

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И.Скрябина»

Бенкхадир Фарук Ахмед

**МОНИТОРИНГ ЖЕРЁБОСТИ КОБЫЛ И СОСТОЯНИЯ
ПЛОДА, ПРОФИЛАКТИКА НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВ-
НОЙ ФУНКЦИИ**

**Диссертация на соискание ученой степени кандидата
ветеринарных наук**

Направление подготовки 36.06.01 –ветеринария и зоотехния

**Профиль подготовки 06.02.06 - ветеринарное акушерство и биотехника ре-
продукции животных**

Научный руководитель:
доктор ветеринарных
наук, профессор Гнездилова Л.А.

Москва 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Состояние коневодства в Алжире и в Российской Федерации...7	
1.2 Искусственное осеменение кобыл.....	11
1.3 Естественное осеменение кобыл.....	15
1.4 Трансплантация эмбрионов.....	21
1.5 Диагностика жеребости кобыл.....	24
1.6 Патология беременности кобыл.....	26
ГЛАВА 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1 Материалы и методы исследования.....	32
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	37
3.1 Организация случной компании в условиях племенных коневодче- ских ферм и частных конюшен Алжира и в Центре репродукции «Хартли Хорс Хаус» России.....	37
3.2 Мониторинг жеребости кобыл и состояния плода в различные пе- риоды его развития. Оценка санитарно-гигиенических норм содер- жания и кормления кобыл.....	60
3.3 Результаты морфологического, биохимического анализа крови, гормональных исследований в разные периоды жеребости кобыл. Гемостаз.....	65
3.4 Основные патологии жеребости кобыл. Профилактические меро- приятия.....	77
3.5 Обсуждение результатов исследования.....	84
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	91
5. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДО- ВАНИЯ.....	93
6. БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	95

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Всестороннее повышение качества лошадей и улучшение их воспроизводительной способности является важными задачами коневодства. Повысить эффективность воспроизводства возможно совершенствованием организационных форм биотехники репродукции, комплексной системы мониторинга физиологического состояния и ранней диагностики жеребости кобыл, профилактики патологий репродуктивной системы. Существенному повышению результативности осеменения способствуют исследования физиологических особенностей репродуктивной системы кобыл, фолликулогенеза и овуляции, оплодотворения и раннего эмбриогенеза у лошадей (Дюльгер, Г.П. 2012).

Цель исследований - мониторинг жеребости кобыл и состояния плода, профилактика нарушений репродуктивной функции.

Для реализации выше обозначенной цели перед нами был поставлен ряд **конкретных задач:**

1. Оценить организацию случной компании в условиях племенных коневодческих ферм и частных конюшен Алжира и в Центре репродукции «Хартли Хорс Хаус» России. Определить морфофункциональные показатели спермопродукции жеребцов с определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и подсчета половых клеток с интактной акросомой.
2. Провести мониторинг жеребости кобыл и состояния плода в различные периоды его развития. Оценить санитарно-гигиенические нормы содержания и кормления кобыл в Центре репродукции «Хартли Хорс Хаус» России.

3. Проанализировать морфологические, биохимические показатели крови, гормональный фон в разные периоды жеребости кобыл. Оценить показатели гемостаза.
4. Установить основные причины патологии жеребых кобыл. Предложить меры профилактики.

Научная новизна исследований.

Проведена оценка организации случной компании в условиях в центре репродукции лошадей в Алжире, Тиарет, выявлены основные нарушения воспроизводительной способности кобыл, даны рекомендации.

Впервые проведены морфофункциональные исследования криоконсервированной спермы жеребцов ганноверской породы с определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и подсчета половых клеток с интактной акросомой. Разработан комплексный научный подход к диагностике состояния жеребых кобыл с учетом оценки коагулометрических, морфологических, биохимических показателей крови, гормонального статуса, к проведению ультразвукового мониторинга фолликулогенеза и развития плода. Обоснована необходимость коррекции нарушения обменных процессов в фетоплацентарном комплексе с целью профилактики патологий функционального состояния плаценты, приводящих к гибели плода, абортam и снижению воспроизводительной способности кобыл.

Теоретическая и практическая значимость

Проведенные исследования по оценке динамики изменений коагулометрических, морфологических, биохимических показателей крови, гормонального статуса кобыл в разные периоды жеребости, результатов ультразвукового мониторинга развития плода и состояния плацентарного комплекса подтвердили необходимость их проведения для своевременного выявления фетоплацентарной патологии, коррекции выявленных нарушений в целях предотвращения нарушения репродуктивной функции кобыл.

Проведенные в России исследования замороженной спермы жеребцов ганноверской породы с использованием современных методов, а именно определение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и подсчета половых клеток с интактной акросомой показали важность комплексного подхода к оценке спермопродукции производителей при оценке их фертильности.

Положения, выносимые на защиту:

1. Организация случной компании в условиях племенных коневодческих ферм и частных конюшен Алжира и в Центре репродукции «Хартли Хорс Хаус» России. Морфофункциональные показатели спермопродукции жеребцов с определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и подсчета половых клеток с интактной акросомой.
2. Мониторинг жеребости кобыл и состояния плода в различные периоды его развития. Оценка санитарно-гигиенических норм содержания и кормления кобыл.
3. Морфологические, биохимические показатели крови, гормональный фон в разные периоды жеребости кобыл. Оценка гемостаза.
4. Основные патологии жеребых кобыл. Меры профилактики.

Степень достоверности, апробация и публикация результатов исследований

В основу работы положен анализ результатов комплексных исследований, выполненных на 20 кобылах и 30 жеребцах ганноверской, тракененской и фрезской породы, возраста от 4 до 15 лет. Использовали методы: клинические, акушерско-гинекологические, инструментальные, УЗИ, гематологические, биохимические, коагулометрические, зоотехнические (анализ рациона кормления для кобыл и жеребцов), оценку качества корма, морфофункциональные исследования спермы жеребцов. Полученные данные подвергали статистической обработке по классическим методикам.

Материалы исследований представлены и апробированы на Международной учебно-методической и научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня основания ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И.Скрябина, г.Москва; на Национальной научно-практической конференции, посвященной актуальным вопросам биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии и переработки сырья животного и растительного происхождения, г. Москва; на Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» г.Санкт-Петербург.

По научным разработкам, опубликовано 6 научных статьи, из них 3 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура научной квалификационной работы

Рукопись диссертационной работы изложена на 110 страницах машинописного текста, иллюстрирована 22 рисунками, 10 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, результатов исследований и их обсуждения, заключения, рекомендаций по использованию результатов исследования, библиографического списка, приложения.

Список литературы включает 108 источников. Из них отечественных – 56, зарубежных – 52.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Состояние коневодства в Алжире и в Российской Федерации

Алжир - страна с великими, унаследованными от предков, конными традициями. Лошадь была спутником всадников кочевых народов в берберских племенах Сифакс, Югурта и Массинисса, сопровождая все войны и завоевания мусульман во время эпосов эмира Абделькадера, Эль Мокрани и Буамамы (Rahaletal, 2009).

Появление ислама усилило и закрепило привязанность населения к этому животному, о чем так много рассказывали историки, пели поэты и художники. Когда-то он был верным и славным спутником воинов. Помимо этого высокого культурного аспекта, существует также социально-экономический фактор, который не менее важен. Действительно, их использование принимает различные формы, от досуга до скачек: конные соревнования, работа, развлечение, а также производство мяса.

В Алжире на рубеже 20-го века лошадь начинает переходить из ранга средства производства в ранг простого развлекательного продукта. Поголовье лошадей в этот период начало резко сокращаться и потребовались годы постоянных усилий, чтобы восстановить этот элемент мирового биоразнообразия и вернуть его в экономическую и социальную жизнь. Дальнейшее изменение в численности лошадей было связано с развитием конного спорта, досугом и скачками, благодаря впечатляющему развитию гражданской конной экипировки. В течение определенного количества лет (с 1997 по 2001 год) увеличивалось количество людей, задействованных в конном спорте. Благодаря принятым мерам по стимулированию сельской экономики с 2002 года ситуация ещё более улучшилась, возросло поголовье лошадей и количество обслуживающего персонала. В последние годы коневодство в Алжире значительно развилось: увеличилось количество лошадей, целена-

правленно проводится селекционная работа и развивается конно-спортивный сектор.

На территории Алжира насчитывается более 256 000 лошадей (по данным последней переписи поголовья, проведенной Министерством сельского хозяйства Алжира в 2012 году). Эти данные лишь частично отражают реальность, поскольку сегодня многие лошади в частном секторе не учитывались в ходе этой переписи. Таким образом, Алжир занимает второе место среди стран Магриба после Марокко по числу лошадей (Rahaletal, 2009), 90% поголовья составляют берберийские и арабские породы лошадей. Остальные 10% - это арабские лошади, английские чистокровные и французские рысаки (Rahaletal, 2009). Несмотря на модернизацию сельского хозяйства, лошадь в Алжире занимает важное место в экономической и социальной жизни сельского мира. Кроме того, они все чаще используются в конном спорте (соревнования, скачки на выносливость и верховая езда) и, так называемых, региональных соревнованиях. Что касается арабских чистокровных, английских чистокровных и французских рысаков, то они в основном используются в конном спорте и в конном досуге.

Единственным методом разведения, используемым в коневодстве, была естественная случка. Поэтому в Алжире необходимо было модернизировать методы размножения сначала с использованием искусственного осеменения свежеполученной спермой, а затем с использованием различных методов консервации спермы для более полного развития селекции, генетики, воспроизводства.

Россия в начале XX века была на первом месте по количеству лошадей в мире. Поголовье на тот момент составляло 38 миллионов голов. Революция и Первая мировая война сильно способствовали уменьшению поголовья, однако к 30-м годам XX века работникам конезаводов удалось восстановить численность до 30 миллионов голов. Вторая Мировая Война и расформирование кавалерии сыграли свою негативную роль в истории коневодства

России. К 1981 году количество лошадей на территории России составило 5,6 миллионов голов, к концу 1990 года - 2618,4 тыс. головы. В 1993 году с распадом Советского Союза и образованием Российской Федерации в стране резко снизилось поголовье лошадей, численность которых к 2002 г. составила около 65% к уровню 1993 г. (Витт В.О., 1964; М.С. Иванов, В.У. Хальбаев, А.Г. Дулганов, 1983; Ковешников В.С., 2005; Тимченко А., 2005; Носкова М.В., 2010). К концу 2013 года количество лошадей на территории РФ составило 1374,8 тыс. голов (II Всероссийский семинар «Здоровье лошади»).

Коневодство требует дальнейшего развития и совершенствования для расширения диапазона использования его потенциала в хозяйственных, спортивных, военных, рекреационных целях, так и с точки зрения совершенствования методов разведения пород, технологии выращивания.

Пищевая и медицинская промышленность могут иметь в качестве своего сырьевого источника в значительной степени потенциал современного коневодства для создания ценнейших продуктов питания, лекарств и вакцин. Исключительно важную роль коневодство может играть в дальнейшем совершенствовании материальной и духовной культуры народов России и, в частности, таких ее регионов, как Северный Кавказ. Обширный ареал распространения лошадей, различные условия их обитания и производственного назначения определяют многообразие пород, адекватных по своим качественным характеристикам их функциональному назначению с учетом климатических и экологических особенностей регионов (Иванов М.С., 1983; Тимченко А., 2005).

В Российском коневодстве по характеру хозяйственного использования лошадей можно условно определить четыре направления: рабоче-пользовательское, продуктивное, племенное и спортивное (досуговое). Численность лошадей всех направлений отрасли коневодства в Российской Федерации в 2007 года составляла около 1,3 млн. гол. Продуктивное коневодство занимает второе место по величине в РФ и, в свою очередь, подразделя-

ется на мясное и молочное. Продуктивное коневодство дает в год в среднем около 60 тыс. т. мяса в живом весе и около 2 тыс. т. кумыса. По данным ФАО Российская Федерация за последние несколько лет с 7-й строчки мировых рейтингов по производству мяса-конины переместилась на 4-е, обогнав Монголию и Италию. Стоит отметить, что потребность в кумысе населения нашей страны составляет около 20 тыс. т. в год. Таким образом, в настоящее время существует неудовлетворенный рыночный спрос на данный продукт, что позволяет делать оптимистичные прогнозы в отношении дальнейшего развития данного направления коневодства (Калашников В.В., 2006 г.).

Племенное коневодство или конезаводство - третье по численности направление российского коневодства. (Носкова М.В, Арзилаева М.С.2009 г.) в своих исследованиях установили, что примерно из двух десятков пород, разводимых в России, спросом пользуются лишь чистокровная, траккененская, буденовская, русская верховая, реже - другие породы. Общая численность лошадей в племенном секторе на 2009 год составляла около 30 тыс. голов. В результате отмены лицензирования племенной деятельности на данный момент трудно выяснить точное количество, состав организаций племенного коневодства, численность конепоголовья, качественный и репродуктивный ресурс. По разным данным на территории Российской Федерации на 2009 год функционировало от 74 до 86 конных заводов, от 200 до 400 племенных коневодческих ферм, от 28 до 42 ипподромов от 54 до 64 государственных заводских конюшен (Ковешников В.С., 2005; Басалаев Е.В., 2006; 2007)

Поголовье лошадей в России увеличивается уже на протяжении 12 лет и достигло в 2018 году более чем 1,4 миллиона животных. По данным Национального аграрного агентства ROSNG.ru государство со своей стороны поддерживает коневодство финансово. Бюджетные деньги идут на компенсацию затрат, понесенных в связи с селекционно-племенными мероприятиями, коннозаводчики обеспечены льготным субсидированием, ежегодный объем которого составляет порядка 125 миллионов рублей.

В 2018 году финансовая помощь из государственного бюджета поступила 139 племенным организациям.

Экспертной рабочей группой под эгидой Минсельхоза подготовлен проект стратегии развития коневодства Российской Федерации на период до 2025 года. Проект предусматривает системное решение вопросов развития отечественного коневодства, его ресурсное и финансовое обеспечение. Основной целью Стратегии является увеличение поголовья лошадей в Российской Федерации с 1,4 млн в 2018 году до 1,6 млн к 2025 году. Этот проект позволит повысить в 2 раза темп увеличения численности лошадей за последние 12 лет.

1.2 Естественное осеменение кобыл

У лошадей репродуктивная активность самок носит сезонный характер и направлена на весеннюю выжеребку, когда пищевые и климатические условия наиболее благоприятны. Эта сезонность в основном контролируется фотопериодом. Долгосрочный фотопериод (от 2:30 до 16:00 света в день) стимулирует возобновление активности яичника у кобылы (Пронин Б.Г. 2010).

Годовой репродуктивный цикл у кобылы имеет 2 периода. Репродуктивный период, характеризующийся последовательностью половых циклов. Период сезонного анэструса, который можно разделить на 3 части: переход к сезонной неактивности овуляции, характеризующийся наличием крупных фолликулов, которые не овулируют из-за дефицита ЛГ. Сезонная неактивность овуляции, так называемый сезонный анэструс, характеризующийся отсутствием половых циклов (в период зимнего солнцестояния). Переход к половому сезону (в период весеннего равноденствия) характеризуется увеличением фолликулярной чувствительности к лютеинизирующему гормону - ЛГ (Прокофьев, М.И.1983).

Тем не менее, около 20% кобыл не имеют сезонного анэструса и поэтому являются циклическими в течение всего года (Diekmanetal., 2002).

Продолжительность половых циклов у кобыл находится в зависимости от кормления (Salazar-Ortizetal, 2011) или даже от температуры окружающей среды (Palmer, 1978). В умеренном климате большинство кобыл цикличны с апреля по октябрь (Gintheretal., 1972).

Для полового сезона характерна череда циклов продолжительностью приблизительно 22 дня. Цикл обычно делится на две фазы: лютеиновая фаза (приблизительно соответствует диэструсу), относительно постоянной продолжительности (от 14 до 15 дней), в течение которой желтое тело, сформированное после овуляции, выделяет прогестерон, при этом кобыла не проявляет интереса к жеребцу. Фолликулярная фаза (приблизительно соответствует течке), чрезвычайно переменной продолжительности (от 3 до 12 дней), в течение которого кобыла проявляет интерес к жеребцу. Эта фаза соответствует окончательному росту фолликулов и приводит к овуляции.

Продолжительность полового цикла у кобылы очень изменчива по сравнению с другими млекопитающими (Gintheretal., 1972). Эта изменчивость проявляется как между кобылами, так и у одной и той же кобылы в течение сезона. Половые циклы могут быть длиннее в начале и в конце полового сезона и короче в середине сезона, то есть летом. Это изменение в длине цикла в основном связано с продолжительностью эструса (Ginther, 1974). Для одной и той же кобылы диаметр преовуляторного фолликула изменяется незначительно (Cuervo Arangoand Newcombe, 2008). Продолжительность лютеиновой фазы у кобылы того же порядка, что и у других видов животных с половым сезоном, таких как овцы. Однако фолликулярная фаза у кобылы длинная по сравнению с овцой, у которой фолликулярная фаза длится от 2 до 3 дней, и эта разница, по-видимому, обусловлена временем, необходимым для достижения фолликулом своего преовуляторного размера. Размер преовуляторного фолликула у кобылы составляет от 35 до 45 мм или более, а у овец - от 5 до 8 мм. (Carnevale, 2008). Воспроизводство лошадей проводится с начала весны и продолжается до лета. Обычно в природных условиях та-

бун небольшой, состоит из одного жеребца и нескольких кобыл, общим количеством не более 12 животных.

Жеребцы проявляют готовность спариваться в любой период времени, а самки – исключительно в период «половой охоты». Случка лошадей может происходить по несколько раз в течение одних суток. Бывает так, что жеребец пытается совокупиться с кобылой, которая не проявляет стадию возбуждения полового цикла (не готова к репродукции). В подобном случае оплодотворение не произойдет, но у самки может начаться преждевременная течка.

Жеребцы очень чувствительны к началу половой охоты у самок, и во время периода предтечки они начинают уделять самке больше внимания: слегка щипая за шею и обнюхивая внешние половые органы, активно обхаживает кобылу. В это время кобыла поднимает хвост, расставляет задние конечности и немного наклоняется вперед (в такой позе раскрывается вульва). В период течки происходит выделение из влагалища обильного количества слизи, происходит учащенное выделение мочи. Запах, выделяемый из половых органов кобылы, привлекает внимание самцов.

В целом период охоты у кобылы длится от одного до трех дней. Второй день после начала течки является оптимальным для случки, так как именно в этот момент есть высокая вероятность оплодотворения. Возможно повторение случки при неудавшейся попытке, только при условии, что кобыла продолжает находиться в состоянии «охоты».

Кобылы до двух лет обычно не подпускают к себе жеребца, начинают проявлять половую активность в возрасте трех лет при наступлении половой зрелости. Кобылу и жеребца готовят к случке. За 1-1.5 месяца до осеменения в их рационы вводят корма, обогащенные витаминами и микроэлементами. Перед случкой проводят анализ спермы коня, осмотр репродуктивных органов кобылы.

Естественное осеменение лошадей проводят разными способами. Самыми распространенными являются ручной, варковый и косячный. Все они приближены к естественным, природным. Человеку в данном процессе отводится роль наблюдателя и, при необходимости, корректора.

В личных подсобных хозяйствах и небольших коневодческих фермах, которые занимаются разведением лошадей, применяется ручная случка, которая отличается своей простотой и хорошим результатами. Оплодотворяемость кобыл при этом составляет около 90-95%. При обеспечении правильного ухода вырастает здоровое потомство.

Для проведения успешной ручной случки необходимо соблюдать несколько правил: обеспечить лошадям спокойное и тихое место; для предотвращения травм следует снять подковы со строптивых кобыл, также можно применить случную шлейку; перед случкой нужно дать возможность лошадям освоиться и присмотреться друг к другу; после завершения случки кобылу необходимо вернуть в загон, а жеребца оставить на некоторое время в покое.

Для табунов применяется варковая и косячная случка. Для этого используют загоны.

При варковой случке жеребца оставляют с несколькими кобылами (5-7), чтобы он сам выбрал себе кобылу для спаривания. Косячная случка отличается тем, что внутри табуна оставляют большое количество лошадей (от 12 до 25 особей). Жеребца оставляют с самками в пределах одного пастбища. Находятся они там на протяжении всего периода. Эффективность такого метода составляет 90-95%.

1.3 Искусственное осеменение кобыл

Неподтвержденные данные свидетельствуют о том, что в 1300-х годах лошади были первыми домашними животными, подвергшимися искусственному осеменению (ИО).

Для спаривания кобыл с выдающимися жеребцами арабы собирали сперму из влагалища кобыл своих врагов и вводили ее в своих кобыл. Однако другие данные свидетельствуют о том, что искусственное осеменение впервые было проведено на собаках и, что искусственного осеменения у лошадей начали применять одновременно с осеменением других домашних животных в конце 18-го века (Foote R.H., 2002 г.).

С другой стороны, развитие трансплантации эмбрионов у лошадей отставало от других видов, особенно от крупного рогатого скота. Разница является результатом интереса к процедуре в соответствующих отраслях и технических трудностей работы с различными видами. Первоначально возникали трудности с транспортировкой спермы лошади, в организации пунктов искусственного осеменения лошадей, в возможностях оценки качества спермы. Тем не менее, разработки разбавителей спермы, криопротекторов, позволили искусственному осеменению с использованием охлажденной или замороженной спермы стать основным методом воспроизводства лошадей. Технические причины, по которым перенос эмбрионов лошадей отстает от его бычьего аналога, постоянно обсуждаются.

В частности, стимуляция множественной овуляции с помощью экзогенного гонадотропина и разработка эффективных методов нехирургического переноса эмбрионов способствовали возрождению интереса к технологии переноса эмбрионов у лошадей. Тем не менее, криоконсервация, которая обеспечивает длительное хранение эмбрионов и успешно используется для улучшения производства крупного рогатого скота, является трудоемкой для лошадей из-за величины и морфологии эмбрионов кобылы во время сбора.

Решение этих вопросов позволит эффективно использовать заморозку эмбрионов с целью сохранения ценных генетических линий, а также поддержания жизнеспособности эмбрионов, в то время, когда подходящая реципиентная кобыла недоступна. Поэтому текущие исследования направлены на создание оптимальных методов замораживания эмбрионов лошадей, когда они наиболее успешно собраны (то есть через 7 или 8 дней после овуляции).

Факторы, влияющие на успешность искусственного осеменения у кобыл, включают следующее:

- Использование свежей, охлажденной или замороженной спермы;
- качество спермы;
- количество осеменений;
- время осеменения;
- техника введения спермы с учетом анатомических особенностей строения половых органов;

Сравнительная оценка естественного разведения с искусственным осеменением показала, что различий в показателях беременности у плодовитых кобыл не было: 23 из 31 кобылы (74,2%) забеременели после естественного разведения одним из трех жеребцов, а 51 из 68 кобыл (75%) зачали, когда искусственно осеменяется свежей или охлажденной спермой от тех же самых жеребцов (HughesJ,P1970). Однако очень важно, чтобы кобылы были осеменены как можно ближе ко времени овуляции. Оптимальное время для ИО с использованием охлажденной спермы - в течение 24 часов до ожидаемой овуляции. Оплодотворение должно быть повторено через 48 часов, если у кобылы не было овуляции.

При использовании замороженной спермы необходимо осеменять кобылу в течение 12 часов до овуляции или в течение 6 часов после овуляции.

Если доступна только одна доза замороженной спермы, кобыла должна быть исследована с помощью УЗИ с 6-часовыми интервалами и осеменена, как только обнаружена овуляция.

Поскольку время оплодотворения в связи с возникновением овуляции имеет решающее значение, прогноз овуляции очень важен. Чтобы предсказать, когда произойдет овуляция, требуются ультразвуковые репродуктивные обследования для выявления происходящих изменений в половых органах кобылы. При УЗИ оценивают: внешний вид матки, размер и форму фолликула, эхогенность фолликулярной оболочки. Во время течки становятся заметны отечные складки шейки матки, это сопровождается увеличением размера фолликула. По мере приближения овуляции отек матки обычно уменьшается. Непосредственно перед овуляцией фолликул увеличивается и может приобретать треугольную или неправильную форму, эхогенность фолликулярной стенки увеличивается. Эти изменения связаны с повышенной васкуляризацией фолликулярной оболочки и приводят к отеку, кровоизлиянию и гиперемии яичника. Цветная доплерография может использоваться для количественной оценки этих изменений в фолликуле перед овуляцией.^{3–5}

Чтобы повысить вероятность выявления овуляции или времени овуляции с наличием спермы, овуляция может быть индуцирована дезлорелином (1,5 мг) или хорионическим гонадотропином человека в количестве 2500 МЕ.

