

Федеральное агентство научных организаций  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства»

На правах рукописи

ЛЕБЕДЕВА  
Людмила Федоровна

МЕТОДЫ ОПТИМИЗАЦИИ ТЕХНОЛОГИИ ВОСПРОИЗВОДСТВА  
В ПЛЕМЕННОМ КОНЕВОДСТВЕ

06.02.10 – Частная зоотехния, технология производства продуктов  
животноводства

Диссертация

на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук

Научный консультант: доктор  
сельскохозяйственных наук,  
профессор, академик РАН  
Калашников Валерий Васильевич

Дивово - 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 ОБОСНОВАНИЕ ПРОБЛЕМЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ВОСПРОИЗВОДСТВА ПЛЕМЕННЫХ ЛОШАДЕЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	18
1.1 Тенденции в мировом коневодстве	18
1.2 Современное состояние, проблемы и перспективы организации воспроизводства лошадей в России и за рубежом	22
1.2.1 Естественная случка	23
1.2.2 Искусственное осеменение	36
1.2.3 Трансплантация эмбрионов	53
1.3 Развитие биотехнологических методов размножения лошадей	61
1.4 Биологические особенности репродуктивной системы кобыл	66
1.4.1 Сезонность воспроизводительной функции у кобыл	66
1.4.2 Специфика фолликулогенеза, овуляции и лютеогенеза	69
1.4.3 Видовые особенности эмбриогенеза	74
1.5 Управление репродуктивным процессом с помощью гормонов	83
1.6 Методы оценки воспроизводительных качеств кобыл	86
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	97
ГЛАВА 3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	106
3.1 Технологии воспроизводства поголовья в коневодстве разных направлений	106
3.1.1 Естественная случка	106
3.1.2 Искусственное осеменение	114
3.1.2.1 Факторы, повышающие эффективность осеменения	114
3.1.2.2 Результативность случки/осеменения кобыл в послеродовую охоту	120
3.1.3 Трансплантация эмбрионов	124
3.1.3.1 Культивирование эмбрионов	126
3.1.3.2 Оценка качества эмбрионов	128
3.1.3.3 Охлаждение эмбрионов	131
3.1.3.4 Криоконсервация эмбрионов	133
3.2 Комплексная оценка функционального состояния репродуктивных органов кобыл	140
3.2.1 Визуальный осмотр наружных половых органов	141
3.2.2 Ректальная пальпация	149
3.2.3 Вагиноскопия и мануальное исследование влагалища	151
3.2.4 Цитологический метод	155
3.2.5 Бактериологический анализ	158
3.2.6 Ультразвуковое исследование (УЗИ)	160
3.2.7 Комплексное исследование	179

3.3 Использование гормонов в производственном репродуктивном цикле в коневодстве	184
3.3.1 Простагландин F <sub>2a</sub> (PGF <sub>2a</sub> )	185
3.3.2 Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ)	190
3.3.3 Прогестерон	192
3.3.4 Применение гормонов в производственном репродуктивном цикле с использованием биотехнологий	199
3.4 Контроль результатов случки, искусственного осеменения, эмбриотрансплантации и УЗ-мониторинг жеребости	202
3.4.1 Ультразвуковые характеристики матки и яичников кобыл при нормальной жеребости	203
3.4.2 Ультразвуковые характеристики матки и яичников жеребых кобыл при различных патологиях	213
3.4.3 Контрольные сроки УЗ-диагностики жеребости	221
3.5 Схема организации производственного цикла размножения лошадей в современных условиях	225
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	230
ВЫВОДЫ	232
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ	236
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	238
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	239
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА	275
ПРИЛОЖЕНИЕ А Форма регистрации процедуры эмбриотрансплантации	285
ПРИЛОЖЕНИЕ Б Схема развития эмбриона лошади в зародышевый период [105]	287
ПРИЛОЖЕНИЕ В Формирование хорионического пояса у эмбриона лошади	288
ПРИЛОЖЕНИЕ Г Ректальная диагностика созревания фолликула и овуляции у кобыл по Г.В.Паршутину и П.Н.Скаткину [108]	289
ПРИЛОЖЕНИЕ Д Ректальная диагностика жеребости у кобыл [108]	293
ПРИЛОЖЕНИЕ Е Трансплантация эмбрионов	297
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж Режимы замораживания эмбрионов	298
ПРИЛОЖЕНИЕ З Программный замораживатель ЭМБИ-К конструкции Института биофизики клетки РАН (г. Пущино)	299
ПРИЛОЖЕНИЕ И Процедура витрификации эмбрионов лошадей	300
ПРИЛОЖЕНИЕ К Диаграмма Гиббса-Розебома	301
ПРИЛОЖЕНИЕ Л Формирование плодных оболочек у лошадей по О.Ж. Ginther [249 ]	302

## ВВЕДЕНИЕ

Интенсификация селекционного процесса в племенном коневодстве России является важнейшим условием возвращения стране статуса мировой коневодческой державы, утраченного в последние десятилетия в результате трансформации системы национальной экономики и потери традиционных механизмов государственного регулирования сферы коннозаводства. Резкое сокращение поголовья лошадей в стране, переход государственных конных заводов в частные руки, финансовый кризис и стагнация отечественной научной школы – все эти факторы нанесли существенный ущерб отрасли и, как следствие, спровоцировали отставание в мировом технологическом прогрессе.

За последние 20 лет были открыты новые перспективные направления в биологической науке, появились более совершенные технические средства для практической и исследовательской работы, прояснились многие стороны физиологических механизмов функционирования организма лошади. Наконец, был совершен прорыв в области биотехнологий, который положил начало новой эре в разведении животных – геномной селекции. В результате производственный процесс в отрасли вышел на новый теоретический и технологический уровень, что диктует необходимость совершенствования сложившейся системы отечественного коннозаводства.

### Актуальность темы исследования

В системе селекционной работы с заводскими породами лошадей важнейшим звеном является эффективная организация производственно-технологического цикла воспроизводства поголовья. В отличие от большинства других видов сельскохозяйственных животных лошади фактически имеют самый низкий коэффициент размножения и самую длительную смену поколений, что существенно ограничивает возможности эффективного отбора племенного материала и сокращает темпы селекции в породах.

Важнейшей стороной воспроизводства является качество племенного ядра маточного поголовья, что выдвигает необходимость разработки системы оценки и отбора кобыл в производящий состав по репродуктивным признакам. Развитие биотехнологических исследований открыло новые возможности достижения уникальных комбинаций генетического материала выдающихся особей в процессе воспроизводства. Современные методы воспроизводства лошадей с учетом физиологических видовых особенностей их репродуктивной системы предусматривают использование новейших технических средств, инструментов и оборудования для успешной организации репродуктивного цикла. Внедрение в практику разведения лошадей современных биотехнологических методов должно способствовать не только росту показателей воспроизводства, как экономической категории коневодства, но и решению сложнейшей задачи тиражирования уникальных генотипов лошадей, отвечающих возросшим требованиям многогранного использования в спорте, досуге, иппотерапии, ипподромном бизнесе и иных сферах. С учетом ключевого значения в селекции и в производственно-экономических показателях отрасли процесса воспроизводства лошадей разработка методов его оптимизации является крайне актуальной.

#### Степень научной разработанности проблемы

Первой попыткой радикальной интенсификации селекции в коневодстве была разработка и широкое внедрение метода искусственного осеменения кобыл с целью массового улучшения конепоголовья за счет дробления эякулятов семени ценных жеребцов-производителей (И. И. Иванов, 1910). Эта разработка увенчалась широкомасштабной государственной программой, благодаря которой к 40-м годам прошлого века в СССР ежегодно осеменяли сотни тысяч кобыл, а метод искусственного осеменения стал в полном смысле слова производственным методом [90, 103]. Огромный вклад в создание технологии искусственного осеменения кобыл внесли отечественные ученые и практики, В. К. Милованов, А. А. Зальцман, В. К. Кедров, Х. И. Животков, Н. Н. Михайлов, Г. В. Паршутин, П. Н. Скаткин [46, 47, 55, 57, 64, 65, 91, 95, 108, 111, 129, 130, 201].

Существенному повышению результативности случки/осеменения способствовали фундаментальные и прикладные исследования физиологических особенностей репродуктивной системы кобыл, фолликулогенеза и овуляции, оплодотворения и раннего эмбриогенеза у лошадей. В нашей стране значительный прогресс в понимании биологических механизмов этих процессов был достигнут, благодаря научным трудам В. К. Милованова, Г. В. Паршутина, П. А. Волоскова, Г. Н. Архипова, П. Н. Скаткина, А. Н. Буйко, В. В. Ключева, С. М. Ромбе, К. Н. Мамина, В. Г. Черных и др. [6, 17, 18, 26, 69, 84, 85, 89, 108, 113, 131, 132, 153]. Среди иностранных ученых наиболее весомый вклад в прояснение этих вопросов внесли О. J. Ginther, W. R. Allen, K. J. Betteridge, A. O. McKinnon, E. L. Squires и др. [163, 190, 237, 240, 241, 244, 297, 323].

Немало содействовали росту эффективности воспроизводства лошадей успехи в разработке методов диагностики функционального состояния половой системы кобыл: ректального, вагинального, цитологического, бактериологического (А. Ю. Тарасевич, X. И. Животков, Н. А. Флегматов, П. А. Волосков, В. К. Кедров, А. П. Студенцов, И. Т. Растяпин, Н. М. Рязанцева, X. М. Крейнина, М. А. Керов, Л. А. Храброва, О. В. Баковецкая, М. М. LeBlanc, D. Brook, J. Dascanio,) [8, 23, 25, 43, 47, 67, 75, 138, 140, 144, 150, 194, 218, 282]. Большое внимание уделялось также способам выявления различных патологий и лечению заболеваний генитального аппарата кобыл. В частности, патологиями репродуктивного тракта занимались отечественные исследователи и практики К. И. Барулин, П. А. Волосков, X. И. Животков, А. П. Студенцов, В. П. Гончаров [10, 28, 31, 36, 41, 43, 47, 122, 137]. За рубежом диагностическая база была существенно расширена за счет внедрения эндоскопии, гистологического, гормонального и хромосомного анализов (А. С. Asbury, S. W. Ricketts, T. Katila и др.) [180, 260, 265, 272, 284, 334]. Была предложена также методика оценки и прогноз репродуктивных качеств кобыл на основе конфигурации наружных половых органов (индекс Каслика) [204, 321].

Но наиболее значимым и, по сути, революционным событием стало применение французским исследователем Е. Palmer трансректального

ультразвукового сканирования матки и яичников в гинекологии кобыл [319]. УЗИ открыло новые возможности и перспективы для совершенствования репродуктивных технологий и решения гинекологических проблем, которые напрямую связаны с уровнем воспроизводства. Подробное изучение УЗ-признаков матки и яичников кобыл в различном функциональном состоянии было проведено зарубежными исследователями O. J. Ginther, E. Palmer, E. L. Squires, A. O. McKinnon, P. M. McCue и др. [247, 240, 249, 289, 296, 311, 363]. Результатом этих исследований был качественный скачок в практической работе на важнейших этапах репродуктивного процесса: прогнозирование сроков наступления овуляции, раннее определение жеребости, в том числе двойнёвой, эмбриональной гибели, диагностика различных патологий полового тракта кобыл. Новый подход позволил резко повысить эффективность воспроизводства лошадей за рубежом.

В России ультразвуковой метод стал использоваться сравнительно недавно. Первые попытки его освоения и применения в отечественном коневодстве были предприняты в лаборатории физиологии размножения ВНИИК в конце 1990-х годов (С. Г. Лебедев, Е. В. Котельникова, 1999) [72, 78]. Однако разработчикам, по объективным причинам, не удалось до конца освоить все возможности данного метода и довести его до внедрения в практику.

За рубежом был предложен комплексный подход в оценке воспроизводительных качеств кобыл (breeding soundness examination) в секторе разведения на основе использования вышеперечисленных диагностических методов [220, 275, 297]. В России сегодня такая оценка не практикуется.

Изучение механизмов эндокринной регуляции воспроизводительной системы самок сельскохозяйственных животных привело к разработке методов управления репродуктивной функцией с помощью гормонов. Заслуги отечественных ученых М. М. Завадовского, А. И. Лопырина, В. К. Милованова, М. И. Прокофьева и др. в этой области общепризнанны. В коневодстве уровень различных половых гормонов у кобыл в течение эстрального цикла и жеребости изучали Е. Л. Фомина, В. В. Андрюшин, М. Ю. Алексеев, А. В. Шилова, Ю. Д.

Клинский, К. Н. Мамин, М. В. Меркулова, Р. О. Логинов и др. [68, 83, 85, 87, 146, 147, 155, 156]. Разработкой способов стимуляции овуляции и эстрального цикла, синхронизации половых циклов, выведения кобыл из сезонного анэструса, поддержки жеребости занимались: К. И. Барулин (1932), Б. М. Завадовский, С. М. Штамлер (1934), Л. М. Мирская и В.В. Петропавловский (1937,1938), Ю. Д. Клинский (1969), В. П. Гончаров (1971), С. Г. Лебедев (1977), А. И. Алиев (1980), Е. Л. Фомина, В. В. Андрюшин, М. Ю. Алексеев (1984,1987), Г. В. Филиппова (1999), Р. О. Логинов (2006) [12, 29, 30, 79, 143, 146, 162]. За рубежом большой вклад в разработку схем гормонального воздействия на кобыл для решения проблем воспроизводства внесли D. W. Holtan, С. Н. G. Irwin, S. L. Alexander, O. J. Ginther, M. G. Evans, R. W. Allen, R. L. Pashen, R. H. Douglas, F. Stewart и др. [264, 161, 242, 169, 299, 235, 260, 265, 323, 355].

Введение в разбавитель для спермы глицерина (С. Polge, A. U. Smith) положило начало разработке производственного метода криоконсервации семени жеребцов, который неограниченно расширил географию применения искусственного осеменения в разведении лошадей. Благодаря этой технологии, был достигнут огромный селекционный прогресс в отрасли. Важнейшую роль в создании современной технологии криоконсервации спермы жеребцов сыграли научные труды отечественных ученых П. Н. Скаткина, Т. И. Ильинской, Г. В. Паршутина, Е. С. Кружковой, В. А. Румянцевой, П. П. Печникова, А. Н. Буйко, Е. М. Платова, С. Я. Ромбэ, А. И. Науменкова, Н. К. Романьковой, А.И. Алиева, Е. Л. Фоминой, В. В. Андрюшина [1, 3, 58, 76, 96, 100, 117, 120, 125, 126, 145]. Первый в мире жеребенок от замороженного семени (кобылка Кавычка) был получен П. Н. Скаткиным в СССР в 1954 году [100]. За рубежом технология криоконсервации семени жеребцов тоже активно совершенствовалась (J. C. Martin, E. Klug, M. Tischner, E. Palmer, B. W. Pickett, J. D. Cochran, P. R. Loomis, E. L. Squires, S. Barbacini) [183, 209, 274, 285, 286, 288, 318, 324, 362], что в конечном итоге привело к созданию собственных подходов к обработке, фасовке, замораживанию спермы жеребцов, а также промышленному выпуску



специальных инструментов и оборудования, расходных материалов и сред для криоконсервации спермы и искусственного осеменения кобыл.

Разработка специального криогенного оборудования обеспечила доставку биоматериала в замороженном виде (минус 196°C) в любую точку планеты, благодаря чему генотип ценных племенных животных стал доступным инструментом улучшения поголовья лошадей в любом коневодческом хозяйстве. Создание криобанков позволило резервировать на неограниченный срок наследственный материал генетически ценных особей, а также обеспечить поддержание генетического разнообразия среди малочисленных и исчезающих пород лошадей. Бесспорным мировым лидером в этой области является Россия, где получено потомство от жеребцов-производителей, семя которых хранилось в жидком азоте в течение 30-40 лет [97].

Осеменение кобыл заморожено-оттаянной спермой, с учетом снижения ее качества после оттаивания, потребовало корректировки режима осеменения, а также более тщательного отслеживания времени наступления овуляции у кобыл. Согласно рекомендациям отечественных специалистов, осеменение кобыл нужно проводить строго до овуляции [47, 59, 108, 112, 132]. Зарубежные исследователи считают допустимым расширение «окна оплодотворения» до истечения 6 часов после овуляции [287, 345, 351].

В числе факторов, влияющих на результат искусственного осеменения, отмечены время, кратность и повторность осеменения, качество и количество используемого семени, глубина введения спермы в матку кобылы, а также соблюдение температурного режима и санитарных норм во время проведения процедуры [5, 42, 46, 47, 62, 108, 129, 132]. Кроме того, специалисты уделяют серьезное внимание состоянию половой системы кобыл, в частности после выжеребки, абортот и при наличии признаков патологий, имеющих прямое отношение к зажеребляемости [28, 38, 41, 43, 86, 275, 297]. Немало работ за рубежом посвящено проблеме посткоитального эндометрита [329, 366].

Разработка технологии трансплантации эмбрионов сделала возможным на порядок более интенсивно использовать генетически ценных кобыл в разведении,

освободив их от 11-месячного периода плодоношения. Так, получая от выдающейся кобылы в каждом половом цикле эмбрионы и пересаживая их малоценным реципиентам (суррогатным матерям), можно увеличить до 10 и более в год количество жеребят от одной кобылы-донора и многократно тиражировать удачные, проверенные сочетания пар. С помощью этой технологии реальным становится получение потомства от выдающихся спортивных кобыл без исключения их из графика соревнований, от молодых 1,5-2 летних кобыл, не достигших физиологической зрелости, от ценных кобыл с проблемами вынашивания плода. Отечественная технология трансплантации эмбрионов лошадей была разработана в 1982 году С. Г. Лебедевым [81]. В основу разработки был положен нехирургический метод извлечения и пересадки эмбрионов японских авторов N. Oguri и Y. Tsutsumi [315]. Зарубежные исследователи продвинулись в эмбриотехнологиях дальше отечественных специалистов, предоставив в распоряжение коневодов методы охлаждения и криоконсервации эмбрионов лошадей [201, 227, 290, 314].

Несмотря на огромные достижения и приоритеты отечественной сельскохозяйственной науки и практики в советский период, наша страна сегодня отстает в репродуктивных биотехнологиях от ведущих стран мира. Для достижения прогресса в сфере репродукции лошадей в отечественном коневодстве, необходимо обновить существующую систему воспроизводства, предоставить в распоряжение российских практикующих зоотехников и ветеринарных врачей новую сумму знаний и методов и предложить оптимальную систему организации репродуктивного цикла в современном коневодческом хозяйстве с применением доступных диагностических и биотехнологических методов. Лишь на такой основе возможно получение высокого результата работы и максимально эффективное использование племенного поголовья лошадей.

В настоящей работе всесторонне исследован технологический процесс воспроизводства племенных лошадей, обоснованы приемы и методы его совершенствования с учетом новых знаний в области биотехнологии,

отечественного, зарубежного и собственного опыта, в преломлении к специфике и уровню организации современного российского коннозаводства.

#### Цели и задачи исследования

Целью исследований является совершенствование и оптимизация технологии воспроизводства лошадей в отечественном коннозаводстве на основе использования современных биотехнологических и физиологических методов и технических средств.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать эффективность технологий воспроизводства лошадей различных пород в России и за рубежом, изучить характер, распространение и результативность использования биотехнологических методов (искусственное осеменение и трансплантация эмбрионов) в мировой практике коннозаводства.

2. Разработать комплексную систему оценки репродуктивных качеств кобыл для отбора в производящий состав племенных хозяйств.

3. Оптимизировать схемы гормонального воздействия на организм с целью управления воспроизводительной функцией и ее коррекции у кобыл.

4. Усовершенствовать биотехнологические методы воспроизводства лошадей (искусственное осеменение и трансплантация эмбрионов) для повышения эффективности использования высокоценных племенных животных в отечественном коннозаводстве.

5. Разработать систему мониторинга состояния репродуктивной функции у кобыл, тестирования фаз полового цикла и жеребости, диагностики результатов случки, осеменения и эмбриотрансплантации, контроля над развитием эмбриона с использованием ультразвукового метода (УЗИ).

6. Создать новую, отвечающую современным требованиям модель технологии воспроизводства высокоценного племенного поголовья лошадей для конных заводов Российской Федерации.

### Научная новизна

Впервые проведен сравнительный анализ технологии воспроизводства лошадей в России и за рубежом с учетом применения биотехнологических методов (искусственное осеменение и трансплантация эмбрионов) и способов естественной случки. Предложена система комплексной репродуктивной оценки и отбора кобыл в производящий состав на основе современных диагностических методов в качестве составной части технологии воспроизводства. Разработаны адаптированные отечественные методики культивирования, охлаждения и криоконсервации эмбрионов лошадей для последующей трансплантации кобылам-реципиентам. Разработана эффективная система УЗИ-мониторинга состояния репродуктивной функции у кобыл для контроля овуляции, результатов случки/осеменения, состояния жеребости. Сформулирована концепция и предложен алгоритм рациональной организации воспроизводства племенного поголовья лошадей в конных заводах Российской Федерации, разработана модернизированная производственная технология.

### Теоретическая и практическая значимость

Результаты разработок по теме диссертации существенно углубляют научное представление о физиологических механизмах регулирования репродуктивной функции у кобыл, развивают учение о регуляторном действии гормонов на течение половых циклов, вносят вклад в совершенствование методики эмбриотрансплантации, дополняют знания о течении эмбриогенеза у лошадей.

Рекомендации производству на основе полученных научных данных позволяют существенно повысить качество и количество племенных лошадей в Российской Федерации за счет усовершенствованной технологии воспроизводства племенного поголовья, внедрения современных биотехнологических методов, более интенсивного использования кобыл в разведении, применения комплексной оценки репродуктивной функции кобыл при отборе в производящий состав,

повышения эффективности контроля над результатами работы на всех этапах процесса воспроизводства.

Результаты научных разработок используются для пополнения теоретической и образовательной базы в области биотехнологии и физиологии размножения лошадей, а также для производства отечественных культуральных и криопротективных сред для культивирования, охлаждения и витрификации эмбрионов лошадей. В течение 2004-2016 годов с использованием результатов научных исследований автором подготовлено около 100 отечественных и зарубежных специалистов-репродуктологов по программам послевузовского образования.

#### Методология и методы исследования

Методологическую основу проведенной работы составили общенаучные методы: индукция, дедукция, анализ, синтез, сравнение и обобщение теоретических и экспериментальных данных. Схема исследований представлена на рисунке 1.

Экспериментальная часть работы строилась на методах наблюдения, фиксации, измерения и описания биологических признаков, постановки экспериментов с использованием опытных и контрольных групп животных, оценки, измерения, мониторинга результатов опытов с применением математической статистики, их осмысления и публикации в научных и научно-практических изданиях. Теоретический подход выражался в структурно-функциональной систематизации и классификации биологических и сельскохозяйственных признаков, моделировании усовершенствованной системы организации процесса воспроизводства в коневодстве.

