Лекция 13-14. **Методы оценки качества спермы**

План:
1. Макроскопическая оценка качества спермы.
2. Микроскопическая оценка качества спермы.

1. Макроскопическая оценка качества спермы.

От качества спермы зависит результат искусственного осеменения. Первый и важный шаг сразу же после получения спермы - *проверка её качества.*

Качество спермы меняется в зависимости от условий содержания быка, кормления, состояния здоровья производителя и режима полового использования животного.

Оценка семени производителя нужна для определения качества спермопродукции, годности каждого полученного эякулята и установления оптимальной степени разбавления.

Для каждого производителя разрабатывают график прохождения обследования спермы, но не реже одного раза в месяц.

Оценка качества спермы является важным звеном в технологическом процессе на станциях и пунктах искусственного осеменения. От качества спермы в значительной степени зависит оплодотворяемость самок.

Конечно, окончательное суждение о качестве спермы можно сделать только после испытания оплодотворяющей способности сперматозоидов, т.е. тогда, когда осемененные самки принесут приплод или придут в повторную охоту. Но еще до осеменения можно составить представление о качестве спермы, определяя некоторые показатели, характеризующие те или иные ее свойства. Необходимо подчеркнуть, что для полной характеристики качества спермы недостаточно определить какой-либо один показатель, а требуется всестороннее ее исследование.

Из используемых методов оценки качества спермы выделяют обязательные и дополнительные. Обязательной оценке подвергается каждый взятый эякулят. Дополнительными методами оценивают свежеполученную сперму периодически (один раз в3–6 мес) в зависимости от технологии и условий работы племпредприятия.

К обязательным методам относят:

1) оценку внешних свойств спермы(органолептическая),
2) оценку спермы по густоте и подвижности сперматозоидов,
3) определение концентрации сперматозоидов в сперме.

Дополнительные методы, используемые для более полной характеристики качества спермы:

1) определение процента морфологически ненормальных сперматозоидов;
2) определение процента живых сперматозоидов путем дифференциальной окраски;

3) определение метаболической активности сперматозоидов (по скорости обесцвечивания метиленовой сини, индексу фруктолиза, показателю pH и др.);
4) определение абсолютного показателя живучести сперматозоидов и др.

Сразу же после взятия эякулята определяют его объем и исследуют цвет, запах и консистенцию (эту оценку иногда называют ***макроскопической или органолептической).***

Оценка внешних свойств, свежеполученной спермы производится по следующим критериям:

- цвету,
- консистенции,
- запаху,
- объему эякулята.

Цвет спермы зависит от вида животных и насыщенности сперматозоидами. Чем выше содержание сперматозоидов в сперме, тем более белый цвет ее(таблица 1).

Таблица 1:

Вид животного	**Цвет спермы**
баран	Белый, с желтоватым оттенком
бык	белый или желтоватый
жеребец	серовато-белый (наподобие цвета разбавленного молока).
хряк	серовато-белый (наподобие цвета разбавленного молока).

Сероватый или голубоватый оттенок — ***признак олигоспермии*** (недостаточное число спермиев).

Розовая или красноватая окраска спермы свидетельствует о примеси крови, попавшей в сперму в результате свежей травмы половых органов.

Темно-красный цвет сперма приобретает при свежих разрывах мелких капилляров мочеполового канала, буро-красную - при травмах давнего происхождения.

Буроватые сгустки в сперме или зеленоватая окраска ее указывает на примесь в сперме гноя (сперма выбраковывается).

Хлопья в сперме появляются при воспалении пузырьковидных желез (сперма выбраковывается).

Интенсивно–желтый цвет спермы говорит о примеси в ней мочи (сперма выбраковывается).

Запах спермы обычно слабый специфический.

Сперма барана имеет запах жиропота. Наличие неприятного гнилостного запаха указывает на воспалительный процесс в половых органах производителя.

Сперма с патологическими включениями и гнилостным запахом, а также с наличием трихомонад или бактерий не пригодна для осеменения самок.

Консистенция спермы, зависит от концентрации сперматозоидов.

Вид животного	**консистенция**
баран	сливко- или сметанообразная
бык	молочная
жеребец	водянистая
хряк	водянистая

Объём. Объём эякулята быка и барана определяют с помощью градуированного спермоприёмника, пробирки, а эякулят жеребца и хряка мензуркой или мерным цилиндром.

Объем эякулята определяют:

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

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

У жеребца и хряка: в градуированном спермоприемнике (для хряков), переливанием в мерный цилиндр, профильтровывая через 3- 4 слоя стерильной марли для отделения секрета куперовых желез у хряка и пузырьковидных у жеребца, а также взвешиванием полиэтиленового семясборника. Тягучий секрет пузырьковидных желез, оставшийся на марле, выбрасывают, так как он мешает при работе со спермой и снижает жизнеспособность сперматозоидов.

