

Новосибирский государственный аграрный университет

Институт ветеринарной медицины и биотехнологии

ФИЗИОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ И ЛАКТАЦИИ

Практикум

Новосибирск 2024

УДК 619:612.1/.8 (07)
ББК 45.27, Я7
Ф 504

Кафедра анатомии и физиологии

Составители: канд. биол. наук, доц. *С.В. Баталова*
канд. биол. наук, доц. *Л.М. Осина*

Рецензент: канд. биол. наук, Г.В. Вдовина

Физиология репродукции и лактации: практикум к лабораторным занятиям / Новосибирский государственный аграрный университет, Институт ветеринарной медицины и биотехнологии; составители: С.В. Баталова, Л.М. Осина. – 2-е изд. – Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2024. – 43 с.

Практикум рекомендован для студентов очного и заочного отделений по направлениям подготовки: 36.05.01- Ветеринария, 36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза; 06.03.01 Биология, 36.03.02 Зоотехния.

Утвержден и рекомендован к изданию учебно-методическим советом ИВМиБ (протокол № 1 от 29 января 2024г.)

© Новосибирский ГАУ, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
Введение	4
Раздел 1. Физиология репродуктивной системы животных.	5
Лабораторная работа №1.1. Определение готовности самок к оплодотворению	5
Лабораторная работа № 1.2. Оценка спермы по внешним признакам	14
Лабораторная работа № 1.3. Определение концентрации спермиев в счетных камерах	18
Лабораторная работа №1.4. Определение резистентности спермиев	21
Лабораторная работа № 1.5. Оценка спермы по интенсивности дыхания	23
Лабораторная работа №1.6. Определение процента живых спермиев	24
Лабораторная работа № 1.7. Вагинальная цитология. Определение времени вязки у сук	25
Раздел 2. Физиология лактации.	31
Лабораторная работа № 2.1. Определение жирности молока	31
Лабораторная работа № 2.2. Исследование молочного жира под микроскопом	33
Лабораторная работа № 2.3. Определение молочного сахара	34
Лабораторная работа № 2.4. Определение титруемой кислотности молока (молозива) по Тернеру	36
Лабораторная работа № 2.5. Определение амилазы в молоке	37
Лабораторная работа № 2.6. Определение в молоке посторонних примесей	38
Библиографический список	41

ВВЕДЕНИЕ

Данный практикум предназначен для изучения физиологии репродукции и лактации. Он состоит из двух разделов. Каждый раздел соответствует изучаемой теме и представлен комплексом практических работ, позволяющих студентам приобретать навыки в проведении экспериментов, лабораторных работ и развивать аналитические способности при обработке полученных результатов. Каждое задание подкреплено контрольными вопросами, способствующими лучшему усвоению изучаемого материала.

Настоящий практикум составлен в соответствии с новыми учебными требованиями, предъявляемыми к изучению следующих дисциплин: «Физиология и этология животных» по направлению подготовки: 36.05.01 - Ветеринария; «Основы физиологии» по направлению подготовки 36.03.01- Ветеринарно-санитарная экспертиза; «Физиология животных» по направлениям подготовки 06.03.01 - Биология, 36.03.02 Зоотехния.

РАЗДЕЛ 1. ФИЗИОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ ЖИВОТНЫХ

Лабораторная работа № 1.1. Определение готовности самок к оплодотворению

Выбор сроков осеменения самок – один из наиболее важных факторов при организации и проведении искусственного осеменения. Оптимальным сроком осеменения является период, наиболее благоприятный для встречи спермиев с яйцеклеткой. При выборе срока осеменения учитывают ряд обстоятельств.

Во-первых, способность яйцеклетки к оплодотворению сохраняется в пределах 5-10 ч.

Во-вторых, до слияния спермия с яйцеклеткой спермию необходимо пройти в половых путях самки некоторую подготовительную процедуру, именуемую капациацией. Это подготовительная процедура подготовки внешних структур спермия к прохождению короны радиаты яйцеклетки. Продолжительность капациации у сельскохозяйственных животных составляет приблизительно 5-6 ч. Это обстоятельство требует необходимости введения спермы в половые пути коров за 5-6 ч до предполагаемой овуляции.

В-третьих, жизнеспособность спермиев в половых путях самки при естественном покрытии самцом составляет в среднем 24-48 ч. Жизнеспособность замороженно-оттаянных или свежеразбавленных спермиев намного ниже, в среднем, 12 ч. Этот факт требует введения спермы не более чем за 12 ч до предполагаемой овуляции.

У самок крупного рогатого скота овуляция переходит в стадию торможения через 10-12 ч после окончания половой охоты, у 80% животных в ранние утренние часы (3-4 ч утра).

Все указанные факторы определяют оптимальный срок искусственного осеменения коров и телок в конце половой охоты. Так как у 70% животных

средняя продолжительность половой охоты составляет 12 ч (с колебаниями от 8 до 20 ч), то если начало охоты приходится на утренние часы, таких животных осеменяют вечером (в 17-19 ч вечера). Если же начало охоты фиксируют в вечернее время, таких животных осеменяют рано утром (в 5-6 ч утра).

Задание 1. Способы выявления половой охоты у коров.

Цель: освоить способы выявления половой охоты у коров.

В настоящее время существует несколько способов определения половой охоты и других признаков полового возбуждения у коров и телок (табл. 1).

Таблица 1

Признаки половой охоты у коров

Способ выявления	Применяемые вспомогательные средства	Наблюдаемые явления при наличии половой охоты	Недостатки данного способа
1	2	3	4
Визуальный	Визуальное наблюдение за поведением животных	Животные проявляют беспокойство, издают звуки, переступают с ноги на ногу, оглядываются, у них снижен аппетит. Самки проявляют поисковую реакцию на самца. Животные обнюхивают и облизывают эрогенные зоны (вымя, клитор, область паха), допускают прыжки на себя и спокойно стоят при этом – рефлекс неподвижности. В начальный период полового возбуждения	Невыявляемость половой охоты у животных с «тихой» охотой и у животных с большими конечностями

Продолжение табл. 1

1	2	3	4
		из половой щели истекает слегка беловатая слизь, иногда с белыми прожилками, которая к середине охоты становится прозрачной, а в конце охоты начинает слегка мутнеть и загустевать	
Рефлексо-логический	Использование быка-пробника (вазоэктомированного или с отведенным в сторону половым членом)	Животные допускают прыжки быка на себя, проявляют общую поисковую реакцию на самца	Применение пробника на привязи, которого подводят поочередно к привязанным коровам, нередко дает ошибки, т.к. часто стельные коровы принимают быка без заметного сопротивления и, наоборот, молодые телки отбивают пробника при наличии охоты
Вагинальный	Осмотр влагалища и шейки матки при помощи влагалищного зеркала	Наблюдается набухшая и покрасневшая слизистая оболочка влагалища, канал шейки расслаблен и приоткрыт, из него истекает слизь, которая скапливается на дне влагалища, а затем самотеком вытекает из половой щели.	Необходимость фиксации животного при осмотре. У некоторых животных, особенно молодых раскрытие шейки матки выражено не сильно. Кроме того, в зимние месяцы покрас-

Продолжение табл. 1

1	2	3	4
			нение стенок влагалища не всегда очевидно
Ректальный	Прощупывание яичников через прямую кишку (ректу) с целью определения степени развития предовуляторного фолликула	Зрелый фолликул четко выступает на поверхности яичника. При осторожном надавливании пальцем чувствуется движение фолликулярной жидкости (флюктуация), стенки фолликула мягко вдавливаются. Незрелый фолликул незначительно выступает на поверхности яичника и твердый на ощупь	Необходимость хорошей квалификации оператора и частых повто- рений манипу- ляций. Возможность разрыва фолликула и выхода яйце- клетки с ее дальнейшей утратой при неосторожной манипуляции с яичниками
Гормональный	Определение содержания гормона прогестерона в крови, моче или молоке животных	Содержание прогестерона	Необходимость наличия специальных реактивов. Кроме того, при персистентном желтом теле содержание прогестерона повышено, что часто интер- претируется как стельность
Электро- метрический	Измерение электрического сопротивления слизистой оболочки преддверия влагалища	Время максимального выделения слизи сопровождается понижением электрического сопротивления слизистой преддверия влагалища и часто совпадает с оптимальным временем	Снижение электрического сопротивления преддверия влагалища наблюдается при некоторых заболеваниях половых органов, после

Окончание табл. 1

1	2	3	4
		осеменения	мочеиспускания, при авитаминозе и др. Кроме того, приборы не всегда дают верные показания
Ультразвуковой	Ультразвуковое исследование степени развития предовуляторного фолликула	С помощью прибора для ультразвукового сканирования исследуют степень развития предовуляторного фолликула	Необходимость наличия дорогостоящей аппаратуры

Задание 2. Способы выявления половой охоты кобыл.