#### Связь работы с научными программами

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденными планами научных исследований Всероссийского НИИ (ВНИИ) коневодства

В

периоды с 1986 по 1990 и с 2002 по 2016 годы по темам государственного задания: «Разработать новые и усовершенствовать существующие методы повышения эффективности размножения основных заводских пород лошадей России»; «Разработать системы и способы содержания сельскохозяйственных животных, рыб, насекомых с целью создания новых технологий производства продукции животноводства»; «Разработать ресурсосберегающие технологии интенсификации производства продукции животноводства»; «Усовершенствовать методы оценки репродуктивной функции кобыл, стадий эмбриогенеза, культивирования и хранения эмбрионов».

#### Положения, выносимые на защиту

1. Экономические, нормативные, биотехнологические, и иные значимые факторы детерминации эффективности технологий воспроизводства лошадей в России и за рубежом.
2. Обоснование эффективности комплексной оценки репродуктивных качеств кобыл (ректальная, ультразвуковая, вагиноскопическая, цитологическая, бактериологическая экспертиза) в технологии воспроизводства племенного поголовья лошадей.
3. Алгоритм использования гормонов (простагландин  $F_{2\alpha}$ , хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) и прогестерон) в производственном репродуктивном цикле кобыл в племенном коневодстве.
4. Результаты усовершенствования и практического применения биотехнологических методов в воспроизводстве лошадей (искусственное осеменение спермой, сохраненной в замороженном состоянии, трансплантация культивированных *in vitro*, охлажденных и замороженных эмбрионов).
5. Система ультразвуковой диагностики состояния репродуктивных органов у холостых и жеребых кобыл в норме и патологии. УЗ-мониторинг подготовки, проведения и контроля результатов случки/осеменения кобыл, контроль над развитием эмбриона.

6. Технологическая схема усовершенствованного производственного цикла воспроизводства поголовья лошадей для отечественного коннозаводства.

#### Степень достоверности и апробация результатов исследований

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на ежегодных заседаниях ученого Совета ФГБНУ «ВНИИ коневодства» (Дивово, с 2002 по 2016 годы), НТС секции животноводства Минсельхоза РФ (Москва, 2007), международных научно-практических конференциях: «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2004), «Трансплантация эмбрионов как инструмент селекции в новом тысячелетии. (Киев, 2006), «Проблемы коневодства» (Новосибирск, 2008), «БиоТехЖ-2008» (Дубровицы, 2008), «Актуальные проблемы сохранения биоресурсов, селекции и разведения животных» (Киев, 2011), 64-й митинг Европейской ассоциации животноводства (ЕААР) (Франция, г. Нант, 2013), 30-й митинг Европейской Ассоциации по трансплантации эмбрионов (30<sup>th</sup> Annual Meeting A.E.T.E.) (Германия, г. Дрезден, 2014), «Криоконсервация генетических ресурсов. Современное состояние, проблемы и перспективы» (г. Пущино, 2014), «Актуальные вопросы развития отечественного коневодства в современных условиях» (РГАУ МСХА, Москва, 2016), всероссийская молодежная научная школа «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (Уфа, 2012), международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2015), «РосБиоТех-2017» (Москва, 2017), на международной выставке «Эквирос.2015» (Москва, 2015), на пятом модуле курсов повышения квалификации «Основы размножения лошадей. Диагностика и лечение заболеваний репродуктивной системы лошадей» (Московская обл., КСК «Новый век», 2015).

#### Личный вклад автора

Автором лично проведены: сбор и анализ материалов о современном уровне воспроизводства в отечественном и зарубежном коннозаводстве, об эффективности различных видов случки, о характере и степени использования

биотехнологических методов в репродуктивных технологиях в коневодстве; оценка состояния матки и яичников кобыл методами ректального, вагинального и ультразвукового исследования; забор образцов биоматериала (кровь, слизь) для проведения гормонального, цитологического и бактериологического анализов; приготовление цитологических мазков эндометриальной, цервикальной и вагинальной слизи кобыл; гормональная обработка кобыл; подготовка и проведение экспериментов по искусственному осеменению кобыл, извлечению, дифференциальному окрашиванию, культивированию, охлаждению и криоконсервации эмбрионов лошадей, пересадке эмбрионов кобылам-реципиентам; УЗ-мониторинг репродуктивной системы кобыл, выявление патологий воспроизводительных органов кобыл и лечение эндометритов – доля участия автора 90%.

В проведении экспериментальных исследований на различных этапах оказывали содействие сотрудники лаборатории физиологии ВНИИ коневодства: д-р биол. наук С. Г. Лебедев, науч. сотр. Н. В. Сидорова (трансплантация эмбрионов), ст. науч. сотр., канд. биол. наук М. М. Атрощенко (искусственное осеменение, гормональная обработка кобыл), доцент кафедры эмбриологии МГУ им. М.В. Ломоносова д-р биол. наук, профессор М. Л. Семенова (окрашивание эмбрионов флуоресцентными и ДНК-красителями, конфокальная лазерная микроскопия), д-р с.-х. наук Л. А. Храброва (окрашивание эмбрионов голубым Эванса), гл. зоотехник к/з А. А. Казакова С. Г. Бурмистрова (искусственное осеменение), зоотехник-селекционер ЗАО «Конный завод Локотской», зоотехник-селекционер ЗАО «Конный завод Локотской», канд. биол. наук Е. В. Солодова (комплексная репродуктивная оценка, наружный осмотр).

В сборе информации о показателях воспроизводства в российских конных заводах автор воспользовался помощью зав. отделом экономики ФГБНУ «ВНИИ коневодства», доктора с.-х. наук В. С. Ковешникова и сотрудников отдела селекции ФГБНУ «ВНИИ коневодства»: зав. отделом, канд. с.-х. наук Г. В. Калинкиной, канд. с.-х. наук М. И. Стародумова, канд. с.-х. наук Н. А. Купцовой, канд. с.-х. наук А. А. Николаевой, канд. с.-х. наук Н. В. Абрамовой, канд. с.-х.



наук А. В. Борисовой, канд. с.-х. А. В. Дорофеевой, канд. с.-х. наук Л. Л. Викуловой, ст. научн. сотр. В. А. Айдарова, ст. научн. сотр. А. И. Никоновой, научн. сотр. Г. В. Королевой, научн. сотр. В. В. Крешихиной, ветврача ООО «Башагроген» Д. Петрова.

Данные по состоянию воспроизводства лошадей за рубежом были существенно дополнены источниками, любезно предоставленными иностранными специалистами J. Monteiro, J. Walter, M. Cressent.

Автор выражает искреннюю благодарность и глубокую признательность научному консультанту – доктору сельскохозяйственных наук, профессору, академику РАН, заслуженному деятелю науки РФ, директору ФГБНУ «ВНИИ коневодства» В. В. Калашникову, отечественным и зарубежным коллегам за отзывчивость и помощь в работе.

#### Публикации результатов исследований

По результатам исследований опубликовано 72 научных работы, в том числе 18 статей в журналах, рецензируемых ВАК, 1 инструкция, 2 наставления, 1 пособие, 1 методические рекомендации, 1 авторское свидетельство.

#### Структура и объем работы

Работа состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, предложений производству и списка литературы, включающего 379 источников, в том числе 220 на иностранных языках, содержит 302 страницы компьютерного текста, 77 рисунков и 35 таблиц, 11 приложений.

# ГЛАВА 1 ОБОСНОВАНИЕ ПРОБЛЕМЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ВОСПРОИЗВОДСТВА ПЛЕМЕННЫХ ЛОШАДЕЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

## 1.1 Тенденции в мировом коневодстве

Коневодство было и остается важным элементом хозяйственной, экономической и культурной деятельности человека. В большинстве стран, несмотря на различия в состоянии экономики и общественном укладе, коневодство на протяжении полувека продолжает занимать относительно стабильную нишу, о чем свидетельствуют пиковые значения численности лошадей в мире, фиксируемые с интервалом в 15-20 лет. По данным FAO на 2013 год [327], численность лошадей в мире составляет 57,852 млн голов. С 2009 года наблюдается четвертый за последние полвека спад этого показателя (рисунок 1).

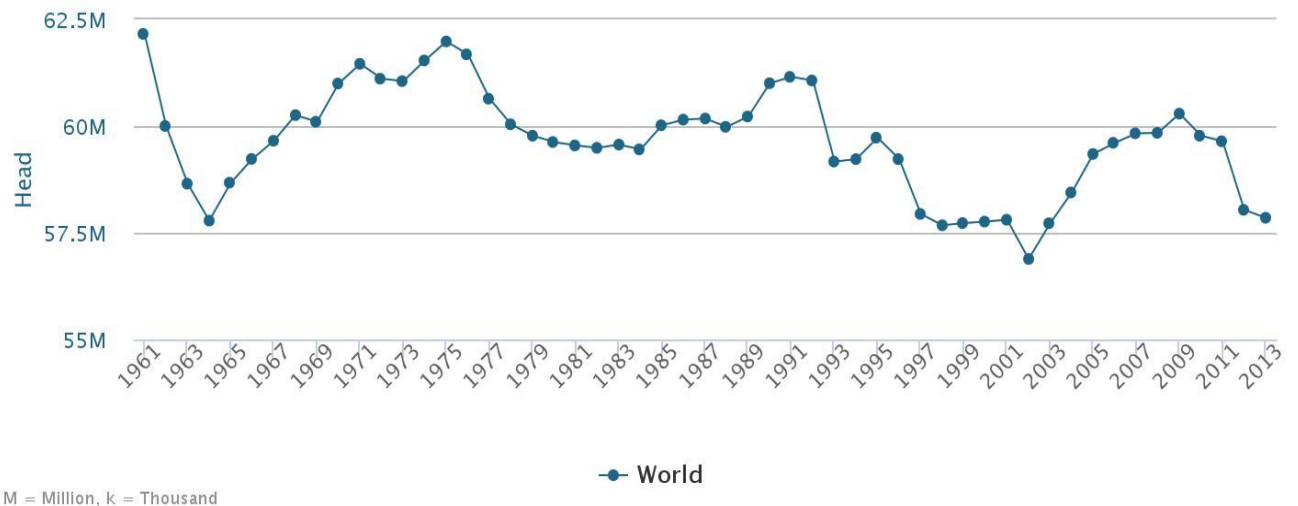


Рисунок 1 - Динамика численности поголовья лошадей в мире [327]

Картина в отдельности по континентам (и их частям) выявляет подробности процесса в динамике (рисунок 2).

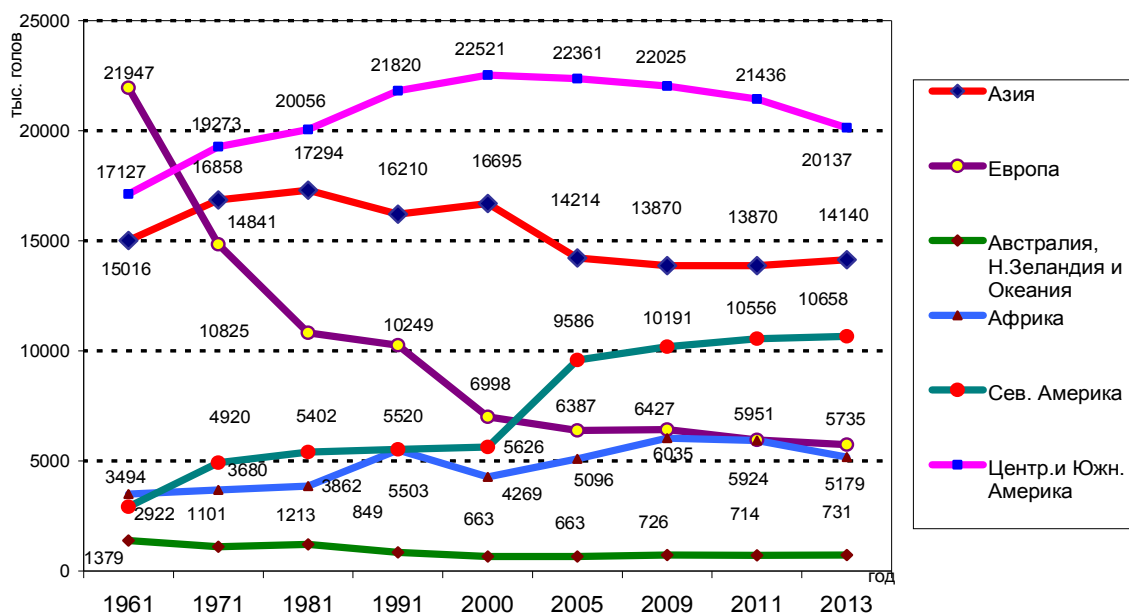


Рисунок 2 - Численность лошадей по континентам

Наиболее резкое сокращение поголовья лошадей произошло в Европе между 1961 и 2000 годом (почти на 15 млн голов), и эта тенденция сохраняется, хотя снижение идет гораздо меньшими темпами. Азия, в том числе главная ее составляющая – Китай, с небольшими колебаниями поддерживает традиционно высокую численность лошадей, но она тоже уменьшилась с 2000 года на 2,5 млн голов. На Американском континенте (в совокупности) за 50 лет, напротив, популяция лошадей выросла на 12 млн, и лишь после 2011 года (главным образом, за счет Южной Америки) немного уменьшилась.

Конная индустрия напрямую зависит от флюктуации экономики, поэтому последствия экономического кризиса 2008 года тяжело отразились на большинстве государств с развитым коневодством. Сократили свое конепоголовье Бразилия, Аргентина, Китай и большинство стран Западной и Восточной Европы. Сегодня 9 стран в мире имеют поголовье лошадей, превышающее 1 млн, в т.ч. Россия. Возглавляют пятерку лидеров США (10,250 млн), за ними следуют Мексика (6,356 млн), Китай (6,337 млн), Бразилия (5,312 млн) и Аргентина (3,620 млн). Россия, в своей истории обладавшая огромными

конскими ресурсами (38 млн голов в 1916 году), занимает теперь 9 место в этом списке после Монголии, Эфиопии и Казахстана.

В Российской Федерации по данным официальной статистики, за 1991 – 2015 годы общее поголовье лошадей в России уменьшилось с 2618,4 тыс. голов до 1374,2 тыс. голов, или на 48%. Количество племенных кобыл производящего состава основных заводских пород сократилось, по сравнению с уровнем 1990 года, на треть - с 6,3 до 4,2 тыс. голов. Однако в 2007 – 2011 годах, впервые после шестнадцатилетнего снижения, наметилась тенденция роста общей численности лошадей в нашей стране (на 58,3 тыс. голов, т.е. на 4,5 %). Численность племенного конского поголовья составляет в настоящее время около 48 тыс. голов [104]. В 2015 году в хозяйствах всех категорий общее количество кобыл составило 645,5 тыс. голов. В стране, по данным на 1 января 2016 года, функционирует 68 племенных конных заводов, 118 племенных репродукторов и 8 генофондных хозяйств. В племенных коневодческих хозяйствах разводятся лошади 44 пород.

История развития коневодства за последнее столетие в большинстве стран мира, несмотря на эксклюзивные национальные традиции, имеет общие тенденции и включает период сокращения численности поголовья после двух мировых войн в связи с фронтовыми потерями, а в последствии - в связи с утратой ключевого предназначения в качестве основной военной и транспортной силы. Отрасль оказалась неконкурентоспособной и по своей значимости в структуре сельского хозяйства в сравнении с другими видами крупного животноводства (за исключением тех стран, которые традиционно занимались экспортом конины и отдельных регионов, где мясное табунное коневодство испокон века составляло основу традиционного уклада жизни населения). Однако в 60-70-х годах прошлого века начала активно развиваться сфера досугового использования лошади, три составляющие которого - спорт, азарт и удовольствие – обеспечили основу и успех этому виду бизнеса. Интерес к ипподромным состязаниям, спортивным турнирам и шоу привлекли в отрасль немалые деньги, что способствовало развитию индустрии скакового, бегового и спортивного

коневодства и его базового сектора – племенного дела. Лидеры этой индустрии поняли, что настало время вкладывать средства в научные исследования, чтобы использовать все биологические резервы лошади для достижения максимального результата и, соответственно, наибольшей прибыли. В 1970-х годах в нескольких ведущих университетах мира, в том числе в Великобритании (Cambridge), Франции (National Institute for Agricultural Research (INRA), Nouzilly), США (Colorado State University), стартовали программы по развитию научных исследований фундаментального и прикладного характера, в том числе по искусственному осеменению и замораживанию семени жеребцов, а позднее трансплантации эмбрионов. Целью научных изысканий была разработка эффективных способов повышения уровня воспроизводства и качества лошадей.

Новые знания о физиологии эстрального цикла и ранней беременности у кобыл в комплексе с новыми диагностическими методами (УЗИ, эндоскопия и др.) значительно продвинули эффективность работы в репродуктивной сфере коннозаводства. Благодаря этому, здесь был достигнут существенный прогресс как в традиционных, естественных способах случки кобыл, так и в более интенсивных, искусственных методах и технологиях организации цикла воспроизводства конского поголовья в период проведения ежегодных случных компаний в племенных хозяйствах.

Для разработки усовершенствованных технологий воспроизводства в племенном коневодстве и оптимизации механизмов качественной реализации репродуктивной функции у высокоценных племенных маток нами был проведен анализ современных технологий воспроизводства лошадей в России и за рубежом в свете последних достижений науки и практики в этой сфере.

Аналитическую оценку качества воспроизводства в отечественном коневодстве проводили по традиционным для России показателям: процент зажеребевших кобыл, процент аборт и мертворожденных жеребят, деловой выход жеребят к отъему на 100 покрытых/осемененных кобыл. При анализе зарубежной практики с учетом нормативной практики отдельных стран указанные показатели модифицировались. В частности, в научно-практической литературе

зажеребляемость кобыл чаще приводится в расчете на один цикл (что более точно отражает плодовитость кобыл), а в статистических отчетах по различным странам этот показатель учитывается на конец случного сезона и, соответственно, увеличивается на 20-30%.

Проведенный анализ выявил широкую вариабельность в показателях воспроизводства в коневодстве. Прежде всего, следует учитывать, что на результат случки/осеменения у лошадей влияет много факторов, включающих природную (генетическую) плодовитость жеребца и кобылы, возрастной состав маточного поголовья, тип используемого семени (свежее, охлажденное, замороженно-оттаянное) и его количественные и качественные характеристики, время случки/осеменения кобылы относительно овуляции, гинекологическое здоровье кобылы, и профессиональный уровень исполнителя.

## 1.2 Современное состояние, проблемы и перспективы организации воспроизводства лошадей в России и за рубежом

Для систематизации и удобства изложения материала была составлена классификация всех существующих в настоящее время методов размножения лошадей по принципу участия в них человека (естественные и искусственные). Последние по уровню адаптации к практическому использованию можно также разделить на производственные, то есть готовые к применению на практике и лабораторные, пока не приспособленные для широкого использования в репродукции лошадей (рисунок 3).

Значимость и масштабы использования естественных и искусственных технологических подходов в воспроизводстве лошадей менялись, в зависимости от требований времени, уровня знаний и технического оснащения процесса. Но все они, от самых древних до новейших, востребованы в разных видах конеиспользования и продолжают совершенствоваться на основе достижений научно-технического прогресса.

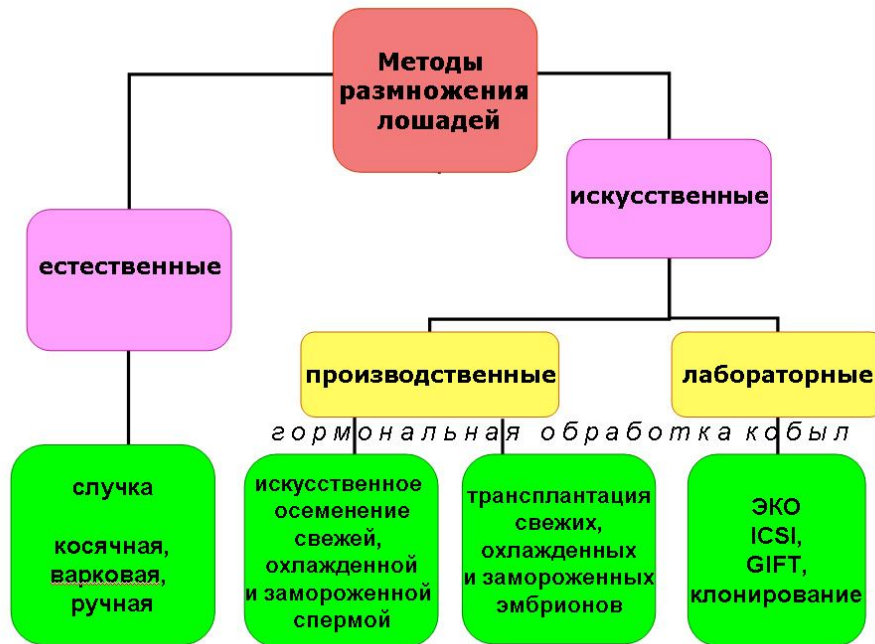


Рисунок 3 - Классификация методов размножения лошадей  
 Примечание: ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение,  
 ICSI – интраплазматическая инъекция сперматозоида в яйцеклетку,  
 GIFT – перенос гамет в фаллопиевы трубы (яйцеводы)

### 1.2.1 Естественная случка

В отечественном коневодстве к категории способов естественного размножения лошадей традиционно относится косячная, варковая и ручная случка.

Косячная случка издавна применялась в нашей стране и по сей день не утратила своей значимости, несмотря на кардинальное сокращение конепоголовья. В настоящее время эта технология используется в массовом культурно-табунном коневодстве во многих регионах нашей страны: республика Калмыкия, Астраханская область, Башкирия, Алтайский край, республика Горный Алтай, республика Тыва, Бурятия, Забайкальский край, республика Саха (Якутия), Карачаево-Черкесия, Ставропольский край. При косячном способе случки за каждым жеребцом-производителем, в соответствии с его возрастом и племенной ценностью, закрепляют группу (косяк) кобыл от 10 до 25 голов [16, 21, 47, 74, 108, 142], с которыми он весь случной сезон находится на пастбище, покрывая их по мере прихода в охоту. При этом жеребец за 4,5 месяца случного сезона может без

вреда для зорovia и потенции сделать до 150 и более садок [21, 128]. Это наиболее эффективный с точки зрения затрат труда и результативности метод разведения лошадей.

Варковая случка применялась для улучшения качества поголовья при более щадящем режиме использования производителей. Сегодня эта технология применяется, в основном, на предприятиях, занимающихся производством кумыса и биологических препаратов, а также в хозяйствах с малочисленным обслуживающим персоналом. Варковый метод случки используется также для покрытия неоповоженных кобыл ценными жеребцами, не приспособленными к косячной случке. Жеребца запускают в группу отобранных на основании пробы кобыл в охоте (10-15 голов) 2 раза в день на 2-3 часа на огороженном участке площадью 15-17 м<sup>2</sup> на 1 голову. Но жеребец должен быть хорошо оповожен, и требуется опытный персонал. Нагрузка на жеребцов при варковом методе составляет 30-35 кобыл за случной сезон [16, 33, 47, 70, 108, 142].

В 30-х годах прошлого века обе эти технологии отличались высокой результативностью и давали среднюю зажеребляемость выше 80% [33].

