

Методы определения концентрации спермиев, интенсивности их дыхания, времени выживаемости и наличия патологических форм спермиев

Подготовила
студентка
31-В группы
Иванюк Дарья

Определение интенсивности дыхания спермиев по времени обесцвечивания метиленовой сини.

Методика: при температуре 20-22 градуса на предметном стекле смешивают каплю спермы и каплю 0,01% р-ра метиленовой синьки. Смесь набирают в стеклянную трубочку длиной 6-8 см и каналом диаметром 0.8-1 мм так, чтобы высота столбика была 2 см, трубочку помещают на лист белой бумаги. Засекают время обесцвечивания.

Результат: непригодна для осеменения: бык – более 30 мин, баран – более 20 мин

Определение концентрации спермиев в счётной камере:

Оборудование: камера Горяева, смесители эритроцитарный для спермы быка и барана, лейкоцитарный – для спермы жеребца и хряка.

Методика: сперма смешивается в меланжере с 3%-ным р-ром натрия хлорида, сбоку камеры на сетку наносят каплю разбавленной спермы. Считают спермии в 5 больших квадратах (80 малых) по диагонали.

Результат вычисляют по формуле $C = 400 * П * Д / NR * 1000000$, где С – концентрация, П – подсчитанные спермии, Д – степень разбавления, N – число квадратов (80), Р – глубина камер.

Результат – млрд. в л

Определение абсолютной выживаемости спермиев – продолжительность жизни спермиев при разных степенях разбавления синтетическими средами.

Методика:

- 11 стерильных нумерованных пробирок по 2 мл
- 1-2 по 0,5 мл неразбавленной спермы
- 2-11 по 0,5 мл синтетической среды,
- 1 пробирка – контроль

Далее – последовательный перенос 0,5 мл разбавленной спермы из предыдущей пробирки в следующую. Получаем разбавление в 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024.

Пробирки закрывают и ставят в штативе в термостат при 0 градусах.

Ежедневно оценивают активность спермиев при 40 градусах, добавляя к капле спермы 2 капли 2,9% р-ра цитрата натрия.

Оценку активности проводят до полной гибели всех спермиев во всех пробирках.

Определение процентного соотношения нормальных и патологических спермиев.

На приготовленный мазок спермы кладут фильтрованную бумагу и наливаю р-р красителя (фуксин-эзоин или метиленовую синь)

Краску на стекле смывают водой и высушивают на воздухе. Просохший мазок просматривают под микроскопом (ув.400-600) и подсчитывают в нескольких полях не менее 200 спермиев.

Определяют процент нормальных и патологических спермиев.

Спасибо за внимание!