Цель: освоить способы выявления половой охоты у кобыл.

Время для плодотворного покрытия или осеменения кобыл определяют по изменению поведенческих реакций на пробе и уточняют по изменениям состояния половой сферы с учетом созревания фолликула, что выявляется клиническим исследованием. Характеристика этих изменений по периодам (фазам) физиологически полноценного полового цикла кобылы приведена в табл. 2.

Таблица 2

Периоды (фазы) полового цикла кобыл. Определение половой охоты у кобыл

Способы наблюдения	Характерные признаки и их принятые обозначения
1	2
I. Подготовительный период, или предохота (проэструс). Продолжительность от 3 до 5 дней	
Визуально на пробе	Н – охоты нет; кобыла индифферентна к жеребцу. Прижимает уши и может ударить задними ногами. ОХ – начало охоты; кобыла подпускает жеребца, обнюхивает его, не проявляя других признаков охоты, и бьет задними ногами
Вагинально	1-я степень течки (+) – слизистая бледно-розовая,

Продолжение табл. 2

1	2
	слизь прозрачная, густая. Шейка матки немного укорочена, расширена, канал закрыт (форма соска)
Ректально	<p>Ф0 – яичник в покое. Форма его бобовидная, размеры в среднем: длина 5 - 7 см, ширина – 3 см, толщина – 3 см, консистенция плотно-эластичная, фолликула нет.</p> <p>Ф1 – начало созревания фолликула. Яичник в форме неправильного боба вследствие увеличения одной его доли, в которой начинает созревать фолликул, прощупываемый в виде небольшого размягчения</p>
<p>II. Охота (эструс). Наружные признаки полового влечения достигают наибольшего развития; происходит развитие фолликула и яйцеклетки, выход ее (овуляция) из яичника в яйцевод. Продолжительность – в среднем 5 - 7 дней с колебаниями от 2 до 14</p>	
Визуально на пробе	<p>ОХ2 – кобыла подпускает жеребца, обнюхивает его, уклоняется от попытки жеребца сделать садку.</p> <p>ОХ3 – кобыла подпускает жеребца, мочится. Позволяет жеребцу сделать садку.</p> <p>ОХ4 – кобыла активно стремится к жеребцу, при обнюхивании её поворачивается к жеребцу задом. При попытке увести от жеребца сопротивляется, при садке стоит спокойно</p>
Вагинально	<p>2-я степень течки (++) – слизистая влагилица розово-красная, набухшая, гладкая и блестящая. Слизь обильная, жидкая и прозрачная. Шейка матки теряет форму соска, становится короче и шире, канал раскрыт на ширину 1 - 2 пальцев.</p> <p>3-я степень течки (+++) – слизистая ярко-розовая, гладкая, скользкая. Шейка матки короткая и широкая, похожа на розетку; мускулатура ее попеременно сокращается и расслабляется; канал раскрыт на ширину двух пальцев.</p> <p>4-я степень течки (+++++) – слизистая розово-красная гладкая, глянцевая. Слизь много, она прозрачная, тягучая. К овуляции слизь мутнеет. Шейка матки раскрыта на 3 - 4 пальца</p>

Продолжение табл. 2

1	2
Ректально	<p>Ф2 – зреющий фолликул. Яичник увеличивается в размере, принимает грушевидную форму; в фолликуле прощупывается слабое зыбление жидкости (флюктуация).</p> <p>Ф3 – фолликул почти созрел. Яичник еще более увеличен, имеет грушевидную форму; фолликул шарообразный, ясно флюктуирует.</p> <p>Ф4 – фолликул созрел. Имеет форму шара, напряженно флюктуирует, стенки его сильно истончены (по консистенции напоминает куриное яйцо без скорлупы).</p> <p>ОВ – овуляция. Напряженность стенок фолликула ослабла, при осторожной пальпации размер фолликула уменьшается; после окончания овуляции яичник сильно уменьшается в размерах; место, где развивается фолликул, мягкое, дряблое, складчатое, флюктуации нет</p>
III. Затухание и окончание половой охоты (метаэструс). Продолжительность от 2 до 3 дней	
Визуально на пробе	В силу понижения полового влечения кобыла начинает оказывать сопротивление жеребцу
Вагинально	Гиперемия слизистой влагалища снижается. Количество слизи уменьшается. Шейка матки закрыта
Ректально	ЖТ – желтое тело. На месте созревшего фолликула образуется желтое тело. Оно имеет форму неправильного, сплюснутого с боков шара диаметром до 2 - 4 см, мягко-упругой консистенции
IV. Половой покой (диэструс). Продолжительность от 8 до 22 дней	
Визуально на пробе	Н – охоты нет; кобыла не подпускает к себе жеребца и не проявляет никаких признаков охоты. При приближении жеребца стремится уйти, прижимает уши, бьет задом, может укусить. Половая щель закрыта. Истечений из влагалища нет
Вагинально	Слизистые бледные или бледно-розовые, матовые или полуматовые (неблестящие), слегка мелкоскладчатые, безболезненные. Слизь в умеренном или малом количестве (сухость слизистой оболочки) почти бесцветная,

Окончание табл. 2

1	2
	полупрозрачная, слегка вязкая, легко и быстро смывается с руки, без запаха, не тягучая. Шейка матки конусовидная (сосок), мягкоупругая, слабо эректирует
Ректально	Ф0 – яичник в покое. Форма его бобовидная, консистенция плотно-упругая, никаких размягчений нет. Флюктуация отсутствует, фолликула нет

Занятие 3. Способы выявления половой охоты свиней.

Цель: освоить способы выявления половой охоты у свиней.

Наиболее точным признаком готовности самки к спариванию и оптимальным сроком осеменения является период половой охоты при наличии течки и полового возбуждения.

До сих пор единственным достаточно приемлемым способом выявления половой охоты у свиней является рефлексологический способ, который должен быть подтвержден вагинальным исследованием. Гормональный способ применяется как вспомогательный тест (табл. 3).

Таблица 3

Способы выявления половой охоты у свиней

Способы выявления	Применяемые вспомогательные средства	Наблюдаемые явления при наличии половой охоты	Недостатки данного способа
1	2	3	4
Рефлексологический	Использование хряка-пробника (с подвязанным фартуком или с отведенным в сторону	Животные допускают прыжки хряка-пробника и других самок на себя, проявляют общую поисковую реакцию на	При малых размерах самок и больших размерах самца некоторые

Продолжение табл. 3

1	2	3	4
	половым членом)	самца. Подтверждением наличия половой охоты является безусловное проявление рефлекса неподвижности. Если свиноматке в охоте положить руку на спину и поясницу, она успокаивается и остается неподвижной. Так как начало охоты можно установить при индивидуальном контакте одной (а не многих) свиноматки, рекомендуется иметь отдельный дворик, куда можно было бы загнать свиноматку и хряка. Не рекомендуется пускать хряка в станок, где находится несколько свиноматок, а тем более в выгульные дворики, где одновременно содержится группа свиней. Не следует прогонять хряка по проходу свинарника, так как на хряка реагируют многие матки и даже вне течки, а для осеменения необходимо установить время начала охоты (рефлекса неподвижности)	самки плохо стоят, стремятся уйти

Окончание табл. 3

1	2	3	4
Вагинальный	Осмотр наружных половых органов, влагалища и шейки матки при помощи влагалищного зеркала	Наблюдается набухшая и покрасневшая слизистая оболочка влагалища, из канала шейки истекает слизь, которая скапливается на дне влагалища, вытекающая произвольно из половой щели. Наружные половые органы сильно гиперемизированы (налиты кровью), иногда до «синюшности»	Необходимость фиксации животного при осмотре

Контрольные вопросы:

1. Как определить оптимальный срок осеменения самок?
2. В чем заключается визуальный способ выявления охоты самок?
3. В чем заключается рефлексологический способ выявления охоты самок?
4. В чем заключается ректальный способ выявления охоты самок?
5. Перечислите способы выявления охоты у свиней.