Если используется охлажденная сперма, однократное осеменение следует проводить примерно через 24 часа после индукции овуляции, а овуляция должна быть подтверждена на следующий день. При использовании замороженной спермы ультразвуковое исследование необходимо начинать через 12-24 часа после индукции овуляции; эти исследования должны проводиться каждые 6 часов, пока кобыла не овулировала. Из-за постовуляторного старения яйцеклетки осеменение более чем через 6–12 часов после овуляции увеличивает скорость потери эмбриона, независимо от того, какой препарат

используется для спермы (Siemen, Schafer 2003г.). При использовании замороженной спермы частота наступления беременности может достигать 70%, когда происходит оплодотворение в течение 6 часов после овуляции и на 50%, когда интервал посовуляторного осеменения увеличивается до 12 часов (Siemen, Schafer, Kloppe LH, 1988г).

Если есть возможность осеменения кобылы в течение охоты двумя дозами замороженной спермы, то осеменение должно быть произведено через 24 часа после овуляции и повторно через 16 часов (через 40 часов после овуляции), даже если кобыла овулировала ко второму моменту. Это гарантирует нахождение жизнеспособных сперматозоидов в яйцепроводе в течение 18-52 часов после овуляции.

Не существует единого мнения о минимальном количестве прогрессирующих подвижных сперматозоидов, необходимых для искусственного осеменения и данные варьируются в зависимости от лаборатории. Однако, когда кобылы осеменены свежей или охлажденной спермой, концентрация 500 миллионов прогрессирующих подвижных сперматозоидов во время ИО обеспечит приемлемый уровень жеребости (Blanchard T.L., 2003 г).

В международном масштабе требуется минимальная концентрация - 300 миллионов спермиев в дозе для размороженной спермы. Однако, если используется высококачественная сперма, концентрация может быть уменьшена до 100 миллионов прогрессирующих подвижных сперматозоидов без снижения фертильности.

Стандартная методика осеменения – введение спермы в тело матки. Однако, когда используется замороженная сперма, рекомендуется осеменение глубоко в маточный рог, ипсилатеральный к доминирующему фолликулу. Этот метод увеличивает количество сперматозоидов, извлеченных из яйцепровода, увеличивая частоту беременности у кобыл, особенно если при осеменении концентрация <50 миллионов прогрессирующих подвижных

сперматозоидов. Глубокое внутриматочное ИО может помочь в достижении высоких показателей беременности при использовании спермы, отсортированной по полу (доза обычно содержит только от 5 до 25 миллионов прогрессирующих подвижных сперматозоидов) (Lyle S.K, Ferrer M.S. 2005), однако при этом интерес к определению пола жеребят ограничен.

Объем экстендера, используемого для суспендирования сперматозоидов в дозе осеменения, по-видимому, мало влияет на показатели беременности. Дозы наполнителя могут варьироваться от 0,5 до 120 мл, без значительного влияния на фертильность.

Поставки охлажденной спермы обычно содержат две дозы для осеменения. Практики часто спорят о том, следует ли проводить кобыл один раз с двойной дозой или дважды, с интервалом в 24 часа. Как количество жизнеспособных сперматозоидов, так и время осеменения важны для достижения беременности. В двух независимых исследованиях осеменение кобыл с использованием одной дозы спермы в течение двух последовательных дней несколько улучшило показатели беременности в одном исследовании (Squires E.L, 1998), но не оказало влияния на другое исследование (Shore M.D, 1998).

Это свидетельствует о том, что, если качество спермы является субоптимальным, сроки осеменения по отношению к овуляции становятся более важными, чем абсолютная доза спермы. Тем не менее, в одном из исследований (Squires E.L., 1998) были заметные различия между жеребцами относительно времени ИО с использованием охлажденной спермы. Сперма одного из трех жеребцов, примененная в исследовании, способствовала оплодотворению у большинства кобыл (шесть из восьми - [75%]), когда кобылы были осеменены дважды, по сравнению с теми, которые были осеменены один раз двойной дозой (два из 10 - [20%]) (Squires E.L. 1998)

Замороженную сперму размораживают на водяной бане. Температура воды и время погружения могут различаться для разных производителей спермы. Следовательно, указания по размораживанию следует строго соблюдать. Сперму, замороженную в 0,5 мл соломинки, чаще всего размораживают при 37 ° C (98,6 ° F) в течение 30 секунд, тогда как сперму 5 мл (макротрубки) размораживают при 50 ° C (122 ° F) в течение 42 секунд. Соломинка должна быть тщательно высушена после удаления из водяной бани. Целесообразно разрезать соломинку, составляющую дозу осеменения на одном конце, и выливать весь объем спермы в теплую пробирку или непосредственно в теплый футляр для шприца. Чтобы предотвратить осмотический шок сперматозоидов, сперму не следует смешивать с наполнителем после оттаивания.

Подвижность сперматозоидов чаще всего оценивается до ИО. Однако, поскольку недостаточная подвижность сперматозоидов сама по себе является плохим показателем рождаемости, следует оценивать морфологию сперматозоидов, особенно когда повторное использование спермы от конкретного жеребца приводит к плохим показателям зачатия. Сперматозоиды могут быть окрашены эозином-нигрозином и оценены под иммерсией с использованием светового микроскопа при увеличении $\times 1000$ для определения общего количества морфологически нормальных клеток. В среднем в сперме жеребца приблизительно 50% сперматозоидов являются морфологически нормальными (CardC2005).

Дефекты сперматозоидов, которые влияют на проникновение и прикрепление сперматозоидов, такие как повреждение акросомы, требуют специальных методов окрашивания или электронной микроскопии для их обнаружения.

1.4 Трансплантация эмбрионов

Трансплантация эмбрионов означает отбор оплодотворенного эмбриона от донорской кобылы и перенос его к реципиентной кобыле, которая будет вынашивать жеребенка. Эта процедура является экономически затратной и не всегда может быть успешной (Blanchard, T.L., 2003). Наиболее важными моментами успеха являются фертильность донорской и реципиентной кобыл, плодовитость жеребца, а также опыт и технические навыки ветеринара. Необходимо строго соблюдать стерильность в течение проведения всей процедуры. Угроза инфицирования кобылы возможна из окружающей среды или от самого зародыша (Guerin N. B., Nibart T. M., Marquanti, 1997 г). Большинство ветеринарных специалистов считают, что наиболее важным шагом для успешной трансплантации эмбрионов является правильный отбор и работа с кобылами-реципиентами (Squires, E.L., Mckinnon, A.O. 1999). Наличие большого количества кобыл-реципиентов облегчит синхронизацию донора с реципиентом. Если доступно только ограниченное число кобыл-реципиентов, реципиента и донора можно синхронизировать с помощью применения гормональных препаратов. Основанием для выбора схемы синхронизации должна служить фактически установленная разница сроков овуляции у намеченных кобыл. Однако, хотя бы две кобылы-реципиента должны быть доступны для каждого донора (Samper, J.C., Mckinnon, A.O. 2007).

Выбор и подготовка кобылы-реципиента должна начинаться осенью. Никакие дополнительные кобылы не могут быть добавлены в качестве реципиентов в течение сезона размножения из-за риска инфицирования ранее подготовленных. К кобылам реципиентам должны предъявляться определенные требования. Они должны иметь постоянную идентификацию, быть репродуктивными и здоровыми. Предпочтительный возраст кобыл - от 3 до 12 лет, это связано с возможными нарушениями репродукции у животных

более старшего возраста (Hartman, D.L.,2011г). Кобылы должны быть вакцинированы и дегельминтизированы (Mckinnon, A.O. 1988 г). При сборе анамнеза необходимо учитывать предыдущие заболевания и методы лечения, использование ранее гормональных препаратов для понимания возможных рисков протекания беременности. Необходимо строго контролировать половую цикличность кобыл (Frazer G. 2011).

Анатомия промежности и таза у кобылы оказывает влияние на ее фертильность. При осмотре оценивается строение вульвы, развитие и наклон по отношению к седалищным буграм - в норме она должна быть расположена ниже седалищных бугров, не запавшая, вход вертикальный (Samper, J.C. 2007). Правильная анатомия промежности и вульвы важна, поскольку нарушения могут predispose к загрязнению преддверия влагалища и дальнейшему инфицированию репродуктивного тракта. (Hartman, D.L.,2011г).

Размер кобылы реципиента будет влиять на размер жеребенка. В идеале кобыла-реципиент должна быть такого же размера или немного больше, чем кобыла-донор (Blanchard, T.L. 2003). Общая рекомендуемая живая масса - 450-500 кг (Mckinnon, A.O. 1988)

Выбор и подготовка кобылы – донора.

При выборе кобылы-донора для пересадки эмбриона лошади необходимо обращать внимание на стоимость данной процедуры, на данные о репродуктивной системе кобылы, на качество используемой спермы от жеребца –производителя и его потенциальной ценности. Использование кобыл моложе 16 лет с хорошей репродуктивной системой при спаривании с фертильными жеребцами позволяет получить качественные эмбрионы в 60 % случаев. Неблагоприятный прогноз на выживание эмбрионов, менее 30 %, имеют кобылы с симптоматическим бесплодием. Часто наличие острого или хронического эндометрита у кобылы препятствует оплодотворению и со-

хранению жеребости. У кобыл старше 18 лет значительно уменьшается жизнеспособность ооцитов.

Важное значение имеет выбор жеребца или использование спермы для данного эмбриона. Лучшие результаты получают при использовании свежеполученной спермы жеребца. Возможно использование в течение 24 часов после отбора транспортированной охлажденной спермы, фертильность которой не успевает уменьшиться за этот период времени. При оплодотворении замороженной спермой жизнеспособность эмбрионов во многих случаях уменьшается. Лишь у незначительного количества жеребцов замороженная сперма обладает такой же фертильностью, что и свежеполученная сперма/

Трансплантацию эмбрионов можно проводить хирургическим методом с помощью бокового разреза, либо нехирургическим путем. Чаще всего в настоящее время селекционеры используют нехирургические методы пересадки.

После пересадки эмбриона через 4-5 дня у кобыл производится ультразвуковое исследование на наличие жеребости. Повторные обследования кобыл с подтвержденной жеребостью с целью её контроля проводят на 16, 25, 35 дни. Если при первоначальном обследовании жеребость у кобылы на 12 день не была подтверждена, проводят контрольное обследование через два дня. При этом если результаты ультразвукового исследования подтверждают отсутствие жеребости, кобылу считают не беременной и назначают ей простагландин для стимуляции течки.

Проведение УЗИ позволяет селекционеру принять решение о необходимости проведения повторного осеменения донора и предпринять меры для выживания второго эмбриона (Squires, E.L., McCue, 2009).

При нормально протекающей жеребости ультразвуковое исследование на 25 день позволяет визуализировать зародыш с сердцебиением. Критические сроки потери эмбриона при его пересадке реципиенту – интервал меж-

ду 12 и 35 днями. Если сравнивать потерю эмбриона на раннем сроке жеребости при пересадке эмбрионов реципиентам, с эмбриональной смертностью других жеребых кобыл, осемененных либо свежей, либо охлажденной спермой, нужно отметить их статистическую равноценность. Кобыл, которые не могут забеременеть после двух попыток пересадки эмбриона, в дальнейшем не используют в качестве реципиентов (Perry G. 2012).

1.5 Диагностика жеребости кобыл

Период беременности — это период времени, который начинается сразу после оплодотворения и заканчивается рождением жеребенка. В целом для кобылы этот период составляет 320-370 дней, но в среднем составляет приблизительно 338. Продолжительность беременности может отличаться в зависимости от породы, времени года, пола жеребенка и общего состояния кобылы (Allen.W.R. 2005).

Своевременность и точность диагностики жеребости имеет важное значение. Без дополнительного оборудования и навыков диагностика беременности у кобылы может быть затруднена. Все методы диагностики жеребости подразделяют на клинические, инструментальные и лабораторные. Клинические — ректальный и рефлексологический методы диагностики, инструментальный — ультразвукография, лабораторные методы диагностики — анализ уровня половых гормонов (эстрогены и прогестерон) и гонадотропина лошадей (Дюльгер, Г.П. 2012).

Наиболее эффективными средствами диагностики являются внутренняя (ректальная) пальпация или трансректальная ультразвукография. Лабораторные методы диагностики гормонального уровня не столь эффективны, как ультразвук или пальпация, поскольку на эти показатели могут влиять эндокринные нарушения (Allen.W.R. 2005).

При пальпации прямой кишки исследователь может почувствовать шейку матки, которая будет твердой, как если бы кобыла находилась в диэс-

труссе (или под сильным действием прогестерона). На ранних сроках беременности (около 18-22 дней) матка будет иметь некоторый тонус и ригидность. Пальпация яичников малопригодна для кобылы, так как желтое тело, структура, ответственная за поддержание беременности путем выработки им гормона прогестерона, на ранних сроках беременности практически не ощущается.

Неоднократное проведение ректального исследования при диагностике беременности у кобыл подвергает риску её протекание. Эти манипуляции могут стимулировать воспалительный процесс и выработку маточного простагландина. Простагландин в дальнейшем может воздействовать непосредственно на желтое тело, вызывая его регрессию, что будет способствовать прекращению выработки прогестерона и, в конечном итоге, прерыванию беременности (Allen W.R. 2005).

В большинстве случаев использование ультразвука является золотым стандартом для диагностики беременности у кобылы. Помимо того, что ультразвуковое исследование более надежно, чем пальпация, оно может быть выполнено с большей точностью на ранней стадии после овуляции, что может дать дополнительное представление о беременности. Самое раннее, что большинство технических специалистов готовы провести ультразвуковое исследование с большой точностью, — это приблизительно через 14 дней после предполагаемой овуляции или фактического осеменения. Это дает некоторую гибкость, если овуляция произошла через некоторое время после осеменения. При проведении УЗИ во время беременности необходимо сканировать все тело матки, рога матки и яичники. Сканирование тела матки и рогов позволит идентифицировать эмбриональный пузырек (если он есть) и выявить любые потенциальные аномалии, такие как кисты (Ball.V.A. 1988). Эти аномалии могут напоминать эмбриональные везикулы, и последующие ультразвуковые исследования могут быть необходимы для отслеживания роста и изменений их местоположения. Яичники должны быть проверены на наличие

крупных желтых тел. Идентификация второго желтое тело может свидетельствовать о наличии близнецов (Bergfelt.D.R.Woods .JA .1992).

При проведении УЗИ –диагностики на 21 или 22 день жеребости должна быть видна эмбриональная масса длиной примерно от 4 до 5 миллиметров. Сердцебиение у нормально развивающегося эмбриона проявляется к 24-ому дню, как небольшое мерцание в центре эмбриона. Ранний диагноз беременности должен быть подтвержден через 40-60 дней, принимая во внимание, что наиболее часто эмбриональная смертность регистрируется до 40 дней беременности.

На 60-день проверка на беременность с помощью ультразвука позволит определить отличительные признаки, такие как грудь, живот, голова и позвоночник. Это также период времени, который позволяет определить пол плода. Примерно через 70 дней плод становится слишком большим и не доступным для визуализации. При сроке беременности более 150 дней плод достигает размера более 37см, принимает обычно головное предлежание и исследовать его методом трансректальной визуальной эхографии практически не возможно (Bergfelt D.R., Woods .J. A. and O.J. 1992).

1.6 Патология беременности, родов и послеродового периода

Изменения в развитии эмбриона, а также внутренние и внешние факторы могут оказать заметное влияние на успех беременности. Для более точного определения причин смерти существует три основных классификации, которые следуют за развитием эмбриона. Существует много методов, используемых для определения сроков, называемых «эмбриональным» развитием, по сравнению с тем, что является «внутриутробным» развитием. Чаще всего называют эмбрионом, когда желточный мешок (яйцевые оболочки) используется в качестве источника питания, а развитие органов и внешних анатомических особенностей, уникальных для лошади, является неполным. Стадия плода идентифицируется, когда у лошади изменяются внешние анатомиче-

ские формы, в результате органогенеза формируется пуповина. Как правило, это изменение происходит примерно в то время, когда плацентарная часть эмбриона встраивается в плаценту матки, примерно на 40-50 дней развития (Carnevale E.M., Griffin. P.G. and Ginther 1993).

Классификация эмбриональной смертности:

1. Ранняя эмбриональная смертность. Смерть, которая наступает до установления беременности, на 12-14 день. При этом у кобылы проявляются эстральные циклы. Диагностика затруднительна.

2. Поздняя эмбриональная смертность.

Смерть, которая наступает после подтверждения жеребости, примерно на 40-й день. В этом случае у кобылы будет наблюдаться временные нарушения эстрального цикла.

3. Фетальная (плодная) смертность. Смерть, которая чаще всего наступает в плодный (предплодный) период, начиная со 110 дня, когда происходит формирование всех органов. Такие кобылы должны находиться под наблюдением, их не используют повторно для размножения в том же сезоне. (Givens.M.D. 2008)

Причины эмбриональной смертности.

Данные исследователей показывают, что эмбриональная смертность в 5 - 25% случаях является причиной прерывания беременности у кобыл.

На смерть эмбрионов могут влиять климатические факторы (жара), причиной может быть нарушение инволюции матки, инфекционные, инвазионные болезни, кормовые факторы лошадей (Мартыненко, Н.А. 1971; Дюльгер, Г.П. 2012).

Частой причины потери эмбрионов у кобыл связаны с воздействием различных стресс-факторов. Это может быть усиленная физическая

нагрузка на беременную кобылу (эксплуатационный стресс) (Maischberger. E2008), нарушение структуры рациона и качества корма, климатические воздействия, антропогенный фактор и их сочетание. Такие события, как транспортировка или перегруппировки животных, могут в конечном итоге оказаться слишком стрессовыми для определенных кобыл. Необходимо стараться избегать этих воздействий, особенно для животных, предрасположенных к патологиям, или у которых ранее регистрировалась прерывание беременности в результате потери эмбриона (Милованов, А.П. 1999).

Гормональные нарушения в организме кобыл также являются причиной нарушения протекания беременности. Прогестерон — это гормон, поддерживающий беременность, особенно на ранней стадии. Без достаточного его количества желтое тело будет лизироваться, а эмбрион разрушаться. Инфекция матки может привести к повышению уровня циркулирующего простагландина, что в конечном итоге может способствовать разрушению и прекращению циркуляции прогестерона для поддержания беременности. Возбудители инфекционных болезней могут оказывать комплексное патогенное воздействие на организм жеребкой кобылы, вызывать интоксикацию и гибель эмбриона (Черных В.Г. 2004).

Эмбриональные аномалии.

На нормальный рост и развитие эмбриона большое влияние могут оказывать эндогенные факторы, генетические аномалии, связанные с одним из родителей или обоими родителями. При близкородственном разведении, при неправильном подборе родительских пар, при нарушении сроков оплодотворения происходит мутация генов, снижается качество ооцитов, увеличивается вероятность хромосомных аномалий.

Подтверждено, что частота эмбриональной смерти увеличивается в результате попыток позднего оплодотворения (более 6 часов после овуляции). В этом случае нарушается функциональная способность ооцита, что

приводит в дальнейшем к замедленному эмбриональному развитию (Vil-
lahoz M.D., 1985).

Низкое качество спермы является фактором, влияющим как на резуль-
тативность зачатия у кобылы, так и на эмбриональное развитие. Необходимо
контролировать соблюдение санитарно- гигиенических требований при по-
лучении, разбавлении, хранении спермы, при её транспортировке и при про-
ведении осеменения кобыл.

Причины фетальной смертности.

К патологиям беременности относят эмбриональную смертность в ре-
зультате многоплодной беременности (наличия двойни).

Это связано с тем, что кобылы в процессе эволюционного развития
утратили способность полноценного вынашивания нескольких плодов. В
связи с этим, даже при множественной овуляции, рождение двойни или
тройни у кобылы – очень редкий факт. Исход может быть не благополучный,
как для матери, так и для жеребёнка. Наличие близнецов у кобылы может
способствовать позднему аборту плодов.

Как правило, этот аборт происходит в результате повышенного напря-
жения плода, вызванного недостатком свободного пространства внутри мат-
ки. Кроме того, плацента имеет недостаточную площадь для нормального
обеспечения питанием нескольких плодов в период внутриутробного разви-
тия. Из-за возникающего напряжения матки увеличивается выработка
внутриутробного кортизола (гормона стресса), который инициирует каскад
событий, которые приводят к преждевременному изгнанию (чаще всего) не-
жизнеспособных плодов. Таким образом, многоплодную беременность у ко-
был рассматривают как патологический фактор, который определяется видо-
выми особенностями функционирования их воспроизводительной системы.

Раннее уничтожение одного зародыша является предпочтительным методом профилактики указанной патологии с сохранением жизнеспособности потомства. Это раннее ручное отдавливание одного из эмбрионов под контролем УЗИ лучше всего проводить до 16-го дня, когда эмбрионы еще находятся в мобильной фазе, в свободном движении внутри матки. После этого процедуры становятся более сложными (Туманова У.Н. 2017).

Плацентит или воспаление плаценты

Плацентит является второй по значимости проблемой в период жеребости кобылы, может привести к её преждевременному ослоению, гибели плода и к аборту.

Плацентит чаще всего вызывается восходящей инфекцией, которая в конечном итоге попадает в матку кобылы. В ответ на проникновение бактерий плодные оболочки начинают утолщаться. Поскольку утолщение продолжается, они в конечном счете начинают отделяться от матки в месте воздействия инфекционного агента. Отсутствие плацентарного контакта с маткой может привести к снижению кислорода и питательных веществ для развивающегося жеребенка, к внутриутробной гипоксии, а также к фетоплацентарной недостаточности и аборту. К сожалению, плацентит не имеет выраженных клинических симптомов, поэтому состояние часто остается нераспознанным (Федорова М.В. 1986).

При проведении мониторинга протекания беременности следует проводить гормональные исследования, которые могут помочь в идентификации данного заболевания. Обращают внимание на изменение концентрации прогестерона и количество эстрогена. Гормональные нарушения могут быть признаками поражения плаценты и плода.

Проведение трансректального ультразвукового исследования также может способствовать выявлению патологии по утолщению или по факту преждевременно отделяющейся плаценты.

Кобылы, которые ранее страдали от плацентита, подвержены более высокому риску и могут нуждаться в дополнительной терапии, включая антибиотики, противовоспалительные средства или гормональные добавки (Филиппов О.С. 2009).

Преждевременное отделение плаценты

Преждевременное отделение плаценты чаще всего происходит во время родов, однако это может произойти в середине и на поздних сроках беременности. Стресс во время беременности является частой причиной этого заболевания (Баймурадова С.М. 2006).

В общем состоянии кобылы, как правило, не отмечается никаких отклонений от нормы. При проведении вагинального исследования можно увидеть открытую шейку матки и выпавшую плаценту. Сонографические исследования матки позволяют определить местонахождение отслоившегося участка плаценты, его величину. Симптомы отслойки плаценты у кобылы можно заметить только во время родов. Во время беременности не наблюдается никаких характерных истечений из половых органов кобылы, так как хориоаллантоисная оболочка остается целой (Авдеенко, В.С. 1998).

Плод, все его оболочки и воды, помещенные в целостный хориоаллантоис, выходят одновременно. При исследовании плодовых оболочках можно обнаружить структурные изменения. Этот факт является причиной нарушения развития жеребенка в неонатальный период (Баймурадова С.М. 2006).

ГЛАВА 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследования

Работа выполнена в период с 2017 по 2020 гг. на кафедре диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных ФГБОУ ВО МГАВМиБ–МВА имени К.И. Скрябина.

Аналитическая часть исследований проводилась в 2018 году в условиях центра репродукции лошадей Чаушауа, Тиарет, Алжир.

