мертвих – 10%, патологічних форм 10%. У пса №4 активність спермій сягає 9 балів, сперма

НУВІП УКРАЇНИ

густа (Г), концентрація – 263 млн/мл, живих – 90%, мертвих – 5%, патологічних форм – 5%. У пса №5 активність сперми складала 8 балів, сперма середньої густини (С), концентрація – 215 млн/мл, живих – 80%, мертвих – 12%, патологічних форм 8%.

НУВІП УКРАЇНИ

Аналізуючи отримані нами дані мікроскопічної оцінки сперми псів, можемо стверджувати, що активність спермій коливалась в межах 8-9 балів, тобто 80 – 90 % спермій рухаються з прямолінійним поступальним рухом.

НУВІП УКРАЇНИ

Середня концентрація по групі псів становила 227 млн/мл. Відсоток живих, мертвих та патологічних спермій знаходився в межах фізіологічної норми. Підводячи підсумки можна стверджувати, що отримана сперма псів придатна для подальшого використання з метою розрідження та зберігання.

НУВІП УКРАЇНИ

### 3.2 Розбавлення сперми пса

НУВІП УКРАЇНИ

За даними наукової літератури деякі автори рекомендують розбавник змішувати з еякулятом після центрифугування і видалення рідкої частини сперми [37], тоді як інші розводять еякулят без видалення рідкої частини сперми. Саме тому наступним етапом нашої роботи було провести порівняльну оцінку активності спермії пса при їх розрідженні з видаленням рідкої частини еякуляту так і без видалення.

НУВІП УКРАЇНИ

Відомо, що сперму розбавляють з метою створення оптимальних умов для переживання спермій поза організмом. В розріджувачах доброї якості спермії зберігають життєздатність у кілька разів довше, ніж у природному середовищі. Для розрідження сперми пса ми використовували базовий розбавник до складу якого входили наступні компоненти: деіонізована вода; хлорид кальцію; глюкоза; Нерес; хлорид калію; сульфат магнію; хлорид натрію; гідрокарбонат натрію; гідро фосфат натрію; гентаміцин.

НУВІП УКРАЇНИ



# НУБІП УКРАЇНИ

З даних наведених у таблиці 3.3 видно, що при розбавленні сперми пса, як з плазмою та і без неї активність сперміїв після розбавлення сягала 9 балів, тобто 90 % сперміїв рухались з прямолінійним поступальним рухом.

# НУБІП УКРАЇНИ

Оцінюючи активність спермії через дві години зберігання ми бачимо, що сперма де розбавлення робили еякуляту без центрифугування їх активність була в межах 7 балів та відмічали поодинокі аглютинації. У іншій пробі,

# НУБІП УКРАЇНИ

також відмічали поодинокі аглютинації але активність сперміїв залишалася в межах 9 балів. На першу добу зберігання активність спермії у пробі з

плазмою була на 1 бал нижчою та становила 6 балів, також відмічали поодинокі аглютинації. Тоді, як у пробі №2 активність залишалася високою та становила 9 балів. Через добу активність сперміїв у пробі №1 знижувалась

# НУБІП УКРАЇНИ

до 4 балів, а також відмічали масову аглютинацію. У пробі №2 активність

сперміїв знижувалась до 8 балів та відмічали поодинокі аглютинації. Третя доба зберігання характеризувалась зниженням активності спермії до 3 балів та продовжувалась масова аглютинація у пробі №1. Активність сперміїв у пробі

# НУБІП УКРАЇНИ

№2 на третю добу зберігання залишалася на рівні 8 балів. На четверту добу

зберігання у пробі №1 тільки 10 % відсотків сперміїв рухались прямолінійно поступально. Також у полі зору мікроскопу відмічали масову аглютинацію.

При оцінці проби №2 ми відмічали, що на четверту добу зберігання спермії зберігали свою активність у межах 8 балів з поодинокі аглютинацією.

# НУБІП УКРАЇНИ

Аналізуючи отримані результати у першу чергу треба з'ясувати та

розуміти термін аглютинація спермії. Аглютинація це патологічний процес склеювання сперміїв між собою. У гуманній медицині розрізняють деякі види аглютинації та називають її справжньою, помилковою та змішаною. Справжня

# НУБІП УКРАЇНИ

аглютинація це коли спермії склеюються між собою голівками або іншими

частинами та втрачають здатність до запліднення (мал.3.1). Помилкова

аглютинація це коли спермії збиваються навколо компонентів еякуляту таких

# НУБІП України

як слизисті епітеліальні клітини сечостатевого каналу (мал. 3.2). Змішана коли спермії з'єднуються між собою, а також із компонентами еякуляту.

У наших дослідженнях поодинокі аглютинацію ми відмічали вже через

# НУБІП України

2 години зберігання при кімнатній температурі розбавленої сперми в обидвох пробках. На нашу думку це пов'язано з з'єднанням спермій, як з компонентами еякуляту так із компонентами розріджувачів.