Ручная случка является основным способом воспроизводства лошадей в отечественном племенном коневодстве, в конных заводах и племенных репродукторах, у частных владельцев при конюшенном содержании лошадей. Этот метод более трудоемкий, но позволяет с наибольшей эффективностью использовать ценных жеребцов-производителей. Нагрузку для жеребца-производителя определяют в соответствии с его возрастом, состоянием здоровья и качеством спермы. Нормальной для половозрелого жеребца (4-12 лет) в отечественном коннозаводстве считалась нагрузка в 35-40 кобыл за сезон [9, 16, 47, 108, 142].

Ранее специальными исследованиями (О.А.Кошаров, 2007) на большом материале за 60-летний период (более 290000 слученных кобыл, 18 пород лошадей) было показано [73], что в СССР с 1961 по 1990 год деловой выход жеребят держался на стабильном уровне (71,8-72,5%), после чего началось резкое снижение этого показателя, достигшее к 2001 году 58,8%. При детальном анализе



сложившейся ситуации было выявлено следующее: в цепочке полного цикла воспроизводства «зажеребляемость – эмбриональная гибель, аборт - падеж жеребят до отъема» самым уязвимым звеном является результативность случки/осеменения. По отдельным годам прохолост кобыл превышал 25-30%. Доля потери плодов и рождения слабо- и мертворожденного приплода составляла 8-12%. Наконец, падеж жеребят до отъема варьировал в пределах 3-5% и достигал по отдельным породам 7% [73,148].

Нами сделан анализ данных об уровне воспроизводства лошадей в ведущих конных заводах по основным заводским породам. Материалом для исследований служили ведомости учета случки и выжеребки из конных заводов, статистические данные, предоставленные регистраторами пород отдела селекции ФГБНУ «ВНИИ коневодства», информация, полученная от специалистов, ведущих случку в хозяйствах. Собранные и проанализированные данные в целом отражают общую картину современного уровня воспроизводства лошадей в России в разрезе пород (таблица 1).

Как показал анализ плодовой деятельности кобыл орловской рысистой породы в конных заводах (Московский, Пермский, Хреновской, Чесменский, Завиваловский, Алтайский, Новотомниковский, Шадринский, Кемеровский, Шаховской, Татарский, Петровский), с конца 1970-х годов произошло постепенное снижение основных показателей воспроизводства, в среднем, на 5%. При уровне зажеребляемости кобыл 81,3% благополучная выжеребка в породе не превышает 75%. По конным заводам этот показатель варьировал в отдельные годы от 66,7 до 88,9%.

В русской рысистой породе (конные заводы Азинский, Александровский, Вологодский, Еланский, Злынский, Казанский, Культура, Лавинский, Локотской, Мордовский, Московский, Омский, Перевозский, Прилепский, Псковский, Самарский, Уфимский, Чесменский, Чикский, Чувашский) на фоне радикального сокращения маточного поголовья за 10 лет (2000-2010 годы) в среднем уменьшились также показатели воспроизводства (зажеребляемость – на 4,2% и

Таблица 1 - Показатели воспроизводства в отечественных породах лошадей

Порода	Годы	Количество слученных маток	Показатели воспроизводства			
			зажеребляемость гол., (%)	абортов, мертворожденных, гол. (%)	благополучная выжеребка, гол., (%)	выход жеребят, гол., (%)
Орловская рысистая	1978-1987	8288	7149 (86,3%)	544 (6,6%)	6607 (79,7%)	-
	1988-1999 <sup>1)</sup>	7799	6558 (84,1%)	569 (7,3%)	5989 (76,8%)	5007 (64,2)
	2000-2014	7602	6183 (81,3%)	517 (6,8%)	5666 (74,5)	-
Русская рысистая	1996-2000	6660	4987 (74,9%)	799 (12,0%) <i>выб. 1,8%)*</i>	4071 (61,1%)	-
	2006-2010	3617	2557 (70,7%)	395 (10,9%) <i>выб. (4,3%)*</i>	2006 (55,5%)	-
Буденновская	1990-2004	2204	1684 (76,4%)	248 (20%)**	-	1243 (56,4%)
	2005-2014	3270	2600 (79,5%)	579 (17,7%)**	-	2020 (61,8%)
Донская	1994-2007	2054	1656 (80,6%)	242 (10,4%)**	-	1441 (70,2%)
Арабская чистокровн	2006-2015	3407	2937 (86,2%)	261 (7,7%)	2676 (78,5%)	2586 (75,9%)
Чистокровная верховая	2010-2015	1283	984 (76,7%)	176 (13,7%)	808 (63,0%)	-
Тракененская	1972-1976 <sup>2)</sup>	482	(85,6%)	-	-	(74,9%)
	2011-2016	431	303 (70,3%)	28 (6,5%)**	-	275 (63,8%)
Трак./голшт./ганн. помеси	2010-2015	794	624 (78,6%)	97 (12,2%)	527 (66,4%)	483 (60,8%)
Терская	1992-2013	1208	1181 (97,8%)	27 (2,2%)	1154 (95,6%)	697 (57,7%)
Ахалтекинская	2009-2014	1292	-	-	891 (69,0%)	795 (61,5%)
Советская тяжеловозная	2006-2015	695	460 (66,2%)	89 (12,8%)	371 (53,4%)	-
Владимирская тяжеловозная	2010-2015	684	527 (77,1%)	110 (16,1%)	417 (61,0%)	408 (59,7%)
Русская тяжеловозная	2006-2015	1210	1013 (83,7%)	146 (12,0%)	867 (71,7%)	-
Шетлендские пони	1995-2003	848	704 (83,0%)	-	-	561 (66,2%)
	2004-2012	1049	808 (77,0%)	-	-	637 (60,7%)

Примечание: \* выбыло/пало зажеребевших кобыл; \*\* включен падеж жеребят до отъема; <sup>1)</sup>[129]; <sup>2)</sup>[152]

благополучная выжеребка – на 5,6%). В разрезе отдельных конных заводов эти показатели варьировали по зажеребляемости от 54,1 до 89,7%, а по благополучной выжеребке от 43,7 до 73,0%.

Статистический анализ плодовой деятельности кобыл арабской породы (конные заводы Хреновской, Терский, Велес, Самоволов, Ковчег, Ставропольский, КФХ Эквилайн, КФХ Генятуллин, КФХ Алина и частные владельцы) за последние 10 лет (2006-2015 годы) подтвердил достаточно высокие итоговые показатели: зажеребляемость – 86,2%, благополучная выжеребка – 78,5%, выход жеребят – 75,9%. В ведущих конных заводах этот уровень стабильно высок. Например, в Терском конном заводе в 2007 году он достиг 90,8% по зажеребляемости и 79,3% по благополучной выжеребке. Потери жеребости и мертворожденные жеребята составляют в породе долю в 7-8%.

Кобылы терской породы (Ставропольский конный завод, малые хозяйства частных владельцев) отличаются очень высоким процентом зажеребляемости (97,8%) и благополучной выжеребки (95,6%), но выход жеребят к отъему имеет чрезвычайно низкий уровень (57,7%).

За последние 6 лет в чистокровном верховом коннозаводстве (конные заводы Восход, Красноармейский, Волгоградский, Донской, Ставропольский) показатели воспроизводства в среднем держатся на уровне 76,7% (зажеребляемость) и 63,0% (благополучная выжеребка). При этом в ведущих конных заводах «Восход» и «Волгоградский» зажеребляемость часто превышает 80%, достигая в отдельные годы 90% и более («Волгоградский» к.з., 2012, 2015 гг.). Потери жеребости, в среднем, составляют к выжеребке 12-13%.

Тракененская порода (конные заводы Рязанский, Курский, Георгенбург, им. Кирова) демонстрирует средние уровни воспроизводства: зажеребляемость кобыл держится на уровне 70,3 -78,5%, но выход жеребят существенно ниже – 60,8 - 63,8% при доле потерь к отъему 6,5 – 17,8% (в отдельные годы до 40%!). Показатели воспроизводства в породе в советский период (1972-1976 гг.) были на 10-15% лучше, чем сегодня [152].

В ахалтекинской породе лошадей (конные заводы Ставропольский, им. Наиба Идриса, Дагестанский, ООО им. В.Шамборанта, ООО «Ахал», ПКФ «Гели» и др.) также сложились невысокие показатели воспроизводства, со значительной пестротой в разрезе хозяйств, однако за последние 4 года наблюдается их уверенный рост, в частности, выход жеребят с 51,2% в 2011 году поднялся до 71,6% в 2014 году. Вариабельность выхода деловых жеребят в породе по хозяйствам имеет диапазон от 44,4 до 89,3% (2014 год).

В буденновской породе (конные заводы им. Первой Конной Армии, им. Буденного) после упадка периода 1994-2004 годов ситуация с воспроизводством начала выправляться и выход жеребят в 2005-2014 годы увеличился на 5,4%. Вместе с тем, величина итоговых показателей выхода жеребят невысока (56,4 и 61,8%), при этом потери во время жеребости и к отъему составляют 17,7 -20,0%.

В донской породе (конные заводы им. Буденного, АФ «Целина» Зимовниковский, Степной) деловой выход жеребят в среднем за 14-летний период (1994-2007 годы) несколько выше (70,2%), а суммарные потери во время жеребости и до отъема ниже (10,4%), чем в буденновской породе.

Советская тяжеловозная порода традиционно разводится в двух конных заводах (ОАО "Агроплемконезавод "Перевозский" и ОАО Починковский), где показатели воспроизводства за период с 2006 по 2015 год составляют 66,2% зажеребляемости и 53,4% благополучной выжеребки. В отдельные годы эти показатели варьировали в пределах 37,1-90,6% и 28,6-72,7%, соответственно, в динамике их повышения за последние 5 лет. Однако, при этом достаточно высока доля эмбриональных потерь, абортот и мертворожденных жеребят (в среднем, 12,8% с колебаниями по годам от 2,3 до 23,1%).

Владимирская порода (конные заводы ОАО «ПКЗ Юрьев-Польский» (ныне ООО «ПКЗ Монастырское подворье»), ПКЗ «Гаврилово-Посадский» (ныне ООО «РХ Родина») демонстрирует зажеребляемость кобыл на уровне 77,1% (с вариабельностью по годам 60,4-90,2%) и ещё меньший выход живых жеребят в расчете на 100 маток - в среднем 59,7% (вариабельность 44,9-74,6%).

В двух конных заводах по разведению русской тяжеловозной породы (АО «ПКЗ «Куединский» и СПК ПКЗ «Вологодский») за 10-летний период (2006-2015 годы) было проведено 1210 случек с достаточно высоким процентом зажеребляемости кобыл - 83,7%. Разброс по годам составил от 68,9 до 95,6% в Вологодском заводе и от 80,7 до 94,9% в Куединском. Процент благополучной выжеребки колебался, соответственно, в пределах 57,8-86,3% и 64,6-94,9%, а в среднем по двум заводам составляет 71,7%. Доля абортных и мертворожденных жеребят - 12%.

В породе шетлендские пони (конные заводы ООО «Прилепский ПКЗ», ООО «Рязанский конный завод», ОАО «Московский конный завод №1», ОАО «Чувашский конный завод им. В.И.Чапаева», частные владельцы) в последнее время наблюдается тенденция снижения основных показателей воспроизводства на 5-6%. При зажеребляемости 77-83% регистрируется низкий выход живых жеребят – суммарные потери жеребости и отход жеребят к отъему в породе составляют 16-17%.

Таким образом, сегодня в показателях воспроизводства в коннозаводстве России при естественной случке наблюдается довольно пестрая картина. Зажеребляемость кобыл по породам колеблется от 66,2% (советская тяжеловозная) до 97,8% (терская). Прохолосты составляют от 2 до 30%, доля абортных и мертворожденных жеребят варьирует в пределах от 2 до 20%, в большинстве пород превышает 10%. Отход жеребят к отъему увеличивает потери еще на 3-14%, а в отдельных случаях достигает до 38% (терская порода). Выход жеребят невысок и в среднем по породам варьирует от 52 до 76%.

В современном зарубежном коннозаводстве практикуются разные технологические подходы в воспроизводстве поголовья. В том числе среди естественных методов имеют место ручная и «свободная» случка. На примере Франции можно составить представление о масштабах использования «свободной случки» («en liberté») лошадей в Европе. В частности, в 2015 году таким способом было покрыто 19628 голов или 26,3% всего поголовья лошадей Франции. При этом «свободная» случка превалирует в разведении пони (3741 голов, 56,1%

поголовья) и тяжеловозных пород (11547 голов, 57,9% поголовья), составляет 19,4% или 4277 голов при воспроизводстве французского «селя» (спортивные породы Chevaux de selle) и колеблется на уровне 0,1-0,3% среди чистокровных верховых и рысистых лошадей (16-47 голов). Соответственно, для последних наиболее характерно искусственное осеменение свежим семенем (15262 голов, 91,7%), а для чистокровных верховых - ручная случка (9381 голов, 99,8%) [178].

По свидетельству доктора W. R. Allen, наиболее авторитетного британского ученого в области воспроизводства лошадей, в 1960-х годах при разведении английской чистокровной и большинства остальных пород лошадей нормальным считался уровень зажеребляемости 60-65%, а выход жеребят – порядка 50% [172]. В статье L.H.A. Morris, W.R. Allen (2001) также приводятся кумулятивные данные, собранные из различных источников за 1975-1997 годы, о результатах случки в разных странах по чистокровной (Thoroughbred), кватерхос (Quarter Horse) и стандартбредной (Standardbred) породам лошадей: 43-56% зажеребляемость в одном цикле, 70-80% жеребых кобыл на конец случного сезона, благополучная выжеребка – 50-70% [305].

Вторая половина XX-го века ознаменовалась серьезным прорывом в ветеринарной диагностике и разработке методов коррекции нарушений половой цикличности, нежелательной двойнеости, лечения эндометритов у кобыл, а также применения гормонального воздействия, результатом чего за норму стали принимать уровень зажеребляемости более 90%, а выхода жеребят – более 80% [171]. В крупных конных заводах (в первую очередь в Ньюмаркете, Великобритания), занимающихся чистокровным коннозаводством, особенно с введением в практику УЗ-сканера, стала доминирующей формула успеха «одно покрытие на одну кобылу в одном эструсе». Благодаря такому результату, стало возможным крыть одним жеребцом не 40-45 кобыл, как в 1960-х годах, а более 140 кобыл за один случной сезон. А с учетом «челночного» метода использования производителя, попеременно в северном и южном полушариях Земли, удается покрыть до 300 кобыл в течение календарного года. Этот результат выходит далеко за пределы физиологической возможности организма производителя,

однако стал возможным через модернизацию всей технологии случки. При этом снижение плодовитости наблюдается при таком режиме полового использования у сравнительно небольшого числа жеребцов [172, 191]. В группах наиболее популярных жеребцов-производителей, под которых подобрано более 100 кобыл в сезоне, немало жеребцов, которые кроют в пик случной кампании по 4-5 кобыл в день\*. При этом повторная случка жеребца с кобылой в течение одного цикла не допускается. Поэтому в соответствии с графиком случки с каждым жеребцом, кобыла к назначенной дате должна быть подготовлена ветеринарным врачом (с помощью гормональной обработки) так, чтобы находится в оптимальной фазе полового цикла [297]. Здесь нужно упомянуть об опыте отечественных специалистов (В.К. Кедров, 1938, Н.М. Рязанцева, 1950), которые считали вполне допустимой нагрузку для жеребцов-производителей в естественной случке в течение 4 месяцев случного сезона в 100 и даже 200 кобыл при грамотно поставленной работе (гинекологический контроль, ректальная диагностика на фолликул и жеребость, полноценное кормление, содержание и моцион жеребцов) [66, 128].

На примере, приведенном Н.М. Рязанцевой, показана возможность использования жеребцов в случке в режиме 2 садок ежедневно и по 3-4 садки с интервалами в 5-8 часов в особо напряженное время (май) при 1 дне отдыха в неделю. Интересно, что в данном случае жеребцов водили к кобылам в колхозы, расположенные на расстоянии 1-15 км от случного пункта (4 пункта), для экономии времени людей. В итоге при 2-3 садках на кобылу удалось достичь 80-84% зажеребляемости (нагрузка от 66 до 113 кобыл на 1 жеребца) [128]. Однако, средняя зажеребляемость по ручной случке, приведенная в «Книге о лошади» под редакцией С.М.Буденного, составляла в СССР в 1930-х годах 75% при рекомендованной нагрузке на жеребцов 45-75 маток [33].

---

\* За рамками регламентирующих правил (соглашений), не допускающих разбавления свежесвзятого семени и дробления эякулята для осеменения нескольких кобыл при естественной случке в чистокровном коннозаводстве Великобритании, на практике все же, вероятно, присутствуют отступления

Мы проанализировали данные Weatherby's Stallion Book (регистр производителей племенного чистокровного коннозаводства Великобритании и Ирландии) за 2011 год [262]. В книге записано 704 жеребца английской чистокровной верховой породы. В их числе значатся 72 наиболее ценных и востребованных производителя, каждый из которых покрыл за случной сезон 2009 года более 100 кобыл. Среди них имелось 5 жеребцов, нагрузка на которых превышала 200 кобыл в год (от 217 до 241 голов).

Всего за сезон эти пять жеребцов покрыли 1132 кобылы. Достоверная информация о результатах случки вернулась регистраторам через 2 года только по 870 кобылам (return mares). От этих кобыл, согласно данным Weatherby's Stallion Book, в 2011 году, было зарегистрировано 663 жеребенка (то есть средний выход жеребят к отъему составил 76,21%), 132 кобылы прохолостело (15,17%), зафиксировано 75 аборт и мертворожденных жеребят (8,62%). По всем 72 упомянутым выше жеребцам эти показатели в расчете на 7643 кобылы (return mares) в среднем составили 81,33%, 11,44% и 7,21%, соответственно. При этом выход жеребят в отдельных случаях превышал 90%. А всего эти 72 жеребца покрыли за сезон 9964 кобылы. Такого высокого результата в практике отечественного коннозаводства без использования метода искусственного осеменения кобыл замороженно-оттаянным семенем достичь не удавалось.

Проведенными исследованиями было также установлено, что образцовый подход к размножению чистокровных лошадей в Ньюмаркете и других высокотехнологичных центрах воспроизводства является общим для всего коннозаводства Великобритании [170]. Не лишним будет упомянуть, что масштабы работы по воспроизводству чистокровных верховых лошадей в Великобритании очень велики. Только в Ирландии (где имеется 42% от всего поголовья чистокровных верховых лошадей в Европе) число кобыл в секторе разведения в 2008 году составляло 20038 голов [225]. Ниже приведены краткие обзоры состояния воспроизводства племенных лошадей в других странах с наиболее развитым коннозаводством.



В США уровень воспроизводства чистокровных верховых лошадей такой же высокий, как в Великобритании. Например, в 13 конных заводах центральной части штата Кентукки (2004-2005 г.г.) зажеребляемость 1011 кобыл этой породы составляла 92,1%, а выход жеребят – 78,3%. [191]. Показательно, что в начале 1990-х годов выход жеребят в том же регионе был равен 42% в расчете на 1 цикл осеменения при потерях 50% и более эмбрионов/плодов во время жеребости.

Австралия. За последние три десятилетия эффективность воспроизводства племенных лошадей в стране существенно возросла, благодаря совершенствованию технологий коннозаводства, а также внедрению научно-исследовательских разработок в ветеринарную практику. Так с 1981 года по 2000 год, согласно данным Studbook Австралии, процент живых жеребят в расчете на 100 слученных кобыл возрос с 40 до 76%, а процент зажеребляемости в расчете на один цикл увеличился с 55 до 70% [196, 300], что не уступает аналогичным показателям в Северной Америке (63-65%) и Англии (63-65% в 2002 году) [170].

В Швеции по данным за 1997-2001 годы 430 чистокровных верховых кобыл было случено с двумя жеребцами в конном заводе с высоким технологическим уровнем. Общий показатель зажеребляемости по двум жеребцам составил 92,2% и 88,8%, а выход живых жеребят 82,6% и 75,2%, соответственно [251].

По сведениям из европейского регистра лошадей Фьордской породы, Fjord Horse International, за 15 лет по 12 странам можно судить, насколько успешно проводится случка в этих странах, при разведении лошадей данной породы. Например, в 2014 году выход фьордских жеребят в Бельгии, Финляндии, Великобритании, Голландии составил, по нашим подсчетам, 80-97%, а во Франции, Германии и Норвегии он был на уровне 59-67%. Примечательно, что 15 лет назад в большинстве перечисленных стран этот показатель был существенно ниже и колебался в пределах 53-64% [261].

Анализ плодовой деятельности 3223 чистокровных арабских кобыл за 30 лет (1976-2006 годы) в Турции показал средний уровень зажеребляемости 74%, выжеребки – 69,07%, аборт – 4,93%. При этом после 2000 года доля выжеребившихся кобыл превышала 80%, что так же позволило сделать вывод о

положительном влиянии на данный показатель возрастания технологического уровня воспроизводства арабских кобыл [208].

В Южной Корее, в провинции Чеджу, (2000-2001 годы) данные по чистокровной верховой породе (301 кобыла) свидетельствуют о высоком уровне зажеребляемости (86,7-93%) и благополучной выжеребки (72%) и низком уровне ранней эмбриональной смертности (13%). По свидетельству авторов столь высокие результаты были достигнуты, благодаря регулярному мониторингу состояния жеребости и поддержанию гинекологического здоровья кобыл [378].

Проведенная статистическая обработка данных по результатам плодовой деятельности 555 чистокровных арабских кобыл за 5 лет (2000-2004 годы, 2340 циклов) в Тунисе показала средний процент зажеребляемости на уровне 84% [186].

Нами собраны интересные сведения о различиях в показателях воспроизводства лошадей некоторых пород в странах, отличающихся по исторически сложившимся технологиям коннозаводства. Ретроспективный анализ, проведенный Katilla et al. [271], выявляет интересный феномен постоянства результативности случки в ганноверской породе лошадей в Германии на протяжении 158 лет (1815-1973 годы) на уровне 54,3% благополучной выжеребки. Во Франции в период с 1989. по 1999 год уровень воспроизводства повышался в среднем на 4% в год в тяжелоупряжных породах, которые отличаются самой низкой плодовитостью (51%). В чистокровной верховой породе прогресс был менее заметным (менее 1% в год) с благополучной выжеребкой на уровне 54%. В Финляндии в 1980-х годах базовые показатели воспроизводства повысились значительно, благодаря внедрению искусственного осеменения и применению УЗИ. В течение 15-летнего периода наблюдался рост показателя благополучной выжеребки до 68% для финских упряжных (Finish cold blood) кобыл и 71% в американской стандартбредной породе. [270, 369].

В Сербии, по свидетельству специалистов, организация воспроизводства лошадей находится на низком уровне. В период 1986-1995 годов в регионе Velika Plana по 1665 кобылам процент зажеребляемости составлял лишь 21,5%. В 2009-

2010 годы по выборке в 80 кобыл различных пород (чистокровная верховая, стандартbredная, липицианская и помесные) в 19 конных заводах Сербии в результате естественной случки их зажеребляемость достигла 43,1% [365].