Лабораторная работа № 1.2. Оценка спермы по внешним признакам

Цель занятия: освоить методы оценки спермы.

Приборы и материалы: микроскопы, нагревательные столики Морозова, предметные и покровные стекла, термометры, мерные цилиндры на 10-15 мл, стеклянные палочки, воронки, сливные чашки, горячая и холодная вода, марлевые салфетки, окошко Фонио.

Задание 1. Изучить анатомическое строение спермия.

У спермия различают головку, шейку, тело и хвост. Головка является

носителем наследственной информации. Шейка, тело и хвост – двигательная часть спермия.

Приготовление раздавленной капли. На чистое предметное стекло нанести стеклянной палочкой каплю исследуемой спермы, накрыть покровным стеклом. Капля должна быть среднего размера. Если капля слишком маленькая, то под покровным стеклом останутся свободные промежутки или образуются пузырьки воздуха, что будет затруднять исследование. Если капля очень большая, сперма вытекает из-под покровного стекла.

Сперма очень чувствительна к температурным колебаниям. При резком ее охлаждении наступает холодовой удар (температурный шок), движение спермиев прекращается, значительная часть их погибает. Чтобы не допустить этого, работу со спермой следует проводить в помещении с температурой 18-25°C. Если температура ниже 18°C, необходимо пользоваться специальным термостатом или обогревательным столиком. Исследование на подвижность спермы, охлажденной до 0°C, проводят обязательно при температуре 38-40°C в термостате или на обогревательном столике.

Порядок работы. Подготовить к работе микроскоп, обогревательный столик Морозова. Приготовить раздавленную каплю спермы быка.

При наблюдении под микроскопом за двигающимися и вращающимися вокруг продольной оси спермиями можно видеть, что головка представляет собой вогнуто-выпуклую пластинку овальной формы, несколько суженную со стороны шейки. Короткой и тонкой шейкой головка прикреплена к телу спермия; длина его вдвое больше, чем головка. Внутри шейки, тела и хвоста спермия проходит осевая нить, состоящая из 2 центральных фибрилл и окружающих их 9 тонких фибрилл. В теле спермия параллельно тонким фибриллам расположено наружное кольцо из 9 грубых фибрилл. В хвосте грубые фибриллы отсутствуют. Конец хвоста свободен от оболочки.

Зарисовать спермии.

Задание 2. *Ознакомиться с органолептическими показателями спермы здоровых производителей разных видов животных.*

Характеристика состава спермы у разных животных представлена в табл. 4.

Объем эякулята определяют по делениям мерной пробирки или мензурки, в которые переливают эякулят. Предварительно их подогревают до 25-30°C.

Объем эякулята быка и барана можно определить также при помощи теплой стерильной пипетки или шприца.

Для определения объема эякулята жеребца и хряка полученную сперму процеживают через сложенную вдвое или вчетверо стерильную марлевую салфетку. На марле остается густой, тягучий секрет пузырьковидных желез. Его объем учитывают отдельно. Так как этот секрет снижает жизнеспособность спермиев при хранении, затрудняет работу со спермой и при искусственном осеменении не нужен, его выбрасывают.

У производителей одного вида животных и даже у одного и того же самца объем эякулята подвержен колебаниям, связанным с условиями кормления, содержания и режима полового использования.

Цвет спермы характерен для производителей каждого вида сельскохозяйственных животных и зависит главным образом от насыщенности спермы сперматозоидами. В норме сперма быка белая, иногда желтоватая. Сперма барана белая с желтоватым оттенком. Сперма жеребца и хряка серовато-белая (наподобие цвета молока, сильно разбавленного водой).

Изменение цвета спермы свидетельствует о наличии в ней примесей, снижающих ее качество. Розовый или красноватый цвет эякулята (примесь крови) свидетельствует о наличии свежей травмы половых органов самца. При давней травме эякулят имеет буро-красный цвет.

Иногда у производителей во время эрекции могут происходить разрывы мелких капилляров уретрального канала, сперма при этом окрашивается свежей кровью в красный цвет.

Зеленоватый цвет спермы указывает на наличие в ней гноя. Интенсивно желтый цвет бывает при попадании в эякулят мочи.

Запах спермы. Обычно сперма не имеет особого, специфического запаха. У быка она иногда может пахнуть парным молоком, у барана – жиропотом. Наличие несвойственного запаха (гнилостного) указывает на какой-либо патологический процесс в половых органах самцов. Например, запах аммиака указывает на попадание мочи в сперму.

Консистенция. Нормальная консистенция спермы быка – сливкообразная, барана – сметанообразная, жеребца – водянистая, часто с примесью слизи, хряка – водянистая со студенисто-клейкими зернами (секрет куперовых желез). При воспалении пузырьковидных желез в сперме бывают хлопья.

Если внешние признаки эякулята значительно отклоняются от нормальных показателей, такую сперму не используют.

Таблица 4

Сравнительная характеристика состава спермы у различных видов животных

Вид животного	Объем эякулята, мл	Спермии, % от объема эякулята	Секрет придатка семенника, %	Секрет пузырьково-видных и луковичных желез, %	Секрет предстательной железы, %
Баран	1	30	50-60	10-20	10-20
Хряк	300	7	2	18-26	60-70
Бык	5	14	10	30-40	5-6
Жеребец	100	1,8	10	80	23
Кобель	15	10	10-20		60-80
Кот	0,2	15	10-20		60-70

Задание 3. Записать порядок визуальной оценки спермы по ее активности.

Каплю хорошо перемешанного эякулята наносят на предметное стекло и

покрывают покровным стеклом. В окуляр $\times 10$ вкладывают окошко Фонио. Подсчитывают 100 сперматозоидов с объективом $\times 40$, отмечая количество активноподвижных (нормокиноспермия), малоподвижных (гипокиноспермия) и неподвижных (акиноспермия) сперматозоидов. Если сперматозоидов мало, подсчет проводят без окошка Фонио. Оценку спермы по подвижности спермиев проводят по десятибалльной системе. Оценка спермы в баллах отражает процент подвижных спермиев.

Наивысшую оценку – 10 баллов дают сперме в том случае, если все спермии обладают поступательным движением; при оценке 9 баллов 9 спермиев из 10 обладают прямолинейно поступательным движением, при оценке 6 баллов – 6 из 10 и так далее.

В норме количество сперматозоидов с нормальной подвижностью составляет более 50%, малоподвижных с поступательным движением – менее 50%, неподвижные отсутствуют. Дискинезия – маятникообразное или манежное движение – в норме наблюдается примерно у 2% сперматозоидов.

При комнатной температуре сперматозоиды сохраняют подвижность 12-24 ч, при этом в первые 2 ч подвижность не снижается, но к концу 5-го часа уменьшается примерно в 2 раза. Исследование нативного препарата дает ориентировочное представление о количестве сперматозоидов в эякуляте, присутствии клеток сперматогенеза, лейкоцитов, эритроцитов и агглютинации сперматозоидов.