Экспериментальные работы выполняли в период с 2018 по 2020 год в центре репродукции лошадей «Хартли Хорс Хаус», Московской области, Россия. Морфологические, биохимические, гормональные, коагулометрические исследования крови проводили на базе лаборатории ветеринарной клиники «Свой доктор» ИВЦ МВА. Анализ качества корма и полноценность рационов кормления - в лаборатории кафедры кормления ФГБОУ ВО МГАВМиБ–МВА имени К.И. Скрябина. Оценку морфофункциональных показателей спермопродукции жеребцов с определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов проводили в ФГБУ «ВГНКИ» в отделе качества и стандартизации генетического материала и препаратов, применяемых при воспроизводстве животных.

Объектом исследования служили лошади ганноверской, тракненской и фризской породы, возраста от 4 до 15 лет, под наблюдением находились 20 кобыл и 30 жеребцов. Для оценки состояния кобыл жеребых кобыл применяли клинические, акушерско-гинекологические, УЗИ, проводили гематологические, биохимические исследования крови, анализ качества кормления. Оценивали морфофункциональные показатели спермопродукции жеребцов с определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов. В центре репродукции «Хартли Хорс Хаус» использовали метод искусственного осеменения кобыл замороженной спермой жеребцов.

Методы оценки качества спермы.

В лаборатории центра репродукции лошадей «Хартли Хорс Хаус» проводили визуальную оценку качества свежеполученной спермы жеребцов производителей (исследовали 25 проб) с помощью бинокулярного оптического микроскопа Биомед 3 по следующим показателям: объем, цвет, густота, активность, подвижность спермиев, концентрация, наличие патологических форм спермиев.

В отделе качества и стандартизации генетического материала и препаратов, применяемых при воспроизводстве животных ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» исследовали криоконсервированную сперму по методикам, разработанным ФГБУ «ВГНКИ» и по ГОСТ 32277-2013 «Методы испытаний физических свойств и биологического, биохимического, морфологического анализов». Сперму оценивали в соответствии с ГОСТ 23681-79 и ГОСТ 24168-80.

Определяли качество спермы в лабораторных условиях посредством оценки проб сперматозоидов по следующим показателям: внешний вид, запах, цвет, концентрация, определение подвижности сперматозоидов, определение содержания сперматозоидов с аномальной морфологией, целостность акросомы, индекса фрагментации ДНК.

Оценку выживаемости спермиев проводили в соответствии с ГОСТ 32277-2013 со следующими дополнениями: оттаянную сперму инкубировали в термостате при температуре (37 ± 1) °С в течении 4 ч, после определяли количество сперматозоидов, сохранивших ППД (прямолинейно – поступательные движения).

Концентрацию сперматозоидов определяли в счетных камерах, с помощью измерения светорассеяния, использовали специальные компьютерные про-

граммы, микроскоп ANDRO VIZION (увеличение 100, объектив 10, окуляр 10).

Подвижность сперматозоидов оценивали визуально в раздавленной капле спермы с помощью микроскопа ANDRO VIZION (увеличение 100, объектив 10, окуляр 10). Определяли соотношение количества сперматозоидов с прямолинейно поступательным движением (ППД) к их общему числу.

Оценку концентрации сперматозоидов и анализ их подвижности производили на видеоклипах в формате AVI (захваченных в память компьютера или записанных на жесткий диск). Алгоритм анализа построен с учетом требований руководства ВОЗ WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen (5-е издание 2010).

Изучали следующие параметры:

VCL = криволинейная скорость (микрон/сек). Усредненная по времени скорость движения сперматозоида вдоль его реальной траектории, как она воспринимается в двухмерном пространстве под микроскопом.

VSL = прямолинейная скорость (микрон/сек). Усредненная по времени скорость движения сперматозоида вдоль линии, проведенной между начальной и конечной точкой траектории.

VAP = средняя скорость по траектории (микрон/сек). Усредненная по времени скорость движения сперматозоида по усредненной траектории.

LIN = линейность. Линейность реальной траектории.

STR = прямолинейность. Линейность средней траектории.

BCF = частота биения головки (биений/сек). Средняя частота, с которой реальная траектория сперматозоида пересекает усредненную траекторию.

ALH = амплитуда бокового смещения головки. Отклонение головки относительно средней траектории.

WOB = колебание. Величина, описывающая колебание реальной траектории относительно усредненной, VAR/VCL.

MAD = среднее угловое смещение. Угол поворота головки сперматозоида относительно реальной траектории.

По всем параметрам проводился статистический анализ.

Для определения целостности акросом головки сперматозоидов был применен ускоренный метод окраски при помощи красителя Дифф-Квик. Приготовленный образец микрофотографировали с иммерсионной системой микроскопа при увеличении $\times 600$. В норме у сперматозоидов акросома окрашивается в розовый или коричневый цвет, а при патологии органоид приобретает частичную окраску. При отсутствии акросомы головка сперматозоида красится равномерно в один цвет и дифференцировка головки и акросомы не наблюдается. В каждом препарате подсчитывали не менее 100 сперматозоидов. Отдельно считали количество сперматозоидов с интактной и с поврежденной акросомой (в том числе сперматозоиды без акросомы).

При определении индекса фрагментации ДНК проводили обнаружение нарушений в хроматине и их количественную оценку с использованием цитохимического метода – окрашивания акридиновым оранжевым. Микрофотографировали с использованием флуоресцентного микроскопа. В каждом препарате подсчитывают не менее 100 сперматозоидов. Отдельно считали сперматозоиды с целой и фрагментированной ДНК. Сперматозоиды с фрагментированной ДНК окрашиваются в красный цвет, а целые в зеленый.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием компьютерной программы BioStat.

Методы ультразвукового исследования.

С помощью аппарата MyLab™ Delta VET компания «Esaote» проводили УЗИ мониторинг овуляции у кобыл (каждые 6 часов) и жеребости.

Методы гематологических исследований.

Исследование крови проводили в первый и второй период беременности кобылы. Кровь брали из яремной вены утром до кормления в вакуумные пробирки (vacuette). Место инъекции обрабатывали медицинским спиртом. Исследование крови проводили в лаборатории с помощью EOC Bravo 200 - автоматического биохимического анализатора, Hema ScreenVet и PCE-90 Vet – гематологического анализатора, иммуноферментного анализатора - ChemWell.

Оценка качества корма.

Оценку качества кормов и кормовых добавок проводили с использованием аналитического анализатора в соответствии с методиками, изложенными в книге «Зоотехнический анализ кормов» Е. А. Петуховой и др., 1989. Расчет питательности рационов кобыл с использованием компьютерных программ на кафедре кормления и кормопроизводства.

Статистическая (биометрическая) обработка Анализ полученных цифровых данных проводили по общепринятым методам с помощью программы «Imag Score». Оценку статистической значимости различий исследуемых показателей осуществляли с использованием критерия Стьюдента. Критерий достоверности различий по Стьюденту признаны при $P < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Организация случной компании в условиях племенных коневодческих ферм и частных конюшен Алжира и в Центре репродукции «Хартли Хорс Хаус» России

Исследования проводили в 2017- 2019 году в условиях центра репродукции лошадей Чаушауа, Тиарет, Алжир и в «Хартли Хорс Хаус», Московской области, Россия.

Старейший в Африке центр репродукции лошадей Чаушауа, Тиарет-был создан в 1877 году военным министерством Франции. Этот центр, признанный национальным историческим и туристическим памятником в 1999 году, занимает площадь более 804 гектаров. В нем содержатся 239 чистокровных арабских и 80 берберских лошадей. Центр репродукции лошадей проводит исследования в области их фертильности. В воспроизводстве лошадей используются методы естественной случки. Применяют косячное (пастбищное) и ручное спаривание.

Установлено, что способ косячного спаривания широко используется в табунном коневодстве в условиях частных конюшен Алжира. Формируют группы кобыл с жеребцами – производителями в расчете: за 25-30 кобылами в группе (косяке) закрепляется один жеребец, которого постоянно содержат на пастбище вместе с кобылами. Жеребца держат в косяке в течение всего случного периода. Он сам выбирает кобыл в половой охоте, делает многократные садки и покрывает их.

В Центре репродукции лошадей Чаушауа, Тиарет для воспроизводства кобыл применяется ручной способ. Лошадей к нему готовят до начала случного периода. Особое внимание обращают на поддержание нормальной упитанности.

Ручная случка кобыл проводится под контролем специалистов в манеже, половая нагрузка на жеребца – производителя в среднем составляет 60 кобыл за сезон, при этом не учитывается распределение нагрузки по возрасту отдельных жеребцов и индивидуальной потенции.

Кобыл с хорошо выраженными признаками половой охоты заводят в случной манеж, пары случают несколько раз до окончания периода половой охоты. Кобылу перед случкой фиксируют с помощью специальной шлейки, хвост забинтовывают, при садке отводят в сторону, чтобы исключить травмирование жеребца. При неудачной садке жеребца подводят через некоторое время повторно. Обращают внимание на время окончания садки с полным извержением спермы, которое определяют по легкому движению хвоста жеребца сверху вниз.

Выявленные основные недостатки при организации воспроизводства лошадей в Центре репродукции лошадей Чаушауа, Тиарет.

1. Перед случным сезоном не проводится акушерско-гинекологическая диспансеризация кобыл.
2. Не всегда оценивается качество спермы жеребцов и микробная контаминация (в условиях частных конюшен не оценивается вообще).
3. Нередки случаи пропусков половых циклов у кобыл, существует возможность распространения заболеваний, передающихся половым путем.
4. Практически не проводится контроль овуляции (фолликулометрия), ранняя диагностика и ультразвуковой мониторинг жеребости кобыл.

Установлено, что используемое в условиях частных конюшен Алжира косячное (пастбищное) спаривание не совсем пригодно для воспроизводства племенных лошадей. Наблюдалось нанесение травм животными друг другу, не всегда удавалось установить точный срок осеменения кобылы и имел место риск распространения заболеваний, передающихся половым путем.

При ручном спаривании лошадей снижался риск травматизма, существовала возможность более точного ведения племенного учёта. Однако оставалась вероятность распространения половой инфекции и пропуска половых циклов.

Установлены основные причины нарушения воспроизводительной способности кобыл: нарушения половой цикличности (анафродизия), аборт, гинекологические заболевания. Нарушение половой цикличности наблюдали у 15% кобыл. Частота возникновения абортов у кобыл составляла от 5 до 15%. Аборты происходили чаще всего с 4 месяца (недостаточность развития плода и патология плаценты). Задержание последа и послеродовые гинекологические болезни регистрировались у 25% животных.

Разведение лошадей в Алжире является очень важным экономическим, социальным и культурным сектором, поэтому необходимо обеспечивать его развитие и совершенствование.

«Хартли Хорс Хаус» - центр репродукции в Шаховском районе Московской области. Специализируется на разведении ганноверской, вестфальской, фризской пород лошадей. В воспроизводстве используются методы искусственного осеменения, трансплантация эмбрионов. В криобанке Центра представлено замороженное семя ведущих конкурных и выездковых жеребцов-производителей Европы Diamant de Semilly, Cornet Obolensky, Contendro I, Quaterhit, Revolution и др.

Проводили подготовку кобыл к искусственному осеменению. Всего под наблюдением находились 20 кобыл ганноверской породы, массой 450-500кг, возраста от 4 до 15 лет. За месяц до осеменения кобыл были завершены все ветеринарно-профилактические мероприятия. Была проведена акушерско-гинекологическая диспансеризация.

Исследовали кровь кобыл на вирусный артериит (*Arteritis infectiosa equorum*), делали посевы из репродуктивного тракта для исключения наличия патологической микрофлоры.

Проводили ультразвуковое обследование, чтобы оценить состояние яичников и матки на предмет наличия или отсутствия патологии и оценки способности кобыл к репродукции. Визуально выявляли кобыл в охоте, проводили осмотр, УЗИ яичников и матки, определяли по размерам фолликулов и изменению структуры и размера стенки матки готовность кобылы к осеменению.

С помощью аппарата MyLab™ Delta VET компания «Esaote» проводили ультразвуковой мониторинг овуляции у кобыл (каждые 6 часов) и диагностику жеребости. Визуализация на мониторе мелких фолликулов (от 2 до 5 мм) при отсутствии желтых тел свидетельствовала об анэструсе. УЗ – изображения тела и рогов матки имели темные очертания и границы, яичники на эхограмме выглядели как округлые тела небольшого размера с неясной структурой и множеством мелких округлых анэхогенных образований – преантральные и антральные фолликулы.

В период эструса при проведении УЗИ - диагностики выявляли структурные преобразования в половом аппарате кобылы: характерный дольчатый вид на УЗ- изображении поперечного среза рога матки; продольная складчатость эндометрия тела матки, максимально возрастающая на 3 день половой охоты; скопление незначительного количества слизи, в просвете тела матки в виде анэхогенного участка, как результат активной пролиферации желёз эндометрия (Рисунок 1). Расслабление шейки матки в этот период не имело четко выраженной картины на эхограмме и оценивалось методом пальпации.



Рисунок 1 Незначительное скопление слизи в матке. 3 дня до овуляции.

При проведении УЗ - исследований яичников у кобыл фолликулы визуализировались в виде анэхогенных (черных) круглых образований (Рисунок 2).



Рисунок 2 Левый яичник с фолликулом. D₁ -38,6 мм x D₂- 44,6мм.

За 3 дня до овуляции.

Проводили контроль фолликулогенеза. В левом яичнике по времени приближения к овуляции (в среднем за 24 часа до овуляции) стенка фолликула истончалась, изменялась его форма (Рисунок 3). За 12-24 часа до овуляции происходило сглаживание складчатости эндометрия.

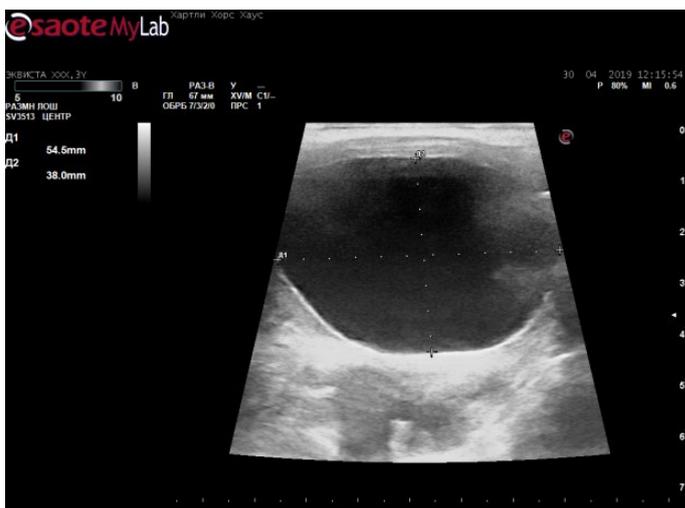


Рисунок 3 Левый яичник с фолликулом. D_1 -54,2 мм D_2 - 38,0 мм.
За 2 суток до овуляции.

За 12ч (1 сутки) до овуляции развивается один или два преовуляторных (лидирующих) фолликулов размером 50-60 мм. Он визуализировались в виде анэхогенного образования неправильной формы – округлой или вытянутой в направлении овуляционной ямки (Рисунок 4). Этот признак определял время осеменения кобылы.

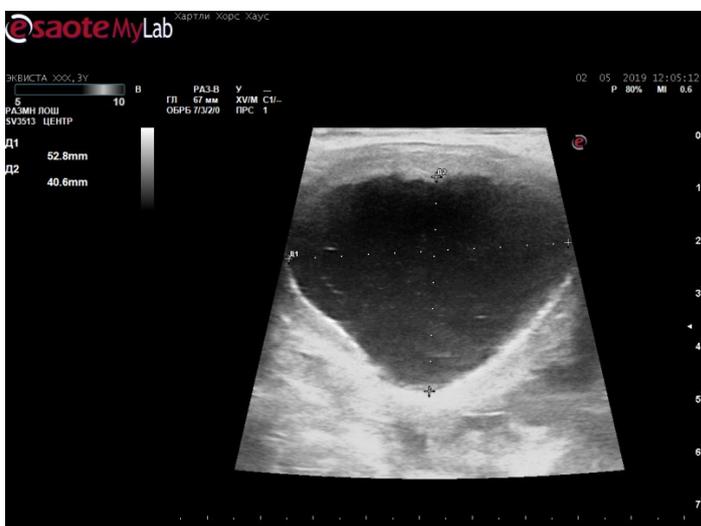


Рисунок 4 Вытянутый в направлении овуляционной ямки фолликул.
За 1 сутки до овуляции.

Из-за дегенерации и слущивания гранулезных клеток со стенки фолликула повышается эхогенность фолликулярной жидкости. Это также является дополнительным критерием (Рисунок 5).



Рисунок 5 Наличие мелких эхогенных частиц внутри фолликулярной жидкости. За 10 ч до овуляции.

Каждые 6 часов проводили ультразвуковой мониторинг овуляции у кобыл, при приближении момента овуляции, каждые 3 час.

При проведении УЗ – исследований процесс овуляции констатировали по исчезновению анэхогенной области в преовуляторном фолликуле и появлению неравномерного окрашивания структуры – стадия заполнения фолликулярной полости кровью (Рисунок 6).



Рисунок 6 Заполнения фолликулярной полости кровью после овуляции.

В правом яичнике визуализировалось желтое тело (Рисунок 7).



Рисунок 7 Желтое тело в правом яичнике. Через 3дня после овуляции.

При выраженной половой охоте кобыл осеменяли в день её выявления.

В лаборатории центра репродукции лошадей «Хартли Хорс Хаус» проводили оценку качества спермы 10 жеребцов – производителей ганноверской породы по следующим показателям: объем, цвет, густота, активность, подвижность спермиев, концентрация, наличие патологических форм спермиев.

Свежеполученная сперма:

Установлено, что цвет спермы - от молочно-серого до молочно-желтого, средний объем эякулята составлял 80-100мл. У жеребцов более старшего возраста (старше 20 лет) - 35-40 мл. Концентрация спермиев 0,15 - 0,25 млрд в мл. Наличие патологических форм спермиев – менее 20%.

Свежеполученная сперма - густая, активность свежеполученной спермы была 6 -7 баллов, у некоторых жеребцов до 9 баллов. Сперма с активностью ниже 5 баллов не использовалась для осеменения.

Размороженная после глубокой заморозки сперма – средняя, активность - 4-5 баллов. Наличие патологических форм спермиев – менее 25%.

В отделе качества и стандартизации генетического материала и препаратов, применяемых при воспроизводстве животных ФГБУ «Все-российский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» проводили оценку морфо-функциональных показателей спермопродукции жеребцов с определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов.

Определяли внешний вид, запах, цвет, концентрация, определение подвижности сперматозоидов, определение содержания сперматозоидов с аномальной морфологией, целостность акросомы, индекса фрагментации ДНК.

При определении целостности акросом сперматозоидов использовали ускоренный метод окраски при помощи красителя Дифф-Квик.

При определении индекса фрагментации ДНК использовали цитохимический метод окрашивания акридиновым оранжевым.

Результаты исследований спермопродукции 7 жеребцов ганноверской породы.

1. Жеребец №1

- **Внешний вид спермопродукции** определяли органолептически, у жеребца №1 - однородная жидкость без посторонних примесей;
- **Цвет спермы.** Определяют визуально при хорошем естественном или искусственном освещении, у жеребца №1 **сперма молочного цвета**;
- **Объем дозы, см³.** Определяли в градуированных спермоприемниках или мерной стеклянной пипеткой, у жеребца №1 - **5 см³**, соответствует нормам ГОСТ;
- **Выживаемость сперматозоидов при температуре 37°C, ч.** Оценку выживаемости проводили по ГОСТ 32277 со следующими дополнениями, оттаянную сперму инкубируют в термостате при температуре (37+₋ 1) °C в течении 4 ч, после определяют количество сперматозоидов, сохранивших ППД, у жеребца №1 - **4 ч (ппд – 13,17%)**;
- **Концентрация сперматозоидов.** В норме концентрация сперматозоидов у жеребцов не менее 35 млн/мл, по анализу образца спермы жеребца №1 концентрация равна **13,16 млн/мл**, что не соответствует нормам ГОСТ. Данная проблема указывает на необходимость обратить внимание на правильность использования методики заморозки и оттаивания спермапродукции;
- **Определение подвижности сперматозоидов.**
В норме у жеребцов подвижность сперматозоидов не менее 25 % с прямолинейно-поступательным движением (ППД), у жеребца №1 – **24, 36**, что не соответствует нормам ГОСТ.
- **Количество сперматозоидов с интактной акросомой, %.**
В каждом препарате подсчитывается не менее 100 сперматозоидов. От-

дельно считали количество сперматозоидов с интактной и с поврежденной акросомой (в том числе сперматозоиды без акросомы).

У жеребца №1 - 98% сперматозоидов с интактной акросомой, что свидетельствует о хорошем качестве спермы. Норма - не более 50% с интактной акросомой.

- **Количество сперматозоидов с аномальной морфологией, %.**

Сущность метода заключается в посчете под микроскопом патологических форм сперматозоидов и включений спермы. В норме у жеребцов не более 20% с аномальной морфологией.

У жеребца №1 – 10%, что соответствует нормам ГОСТ.

- **Индекс фрагментации ДНК.** В задачу исследования входило обнаружение нарушений в хроматине и их количественная оценка с использованием цитохимического метода – окрашивания акридиновым оранжевым. Микроскопировали с использованием флуоресцентного микроскопа. Сперматозоиды с фрагментированной ДНК окрашиваются в красный цвет, а целые в зеленый. У жеребца №1 – 4% с фрагментированной ДНК индекс в пределах нормы. Согласно ряду данных, полученных зарубежными исследователями, в используемой сперме, предназначенной для искусственного осеменения индекс фрагментации ДНК, не превышает 30%.

Появление различных повреждений ДНК может быть обусловлено возрастом животных, инфекционными заболеваниями, наличием хронических или острых воспалительных патологий, загрязнением окружающей среды, температурным стрессом и т.п. Сперму от таких жеребцов нельзя использовать для осеменения кобыл.

2. Жеребец №2

- **Внешний вид спермопродукции** определяли органолептически, у жеребца №2 - однородная жидкость без посторонних примесей;

- **Цвет спермы** определяли визуально при хорошем естественном или искусственном освещении, у жеребца №2 сперма молочного цвета;
- **Объем дозы, см³** · Определяли в градуированных спермоприемниках или мерной стеклянной пипеткой, у жеребца №2 - 5 см³, соответствует нормам ГОСТ;
- **Выживаемость сперматозоидов при температуре 37°С, ч.**
У жеребца №2 - 4 ч (ппд – 8,78%);
- **Концентрация сперматозоидов.** В норме концентрация сперматозоидов у жеребцов составляет не менее 35 млн/мл, по анализу образца жеребца №2 концентрация равна **15,62 млн/мл**, что не соответствует нормам ГОСТ. Данная проблема указывает на необходимость обратить внимание на правильность использования методики заморозки и оттаивания спермапродукции;
- **Определение подвижности сперматозоидов.**
В норме у жеребцов не менее 25 % с прямолинейно-поступательным движением (ППД), у жеребца №2 – **35,29**, что соответствует нормам ГОСТ.
- **Количество сперматозоидов с интактной акросомой, %.**
У жеребца №2 - **95%** спермиев с интактной акросомой акросомой, что говорит о хорошем качестве спермы. Норма - не более 50% сперматозоидов с интактной акросомой.
- **Количество сперматозоидов с аномальной морфологией, %.**
В норме у жеребцов не более 20% сперматозоидов с аномальной морфологией. У жеребца №2 – **9%**, что соответствует нормам ГОСТ.
- **Индекс фрагментации ДНК.** У жеребца №2 – **1%** спермопродукции с фрагментированной ДНК, что соответствует норме. Согласно ряду данных, полученных зарубежными исследователями, в используемой сперме, предназначенной для искусственного осеменения индекс фрагментации ДНК, не превышает 30%.