Объём эякулята в одноразовом спермоприёмнике определяют путём взвешивания. Масса 1 г спермы соответствует 1 мл (таблица 3).

Таблица3:

Вид животоного	**Объем эякулята**		
	минимальный	**Средний**	**максимальный**
баран	0,6	1	3-5
бык	2	4-6	10
жеребец	20	70-75	300
хряк	100	250-350	500

Все приспособления для измерения предварительно стерилизуют и нагревают до температуры 60^0 С, так как резкое охлаждение спермы, в особенности свежеполученной, вызывает холодовой удар и гибель сперматоцитозоидов.

3. **Микроскопическая оценка качества спермы.**

При микроскопическом исследовании спермы выявляются следующие ее элементы и примеси:

1) спермии нормальные и патологические:
2) клетки плоского, переходного эпителия, клетки семенных канальцев (зернистые);
3) форменные элементы крови — эритроциты и лейкоциты:
4) гиалиновые шары, круглые или овальные, иногда слоистые и напоминающие зерна крахмала, амилоидные тельца, сильно блестящие — лецитиновые зернышки, кристаллы спермина и др.

Если примесей в сперме немного, это считается нормой. Если примесей много, необходимо выявить их источник и причину.

Основное внимание при ***микроскопическом исследовании*** концентрируется

- на густоте,
- активности,
- концентрации,
- проценте патологических форм спермиев.

Применяют метод визуальной оценки эякулята по густоте.

Густота спермы определяется по количеству сперматозоидов, наблюдаемых в поле зрения микроскопа. Такая оценка проводится с целью получения предварительных данных о содержании половых клеток в сперме и о необходимости дальнейшей ее оценки. Наиболее хорошо она разработана для спермы быка и барана. Имеет самостоятельное значение лишь в том случае, когда по какой-либо причине не определяют концентрацию сперматозоидов. В этом случае сперму относят к одной из следующих категорий: густая, средняя или редкая.

К использованию допускается сперма быка, жеребца и хряка с оценкой “густая” и “средняя”, сперма барана – только “густая”.

Густая сперма – все поле зрения заполнено сперматозоидами без промежутков между ними (обозначается буквой Г).

Средняя сперма –промежутки между сперматозоидами имеются, но они не превышают размеров одного сперматозоида (обозначается буквой С).

Редкая сперма – промежутки между сперматозоидами превышают размеры спермия (обозначается буквой Р).

Олигоспермия – в поле зрения имеются единичные сперматозоиды (обозначается буквой О).

Аспермия – в поле зрения сперматозоиды отсутствуют (обозначается буквой А).

Тератоспермия– наличие патологических форм (Т).

По густоте спермы приблизительно судят о концентрации сперматозоидов.

Концентрация спермиев определяется в каждом эякуляте, эти данные необходимы для расчета кратности разбавления спермы, которая

устанавливается с таким расчетом, чтобы в каждой дозе разбавленной спермы было предусмотренное ГОСТом число спермиев.

Концентрацию спермиев можно определить несколькими методами: подсчетом в камере Горяева, по оптическому стандарту, при помощи фотоэлектроколориметра, электронным счетчиком частиц.

Достаточно точным методом определения концентрации спермиев является подсчет в камере Горяева. Однако он утомителен и требует много времени – 15-20 мин. на оценку каждого эякулята. Поэтому в настоящее время он используется лишь как вспомогательный. Применение оптического стандарта основано на том, что чем больше мутность исследуемой спермы, тем выше концентрация спермиев. Этот метод легко и быстро выполним, но по точности значительно уступает прямому подсчету спермиев.

Применение фотоэлектроколориметра (ФЭК-56 или КФК-2) позволяет оценить концентрацию спермиев за 1-2 мин.

Концентрация спермиев определяется в млрд в 1 мл спермы. Допускается для использования сперма со следующей концентрацией:

- быка – 1-2 млрд/мл,
- барана – 2-4 млрд/мл,
- хряка и жеребца – 0,15-0,4 млрд/мл.

Сперму необходимо исследовать сразу же после ее получения. Для этого из свежеполученного эякулята отбирают пробу спермы и разбавляют 2,9%-ным раствором цитрата натрия.

Сперму быка разбавляют в 100 раз, взяв 0,1 мл спермы и 10 мл цитрата натрия.

Сперму барана разбавляют в 400 раз, взяв 0,025 мл спермы и 10 мл цитрата натрия.

Сперму хряка разбавляют в 30 раз, взяв 0,4 мл спермы и 12 мл цитрата натрия.

Оценку на подвижность (активность) проводят в раздавленной капле, для чего на чистое подогретое предметное стекло наносят каплю свежеполученной спермы, накрывают ее покровным стеклом. Стекло помещается на электрообогревательный столик, установленный на предметном столике микроскопа. Визуальную микроскопическую оценку проводят в затемненном поле зрения при увеличении в 140 или 280 раз.