В условиях субтропиков (Пакистан) уровень зажеребляемости чистокровных верховых (n=66) и арабских чистокровных (n=55) кобыл по одному циклу составляет 66 и 47% при доле абортных и мертворожденных жеребят 6 и 15%, соответственно [371].

В Индии в 9 конных заводах зажеребляемость 253 кобыл чистокровной верховой породы в 1976 половых циклах (1998-2005 годы) составляла в расчете на 1 цикл 41,85. и 35,85% (для здоровых и прошедших гинекологическое лечение кобыл соответственно) [343].

В обзоре M.D. Silveira da Mota и L. Correia de Almeida Regitano (Бразилия, 2012) приведен анализ по 7278 кобылам чистокровной верховой породы, которые были покрыты в 42750 циклах со следующими результатами: выход жеребят - 59,58%, прохолост - 9,07%, аборты – 1,41%, слаборожденные жеребята – 2,2% (около 5% кобыл не случались). Авторы придерживаются мнения, что у лошадей репродуктивные качества ниже, чем у других видов животных, и средний уровень выхода жеребят колеблется в пределах 59-74%. Более высокие результаты, приведенные в других источниках, по их мнению, следует отнести на счет малочисленности выборки [346].

Как видно из приведенных материалов, уровень воспроизводства лошадей за рубежом при естественной случке колеблется в довольно широких пределах. Наивысшие результаты (зажеребляемость более 80-90%) показывают конные заводы, племенные предприятия, репродуктивные центры, работающие с лошадьми чистокровной верховой, американской стандартbredной, чистокровной арабской пород, наиболее дорогостоящих и востребованных в сфере ипподромного бизнеса. К тому же, в программах разведения этих пород принято правило работы преимущественно с нативным (в чистокровной верховой исключительно), свежеразбавленным или охлажденным транспортированным

семенем жеребцов, что определенно повышает процент зажеребляемости в сравнении с применением искусственного осеменения замороженно-оттаянной спермой. Понятно, что работа с нативным семенем выдающихся жеребцов при достижении объемов случки в 100 и более кобыл (в т.ч. с помощью дробления эякулята) и цене за каждую плодотворную случку в десятки и сотни тысяч долларов/евро, явилась серьезным мотивирующим фактором совершенствования технологии воспроизводства лошадей за рубежом. Именно поэтому, в подавляющем числе стран с высокоразвитым коннозаводством наблюдается существенный прогресс в качественных показателях воспроизводства конского поголовья в последние десятилетия.

### 1.2.2 Искусственное осеменение

Внедрение методов биотехнологии в процесс воспроизводства сельскохозяйственных животных, искусственное осеменение маточного поголовья охлажденной и замороженно-оттаянной спермой оцененных по качеству потомства производителей, применение корректирующих средств и препаратов, технические усовершенствования инструментов и оборудования и другие инновации позволили радикально преобразовать генетическую основу пород животных разных видов.

Безусловными преимуществами метода искусственного осеменения, по сравнению с естественной случкой, являются: быстрый селекционный эффект, удобство транспортировки и возможность широкого распространения ценного генетического материала, экономное расходование семени и рациональное половое использование жеребцов, предотвращение распространения инфекций, передающихся половым путем, резервирование в криобанках спермы выдающихся особей и представителей исчезающих пород лошадей. Однако для успешного использования этого метода требуются соответствующий инструментарий и специалисты высокой квалификации. Хранение замороженной

спермы в хозяйствах возможно в том случае, если налажена бесперебойная доставка жидкого азота.

Сперма жеребцов используется для осеменения кобыл в трех видах: свежем, охлажденном и замороженном. Свежее семя при выходе из половых путей самца, попадая в условия внешней среды, очень быстро теряет жизнеспособность. Через 10-20 минут после эякуляции нативная сперма практически полностью утрачивает свой фертильный потенциал. Сперма, разбавленная специальными разбавителями, более устойчива к небольшим перепадам температуры и обладает более продолжительным жизненным циклом, чем нативная. Ее можно хранить в холодильнике и использовать для повторного осеменения кобылы, а также для транспортировки в другое хозяйство [59]. Для этого в мировой практике существует сегодня четко отлаженная система доставки охлажденного семени в специальных контейнерах (при плюс 4°C) покупателю в течение 24-48 часов.

Работа с замороженным семенем требует особо пристального внимания, поскольку качественные характеристики спермы в значительной степени снижаются в результате стрессового воздействия криоконсервации. В зависимости от технологии замораживания, предусмотрены следующие виды фасовки спермы: а) алюминиевые тубы по 5 и 15-25 мл (отечественные технологии [96, 98, 145,]; б) пластиковые соломинки по 0,25, 0,5 и 5 мл (импортные технологии) [286, 287, 288] (рисунок 4).



а)



б)

Рисунок 4 – Виды фасовки спермы: а) алюминиевые тубы, б) пластиковые соломинки

При этом в первом варианте 1 туба составляет 1 дозу для осеменения, а во втором – в дозе может быть от одной соломины по 5 мл до 2-12 и более соломин по 0,25 и 0,5 мл. В криобанке ВНИИ коневодства хранятся также некоторый запас семени, замороженного по технологии Е. М. Платова в гранулах [120], которые упаковываны в тубы из расчета конечного объема спермы 20-25 мл в дозе.

Фасовка спермы определяет способ ее введения в матку кобылы. Так, в России свежую, охлажденную или размороженную в тубах сперму переливают в шприц и дальше используют любой доступный катетер или пипетку для осеменения, например, резиновый катетер конструкции И.И.Иванова. Для соломин разработаны специальные одноразовые пластиковые катетеры со штырьком в головной части и стальным стилетом для выдавливания спермы из соломинки (рисунок 5).

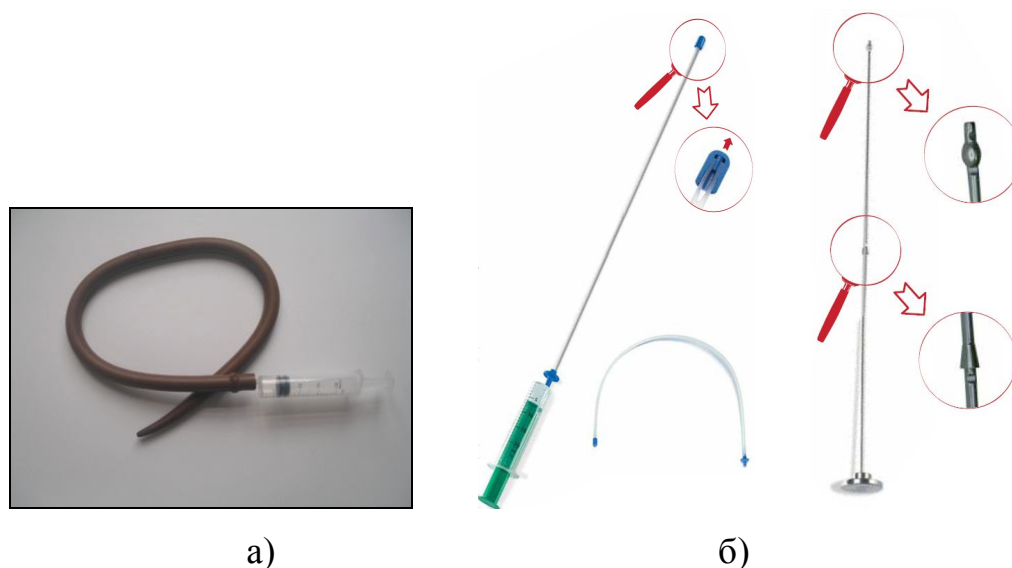


Рисунок 5 – Инструменты для введения спермы в матку кобыл:  
а) отечественные технологии: катетер И. И. Иванова, б) зарубежные технологии: катетер и стилет для соломин (Minitube, Германия)

Была также разработана методика глубокого введения спермы в вершину рога матки. В нашей стране Х. И. Животков применил с этой целью толстый изогнутый пластмассовый катетер с округлой головкой на конце и осеменил с его помощью свежеполученным семенем более 300 кобыл с результатом зажеребляемости свыше 80% [39, 42, 46]. За рубежом сегодня используют

удлиненный до 75 см катетер (со стилетом из гибкой стали для соломин) (Minitube, Германия), который вводится в матку под ректальным контролем [217, 304]. Таким способом сокращается расстояние, которое должны преодолеть спермии для встречи с яйцеклеткой в верхней трети яйцевода. Максимально это задача решается с применением эндоскопической техники осеменения [182, 304], при которой сперма в минимальном объеме (20-200 мкл) впрыскивается непосредственно на «сосочек» маточно-трубного соединения в вершине рога матки.

Вопрос об оптимальном временном интервале между осеменением и овуляцией – это краеугольный камень любой технологии искусственного осеменения. В частности, отечественные специалисты рекомендуют начинать осеменение кобыл при 3-4 степени зрелости фолликула (то есть ближе к овуляции) свежей и сохраненной (охлажденной) спермой с интервалом в 24 часа, а замороженно-оттаянной спермой - через каждые 12-16 часов до установления овуляции. После овуляции отечественные специалисты осеменять кобылу не рекомендуют [35, 39, 47, 59, 90, 103, 134]. За рубежом считается, что яйцеклетка сохраняет потенциал для оплодотворения до 6-18 часов после овуляции [275, 276, 287, 307, 312].

Начало широкомасштабного использования метода искусственного осеменения в коневодстве относится к первым двум десятилетиям XX-го века. Заслуга в его усовершенствовании, адаптации и превращении в основной производственный метод массового улучшения поголовья лошадей принадлежит русскому ученому И. И. Иванову [27, 57, 106]. Первооткрыватели метода и предшественники И. И. Иванова (С. Якоби, Л. Спалланцани и др.) видели перспективу использования искусственного осеменения, главным образом, в преодолении бесплодия и субфертильности самок, а также скрещивании и гибридизации. И. И. Иванов одним из первых увидел важность применения этого метода для улучшения племенных и продуктивных качеств домашних животных. Его эксперименты, в основу которых легло изучение физиологических особенностей половых клеток и биологических основ процесса оплодотворения у

лошадей, имели на выходе научно-обоснованные рекомендации по использованию метода в практическом коневодстве [27, 106].

С 1923 года в СССР началось массовое применение искусственного осеменения в коневодстве [108]. О масштабах использования метода свидетельствуют цифры: с 1910 по 1914 год осеменено около 9 тыс. кобыл, в 1928 году - 64,3 тыс. кобыл, в 1940 году - 363,4 тыс. кобыл, в 1952 году - 447 тыс. кобыл. [103]. Многие специалисты из зарубежных стран, особенно из Германии, Японии и США, заинтересовались методом и приезжали в лабораторию И.И.Иванова для ознакомления с техникой искусственного осеменения. С 1937 года центрами ИО были государственные заводские конюшни (ГЗК) и военно-ремонтные конные заводы. Перед Великой отечественной войной в зонах деятельности ГЗК было искусственно осеменено 82% общего числа кобыл [108]. При этом специалисты на отдельных пунктах добивались зажеребляемости 85-90%. Искусственное осеменение применялось и при содержании кобыл в косяках [13, 121, 220, 221]. Например, в статье А.Беляева (1938 г.) описан такой опыт. В степи строили пункты в 2 комнаты с 8 станками и базом с расколом. Сперму от жеребцов получали через фистулу мочеиспускательного канала и в течение, примерно, 52 секунд вводили кобылам (n=417) шприцем через резиновый катетер. За сутки удавалось осеменять, в среднем, по 9 кобыл [13]. Представление о масштабах работы и нормах нагрузки на специалистов на пунктах искусственного осеменения в то время можно составить из статьи В. К. Кедрова. В случном сезоне 1938 года им с коллегами было проведено 5500 ректальных исследований кобыл, отобрано по гинекологическим признакам и осеменено 600 кобыл спермой 2 жеребцов. Причем в отдельные дни количество приведенных на пункт кобыл достигало 120, из которых отбирали (ректально) готовых к осеменению маток по степени зрелости фолликула (2-2,5 минуты на 1 кобылу). Обязанности разделяли между специалистами (ректальное исследование, работа со спермой и осеменение) и техниками (подготовка кобыл к ректальному исследованию, получение спермы и помощь при осеменении). На одну кобылу при такой схеме работы приходилось не более 3 осеменений без излишней нагрузки на жеребцов.



Исходя из собственного опыта, автор рекомендовал при 100 рабочих днях в течение случного сезона (19-20 кобыл в сутки) укомплектовывать штат на пунктах по искусственному осеменению, рассчитанных на 500-550 маток, 4 штатными единицами: 1 квалифицированный специалист, 2 техника и 1 уборщица [66].

В огромной степени продвижению метода искусственного осеменения способствовала в предвоенное время научно-исследовательская работа отечественных ученых и практиков. Были в основном изучены особенности протекания полового цикла и овуляции у кобыл [22, 25, 26, 41, 46, 92], внедрены в практику методы ректальной диагностики степени созревания фолликула, овуляции и жеребости [40, 55, 62, 101, 131, 140, 144,], даны рекомендации по срокам случки и осеменения кобыл и использованию производителей [4, 39, 45, 46, 48, 50, 62, 64,]. Была проделана огромная работа по усовершенствованию методов получения спермы жеребцов, искусственной вагины, разработаны операции для производства жеребцов-пробников, фистульный метод получения спермы [49, 56, 111, 112,]. Предложены разбавители различного состава для спермы жеребцов [91, 107, 118] и аппараты для перевозки спермы [136]. Большой пласт исследований был посвящен диагностике жеребости вагинальным, цитологическим и гормональным методами [11, 22, 23, 52, 53, 93, 114, 124, 139, 155, 158,]. Серьезное внимание уделялось гинекологии кобыл, выявлению заболеваний половой сферы, борьбе с абортами и прохолостами [10, 14, 28, 41, 43, 45, 48].

После войны работа продолжилась с новой силой и энтузиазмом. В 1952 году в СССР работало 3624 пункта по искусственному осеменению лошадей. Передовики производства получали более 100 жеребят от лучших племенных производителей в год [103]. Во ВНИИ коневодства активизировались углубленные исследования физических и биохимических свойств спермы жеребцов и методов оценки ее качества [20, 115, 116, 119, 130, 154], а также физико-химических показателей маточной слизи кобыл в разные фазы охоты и переживаемости в ней спермы [110]. Было показано, что рН нативной спермы у

жеребцов имеет слабощелочную реакцию: 77% эякулятов ( $n=189$ ) укладывалось в диапазон 7,2-7,5 [115]. А подкисление среды молочной или лимонной кислотой (оптимально  $pH=6,5-6,4$ ) оказывает положительное действие на сперму при длительном хранении [130]. На основе новых разбавителей (глюкозного, глюкозо-желточного, молочного, медового, и др.) были разработаны способы сохранения оплодотворяющей способности спермы жеребца в течение 1-2-3 суток, позволяющие транспортировать семя на дальние расстояния и осеменять в 5-10 раз больше кобыл спермой одного жеребца за сезон [19, 94, 95, 107, 118, 130, 133]. Высокой эффективности использования метода способствовала государственная поддержка, а также широкая пропагандистская и образовательная деятельность, в частности, организованные на базе ГЗК курсы для техников по искусственному осеменению.

Позже в СССР были разработаны методы криоконсервации спермы жеребцов [1, 51, 58, 76, 96, 117, 120, 145]. В 1954 году П.Н.Скаткин получил первого в мире жеребенка от замороженной спермы [100]. В 1970 годы во ВНИИ коневодства был создан криобанк, который успешно функционирует до сих пор. Активное внедрение метода в практику обеспечило значительный прогресс в отечественном племенном коневодстве, благодаря широкому распространению ценного генетического материала. Так, например, в орловской рысистой породе с 1970 по 2010 год было искусственно осеменено свежеразбавленным и замороженным семенем 1411 кобыл с результатом зажеребляемости – 80%. От использования криоконсервированного семени было получено 17 жеребцов-производителей, из которых 14 проявили себя в дальнейшем, как ценные и лучшие [99].

В призовом рысистом коневодстве метод ИО также нашел широкое применение. Так с 1961 по 2010 год было искусственно осеменено 5510 конематок русской рысистой породы со средней зажеребляемостью 77,3%. Наиболее активно метод использовали в 1980-е годы, в том числе осеменяли криоконсервированной спермой (2060 маток за десятилетие с 1981 по 1990 год с зажеребляемостью в случном сезоне на уровне 60-85%) [там же].

Начавшийся в 60-е годы импорт в Россию выдающихся жеребцов американской стандартбредной породы (Лоу ГанOVER, Эйпекс ГанOVER, Сентениал Вей, Регби Стар и др.), стимулировал работу по накоплению в спермобанке ВНИИК замороженного семени и массовому применению его в большинстве конных заводов страны, разводящих русского рысака. Ярким примером использования метода искусственного осеменения в русской рысистой породе в тот период стала заводская карьера американского жеребца Реприза, от которого за 10 лет было получено 696 потомков, в том числе почти половина от осеменения криоконсервированной спермой [99]. В настоящее время в криобанке ВНИИ коневодства хранится около 3000 доз семени выдающихся жеребцов-производителей 15 пород лошадей. Пополнение банка семени производится по заявкам коневладельцев и рекомендациям селекционеров по породам, образованным при ВНИИ коневодства. Сперма высококлассных жеребцов спортивных и рысистых пород активно импортируется в Россию из-за рубежа, главным образом из Америки и Европы. Отраслевой целевой программой развития племенного коневодства в РФ предусмотрены субсидии на приобретение по импорту спермодоз в размере 32,1 млн руб. на период 2013-2020 годов. [104].

За рубежом продвижение метода было менее быстрым и масштабным, чем в России, за исключением Китая, который активно сотрудничал с Советским Союзом.

В Китае рано (с 1935 года) и достаточно быстро освоили метод искусственного осеменения кобыл. Наиболее интенсивную работу проводили в 1960-1970 годы с целью массового улучшения местного конепоголовья. По данным исследователей, в 1977 году в Китае функционировало 80 конных заводов и 19,5 тыс. случных пунктов, на которых было искусственно осеменено 750000 кобыл при общем поголовье в стране 11447000 голов лошадей [222]. Огромную помощь в обучении методу искусственного осеменения лошадей и внедрению его в практику оказали Китаю советские специалисты. Благодаря дружественным связям с СССР, в период с 1949 по 1977 год в Китай из нашей страны были завезены представители различных пород (советские тяжеловозы, арденны,

чистокровные верховые, донские, кабардинские, орловские рысаки и ахалтекинцы), которые использовались для скрещивания с местными лошадьми. Позже метод искусственного осеменения лошадей в Китае утратил свою популярность, однако в 1990 годы он вновь стал востребованным, поскольку так же, как в свое время в Европе и Америке, в Китае начала развиваться индустрия туризма, верховой езды и конного спорта. Прогулочная лошадь стала второй по численности (600 тыс. голов) группой лошадей в Китае после группы местных пород класса пони (5 млн. голов). Вторая волна импорта привлекла в страну с 1999 по 2013 год около 6000 голов лошадей различных пород из 13 стран, преимущественно чистокровной верховой породы (4,2 тыс. голов). В последние годы охлажденным семенем в Китае осеменяют сотни тысяч кобыл. Сперму доставляют различными видами транспорта, но экспресс-доставку обеспечить ни одна коммерческая служба не берется. Активно ведется также работа с замороженным семенем. В прошлом, в 1980-1990 годах в одной только провинции Heilongjiang ежегодно осеменяли замороженным семенем в среднем по 30 тыс. кобыл, достигая уровня зажеребляемости более 75%. В последние годы замороженную сперму в Китае преимущественно используют для разведения элитных спортивных лошадей и как метод сохранения генофонда малочисленных и исчезающих местных пород [222].

Кроме России и Китая, перед Второй мировой войной коммерческое применение искусственного осеменения было развито только в Голландии. При этом подобные программы в то время существовали также в США, Великобритании, Германии, Италии и Болгарии, но метод по разным причинам использовался весьма ограниченно. После Второй мировой войны, по свидетельству J.M. Bowen (1969) [цит. по 181], в восточной и Южной Европе метод искусственного осеменения в основном применяли для борьбы со случной болезнью. Соответственно, по мере успешного продвижения в решении этой проблемы, иссякла необходимость в продолжении работы по развитию метода [181].

В конце 1980-х годов ведущий польский специалист в области репродукции лошадей М. Tischner собрал и обработал данные об использовании метода искусственного осеменения в различных странах мира [361]. По его сведениям, этот метод практиковался на тот период в 26 странах и охватывал долю от 0,002% до 37% от общего поголовья кобыл, задействованных в разведении. В то время поголовье племенных конематок сильно варьировало по странам: 5290 голов (Финляндия), 5400 (Бельгия), 8141 (Чехословакия), 17700 (СССР), 19908 (Новая Зеландия), 28583 (Голландия), 58011 (Франция), 55000 (Великобритания), 90385 (Польша), 465000 (США) и 1531832 голов (Северный Китай). В 1987 году число осемененных кобыл в 15 странах мира составило 730000 голов, в том числе свежеразбавленным семенем – 171000 (23%), охлажденным – 510200 (70%), замороженным 48700 (7%). Если исключить из этого списка Китай, который преимущественно использует охлажденное семя, то эти пропорции окажутся сдвинутыми по свежему, охлажденному и замороженному семени в следующую сторону: 93% - 6% - 1%, соответственно.

Наиболее точные сведения были получены М. Tischner по 11 странам. Лидерами по количеству осемененных кобыл были Китай, Финляндия, США и Новая Зеландия (21-37%). Во втором эшелоне следовали Чехословакия, Бельгия, Франция и Голландия (3,5-9,2%), замыкали список Польша, Великобритания и Россия (менее 1-2,8%). При этом предпочтение свежеразбавленному семени отдавали в таких странах, как США (34,3%), Финляндия (34,2%), Новая Зеландия (21,1%), Бельгия (7,4%), Франция (5,6%), Польша (0,1%), охлажденному – в Китае (32,6%), Франции для разведения тяжелоупряжных пород (3,8%) и Голландии (1,1%). Замороженное семя более широко использовали в Чехословакии (6,3%), России (2,3%) и Китае (2,1%), в меньшей степени во Франции для разведения верховых пород (0,7%), Польше (0,02%) и США (0,03%) [361].

Ниже мы приводим более подробную информацию по развитию метода искусственного осеменения в различных зарубежных странах.

В США итогом научных разработок был значительный прогресс в результативности метода, а также в пропаганде и внедрении в практику. В 1950-х

годах американская Ассоциация рысистого коневодства разрешила использование искусственного осеменения кобыл свежеполученным семенем в качестве производственного метода, при соблюдении требования присутствия жеребца и кобылы в хозяйстве на момент осеменения. Это привело к значительному прогрессу в стандартбредной породе и радикальным переменам в стратегии ее разведения. В 1963 году Ассоциация American Quarter Horse (AQHA) тоже разрешила применение метода в хозяйствах. Вслед за ней члены других породных регистров в США стали настаивать на введении метода в практику разведения лошадей. Лишь в международном соглашении стран, занимающихся чистокровным коннозаводством, содержится официальный запрет на использование искусственного осеменения (и любых искусственных методов в разведении), которому строго следуют члены ассоциаций этой породы, в т.ч. США. Единственным допущением в правилах регистрации чистокровных жеребят Северной Америки (Box 37.1 The Jockey Club, Registry, Section V, Rule 1D) является возможность «добора» порции эякулята при спрыгивании жеребца с кобылы после случки и незамедлительного помещения ее в матку той же кобылы. Такая техника получила название «reinforcement breeding», то есть «усиленная» или «подкрепленная» случка, и при ее использовании к остаткам эякулята перед введением в матку кобылы часто добавляют разбавитель для спермы [340].