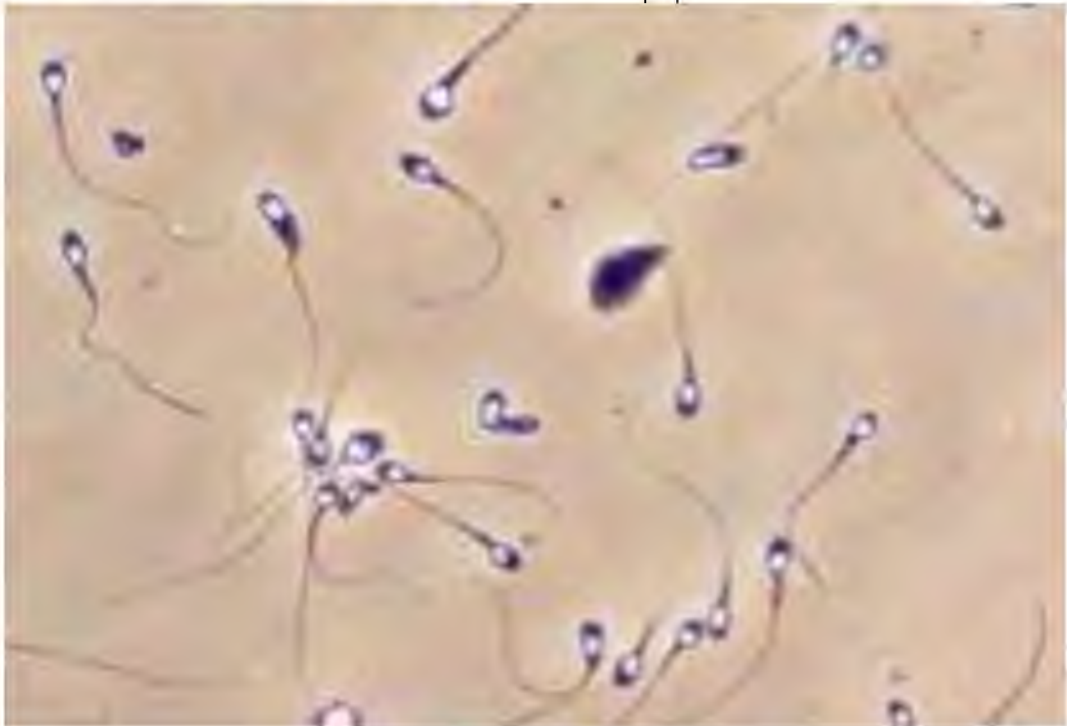


Рис. 3.2 – Справжня аглютинація

# НУБІП України

# НУБІП України

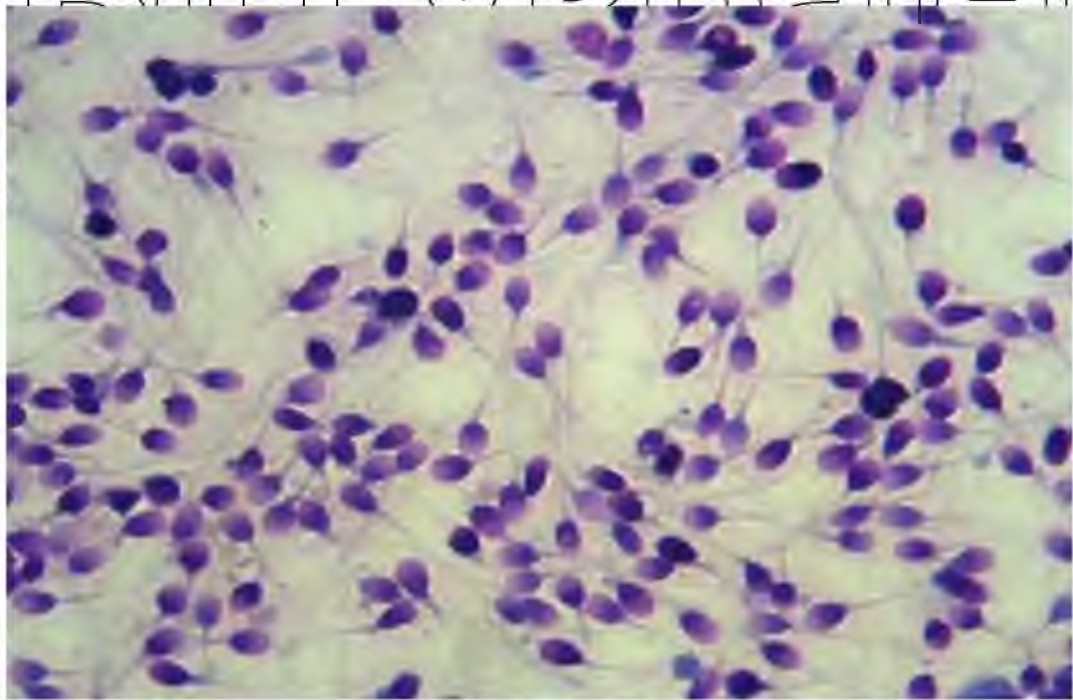


Рис. 3.3 – Помилкова аглютинація.

Підводячи підсумки щодо способів розбавлення сперми можна робити висновки, що активність спермії зберігають кращу у розбавленій спермі після центрифугування еякуляту і додавання до осаду розбавника.

### 3.3 Активність сперміїв за різного складу розріджувачів

Наступним нашим етапом роботи було дослідити активність сперміїв пса за різного складу розріджувачів для короткотривалого зберігання сперми.

Матеріалом для дослідження був еякулят пса породи німецька вівчарка, який отримували методом мастурбації та провели оцінку за загально-прийнятими методиками. Після оцінки та визначення концентрації, еякулят піддавався центрифугуванню. Рідка частина плазми сперми відбиралась та знищувалась, а густа частина розводилась розріджувачем для короткотривалого зберігання.