Нормальным для сперматозоидов движением является прямолинейное поступательное. Сперматозоиды с манежным, колебательным движением или неподвижные неспособны к оплодотворению. Подвижность сперматозоидов оценивают по 10-балльной шкале. Если около 90% сперматозоидов движутся прямолинейно поступательно, то такой сперме ставится оценка 9 баллов, если 80% – 8 баллов и т.д.

Некроспермия – все сперматозоиды в поле зрения неподвижны (обозначается буквой Н).

Причины возникновения:

- воспалительные процессы в семенниках, спермиовыносящих путях,
- болезней придаточных половых желез,
- поражений мочевых путей,
- признаком эпидидимита,
- длительные интервалы между садками,
- высокая внешняя температура, особенно при заболеваниях мошонки,
- лихорадочные инфекционные и кровопаразитарные заболевания,

Производителю создают лучшие условия содержания; в рацион включают корма, богатые растительным и животным белком, витаминами Е и А. Назначают частые коитусы для быстрейшего выведения запасов мертвой спермы. При поражении семенников, придатка, придаточных половых желез и мочеполового канала необходимо провести соответствующее лечение.

Свежеполученная сперма допускается к использованию по подвижности, если она не ниже 4 баллов. Результат оценки по густоте и подвижности сперматозоидов обозначается двумя знаками, например, Г-9, С-10, Р-7 и т.д.

Различают три вида движения сперматозоидов:

- прямолинейно-поступательное,
- манежное
- колебательное.

При оценке по подвижности большое внимание уделяется характеру движения половых клеток, а также образованию в мазке из свежеполученной спермы вихрей и завихрений и их силе. В густой сперме энергично двигающиеся в одном направлении сперматозоиды образуют своеобразные потоки ("струи"). Когда такие струи сталкиваются, в поле зрения возникают темные завихрения, которые быстро исчезают.

В 5 баллов оценивается сперма, если в мазке сперматозоиды проявляют очень быстрое и энергичное поступательное движение, за счет которого чрезвычайно быстро возникают вихреобразное движение и небольшие завихрения, постоянно изменяющиеся в поле зрения.

4 балла – быстрое поступательное движение сперматозоидов и внезапное формирование вихреобразного движения и завихрений в просматриваемом мазке.

3 балла – устойчивое, средней силы поступательное движение сперматозоидов; вихревое движение и небольшие завихрения продвигаются более медленно через поле зрения.

2 балла – слабое поступательное движение, отмечаются остановки и возобновление движения сперматозоидов. Вихреобразное движение и завихрения отсутствуют.

1 балл– слабое волнообразное или колебательное движение сперматозоидов.

0 баллов – отсутствие в мазке подвижных сперматозоидов.

Содержание патологических форм спермиев определяют периодически.

Для сперматозоидов каждого вида животных характерна своя структура и величина; не исключены и некоторые индивидуальные.

Появление в эякуляте значительного числа клеток с явными отклонениями в их структуре ***(тератоспермия)*** сопровождается понижением плодовитости производителя.

Это может быть обусловлено тем, что продвижение ненормальных сперматозоидов в половом тракте самки к месту оплодотворения нарушено и не накапливается там необходимое число половых клеток (в половом тракте есть места, которые не пропускают ненормальных сперматозоидов), или же с неспособностью таких клеток вызвать оплодотворение и последующее развитие зародыша.

Ненормальности головки имеют большее значение, чем ненормальности в области хвоста.

К ненормальным формам относят:

- спермии с измененными головкой (уменьшенная, круглая, несимметричная, укороченная, асимметричная, заостренная, двойная, без чехла, двойная, конусообразная и грушевидная, сморщенная, большая, узкая, удлиненная, асимметричная).
- спермии с измененной шейкой (двойная или ломаная, наклоненная к телу), наиболее частые аномалии шейки:сломанные шейки, бесхвостые головки.
- спермии с измененным телом (изогнутое, удлиненные, утолщенные, двойные, разорванные, ломаное, удвоенное, свернутое) или хвостом (изогнутый, двойной, с извитым и оголенным концом, срезанный, скрученный).

Максимальный процент патологических форм спермиев: у барана – 14%, быка – 18%, хряка – 20%, жеребца – 25%.

В связи с этим классифицируют ненормальности сперматозоидов как: первичные (главные), вторичные и третичные. Первичные связаны с головкой или акросомой клетки,вторичные – с наличием цитоплазматической капельки в средней части хвоста и третичные – с другими дефектами хвоста.

Домашнее задание:

- Акушерство, гинекология и биотехнология размножения животных/ В.П. Гончаров, Д.А. Черепахин – Москва: Колос, 2004
- Акушерство, гинекология и биотехнология размножения животных / Г.Ф. Медведев, К. Д. Валюшкин – Минск: Беларусь, 2010