Для искусственного осеменения используют свежеполученную и сохраненную при 0°C сперму производителей с подвижностью в баллах: баран – 10-8; бык – 10-8; жеребец – 10-6; хряк – 10-7.

Сперма быка, хранившаяся при температуре -196°C в жидком азоте, должна иметь активность не ниже 3 баллов.

Лабораторная работа № 1.3. Определение концентрации спермиев в счетных камерах

Цель занятий: определить концентрацию спермиев в сперме и дать

заклучение.

Приборы и материалы: микроскоп, счетная камера Горяева, предметные и покровные стекла, лейкоцитарный и эритроцитарный меланжеры, стеклянные палочки, 3%-й раствор хлористого натрия, 96%-й спирт, дистиллированная вода, салфетки.

Концентрацию спермы определяют в 1 см³ (табл. 5).

Концентрация спермы подвержена значительным колебаниям в зависимости от кормления, условий содержания и эксплуатации производителей. В среднем концентрация спермиев в 1 мл спермы производителей сельскохозяйственных животных составляет: барана – 1 млрд; быка – 2-3 млрд; жеребца – 100-150 млн; хряка – 100-200 млн.

К разбавлению в искусственных средах допускается сперма с минимальной концентрацией спермиев: барана – 1,0 млрд; быка – 0,7 млрд; жеребца – 0,15 млрд; хряка – 0,1 млрд.

Спермии подсчитывают в счетной камере, применяемой для определения числа форменных элементов крови (с сеткой Горяева, Томма или Бюркера).

Ход работы. Камеру и покровное стекло предварительно моют и обезжиривают спиртом. Затем сетку счетной камеры накрывают покровным стеклом и притирают его к опорным пластинам камеры до появления радужных колец.

При работе со свежеполученной спермой быка используют эритроцитарный меланжер. Верхний конец меланжера соединяют с резиновой трубкой. Через нее в меланжер набирают сперму до метки 1,0. С конца меланжера салфеткой снимают каплю спермы, а затем набирают до верхней метки (101) 3%-й раствор хлористого натрия (таким образом проводят разбавление в 100 раз).

Разбавленную сперму исследуют с помощью лейкоцитарного меланжера. Сперму набирают до метки 1,0, затем разбавляют 3%-м раствором хлорида натрия до метки 11, т.е. в 10 раз. Зажимают пальцами оба

конца смесителя и встряхивают в течение 2-3 мин до полного смешения спермы с раствором.

Счетную камеру заряжают разбавленной спермой сразу же после перемешивания. Задержка может привести к грубым ошибкам при подсчете, так как сперматозоиды быстро оседают.

Первые 2-3 капли из меланжера выпускают, чтобы удалить раствор из капилляра, где он почти не смешивается со спермой. Следующую каплю пускают под край притертого стекла. Капля вследствие капиллярности втягивается под покровное стекло на сетку, и смесь равномерно распределяется в камере. Неправильно заряженной камеру считают в том случае, если под покровным стеклом оказались пузырьки воздуха.

Заряженную камеру кладут на столик микроскопа в строго горизонтальном положении. Сначала отыскивают сетку под малым (120 раз) увеличением, затем переводят на большое (в 300-600 раз). В поле зрения должен помещаться один большой квадрат сетки.

Подождав 2-3 мин, пока сперматозоиды осядут, приступают к их подсчету. Спермии подсчитывают в 5 больших квадратах (80 малых) по диагонали. Считают головки спермиев внутри малых квадратов, а также на левых и верхних линиях.

Результаты подсчета суммируют. Концентрацию определяют по формуле:

$$K = (n * D * 400 * 1000) / (80 * 0,1),$$

где K – концентрация спермиев (млрд) в 1 мл спермы;

n – количество спермиев, подсчитанных в 80 малых (5 больших) квадратах;

D – степень разбавления спермы.

Цифры – постоянные величины: 400 – число малых квадратов на площади в 1 мм²; 1000 – число перевода на миллилитр (мл); 80 – количество малых квадратов; 0,1 – глубина камеры (мм).

Для более точного определения концентрации спермиев подсчет следует

вести дважды и при вычислении брать средний показатель. Расхождение результатов не должно быть более 10%. Если разница превышает 10%, подсчет спермиев повторяют третий раз и берут среднее из двух подсчетов, расходящихся не более чем на 10%.

Таблица 5

Концентрация спермиев в эякуляте различных видов животных

Показатель	Бык	Баран	Жеребец	Хряк	Кобель
Концентрация спермиев в 1 мм ³	До 2 млн	2-5 млн	50 тыс.- 1 млн	50-250 тыс.	60 тыс.
Количество спермиев во всем эякуляте, млрд	3-5	8	15	50	18
pH	6,2-7,0	6,7-7,8	6,9-7,2	6,5-7,5	6,7-7,8
Цвет	Бело-желтый	Желтый	Водянистый	Серо-желтый	Светло-желтый
Объем эякулята, мл	3-6	1-2	50-200	250-500	2-15

После завершения оценки спермы и спермиев провести анализ сделанной работы и дать заключение.

Лабораторная работа № 1.4. Определение резистентности спермиев

Цель занятий: определить резистентность спермиев быка и дать заключение.

Приборы и материалы: микроскоп, предметные и покровные стекла, микропипетка на 0,02 мл, градуированные пипетки на 1 и 10 мл, комплект из 2 флаконов на 20 мл каждый, стеклянные палочки, 1%-й раствор химически чистого хлористого натрия, салфетки.

Спермии в извитых канальцах семенников приобретают плотную

клеточную оболочку. Проходя по длинному каналу придатка семенника, спермии покрываются липидной оболочкой. Она выполняет защитные функции, предохраняя сперматозоиды от неблагоприятного воздействия факторов внешней среды, а также придает спермиям отрицательные одноименные электрические заряды. Чем устойчивее эта оболочка, тем более жизнеспособны спермии, тем лучшего качества сперма.

Определение резистентности спермиев к многократному разбавлению проводится по методу Смирнова – Поставной.

Ход работы. Работу проводят при температуре 18-22°C.

Во флакон № 1 микропипеткой вносят 0,02 мл испытуемой спермы и малыми порциями добавляют 10 мл 1%-го раствора хлорида натрия, перемешивая смесь круговыми движениями. Остатки спермы из канала микропипетки смывают во флакон. Стеклопалочкой каплю смеси наносят на предметное стекло и исследуют на активность спермиев под малым увеличением микроскопа без покровного стекла.

Если спермии неподвижны, то резистентность менее 500 ($10 \text{ мл} : 0,02 \text{ мл} = 500$).

При наличии спермиев с поступательным движением 0,5 мл смеси из флакона № 1 переносят во флакон № 2 и доливают 0,5 мл 1%-го раствора хлорида натрия. Каплю исследуют на активность спермиев. Если спермии мертвые, резистентность составляет не более 1000.

Если спермии двигаются поступательно, во флакон № 2 наливают еще 1 мл раствора хлорида натрия. При добавлении каждой новой порции раствора резистентность увеличивается на 1000. Добавление раствора проводят до тех пор, пока не прекратится поступательное движение спермиев.

Считается пригодной для осеменения животных сперма быка и барана с резистентностью спермиев не менее 10-40 тыс.

Провести работу и дать заключение о резистентности спермиев.

Лабораторная работа № 1.5. Оценка спермы по интенсивности дыхания

Цель занятий: оценить интенсивность дыхания спермиев и дать заключение.

Приборы и материалы: микроскоп, стеклянная трубка диаметром 0,8-1,0 мм (можно использовать трубку от шприца-катетера), предметные стекла, 2 глазные пипетки, стеклянные палочки, песочные часы, 0,01%-й раствор метиленовой синьки, белая бумага, салфетки.

Активность спермы оценивают по скорости обесцвечивания (восстановления) метиленовой синьки, смешанной со спермой (методика Н.П. Шергина) (табл. 6).