В 2001 году двумя крупнейшими ассоциациями (American Quarter Horse и American Paint Horse) были сняты запреты на использование заморожено-оттаянной спермы, а с 2002 года – ограничения в регистрации трансплантированных жеребят в этих породах. Столь важное событие способствовало новому оживлению интереса к биотехнологическим исследованиям.

С конца 1990-х годов в США получили развитие услуги по криоконсервации спермы жеребцов, осеменению кобыл замороженной спермой и ее транспортировке как внутри страны, так и по всему миру. Благодаря коммерческим усилиям авторитетного специалиста Paul Loomis и др., в 1987 году

была организована ныне крупнейшая международная компания SBS (Select Breeders Service) по обслуживанию коневладельцев в этой сфере.

Ныне эта компания располагает целой сетью лабораторий по воспроизводству лошадей: 10 в Северной Америке, 5 в Европе и 2 в Австралии, не считая филиалов), которые, накопив за 25 лет огромный опыт, ежегодно замораживают более 3000 эякулятов, держат на хранении в своих криобанках более 120000 доз спермы от 3500 жеребцов-производителей, ежегодно организуют под заказ свыше 2000 перевозок замороженного семени.

Лаборатории SBS оснащены современным оборудованием, имеют собственные стандартизированные протоколы обработки спермы, и поддерживают программу контроля ее качества. Они берут на себя урегулирование всех вопросов, связанных с международными перевозками семени. Кроме того компания допускает транспортировку и использование спермы импортного производства с обязательной проверкой ее качества. При лабораториях организованы учебные центры. Выпущены подробные рекомендации по всем технологическим этапам и насущным вопросам, связанным с использованием криоконсервированной спермы [348].

Нужно заметить, что SBS – это далеко не единственная компания, оказывающая подобные услуги. Только в США и Канаде функционирует 187 лицензированных коммерческих центров, которые занимаются транспортировкой спермы жеребцов в страны Евросоюза, где бурно развивается эта сфера деятельности. С 2006 по 2012 год количество центров искусственного осеменения лошадей в 18 европейских странах увеличилось с 274 до 374. Только в Германии таких центров насчитывается 119, во Франции – 39, в Бельгии – 28, в Швеции – 26, в Голландии 21, В Испании -27, в Великобритании – 23, в Венгрии – 21, в Дании – 18, в Италии – 16, в Австрии – 9, в Финляндии – 7, в Польше, Греции и Ирландии – по 5, в Эстонии и Португалии – по 2, в Словакии -1 [181].

Ниже приводятся сведения профессора В.В. Pickett о применении метода искусственного осеменения кобыл в некоторых породах лошадей, разводимых в США [342].

Арабская порода. Ассоциация арабских лошадей США одной из первых поддержала программу развития научных исследований и была лидером по внедрению метода. В 1977 году она разрешила искусственное осеменение в разведении арабских лошадей, а несколько лет спустя одобрила использование замороженной спермы. В 1999 году было зарегистрировано 9627 жеребят, из этого числа 1149 (12%) были осеменены охлажденной или замороженной спермой.

Американская стандартbredная порода. С 1972 по 1976 год было искусственно осеменено несколько сотен кобыл при зажеребляемости 83,1%. Кроме того, осеменили часть проблемных (гинекологически неблагополучных) кобыл с результатом 44,8% зажеребляемости. Эти показатели значительно превосходили результативность естественной случки (74,5 и 31,3%, соответственно, для здоровых и проблемных кобыл).

В породе кватерхос (AQHA) в 1998 году было оплодотворено 186458 кобыл, в т.ч. 8424 осеменяли транспортированным охлажденным семенем (4,5%).

Ганновераны (American Hanoverian Society) - самая малочисленная порода в США, но шире других использует охлажденное и замороженное семя в разведении: 99% кобыл оплодотворяют с помощью искусственного осеменения и ежегодно регистрируют 550 жеребят.

Аппалуза (Appaloosa Horse Club). Здесь разрешена пересылка и использование охлажденной спермы, но только от зарегистрированных ассоциацией жеребцов. Ежегодно выдается 150-160 разрешений на перевозку охлажденного семени.

Тяжеловозные породы. Наиболее многочисленная – Белигийский тяжеловоз (Belgian Draft Horse Corporation of American registry). Разрешено искусственное осеменение, но большинство из них разводят путем естественной случки. В 1999 году было зарегистрировано 4500 жеребят бельгийской породы.

Ассоциация американской миниатюрной лошади (American Miniature Horse Association (AMHA)) добилась успеха в распространении породы по всему миру,



благодаря разрешению с 2000 года применения искусственного осеменения кобыл свежим и охлажденным семенем.

Таким образом, несмотря на разрешение использовать транспортированное (не более 72 часов) охлажденное семя в воспроизводстве, большинство кобыл в США до сих пор кроют естественно или осеменяют свежим семенем [342]. Замороженное семя жеребцов здесь используется в основном для трансконтинентальных перевозок.

В Японии представлено 24 породы лошадей общей численностью 306408 голов (данные за 2000 год). В случае ежегодно участвует 27500 голов кобыл чистокровной верховой, арабской и тяжелоупряжных пород (бретонские и першероны), из которых свежеполученной спермой осеменяют 4,5%. [214].

В Австралии крупные коневодческие хозяйства на северо-востоке штата Виктория используют искусственное осеменение свежей спермой или охлажденным семенем, транспортированным из других регионов Австралии или Новой Зеландии. В американской стандартбредной породе 89% кобыл осеменяют искусственно. С 1990 по 2001 год в 4 конных заводах (в обработке было 1350 кобыл, 2690 половых циклов) средняя зажеребляемость кобыл в одном цикле составляла 68,3%, эмбриональная гибель - 7,5%. Для сравнения: при ручной случке в чистокровной верховой породе в 7 конных заводах (3105 кобыл, 6123 цикла) зажеребело 68,8% и потери жеребости составили 7,1%, соответственно, что вполне сопоставимо [300].

Ранее импорт рысаков из США был для Европы основным источником лучшего генофонда. В последствие, в том числе благодаря методу искусственного осеменения кобыл свежим (охлажденным) и замороженным семенем, ведущие в этом отношении страны сами стали экспортерами племенного материала.

Наиболее успешные породы для конного спорта разводят в Германии, Франции, Нидерландах и Ирландии. Немецкие и голландские жеребцы-производители спортивных пород (в том числе сперма), широко экспортируются в соседние страны и в Северную Америку. В связи с этим, метод искусственного осеменения был принят в качестве основной технологии воспроизводства также и

спортивных лошадей. В Швеции сегодня более 90% кобыл спортивных и рысистых пород осеменяют искусственно. [283].

Для примера развития метода в Европе приведем следующую информацию. В Германии с начала 1980-х годов произошли существенные изменения в репродукции лошадей спортивных пород. Естественную случку практически вытеснило искусственное осеменение, главным образом, свежим и охлажденным семенем (в меньшей степени – замороженным). Объяснение этому процессу довольно простое. Это, во-первых, стремление коневладельцев предохранить животных от распространения инфекций, передающихся половым путем. Во-вторых, не менее важно для владельцев лошадей избежать травм ценных жеребцов и кобыл при естественной случке и транспортировке к месту ее проведения. Кроме того, в Германии и других европейских странах охотно практикуется намораживание спермы ценных жеребцов на экспорт, которую активно покупают и перевозят в криогенных контейнерах в Америку, Восточную Европу (в том числе в Россию) и Азию. Поэтому с начала 1980-х годов в Германии происходит существенное наращивание активности использования этого метода в спортивном коневодстве. Так в 1985 году более 98% кобыл спортивных пород в Германии крыли в естественной случке, а искусственное осеменение использовали только для 1,4% кобыл. Через 10 лет количество искусственно осемененных кобыл возросло до 50%, в 2004 году – превысило 80%, а в 2010 году эта цифра приблизилась к 90% [181]. В разных странах Европы национальные спортивные породы разводятся преимущественно с использованием метода искусственного осеменения. Например, при размножении упомянутой ганноверской породы искусственно осеменяют 90% кобыл, голштинской 70%, голландской (KWPN) 90%, Selle Français 80%, Swedish Warmblood 75%, Belgian Warmblood 100%, ирландской спортивной 32%, в том числе 20% свежей спермой и 12% замороженной (8% местного и 4% зарубежного производства) [226].

В спортивном коневодстве Франции ситуация сложилась аналогично Германии [178]. Национальная порода Selle Français разводится в основном (80%)

при использовании искусственного осеменения, благодаря чему она распространилась по всей стране и в мире. По масштабам же использования криоконсервированного семени Франция значительно превосходит Германию. Так, в 2010 году количество искусственно осемененных кобыл составило во Франции и Германии: свежей и охлажденной спермой 5003 головы и 34495 голов, замороженно-оттаянной 4663 головы и 962 головы, соответственно (там же).

Эволюцию метода криоконсервации семени во Франции за 20-летний период приводит М. Vidament [368]. Выделены 4 этапа развития этой работы. Вначале в стране функционировал только 1 центр по намораживанию спермы (National Stud) и менее 10 центров по искусственному осеменению, на которых в год осеменяли 90-300 кобыл. В период с 1980 по 1994 год результаты осеменения были невысокими: менее 40% эякулятов оставлено после размораживания, не выше 30% зажеребляемость на 1 цикл, не более 50% - благополучная выжеребка. Параллельно развивалось производство (организовано 4 центра) и вырос спрос на криоконсервированную сперму (работало 40 центров, 300-400 осемененных кобыл в год). С 1995 по 1998 годы результативность метода начала повышаться: для осеменения было отобрано после размораживания 75% эякулятов, зажеребляемость в одном цикле составила 50%, а благополучная выжеребка - 70%. Продолжало наращиваться производство криоконсервированной спермы (более 950 эякулятов) и числа осемененных кобыл (более 700). На последнем этапе (1999-2005 годы) отмечена стабилизация результатов на достигнутом уровне (оставлено 85% эякулятов, 46-48% зажеребляемость и 64% благополучная выжеребка) и резкое увеличение количества замороженных эякулятов (более 1850), а также количества осемененных кобыл (до 2000). Работу проводили более чем в 90 центрах, организованных National Stud, и в 65 частных центрах [там же].

В 2014 году во Франции в общей сложности было учтено 75952 покрытий/осеменений, в том числе 40% искусственно. Доминирует, как и в других европейских странах, осеменение кобыл свежим и охлажденным семенем ( $n=22530$ ), в том числе на долю свежеполученной спермы в 2014 году пришлось 18393 осеменения, охлажденного и транспортированного – 4132. Замороженную

сперму использовали в 7284 случаях, преимущественно, на верховых (Chevaux de selle) и упряжных (Chevaux de trait) породах, а также пони. В рысистых породах отмечено лишь 3 таких осеменения, а в чистокровной верховой – 4 (очевидно, с целью получения полукровного потомства) [178]. Это соотношение, как и само исключительное вето на использование метода искусственного осеменения в размножении чистокровных верховых лошадей, регламентируется правилами регистрации жеребят от искусственного осеменения, разрабатываемыми регулирующими органами, чаще всего международными и национальными комитетами по племенным книгам, клубами или ассоциациями по разведению тех или иных пород. При этом не афишируется и не берется в расчет фактически используемое одновременное осеменение нескольких кобыл разделенными свежевзятными эякулятами в присутствии жеребца под контролем специального протокола в оборудованных центрах. По сути – это тот же метод искусственного осеменения, но не допускающий выноса семени за пределы операционного зала, его хранения, криоконсервации, иных манипуляций.

Следует признать, что за рубежом замороженное семя менее популярно, чем свежеразбавленное и охлажденное, поскольку оно имеет более низкую оплодотворяющую способность и более дорогую стоимость. В Европе и Америке широкий выбор высококлассных жеребцов-производителей и хорошо отлаженная система транспортной логистики делают вполне доступным использование свежего или охлажденного семени. Напротив, такие страны, как Россия или, например, Китай нуждаются в более длительных способах сохранения спермы ценных жеребцов, чтобы довезти его через сотни и тысячи километров в жизнеспособном состоянии. В этом случае криоконсервация семени оказывается наиболее приемлемым способом для перевозки.

Ниже приведены сведения о результатах искусственного осеменения кобыл транспортированным охлажденным и криоконсервированным семенем жеребцов в различных странах мира за последние годы, предоставленные сотрудниками компании SBS на основании проведенных опросов своих аффилированных лабораторий в Северной Америке и Европе [332].

Согласно результатам анализа, в 2012 году уровень зажеребляемости по одному циклу составил 63% после осеменения охлажденным семенем (406 кобыл) и 53% после осеменения замороженным семенем (405 кобыл). Итоговая зажеребляемость (на конец сезона) была на уровне 75% для охлажденного семени и 69% для замороженного семени. За предыдущий период (2010-2012 годы) уровень зажеребляемости по одному циклу был 59% для охлажденного (1549 кобыл) и 51% для замороженного (1313 кобыл) семени, соответственно. Для сравнения авторы материала приводят данные из отчета Р. Loomis, основателя и директора SBS, полученные в случных сезонах 1999-2000 годов, где зажеребляемость по одному циклу составила 59% для охлажденного (850 кобыл) и 51% для замороженного (876 кобыл) семени. В этих исследованиях автор получил итоговую зажеребляемость в сезоне 75 и 76% для охлажденного и замороженного семени [там же].

В целом, техническая результативность искусственного осеменения лошадей сегодня (при условии проведения процедуры на высоком профессиональном уровне) не слишком уступает естественной случке. По данным, приведенным в статье S. Barbacini [183], зажеребляемость в одном цикле в репродуктивных центрах США и Европы колеблется в среднем для охлажденного семени в пределах 44-65%, а для замороженного - на уровне 46-57%. Это может означать возможность достижения 75% и более зажеребляемости на конец случного сезона. Понятно, что существует дополнительно процент абортных, мертворожденных и слаборожденных жеребят и падежа молодняка к отъему, который снижает итоговый показатель выхода живых жеребят. Любопытно, что в уже упомянутом обзоре М. Tischner [361], приведены схожие средние показатели для замороженного семени периода 1980-х годов (49-74% по разным источникам).

### 1.2.3 Трансплантация эмбрионов

Следующий этап развития технологии воспроизводства, после искусственного осеменения – трансплантация эмбрионов. Этот метод сегодня

является общепризнанным инструментом эффективной селекционной работы в животноводстве. Сущность метода сводится к тому, чтобы избавить ценную кобылу от 11-месячного процесса вынашивания плода и передать эту миссию суррогатной матери. Для этого из матки кобылы-донора извлекают эмбрион и пересаживают его в матку синхронизированной по фазе полового цикла кобылы-реципиента. В следующем половом цикле кобыла-донор снова будет готова к зачатию и очередной процедуре трансплантации эмбриона. Таким образом, удастся более эффективно работать с ценными кобылами, маточными семействами и тиражировать удачные сочетания подобранных пар, способствуя селекционному прогрессу. Сегодня технология эмбриотрансплантации развивается в трех основных направлениях: культивирование, охлаждение и криоконсервация эмбрионов лошадей.

История его развития ведется с конца XIX-го века, когда Уолтером Хипом в 1890 году был получен первый крольчонок-трансплантат. К середине прошлого столетия опыты были перенесены на других сельскохозяйственных животных и вскоре получены первые ягнята, поросята и телята, рожденные суррогатными матерями.

На лошадях первый успех достигнут в Кебриджской лаборатории группой британских ученых с применением хирургической методики при межвидовых эмбриопересадках в 1972 году [175]. Однако, такой способ не мог быть привлекательным с точки зрения практического использования. Поэтому первыми разработчиками производственного нехирургического способа извлечения и пересадки эмбрионов лошадей считаются японские исследователи N. Oguri и Y. Tsutsumi, которые сообщили о своем успехе в 1974 году [315]. Однако понадобились многие годы для того, чтобы добиться в этой технологии приемлемого для производства уровня. В числе преимуществ метода эмбриотрансплантации, наряду с более интенсивным использованием ценной кобылы в воспроизводстве, можно назвать получение потомства от кобыл: а) с проблемами вынашивания плода, б) без отрыва от спортивной карьеры, в) не достигших физиологической зрелости и др.

Ключевым событием в истории трансплантации эмбрионов лошадей было создание в начале 1990-х годов в Аргентине первого коммерческого центра по пересадкам конских эмбрионов [322, 337]. С 1997 по 2010 год в нем было проведено 13942 процедуры нехирургического извлечения эмбрионов из матки кобыл и 7939 пересадок кобылам-реципиентам породы поло-пони. В дальнейшем по всей Аргентине была организована целая сеть таких коммерческих центров [290].

Второй подъем интереса к новой технологии произошел после отмены в 2002 году Ассоциацией породы Quarter Horse (AQHA) в США запрета на регистрацию более 1 жеребенка-трансплантата в год от кобылы-донора. Из 135787 жеребят, зарегистрированных в 2007 году этой Ассоциацией, 3% были получены методом эмбриотрансплантации [там же]. Соответственно, в Европе, Южной Америке и Австралии за этот период тоже было сделано большое количество успешных пересадок эмбрионов от спортивных кобыл, занятых в конкуре, выездке, шоу-программах и т.д. [356].

Вслед за AQHA американские ассоциации арабской и Paint Horse пород лошадей тоже отменили запрет на запись трансплантатов в племенную книгу. В американской верховой (American Saddlebred) породе были введены ограничения – можно зарегистрировать только 4 жеребенка в год от одной кобылы.

Сегодня существуют многочисленные ассоциации по трансплантации эмбрионов (международная (IETS), европейская (AETE), американская (AETA), канадская (CETA), корейская (KSET), аргентинская (SATE), бразильская (SBTE) и др.), которые активно работают, проводят ежегодные отчетные конференции, координируют свою деятельность, публикуют материалы и результаты исследований в своих изданиях. Достаточно взглянуть на данные таблицы 2, чтобы удостовериться, что технология трансплантации эмбрионов, действительно, заняла прочные позиции в сфере воспроизводства лошадей. Лидерами в этой индустрии являются Аргентина, Бразилия и США [179, 359].

Таблица 2 - Активность использования эмбриотрансплантации в коневодстве (данные международной ассоциации по трансплантации эмбрионов - IETS) [179]

Страна	Получено эмбрионов, пригодных к пересадке, по годам									
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Аргентина	-	-	9600	9122	7560	8480	7390	14335	-	1101
Бразилия	9300	6700	8100	9900	10100	12400	13600	16800	19680	-
Канада	67	38	32	36	22	32	46	30	49	26
Европа	509	428	764	1043	1037	289	694	104**	160**	795**
Юж.Африка	77	15	19	48	120	95	-	-	-	2
Австралия	-****	-	8	15	710	1230	1230	-	-	-
Н.Зеландия	-	50	-	-	-	-	40	-	-	-
США	6000	7600	6840	6918	4966	4966	6122	43	353	54
Колумбия	1600	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Уругвай	2	-	-	-	-	5	2	-	-	-
Мексика	-	-	-	-	-	-	8	17	15	10
Италия	-	-	-	-	-	-	-	91	40	-
Ирландия	-	-	-	-	-	-	-	-	35	-
Финляндия	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-
Швейцария	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-
Польша	-	-	-	-	-	-	-	1	-	15
Португалия	-	-	-	-	-	-	-	-	6**	2
Франция	-	-	-	-	-	-	-	-	-	365**
Всего эмбрионов										
получено	13943	14833	25363	27082	24515	27497	29132	31331	20172	1575
пересажено	14125*	15695*	25215	26985	24470	28824*	28636	31323	20091	1567
в т.ч. замор.	500	408	340	379	15	1747	25	15	9	8
IVP***	-	12**	32**	48**	69**	-	-	-	-	141**
Примечание:										
* вероятно, учтены импортированные эмбрионы;										
** данные добавлены из отчетов Европейской ассоциации по трансплантации эмбрионов (АЕТЕ) [228] и не учтены в итоговых показателях;										
*** in vitro production, то есть эмбрионы, полученные искусственным путем;										
**** данные не предоставлены или отсутствуют										

В странах Европы пересадка эмбрионов стабильно наращивала объемы вплоть до 2008-2009 годов, но глобальный экономический кризис оборвал этот процесс и отбросил показатели почти на исходные позиции. Лишь к 2014 году вновь наметилось оживление интереса к использованию метода. Наиболее активна в сфере эмбриопересадок Франция. Однако свои отчеты в Европейскую ассоциацию по трансплантации эмбрионов присылают также Польша, Швейцария, Италия, Португалия, Греция, Венгрия, Финляндия, Турция. Известно,



что трансплантацию эмбрионов лошадей применяют в Германии и Великобритании, Боснии и Герцеговине, Австрии и Голландии [228].

Современные эмбриотехнологии предлагают три варианта производственного использования: пересадка свежих, охлажденных (трансплантированных) и заморожено-оттаянных эмбрионов. Процедура извлечения эмбриона проводится на 6,5-9 день после овуляции кобылы-донора. Ее результативность оценивается специалистами в 50-65% успеха. Причем, за 1 цикл из матки кобылы можно извлечь 1 эмбрион (в редких случаях два), поскольку метод суперовуляции для кобыл малоэффективен. Дальнейшая пересадка реципиенту свежеизвлеченного эмбриона может гарантировать 80-90% зажеребляемости, а охлажденного и транспортированного в пределах 24 часов при температуре плюс 4°C - 60-76% успеха. Эмбриональные потери после эмбриотрансплантации не превышают обычные показатели для кобыл, вынашивающих свое собственное потомство [290,297].

Криоконсервация эмбрионов лошадей оказалась более сложной проблемой, чем в работе с эмбрионами других видов животных. Биологические особенности кобыл (быстрый рост эмбриона после выхода из яйцевода в матку, гликопротеиновая капсула у бластоцист, плохо пропускающая криопротекторы и др.) заставили ученых потрудиться, чтобы создать подходящую для практического использования версию метода замораживания-оттаивания эмбрионов. Наиболее приемлемым в практическом коневодстве считается метод ультрабыстрого замораживания (витрификации) эмбрионов, размер которых не превышает 300 мкм. Опытные специалисты достигают зажеребляемости 70% и выше после пересадки витрифицированных эмбрионов с последующим выходом жеребят – 60% [290]. Однако, с учетом 50-65% извлекаемости эмбрионов, итоговые показатели результативности метода будут ниже. Использование замороженных эмбрионов в практике разведения лошадей пока остается на очень низком уровне, особенно в последние годы, о чем свидетельствуют данные таблицы 2.