3. Жеребец № 3

- **Внешний вид спермопродукции** определяли органолептически, у жеребца №3 сперма представляла собой однородную жидкость без посторонних примесей;
- **Цвет спермы.** Определяли визуально при хорошем естественном или искусственном освещении, у жеребца №3 - **молочного цвета**;
- **Объем дозы , см³.** Определяли в градуированных спермоприемниках или мерной стеклянной пипеткой, у жеребца №3 - **5 см³** , соответствует нормам ГОСТ;
- **Выживаемость сперматозоидов при температуре 37°С, ч.**
У жеребца №3 - **4 ч (ппд – 11,16%)**;

- **Концентрация сперматозоидов.**

- В норме концентрация сперматозоидов у жеребцов составляет не менее 35 млн/мл, по анализу образца жеребца №3 концентрация равна **24.27 млн/мл**, что не соответствует нормам ГОСТ. Данная проблема указывает на необходимость обратить внимание на правильность использования методики заморозки и оттаивания спермопродукции;

- **Определение подвижности сперматозоидов.**

В норме у жеребцов не менее 25 % с прямолинейно-поступательным движением (ППД), у жеребца №3 – **27,18**, что соответствует нормам ГОСТ.

- **Количество сперматозоидов с интактной акросомой, %.**

- У жеребца №3 - **99%** спермиев с интактной акросомой , что свидетельствует о хорошем качестве спермы, так как норма варьируется не более 50% с интактной акросомой.

- **Количество сперматозоидов с аномальной морфологией, %.**

В норме у жеребцов не более 20% с аномальной морфологией. У жеребца №3 – **17%**, что соответствует нормам ГОСТ.

- **Индекс фрагментации ДНК.** Микроскопировали с использованием флуоресцентного микроскопа. Сперматозоиды с фрагментированной ДНК окрашиваются в красный цвет, а целые в зеленый. У жеребца № 3 – 0-% с фрагментированной ДНК, что соответствует норме. Согласно ряду данных, полученных зарубежными исследователями, в используемой сперме, предназначенной для искусственного осеменения индекс фрагментации ДНК, не превышает 30%.

4. Жеребец №4

- **Внешний вид спермопродукции** определяли органолептически, у жеребца №4 - однородная жидкость без посторонних примесей;
- **Цвет спермы.** Определяли визуально при хорошем естественном или искусственном освещении, у жеребца №4 сперма **молочного цвета**;
- **Объем дозы, см³.** Определяли в градуированных спермоприемниках или мерной стеклянной пипеткой, у жеребца №4 - **5 см³**, соответствует нормам ГОСТ;
- **Выживаемость сперматозоидов при температуре 37°C, ч.**
Оценку выживаемости проводили по ГОСТ 32277 со следующими дополнениями, оттаянную сперму инкубируют в термостате при температуре (37+₋ 1) °С в течении 4 ч, после определяют количество сперматозоидов, сохранивших ППД, у жеребца №4 - **4 ч (ппд – 5,16%)**;
- **Концентрация сперматозоидов.**
- В норме концентрация сперматозоидов у жеребцов составляет не менее 35 млн/мл, по анализу образца жеребца №4 концентрация равна **14,62 млн/мл**, что не соответствует нормам ГОСТ. Данная проблема указывает на необходимость обратить внимание на правильность использования методики заморозки и оттаивания спермапродукции;

- **Определение подвижности сперматозоидов.**

В норме у жеребцов не менее 25 % с прямолинейно-поступательным движением (ППД), у жеребца №4 – 16,76, что не соответствует нормам ГОСТ.

- **Количество сперматозоидов с интактной акросомой, %.**

У жеребца №4 - 92% спермиев с интактной акросомой акросомой, что говорит о хорошем качестве спермы, так как норма варьируется не более 50% с интактной акросомой.

- **Количество сперматозоидов с аномальной морфологией, %.**

В норме у жеребцов не более 20% с аномальной морфологией. У жеребца №4 – 13%, что соответствует нормам ГОСТ.

- **Индекс фрагментации ДНК.**

У жеребца № 4 – 0-% с фрагментированной ДНК, что соответствует норме. Согласно ряду данных, полученных зарубежными исследователями, в используемой сперме, предназначенной для искусственного осеменения индекс фрагментации ДНК, не превышает 30%.

5. Жеребец №5

- **Внешний вид спермопродукции** определяли органолептически, у жеребца №5 - однородная жидкость без посторонних примесей;

- **Цвет спермы** определяли визуально при хорошем естественном или искусственном освещении, у жеребца №5 сперма **молочного цвета**;

- **Объем дозы**, см³. Определяли в градуированных спермоприемниках или мерной стеклянной пипеткой, у жеребца №5 - 5 см³, соответствует нормам ГОСТ;

- **Выживаемость сперматозоидов при температуре 37°C, ч.**

Выживаемость спермиев жеребца №5 - 4 ч (ппд – 3,52%);

- **Концентрация сперматозоидов**

- В норме концентрация сперматозоидов у жеребцов составляет не менее 35 млн/мл, по анализу образца жеребца №5 концентрация равна

2,4 млн/мл, что не соответствует нормам ГОСТ. Данная проблема указывает на необходимость обратить внимание на правильность использования методики заморозки и оттаивания спермапродукции;

- **Определение подвижности сперматозоидов.**

В норме у жеребцов не менее 25 % с прямолинейно-поступательным движением (ППД), у жеребца №5 - 23,98 % что не соответствует нормам ГОСТ.

- **Количество сперматозоидов с интактной акросомой, %.**

У жеребца №5 - 87% спермиев с интактной акросомой акросомой, что свидетельствует о хорошем качестве спермы, так как норма варьируется не более 50% с интактной акросомой.

- **Количество сперматозоидов с аномальной морфологией, %.**

В норме у жеребцов не более 20% с аномальной морфологией. У жеребца №5 – 15%, что соответствует нормам ГОСТ.

- **Индекс фрагментации ДНК.**

У жеребца № 5 – 3% с фрагментированной ДНК, в пределах нормы. Согласно ряду данных, полученных зарубежными исследователями, в используемой сперме, предназначенной для искусственного осеменения индекс фрагментации ДНК, не превышает 30%.

Анализ проведенных исследований показал, что в соответствии с ГОСТ 24168/2017 «Средства воспроизводства. Сперма жеребцов замороженная» по основным показателям сперма отвечает техническим условиям, за исключением показателя концентрации сперматозоидов (Таблица 1).

Таблица 1 Оценка морфофункциональных показателей замороженной спермы жеребцов

Показатели / № жеребца	1	2	3	4	5	M±m	норма
Внешний вид	Однородная жидкость без посторонних примесей	-	Однородная жидкость без посторонних примесей				
Цвет	Молочного цвета	-	Молочного цвета				
Объем дозы, см³	5	5	5	5	5	5	не менее 3
Выживаемость при температуре 37°C, ч	4 (ппд – 13,17%)	4 (ппд – 8,78%)	4 (ппд – 11,16%)	4 (ппд – 5,16%)	4 (ппд – 3,52%)	4	не менее 4
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	13,16	15,62	30,42	14,62	2,92	15,35 ± 4,92	не менее 35
Подвижность сперматозоидов, %	24,36	35,29	27,18	16,76	23,98	25,51 ± 3,34	не менее 25
Количество сперматозоидов с интактной акросомой, %	98	95	99	92	87	94,20 ± 2,43	не менее 50
Количество сперматозоидов с аномальной морфологией, %	10	9	17	13	15	12,80 ± 1,67	не более 20
Индекс фрагментации ДНК	4	1	-	-	3	1,60 ± 0,91	Не более 30

В результате проведенных исследований спермы жеребцов было установлено следующее:

Внешний вид - однородная жидкость без посторонних примесей (соответствует нормам ГОСТ 24168/2017).

Цвет спермы – молочный (соответствует нормам ГОСТ 24168/2017).

Объем дозы - 5 см³(соответствует нормам ГОСТ 24168/2017).

Выживаемость при температуре 37°С после 4 часов: у жеребца №1 - 13,17%; у жеребца №2 - 8,78%, у жеребца №3 - 11,16%; у жеребца №4 - 5,16%; у жеребца №5 - 3,52% сперматозоидов сохранили прямолинейно-поступательные движения (соответствует нормам ГОСТ 24168/2017).

Концентрация сперматозоидов в сперме у жеребцов после её разморозки в норме должна быть не менее 35 млн/мл. У жеребца №1 – 13,16 млн/мл, у жеребца №2 - 15,62 млн/мл, у жеребца №3 - 30,42 млн/мл; у жеребца №4 – 14,62 млн/мл; у жеребца №5 – 2,92 млн/мл. В среднем по группе показатель составил 15,35±4,92 млн/мл, что не соответствует нормам ГОСТ 24168/2017.

Данная проблема указывает на необходимость обратить внимание на правильность методики заморозки и оттаивания спермопродукции.

Подвижность сперматозоидов в сперме у жеребцов после разморозки в норме должна быть не менее 25 % спермиев с прямолинейно-поступательным движением (ППД).

Анализ образцов спермы показал, что подвижность сперматозоидов у жеребца №1–24,36%, что не соответствует нормам ГОСТ (Рисунок 8); у жеребца №2 -35,29%, что соответствует нормам ГОСТ; у жеребца №3 – 27,18%, что соответствует нормам ГОСТ; у жеребца №4 -16,76%, что не соответствует нормам ГОСТ; у жеребца №5 – 23,98, что не соответствует нормам ГОСТ. В среднем по группе показатель составил 25,51 ±3,34 %, что соответствует нормативным показателям ГОСТ 24168/2017.

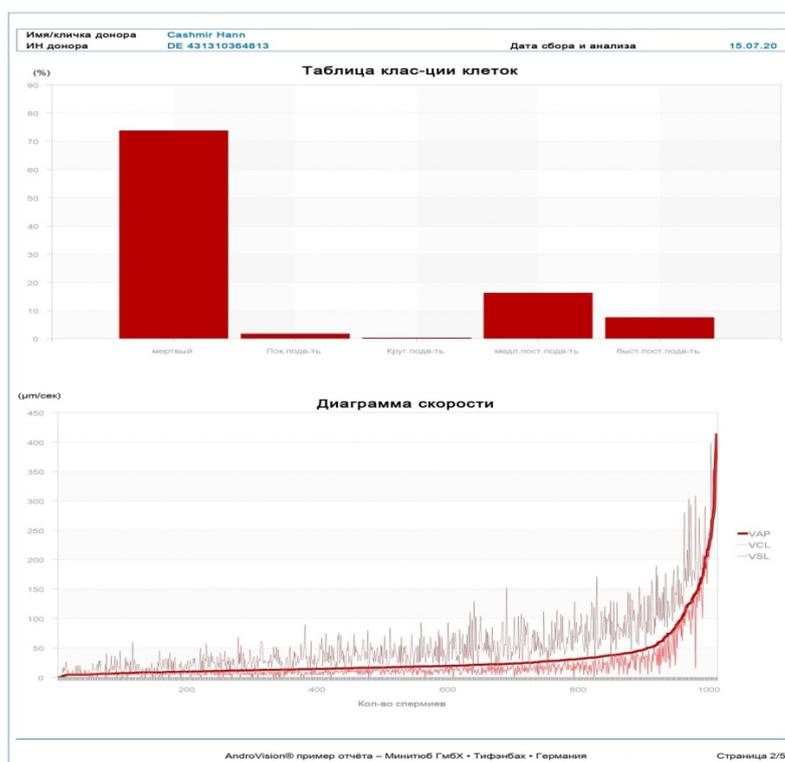


Рисунок 8 Диаграмма подвижности сперматозоидов в сперме жеребца №1

Количество сперматозоидов с интактной акросомой в сперме у жеребцов после разморозки в норме должна быть не менее 50%. Анализ образцов спермы показал наличие у жеребца №1 - 98%, у жеребца №2- 95%, у жеребца №3 – 92%, у жеребца № 4 – 92%, у жеребца № 5 -87% спермиев с интактной акросомой (Рисунок 9). В среднем по группе показатель составил $94,20 \pm 2,43\%$. Полученные результаты свидетельствуют о хорошем качестве спермы, что соответствует нормативным показателям ГОСТ 24168/2017.

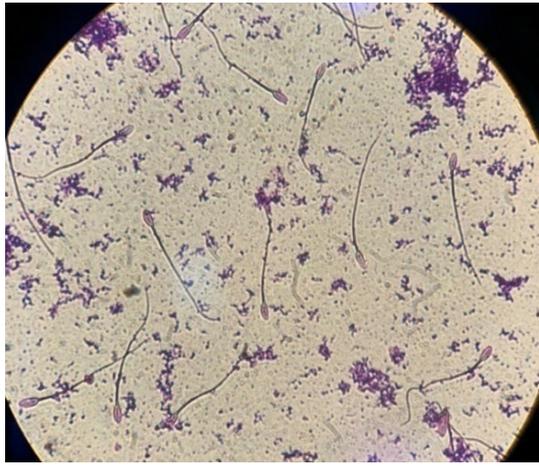


Рисунок 9 Сперматозоиды жеребца с поврежденной акросомой (увеличение x 100)

Количество сперматозоидов с аномальной морфологией в сперме у жеребцов после разморозки в норме не должно превышать 20%. Анализ образцов спермы показал наличие у жеребца №1 - 10% , у жеребца №2- 9%, у жеребца №3 – 17%, у жеребца № 4 – 13%, у жеребца № 5 - 15% сперматозоидов с аномальной морфологией – закрученные хвостики сперматозоидов (Рисунок 10) и агглютинация сперматозоидов (Рисунок 11) . В среднем по группе показатель составил $12,80 \pm 1,67\%$. Полученные результаты соответствует нормам ГОСТ 24168/2017.

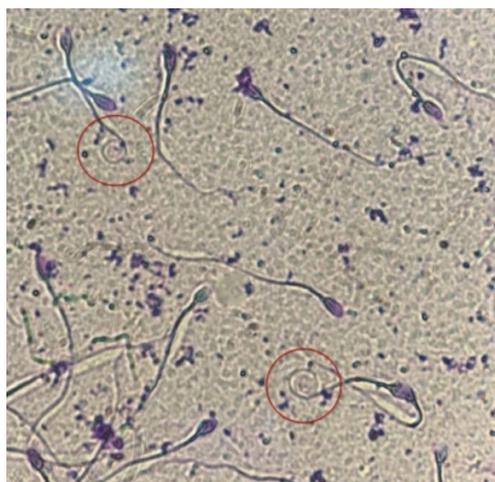


Рисунок 10 Закрученные хвостики сперматозоидов жеребца (увеличение x 100)

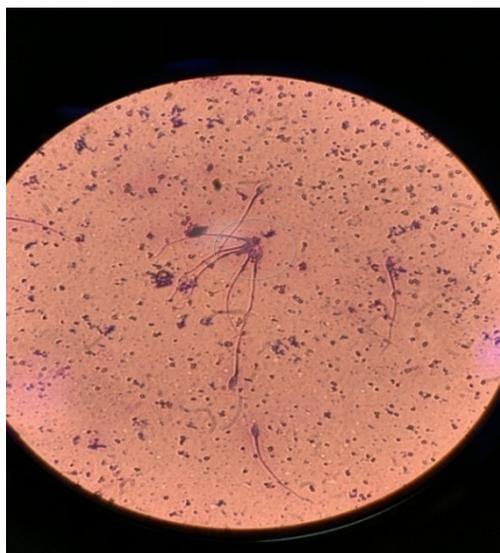


Рисунок 11 Агглютинация сперматозоидов жеребца (увеличение $\times 100$)

Индекс фрагментации ДНК в сперме у жеребцов после разморозки в норме не должно превышать 30%. Анализ образцов спермы показал наличие у жеребца №1 - 4% , у жеребца №2- 1% , у жеребца № 5 - 3% сперматозоидов с фрагментированной ДНК (Рисунок 12). У жеребца №3 и № 4 повреждений ДНК сперматозоидов не было обнаружено (Рисунок 13). В среднем по группе показатель составил $1,60 \pm 0,91$. Полученные результаты свидетельствуют о хорошем качестве спермы.

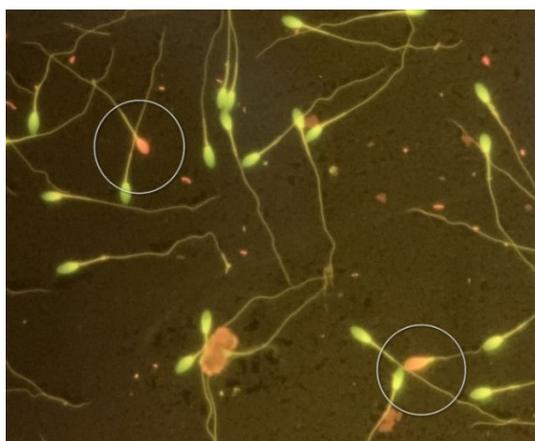


Рисунок 12 Сперматозоиды жеребца с фрагментированной ДНК (увеличение $\times 65$)

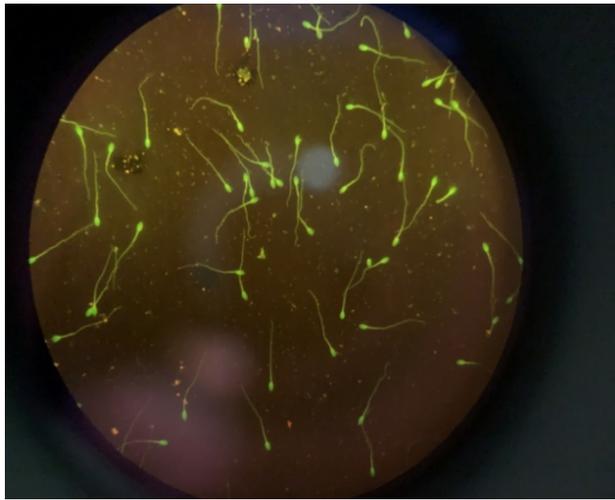


Рисунок 13 Сперматозоиды жеребца без повреждения ДНК (увеличение x 65)

Проводили подготовку кобылы и оборудования для осеменения (Рисунок 14, 15).



Рисунок 14 Подготовка кобылы к осеменению



Рисунок 15 Подготовка оборудования и кобылы к осеменению

Осеменяли кобыл свежеполученной или размороженной спермой ви-зоцервикальным и маночерикальным методами. Стиллет-пипетку со спермой вводили непосредственно в шейку матки, далее в рог матки (Рисунок 16), где происходила овуляция (которую определяли методом УЗ-исследований). Всего было осеменено 20 кобыл, за которыми в дальнейшем проводили наблюдение.

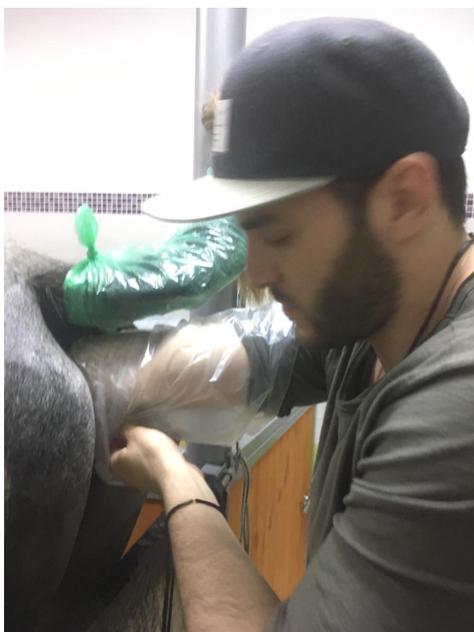


Рисунок 16 Осеменение кобылы

3.2 Мониторинг жеребости кобыл и состояния плода в различные периоды его развития. Оценка санитарно-гигиенических норм содержания и кормления кобыл.

Мониторинг жеребости кобыл и состояния плода в различные периоды его развития.

С помощью аппарата MyLab™ Delta VET компания «Esaote» проводили ультразвуковой мониторинг жеребости 20 кобыл возраста от 5 до 15 лет.

Через 24ч после осеменения проводили УЗИ осемененных кобыл на наличие желтого тела и гинекологический осмотр.

После овуляции фолликула на эхограмме визуализировали стадию образования желтого тела (Рисунок 17).



Рисунок 17 Стадия образования желтого тела после овуляции фолликула.

Через 14 дней после осеменения проводили контроль его результативности. При УЗ исследовании выявляли плодное яйцо в роге матки (Рисунок 18). В яичнике визуализировали эхогенное желтое тело беременности и мелкие фолликулы.

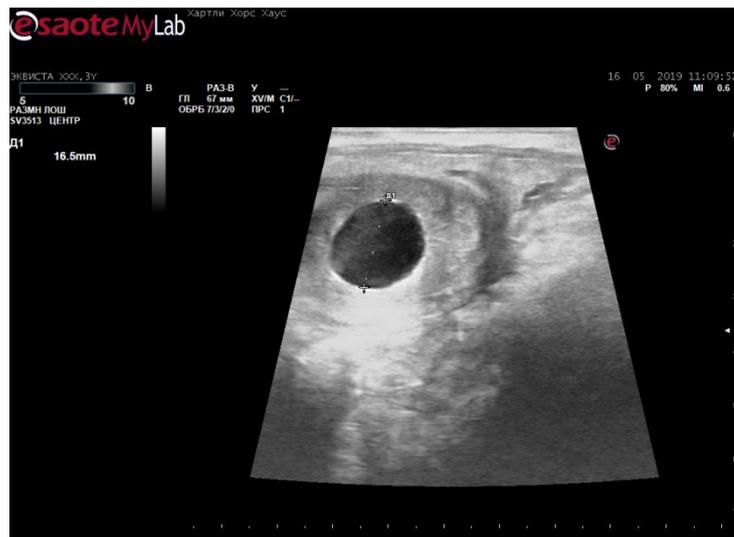


Рисунок 18 Плодное яйцо в роге матки. D- 16,5 мм.

Через 30 дней после осеменения проводили контроль жеребости – на эхограмме визуализировался развивающийся эмбрион. Он занимает срединное положение в эмбриональном пузырьке. Хорошо просматривается работающее сердце (Рисунок 19). В яичнике – средние и мелкие фолликулы, эхогенное желтое тело беременности.

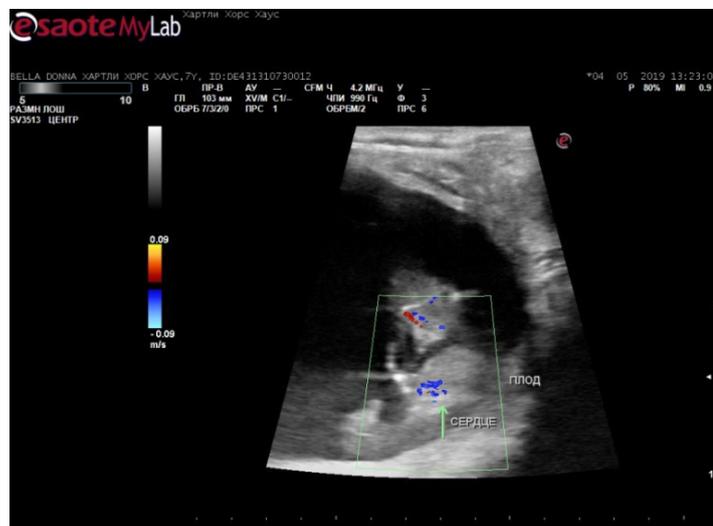


Рисунок 19 Развивающийся эмбрион на 30 день после осеменения кобылы.

На 65-70 день жеребости в теле плода были видны эхогенные хрящевые структуры, как закладки осевого скелета и конечностей. В яичниках визуализировались несколько желтых тел разных стадий лютеинизации и

фолликулы на разных стадиях созревания. С точностью до 90% возможно было определить пол будущего жеребенка.

На 75-95 день жеребости УЗИ – исследование плода становилось затруднительно, так как он располагается глубже в матке. В яичниках визуализировались желтые тела и фолликулы на разных стадиях созревания и лютеинизации.

На 95-150 день жеребости плод частично (фрагментарно) был доступен для УЗИ при фокусировке на большую глубину. Визуализировали внутренние органы, глаза, частично осевой и периферический скелет, сосуды. В яичниках наблюдались желтые тела и крупные лютеинизированные фолликулы.

После 150 дня жеребости и до выжеребки УЗИ плода проводили по особым показаниям при наличии признаков патологии.

Оценка санитарно-гигиенических норм содержания и кормления кобыл.