При дыхании спермии потребляют кислород, растворенный в смеси, в результате этого синька обесцвечивается. Интенсивность дыхания зависит от концентрации и активности спермиев.

Спермии, способные к прямолинейно-поступательному движению, имеют более высокую активность жизненных процессов и дыхания.

Таблица 6

Оценка метаболической активности спермы по Н.П. Шергину

Оценка метаболической активности спермы	Скорость обесцвечивания спермы, мин				
	Жеребец	Хряк	Баран	Бык	Кобель
Хорошая	4-9	4-9	3-7	5-10	5-10
Средняя	12-17	12-17	8-12	11-30	11-30
Плохая	Более 18	Более 18	Более 12	Более 30	Более 30

Следовательно, чем выше концентрация спермиев и чем большее их

количество способно к прямолинейно-поступательному движению, тем быстрее расходуется кислород, и тем быстрее происходит обесцвечивание метиленовой синьки спермиями. Такая сперма относится к категории высокого качества.

Оценку качества свежеполученной спермы по скорости обесцвечивания метиленовой синьки проводят при температуре 18-22°C, т.к. понижение температуры замедляет интенсивность энергетических процессов и дыхания спермиев. При снижении температуры на 10°C интенсивность дыхания уменьшается примерно вдвое, а при 0°C – почти прекращается.

Ход работы. На предметное стекло глазной пипеткой нанести по одной капле краски и спермы и быстро смешать их стеклянной палочкой. Смесь набрать в стеклянную трубочку, чтобы столбик ее был длиной около 2 см. Трубку положить на лист белой бумаги и наблюдать за обесцвечиванием синьки. Обычно она обесцвечивается в середине столбика. На концах столбика могут оставаться голубые кольца, т.к. с концов смесь постоянно обогащается кислородом воздуха.

Лабораторная работа № 1.6. Определение процента живых спермиев

Цель занятий: определить процентное соотношение живых спермиев.

Приборы и материалы: микроскоп, обезжиренные предметные стекла, шлифованные покровные стекла, пипетки, стеклянные палочки, раствор эозина, 96%-й спирт, салфетки.

Оболочка спермиев, у которых энергично протекают обменные процессы, не пропускает в протоплазму лабораторные краски, поэтому живые спермии не окрашиваются. Мертвые и ослабленные, имеющие колебательные движения спермии легко пропускают краску внутрь и, следовательно, окрашиваются этой краской. Наличие в сперме мертвых и патологически измененных спермиев снижает её качество.

Наличие в сперме патологических (уродливых) форм спермиев выше допустимого называется тератоспермией. Выделяют две группы патологических форм спермиев: 1) с изменением величины и формы головки – гигантские, карликовые, двухголовые, с круглой, грушевидной головкой и др.; 2) с изменениями формы хвоста. Можно также обнаружить спермии с утолщением в области шейки, тела и хвоста в виде протоплазматической капли (незрелые сперматозоиды).

Ход работы. На обезжиренное предметное стекло нанести 1 каплю семени и 1-2 капли краски эозина. Капли смешать и ребром шлифованного стекла сделать тонкий ровный мазок. Он должен быстро высохнуть на воздухе. Активные спермии, сохранившие избирательную способность мембран, отталкивают краску и не окрашиваются, неактивные окрашиваются в красный или розовый цвет.

Просмотреть мазок под микроскопом. В каждом поле зрения следует подсчитать количество нормальных и патологических или живых и мертвых спермиев. Рекомендуется подсчитать не менее 500 спермиев.

Затем вычисляют процент неактивных спермиев, он не должен превышать у барана – 14, быка – 18, у жеребца и хряка – 20%.

Лабораторная работа № 1.7. Вагинальная цитология

Определение времени вязки у сук

Вагинальная цитология проводится с целью определения стадии полового цикла, сроков вязки и родов и для установления отклонений в эстральном цикле. К сожалению, с помощью этого метода невозможно определить сроки овуляции.

Цель работы: определить готовность к вязке у суки.

Материалы и оборудование: вата, шпатель, метиловый спирт, перчатки, стекла предметные, краски Дифф-Квик или Майн-Грюнвальда, или метиленовая синь, или Романовского.

Ход работы. Ватный тампон, пропитанный физиологическим раствором, ввести во влагалище и сделать мазок (рис. 1). Необходимо избегать касания клитора, ямки клитора и кожи, так как в этих областях содержатся клетки, которые могут помешать интерпретировать результаты. Затем тампон аккуратно прокатывают по предметному стеклу, делая несколько продольных мазков.

Для окраски препаратов можно пользоваться различными красителями. Для окраски препаратов можно использовать краситель Дифф-Квик, метиленовый синий и другие красители. Препарат необходимо высушить, затем зафиксировать метанолом в течение 1 мин и нанести краску. В мазке можно обнаружить следующие клетки.



Рис. 1. Предметное стекло, по поверхности которого был прокатан ватный тампон, извлеченный из влагалища суки. Видны два продольных мазка

Парабазальные клетки имеют округлую или слегка овальную форму с небольшим количеством цитоплазмы и большим ядром (рис. 2).

Промежуточные клетки — гладкие, округлые или овальные, имеют неровные очертания. Клетки содержат везикулы, ядро, которое по своим размерам меньше, чем ядро парабазальных клеток. Размер этих клеток весьма разнообразен. Они могут быть слегка крупнее парабазальных клеток, а могут превышать их по величине в 2 раза (рис. 3).

Поверхностные клетки — это мертвые клеточные элементы, которые выстилают влагалище суки во время эструса. Это самые крупные влагалищные клетки. Они имеют заостренную форму, мелкие, сморщенные, частично лизированные ядра или вообще не содержат ядер (рис. 4).

Поверхностные промежуточные клетки имеют относительно нормальное ядро, но в целом по внешнему виду являются типичными

поверхностными клетками (рис. 5).

Безъядерные клетки – чешуйки – крупные, мертвые, неправильной формы клетки, не содержащие ядер. Они представляют собой конечную фазу отмирания, которая начинается уже в парабазальных клетках. Эти клетки называют полностью ороговевшими или полностью кератинизированными клетками (рис. 6).

Метэстральные клетки – обычно крупнее промежуточных клеток. В их цитоплазме часто находят нейтрофилы. Метэстральные клетки, как правило, обнаруживаются в начале диэструса. Очень редко такие клетки встречаются в начале проэструса (рис. 7).

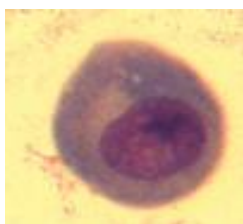


Рис. 2. Парабазальная клетка

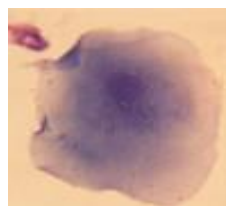


Рис. 4.
Поверхностная
клетка с пикноти-
ческим ядром

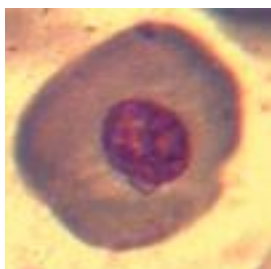


Рис. 3. Промежуточная клетка

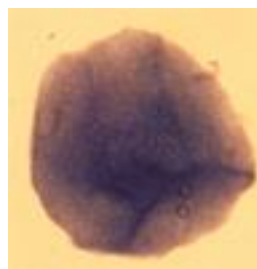


Рис. 6. Поверхностная
(клетка - чешуйка)



Рис. 7. Метэстральная
клетка

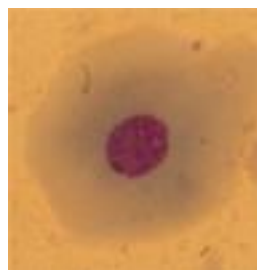


Рис. 5.
Поверхностная
промежуточная
клетка

**Цитологические изменения влагалища сук на разных стадиях
эстрального цикла**

Клетки / Стадия цикла	Проэструс	Эструс	Диэструс
Парабазальные клетки	+	-	+
Промежуточные клетки	+	Редко	+
Поверхностные промежуточные клетки	+/- Появляются ближе к концу	+	+/-
Поверхностные клетки	Редко, чаще появляются в конце	Более 80-90 %	Редко
Эритроциты	+	+/-	+/-
Лейкоциты	+	-	++/+

Цитологические изменения влагалища сук на разных стадиях эстрального цикла показаны в табл. 7.