Тем не менее, медленно, но неуклонно берутся и другие биотехнологические барьеры в коневодстве (ICSI – Intra Cytoplasmic Sperm Injection, IVF – экстракорпоральное оплодотворение In Vitro, клонирование и проч.). В последние годы в статистических отчетах ассоциаций стали фигурировать дополнительные цифры по производству эмбрионов различными искусственными методами (IVP -In vitro production, то есть произведенных «в пробирке»), а также по количеству замороженных и экспортированных/импортированных эмбрионов [228].

Нужно сказать, что коневодство значительно (в 20-30 раз) отстает от скотоводства по объемам эмбриопересадок, не считая, приблизительно, полумиллиона эмбрионов коров, получаемых в год методом оплодотворения ооцитов в условиях *in vitro* [там же]. Причин тому несколько. Это и физиологические особенности репродуктивной системы кобыл, которые не позволяют разработать эффективный метод суперовуляции для получения большого числа эмбрионов в одном цикле, и характер использования доноров (долгая спортивная карьера и т.д.), и серьезные финансовые затраты. Важным сдерживающим фактором являются ограничения в регистрации племенных жеребят-трансплантатов различными ассоциациями. Причем одна порода, разводимая в разных странах, может иметь различные правила регистрации. Например, ассоциация арабской лошади в США (Arabian Horse Association) разрешает неограниченное использование свежеполученных трансплантированных эмбрионов (охлажденные и замороженные эмбрионы в правилах регистрации приплода не упоминаются) [339]. В то же время Японская племенная книга арабских лошадей не допускает регистрацию жеребят-искусственников, в том числе полученных методами трансплантации эмбрионов [266].

В России первый жеребенок-трансплантат был получен доктором биологических наук С. Г. Лебедевым в феврале 1982 года в лаборатории физиологии размножения ВНИИ коневодства путем извлечения и пересадки эмбриона нехирургическим методом. Всего С. Г. Лебедев, автор отечественной

технологии эмбриопересадок лошадей, получил около 40 жеребят-трансплантатов. Метод был успешно использован при воссоздании русской верховой породы в Старожиловском конном заводе (Рязанская область, 1984-1985 годы), в результате чего от одной ценной кобылы-донора в течение календарного года удалось получить 3 жеребенка (в том числе два трансплантата). Позже ученики С. Г. Лебедева продолжили исследования по разработке методики криоконсервации эмбрионов лошадей. В настоящее время технологию эмбриотрансплантации в племенном коневодстве в России используют в ограниченном объеме. При этом достигаются высокие результаты зажеребляемости при пересадке свежих эмбрионов - 85-100% (5 жеребых кобыл в 5 пересадках, 4 живых жеребенка в 2010 г., Воронцовский конный завод, Ярославская обл., 6 жеребостей в 7 пересадках, 3 живых жеребенка, 2014 г., Локотской конный завод, Брянская обл., исполнитель – Е. В. Солодова), хотя не всех жеребят удается сохранить к отъему.

Важнейший вопрос о перспективах внедрения в коневодстве метода эмбриотрансплантации связан в разных странах, в том числе и в России, с нормативными решениями, принимаемыми на этот счет регулирующими органами, в чью компетенцию входит утверждение правил разведения тех или иных пород (таблица 3). В разных ассоциациях (в разрезе пород или стран) существуют предписания о порядке использования методов искусственного осеменения и эмбиотрансплантации, содержащие разные варианты: от полного разрешения до полного запрета, мотивированные не столько селекционной целесообразностью, сколько бизнес-интересами владельцев племенного поголовья.

Например, американская ассоциация породы Quarter Horse (AQHA) ввела правило, согласно которому сперма, эмбрионы и ооциты, полученные от жеребцов и кобыл, родившихся в 2015 году или позднее, могут быть использованы только в течение двух календарных лет после их смерти или стерилизации [328].

Таблица 3 - Условия регистрации жеребят, полученных методами искусственного осеменения и трансплантации эмбрионов в некоторых отечественных и зарубежных породах лошадей

Название породы	Метод получения жеребенка	Регистрация (разрешена/запрещена)
Английская чистокровная верховая	И.О. свежеполученной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	запрещена запрещена запрещена запрещена
Чистокровная арабская	И.О. свежеполученной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена запрещена ограничена*
Стандартбредная (американский рысак)	И.О. замороженной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена запрещена ограничена* ограничена*
Тракененская	И.О. свежеполученной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена разрешена разрешена
Ганноверская	И.О. свежеполученной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена разрешена разрешена
Орловская рысистая	И.О. охлажденной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена разрешена запрещена
Русская рысистая	И.О. охлажденной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена разрешена разрешена
Ахалтекинская	И.О. охлажденной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена разрешена разрешена
American Quarter Horse	И.О. свежеполученной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена разрешена ограничена*
American Saddlebred (Американская верховая)	И.О. свежеполученной спермой И.О. охлажденной спермой И.О. замороженной спермой Трансплантация эмбрионов	разрешена разрешена разрешена ограничена **

Примечание:  
\*2 жеребенка на 1 кобылу в год (считая собственного)  
\*\* 4 жеребенка на 1 кобылу в год

При всех сложностях и препонах к внедрению искусственных репродуктивных технологий, регистраторы конских пород и коневладельцы не могут отрицать азбучной истины из классической селекции: «лучшее к лучшему дает лучшее», а селекционный прогресс и его ускорение возможны только при использовании в производящем составе выдающихся жеребцов и кобыл. Этот факт ставит перед коннозаводчиками задачу употребить все возможные способы для получения потенциально наиболее ценных жеребят, которые оправдают надежды и окупят с лихвой затраты на достижение цели. Процедура эмбриотрансплантации в коневодстве довольно затратная и зависит от многих сопряженных услуг, тщательно оговоренных в контракте (разрешение породной ассоциации на пересадку, аренда реципиента, постой в клинике, цена на дозу спермы и др.) (приложение А). Например, в Америке она, в среднем, стоит 3,5 - 4,5 тыс. \$ и может быть многократно значительнее без учета затрат на транспортировку кобыл-доноров и реципиентов. Операция по персадке эмбриона оценивается в 250 \$ [187]. Доставка охлажденного эмбриона – 250 \$ [358].

### 1.3 Развитие биотехнологических методов размножения лошадей

На современном этапе в коневодстве достигнут успех в разработке практически всех существующих биотехнологических методов искусственное осемнение и эмбрипересадки (в том числе, межвидовые), криоконсервация спермы, эмбрионов и ооцитов, прижизненное получение ооцитов, оплодотворение *in vitro* (IVF), инъекция сперматозоида в яйцеклетку (ICSI), перенесение яйцеклетки донора в яйцевод реципиента для оплодотворения (GIFT), клонирование, определение пола эмбрионов по взятому биоптату [160, 175, 176, 190, 195, 201, 202, 205, 212, 213, 221, 223, 227, 231, 232, 233, 250, 257, 277, 278, 294, 302, 309, 326, 341, 353, 354, 366].

Хронология событий в этой 40-летней истории развития биотехнологий в воспроизводстве лошадей представлена ниже.

- 1974 год – рождение первого в мире трансплантированного жеребенка (Япония),
- 1974 год - первое сообщение об успешной суперовуляции у кобыл (США),
- 1976 год – первое сообщение об успешной длительной транспортировке эмбрионов лошадей (Англия),
- 1982 год - рождение первого в мире жеребенка после пересадки заморожено-оттаянного эмбриона (программное замораживание) (Япония),
- 1984 год – рождение однояйцовых близнецов, полученных методом деления эмбриона лошади на части (США),
- 1987 год – первое сообщение об успешной пересадке охлажденных эмбрионов лошадей (США),
- 1988 год – рождение первого жеребенка в результате пересадки яйцеклетки в яйцевод кобылы (США),
- 1991 год – рождение первого жеребенка, полученного методом оплодотворения *in vitro* (Франция),
- 1994 год – рождение первого жеребенка от пересадки витрифицированного эмбриона (Япония)
- 1996 год – рождение первого жеребенка, полученного методом интраплазматической инъекции сперматозоида в яйцеклетку (США),
- 2002 год – первое сообщение о рождении двух жеребят в результате использования витрифицированных ооцитов (США),
- 2003 год – рождение муленка, полученного методом клонирования (США),
- 2003 год – рождение первого клонированного жеребенка (Италия).

Метод экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) подразумевает получение половых клеток (гамет) самцов и самок с помощью специальных инструментов, оплодотворение и доразивание их в определенных условиях до нужной стадии развития с последующей пересадкой реципиенту. Ооциты из яичников кобыл получают либо *post mortum* (из метриала, взятого с бойни), либо прижизненно, после кастрации (овариоэктомия), или с помощью аспирационной иглы из фолликулов под контролем УЗИ (технология OPU - Ovum Pick Up). Для того чтобы произошло оплодотворение в искусственных условиях, сперматозоиды и ооциты должны пройти процедуру созревания. Капацитация

сперматозоидов достигается в искусственных условиях с помощью различных веществ (calcium ionophore, heparin) [176, 353]. Созревание ооцитов и доразвивание эмбрионов производится в специальных культуральных средах, в термостатах, поддерживающих специальный газовый режим и температуру. Нормально развивающиеся эмбрионы пересаживают в яйцеводы или матку реципиентов на соответствующих стадиях развития.

Техника ICSI (интраплазматическая инъекция сперматозоида в яйцеклетку) принесла большой успех, позволив получать потомство от жеребцов, сперма которых утратила способность к оплодотворению, вследствие различных патологий, вплоть до полной иммобилизации и отсутствия хвоста у сперматозоидов. Процедура заключается во внедрении наследственного материала самца (ядро сперматозоида) в яйцеклетку самки с помощью микроманипулятора и обеспечения дальнейших условий для слияния женского и мужского пронуклеусов, образования зиготы и начальных стадий дробления [166, 199, 206, 210, 207].

Проблемы, связанные с плодовитостью генетически ценных кобыл, в частности, с патологиями матки и яйцеводов, помогает решить метод GIFT (инъекция ооцита в яйцевод). Он заключается в прижизненном извлечении ооцита из яичника ценной кобылы и доразвивании его до стадии метафазы II, после чего ооцит пересаживают в яйцевод кобылы-реципиента, предварительно (или после этого) осемененной спермой выдающегося жеребца (OT – oocyte transfer), либо непосредственно вместе со сперматозоидами (GIFT - gamete intrafallopian transfer). Пионером и основным разработчиком метода в коневодстве стала доктор Elaine Carnevale, которая получила несколько жеребят с помощью этой технологии [166, 200, 203, 252].

Первый клонированный жеребенок был получен в 2003 году в Италии [233]. Его выносила кобыла, от которой были взяты кожные фибробласты в качестве исходных кариобластических клеток. Таким образом, получилась уникальная беременность плодом, который имел идентичную генетическую и, следовательно, одинаковую иммунологическую основу с материнским

организмом. В этом же году были получены 3 клонированных муленка [376]. Позднее успех был закреплен и в других лабораториях [234, 254, 255], упрочив позиции клонирования в качестве новой репродуктивной технологии. Последующие изыскания в данной области выявили, что клонированные эмбрионы лошадей, по сравнению с КРС и другими видами сельскохозяйственных животных, хуже приживляются и имеют более высокую эмбриональную смертность на ранних сроках и в середине беременности. Однако неожиданно выяснилось, что патологии в эмбриональном и постнатальном развитии, ведущие к поздним абортam и смертности, отмеченные у клонированных телят, не свойственны клонированным жеребятam. И если они успешно преодолели рубеж половинного срока беременности, то имеют высокие шансы на нормальное рождение и последующее развитие [254, 317]. В настоящее время наиболее перспективным считается тиражирование выдающихся спортивных лошадей и восстановление линий жеребцов через клонирование меринoв, проявивших себя в большом спорте, а также увеличение клонов эмбрионов от одной ценной кобылы в год с использованием возможностей эмбриотрансплантации [333]. Не менее важным считается резервирование генетического материала в криобанках для последующего клонирования ценных особей, погибших или утративших способность к размножению [277].

В 2007 году по всей Северной Америке законодательным актом прекратили свою деятельность все бойни лошадей, резко сократив источник получения конских ооцитов для экспериментальной работы, исследования по клонированию затормозились, не успев набрать достаточные для коммерции обороты [166]. Вероятно, этот запрет стимулировал развитие прижизненных методов получения ооцитов у кобыл с использованием интравагинальной аспирации яйцеклеток из фолликулов под контролем УЗИ или через лапаротомический разрез в брюшной стенке [195, 256, 370]. Благодаря видовым физиологическим особенностям кобыл (активный фолликулогенез в яичниках во время работы эндометральных чаш, то есть 2-3 месяц жеребости), были также предложены методы прижизненного получения ооцитов из яичников кобыл во время жеребости [210, 303].



В последние годы получают приоритетное направление исследования по предимплантационному генотипированию эмбрионов. Уже идентифицированы некоторые гены, связанные с мастью и работоспособностью лошадей, разработаны методы тестирования ранних эмбрионов лошадей по полу и некоторым генетическим заболеваниям [250, 253]. Для этого из эмбриона на стадии морулы или ранней бластоцисты перед криоконсервацией отбирают несколько клеток и проводят полную геномную амплификацию (WGA), по результатам которой принимается решение о дальнейшем использовании или выбраковке замороженного эмбриона [231].

Однако о реальном использовании биотехнологических разработок в практическом коневодстве в мире и, в том числе, в Российской Федерации можно сегодня говорить лишь в отношении искусственного осеменения и трансплантации эмбрионов. Новейшие методы пока не выходят за пределы лабораторий и специализированных клиник, требуют огромных материальных затрат, времени, сил и высокой квалификации специалистов. Кроме того, их результативность пока невысокая, поэтому необходимы дополнительные исследования для выведения этих биотехнологий на производственный уровень.

В завершение обзора современного состояния воспроизводства лошадей в России и за рубежом в аспекте производственного использования новых биотехнологических и диагностических методов следует признать, что уровень работы отечественных и зарубежных специалистов существенно различается. Переключение интересов российских коневладельцев на лошадей зарубежной селекции является следствием отставания отечественных специалистов в производстве высококлассных лошадей. Ярким примером создания собственных спортивных пород на основе искусственного осеменения кобыл охлажденным и замороженным семенем импортных жеребцов-производителей могут служить многие европейские страны (Франция, Германия и др.). Однако чтобы использовать зарубежный опыт, отечественным специалистам необходимо досканально знать все стороны современного процесса размножения лошадей, в

том числе его физиологические основы и видовые особенности в свете новых фундаментальных знаний, полученных за последние 30 лет.

## 1.4 Биологические особенности репродуктивной системы кобыл

### 1.4.1 Сезонность воспроизводительной функции

Половая зрелость у кобыл наступает в возрасте 12-24 месяцев. Однако для рождения полноценного потомства кобыла должна достичь физиологической зрелости, которая характеризуется завершением формирования ее собственного организма. Поэтому пускать в случку лошадей раньше 3 лет (а для некоторых пород и позже) не рекомендуется [47, 90, 103, 108,]. Исключение могут составлять кобылы-доноры эмбрионов и яйцеклеток, использование которых в воспроизводстве биотехнологическими методами возможно с наступлением половой зрелости и установлением нормальной половой цикличности, то есть, примерно, с 2-летнего возраста. Отличительной особенностью лошадей является сравнительно небольшой овариальный резерв (пул примордиальных фолликулов), то есть запас яйцеклеток, который закладывается в утробном периоде в организме самки. Количество первичных фолликулов в яичниках кобыл в среднем равно 36 тысячам, против 120 тысяч у коров [258] с высокой индивидуальной вариабельностью от 5600 до 75000 примордиальных и от 20 до 300 растущих (антральных) фолликулов [224].

Кобылы относятся к полициклическим или полиэстральным животным. Им свойственна сезонность размножения: 75-80% кобыл в северном и южном полушарии демонстрируют сезонно-полиэстральное поведение, тогда как 20-25% кобыл циклируют круглый год. Кобылы в северном полушарии проявляют регулярные половые циклы (овуляторная фаза) в весенние, летние и ранние осенние месяцы, а в южном полушарии, наоборот, с октября по февраль. По мере

приближения к экватору процент кобыл, циклирующих круглогодично возрастает, что чаще встречается в арабской породе [275].

Важность светового фактора, как главной действующей силы, вызывающей у животных сезонную половую периодичность, отмечали многие исследователи. В том числе в коневодстве, Н. И. Линтварева (1955) установила, что при недостатке света (затемнении помещения) у жеребцов снижаются качественные показатели семени, а в условиях длительного затемнения почти полностью подавляется половая активность и функция семенников [82]. Г. В. Паршутин в 1949 году указывал на важность достаточного количества света как для жеребых и нежеребых кобыл, так и для жеребцов [109]. Особенности протекания половой цикличности у кобыл в ранние весенние месяцы (удлиненная охота, отсутствие овуляции и низкая оплодотворяемость) были описаны Х. И. Животковым, однако основную причину фактора сезонности он видел не в количестве света, а в состоянии погоды, времени года, температуре в помещениях и на улице в сочетании с состоянием упитанности, рабочей нагрузкой и половой стимуляцией кобыл [37, 44].

В представлении современной научной школы у кобыл выделяется четыре фазы половой активности: полноценная половая цикличность (овуляторная фаза), период зимнего полового покоя (анэструс) и два переходных периода между ними. В овуляторной фазе в яичниках кобыл происходит развитие фолликулов, завершающееся овуляцией (эструс), формирование, функционирование и последующая инволюция желтого тела (диэструс), в половом тракте наблюдаются циклические изменения в строении слизистой и характеристиках выделяемого железами секрета, а в поведении кобылы заметны четкие фазы расположения (эструс) и агрессии (диэструс) по отношению к жеребцу. Напротив, в зимние месяцы кобылы неактивны в половом отношении, фолликуло- и лютеогенез в яичниках отсутствует, железы матки атрофируются, и кобыла равнодушна к жеребцу (анэструс). Между этими двумя периодами есть две промежуточные фазы – весенний и осенний переходные периоды, - во время которых происходит перестройка организма и пробуждение (ранняя весна) или затухание (поздняя

осень) половой активности кобылы, проявляющееся в неустойчивом эстральном поведении и ановуляторных циклах. Такое функционирование репродуктивной системы кобыл в течение года имеет четкую взаимосвязь с фотопериодом и ориентировано на длину светового дня.

Распределение фаз половой активности у кобыл в северном полушарии, в т.ч. в России, удобно рассматривать относительно четырех главных дней в году: дни весеннего и осеннего равноденствия (21 марта и 21 сентября) и дни летнего и зимнего солнцестояния (21 июня и 21 декабря). В действительности сроки наступления отдельных репродуктивных фаз у кобыл не столь точно согласованы с этими датами и слегка сдвинуты в сторону удлинения активной (овуляторной) половой фазы (рисунок 6).

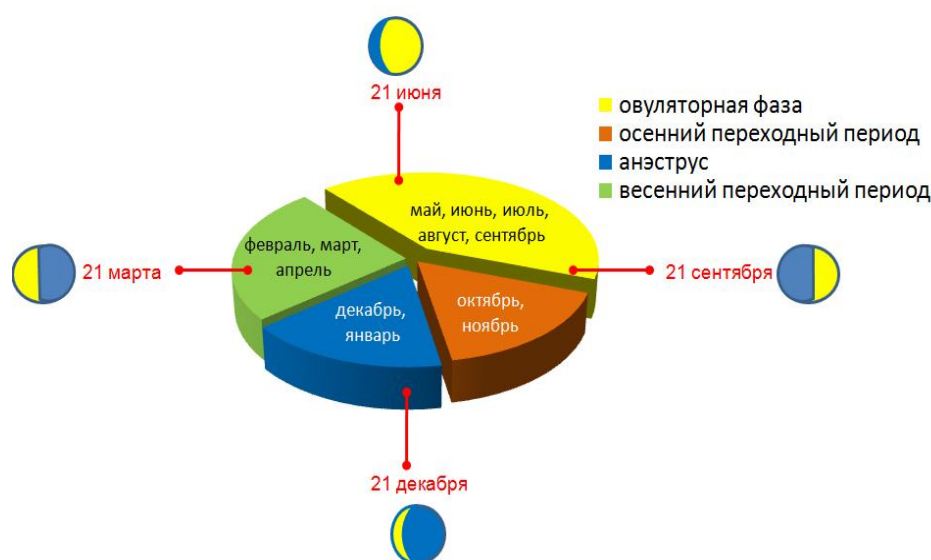


Рисунок 6 - Схема сезонного проявления половой цикличности у кобыл

Все эти процессы регулируются гормональной системой, которая в аспекте размножения схематически изображается, как «гормональная ось» (гипоталамус-гипофиз-гонады) со сложными прямыми и обратными связями и комплексным взаимодействием гормонов, выделяемых каждым звеном гормональной оси.

Общие принципы гормональной регуляции половой функции у кобыл представлены на рисунке 7.

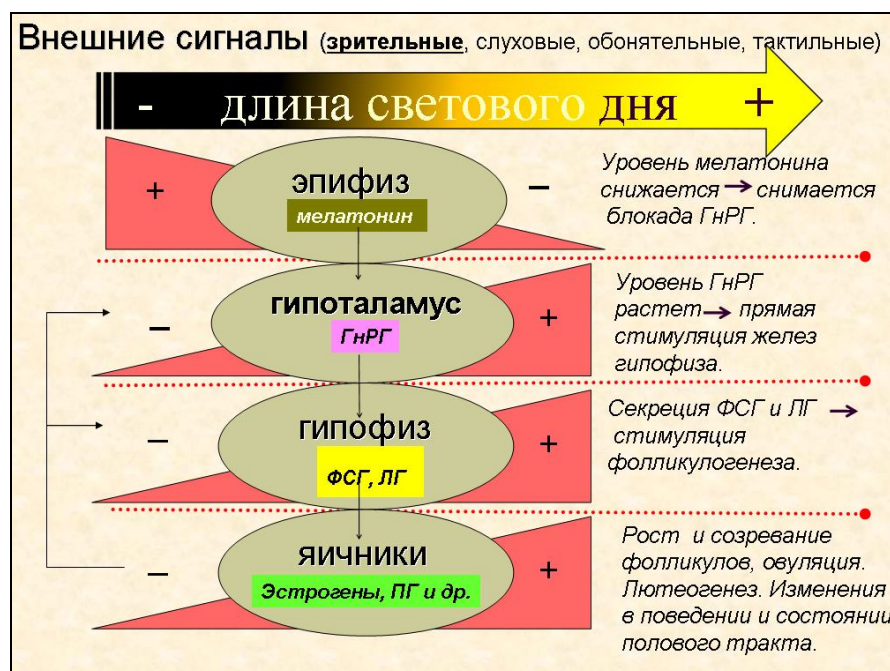


Рисунок 7 - Схема гормональной регуляции половой цикличности у кобыл  
Примечание: ГнРГ – гонадотропин релизинг гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон; ЛГ – лютеинизирующий гормон; ПГ – прогестерон

Главным рычагом, запускающим половую цикличность у кобыл, является гормон эпифиза (шишковидная железа) - мелатонин, напрямую связанный с длиной светового дня (фотопериод). Увеличение светлого времени суток снимает гнетающее воздействие мелатонина на гипоталамус и таким образом каскадом активизирует всю гормональную ось вплоть до органов-мишеней.