Для порівняльної оцінки якості сперми при її зберіганні застосовували 5 розріджувачів з різним складом. Розріджувач №1, №2, №3, №4, №5. Після розрідження всі проби піддались визначенню рухливості і переміщались для

# НУБІП УКРАЇНИ

зберігання умови холодильника. Після чого щоденно через кожні 24 годин проводилась оцінка та визначалась активність спермій. Склад розріджувачів наведений у попередньому розділі роботи. Для зручності в даному підрозділі

коротко надаємо обґрунтування основних компонентів розріджувачів. До розріджувача №1 увійшов базовий розріджувач з додаванням жовтка перепелиних яєць (Баз + ЖПя). Розбавник №2 залишався без змін та позначали

(Баз). Розбавник №3 складався з базових компонентів та додатково до нього включили молочну кислоту, піруват натрію та бичачий сироватковий альбумін

(Баз+МК+Пір+Альб). Розбавник №4 був представлений базовими компонентами та додатково включена молочна кислота (Баз+МК). До складу розбавника №5 увійшли базові компоненти, молочна кислота та піруват

натрію (Баз+МК+Пір). Отримані результати власних досліджень представлені

у таблиці 3.4. При щоденному обліку виживаємості спермій у відомостях первинної документації позначали (+) активність, яка дорівнювала 1 балу або 10% спермій з прямолінійним поступальним рухом.

# НУБІП УКРАЇНИ

Таблиця 3.4

**Активність спермій пса за різного складу розріджувачів**

|             |              | Склад розріджувачів |                    |           |               |       |
|-------------|--------------|---------------------|--------------------|-----------|---------------|-------|
| Доба дослід | №1 Баз + ЖПя | №2 Баз              | №3 Баз+МК+Пір+Альб | №4 Баз+МК | №5 Баз+МК+Пір |       |
| 1           | +++++        | +++++               | +++++              | +++++     | +++++         | +++++ |
|             | ++           | ++                  | ++                 | ++        | ++            | ++    |
|             |              | ПА                  |                    | ПА        |               | ПА    |



|   |                  |                  |                 |                 |                 |
|---|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 2 | ++++++<br>++     | ++++++<br>+++ ПА | ++++++<br>+ ПА  | ++++++<br>ПА    | ++++++<br>ПА    |
| 3 | ++++++<br>++     | ++++++<br>+++ ПА | ++++++<br>+ПА   | ++++++<br>ПА    | ++++++<br>+ПА   |
| 4 | ++++++<br>++     | ++++++<br>+++ ПА | ++++++<br>+ПА   | ++++++<br>ПА    | ++++++<br>+ПА   |
| 5 | ++++++<br>ПА     | ++++++<br>+ПА    | ++++++<br>ПА    | ++++++<br>ПА    | ++++++<br>+ПА   |
| 6 | ++++++<br>ПА     | ++++++<br>ПА     | ++++++<br>++ ПА | ++++++<br>++ ПА | ++++++<br>++ ПА |
| 7 | ++++++<br>+++ ПА | ++++++<br>+++ ПА | ++++++<br>+ МА  | ++++++<br>++ МА | ++++++<br>+ МА  |
| 8 | ++++++<br>++ МА  | ++++++<br>+ МА   | ++++++<br>МА    | ++++++<br>+ МА  | ++++++<br>+ МА  |
| 9 | ++++++<br>+ МА   | ++++++<br>МА     | ++++++<br>МА    | ++++++<br>МА    | ++++++<br>МА    |

\*ПА – подинока аглютинація;

\*МА – масова аглютинація;

Аналізуючи отримані результати ми бачимо, що найкраща активність сперматозоїдів зберігалась у розріджувачі №1 впродовж 7 дб. На 8 добу зберігання активність сперматозоїдів знижувалась до 10 %, порівняно з першою добою зберігання, а на 9 добу у зразку виявляли ще поодинокі сперматозоїди з прямолінійним поступальним рухом. Друге місце у наших дослідженнях посів розріджувач під №2. Це базовий розріджувач з додаванням жовтка перепелиних яєць. Висока активність сперматозоїдів зберігалась впродовж 7 дб зберігання, але на 5 добу відзначали незначну аглютинацію деяких сперматозоїдів. На 9 добу зберігання всі сперматозоїди в досліджуваному зразку виявляли мертвими. Найнижчу ефективність показав розріджувач під №3. У процесі дослідження даного зразку вже з другої доби, ми відмічали незначну аглютинацію. На 5 добу зберігання активність

НУБІП України

сперматозоїдів знижувалася до 30%. Розріджувачі під номером 4 та 5

показували майже однакову ефективність впродовж 5 діб зберігання. На 6

НУБІП України

добу зберігання у розріджувачі №5 ми відмічали активні спермії, але рух їх був коловим, що вважається патологічним. Подібну картину виявляли у зразку №4 на 8 добу зберігання.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

# НУБІП України

## РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОДЕРЖАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ, ЇХ ЕКОЛОГІЧНЕ ТА ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

НУБІП України

Незважаючи на досягнення вітчизняної та зарубіжної науки у вивченні фізіологічних та патологічних аспектів репродуктивної системи собак (Holst P., 1975; Christiansen I., 1984; Concannon P., 1989; England G., 1992; Dubiel A., 1995-1997, 2000, 2004; Nizanski W., 1997-2004; Фонтон А., 1999; Дюльгер Г., 2000, 2004; Ковальов П. 2004, Деркач С. 2010), питання їх відтворення висвітлені недостатньо, особливо в Україні. Вони залишаються актуальними і потребують деталізації. На перший погляд, усі питання, які пов'язані з відтворювальною здатністю собак, є зрозумілими.