Во время проэструса парабазальные, промежуточные и некоторые поверхностные клетки отторгаются (рис. 8). В мазке в этот период обнаруживают эритроциты, лейкоциты и бактерии. При приближении эструса отмечается значительное повышение эпителиальных клеток и снижение содержания лейкоцитов. Во время эструса преобладают поверхностные клетки (рис. 9, 10). Они составляют более 90% отторгающихся эпителиальных клеток. Могут обнаруживаться эритроциты и внеклеточные бактерии. Лейкоциты в период эструса отсутствуют, за исключением случаев, когда имеет место сопутствующий воспалительный процесс.

Во время диэструса в мазке наблюдается преимущество парабазальных

и промежуточных клеток (рис. 11-13). Слои поверхностных клеток могут отмечаться в начале диэструса. Появляются лейкоциты. Подобные изменения отмечаются во время эстрального цикла и у кошек, но у них редко обнаруживают эритроциты и лейкоциты.

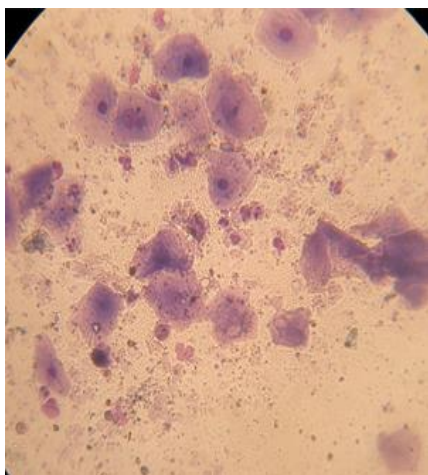


Рис. 8. Проэструс. Большое кол-во нейтрофилов, эритроцитов, появляются поверхностные клетки (x40)

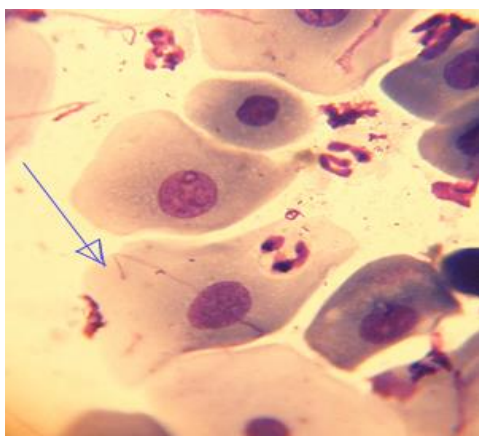


Рис. 11. Диэструс. Стрелкой указана метэстральная клетка (x100)

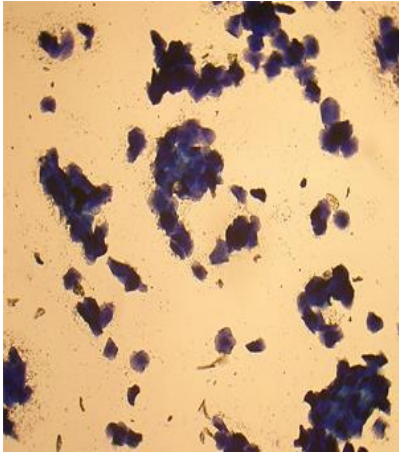


Рис. 9. Эструс. Более 80% поверхностных клеток (x10)

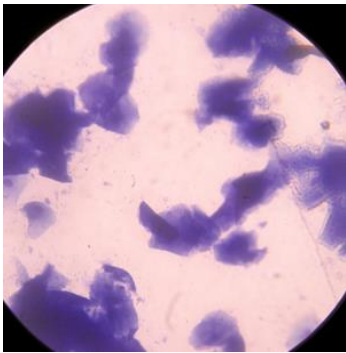


Рис. 10. Эструс (x40)

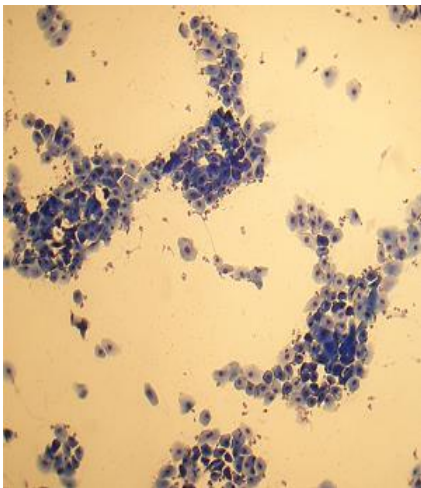


Рис. 12. Диэструс. Поверхностные клетки составляют менее 20% (x10)

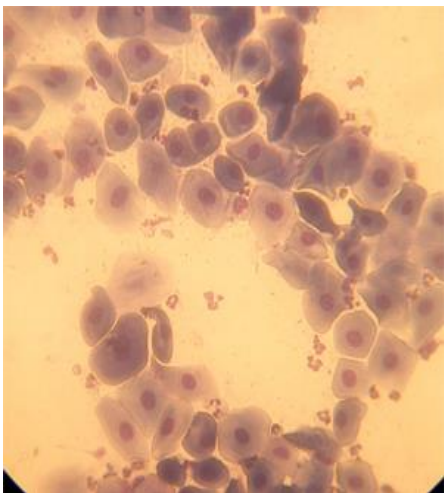


Рис. 13. Диэструс (x40)

Подготовка собак к вязке

Для вязки подбирают только здоровых животных.

Определяют первый день эструса, начиная в ранний период течки (на третий день проэструса). Наблюдают каждый день за поведением суки (провоцируя ее самцом) и/или проводят регулярное вагинальное цитологическое исследование. Для более точного определения времени овуляции и дат вязки можно определять содержание прогестерона в сыворотке крови. За 24-48 ч до предовуляционного выброса ЛГ концентрация прогестерона поднимается выше 1,0 нг/мл. Спустя 2 дня (во время овуляции) концентрация прогестерона составляет 4-10 нг/мл.

Как только поверхностные клетки в мазках достигнут 80% от всего количества эпителиальных клеток, суку считают готовой к вязке.

РАЗДЕЛ 2. ФИЗИОЛОГИЯ ЛАКТАЦИИ

Лабораторная работа № 2.1. Определение жирности молока

Цель занятий: определить жирность молока в исследуемых образцах.

Материалы и оборудование: молоко (свежее), мерная колба,

концентрированная серная кислота, изоамиловый спирт, центрифуга, жиросмер.

Ход работы. Чтобы определить содержание жира в молоке, в качестве растворителя применяют концентрированную серную кислоту. Для более полного выделения освободившегося от оболочек жира используют изоамиловый спирт. При последующем центрифугировании смеси жир, как наиболее легкая составная часть, концентрируется в градуированной шкале стеклянного прибора – жиросмера.

Если молоко исследуется вскоре после отбора, то его хорошо перемешивают, переворачивая до 6 раз закрытые бутылочки с пробами. При этом не допускают образования пены, которая приводит к неправильному отмериванию. Особенно тщательно подготавливают пробы долго стоявшего молока.

Иногда их прогревают в воде, чтобы смыть жировой слой, приставший к стенкам бутылочки, а затем перемешивают. В штатив устанавливают нужное количество пронумерованных жиросмеров. Нумеруют жиросмеры путем загибания вокруг шкалы жестяных пластинок с высеченными номерами.