Анализ условий содержания кобыл (Рисунок 20, 21) показал соответствие их санитарно-гигиеническим требованиям: помещения внутри конюшни сухие, светлые, хорошо вентилируемые, без сквозняков. Температура в помещении находится в пределах +4...+5°C, относительная влажность воздуха 75% скорость движения воздуха – 0,3м/с., освещенность -150ЛК.



Рисунок 20 Помещения для содержания кобыл



Рисунок 21 Станок для осеменения кобыл, моечная.

Анализ рациона кормления кобыл.

Жеребые кобылы ежедневно получали рацион, состоящий из: 12 кг сено злаково-разнотравное, овес 5 кг, каша, состоящая из отрубей и отвара льняного семени и 2 кг мюслей производства Тетрапова «мюсли лошадей» АПК «Новая земля». Мюсли в своём составе имеют добавки солей цинка, меди и ряда витаминов. Было установлено, что сено злаково-разнотравное отвечает требованиям 2 класса (ОСТ 10243-2000). Химический состав кормов приведен в таблице 2.

Таблица 2 Химический состав корма в %.

Вид корма	Влага	Сухое вещество	Протеин	Жир	Клетчатка
Сено (тем- ное) злаковое разнотравное	14,1	85,9	8,4	2,6	27,9
Сено (свет- лое) злаковое разнотравное	13,8	86,2	9,0	2,7	26,9
Отруби пше- ничные	14,7	85,3	14,4	4,0	8,5
Овес зерно	15,3	84,7	10,0	4,1	9,9
Мюсли	11,6	88,4	12,2	4,8	12,7

Анализ показал соответствие качества корма требованиям ГОСТа, за исключением несколько повышенного содержания клетчатки в кормах, что может снижать доступность усвоения питательных веществ корма. Поэтому некоторое превышение протеина оправдано с учетом поправки на регрессивное действие избытка клетчатки.

Несбалансированное кормление (недостаток или излишек отдельных ингредиентов кормового рациона) может отрицательно влиять на способность кобыл к оплодотворению и на нормальное развитие плода, а также стать одной из причин алиментарного бесплодия кобыл. По нашим рекомендациям рацион был сбалансирован за счет включения ряда микроэлементов и витамина Д.

Нами проведен анализ питательности рационов кобыл (9 месяцев жеребости) и расчет обеспеченности рациона кобыл питательными и биологически – активными веществами в центре репродукции лошадей «Хартли Хорс Хаус» в соответствии с существующими в России нормами кормления (Калашников А.П., 2003).

Таблица 3 Обеспеченность рациона кобыл питательными и биологически активными веществами в процентах от нормы (масса 500кг).

показатель	норма	Фактическое содержание	% обеспеченности рациона от нормы
Обменная энергия, МДж	91,5	109,8	120,0
Сырой протеин,г	1250	1722,7	137,8
Переваримый протеин, г	870	1018	117,01
кальций,г	56	75,95	135,6
фосфор,г	44	35,94	88,5
магний,г	16	24,1	150,4
железо,мг	1000	2242,7	224,3
медь. Мг	106	54,26	57,19
кобальт. Мг	5	2,81	56,2
йод,мг	5	4,3	86
каротин,мг	280	295,7	205,6
витамин Д, МЕ тыс	7,500	3,600	48,0

Как видно из данных таблицы 3, уровень обеспечения кобыл рядом питательных веществ и минералов не в полной мере соответствует потребностям животного. Так, уровень энергии и протеина превышает обеспеченность кобыл. Качество силоса (2 класс) в рационе имеет повышенный уровень клетчатки, но, учитывая коэффициент её депрессивного действия, эти данные соответствуют потребности лошади. Уровень кальция и фосфора в рационе не соответствуют потребностям кобыл. Для обеспечения потребности в фосфоре в рацион лошадей ввели динатрий фосфат кормовой безводный. В составе мюслей производитель корма не указывает процент ввода солей меди, кобальта, йода и точно установить обеспеченность животных этими важными элементами не представилось возможным. В рационе кобыл витамин Д обеспечивает потребности на 48%. Однако в центре репродукции лошадей

«Хартли Хорс Хаус» кобылы регулярно получают УФ облучение в специальных камерах.

3.3 Результаты морфологического, биохимического анализа крови, гормональных исследований в разные периоды жеребости кобыл.

Показатели гемостаза.

В процессе мониторинга состояния кобыл в разные периоды жеребости (первый и второй) проводили оценку клинического статуса, акушерскую и гинекологическую диспансеризацию, гематологические, биохимические, коагулометрические исследования крови.

Первый период жеребости (1,5 -2 месяца).

Гематологические показатели. В процессе работы установлено, что средние значения гематологических показателей у кобыл в группе в целом соответствовали норме. Количество лейкоцитов – $10,91 \pm 0,64 \cdot 10^9/\text{л}$ (норма $7-12 \cdot 10^9/\text{л}$); количество эритроцитов $8,71 \pm 0,43 \cdot 10^{12}/\text{л}$ (норма $6-9 \cdot 10^{12}/\text{л}$); уровень гемоглобина – $90,14 \pm 6,27 \text{ г/л}$ при норме $89-140 \text{ г/л}$ (у некоторых кобыл этот показатель был ниже нормы); показатель СОЭ - $44,0 \pm 0,82 \text{ мм/ч}$ (норма $38-48 \text{ мм/ч}$); показатель гематокрита – $42,46 \pm 2,12\%$ (норма $24-46\%$). Несколько снижен был средний показатель количества тромбоцитов - $170 \pm 16,86 \cdot 10^9/\text{л}$ (норма $200-500 \cdot 10^9/\text{л}$).

Анализ лейкоцитарных формул кобыл показал увеличение показателя эозинофилов у животных, который составил в среднем в группе - $17 \pm 1,85\%$ (норма $2-6\%$) и некоторое снижение показателя сегментоядерных нейтрофилов – в среднем в группе $39 \pm 2,21\%$ при норме $45 - 62\%$. (Таблица 4).

Результаты биохимического анализа крови: уровень общего белка - $73,56 \pm 2,63 \text{ г/л}$; альбуминов – $39,09 \pm 1,27 \text{ г/л}$; глюкозы – $3,61 \pm 0,22 \text{ ммоль/л}$;

амилазы – $3,71 \pm 0,7$ Ед/л, АЛТ – $2,25 \pm 16,38$ Ед/л; АСТ - $372 \pm 63,77$ Ед/л; билирубинаобщего - $30,33 \pm 4,9$ ммоль/л; билирубинапрямого – $8,04 \pm 1,0$ ммоль/л; мочевины – $4,86 \pm 0,16$ ммоль/л; креатинина- $117,14 \pm 22,28$ ммоль/л; щелочнойфосфатазы – $411,71 \pm 22,28$ Ед/л; холестерина- $2,36 \pm 0,09$ ммоль/л.

Все биохимические показатели сыворотки крови кобыл в первый период жеребости находились в пределах физиологических норм, за исключением увеличения уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови - $417,11 \pm 22,28$ ед/л (Таблица 5). Повышение уровня щелочной фосфатазы по сравнению с физиологическими нормами может быть связано с интоксикацией организма (беременность, не качественный корм, гельминтозы). Нарушение минерального обмена может быть одной из причин повышения уровня щелочной фосфатазы.

Таблица 4 Результаты гематологического исследования кобылы №1, живая масса 450 кг, возраст 4 лет.

Возраст 8 лет		Порода ганноверская		Пол	Кличка Беладонна	4 года
Показатели		Ед. измер.			Нормы для лошади	Результат
WBC	Лейкоциты	10×9^9 /л			7-12	11,2
RBC	Эритроциты	10×12^12 /л			6-9	10,43
HGB	Гемоглобин	г/л			89-140	117
MCH	Среднее содержание гемоглобина в эритроците	Pg			11-17	11,2
MCV	Средний объем эритроцитов	fL			40-60	49
HCT	Гематокрит	%			24-46	51,1
PLT	Тромбоциты	$г/л 10 \times 9^9$			200-500	145
	СОЭ	мм/час			38-48	44
Лейкоцитарная формула	Базофилы		%		0-1	0
	Эозинофилы		%		2- 6	24
	Нейтрофилы	М	%		0	0
		Ю	%		0-1	0
		П	%		3-6	0
		С	%		45-62	35

	Лимфоциты	%	25 - 44	40
	Моноциты	%	2 - 4	1

Таблица 5 Биохимические показатели сыворотки крови кобыл ганноверской породы, возраста от 4 до 15 лет в первый период жеребости (n=7).

Номер животного	1	2	3	4	5	6	7	Среднее значение	нормы
общий белок. г/л	76	75,9	70,1	85	73	64,3	70,6	73,56± 2,63	51,0- 80,0
Альбумин г/л	37,2	38,7	35,5	45,2	39,8	37,4	39,8	39,09 ± 1,27	25-38
Глюкоза, Ммоль/л	3,9	3,8	3	3,8	2,8	3,6	4,4	3,61± 0,22	3,8-5,5
Амилаза Ед/л	2	2	3	4	4	4	7	3,71± 0,7	3 -34
АСТ, Ед/л	377	385	310	440	449	370	273	372 ± 63,77	160-412
АЛТ,Ед/л	2,16	2,31	1,93	2,74	2,71	2,26	1,64	2,25± 16,38	2,7-23
Билирубин общ, Ммоль/л	39,5	26,1	17,7	37,1	25	17,4	49,5	30,33± 4,92	25,0- 51,0
Билирубин,прям, Ммоль/л	10	7,1	5,2	10,1	7	5,5	11,4	8,04± 1,0	3,0-10
Мочевина, Ммоль/л	5,2	4,8	4,7	5	5	4,1	5,2	4,86± 0,16	3,2-6,8
Креатинин, Ммоль/л	105	130	115	121	99	125	125	117,14± 4,67	100-160
Щелочная фосфатаза, Ед/л	363	418	390	501	435	336	439	411,71± 22,28	138-251
Холестерин, Ммоль/л	2,5	2,2	2,4	2,3	2,7	2	2,4	2,36± 0,09	2,0-4,5

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Результаты исследования уровня прогестерона в крови кобыл в первые 1,5 месяца жеребости показали, что это величина индивидуальная и весьма переменчива. Между 35-м и 45-м днями нормальной жеребости концентрация прогестерона в крови у кобыл возрастает. В среднем по группе показатель составил 32,01 нг/мл (Таблица 6). У двух кобыл уровень прогестерона был понижен и составил, соответственно, 11,49 нг/мл и 17,81 нг/мл (при физиологической норме в этот период жеребости 35-40 нг/мл). У двух кобыл уровень прогестерона был повышен и составил, соответственно, 62,54 нг/мл и 48,1 нг/мл (при физиологической норме в этот период жеребости 35-40 нг/мл). Концентрация эстрогена в крови кобыл в первый период жеребости не большая, в среднем по группе этот показатель составил $3,24 \pm 0,65$ нг/мл (при физиологической норме в этот период жеребости 4-5 нг/мл). У одной кобылы уровень эстрогена был повышен и составил 6,1 нг/мл (при физиологической норме в этот период жеребости 4-5 нг/мл).

Таблица 6 Уровень гормонов в крови кобыл ганноверской породы, возраста от 4 до 15 лет (n=7) в первый период жеребости (50 дней).

Номер животного	ЭСТ нг/мл	ТТГ нг/мл	ПРОГ нг/мл
1	3,1	0,28	22,27
2	2,1	0,25	62,54
3	2,1	0,53	32,97
4	6,1	0,48	48,1
5	4,7	0,21	11,49
6	1,9	0,57	17,81
7	2,7	0,42	28,9
M±m	$3,24 \pm 0,65$	$0,34 \pm 0,05$	$32,01 \pm 7,3$
Референсные значения (Parey С.А. 2005)	4-5	0,4-0,6	35-40

Был сделан вывод о том, что снижение уровня прогестерона и концентрации эстрогена на указанном сроке может рассматриваться, как угроза потери жеребости и основание для применения гормональной поддержки (прогестиновой терапии).

При изучении гемостаза жеребых кобыл проводили анализ показателей коагулограммы.

Результаты исследования показали, что в первый период жеребости у кобыл наблюдалось гипофибриногемия,- снижение концентрации фибриногена (белка - предшественника фибрина, составляющего основу сгустка при свёртывании крови) по сравнению с референсным значением (Таблица 7). Средний показатель концентрации фибриногена в крови у жеребых кобыл составил - $0,97 \pm 0,27$ г/л (при нормативных значениях 2,00-4,00 г/л).

Отмечалось увеличение показателя протромбинового времени – одного из важнейших лабораторных показателей коагулограммы, характеризующих состояние свертывающей системы. Среднее значение показателя в крови у жеребых кобыл составило - $18,2 \pm 0,89$ г/л(при нормативных значениях 11,0-15,0 г/л).

Установлено значительное повышение показателя активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ).Среднее значение показателя в крови у жеребых кобыл составило - $51,52 \pm 3,45$ г/л(при нормативных значениях 23,0-35,0г/л).

Наблюдалось увеличение показателя тромбинового времени (маркера конечного этапа свёртывания крови - образования фибрина из фибриногена).

Среднее значение показателя в крови жеребых кобыл составило $21,36 \pm 1,7$ г/л (при нормативных значениях 8,0-15,0 г/л).

Таблица 7 Коагулограмма кобыл в первый период жерёбости (n=6)

Номер животного	PT Prothrombin Time (s)	APTT Partial throm- boplastin Time (s)	TT Thrombin time (s)	FIB Fibrinogen (g/l)
1	18,8	50,2	18,1	0,44
2	19,4	43,7	18,1	0,94
3	16,8	49,9	21,6	1,88
4	15,9	62,7	26,1	0,83
6	20,1	51,1	22,9	0,83
нормы	11,0-15,0	23,0-35,0	8,0-15,0	2,00-4,00
M±m	18,2± 0,89	51,52±3,45	21,36±1,7	0,97±0,27

Гипофибриногемия может наблюдаться у кобыл в первый период жерёбости. Однако нарушение коагуляционных свойств крови является угрозой развития различных патологических процессов - нарушения микроциркуляции, фетоплацентарной недостаточности, отслойки плаценты, гипотонического и атонического кровотечения. Может произойти срыв компенсаторных механизмов и быстрая генерализация процесса.

В связи с этим считаем обязательным проведение контроля показателей гемостаза у жеребых кобыл и, в случае необходимости, применение эффективных гемостатических препаратов.

Второй период жерёбости (8-9 месяцев). Кобылы ганноверской породы возраста от 4 до 15 лет (n=7).

Гематологические показатели у кобыл в группе в целом соответствовали норме. Количество лейкоцитов – $10,61 \pm 0,47 \cdot 10^9/\text{л}$ (норма 7-12 $10^9/\text{л}$); количество эритроцитов $6,68 \pm 0,59 \cdot 10^{12}/\text{л}$ (норма 6-9 $10^{12}/\text{л}$); снижен уровень гемоглобина – $65,86 \pm 10,28 \text{ г/л}$ при норме 89-140 г/л (у некоторых кобыл этот показатель был намного ниже нормы); снижен показатель СОЭ – $32,86 \pm 7,22 \text{ мм/ч}$ (норма 38-48 мм/ч); показатель гематокрита – $35,4 \pm 2,78\%$ (норма 24-46%). Снижен был средний показатель количества тромбоцитов – $119 \pm 12,75 \cdot 10^9/\text{л}$ (норма 200-500 $10^9/\text{л}$). Понижение значения СОЭ - Гипофибриногенемия.

При сравнительном анализе гематологических показателей в группах жерёбых кобыл в 1 и 2 периоды беременности установлены следующие изменения. Снижение во 2 период жерёбости в 1,3 раза среднего содержания эритроцитов, снижение в 1,4 раза уровня гемоглобина, количества тромбоцитов, показателя СОЭ (Таблица 8).

Таблица 8 Гематологические показатели кобыл в 1 и 2 периоды жерёбости.

	Лейкоциты 10^9	Эритроциты 10^{12}	Тромбоциты 10^9	Нб г/л	СОЭ мм/ч	гематокрит %
1 период жерёбости	$10,91 \pm 0,64$	$8,71 \pm 0,43$	$170,0 \pm 16,86$	$90,14 \pm 6,27$	$44,0 \pm 0,82$	$42,46 \pm 2,12$
2 период жерёбости	$10,61 \pm 0,47$	$6,68 \pm 0,59$	$119,0 \pm 12,75$	$65,86 \pm 10,2$ 8	$32,86 \pm 7,22$	$35,4 \pm 2,78$

норма	7-12	6-9	200-500	85-140	38-48	24-46
-------	------	-----	---------	--------	-------	-------

Анализ лейкоцитарных формул кобыл показал: увеличение количества эозинофилов у животных, который составил в среднем в группе - 14, 14±3,8% (норма 2-6%), снижение количества палочкоядерных нейтрофилов - 1,43±0,57% (норма 3-6%), показатель сегментоядерных нейтрофилов – в среднем в группе 47±5,68% при норме 45 - 62%, количество лимфоцитов - 35,57± 4,40 % (норма 25-44%); моноцитов - 2,29± 0,39% (норма 2-4%).

Результаты биохимического анализа крови: уровень общего белка - 68,5± 1,94г/л; альбуминов –**43,63± 1,21** г/л; глюкозы –4,92±0,21ммоль/л; амилазы – **1,86±0,6** Ед/л, АЛТ –9,0 ±1,22Ед/л; АСТ - 288,14±19,85Ед/л; билирубина общего - **15,79±2,09** ммоль/л; билирубина прямого – 9,70±1,02ммоль/л; мочевины – 5,44±0,45ммоль/л; креатинина- 104,14±5,71ммоль/л; щелочной фосфатазы – 501,43±42,13Ед/л; холестерина- 2,23±0,13ммоль/л .

Все биохимические показатели сыворотки крови были в пределах физиологических значений, за исключением повышения уровня альбуминов, снижения уровня амилазы, повышения показателя щелочной фосфатазы.

При сравнительном анализе биохимических показателей сыворотки крови в группах жеребых кобыл в 1 и 2 периоды беременности установлены следующие изменения. Увеличение во 2 период жеребости в 1,2 раза среднего значения показателя альбуминов, уровня щелочной фосфатазы, снижение в 2 раза уровня амилазы и уровня билирубина.

Щелочная фосфатаза - важное звено механизма регулирования энергетического обмена по принципу фосфорилирование - дефосфорилирование. Воз-

можно, что повышение этого показателя произошло на фоне беременности т.к. она содержится в плаценте. Однако, на фоне понижения уровня амилазы при увеличении уровня щелочной фосфатазы рекомендовано обращать внимание на состояние печени и поджелудочной железы у кобыл. Снижение концентрации билирубина, на наш взгляд, может быть связано со снижением в 1,3 раза содержания эритроцитов во второй период жеребости кобыл (уменьшилось в среднем по группе с $8,71 \pm 0,43 \cdot 10^{12}/л$ в первый период и до $6,68 \pm 0,59 \cdot 10^{12}/л$ во второй) и, соответственно, уменьшения их разрушения.

Таблица 9 Биохимические показатели сыворотки крови кобыл ганноверской породы возраста от 4 до 15 лет во второй период жеребости (n=7).

Номер животного	1	2	3	4	5	6	7	Среднее значение 1-ый период	Среднее значение 2-ый период	нормы
общий белок, г/л	67,2	63,4	69,1	73,9	72,1	61,4	72,4	$73,56 \pm 2,63$	$68,5 \pm 1,94$	51,0-80,0
Альбумин г/л	42,8	42	39,6	49	42,5	44,1	45,4	$39,09 \pm 1,27$	$43,63 \pm 1,21$	25-38
Глюкоза, Ммоль/л	4,87	5,31	5,05	4,92	3,77	4,53	5,13	$3,61 \pm 0,22$	$4,92 \pm 0,21$	3,8-5,5
Амилаза Ед/л	1	1	1	5	2	2	1	$3,71 \pm 0,7$	$1,86 \pm 0,6$	3 -34
АСТ, Ед/л	256	274	256	274	367	347	243	$372 \pm 63,77$	$288,14 \pm 19,85$	160-412
АЛТ, Ед/л	12	6	4	12	10	10	9	$2,25 \pm 16,38$	$9,0 \pm 1,22$	2,7-23
Билирубин общ, Ммоль/л	18,1	15,5	14,1	20,1	10,1	9,3	23,3	$30,33 \pm 4,92$	$15,79 \pm 2,09$	25,0-51,0

Билирубин, прям, Ммоль/л	11,4	9,6	9,5	11,9	6,4	6,5	12,6	8,04± 1,0	9,70 ±1,02	3,0-10
Мочевина, Ммоль/л	4,5	6,9	4,1	6,2	6,5	4,5	5,4	4,86± 0,16	5,44 ±0,45	3,2-6,8
Креатинин, Ммоль/л	107	119	109	113	78	93	110	117,14± 4,67	104,14 ±5,71	100- 160
Щелочная фосфатаза, Ед/л	360	480	390	520	510	620	630	411,71± 22,28	501,43 ±42,13	138- 251
Холестерин, Ммоль/л	2,1	2,1	2	2	2,9	2,4	2,1	2,36± 0,09	2,23 ±0,13	2,0-4,5

В результате исследования уровня концентрации гормонов в крови жеребых кобыл установлено следующее (Таблица 10).

Уровень ТТГ в первый период жеребости в среднем в группе составил $0,34 \pm 0,05$ нг/мл, во второй период жеребости $0,3 \pm 0,04$ нг/мл. В целом в группе этот показатель был ниже референсных значений. В процессе проведенных исследований не наблюдалось достоверного изменения уровня ТТГ.

Результаты исследования уровня прогестерона в крови кобыл во второй период жеребости (240 дней) показали, что концентрация гормона была повышена и составила в среднем в группе $18,58 \pm 2,59$ нг/мл (при физиологической норме в этот период 5-12 нг/мл). У двух кобыл уровень прогестерона был повышен более, чем в 2 раза и составил, соответственно, 28,1 нг/мл и 26,3 нг/мл (при физиологической норме в этот период 5-12 нг/мл).

Концентрация эстрогена в крови кобыл во второй период жеребости в среднем по группе была в пределах нормы и составила $110,67 \pm 9,76$ нг/мл (при физиологической норме в этот период 90- 200 нг/мл). У одной кобылы уровень эстрогенов был несколько понижен, показатель составил 80,1 нг/мл (Таблица 10).

Многочисленные практические испытания подтверждают факт, что в результате смены места синтеза прогестерона во время беременности (основным продуцентом гормона служит плацента), изменяется его концентрация. Пик приходится на 100 день жеребости, а к 200 дню наблюдается существенный спад. И только за 5 дней до родов концентрация прогестерона снова начинает возрастать (Noakes A.D., 2001; Knottenbelt D.C., 2003; Parey C.A., 2005; Fowden A.L. et al, 2008).

Уровень содержания эстрогенов в крови жеребых кобыл имеет тенденцию к повышению к 200 дню беременности. Основные продуценты гормона – фетальные гонады и плацента. Перед родами, при нормальном течении беременности, концентрация эстрогена снижается.

Проведенные нами исследования показали, что динамика изменения концентрации прогестерона, эстрогена в крови животных несколько не соответствует референсным значениям для определенного периода жеребости кобыл, зависит от развития плода и отображает функциональное благополучие плода и плаценты. Необходимо обращать внимание на напряжение гормональной функции у отдельных кобыл, которая может служить маркером состояния недостаточности фетоплацентарного комплекса.

Таблица 10 Уровень гормонов в крови кобыл ганноверской породы возраста от 4 до 15 лет во второй период жеребости (n=7) во второй период жеребости (240 дней).

Номер	ЭСТнг/мл	ТТГнг/мл	ПРОГнг/мл
1	120,2	0,34	12,27
2	100,1	0,26	18,54
3	98,09	0,42	13,97
4	150,02	0,53	28,1
5	130,0	0,35	13,09
6	80,1	0,46	17,81
7	96,2	0,36	26,3

М±m	110,67 ± 9,76	0,3±0,04	18,58 ± 2,59
Референсные значения Hoffman A.G.1995	90- 200	0,4 -0,6	5-12

При изучении гемостаза жеребых кобыл проводили анализ показателей коагулограммы. Результаты исследования показали, что во второй период жеребости у кобыл наблюдалось повышение концентрации фибриногена в пределах нижних границ референсных значений (Таблица 11).