Яичники в свою очередь по принципу положительной и отрицательной обратных связей воздействуют на гипофиз и гипоталамус, регулируя таким образом выработку собственных гормонов. Процесс этот постепенный, поэтому первые 1-2 цикла в сезоне бывают у кобыл без овуляции (ановуляторные), что делает бесплодными все попытки плодотворно покрыть кобылу в охоте в весенний переходный период. Затухание половой активности осенью имеет те же признаки, но в обратной последовательности.

#### 1.4.2 Специфика фолликулогенеза, овуляции и лютеогенеза

Нормальный половой цикл в овуляторной фазе у кобыл имеет продолжительность (от одной овуляции до другой) 21-23 дня, из которых, в

среднем 5-7 дней приходится на охоту (эструс), которая завершается овуляцией, и 15-17 дней – на диэструс (половой покой). При этом длительность охоты у одной и той же кобылы – величина индивидуальная и довольно постоянная [12, 32]. По ней, в отсутствие ректального и ультразвукового контроля овуляции, в середине прошлого века было предложено рассчитывать сроки покрытия кобылы [127]. В сравнении с самками других сельскохозяйственных животных, охота у кобыл самая продолжительная, что создает проблемы с определением срока наступления овуляции и выбором момента для случки или осеменения.

Во время эструса на определенном этапе фолликулогенеза у кобыл включается механизм выделения лидирующего и подавления конкурентных фолликулов, что, по всей вероятности придает выраженному одноплодию кобыл физиологически обусловленный характер. Исследования О. J. Ginther с соавторами показали, что в этом процессе задействован комплекс факторов, включающий эстрадиол, инсулин-подобный фактор роста-1 (IGF-1), ингибин-А и активин-А [184, 236, 240]. По достижении фолликулом определенной величины (22,5 мм), его клетки начинают наращивать секрецию ингибина, который снижет секрецию ФСГ гипофизом и таким образом способствует выделению лидирующего фолликула из фолликулярной волны путем подавления роста конкурентных фолликулов [352]. Благодаря этому механизму девиации у кобыл в половом цикле обычно овулирует один, реже два фолликула. Множественные овуляции наблюдаются не слишком часто, но вариабельность встречаемости среди пород довольно широка: от 2% у пони до 25% у чистокровных верховых [244]. Однако у кобыл бывают случаи «диэстральной» или «вторичной» овуляции фолликулов на фоне высокой концентрации прогестерона. Это явление не описано у других видов животных. У лошадей встречаемость диэстральной овуляции колеблется в широких пределах среди различных пород: 18-21% у американских стандартбредных и чистокровных верховых и близка к 0% у пони, четвертьмильных (Quarter Horse) и бретонских кобыл [238].

Специфической особенностью кобыл является строение яичника, обеспечивающее выход яйцеклетки только через овуляционную ямку. В отличие

от самок других млекопитающих, у кобыл корковое вещество с фолликулами и желтыми телами располагается внутри яичника и лишь в области овуляционной ямки контактирует с выстилающим ее зачатковым эпителием. А мозговое вещество (сосудистая часть) находится под мощной фиброзной и серозной оболочками, которые покрывают яичник по большой кривизне до границы с овуляционной ямкой (рисунок 8).

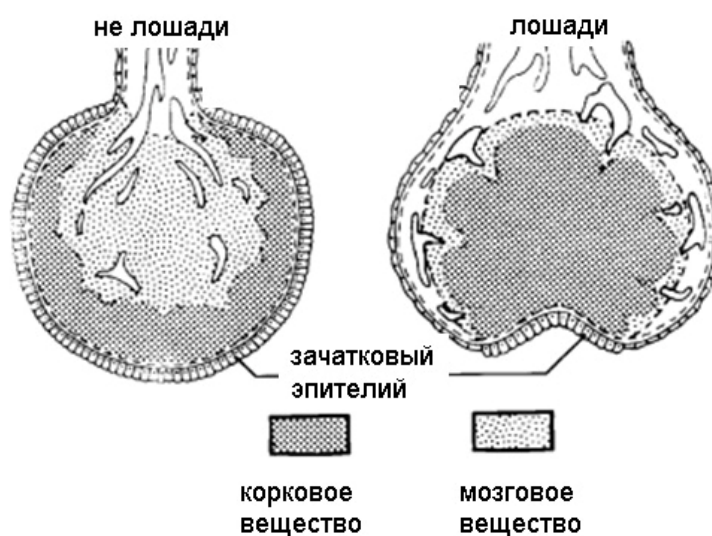


Рисунок 8 - Строение яичника лошади [306]

Это отличие делает невозможной овуляцию у кобыл в любой части поверхности яичника, как, например, у коров, но лишь через овуляционную ямку. Как показал доктор W. R. Allen, именно эта особенность препятствует разработке для кобыл эффективной методики вызова суперовуляции [166]. С помощью гормональной стимуляции яичников удастся добиться созревания и овуляции нескольких фолликулов, но выйти «в одни ворота» на одном яичнике успевают не более 1-2 яйцеклеток, тогда как остальные фолликулы лютеинизируются на месте (то есть превращаются в желтое тело без овуляции). Разработанные специально для суперовуляции у кобыл препараты гипофизарного экстракта лошади и рекомбинантного ФСГ повысили результат лишь до 2,4-2,5 эмбрионов на 1 цикл [18, 177, 349, 350]. Поэтому в программах по трансплантации эмбрионов в

конеvodстве существует большая проблема получения достаточного количества эмбрионов в естественном половом цикле.

Специальные наблюдения отечественных исследователей показали, что 54,4% кобыл овулировали в ночные и утренние часы (от 0 до 8 часов), а 39,5% - между 12 и 20 часами [61]. В зарубежных источниках приводятся сходные данные: 75% кобыл овулирует между 16 часами вечера и 8 часами утра [316].

По данным ряда авторов, жизнеспособность яйцеклетки после овуляции составляет у кобыл от 8 до 24 часов [47, 50, 62, 103, 108]. Хирургические эксперименты Г. Н. Архипова (1956), а затем В. В. Ключева и С. М. Ромбе (1966) с наложением фистулы на яичник кобылы позволили непосредственно отследить процесс овуляции, который продолжался в течение 6 часов (выделение фолликулярной жидкости из перфорированного фолликула) [6, 69].

На месте овулировавшего фолликула в яичнике образуется желтое тело, которое у кобыл в первые 1-2 дня после овуляции именуется «геморрагическим», поскольку, наряду с остатками фолликулярных клеток, оно содержит фибринизирующуюся кровь из сосудов, окружавших созревший фолликул и поврежденных во время овуляции. На ощупь (при ректальной пальпации) геморрагическое тело имеет мягкую, аморфную консистенцию, которая в дальнейшем постепенно уплотняется, по мере формирования лютеиновой ткани. Именно лютеиновые клетки становятся источником прогестерона («гормона беременности»), превращая желтое тело в орган внутренней секреции. К 5-му дню желтое тело у кобыл считается зрелым. Это означает, что оно обладает полноценной гормональной активностью и одновременно становится восприимчивым к экзогенному воздействию простагландина  $F_{2\alpha}$ , который в определенной концентрации способен лизировать желтое тело и таким образом способствовать наступлению нового эстрального цикла. В норме это происходит в отсутствие оплодотворения, когда к 16-му дню цикла (овуляция – день 0) гормональный резерв желтого тела начинает истощаться, концентрация прогестерона падает, а снижение уровня ингибина позволяет гипофизу вновь начать наращивать концентрацию ФСГ. В отсутствие эмбриона в матке, организм



кобылы не получает сигнал о наступлении беременности и уровень простагландина  $F_{2\alpha}$ , вырабатываемого железами матки, нарастает, достигая критической величины. Желтое тело регрессирует. Снижение уровня прогестерона позволяет гипофизу возобновить продукцию ЛГ, запуская созревание фолликулов, в результате чего наступает очередной эструс. Общая схема гормональной регуляции эстрального цикла представлена на рисунке 9.

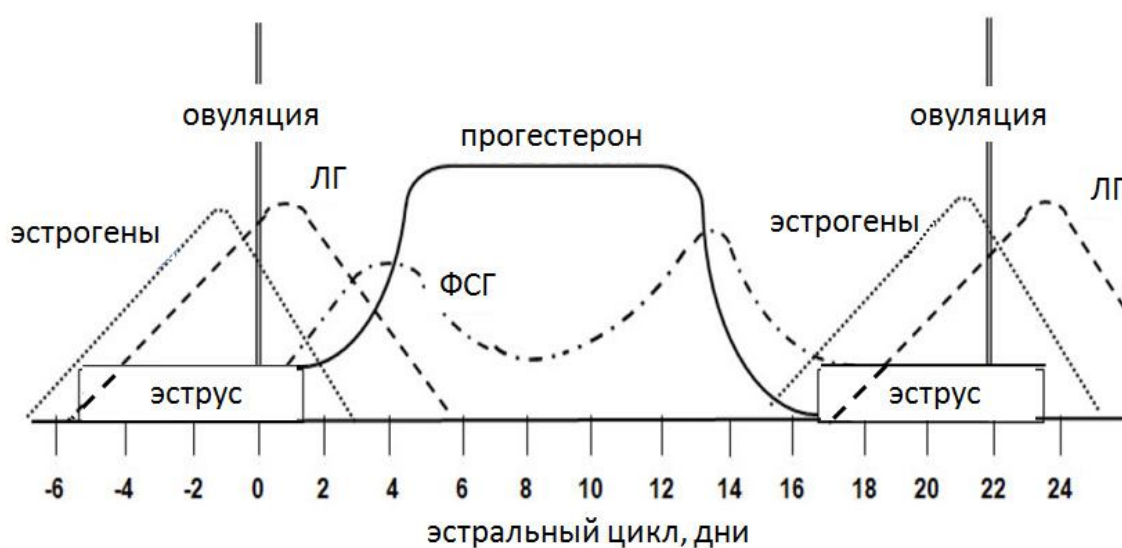


Рисунок 9 - Схема гормональной регуляции эстрального цикла кобыл  
Примечание: ЛГ-лютеинизирующий гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон

Оплодотворение у кобыл происходит в верхней трети яйцевода при условии встречи яйцеклетки с фертильными сперматозоидами. В. К. Милованов определил, что у кобыл, в отличие от коров, имеет место маточный тип осеменения [91], то есть во время коитуса сперма по принципу поршня продавливается в матку кобылы. В этой связи интересно упомянуть работу Г. Н. Архипова, который провел на кобылах операцию наложения 1- и 2-сторонней маточной фистулы и с помощью регистрирующих приборов измерил число, продолжительность и силу маточных сокращений в течение плодового цикла. Автор установил, что частота и сила маточных сокращений наивысшая в период

овуляции и резко снижается к концу охоты, в то время как продолжительность сокращений, наоборот, увеличивается к концу охоты и началу диэструса. Период наивысшей активности матки, по мнению автора, считается оптимальным для осеменения, потому что в этот период матка способна более энергично проталкивать семя к яйцеводам [4].

### 1.4.3 Видовые особенности эмбриогенеза

Процесс оплодотворения завершается образованием зиготы, которая в течение последующих 5,5-6 дней продвигается по яйцеводу, выделяя простагландин  $E_2$  ( $PGE_2$ ), который стимулирует сократительную деятельность стенки яйцевода и его ресничек. В этот период эмбрион проходит начальные стадии дробления от зиготы до морулы и ранней бластоцисты [18] (рисунок 10).



Рисунок 10 – Начальные стадии развития эмбриона

Еще одной особенностью физиологии размножения у кобыл является тот факт, что из яйцевода в матку проходят только оплодотворенные яйцеклетки, тогда как неоплодотворенные скапливаются в складках слизистой ампулы яйцевода, на границе с истмусом, и там постепенно дегенерируют [190, 230, 367].

Исследования J. A. Weber с соавторами (1991) показали, что эмбрион проскользывает через отверстие истмуса (papilla, «сосочек») в матку, выделяя простагландин E<sub>2</sub>, который локально расслабляет кольцевые пучки гладкой (круговой) мускулатуры яйцевода. Неоплодотворенные яйцеклетки не обладают такой секреторной способностью и остаются в яйцеводе [374].

Выходя в матку, эмбрион, примерно, через сутки (то есть, к 6,5-7 дню после овуляции) сбрасывает блестящую оболочку zona pellucida, находясь, как правило, на стадии расширенной бластоцисты, и остается покрытым гликопротеиновой капсулой, которая формируется на поздних стадиях оогенеза. Эта новая уникальная оболочка (специфичная для эмбрионов лошадей) окружает эмбрион во время миграции по матке, обеспечивает защиту и питание эмбриона, участвует в механизме материнского распознавания беременности и сохраняется вплоть до 21-22 дня развития эмбриона [167, 189, 239].

Стадии морулы и бластоцисты (6-9-дневные эмбрионы) представляют наибольший интерес для биотехнологов в связи с технологией трансплантации эмбрионов лошадей. В этот период эмбрионы доступны для нехирургического извлечения из матки донора и пересадки в матку реципиента, не требуют видоспецифических сред для манипулирования в условиях *in vitro*, подвергаются культивированию, охлаждению и криоконсервации (рисунок 11).

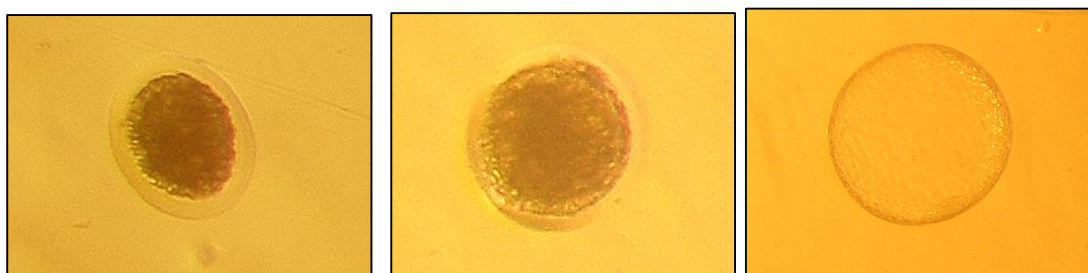


Рисунок 11 - Эмбрионы лошади в возрасте 6, 7 и 8 суток (фото автора)

После попадания в матку эмбрион, по мере роста и развития, начинает секретировать значительное количество эстрогенов, а также простагландинов E<sub>2</sub> и

$F_{2\alpha}$ , что вызывает локальные сокращения миометрия и способствует активному передвижению эмбриона по матке вплоть до 16-17 дня развития [167, 357].

В период максимальной активности (с 11 по 14 день развития) эмбрион может перемещаться из одного рога в другой по 10-20 раз в сутки [241]. Мобильная фаза в развитии эмбриона крайне важна для сохранения жеребости. Опыты с искусственным ограничением площади миграции эмбриона по матке на одну треть (хирургическое перевязывание рога) приводили к лизису желтого тела и последующей гибели эмбриона [295]. То есть движение эмбриона блокирует секрецию простагландина  $F_{2\alpha}$  маточными железами, благодаря чему желтое тело в яичнике не лизируется, а продолжает функционировать, и организм кобылы перестраивается на функцию вынашивания плода. Так срабатывает механизм материнского распознавания беременности у кобыл, однако, пока нет четкого представления о том, каким именно образом это происходит.

Примерно, к 17 дню жеребости эмбрион лошади достигает предельного для свободного передвижения по матке размера, и останавливается у основания одного из ее рогов. Эмбриональный пузырек теряет шарообразную форму и напоминает больше треугольную. Этому способствует повышение тонуса матки, которое к 18-20 дню начинает ощущаться ректально, как первый признак жеребости. Повышение тонуса связано с увеличением уровня эстрогенов, секретлируемых эмбрионом [168]. Примерно, с 10-дневного возраста эмбрион лошади становится доступным для ультразвукового наблюдения. Скорость роста (размер) и характерные УЗ-признаки последовательных стадий эмбриогенеза имеют определенные закономерности, что позволило составить ориентировочную шкалу для УЗ-диагностики нормального развития эмбриона.

Жеребость у кобыл продолжается 11 месяцев (норма 320-340 дней) и имеет специфические отличия от других видов млекопитающих. Первое из них – это крайне слабая связь плода с организмом матери. Началом укрепления этой связи считается вступление в фазу плацентации (приблизительно, 40-й день жеребости) [167]. Эта особенность, по всей видимости, имеет непосредственное отношение к высокому уровню ранних эмбриональных потерь у кобыл (до 25 % и выше),

который отмечают многие исследователи и практики [36, 298, 305, 377]. Однако, благодаря этой особенности, в коневодстве существует уникальная возможность нехирургического извлечения эмбрионов из матки кобыл с 6-го до 35-40-го дня жеребости без вреда для их здоровья. С использованием данной методики в лаборатории ВНИИ коневодства, в сотрудничестве с кафедрой эмбриологии МГУ им. М. В. Ломоносова (д.б.н. М. Л. Семенова) и ЦНИЛ Рязанского медицинского университета (О. С. Куганова), аспирантом Ю. Л. Ошурковой, под руководством автора, были проведены фундаментальные исследования эмбриогенеза лошади в зародышевый период (с 8 по 36-й день), изучены последовательные стадии эмбрионального развития, сроки дифференцировки и формирования основных эмбриональных структур, составлены таблицы нормального развития эмбриона лошади в сравнении с другими видами животных и человека и выявлены сроки наступления критических этапов в зародышевый период эмбриогенеза [105] (приложение Б).

Отдельного внимания заслуживает тема многоплодной жеребости у кобыл или «двойневести», поскольку чаще всего она ограничивается у кобыл двумя плодами. Двойни – результат множественной овуляции, которая у кобыл может достигать до 40% от числа всех половых циклов [25, 243, 245, 268, 320, 377]. В чистокровной верховой породе и у тяжеловозных пород 16 % всех овуляций кончается зачатием двойни. Среди других пород лошадей эта пропорция ниже [268]. Исследованиями С. Г. Лебедева было установлено, что при скрещивании кобыл донской породы с жеребцами чистокровной верховой породы наблюдается рост числа полиовуляторных половых циклов у кобыл по мере увеличения их кровности [80, 280]. Очевидно, что в данном случае действует фактор генетической природы этого признака, то есть наследуемая склонность к множественной овуляции.

Двойневые беременности у кобыл – это в абсолютном большинстве случаев следствие оплодотворения 2 яйцеклеток при двойной овуляции. Рождение идентичных (однойяйцовых) близнецов у лошадей без вмешательства человека (биотехнология) не выявлено [80, 243, 245]. Если овуляции происходят с

интервалом менее 24 часа, то они именуются синхронными, более 24 часов – асинхронными. Соответственно, эмбрионы от синхронных овуляций будут иметь, приблизительно, одинаковый размер и равные шансы на выживаемость. При асинхронных овуляциях один эмбрион будет опережать другой в развитии и, вероятно, будет более жизнеспособным. Эмбрионы могут размещаться в одном роге матки (унилатерально) или в разных рогах (билатерально). Примерно, 70% двойневых беременностей являются унилатеральными, и лишь 1% из них заканчивается рождением нормального доношенного потомства. Из 30% билатеральных беременностей значительное большинство завершается рождением только одного нормального жеребенка, либо гибелью обоих плодов [246, 275].

Наблюдения показывают, что у кобыл потеря двойневой жеребости может происходить спонтанно в 75% случаев при фиксации в одном роге и в 15% случаев при фиксации в разных рогах матки [248]. Естественная редукция двойни происходит у кобыл, приблизительно, в 60% случаев [320], что указывает на существование мощных природных механизмов уничтожения двоен. Проявлением такой естественной защиты от нежелательного многоплодия у лошадей является практически единичные случаи рождения жизнеспособных двоен. Согласно результатам анализа, проведенного С. Г. Лебедевым и Н. А. Хохловой (2001), на 15642 беременности у племенных кобыл русской рысистой и чистокровной верховой пород пришлось 188 выжеребок двойнями, из которых зафиксировано лишь 8 случаев рождения жизнеспособных близнецов (0,05%). По мнению С. Г. Лебедева, двойневая жеребость кобыл является одной из форм патологии беременности неинфекционной этиологии [80]. Примечательно, что аналогичные данные за более ранний период (А. Г. Корольков, 1951) свидетельствуют о более высоком проценте выживаемости двоен - 0,2% (8252 кобылы - 266 двоен - 16 живых близнецов). Автор в своей статье ссылается также на еще более ранние сведения, приведенные А. Ю. Тарасевичем (1930) – 0,2-0,3% рождения жизнеспособных двоен - и делает вывод о необходимости разработки методики воспитания двоен для получения более 100 жеребят от 100 кобыл [71].

Х. И. Животков, согласно своим многочисленным наблюдениям, утверждал, что аборт при двойневой жеребости у кобыл чаще всего происходит по причине недостаточного объема брюшной полости. Поэтому при рационе, состоящем из большого количества грубых кормов, у кобыл возникает очень большое внутрибрюшное давление, тормозящее обмен веществ и препятствующее росту и развитию двоен. То же, по его мнению, касается молодых, слабо упитанных и малоутробистых кобыл [47]. Это объяснение было, по сути, близким, но не точным. Понятно, что для полноценного развития требуется максимальная обеспеченность плода питанием на протяжении всего периода жеребости. Однако было установлено, что общая площадь поверхности плаценты двойневых плодов лишь незначительно превышает таковую у единцов [268]. Отсюда вытекает важность фактора площади плаценты, которая физиологически рассчитана у лошадей на полноценное вынашивание одного плода. Доказательством этого тезиса послужили опыты Ричарда Аллена с коллегами по исследованию плотности и протяженности контакта плодной и материнской части плаценты новорожденных жеребят, полученных методом «реципрокных» пересадок эмбрионов между крупными породами и пони [375]. Было убедительно показано, что приплод, сохраняя тип генетических родителей, уклоняется по калибру в сторону суррогатной матери. Этот фактор следует учитывать при формировании пар донор-реципиент при эмбриотрансплантации.

Плацента у лошадей становится полноценным источником прогестерона лишь с 4-5 месяца жеребости. Это доказывают опыты по овариоэктомии жеребых кобыл, у которых жеребость в отсутствие яичников сохранялась лишь после 100-150-го дня [244]. Гормонального резерва первичного желтого тела для поддержки жеребости на столь долгий срок не хватает. Для восполнения дефицита «гормона беременности» - прогестерона - в этот период у представителей семейства equidae (лошадиные) выработался уникальный механизм формирования дополнительных (акцессорных или вторичных) желтых тел в яичниках, которые становятся источником прогестерона на данном этапе. Обеспечивают этот механизм временные структуры, формирующиеся в матке кобыл с 35-го дня

жеребости, которые получили название «эндометральные чаши». Их назначение – выработка гормона хорионического гонадотропина, который на местном уровне или через гипофиз (либо совместно) стимулирует созревание и овуляцию (или лютеинизацию) фолликулов в яичниках жеребых кобыл [168]. Гормон был открыт в 1924 году Н. Н. Cole, G. H. Hart [211], однако его происхождение ошибочно приписывалось передней доле гипофиза. Позднее было показано, что источником гормона являются специфические выросты на слизистой матки у кобыл, функционирующие на 2-4 месяце жеребости (рисунок 12 а).