В каждый жиросмер отмеривают дозатором 10 мл серной кислоты. Потом отбирают пипеткой 10,78 мл хорошо перемешанного молока. Осторожно по стенке вливают молоко в жиросмер. Во избежание преждевременного разогревания слой молока должен расположиться над слоем кислоты. При этом конец пипетки не должен касаться серной кислоты.

Отмеривают дозатором 1 мл изоамилового спирта, стараясь не смочить горлышко жиросмера, что в последующем может привести к выскакиванию пробки.

Заполненные жиросмеры закрывают резиновыми пробками и вставляют в центрифугу, привинчивают крышку центрифуги и центрифугируют 5 мин со скоростью около 1000 об/мин. По окончании центрифугирования жиросмеры на 5 мин устанавливают пробками вниз в водяную баню при 65°C.

Вынув жиромер из бани и осушив его салфеткой, отсчитывают количество жира по шкале.

Лабораторная работа № 2.2. Исследование молочного жира под микроскопом

Жир в молоке находится в виде стойкой эмульсии, которая обусловлена главным образом наличием белковой оболочки вокруг капелек жира.

Силы поверхностного натяжения придают капелькам жира форму шариков, диаметр которых равен в среднем 3-4 мкм, с колебаниями от 0,5 до 20 мкм. Количество жировых шариков колеблется от 2 до 6 млн в 1 мм³ цельного молока.

Материалы и оборудование: молоко (свежее), микроскоп, стаканчики на 50-100 мл, мерная колба на 250 мл, пипетки на 1 и 5 мл, предметные и покровные стекла, камера Горяева, стеклянная палочка, дистиллированная вода.

Рассмотрение молочного жира под микроскопом

Ход работы. Разбавить дистиллированной водой в стаканчике 5 мл молока в 4-5 раз. Стеклянной палочкой перенести каплю разбавленного молока на предметное стекло, накрыть его покровным стеклом и рассматривать капельки жира под микроскопом. Видны жировые шарики неодинакового размера (рис. 14).

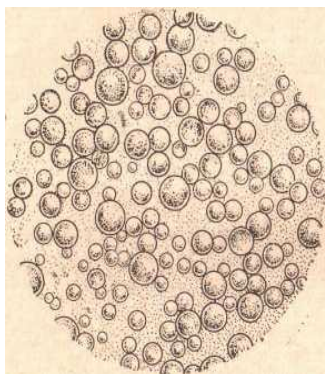


Рис. 14. Жировые шарики молока под микроскопом

Подсчет жировых шариков под микроскопом

Ход работы. Налить в мерную колбу до половины дистиллированной воды.

Тщательно перемешать молоко (не образуя пены) и перенести пипеткой 1 мл молока в колбу. Добавить воды до метки и взболтать содержимое колбы.

Не давая жировым шарикам отстаиваться, перенести каплю разбавленного молока на сетку камеры, накрыть ее покровным стеклом и легким нажимом на края притереть стекло к сетке.

Произвести подсчет жировых шариков молока по следующей методике: свежесвыдоенную порцию молока в количестве 1 мл наливают в мерный стакан, развести ее дистиллированной водой до 200 мл и смешать. В счетную камеру Горяева внести каплю разбавленного молока и накрыть ее покровным стеклом. Камеру поместить на столик микроскопа и подсчитать в ней жировые шарики в 5 больших квадратах, расположенных по диагонали (каждый из которых расчерчен на 16 маленьких). Полученную сумму умножить на 12500.

Лабораторная работа № 2.3. Определение молочного сахара

Наличие в молоке лактозы, отсутствующей в крови, является одним из показателей того, что в молочной железе протекают процессы синтеза. В молоке содержится 4,6 - 4,8% сахара, который по питательной ценности не уступает свекловичному. Он легко усваивается и способствует нормальному росту и развитию новорожденного животного.

Материалы и оборудование: молоко свежее, мерный цилиндр на 50 мл, пипетка на 10 мл, коническая колба на 100-150 мл, воронка с фильтром,

бюретка, уксусная кислота (2-3%-й раствор), дистиллированная вода.

Ход работы. Отмерить в колбу 10 мл молока и 50 мл дистиллированной воды. Приливать по каплям уксусную кислоту из бюретки до выпадения хлопьев казеина. Отфильтровать выпавший осадок.

Вскипятить 6-7 мл прозрачного фильтрата: через некоторое время появится муть, а затем выпадут хлопья альбумина и глобулина. Отфильтровать выпавший осадок в пробирку и с полученным безбелковым фильтратом проделать пробу Троммера.

Проба Троммера

Моносахариды и более сложные сахара, содержащие свободную альдегидную или кетонную группу, восстанавливают металлы в щелочной среде.

Реакция Троммера основана на восстановлении окисной меди в закисную.

Материалы и оборудование: штатив с пробирками, пипетки, горелка, глюкоза (10%-й раствор), сахароза (10%-й раствор), едкий натр (10%-й раствор), медный купорос (1%-й раствор).

Ход работы. Взять 2 мл фильтрата, прибавить 1 мл 10% раствора едкого натрия и по каплям раствор медного купороса до исчезающего голубого окрашивания. Содержимое пробирки нагреть. При нагревании синий цвет гидрата окиси меди переходит в желтый цвет гидрата закиси меди. При дальнейшем нагревании желтый цвет переходит в красный цвет – образуется безводная закись меди (Cu_2O).

Следует избегать избытка медного купороса, который может маскировать реакцию, так как избыток гидрата окиси меди при нагревании переходит в безводную окись меди черного цвета. При нагревании второй пробирки желтой и красной окраски не появляется, так как в сахарозе отсутствуют свободные альдегидные группы, обуславливающие реакцию восстановления.

Лабораторная работа № 2.4. Определение титруемой кислотности молока (молозива) по Тернеру

Реактивы: 0,1 моль/л раствор натрия (калия) гидроксида: 4 г NaOH или 5,6 г KOH растворяют дистиллированной водой в мерной колбе на 100 мл; 1%-й раствор фенолфталеина: 1 г фенолфталеина растворяют в 70 мл 96%-го этилового спирта и доводят объем водой до 100 мл; 2,5%-й раствор кобальта сульфата: 2,5 г кобальта сульфата растворяют в 97,5 мл воды.

Оборудование: бюретка, колба или стакан на 100-200 мл, мерные колбы, пипетки на 10 и 25 мл.

Ход определения. Отбирают среднюю долю молока утренней дойки или молозива 1, 2, 3-го или последующего удоя из здоровых долей вымени. В колбу или стакан на 150-200 мл вносят 100 мл молока (молозива), 20 мл дистиллированной воды и 3 капли 1%-го раствора фенолфталеина, перемешивают и титруют из бюретки 0,1 моль/л раствором натрия (калия) гидроксида до появления не исчезающего в течение 30 с. розового окрашивания. В качестве эталона окраски можно использовать 2,5%-й раствор кобальта сульфата. В колбочку вносят 10 мл молока (молозива), 20 мл дистиллированной воды, 1 мл 2,5%-го раствора кобальта, перемешивают и ставят на белую бумагу рядом с бюреткой для титрования. Таким образом, проводят визуальное сравнение окраски исследуемых проб молока или молозива.

Расчет ведут по формуле

$$x = A \cdot 10,$$

где, x – кислотность молока (молозива) $^{\circ}\text{T}$, что равно числу миллилитров 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида, затраченного на нейтрализацию кислотности 100 мл молока (молозива);

A – количество 0,1 моль/л раствора натрия (калия) гидроксида, пошедшего на титрование 10 мл молока (молозива), мл;

10 – коэффициент для пересчета кислотности в 100 мл молока

(молозива).

Клиническое значение. Титруемая кислотность молока (молозива) обусловлена кислотным характером казеина, наличием в нем фосфорнокислых, лимоннокислых солей и растворенного углекислого газа.