НУБІП України

Однак, необхідні великі витрати часу та матеріальні ресурси для організації утримання, розведення і проведення лікувально-профілактичних заходів, пов'язаних з відтворенням собак, що складається з природного парування або штучного осіменіння сук, контролю за перебігом вагітності, родами, післяродового періоду тощо. Незважаючи на наявність у населених пунктах великої кількості собак різних порід, нерідко плідника доводиться шукати в іншому місті, країні, саме у таких випадках можна використати охолоджену сперму пса або ж осіменяти самку замороженою-розмороженою спермою. За таких умов штучне осіменіння собак, контроль за перебігом вагітності, родів і післяродового періоду набуває особливого значення.

НУБІП України

В кінці 80-х років у країнах Європи вже були створені наукові та комерційні структури для координації досліджень та узагальнення інформації в галузі штучного осіменіння собак, управління банком кріоконсервованої сперми і навчання ветеринарних фахівців у цій галузі. Хоча запити клінологічних клубів та власників тварин є чисельними, на Україні штучне осіменіння собак поки що не знайшло широкого резонансу та впровадження в щоденну практику [23,38].

# НУБІП України

Суть штучного осіменіння зводиться до введення сперми у статеві шляхи самки за допомогою спеціальних інструментів. Статевий акт при цьому

виключений, більше того, самець та самка можуть знаходитись на величезній

# НУБІП України

віддалі одне від одного (або самця вже давно може не бути в живих); сперму від самців також одержують штучним шляхом, за допомогою спеціальних приладів і піддають її перед використанням різноманітним технологічним

обробкам.

# НУБІП України

Перш за все, штучне осіменіння дозволяє максимально використовувати цінних псів-плідників.

За економічною ефективністю у світовій історії тваринництва не зареєстровано відкриття, рівноцінного штучному осіменінню [1].

# НУБІП України

Застосування штучного осіменіння сприяло значному генетичному поліпшенню популяції собак, створенню нових порід у багатьох європейських країнах.

# НУБІП України

Штучне осіменіння підвищує запліднюваність самок, тому не випадково першою метою його застосування є профілактика неплідності, але цей метод вийшов далеко за межі вузького направлення.

# НУБІП України

Справді, роль штучного осіменіння у боротьбі з хворобами репродуктивних органів велика. Адже тут використовується сперма лише високої якості, суки піддаються гінекологічному дослідженню, здійснюється

# НУБІП України

постійний контроль запліднюваності сук, тому штучне осіменіння стало основним методом селекційно-племінної роботи.

# НУБІП України

Штучне осіменіння має велике значення в профілактиці заразних захворювань, що передаються через статевий акт. Виключення при штучному осіменінні контакту між тваринами, використання лише здорових плідників та

# НУБІП України

контроль за станом статевих органів самок є ефективним заходом профілактики заразних хвороб.

# НУБІП УКРАЇНИ

Штучне осіменіння застосовують у зоопарках для одержання приплоду від диких тварин, у звірівничих господарствах для схрещування, наприклад, звичайних лисиць з чорно-бурими.

# НУБІП УКРАЇНИ

Нині заморожена сперма собак експортується в країни Європи, Скандинавії, Північної Америки та Австралію. В центрах з кріоконсервації сперми собак, відкритих у багатьох країнах світу, використовують практично однакові технології глибокого заморожування, але розбавляють сперму різними синтетичними середовищами.

# НУБІП УКРАЇНИ

Використання кріоконсервованої сперми дозволяє робити міжнародний обмін без необхідності перевезення самих собак. При цьому з'являється можливість замовленого осіменіння суки спермою будь-якого плідника.

# НУБІП УКРАЇНИ

Крім цього, штучне осіменіння може також рекомендуватися в ряді особливих випадків:

- Неможливості природного парування внаслідок вузької й короткої піхви в суки;
- Надмірно агресивного поведіння тварин під час парування;
- Низької ефективності природного парування внаслідок певних породних особливостей собак (дуже великі й важкі породи, і т.д.);
- Наявності певних захворювань у пса або суки, що не дозволяють робити природне парування (захворювання кінцівок, хребта і т.д.);
- Рационального використання цінних у племінному відношенні псів [19,39,40,41].

# НУБІП УКРАЇНИ

Репродуктивна система самця характеризується трьома основними

# НУБІП УКРАЇНИ

фізіологічними функціями: 1) утворення і формування сперматозоїдів; 2) дозріванням, накопиченням, зберіганням та транспортуванням сперматозоїдів; 3) передача сперматозоїдів у статеві органи самки через

# НУБІП України

статевий член. Ендокринна регуляція також має три основні функції: 1) контроль над виробленням сперматозоїдів; 2) розвиток властивих для самця фізіологічних параметрів; 3) підтримка характерної поведінки самця (лібідо,

# НУБІП України

агресія) [42]. Важливим аспектом в дослідженні пса репродуктора є правильний та точний збір анамнестичних даних які повинні включати ідентифікацію тварини (кличка, батьківські дані, масть, порода, особливі прикмети, дата

# НУБІП України

народження, ПІП власника тварини та час перебування у них пса, кількість потомства та останню дату в'язки чи взяття оперми). Особливе значення має вік тварини. Спеціаліст який проводить дослідження повинен чітко розуміти поняття статевої та фізіологічної зрілості тварини. Що, статеве дозрівання

# НУБІП України

самців включає ріст статевих органів, появу статевих рефлексів та початок сперматогенезу. Першими ознаками статевого дозрівання у самців є прояв статевих рефлексів, які з'являються, залежно від породи, у 5–6-місячному віці, а також рефлексу ерекції, що з'являється у 7–9 місяців [43].