Отмечалась стабилизация показателя протромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), тромбинового времени.

Средний показатель концентрации фибриногена в крови у жеребых кобыл составил - 2,04±0,2г/л (при нормативных значениях 2,00-4,00 г/л).

Среднее значение показателя протромбинового - 15,10± 0,71г/л(при нормативных значениях 11,0-15,0 г/л). Среднее значение показателя АЧТВ в крови у жеребых кобыл - 31,98±2,07г/л(при нормативных значениях 23,0-35,0г/л), среднее значение показателя тромбинового времени в крови жеребых кобыл составило 15,9±0,59г/л(при нормативных значениях 8,0-15,0г/л).

Таблица 11 Коагулограмма кобыл во второй период жеребости (n=6).

	PT Prothrombin Time (s)	APTT Partial throm- boplastin Time (s)	TT Thrombin time (s)	FIB Fibrinogen (g/l)
1	14,7	31,7	16,2	1,5
2	16,2	26,4	16,9	1,96
3	14,3	35,8	17,0	2,5
4	13,4	29,8	14,3	2,34
6	16,9	36,2	15,1	1,92
норма	11,0-15,0	23,0-35,0	8,0-15,0	2,00-4,00

M±m	15,10± 0,71	31,98±2,07	15,9±0,59	2,04±0,2
-----	-------------	------------	-----------	----------

Изменения в коагулограммах у жеребых кобыл - это физиологический процесс, связанный с появлением маточно-плацентарного круга кровообращения, с эволюционными, приспособительными реакциями организма в этот период. При физиологическом течении беременности повышается активность прокоагулянтного звена, что способствует усилению процессов внутрисосудистого свёртывания крови в маточно-плацентарном кровотоке. Одновременно с усилением активности внешнего пути коагуляции повышается и активность внутреннего механизма свёртывания крови. Организм кобылы готовится к затратам во время вынашивания плода и возможной кровопотери во время родов.

Однако обращает на себя внимание тот факт, что у некоторых кобыл во второй период жеребости основные показатели коагулограммы, характеризующие гемостаз, не соответствуют нормативных значениям.

Концентрации фибриногена в крови у трех жеребых кобыл - 1,5г/л, 1,92 г/л, 1,96 г/л (при нормативных значениях 2,00-4,00 г/л). Показатель протромбинового времени в крови у двух кобыл - 16,9г/л, 16,2 г/л (при нормативных значениях 11,0-15,0 г/л), показатель АЧТВ в крови у двух жеребых кобыл - 36,2г/л, 35,8 г/л (при нормативных значениях 23,0-35,0г/л), показателя тромбинового времени в крови трёх кобыл составил 17г/л, 16,9 г/л, 16,2 /л (при нормативных значениях 8,0-15,0г/л).

Следует подчеркнуть, что физиологическое равновесие, существующее при нормальном течении жеребости у кобыл может быть легко нарушено, поскольку все параметры, характеризующие коагуляционные свойства крови, находятся у черты, граничащей с патологией, что является предпосылкой для развития нарушений гемостаза и осложнения беременности.

3.4 Основные патологии жеребости кобыл. Профилактические мероприятия.

Основные патологии жеребости кобыл.

Анализ амбулаторных журналов ветеринарных клиник показал, что в период жеребости у кобыл наиболее часто регистрируются такие патологии, как эмбриональная смертность в период раннего эмбрионального развития и в фетальный период (аборт), нарушение функции плаценты в виде плацентита и отслойки плаценты.

Установлено, что **патологии в фазе эмбрионального** развития регистрируются до 40 суток жеребости. У клинически здоровых кобыл около 8 % эмбрионов погибает до 11 дня беременности (особенно между 6-11 днями после зачатия). У клинически больных кобыл смертность эмбрионов достигает 60 % .

Контроль состояния эмбриона/ плода проводили с помощью УЗИ-диагностики в следующие периоды после оплодотворения: 14 день, 20 30 день, 48 день и 60-65 день. Вместе с этим оценивали сердцебиение плода, прозрачность околоплодных вод, общую толщину матки и плаценты, плотность расположения оболочки плода и эндометрия.

Признаком патологии жеребости служило замедленное увеличение диаметра эмбриона, изменение формы плодного пузыря (на 16 день смертности), повышение эхогенности из-за появления вкраплений, наличие выраженного отека эндометрия. В период 25-40 дня диагностировали на УЗИ отслоение оболочки плода от эндометрия, отсутствие эмбриона, либо отсутствие сокращений сердца, а также отмечали усиление эхогенности эмбриона.

Смертность плода в фазе фетального развития. Аборт.

Установлено, что частота возникновения аборт у кобыл составляет от 5 до 15 %. Чаще всего аборт регистрируется с 4 месяца жеребости в результате недостаточность развития и патология плаценты.

При оценке состояния плода обращали внимание на количество и качество околоплодных вод (амниотическую и аллантоисную жидкость). При нормально протекающей беременности амниотическая жидкость содержала небольшое количество экзогенных частиц. Наблюдали, что при фетальной смертности до 100 дня жеребости, до аборта происходит лютеолиз желтого тела беременности.

Клинические признаки: угнетение общего состояния преждевременная лактация за несколько дней до аборта, выделения из влагалища, раскрытие шейки матки, повышенная температура тела.

Нарушение функции плаценты.

Плацентит - воспаление плаценты, в первую очередь allantochorion.

Установлено, что частота возникновения заболевания - от 3% до 7%.

В следствие плацентита возникают различные патологии, в том числе отделение плаценты от матки, фетоплацентарная недостаточность, внутриутробная гибель плода или аборт.

Контрольные УЗИ на сроках 14 дней, 30, 54 дня патологий развития плода и беременности не выявили.

При проведении обследования жеребой кобылы возраста 12 лет на сроке 145 дней нами была замечена отечность молочных вен и увеличение молочной железы. При клиническом исследовании установлено, что состояние кобылы обычное, температура в норме.

При проведении УЗИ было установлено: отслойка плаценты, живой плод не визуализировался, была заметна наружная поверхность хориона (Рисунок 22, 23, 24).



Беременность 54 дня. Патологий нет.

Рисунок 22 Плод на 54 день беременности



145 дней. Содержимое матки.

Рисунок 23 Отслойка плаценты на 145 день беременности



145 дней. Содержимое матки.

Рисунок 24 Наружная поверхность хориона. Плод не визуализируется

Регулярное проведение ультразвукового исследования обеспечивает контроль оценки состояния плаценты - в частности, общей толщины стенки матки и плаценты, степени привязанности или отделения плаценты, состояние и количество жидкостей, окружающих зародыш. При воспалительном процессе в плаценте толщина маточно-плацентарного соединения увеличивается, плацента начинает отделяться от эндометрия. При проведении УЗИ отмечается скопление жидкости между этими слоями в виде темной полосы. В процессе развития болезни эхогенность её повышается. При этом усиливаются выделения из вульвы.

Профилактика нарушения функционального состояния плаценты, приводящего к гибели плода и к аборту, должна основываться на коррекции нарушенных обменных процессов в фетоплацентарном комплексе. Мероприятия должны проводиться комплексно, включая в себя несколько направлений, учитывающих выполнение зоогигиенических предписаний содержания и полноценности кормления беременных животных, а также касающихся выявления на ранних стадиях развития отклонений, являющихся предвестниками возможного развития серьезных патологий (Рисунок 25).

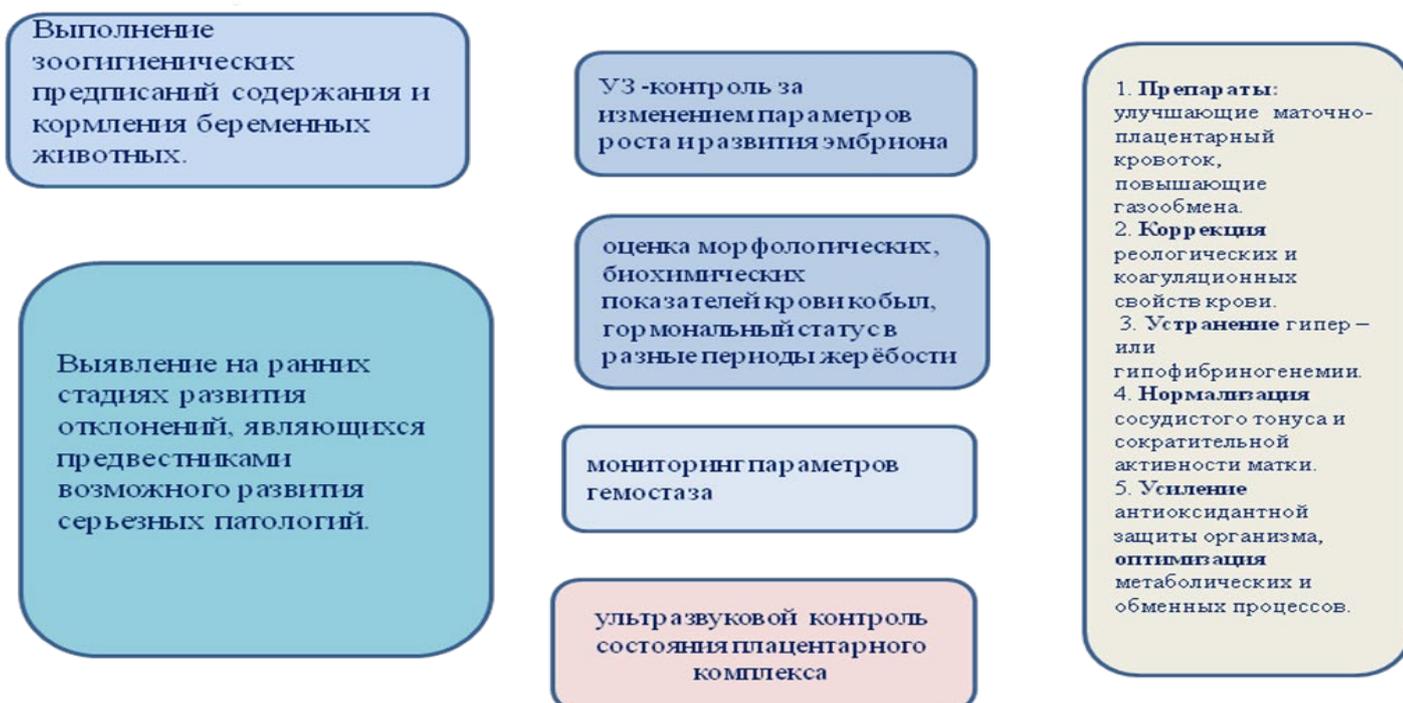


Рисунок 25 Профилактика патологий репродуктивной функции

Проведенные нами исследования показали, что при мониторинге жерёбости кобыл и оценке состояния плода необходимо проводить УЗ -контроль за изменением параметров роста и развития эмбриона с целью своевременного выявления патологических изменений.

Вместе с этим обязательной является оценка морфологических, биохимических показателей крови кобыл, их гормональный статус в разные периоды жерёбости. Особое внимание необходимо уделять мониторингу параметров гемостаза – коагулометрических показателей, которые играют важную роль в патогенезе развития фетоплацентарной недостаточности, приводящей к гибели плода и абортам.

Важным является осуществление ультразвукового контроля состояния плацентарного комплекса - в частности, - толщины стенки матки и плаценты, степени привязанности или отделения плаценты, а также состояние и количество жидкостей, окружающих зародыш. Увеличение толщины стенки матки и плаценты в период жерёбости может указывать на плацентарную патологию и возможный аборт.

В целях коррекции нарушений функционального состояния плаценты, приводящего к гибели плода и к аборту, рекомендуется использовать препараты, действие которых направлено на улучшение маточно-плацентарного кровотока, повышение газообмена, коррекция реологических и коагуляционных свойств крови, устранение гипер – или гипофибриногемии, нормализацию сосудистого тонуса и сократительной активности матки, усиление антиоксидантной защиты организма, оптимизацию метаболических и обменных процессов.

В настоящее время исследователи рекомендуют для коррекции метаболических нарушений назначение лекарственных средств, содержащих биологически активные вещества

Отечественные ученые используют в профилактических и лечебных целях такие комплексные препараты, как «Фоспренил», «Катозал», «Дюфалайт», «Гамавит», «Достим», «Гемобаланс» и др. (Карпенко Л.Ю. 2007; Племяшов К.В., Щепёткина С.В., Пудовкин Д.Н. 2010; Андреева, А.Б. 2011). Они участвуют в обменных процессах плаценты, улучшают окислительно-восстановительные реакции, транспорт кислорода, стимулируют метаболические реакции. Целесообразно с этой целью комплексно использовать поливитаминные препараты (Погорелова, А.Б. 2006; Володин, Н.Н., 2011).

Препараты доказывают свою терапевтическую эффективность в ветеринарной практике.

Ранее проведенные нами исследования также подтвердили высокую эффективность препарата «Лигфол», Россия, природного экологически безопасного адаптогена стресс – корректора нового поколения, для профилактики нарушений репродуктивной функции животных. Комплексный препарат, в состав которого входят гуминовые вещества, полученные при гидролизе природного (древесного) лигнина, натрия пиррофосфат десятиводный, натрия хлорид и деминерализованная вода.

3.5 Обсуждение результатов исследования

Улучшение породных качеств лошадей и их воспроизводительной способности является одной из важных задач коневодства во всем мире. При этом повысить эффективность воспроизводства можно путем совершенствования организационных форм биотехники репродукции.

Анализ организации случной компании в условиях племенных коневодческих ферм и частных конюшен Алжира показал, что используемое косячное (пастбищное) спаривание не совсем пригодно для воспроизводства

племенных лошадей. Создается риск распространения заболеваний, передающихся половым путем, имеет место травматизм лошадей и не всегда удается установить точный срок осеменения кобылы. К основным недостаткам при организации воспроизводства лошадей в условиях племенных коневодческих ферм Алжира относится то, что перед случным сезоном не проводится акушерско-гинекологическая диспансеризация кобыл, не всегда оценивается качество спермы жеребцов и микробная контаминация (в условиях частных конюшен не оценивается вообще), отмечаются случаи пропусков половых циклов у кобыл, практически не проводится контроль овуляции (фолликулометрия), ранняя диагностика и ультразвуковой мониторинг жеребости кобыл. Установлены основные причины нарушения воспроизводительной способности кобыл: нарушения половой цикличности (анафродизия), аборт, гинекологические заболевания. В целях дальнейшего развития коневодства в Алжире необходимо обеспечивать его развитие и совершенствование.

Комплексная оценка системы содержания и кормления кобыл в центре репродукции «Хартли Хорс Хаус», Московской области, подготовка их к случке, мониторинга их состояния после осеменения и ультразвуковой диагностики жеребости показала следующее. Животные содержатся в условиях соблюдения санитарно-гигиенических норм.

Было установлено некоторое несоответствие питательности рациона существующим нормам кормления. Известно, что недостаток или избыток отдельных ингредиентов кормового рациона может привести к нарушению способности кобыл к оплодотворению, отрицательно влиять на нормальное развитие плода и дальнейшее развитие жеребенка, а также стать основной причиной алиментарного бесплодия кобыл. По нашим рекомендациям в рацион были внесены минеральные добавки, которые в полной степени способны обеспечить потребности в важных макро – микроэлементах.

Оценка качества спермы жеребцов – производителей по следующим показателям: объем, цвет, густота, активность, подвижность спермиев, концентрация, наличие патологических форм спермиев показала её соответствие ГОСТу и пригодность для осеменения кобыл.

Проведенные исследования криоконсервированной спермы жеребцов ганноверской породы с определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и подсчета половых клеток с интактной акросомой, т.е. путем использования современных методов, свидетельствуют о необходимости комплексной оценке спермопродукции производителей.

Исследование повреждений ДНК сперматозоидов имеет важное диагностическое значение в оценке воспроизводительной способности жеребцов. Различные нарушения могут приводить к существенным отклонениям в их нормальном функционировании и снижать фертильность производителей.

Анализ проведенных исследований показал, что в соответствии с ГОСТ 24168/2017 «Средства воспроизводства. Сперма жеребцов замороженная» по основным показателям сперма отвечала техническим условиям, за исключением показателя концентрации сперматозоидов.

Предложенные новые методики исследования морфологических показателей спермы позволяют более детально и точно определить её биологическую полноценность.

При УЗ исследовании фолликулогенеза в яичниках кобыл были получены следующие результаты.

Анэструс диагностировали по визуализации на мониторе мелких фолликулов (от 2 до 5 мм) при отсутствии желтых тел. За 1-2 суток до овуляции развивался один или два преовуляторных (лидирующих) фолликулов - 50-70 мм. За 24ч до овуляции изменялась форма фолликула: происходило истончение их стенки. Из-за дегенерации и слущивания гранулезных клеток

со стенки фолликула повышалась экзогенность фолликулярной жидкости (также является дополнительным критерием).

В результате исследования крови в первый период жеребости кобыл установлено повышение количества эозинофилов, - в среднем в группе - $7 \pm 1,85\%$ и некоторое снижение показателя сегментоядерных нейтрофилов – в среднем в группе $39 \pm 2,21\%$. По нашему мнению, это может быть связано с пищевой гиперчувствительностью в ранний период жеребости кобыл. Средние значения гематологических показателей у кобыл в группе в целом соответствовали норме. Несколько снижен был средний показатель количества тромбоцитов. Все биохимические показатели сыворотки крови кобыл в первый период жеребости находились в пределах физиологических норм, за исключением увеличения уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови - $417,11 \pm 22,28$ ед/л. Повышение уровня щелочной фосфатазы может быть связано с интоксикацией организма (беременность, не качественный корм, гельминтозы). Нарушение минерального обмена веществ также может быть одной из причин повышения уровня щелочной фосфатазы.

Результаты исследования уровня прогестерона и эстрогена в крови кобыл в первые 1,5 месяца жеребости показали, что это величины индивидуальные и весьма вариабельны. Мониторинг этих показателей имеет большое значение в комплексной оценке состояния беременной кобылы. Снижение уровня прогестерона и концентрации эстрогена на указанном сроке может рассматриваться, как угроза эмбриональной смертности, потери жеребости и быть основанием для применения гормональной терапии.

Динамика изменения концентрации прогестерона, эстрогена в крови животных во второй период жеребости кобыл зависит от развития плода и отображает функциональное состояние плода и плаценты. Необходимо контролировать напряжение гормональной функции у кобыл, которая может служить предвестником фетоплацентарной недостаточности.

При изучении гемостаза жеребых кобыл проводили анализ показателей коагулограммы. Результаты исследования показали, что в первый период жеребости у кобыл наблюдалось гипофибриногемия,- снижение концентрации фибриногена по сравнению с референсным значением, повышение протромбинового, тромбинового времени и АЧТВ.

Оценка коагулометрических показателей крови жеребых кобыл имеют важное значение в диагностике фетоплацентарного состояния. При нормально протекающей беременности возможно незначительное снижение уровня фибриногена у кобыл. Вместе с тем, нарушение коагуляционных свойств крови может стать угрозой развития различных патологических процессов - нарушения микроциркуляции, фетоплацентарной недостаточности, отслойки плаценты, гипотонического и атонического кровотечения. Может произойти срыв компенсаторных механизмов и быстрая генерализация процесса. В связи с этим считаем обязательным проведение контроля показателей гемостаза у жеребых кобыл и, в случае необходимости, применение эффективных гемостатических препаратов.

Ультразвуковой мониторинг жеребости кобыл показал возможность проведения контроля его результативности: через 14-16 дней после осеменения плодное яйцо размером 15мм визуализируется в правом роге матки; через 30 дней после осеменения визуализируется развивающийся эмбрион. На 65-70 день после осеменения с точностью до 90% возможно определить пол будущего жеребенка.

При сравнительном анализе гематологических показателей в группах жеребых кобыл в 1 и 2 периоды беременности установлены следующие изменения. Снижение во 2 период жеребости в 1,3 раза среднего содержания эритроцитов, снижение в 1,4 раза уровня гемоглобина, количества тромбоцитов, показателя СОЭ.

При сравнительном анализе биохимических показателей сыворотки крови в группах жеребых кобыл в 1 и 2 периоды беременности установлено увеличение в 1,2 раза среднего значения показателя альбуминов, уровня щелочной фосфатазы у животных во 2 период жеребости, снижение в 2 раза уровня амилазы и уровня билирубина.

Щелочная фосфатаза является важным звеном механизма регулирования энергетического обмена по принципу фосфорилирование - дефосфорилирование. Возможно, что повышение этого показателя произошло на фоне беременности, т.к. ЩФ содержится в плаценте. Однако на фоне понижения уровня амилазы при увеличении уровня щелочной фосфатазы рекомендовано обращать внимание на состояние печени и поджелудочной железы у кобыл и обеспеченности рационов минеральными веществами.

Снижение концентрации билирубина, на наш взгляд, может быть связано со снижением в 1,3 раза содержания эритроцитов во второй период жеребости кобыл (уменьшилось в среднем по группе с $8,71 \pm 0,43 \cdot 10^{12}/л$ в первый период и до $6,68 \pm 0,59 \cdot 10^{12}/л$ во второй) и, соответственно, уменьшения их разрушения.

При оценке гормонального статуса у кобыл было установлено, что концентрация прогестерона в крови животных во 2 период жеребости была выше нормы, уровень эстрогена в среднем по группе соответствовал референсным значениям.

Считаем необходимым обращать внимание на напряжение гормональной функции у отдельных кобыл, которая может служить маркером состояния недостаточности фетоплацентарного комплекса.

Проведенные исследования по установлению основных патологий у кобыл показал, что в период жеребости у кобыл наиболее часто наблюдается эмбриональная смертность в период раннего эмбрионального развития и в

фетальный период (аборт), нарушение функции плаценты в виде плацентита и отслойки плаценты.

Установлено, что патологии в фазе эмбрионального развития регистрируются до 40 суток жеребости. У клинически здоровых кобыл около 8 % эмбрионов погибает до 11 дня беременности (особенно между 6-11 днями после зачатия). У клинически больных кобыл смертность эмбрионов достигает 60 % .

В целях более успешной организации воспроизводства лошадей в центрах репродукции необходимо проводить комплексную оценку содержания, кормления кобыл с анализом структуры рациона и качества кормов, оценивать клинический статус животных после осеменения, применять метод трансректальной визуальной эхографии для ранней диагностики жеребости и морфометрической и функциональной оценки развития зародыша.

Необходимо проводить контроль состояния эмбриона/ плода с помощью УЗ-диагностики в следующие периоды после оплодотворения: 14 день, 20-30 день, 48 день и 60-65 день. Учитывать изменения сердцебиения плода, прозрачность околоплодных вод, общую толщину матки и плаценты, плотность расположения оболочки плода и эндометрия.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В период организации случной компании необходимо проведение плановой акушерско-гинекологической диспансеризации лошадей, осуществлять контроль качества спермы жеребцов с оценкой микробной загрязненности, следить за полноценностью рациона и качеством кормов.

2. Проведенные исследования замороженной спермы жеребцов ганноверской породы с использованием современных методов, а именно определение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и подсчета половых клеток с интактной акросомой, показали необходимость комплексного подхода к оценке спермопродукции производителей.

3. С целью оценки состояния яичников и матки на предмет наличия или отсутствия патологии и определения способности кобыл к репродукции каждые 6 часов проводить ультразвуковой мониторинг овуляции у кобыл, при приближении момента овуляции, - каждые 3 часа.

4. Визуализация на мониторе мелких фолликулов (от 2 до 5 мм) при отсутствии желтых тел свидетельствовала об анэструсе. В период эструса выявляли структурные преобразования в половом аппарате кобылы: характерный дольчатый вид поперечного среза рога матки; продольная складчатость эндометрия, скопление незначительного количества слизи в просвете тела матки в виде анэхогенного участка.

5. При проведении контроля фолликулогенеза по времени приближения к овуляции (в среднем за 24 часа до овуляции) было установлено истончение стенки фолликула, изменение его формы. За 12ч до овуляции развивается один или два преовуляторных (лидирующих) фолликулов размером 50-60 мм. Визуализировался в виде анэхогенного образования неправильной формы – округлой или вытянутой в направлении овуляционной ямки. Этот признак определяли, как время осеменения кобылы.