У коров, содержащихся на полноценных рационах, кислотность молозива 1-го удоя равна 45-55 °Т, 1-го дня – 39 °Т, 2-го дня – 33 °Т, 3-го дня – 27,3 °Т, 7-го дня – 19,5 °Т. Низкая кислотность молозива свидетельствует о неполноценном кормлении животных, скармливание такого молозива способствует развитию диспепсии новорожденных телят.

Кислотность свежего молока буйволицы – 18,7 °Т, зебу – 19,5 °Т, верблюдицы – 17,2 °Т, ослицы – 6 °Т. Этот показатель в основном характеризует свежесть молока, однако при ацидотическом состоянии у животных кислотность молока может повышаться. Титруемая кислотность молока в начале лактации может составлять 18 - 20 °Т, постепенно снижаясь в последнем месяце до 14 -16 °Т и ниже.

Лабораторная работа № 2.5. Определение амилазы в молоке

В молоке содержится фермент амилаза, который определяется по его способности расщеплять крахмал.

Материалы и оборудование: молоко свежее и прокипяченное, колбы конические на 50 мл, стаканчики, штатив, воронка с фильтром, термостат, пипетки на 0,5 и 10 мл, растворимый крахмал (1%-й раствор), йодокалиевый крахмал (3%-й раствор), уксусная кислота (5%-й раствор).

Ход работы. Взять 2 стаканчика. В один из них налить 10 мл свежего молока, а в другой – 10 мл прокипяченного. В каждый стаканчик прибавить по 0,5 мл 1%-го растворимого крахмала. Перемешать содержимое и поставить стаканчики в термостат на 1 ч при температуре 37°С.

Охладить стаканчики в холодной воде, тщательно перемешать

содержимое и прибавить в каждый стаканчик по 3 мл йодокалиевого раствора крахмала и по 5 мл 5%-го раствора уксусной кислоты.

Через 2-3 мин жидкость отфильтровать через сухой складчатый фильтр в конические колбы. Сравнить окраску фильтрата из обоих стаканчиков. В первом стаканчике она будет чисто желтой – крахмал расщеплен амилазой, во втором стаканчике – сине-фиолетовой – амилаза разрушена.

Лабораторная работа № 2.6. Определение в молоке посторонних примесей

Материалы и оборудование: молоко, спиртовой раствор бромтимолового синего 0,04%-й, раствор Люголя, 1%-й сернокислый раствор ванадиевой кислоты, серная кислота, азотная кислота.

Ход работы. Посторонние примеси, добавляемые с целью фальсификации молока, могут быть обнаружены специальными методами. Так, сода в молоке определяется с помощью спиртового раствора бромтимолового синего. Молоко, содержащее соду, при добавлении бромтимолового синего приобретает цвет от светло-зеленого до темно-зеленого. Примесь крахмала может быть обнаружена реакцией молока с раствором йода (раствор Люголя). Добавление этого раствора к небольшому количеству исследуемого молока в пробирке вызывает синее окрашивание. На присутствие консервантов, добавляемых в молоко с целью предохранения от скисания, ставят следующие реакции. Перекись водорода определяется реакцией с 1%-м сернокислым раствором ванадиевой кислоты. В присутствии перекиси водорода молоко приобретает красную окраску. При наличии формальдегида наслаивание молока на особый реактив (концентрированная серная кислота с добавленными в нее несколькими каплями азотной кислоты) ведет к образованию фиолетового или слабого желто-бурого кольца на границе слияния. Фальсификация молока уменьшает его не только пищевую, но и биологическую ценность (снижает содержание белка и жира) и чрезвычайно опасна в эпидемиологическом отношении. Так,

например, добавление соды, снижая кислотность молока, способствует разрушению витамина С и росту гнилостной микрофлоры, в том числе патогенной. В обычных условиях увеличение кислотности обусловлено ростом молочнокислых бактерий, которые подавляют рост посторонней, в основном гнилостной, микрофлоры. При фальсификации молока с загрязненной водой или с посторонними примесями могут быть, кроме того, внесены микроорганизмы – возбудители кишечных инфекций.

Реакция на присутствие соды

Посуда и реактивы: пробирка, 0,04%-й раствор бромтимолового синего в 96%-м спирте.

Ход определения. В сухую пробирку наливают 5 мл испытуемого молока и осторожно по стенке добавляют 7-8 капель раствора бромтимолового синего. Через 10 мин наблюдают за изменением окраски кольцевого слоя, не допуская встряхивания пробирки.

Желтая окраска кольцевого слоя указывает на отсутствие соды в молоке. Появление зеленой окраски различных оттенков (от светло-зеленого до темно-зеленого) свидетельствует о присутствии соды в молоке.

Реакция на присутствие крахмала

Посуда и реактивы: пробирка, пипетка цилиндрическая на 10 мл, реактив Люголя.

Ход определения. В пробирку наливают 5 мл молока, добавляют 2-3 капли реактива Люголя и перемешивают. При наличии крахмала наступает синее окрашивание молока.

Определение посторонних запахов в молоке

Посуда и реактивы: баня водяная с температурой нагрева 40⁰С, колбы с притертой пробкой на 250 мл, пипетка на 20мл, калия гидроксид.

Ход определения. В две колбы на 250 мл отмеривают пипетками по 20 мл молока, в одну из них помещают таблетку калия гидроксида. Колбы

закрывают, слегка перемешивают и оставляют на 5 мин при комнатной температуре. Затем определяют запах молока в колбе с таблеткой реактива, сравнивая его с контрольным образцом. Колбы закрывают, быстро нагревают на водяной бане до 40⁰С и вновь определяют запах. Интенсивность постороннего запаха оценивают следующими категориями: отсутствует или слабый, заметный или сильновыраженный посторонний запах.

Библиографический список

Основной

1. *Максимов В.И.* Основы физиологии и этологии животных: учебник / В.И. Максимов, В.Ф. Лысов. — 2-е изд., испр. и доп. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 504 с. — ISBN 978-5-8114-3818-1. — Текст: электронный // Электронно-библиотечная система «Лань»: [сайт]. — URL: <https://e.lanbook.com/book/116378>.

2. *Сравнительная физиология животных: учебник / А.А. Иванов, О.А. Войнова, Д.А. Ксенофонтов, Е.П. Полякова.* — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 416 с. — ISBN 978-5-8114-0932-7. — Текст: электронный // Электронно-библиотечная система «Лань»: [сайт]. — URL: <https://e.lanbook.com/book/564>.

Дополнительный

1. *Будевич А.И.* Биотехнологические приемы и методы интенсификации воспроизводства стада в животноводстве: монография / А.И. Будевич; Ин-т жив-ва нац. акад. наук Беларуси. — Минск: Технопринт, 2004. — 96 с.

2. *Костомахин Н.М.* Воспроизводство стада и выращивание ремонтного молодняка в скотоводстве: учебное пособие для студентов вузов по специальностям «Зоотехния» и «Ветеринария» / Н.М. Костомахин. — М.: КолосС, 2009. — 109 с.

3. *Некрасов Г.Д.* Акушерство, гинекология и биотехника воспроизводства животных: учебное пособие для студентов по специальности «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции» / Г.Д. Некрасов, И.А. Суманова; Министерство сельского хозяйства РФ, ФГОУ ВПО АГАУ. — Барнаул: Изд-во АГАУ, 2007. — 202 с.

4. *Некрасов Г.Д.* Научные основы воспроизводства животных: учебное пособие / Г.Д. Некрасов; Алтайский государственный аграрный университет. — Барнаул, 2005. — 158 с.

5. *Новак Д.Д.* Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных при воспроизводстве и выращивании: монография / Д.Д. Новак; Новосибирский государственный аграрный университет. – Новосибирск, 2004. – 364 с.

Составители: Баталова Светлана Владимировна

Осина Людмила Михайловна

Физиология репродукции и лактации

Практикум

Редактор

Подписано к печати 2024 г.

Формат 60х84 1/16. Тираж экз.

усл. печ. л.