# НУБІП України

Початок активного сперміогенезу, що супроводжується появою у придатках сім'яників дозрілих спермійв припадає на 7–8,5 місяців. Упродовж часу від першого статевого потягу до першої еякуляції відбувається ріст та розвиток прутня, його голівка звільняється від препуція і набуває остаточної форми. Сім'яники у пса вже функціонують як орган з подвійною функцією:

# НУБІП України

генеративною та ендокринною. Розвиток статевого інстинкту у самців супроводжується відповідними змінами їх екстер'єру. Середні строки статевої зрілості – 6–8 місяців, а фізіологічної – 12–14 місяців. Як з фізіологічної, так і з господарської точки зору важливо правильно визначити час початку статевого використання пса та попередити про це власників тварини [19].

# НУБІП України

Наступним етапом повинно бути з'ясування лібідо тварини що включає статевий акт та прояв статевих рефлексів. Лікар ветеринарної медицини чітко повинен розуміти що, статевий акт (парування) охоплює всі процеси, які

# НУБІП УКРАЇНИ

ведуть до зустрічі та об'єднання чоловічих і жіночих статевих клітин з метою запліднення. Визначається це безпосередньо комплексом статевих рефлексів.

А також знати особливості статевого акту у собак. Статевий акт у собак є най

# НУБІП УКРАЇНИ

тривалішим. Він може тривати до двох годин. Обіймальний рефлекс у пса проявляється у цілком охопленні самки передніми кінцівками, кінчик його прутня виступає з препуція і після серії спроб ввести його у статеву щілину

нарешті йому це вдається. Шкіра препуція при цьому зміщується за цибулину

# НУБІП УКРАЇНИ

основу прутня і він проникає у геніталії суки. Об'єм статевого члена збільшується у п'ять разів, голівка прутня ушмилюється набряклими кавернозними тілами переддвер'я піхви самки ("зклишування"), він фіксується м'язом стискачем піхви. Пес і сука виявляються міцно зв'язаними ("замок").

Поступово стискач піхви розслаблюється. Парувальний рефлекс проявляється

# НУБІП УКРАЇНИ

у пса декількома сильними штовхальними ("танцювальними") рухами.

Одержану від плідника сперму у першу чергу оцінюють за кольором, запахом, консистенцією та об'ємом еякуляту.

Сперма пса – має колір від сіруватого до молочно-білого. Червонуватий

# НУБІП УКРАЇНИ

або ж буро-червоний колір сперми вказує на домішки крові, які можуть зустрічатись при травмах статевого члену та внутрішніх крововиливах у статевій системі. Зеленуватий колір може бути ознакою запальних процесів, а жовтуватий – потрапляння сечі. Сіруватий або блакитний відтінок сперми є

також ознакою дуже низької її концентрації. Ми погоджуємся з думкою інших

# НУБІП УКРАЇНИ

дослідників щодо кольору сперми пса. У наших дослідження колір еякуляту пса коливався від молочно білого до сіруватого.

Нормальна сперма пса має специфічний запах або без запаху. При

наявності запальних гнійних процесів у сім'яниках чи додаткових статевих

# НУБІП УКРАЇНИ

залозах сперма може набувати гнільного запаху, а при попаданні у сперму сечі вона має запах ам'яку. Проводячи дослідження у отриманих нами еякулятах пса ми не зустрічати специфічного запаху сперми.

# НУБІП України

Консистенція сперми залежить від ступеня розрідження її секретами додаткових статевих залоз та концентрації сперміїв. Сперма пса з високою концентрацією сперміїв має консистенцію молока або розведеного молока, а з

# НУБІП України

низькою концентрацією сперміїв, буде водянистою з відповідними даними ми погоджуємося.

Об'єм еякуляту – кількість сперми, виділеної плідником за одну садку.

Він залежить від кількості секретів додаткових статевих залоз. Об'єм еякуляту у пса залежить від його маси. У псів масою 20 кг. об'єм еякуляту коливається

# НУБІП України

від 1 до 22,5 мл (в середньому 5,4 мл), а у псів масою понад 20 кг. об'єм еякуляту коливається від 2 до 61 мл (в середньому 12,8 мл) [19,40,41,43].

Виконуючи завдання магістерської роботи ми не визначали загальний об'єм еякуляту пса. Ми звертали увагу на об'єм другої фракції сперми пса.

# НУБІП України

Аналізуючи отримані результати ми бачимо, що об'єм другої фракції еякуляту псів породи німецька вівчарка в середньому по групі складав 4,4 мл, що підтверджується і даними інших дослідників, але також треба звертати увагу на індивідуальні особливості тварини.

# НУБІП України

Мікроскопічне оцінювання сперми за густиною, рухливістю, концентрацією, кількістю живих, мертвих та патологічних форм сперміїв проводили відповідно до загальноприйнятих методів.

Густина сперми – насичення її статевими клітинами. Цей показник, як і рухливість сперміїв, має пряме відношення до запліднюваності самок.