6. Ультразвуковой мониторинг жеребости кобыл показал возможность проведения контроля его результативности: через 14-16 дней после осеменения плодное яйцо размером 15мм визуализируется в правом роге матки; через 30 дней после осеменения визуализируется развивающийся эмбрион. На 65-70 день после осеменения с точностью до 90% возможно определить пол будущего жеребенка.

7. При сравнительном анализе гематологических показателей в группах жеребых кобыл в разные периоды беременности установлено снижение во 2 период жеребости в 1,3 раза среднего содержания эритроцитов, в 1,4 раза уровня гемоглобина, количества тромбоцитов, показателя СОЭ. Увеличение в 1,2 раза среднего значения показателя альбуминов, уровня щелочной фосфатазы, снижение в 2 раза уровня амилазы и уровня билирубина.

8. Результаты исследования уровня прогестерона и эстрогена в крови кобыл в первый период жеребости показали, что их уровень понижен и составил, соответственно, $32,01 \pm 7,3$ нг/мл и $3,24 \pm 0,65$ нг/мл. Во второй период жеребости концентрация прогестерона и эстрогена находилась в пределах физиологических норм и составила в среднем в группе, соответственно $18,58 \pm 2,59$ нг/мл и $110,67 \pm 9,76$ нг/мл.

9. Результаты исследования коагулограммы жеребых кобыл показали, что во второй период жеребости у кобыл наблюдалось повышение концентрации фибриногена в пределах нижних границ референсных значений, отмечалась стабилизация показателя протромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), тромбинового времени. Средний показатель концентрации фибриногена в крови у жеребых кобыл составил - $2,04 \pm 0,2$ г/л, протромбинового времени - $15,10 \pm 0,71$ г/л, среднее значение показателя АЧТВ - $31,98 \pm 2,07$ г/л, среднее значение показателя тромбинового времени - $15,9 \pm 0,59$ г/л.

10. При проведении УЗИ – мониторинга жеребости было установлено, что признаком развивающейся патологии является замедленное увеличение диаметра эмбриона, изменение формы плодного пузыря (на 16 день смертности), повышение эхогенности, наличие выраженного отека эндометрия. В период 25-40 дня при УЗИ диагностировали отслоение оболочки плода от эндометрия, отсутствие эмбриона, а также отмечали усиление эхогенности.

5. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. В целях успешной организации воспроизводства лошадей в центрах репродукции необходимо осуществлять комплексную оценку содержания, кормления кобыл с анализом структуры рациона и качества кормов, комплексно подходить к оценке клинического статуса животных с учетом морфологических, биохимических, гормональных и коагулометрических исследований крови и результатов трансректальной визуальной эхографии.
2. Проводить ультразвуковую диагностику состояния репродуктивных органов кобыл для оценки функционального состояния, в целях мониторинга фолликулогенеза, для контроля результативности осеменения, ранней диагностики жеребости, для морфометрической и функциональной оценки развития зародыша.
3. В целях коррекции нарушений функционального состояния плаценты, приводящего к гибели плода и к аборту, рекомендуем использовать препараты, действие которых направлено на улучшение маточно-плацентарного кровотока, повышение газообмена, коррекция реологических и коагуляционных свойств крови, устранение гипер – или гипофибриногенемии, нормализацию сосудистого тонуса и сокра-

тительной активности матки, усиление антиоксидантной защиты организма, оптимизацию метаболических и обменных процессов.

4. Проведенные исследования замороженной спермы жеребцов ганноверской породы с использованием современных методов, а именно определение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов и подсчета половых клеток с интактной акросомой, показали необходимость комплексного подхода к оценке спермопродукции производителей. Рекомендуем при оценке фертильности жеребцов проводить комплексную оценку криоконсервированной спермы в соответствии с ГОСТ 24168/2017 с дополнительным определением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов.

6. БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Авдеевко, В.С. Диагностика фетоплацентарной недостаточности у беременных с экстрагенитальной патологией / В.С. Авдеевко // Материалы Международной науч. конф., посвящ. 125-летию академии. - Казань, 1998. с.108-109.
2. Аликаев, В.А. Антенатальная охрана плодов у самок сельскохозяйственных животных и профилактика заболеваний в ранний период онтогенеза. Автореф. дис. докт.вет. Наук : 06.02.06 / Василий Андреевич Аликаев. – Ленинград, 1970. –44с.
3. Аликаев, В.А. Антенатальная охрана плодов у самок сельскохозяйственных животных и профилактика заболеваний в ранний период онтогенеза. Автореф. дис. докт.вет. Наук : 06.02.06 / Василий Андреевич Аликаев.– Ленинград, 1970. – 44с.
4. Андреева, А.Б. Влияние комплексного препарата «Гемобаланс» на биохимические показатели крови лошадей / Л.Ю.Карпенко, А.Б.Андреева // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2007. - №1, Выпуск 43.с.89-92
5. Андреева, А.Б. Влияние применения препарата «Гемобаланс» на концентрацию в крови железа и меди у жеребых кобыл и новорожденных жеребят / А.Б. Андреева, А.А. Бахта, Л.Ю. Карпенко // Иппология и ветеринария.- СПб., 2011.с10-13.
6. Андреева, А.Б. Коррекция иммуно-биохимического статуса при жеребости кобыл. Автореф. дис. канд. вет. Наук : 06.02.06 / Анна Борисовна Андреева – СПб., 2012, 24.
7. Баймурадова, С.М. Патогенез, принципы диагностики, профилактики и терапии синдрома потери плода, обусловленного приобретенными и генетическими дефектами гемостаза: дис. ...докт. мед.наук. М. 2006;. 291 с.

8. Баканов, В.Н. Кормление сельскохозяйственных животных / В.Н. Баканов, В.К. Менькин. М.: Агропромиздат, 1989.с 394-431
9. Баранов, В.Г. Физиология эндокринной системы / В.Г. Баранов. – Ленинград: Наука, 1979. –. 160с.
10. Брюйя, Ж.Б. Молозиво как основа иммунитета новорожденных жеребят / Ж.Б. Брюйя // Коневодство и конный спорт. - 2006. - №2.-С,13-16.
11. Буянов А.А. Результаты применения прогестерона с целью искусственной регуляции функции размножения у бесплодных коров/ Буянов А.А., Агранов А.Е. // В кн.: Акушерство, гинекология и искусственное осеменение и болезни молочной железы с.-х. животных, Сб. работ Ленинградского вет. института,1976.с23.
12. Волкова, О.В. Структурная организация составных компонентов эндометрия млекопитающих в преимплантационный период/ Волкова О.В., Поскребышев Е.А., Щиглик Д.А. //Арх. АГЭ,1979. –Т.77. вып,-9-с12.
13. Володин, Н.Н. Фармакотерапия отдельных состояний при беременности / Н.Н. Володин, – М.: Миклош, 2011. -С176.
14. Вракин, В. Морфология сельскохозяйственных животных / В.Ф. Вракин, М.В. Сидорова, В.П. Панов, А.Э. Семак. 2-е изд., испр. и доп. М.: Агропромиздат, 2004. – С.615.
15. Глаголев, П.А., Ипполитова В.И. Анатомия сельскохозяйственных животных с основами гистологии и эмбриологии М.: Колос, 1977. – С. 480.
16. Гончаров, В. П. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных / Д. А. Черепяхин. М.: Колос, 2004. – 72-80 с.
17. Грига, Э.Н. Функциональные особенности желтого тела полового цикла / Э.Н. Грига // Вестник ветеринарии. 2000. – № 15. – с,11.
18. Джоробеков, М.И. Гистоморфология и гистохимия полового тракта коз: Автореф...канд. вет. наук. Улан-Удэ, 1975. С18.
19. Дюльгер, Г.П. Физиология и биотехника размножения лошадей / Г.П. Дюльгер, В.В. Храмцов, Н.М. Кертиева .-М. 2012.-112с.

20. Ельчанинов, В.В. Методы контроля воспроизводства крупного рогатого скота / В.В. Ельчанинов, А.М. Чомаев, А.А. Гольдина, С.А. Мальцев, ВГНИИЖ. Дубровицы.- 2004.с.126.
21. Завадовский, Б.М. Произвольное возбуждение овуляции, течки, охоты у сельскохозяйственных животных / Б.М. Завадовский // Проблемы животноводства. 1934. – № 4. С108.
22. Завадовский, Б.М. Теория и практика гормонального метода стимуляции многоплодия с.-х. животных / Б.М. Завадовский М., 1963. –с671.
23. Иванов, М.С. Табунное коневодство / М.С. Иванов, В.У. Хальбаев, А.Г. Дулганов - Иркутск, 1983, С. 3-11
24. Калашников, Р. В., Калашников В. В. Развитие табунного коневодства в России // Достижения науки и техники АПК. 2011. №9 8-11 с.
25. Калашников, В.В. Кормление лошадей: Учебник / В.В. Калашников, И.Ф. Драганов, В.Г. Мемедейкин. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2011.-С224.
26. Калашников, А.П. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных/ Калашников А.П., Н.И. Клейменов, В.Н. Баканов.- М.: Агропромиздат, 1985 – с. 349.
27. Карпенко, Л.Ю. Влияние препарата «Гемобаланс» на факторы неспецифической резистентности лошадей / Л.Ю. Карпенко, А.Б. Андреева // Зооиндустрия. – 2007.-С17-19.
28. Карпенко, Л.Ю. Клиническая биохимия в диагностике болезней лошадей / Л.Ю. Карпенко. – СПб.: Издательство СПбГАВМ, 2006.С.59.
29. Кононов, Г.А. Ветеринарное акушерство и гинекология. Л. «Колос».1977. с45.
30. Корочкина, Е.А. Влияние препарата Гемобаланс на функциональную активность яичников и воспроизводительную способность коров / Е.А. Корочкина, Д.О. Моисеенко // Международный вестник ветеринарии. – 2011. - №2. –с30.31.
31. Краснопольский, В.И. Формирование и патология плаценты / В.И. Краснопольский. - М.: Медицина, 2001.288с.

32. Кэмпбелл, С.А. Акушерство от десяти учителей / С.А. Кэмпбелл; Пер с англ.; Под ред. Е. Лиза. - М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 464с.
33. Макаренко, И.Г. Цитология и гистохимия матки в процессе беременности. Диссер., М. – 1954.
34. Мартыненко, Н.А. Эмбриональная смертность с.-х. животных и ее предупреждение. Киев. – Урожай. – 1971. С.56.
35. Меркулов, Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. - Ленинград: Медгиз, 1961.340с.
36. Милованов, В.К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение животных. Издат. с/х литературы, журналов и плакатов. М. – 1962.- С43.
37. Милованов, А.П. Патология системы мать-плацента-плод: Руководство для врачей /А.П. Милованов. - М.: Медицина, 1999. 448с.
38. Михайлов, Н.Н. Акушерство, гинекология и искусственное осеменение сельскохозяйственных животных: учебное пособия для техникумов / Михайлов, Н.Н. Паршутина, Г.В. Козлов, Н.Е.. – М.: Агропромиздат, 2011. – 527 с.
39. Племяшов, К.В. Значение витаминов для воспроизводства животных / К.В. Племяшов. – СПб: Издательство СПбГАВМ, 2010. – с107.
40. Племяшов, К.В. Значение витаминов для воспроизводства животных / К.В. Племяшов. – СПб: Издательство СПбГАВМ, 2010. – 107 с.
41. Племяшов, К.В. Клинический опыт применения препарата «Гемобаланс» в хозяйствах Ленинградской области / К.В. Племяшов, С.В. Щепёткина, Д.Н. Пудовкин // Матер.международ. науч. конф. Профессорско- преподавательского состава сотрудников и аспирантов СПбГАВМ, -2010.-с67-69.
42. Погорелова, А.Б. Лекарственные средства, применяемые в акушерстве / А.Б. Погорелова. - М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006-с 275.

43. Полянцев, Н.И. Система ветмероприятий при воспроизводстве крупного рогатого скота // Н.И.Полянцев, В.В.Подберезный / Ветеринария. 2004. – №5. С.37.
44. Попов, А.П. Структурно-функциональные основы ветеринарной андрологии. /Монография. Изд. ФГОУ ВПО БГСХА, 2004. –С.287.
45. Прокофьев, М.И. Регуляция размножения сельскохозяйственных животных / М.И. Прокофьев Л.: Наука, 1983.С.264.
46. Пронин, Б. Г. К вопросу изучения и анализа бесплодия и яловости крупного рогатого скота // Тр. Ереванского ЗВИ 1971-С.229-230.
47. Пронин, Б. Г. Учения о половом цикле и его значение для профилактики бесплодия лошадей // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. 2010.- 210-227 с.
48. Савченко, Ю.И. Очерки физиологии и морфологии функциональной системы мать – плод / Ю.И. Савченко, К.С. Лобынцев. – М.: Медицина, 1980.-с255.
49. Смоленская-Суворова, О.О. Проблемы недоношенности и физиологической незрелости в коневодстве / О.О. Смоленская-Суворова // Коневодство и конный спорт. – 2009. - №2. – С. 29 – 32.
50. Студенцов, А.П. Акушерство, гинекология и биотехника репродукции животных/ Студенцов, А.П., В.С. Шипилов, В.Я. Никитин и др.; под ред. В.Я. Никитина, М.Г. Миролубова. М.: Колос, 2000.- 495 с.
- 51.Тимченко, А. Коневодство России сегодня и завтра / Тимченко А. // Коневодство и конный спорт. – 2005. - № 1. – С. 2-4.
52. Угадчиков, С.Т. Биологически активные вещества в кормлении лошадей / С.Т. Угадчиков // Биологические основы повышения эффективности коневодства научные труды. Дивово, 1996.с.102-112.
- 53.Федорова, М.В. Плацента и ее роль при беременности / М.В. Федорова, Е.П. Калашникова. – М.: Медицина, 1986. - 256 с.
54. Филиппов, О.С. Плацентарная недостаточность / О.С. Филиппов. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. –с160.

55. Черных, В.Г. Эндометральные чаши - специфические структуры матки кобыл / В.Г. Черных В.Г., Г.А. Игумнов, Р.З. Сиразиев. Новосибирск, 2004. - 152 с.
56. Шефер, К. Лекарственная терапия в период беременности и лактации / К. Шефер. - М.: Логосфера, 2010. с768.
57. Allen, W.R. (2005). Maternal recognition and maintenance of pregnancy in the mare. *AnimReprod*, 2:209-223.
58. Allen, W.R., & Wilsher, S. (2009). A review of implantation and early placenta in the mare. *Placenta*, 30p:1005-1015.
59. Allen, W.R.: The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. *Reproduction in Domestic Animals*, 2005. 40. p.310-329.
60. Aurich, C.: Reproductive cycles of horses. *Animal Reproduction Science*, 2011. 124. p.220-228.
61. Ball, B.A. (1988). Embryonic loss in mares. Incidence, possible causes, and diagnostic considerations. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 4p:263-290.
62. Bergfelt, D.R., Woods, J.A., & Ginther, O.J. (1992). Role of the embryonic vesicle and progesterone in embryonic loss in mares. *J ReprodFertil.* 95p:339-347.
63. Besse P., 1993. Etude de la conservation de la semence du Baudet du Poitou en frais, réfrigéré ou congelé. Thèse de médecine vétér. n°86, Ecole Nat. Vét. De Nantes, Nantes, 128 p.
64. Blanchard TL, Macpherson ML. Chapter 236. Breeding ares on foal heat. In: *Equine reproduction*. 2nd éd. Wiley-Blackwell; 2011. p. 2294-301.
65. Blanchard, T.L., Varner, D.D., Schumacher, J., Love, C.C., Brinsko, S.P., Rigby, S.L.: *Manual of equine reproduction*, 2nd ed. Mosby, 2003. p.1-272.
66. Bruyas, J.F: Freezing of Embryos. In: Mckinnin, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D.: *Equine reproduction*. Blackwell Publishing Ltd., 2011. p. 2871-2879.

67. Card C. Cellular associations and the differential spermogram: making sense of stallion spermatozoal morphology. *Theriogenology* 2005;64(3):558-567.
68. Carnevale, E.M., 2008. The mare model for follicular maturation and reproductive aging in the woman. *Theriogenology* 69, 23-30.
69. Carnevale, E.M., Griffin, P.G., & Ginther, O.J. (1993). Age-associated subfertility before entry of embryos into the uterus of mares. *Equine Veterinary Journal*, 25:31-35.
70. Corde R., 1985. Saillie - Insémination artificielle - Infertilité du mâle. In : MaisonsAlfort, France, Assoc. pour l'Etude de la Repro. Animale. La reproduction chez le cheval. Physiologie - pathologie : 67-73.
71. Diekman, M.A W. Braun, D. Peter, D. Cook, Seasonal serum concentrations of melatonin in cycling and noncycling mares,, *Journal of Animal Science*, Volume 80, Issue 11, November 2002, Pages 2949–2952,
72. Dussauge J. P., 1963. La production du mulet par insémination artificielle au Maroc. *Thèse méd. vét. n° 4*, Ecole Nat. Vét. d'Alfort, 43 p.
73. *Equine Disease Quarterly*, Mobile Blue Light Therapy for Broodmares, 12 octobre 2012.
74. Fauquenot A., 1987. L'insémination artificielle chez les équidés. *BTIA*, 44 (mai): 23-26.
75. Fielding D., Pearson R. A., ed., 1991. Donkeys, mules and horses in tropical agricultural development. Univ. of Edinburg, Edinburgh (GBR), 1 vol., 336 p.
76. Foote RH. The history of artificial insemination: selected notes and notes. *J Anim Sci* 2002;80(suppl 2):1-10.
77. Frazer, G.: Disorders of the reproductive tract. In: Reed, M., Bayli, W.M., Sellon, D.C.: *Equine Internal Medicine*, 3rd edition. Saunders, 2011. p.1004-1139.
78. Ginther, O.J., Whitmore, H.L., Squires, E.L., 1972. Characteristics of estrus, diestrus, and ovulation in mares and effects of season and nursing. *Am J Vet Res* 33, 1935-1939.

79. Givens, M.D., & Marley, M.S.D. (2008). Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*. 70:270-285.
80. Hartman, D.L.: Embryo transfer. In: McKinnin, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D.: *Equine reproduction*, 2nd ed. Blackwell Publishing Ltd., 2011. p. 2871-2879.
81. Hughes JP, Loy RG. Artificial insemination in the equine. A comparison of natural breeding and artificial insemination of mares using semen from six stallions. *Cornell Vet* 1970;60(3):463-475.
82. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2013. 33. p.305-308
83. Maischberger, E., Irwin, J.A., Carrington, S.D., & Duggan, V.E. (2008). Equine post-breeding endometritis: A review. *Ir Vet J*. 61:163-168.
84. Mangold L, Chollet E. Reproduction: les grandes décisions en suivi gynécologique. *Pratique Vétérinaire Equine*. 2017;(193):52-6.
85. McKinnon, A.O., Squires, E.L.: *Equine Embryo Transfer*. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 1988. Vol 4. No 2. p.305-333.
86. Varner, D.D.: *Equine reproduction*, 2nd ed. Blackwell Publishing Ltd., 2011. p. 2880-2886.
87. McCue PM, Logan NL, Magee C. Management of the transition period: hormone therapy. *Equine Veterinary Education*. 2007;19(4):215-21.
88. MCCUE, P.M., DELUCA, C.A., FERRIS, R.A, WALL, J.J.: How to Evaluate Equine Embryos. *AAEP Proceedings*, 2009. 55. p.252-256.
89. McCue PM, McKinnon AO. Chapter 222. Ovarian abnormalities. In: *Equine reproduction*. 2nd: Wiley-Blackwell; 2011. p. 2123-36.
90. McKinnon AO, McCue PM. Chapter 223. Uterine abnormalities. In: *Equine reproduction*. 2nd éd. Wiley-Blackwell; 2011. p. 2137-61.
91. Nicolich C., 1989. L'insémination artificielle équine. Thèse médevét Nantes n° 22, ENV Nantes, Nantes, 205 p.
92. Palmer, E., 1978. Control of the oestrous cycle of the mare. *J Reprod Fertil* 54, 495-505.

93. Pereira, R.M., Marques, C.C.: Animal oocyte and embryo cryopreservation, *Cell Tissue Banking*, 2008. 9. p.267-277.
94. Perry, G.: 2012 Statistics of Embryo Collection and Transfer in Domestic Farm Animals. URL:
http://www.iets.org/pdf/comm_data/december2013.pdf
95. Rahal K., Guedioura A.A., Oumouna A.M. Paramètres morphométriques du cheval barbe de Chaouchaoua. *Rev. Méd. Vét.*, 2009, 160, 586-589.
96. Salazar-Ortiz, J., Camous, S., Briant, C., Lardic, L., Chesneau, D., Guillaume, D., 2011. Effects of nutritional cues on the duration of the winter anovulatory phase and on associated hormone levels in adult female Welsh pony horses (*Equus caballus*). *ReprodBiolEndocrinol* 9, 130.
97. Samper JC, Morris CA. Current methods for stallion semen cryopreservation: a survey. *Theriogenology* 1998;49(5):895-903.
- 98.15) Samper, J.C., Pycock, J.F., Mckinnon, A.O.: Current therapy in equine reproduction. Saunders, 2007. p.1-608.
99. Shore MD, Macpherson ML, Combes GB, et al. Fertility comparison between breeding at 24 hours or at 24 and 48 hours after collection with cooled equine semen. *Theriogenology* 1998;50(5):693-698.
100. Stout, T.A.E.: Cryopreservation of Equine embryos: Current state-of-the-art.
Reproduction in Domestic Animals, 2012. 47. p.84-89.
101. Squires EL, Brubaker JK, McCue PM, Pickett BW. Effect of sperm number and frequency of insemination on fertility of mares inseminated with cooled semen. *Theriogenology* 1998;49(4):743-749.
102. Smiths, K., Hoogewijs, M., Woelders, H., Daels, P., Vansoom, A.: Breeding or Assisted reproduction? Relevance of the Horse Model Applied to the Conservation of Endangered Equids. *Reproduction in DomesticAnimals*, 2012. 47. p.239-248.
103. Squires, E.L.: Hormonal manipulation of the Mare: A review. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2008. Vol 28. No 11. p.627-634.

104. Suirese.L, P.M. Mccue: Superovulation in mares. *Animal reproduction science*,2007. 99. p. 1-8.
105. 2007. 99. p. 1-8
106. Valon F., Chaffaux S., 1983. Le prélèvement du sperme chez le cheval. *Rec. Med.Vet.*, 159 (11): 699-973.
107. Villahoz, M.D., Squires, E.L., Voss, J.L., &Shideler, R.K. (1985). Some observations on early embryonic death in mares. *Theriogenology*. 23:915-924.
- 108.** Walsh, C.M., Prendergast, R.L., Sheheridan, J.T., Murphy, B.A.: Blue light from light-emitting diodes directed at a single eye elicits a dose-dependent suppression of melatonin in horses. *The Veterinary Journal*, 2013. Vol 196, Issue 2. p. 231-235.