# НУБІП України

Визначення густини сперми і рухливості сперміїв досліджують в роздавленій краплі за допомогою мікроскопа при збільшенні у 180–300 разів при температурі 38–40 °С. Застосовується лише при дослідженні нерозрідженої

# НУБІП України

сперми. При цьому розрізняють: густу, середню та рідку сперму. В більшості еякулятів псів при їх дослідженні сперма належить до рідкої.

Рухливість сперміїв – це здатність їх до прямолінійного поступального руху. Чим менше у спермі таких сперміїв, тим менше шансів на запліднення.



# НУБІП України

Досліджують одразу після отримання еякуляту. В нормі у еякуляті вміст сперматозоїдів з прямолінійним поступальним рухом повинен становити понад 70 %.

# НУБІП України

Концентрацію сперміїв визначають у кожному еякуляті з тим, щоб знати, в скільки разів можна її розріджувати. Для цього існує декілька методів, основним серед яких є підрахунок у лічильній камері. Сперма собак з високою концентрацією повинна становити 160–600 млн сперміїв в 1 мл. Але ці

# НУБІП України

показники можуть змінюватись залежно від породи, окремих особливостей кожного пса, віку тварини, методу отримання сперми та інших чинників і варіює від 50 до 1758 млн (в середньому 380 млн). Пси, придатні до відтворення повинні мати мінімум 200 млн сперміїв в еякуляті. Для підрахунку

# НУБІП України

сперміїв можна використовувати камери Горяєва, Бюркера (рис. 7), а також за допомогою електрофетокolorиметра та комп'ютерного спермоаналізатора. Сперму пса розводять в 20 разів та проводять підрахунок аналогічно, як у інших самців.

# НУБІП України

Процент живих і мертвих сперміїв визначають за допомогою мікробіологічних барвників. При наявності мертвих сперміїв у досліджуваному матеріалі вони будуть зафарбовуватися в колір барвника, а у живих голівки сперміїв не фарбуються. Препарат готують та проводять підрахунок аналогічно, як для сільськогосподарських самців.

# НУБІП України

Процент патологічних форм сперміїв визначають у свіжо одержаній спермі. Для зручності підрахунку розріджують сперму 1 %-м розчином натрію хлориду і роблять тоненький мазок на предметному склі, який після висушування та фіксації спиртом забарвлюють азур-еозином чи метиленовою

# НУБІП України

синькою і розглядають під мікроскопом та підраховують кількість нормальних і патологічних. У собак, які придатні до відтворення, можна спостерігати від 2,4 до 88 % вторинних змін сперміїв (у середньому 13 %), а з первинними

# НУБІП України

змiнами спостерiгається вiд 0,8–8 % спермiїв у досліджуваних препаратах [19,40,41,43].

Отриманi нами данi мiкроскопiчної оцiнки сперми псiв збiгаються з думкою iнших дослідників. Активнiсть спермiїв коливалась в межах 8-9 балiв, тобто 80–90 % спермiїв рухаються з прямилинийним поступальним рухом. Середня концентрацiя по групi псiв становила 227 млн/мл. Вiдсоток живих, мертвих та патологiчних спермiїв знаходився в межах фiзiологiчної норми.

Сперматозоїди чутливі як до тепла, так і до холоду. Швидке охолодження сперми призводить до так званого "холодового шоку", яке часто проявляється порушенням рухливості та морфологією сперматозоїдів. Висока температури також згубно впливає на активність і морфологію сперматозоїдів, підвищення температури всього на кілька градусів вище температури тіла зазвичай призводить до загибелі сперматозоїдів. Кiмнатна температура (20-22 °C) у бiльшостi випадкiв згубно не дiє на сперматозоїдiв та зберiгає їх активнiсть впродовж декiлькох години. Якщо потрібнi бiльш тривалi термiни зберiгання, найкраще розрiджувати еякулят у поживних середовищах і повiльно охолоджувати його до температури холодильника (4-5 °C) [44].

Заморожену сперму можна зберiгати не обмежений час i таким чином використовувати її у будь який час вiдповiдно до статевого циклу суки. Однак оптимальний час осiменiння має бути точно визначений, оскiльки сперматозоїди пiд час заморожування та розморожування знижують свою активнiсть і заплiнюючу здатнiсть, що негативно впливає на ефективнiсть заплiнення суки. Крім того, виникають деякi проблеми, такi як ризики загальної анестезii та iнвазивної хiрургii, оскiльки осiменiння iз замороженою-розмороженою спермою у сук вимагає хiрургiчного внутрiшньоутробного введення або внутрiшньо-маткове осiменiння з допомогою ендоскопа. Однак цей метод складно застосовувати для маленьких порiд собак. Крім того, є перешкоди, такi як необхiднiсть спецiального обладнання для григотування

# НУБІП України

замороженої сперми, постійне утримання та поповнення рідкого азоту у посудинах Дюара. Таким чином, використання замороженої сперми псів по собівартості буде на багато вищою порівнянні з використанням для осіменіння охолодженої сперми [45].

# НУБІП України

Порівняно із замороженою спермою, охолоджена сперма легше готується та транспортується і не потребує спеціальних технологій та дорогого обладнання. Однак придатність охолодженої сперми обмежена і вимагає використання розбавників, які забезпечать і підтримають якість сперми.

# НУБІП України

Ми погоджуємося з думкою дослідників, які рекомендують зразки сперми які піддаються охолодженню спочатку центрифугували при  $650 \times g$  протягом 5 хвилин для видалення рідкої частини плазми еякулята. Активність спермій у зразках, які піддавались центрифугуванню були кращими, як показники де розведення проводилось з плазмою сперми.

# НУБІП України

Отримані результати щодо активності спермій при розбавленні їх різними розбавниками найкраща активність сперматозоїдів зберігалась у розріджувачі №1 впродовж 7 діб. На 8 добу зберігання активність сперматозоїдів знижувалась до 10 %, порівняно з першою добою зберігання, а

# НУБІП України

на 9 добу у зразку виявляли ще поодинокі сперматозоїди з прямолінійним поступальним рухом. На нашу думку це пов'язано зі вмістом у розріджувачі жовтка перепелиних яєць який діє як кріопротектор та оберігає спермії від холодового шоку, чим забезпечує активність спермій при зберіганні за температури 2-5 °С.

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

## ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Оцінка якості сперми пса має бути комплексною та включати дослідження кольору, запаху, консистенції та об'єму еякуляту. Мікроскопічне оцінювання сперми повинно включати визначення густини, рухливості, концентрації, кількість живих, мертвих та патологічних форм сперми у свіжоотриманому еякуляті.

2. Об'єм другої фракції еякуляту псів породи німецька вівчарка в середньому становить 4,4 мл, колір коливався від світло-молочного до водянисто-молочного, консистенція водяниста. Активність спермій коливалась в межах 8-9 балів, тобто 80 – 90 % спермій рухаються з прямолінійним поступальним рухом, середня концентрація спермій у псів становить 227 млн/мл., відсоток живих не менше 70, мертвих та патологічних спермій до 20 %.

3. Розрідження сперми пса необхідно робити з попереднім видаленням рідкої частини еякуляту та додавання розріджувача до осаду тоненькою цівкою по стінці пробірки з легким помішуванням. Такий метод розбавлення сперми пса зберігає їх активність нарівні 9 балів продовж чотирьох діб.

4. Найкраща активність сперматозоїдів зберігалась у розріджувачі №1 (Баз + ЖПя) впродовж 7 діб. На 8 добу зберігання активність сперматозоїдів знижувалась до 10 %, порівняно з першою добою зберігання, а на 9 добу у зразку виявляли ще поодинокі сперматозоїди з прямолінійним поступальним рухом.

5. Для короткотривалого зберігання сперми пса рекомендуємо використовувати розріджувач №1 (Баз + ЖПя) та розріджувач №2 (Баз), які забезпечують високу активність спермій впродовж більш 7 діб та дають можливість транспортувати сперму на необмежену відстань.

# НУБІП України

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Яблонський В. А., Хомин С. П., Калиновський Г. М. та ін., Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології. – Вінниця: Нова книга, 2006.

2. Anderson K. Insemination with frozen dog semen based on a new insemination technique. *ZuchtHygiene*, 1975, 10:1-4.

3. Mizanski W. Skuteczna inseminacja suki nasieniem konserwowanym w niskich temperaturach. /Nizanski W, Dubiel A, Slaska B, Kungl K // *Magazin Wet.* 1997, 6, 178-180.

4. Brian B. The use of frozen semen from dogs in Canada. *Canad. Vet. J.*, 1986, 27 :161–163.

5. Маринов М., Иванова-Кичева М. Сбор и оценка спермы кобелей // Р.Ж. Биология сельскохозяйственных животных. – 2000. – №9. – С. 25.

6. Иванов И.И. Избранные труды – М.: Колос. – 1970. – 320 с.

7. Dumon Christian., Insemination artificielle en semense fraiche // *Depeche techn.* – 1990. – №13. – С. 15–19.

8. Милованов В.К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение животных. М.: – 1962. – 620 с.

9. Inaba T., Matsui N., Shimizu R. e.a. Use of echography in bitches for detection of ovulation and pregnancy. *Vet Record.*, 1984, 115:276–277.

10. Foote R. H. The effect of electrolytes, sugars, glycerol and catalase on survival of dog sperm stored in buffered-yolk mediums. *Am. J. Vet. Res.*, 1964, 25: 32–36.

11. Ерохин А.С. Проблемы и перспективы искусственного осеменения собак / Научный сборник РКФ. – М.: – 1997. – №1. С/47-49.

# НУБІП України

12. Linde-Forsberg C, Forsberg M. Fertility in dogs relation to semen qualite and the time and site of insemination with fresh and frozen semen. *J. Reprod. Fert (Suppl)*, 1989, 39 : 300.

# НУБІП України

13. Foote R. H. The effect of electrolytes, sugars, glycerol and catalase on survival of dog sperm stored in buffered-yolk mediums. *Am. J. Vet. Res.*, 1964, 25: 32–36.

14. Amann R.P. Reproduction phisiology and endocrinology of the dog. In: *Current therapy in thenogenology*, 1986: 532–538.

# НУБІП України

15. Харенко М. І., Хомин С. П., Кошовий В. П., та ін., Фізіологія та патологія розмноження дрібних тварин. Суми, Козацький вал, 2005. с 152-154, 249-251.

16. Хронопуло Н.П. Получение семени от самцов лисиц методом электроэякуляции // *Кролиководство и звероводство*. 1961. – №21. – С. 16–18.

# НУБІП України

17. Николаев В.В., Ермаков А.М., Николаева В.Н. К вопросу об искусственном осеменении собак. / *Научный сборник работ Донского ГАУ.* Ростов-на-Дону. – 1999. – №6. – С. 24–27.