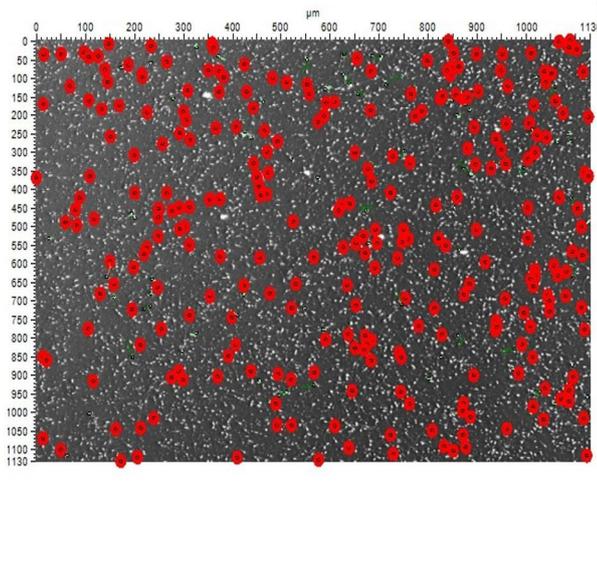
7. ПРИЛОЖЕНИЕ

Имя/кличка донора **Cashmir Hann**
 ИН донора **DE 431310364813**
 Номер при жизни

Вид **Equidae**
 Порода **-**

Подвижность & концентрация разбавленного эякулята

Условия анализа



Анализ образца

Дата анализа		15.07.20
Дата производства		15.07.20
Общее кол-во проанализ. спермы		1 010,00
Количество полей		3,00
Концентрация	[10 ⁶ /мл]	13,16
Общая подвижность	(%)	26,14
Поступательная подвижность	(%)	24,36
■ Быстрая поступ. подв-ть	(%)	7,62
■ Медл. поступ. подв-ть	(%)	16,34
■ Круговая подвижность	(%)	0,40
■ Локальная подвижность	(%)	1,78
■ неподвижный	(%)	73,86
Общ. кол-во сперм/доза	[10 ⁶]	6,58

	VCL (µm/сек)	VSL (µm/сек)	VAP (µm/сек)	DCL [µm]	DSL [µm]	DAP [µm]	ALH [µm]	BCF (Hz)	HAC (рад)	WOB (VAP/VCL)	LIN (VSL/VCL)	STR (VSL/VAP)
Сред.зн.перез.	55,82	20,80	29,09	13,92	4,60	6,82	0,76	4,01	0,24	0,52	0,37	0,72

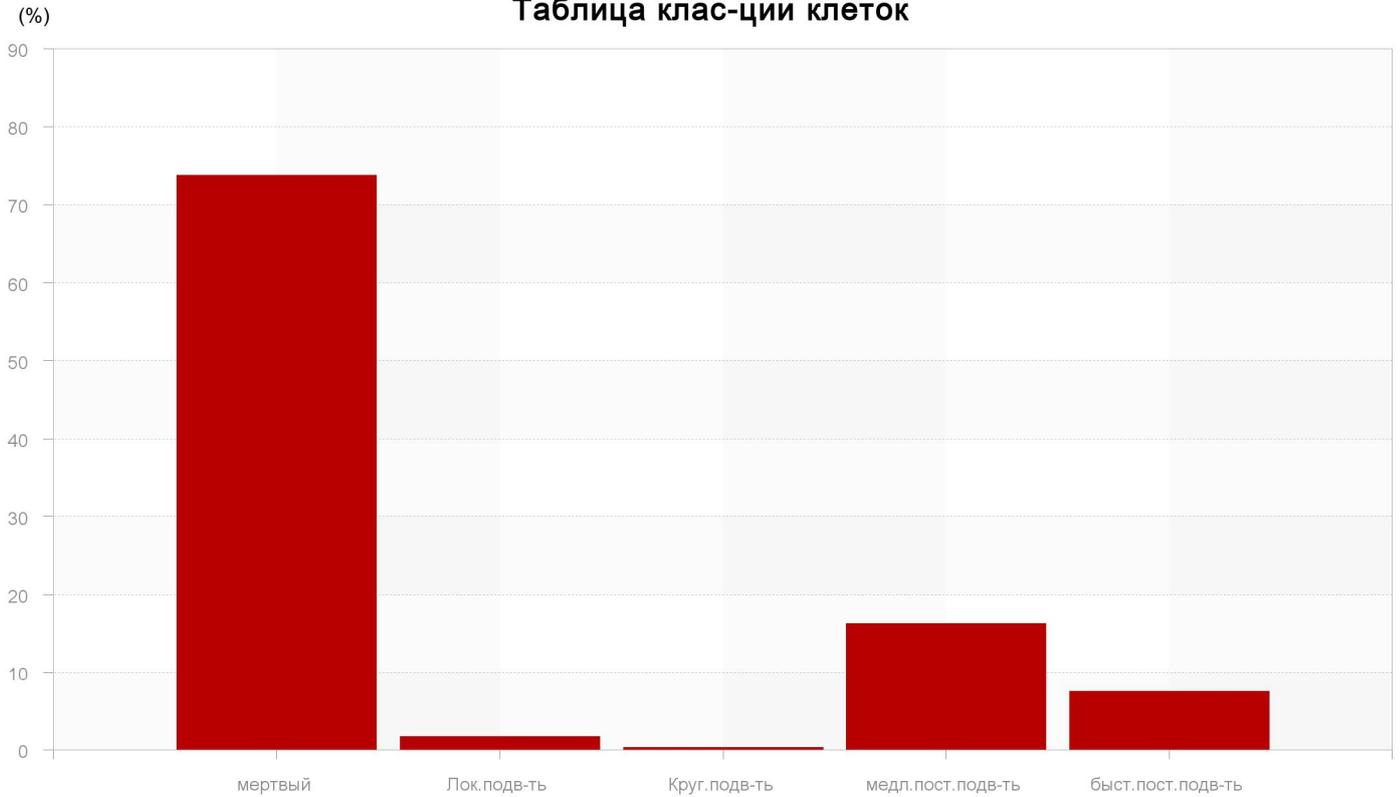
Имя/кличка донора
ИН донора

Cashmir Hann
DE 431310364813

Дата сбора и анализа

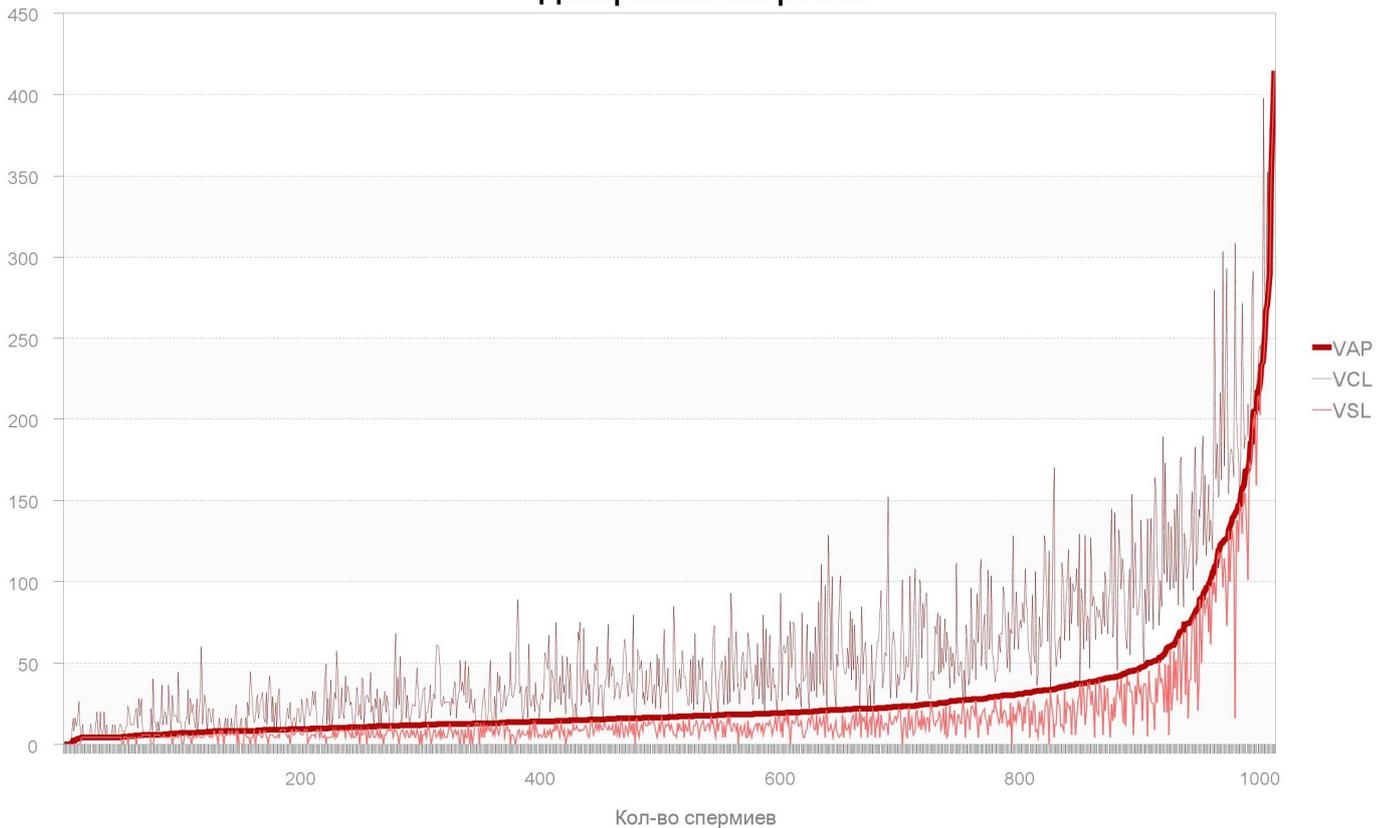
15.07.20

Таблица клас-ции клеток



($\mu\text{m}/\text{сек}$)

Диаграмма скорости



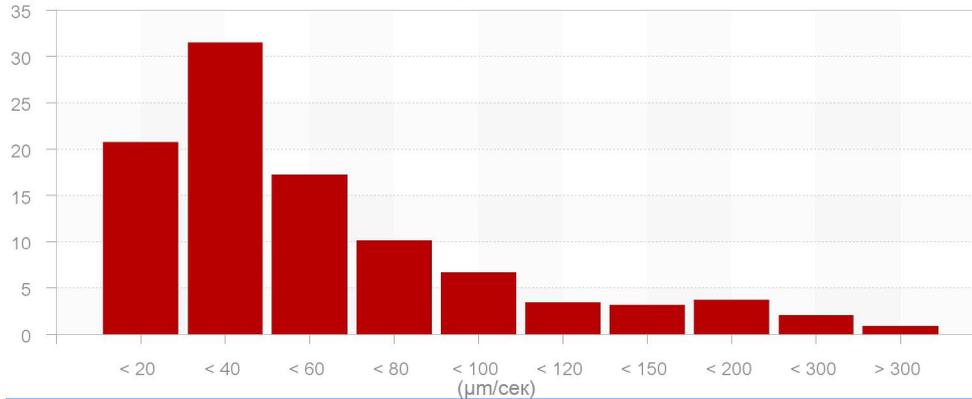
Имя/кличка донора
ИН донора

Cashmir Hann
DE 431310364813

Дата сбора и анализа

15.07.20

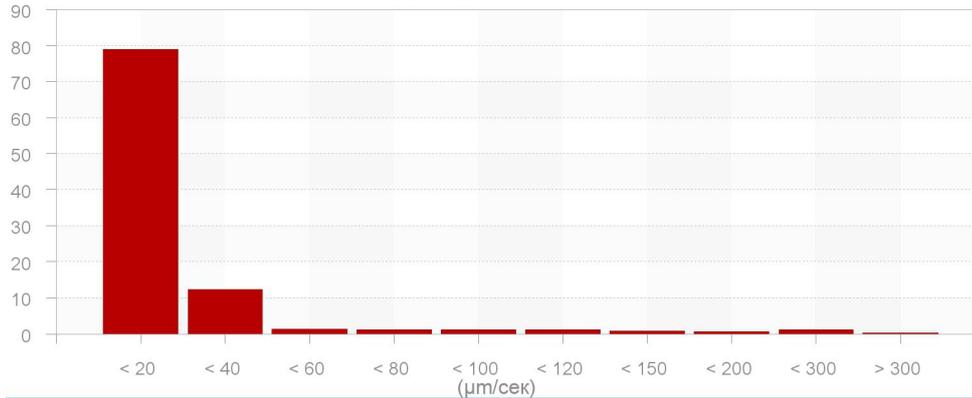
(%) **Диаграмма VCL**



Минимум	4,04
Максимум	414,32
Среднее значение	55,82
Средний	38,07
станд.откл-е	55,93
1. Квартиль	21,90
3. Квартиль	69,00
Интерквартиль	47,11

Диапазон ($\mu\text{m}/\text{сек}$)	< 20	< 40	< 60	< 80	< 100	< 120	< 150	< 200	< 300	> 300
Сперм Переж. (%)	20,79	31,58	17,33	10,20	6,73	3,47	3,17	3,76	2,08	0,89

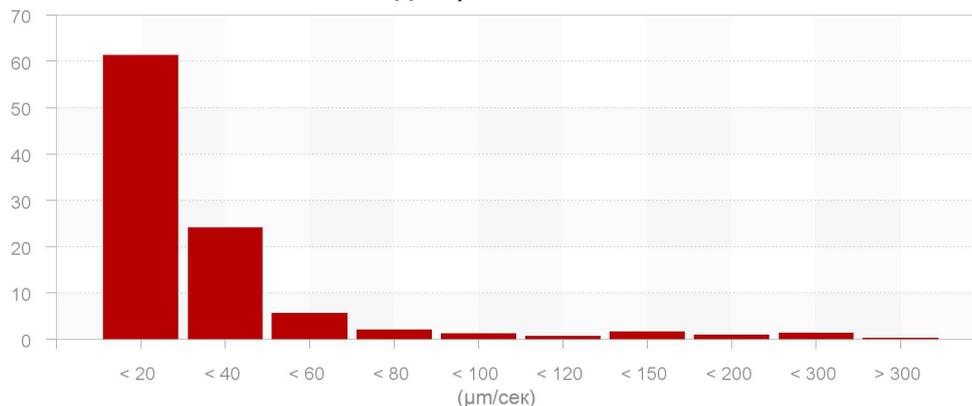
(%) **Диаграмма VSL**



Минимум	4,04
Максимум	414,32
Среднее значение	20,80
Средний	9,04
станд.откл-е	43,12
1. Квартиль	5,72
3. Квартиль	17,16
Интерквартиль	11,44

Диапазон ($\mu\text{m}/\text{сек}$)	< 20	< 40	< 60	< 80	< 100	< 120	< 150	< 200	< 300	> 300
Сперм Переж. (%)	79,21	12,38	1,49	1,19	1,19	1,29	0,89	0,79	1,19	0,40

(%) **Диаграмма VAP**



Минимум	1,16
Максимум	414,32
Среднее значение	29,09
Средний	16,86
станд.откл-е	43,46
1. Квартиль	10,95
3. Квартиль	27,70
Интерквартиль	16,74

Диапазон ($\mu\text{m}/\text{сек}$)	< 20	< 40	< 60	< 80	< 100	< 120	< 150	< 200	< 300	> 300
Сперм Переж. (%)	61,39	24,26	5,64	2,08	1,29	0,79	1,68	0,99	1,49	0,40

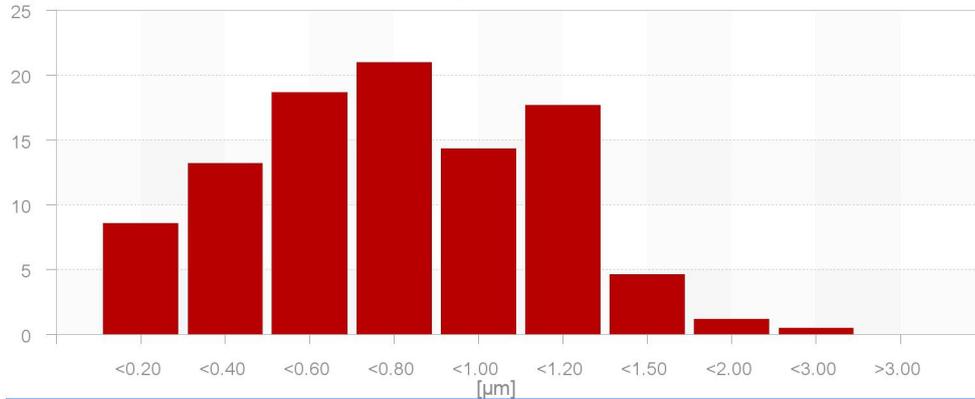
Имя/кличка донора
ИН донора

Cashmir Hann
DE 431310364813

Дата сбора и анализа

15.07.20

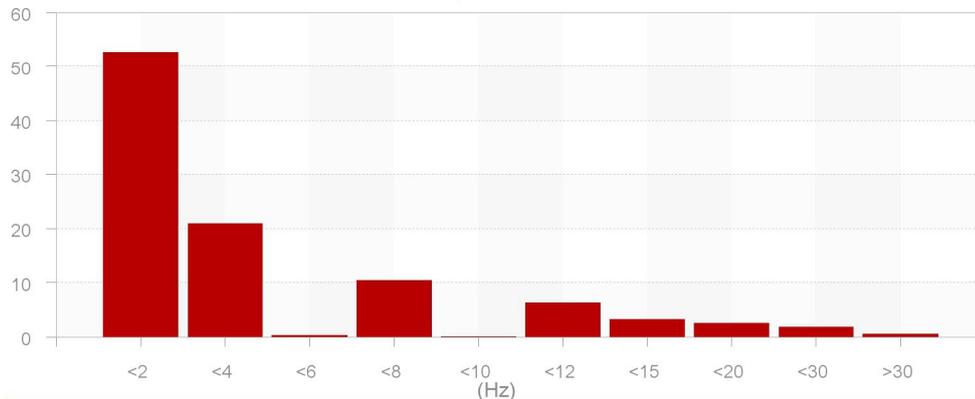
Диграмма ALH



Минимум 0,06
Максимум 2,69
Среднее значение 0,76
Средний 0,71
станд.откл-е 0,44
1. Квартиль 0,45
3. Квартиль 0,99
Интерквартиль 0,54

Диапазон [µm]	<0.20	<0.40	<0.60	<0.80	<1.00	<1.20	<1.50	<2.00	<3.00	>3.00
Сперм Переж. (%)	8,61	13,27	18,71	20,99	14,36	17,72	4,65	1,19	0,50	0,00

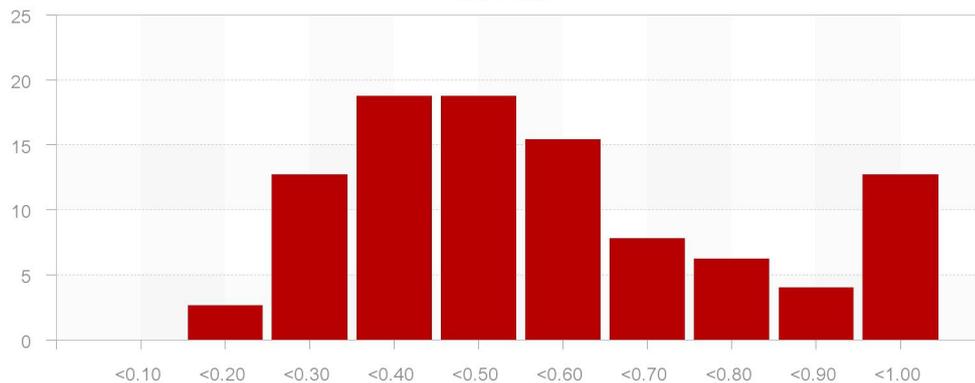
Диграмма BCF



Минимум 3,68
Максимум 47,79
Среднее значение 4,01
Средний 7,35
станд.откл-е 6,66
1. Квартиль 3,68
3. Квартиль 11,03
Интерквартиль 7,35

Диапазон (Hz)	<2	<4	<6	<8	<10	<12	<15	<20	<30	>30
Сперм Переж. (%)	52,77	21,09	0,40	10,50	0,20	6,44	3,37	2,67	1,98	0,59

Диграмма WOB
VAR/VCL



Минимум 0,12
Максимум 1,00
Среднее значение 0,52
Средний 0,48
станд.откл-е 0,24
1. Квартиль 0,35
3. Квартиль 0,67
Интерквартиль 0,32

Диапазон	<0.10	<0.20	<0.30	<0.40	<0.50	<0.60	<0.70	<0.80	<0.90	<1.00
Сперм Переж. (%)	0,00	2,67	12,77	18,81	18,81	15,45	7,82	6,24	4,06	12,77

Имя/кличка донора
ИН донора

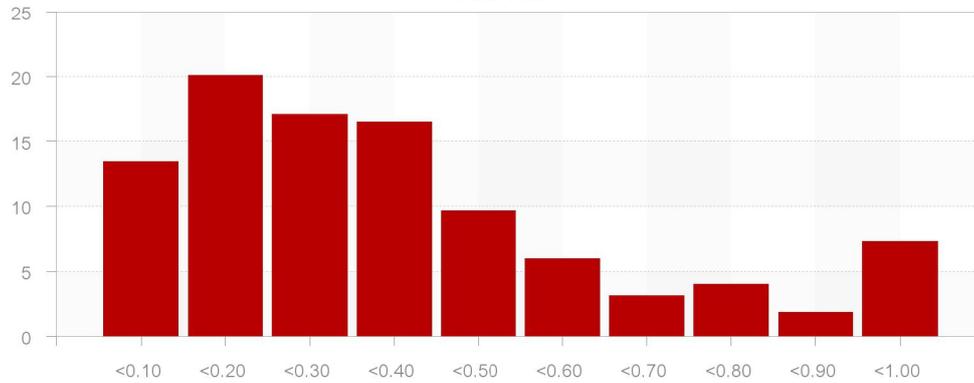
Cashmir Hann
DE 431310364813

Дата сбора и анализа

15.07.20

(%)

Диаграмма LIN
VSL/VCL

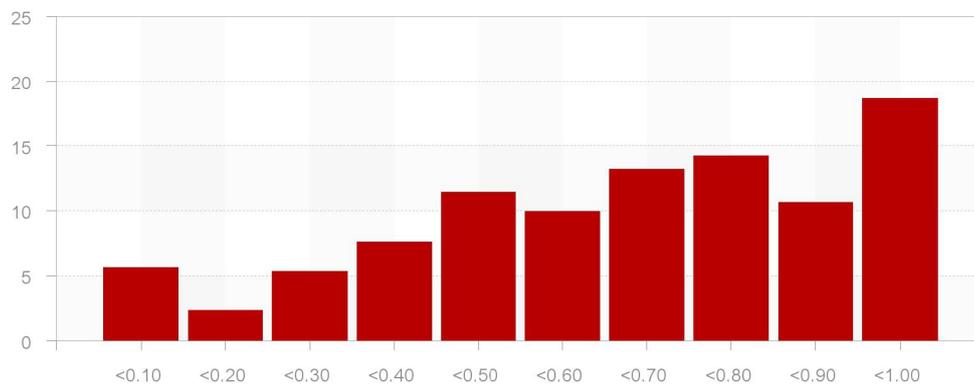


Минимум 0,02
Максимум 1,00
Среднее значение 0,37
Средний 0,31
станд.откл-е 0,26
1. Квартиль 0,47
3. Квартиль 0,85
Интерквартиль 0,38

Диапазон	<0.10	<0.20	<0.30	<0.40	<0.50	<0.60	<0.70	<0.80	<0.90	<1.00
Сперм Переж. (%)	13,47	20,10	17,13	16,53	9,70	6,04	3,17	4,06	1,88	7,33

(%)

Диаграмма STR
VSL/VAP



Минимум 0,10
Максимум 1,00
Среднее значение 0,72
Средний 0,67
станд.откл-е 0,24
1. Квартиль 0,47
3. Квартиль 0,85
Интерквартиль 0,38

Диапазон	<0.10	<0.20	<0.30	<0.40	<0.50	<0.60	<0.70	<0.80	<0.90	<1.00
Сперм Переж. (%)	5,64	2,38	5,35	7,62	11,49	10,00	13,27	14,26	10,69	18,71

Заметка ОБЪЕМ ДОЗЫ 0,5 МЛ

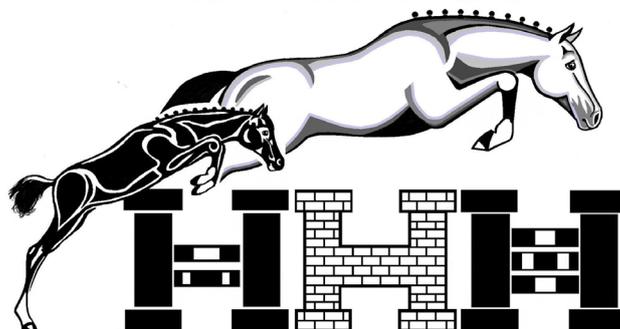
Дата

Имя

Подпись



ХАРТЛИ ХОРС ХАУС



ПЛЕМЕННАЯ КОНЕФЕРМА