18. Штучне осіменіння собак. / [В.Н. Любецький, С.С. Деркач, В.М. Слєпченко, М.М. Михайлюк, О.А. Вальчук, Я.В. Любецький]. – К.: ТОВ «Анва-прінт», 2008. – 40 с.: іл. – Бібліогр.: с. 39.

# НУБІП України

19. Rozród psów. Praca zbiorowa pod redakcją Andrzeja Dubiela. Wrocław 2000 – 491 s.

20. Province C.A., Amann R.P., Peckett B.W. e.a. Extenders for preservation of canine and equine spermatozoa at 5 °C. *Thenogenol.*, 1984, 22: 409–415.

# НУБІП України

21. 3-rd International Symposium on Reproduction of Dogs, Cats, and Exotic Carnivores. September 12–14, 1996. Universiteit Utrecht.

22. Техніка взяття та методи оцінки якості сперми собак. / Любецький Я.В., Деркач С.С., Колісник О.В. // тези доп. конф., 16–17 березня 2007р., НАУ Київ. – С.75–76.

# НУБІП України

23. Минуте та сьогодні розвитку штучного осіменіння сук у світі.

С.С. Деркач, Я.В. Любецький // *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України* – 2009 – № 136

# НУБІП України

– С. 188–195.

24. Баутина Е.П. Оценка методов получения спермы и использование при искусственном осеменении серебристо-черных лисиц. В кн.: Разведение пушных зверей и кроликов (материалы конференции молодых ученых) НИИПЗК вып. 2.

– М.: – 1974. – С. 74–76.

25. Мареева Т.К. Искусственное осеменение // Доберман. – 1996. – С. 24–26.

26. Concannon P.W., Batista M. Canine semen freezing and artificial insemination. In: Current veterinary therapy. X. Philadelphia, 1989:1248–1258.

27. Muller A. Effect of different diluents on sperm motility and acrosome integrity in fresh stored dog semen. Anim. Breed. Abstr., 1993, 3:332–410.

28. Linde-Forsberg C. New regulation for the artificial insemination of dogs. Svensk Veterinartidning, 1989, 41: 973–978.

29. Помытко В.Н., Баутина Е.П. Исследование некоторых показателей спермы и искусственное осеменение серебристо-черных лисиц. // Научные труды НИИПЗК. т. 12 – М.: – 1973. – С. 157–161.

30. Терновская Ю.Т. Определение оптимального срока в'язки собак. // Охота. – 1997. – №9. – С. 16–17.

31. Pirlot A., Henroteaux M., Ectors F. Insemination artificielle canine et conservation du sperme // РЖ "Биология сельскохозяйственных животных". – 1989. – №3. – С. 39.

32. Помытко В.Н., Владимиров А.В. Усовершенствование метода искусственного осеменения песцов / Научные труды НИИПЗК. – М.: – 1973. – т. 12 – С. 166–169.

33. Yu Xueji, Pan Youzhi and all. Замораживание спермы собак в гранулах в жидком азоте по новой методике // РЖ Биология сельскохозяйственных животных». – 1998. – №8. – с. 44.

34. Amann R.P. Reproduction physiology and endocrinology of the dog. In: Current therapy in the dog, 1986: 532–538.

35. Anderson K. Insemination with frozen dog semen based on a new insemination technique. Zuchtthygiene, 1975, 10:1–4.

36. <http://dspace.pl.ua.edu.ua/8080/bitstream/123456789/5892/1/12.pdf>

37. Terhaer P. Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung von Hundesperma: Motilität, ATP-Konzentration und Akrosomintegrität der Spermien bei Zusatz unterschiedlicher Glycerinkonzentrationen sowie von Seminalplasma zum verdünnten bzw. aufgetauten Samen. Praca dokt., Tierärztliche Hochschule Hannover – 1993. – P. 239.

38. Любецький В. Й. Методичні рекомендації «Штучне осіменіння собак» / В. Й. Любецький, С. С. Деркач, В. М. Слєпченко, М. М. Михайлюк, О. А. Вацьчук, Я. В. Любецький. – Затв. Держкомітетом ветеринарної медицини України, протокол № 1 від 23 грудня 2010 р. – К.: ТОВ «Анва-прінт», 2010. – 30 с.

39. Dubiel A. Obserwacje nad unasiennianiem suki // Medycyna Wet. – 1973. – N 29. – S. 551-553.

40. Nizanski W. Praktyczna uwagi na temat pobierania i oceny nasienia psa. Cz. 1/ / W. Nizanski, G. Deyneka, M. Klimowicz // Magazyn Weterynaryny. – 2005. – № 14(100). – S. 49–51.

41. Nizanski W. Praktyczna uwagi na temat pobierania i oceny nasienia psa. Cz. 2/ / W. Nizanski, G. Deyneka, M. Klimowicz // Magazyn Weterynaryny. – 2005. – № 14(102). – S. 8–12.

42. Симпсон Дж. / Руководство по репродукции и неонатологии собак и кошек / Симпсон Дж., Ингланда Г., Харви М.; пер. с англ. Е. И. Смелова. – Москва: Софион, 2005. – 280 с.

43. Деркач С. С. Особливості отримання та оцінки якості сперми пса репродуктора / С. С. Деркач // Вет. медицина України. – 2015. – № 3. – С. 17–18.

44. <https://www.dvm360.com/view/canine-semen-collection-and-evaluation-proceedings>.

45. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3983825/>



НУБІП України

46.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України