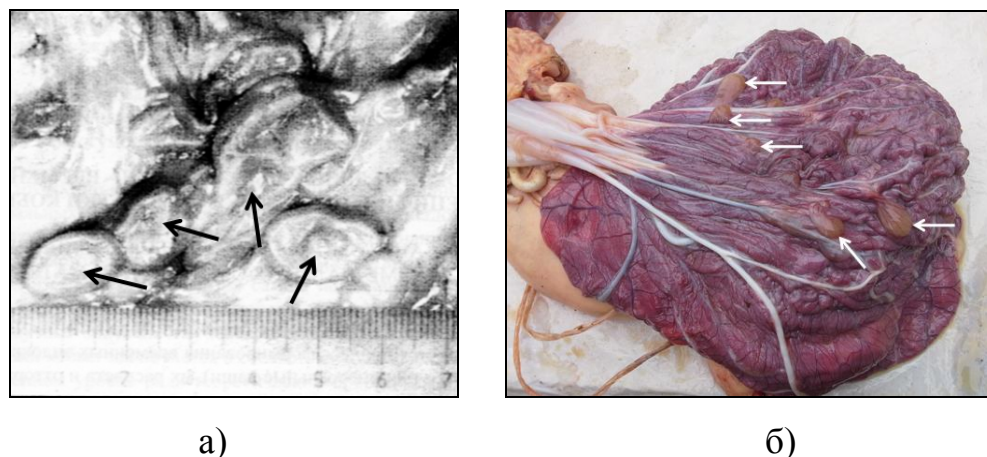


Рисунок 12 – Эндометральные чаши в матке кобылы: а) 1,5-2 месяца жеребости - фаза активной секреции ЛХГ [153], б) 4,5 месяца жеребости - фаза отторжения (фото автора)

Лошадиный хорионический гонадотропин (лХГ) представляет собой гормональный комплекс из двух гормонов ФСГ и ЛГ, соотношение которых в течение жеребости меняется. По данным профессора Ю. Д. Клинского, пропорция ФСГ/ЛГ в начальные сроки жеребости составляет 3,42:1- 3,68:1, а после 80-го дня - 6,63:1 [68]. Специфической особенностью этого гормона является его фолликулостимулирующее действие на самок других видов животных, тогда как на самих кобыл он оказывает лютеинизирующий эффект [355]. Кроме того, в отличие от человеческого хорионического гонадотропина (ХГЧ), молекула лХГ имеет гораздо большую молекулярную массу (36700 кДа против 72000 60-80 кДа) и не проходит через почечный фильтр, благодаря чему долгое время циркулирует в крови [87]. Эта особенность позволила еще с 70-х годов прошлого века развернуть промышленное производство препарата СЖК (сыворотка жеребой



кобылы) из крови кобыл-биопродуцентов [157]. На Российском рынке сегодня наиболее известен препарат «фоллимаг» (производство ЗАО «Мосагроген»).

Присутствие ЛХГ в крови кобыл начинает обнаруживаться, приблизительно, с 40-дня жеребости, к 60-80-му дню концентрация его достигает пика, после чего начинает снижаться, и ЛХГ полностью исчезает в крови, в среднем, к 100-120-му дню [68, 174, 153]. Эту динамику хорошо изучили отечественные специалисты еще в 30-х годах прошлого века и рекомендовали использовать показатель концентрации ЛХГ (пролан) крови в качестве индикатора беременности у кобыл на производстве [52, 53, 93, 114, 158]. Снижение уровня ЛХГ является отражением процесса постепенной регрессии, а затем отторжения и уничтожения эндометральных чаш лейкоцитами (рисунок 12 б).

Говоря об этом уникальном механизме, следует подчеркнуть, что его запуск в организме кобылы датируется, по общему мнению специалистов, 35-м днем жеребости. Именно на данном сроке начинается миграция клеток из хорионического пояса эмбриона (приложение В) в прилегающую к нему слизистую матки (эндометрий), где в последующем и формируются эти временные структуры [173]. Весь цикл секреторной активности эндометральных чаш, продуцирующих ЛХГ, имеет у кобыл индивидуальную продолжительность и может варьировать в пределах 2-3,5 месяцев.

Важным аспектом этого процесса, имеющим непосредственное отношение к производственному репродуктивному циклу в коневодстве, является тот факт, что если механизм формирования эндометральных чаш в матке кобылы стартовал, то он уже не может быть прерван естественным или искусственным путем. Даже в случае потери плода на данном этапе кобыла в охоту не выйдет до тех пор, пока не завершится полный цикл работы эндометральных чаш [165, 173]. Интересны в этой связи данные зарубежных исследователей, недавно обнаруживших феномен персистентных или «задержанных» (retained) эндометральных чаш, которые сохраняются в матке кобылы на протяжении месяцев и даже более года. Они могут долго проявлять эндокринную активность и становятся причиной прохолоста кобылы, нерегулярных циклов и лютеинизации

фолликулов. Подтвердить их наличие в матке можно путем гормонального анализа (ЛХГ), с помощью эндоскопии или УЗИ (в стадии минерализации чаш) [326, 330]. Следует уточнить, что в работах отечественных ученых и практиков феномен задержки прихода кобыл в охоту после аборт, произошедших в период функционирования эндометральных чаш, не описан.

В течение всего цикла работы эндометральных чаш в яичниках кобыл наблюдается несколько фолликулярных волн, при этом первая волна, как правило, заканчивается полноценной овуляцией, а последующие завершаются лютеинизацией, то есть, образованием желтых тел без овуляции. Общая схема гормональной регуляции жеребости представлена на рисунке 13.

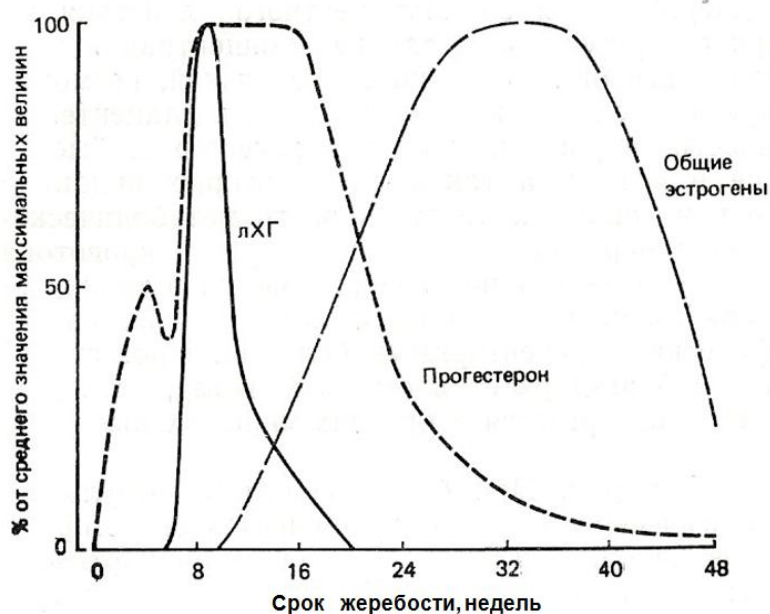


Рисунок 13 - Схема гормональной регуляции жеребости [60]

С полноценным вступлением плаценты в роль главного источника прогестерона жеребость у кобыл переходит в относительно более стабильную фазу в плане угрозы для ее сохранения. Кроме того, функция человека, как активного участника репродуктивного процесса, переключается на функцию внимательного, но пассивного наблюдения за процессом плодоношения. Конечно, никто не может исключить аборт травматического, бактериального и вирусного

происхождения и других патологий беременности. Эти вопросам в коневодстве всегда уделялось самое пристальное внимание [31, 36, 37, 137, 159, 281 С. 253-263, 367, 377]. Причин эмбриональных потерь огромное множество. Наиболее полная их характеристика дана в фундаментальном труде Н. А. Мартыненко [86].

### 1.5 Управление репродуктивным процессом с помощью гормонов

К числу искусственных методов размножения лошадей следует также отнести гормональную обработку кобыл, которая создает основу и в большой степени способствует успеху применения биотехнологий на практике.

Фундаментальные исследования функционирования эндокринной системы у кобыл привели к открытию, изучению и, наконец, производству натуральных и синтетических гормонов с целью направленного воздействия на определенные звенья гормональной оси «гипоталамус – гипофиз – гонады», а также на определенные клетки-мишени, задействованные в процессе размножения.

В коневодстве изучением гормональной регуляции и воздействия гормонов на половую систему кобыл в нашей стране занимались К. И. Барулин (1932, 1935, 1946), Б. М. Завадовский (1934,1937), Л. М. Мирская и В. В. Петропавловский (1937,1938), Ю. Д. Клинский (1967,1969, 1984), А. В. Шилова (1969), В. П. Гончаров (1971), С. Г. Лебедев (1977), А. И. Алиев (1980), В. В. Андрюшин, Е. Л. Фомина, М. Ю. Алексеев (1984), Г. А. Филиппова (1998), В. Г. Черных (2004), Р. О. Логинов (2006) и другие отечественные исследователи. Внимание было уделено механизмам выработки эстрогенов, лошадиного хорионического гонадотропина [11, 68, 79, 83, 153], изучению уровня стероидных гормонов (прогестерона, эстрадиола, кортизола, кортикостерона, тестостерона) в крови жеребых и холостых кобыл [22, 146, 155], влиянию гормональных препаратов (сурфагон, человеческий хорионических гонадотропин (пролан), эстрофан, прогестерон, простагландина) на половую функцию кобыл [2, 12, 29, 30, 68, 79, 83, 93, 114, 143, 146, 153, 155, 162]. За рубежом эти вопросы изучали Н. Н Cole, G. H. Hart, D. W. Holtan, , С. H. G. Irwin, S. L. Alexander, O. J. Ginther, M. G. Evans,

R.W. Allen, R. L. Pashen, R. H. Douglas и др. [161, 169, 211, 235, 242, 260, 264, 265, 299, 323]. В результате существенно продвинулись фундаментальные представления об эндокринной регуляции и механизмах работы отдельных звеньев гормональной оси у кобыл. Предложены гормональные препараты для повышения овариальной активности в весенний переходный период (сурфагон и другие аналоги гонадотропин релизинг гормона - ГнРГ), лизирования желтого тела (простагландин  $F_{2\alpha}$ ), стимуляции овуляции (ХГЧ, аналоги ГнРГ) и суперовуляции (рекомбинантный ФСГ), поддержки жеребости (прогестерон), синхронизации половых циклов. За рубежом предложены схемы дополнительного освещения конюшен и паaddockов (удлинение светового дня) для ускорения прихода в охоту кобыл после зимнего анэструса [193, 292, 310, 344]. Инъекционные формы некоторых препаратов были модифицированы в оральную (например, Regumate – препарат прогестерона) или в форму импланта (Deslorelin – препарат ГнРГ), а также были разработаны инъекционные препараты пролонгированного действия [197, 198, 215, 267, 269, 373]. Однако, эти гормональные средства, как и большинство остальных импортных препаратов, очень дорогие и к тому же не допущены к использованию на территории России. Поэтому для отечественных специалистов доступны гормональные препараты Российского производства (прогестерон, магэстрофан, ХГЧ, сурфагон, окситоцин), которые вполне эффективны и не уступают зарубежным аналогам. Однако наибольшую проблему составляет вопрос грамотного применения этих препаратов, поскольку в отсутствие четкого представления о системе эндокринной регуляции репродуктивной функции у кобыл, их использование может не дать ожидаемого эффекта и нанести существенный вред здоровью животного.

Сегодня, как показывает опыт, некоторые параметры гормонального воздействия на кобыл могут быть пересмотрены или уточнены в свете новых знаний о биологии размножения лошадей. В частности, было установлено, что экзогенному воздействию простагландина  $F_{2\alpha}$  поддается только зрелое желтое тело, то есть не ранее 5-го дня после овуляции [164]. Это открытие, вероятно,

объясняет отсутствие реакции у некоторых кобыл на введение препарата в опытах Е.Л.Фоминой (1984), в которых этот момент не отслеживался [146]. Было также показано, что фолликулы у кобыл приобретают потенцию дойти до овуляции под воздействием эндогенных или экзогенных факторов лишь в том случае, если они достигли величины более 30 мм [188, 244], поэтому ветеринарный препарат хорулон (импортный аналог ХГЧ, производство Intervet, Нидерланды) рекомендован к применению на кобылах с фолликулом не менее 35 мм [193 С. 24, 292 С. 150, 325 С. 304]. Кроме того, вопрос о дозировке данного препарата решается в очень широких пределах (1500-3000 МЕ на 1 инъекцию), как указано в инструкции к применению хорулона на кобылах. С. Г.Лебедев исследовал результат воздействия препарата ХГЧ в дозировках 1500, 3000, 4500 и 6000 МЕ на кобылах с фолликулом начальной стадии развития (Ф2), то есть при первых признаках его флюктуации (ректально). Наиболее стабильный результат – овуляцию в интервале 36-48 часов после инъекции - он получил в группе кобыл, обработанных ХГЧ в дозе 3000 МЕ [79]. Следует заметить, что в настоящее время цена на этот препарат существенно выросла и лишнее его расходование мало оправдано, если можно обойтись меньшими дозами.

На сегодня известны общие закономерности гормональной регуляции полового цикла и беременности у кобыл, динамика и средний уровень некоторых половых гормонов [220, 229, 244]. Например, уровень прогестерона, необходимый для поддержания беременности, не должен быть ниже 2-4 нг/мл [291, 220 С.72]. Если концентрация ПГ в крови жеребой кобылы опускается ниже порогового значения, то это является основанием для назначения поддерживающей прогестиновой терапии, применяемой длительным курсом, вплоть до полного формирования плаценты (до 100-120 дня жеребости). Причем далеко не все прогестиновые препараты могут использоваться с этой целью. Исследования А. McKinnon с соавторами показали, что из пяти препаратов лишь два (прогестерон в масле и альтреногест) удовлетворяют поставленным требованиям [301]. Однако существует альтернативная позиция в отношении прогестиновой поддержки ранней жеребости. Так, С. Н. Irvine с соавторами считают маловероятной связь

между 10% эмбриональных потерь у 179 кобыл между 17 и 42 днем жеребости и недостаточным уровнем прогестерона, поскольку его уровень в течение всего периода наблюдений опустился лишь у одной кобылы перед гибелью плода [263]. Тем не менее, этот метод не теряет своей популярности и наглядно продемонстрирован убедительными экспериментами по овариоэктомии жеребых кобыл на сроках 25-45 дней, 55-60 дней, 70-90 дней, 140 и 210 дней. Лишь кобылы из двух последних групп доносили плоды до выжеребки, тогда как в остальных группах после удаления яичников быстро следовали аборты. В тех же экспериментах ежедневные инъекции прогестерона (100 мг) овариоэктомированным с 25-го дня кобылам сохраняли жеребость вплоть до окончания обработки [259].

В целом можно заключить, что сегодня в коннозаводстве имеется реальная возможность регулировать и синхронизировать половую цикличность кобыл при организации естественной случки и в программах по искусственному осеменению и трансплантации эмбрионов, а также корректировать в определенных случаях недостаточную или избыточную эндокринную активность некоторых органов и желез.

Использование современных подходов к размножению лошадей в коневодческой практике, включая и естественные, и искусственные методы, должно опираться на серьезную диагностическую базу, возможности которой сегодня позволяют достигать очень высоких результатов в воспроизводстве лошадей.

## 1.6 Методы оценки воспроизводительных качеств кобыл

Эффективное воспроизводство племенного поголовья в коневодческих хозяйствах сегодня возможно только на основе грамотного и квалифицированного подхода на базе фундаментальных знаний, современных методов диагностики и все более совершенных технических средств. Подготовка кобыл к случному сезону, покупка, продажа и прием маток на случку в хозяйство,

отбор молодых кобыл в производящий состав, проверка кобыл после выжеребки и прохолоста на готовность к зачатию и вынашиванию плода, а также выявление причин субфертильности и бесплодия – все эти мероприятия необходимо связаны с оценкой воспроизводительных качеств кобыл.

Важность проведения общего санитарно-ветеринарного осмотра и вакцинации кобыл за 1,5-2 месяца до начала случного сезона и полной гинекологической экспертизы кобыл с признаками половых заболеваний или не приходящих в охоту более месяца отмечал еще Х. И. Животков в первой половине прошлого века. В комплекс мероприятий он рекомендовал включать детально разработанные методы ректального и вагинального исследования в сочетании с лабораторными методами диагностики половых инфекций [41, 43, 47, 48,]. Эти вопросы подробно изучали и давали ценные рекомендации производству К. И. Барулин [10], П. А. Волосков [23, 28], В. М. Штамлер [158], Н. А. Флегматов [144], А. П. Студенцов [138], В. П. Гончаров [31] и другие авторы. Существование фактора наследования репродуктивных качеств у кобыл предполагал еще в 1935 году профессор К. И. Барулин. В приведенном им примере у шести поколений маток орловский рысыстой породы были сходные результаты племенного использования, то есть количество полученных от них жеребят практически соответствовало числу плодовых лет (коэффициент  $\sim 1$ ). В то время как у других кобыл этот показатель был значительно ниже единицы. Таких кобыл автор рекомендовал выводить из племенного состава, либо «освежать их кровь» подбором высокоплодных жеребцов-производителей [10].

За рубежом существует система оценки репродуктивного здоровья кобыл (breeding soundness examination), которая опирается на диагностическую базу в виде многочисленных лабораторий со специализацией по лошадям [293, 192, 281]. В настоящее время в России комплексные исследования в сфере воспроизводства не проводятся, хотя ветеринарные врачи пользуются услугами диагностических лабораторий в ряде случаев (анализ крови, бактериологический посев) для определения причины абортов и генитальных заболеваний.

Современные возможности оценки репродуктивной системы кобыл существенно расширены и могут включать целый комплекс процедур, начиная с осмотра наружных половых органов и заканчивая специальными лабораторными исследованиями. Помимо визуальной оценки на предмет выделений, истечений из вульвы, наличия шрамов и разрывов половых губ, по мнению зарубежных специалистов, существует возможность по конфигурации наружных половых органов прогнозировать дальнейшую плодовую карьеру кобылы [204, 321]. В половом тракте кобыл были выделены три защитных барьера: на уровне вульвы, вестибуло-вагинального перехода (между преддверием и влагалищем) и шейки матки (рисунок 14). Нарушение работы этих барьеров приводит к развитию пневмовагины и утеровагины, то есть засасыванию воздуха во влагалище и матку кобылы, и контаминации матки микроорганизмами.

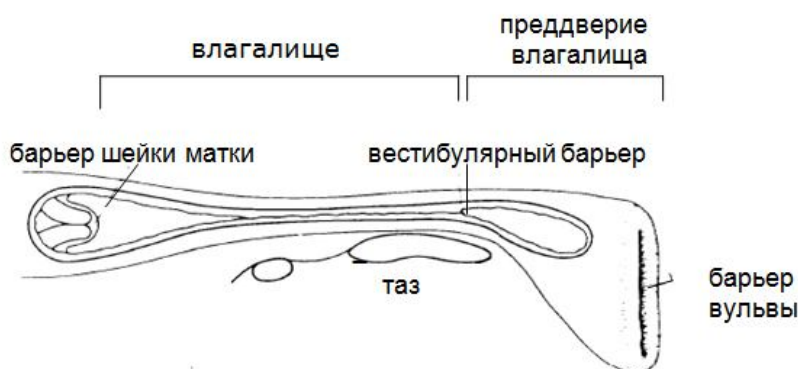
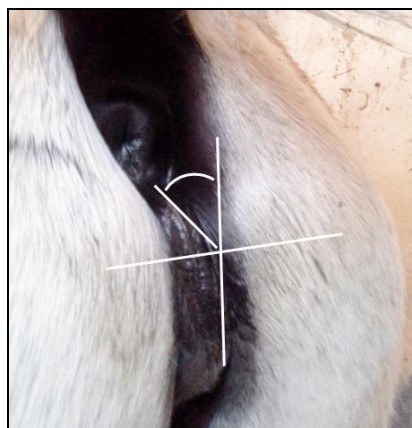


Рисунок 14 – Защитные барьеры генитального тракта кобылы

Французский ветеринар Е. А. Caslick первым обратил внимание на корреляцию между строением наружных половых органов кобылы и предрасположенностью к генитальным заболеваниям, а следовательно, уровнем ее реальной и потенциальной плодовитости [204]. Согласно выдвинутой теории, угол между линией, соединяющей вульву и анус, не должен отклоняться от вертикали более чем на  $10^\circ$ . А вульва должна располагаться на 30% выше и на 70% ниже линии, соединяющей седалищные бугры (рисунок 15 а). Отклонение от нормы чревато «западением» ануса и наклоном верхней части вульвы в краниальном направлении, а, следовательно, потенциальной контаминацией



матки, в том числе фекальными массами. Не отрицается, однако, тенденция повышения частоты встречаемости этого отклонения с возрастом у кобыл [338, 360]. Е. А. Caslick разработал специальную операцию - ушивание верхней части вульвы – для кобыл с западением ануса (рисунок 15 б). Она имеет модификации от нескольких стежков («случной шов») до ушивания половины вульвы.



а)



б)

Рисунок 15 – а) краниальный наклон вульвы и западение ануса у кобылы (фото автора); б) операция Каслика, отмечена зашитая часть вульвы (фото Е. В. Солодовой)

Предложены даже специальные степлеры для накладывания металлических скоб, вместо швов, на верхнюю часть вульвы [216]. В настоящее время за рубежом эта операция настолько распространена, что считается абсолютно рутинным мероприятием. Однако она имеет неприятные последствия, поскольку перед родами и случкой швы и сросшуюся слизистую приходится разрезать, во избежание разрыва вульвы кобылы и травмирования пениса жеребца, а после случки снова зашивать. Следует с сожалением констатировать, что отечественные коневладельцы слабо информированы об этой операции и ее причинах. Отсюда наплыв импортных кобыл в России с зашитыми вульвами и, соответственно масса проблем с ними в последующей работе в воспроизводстве.

С помощью метода ректальной пальпации внутренних половых органов кобылы опытный специалист может определить состояние матки и яичников, фазу цикла или срок беременности, тонус матки, а также некоторые виды патологий. Ректальный метод диагностики ранней жеребости был разработан в России профессором А. Ю. Тарасевичем [140] и внедрен в практику в 1930-х

годах Х.И. Животковым, который на базе своего колоссального опыта работы в военных конных заводах, организованных на Северном Кавказе в 1921 году по инициативе К. Е. Ворошилова и С. М. Буденного, расширил возможности метода, обобщил свои наблюдения и составил ценное пособие для специалистов [47]. Внесли также вклад в эту область знаний Н. А. Флегматов [144], В. К. Кедров [63,65], Г. В. Паршутин, П. Н. Скаткин [108]. В 1930-х годах в СССР была развернута активная пропаганда и обучение специалистов ректальному исследованию [106].

Сегодня в дополнение к ректальному методу разработана ультразвуковая диагностика репродуктивного тракта кобыл. Значение этой техники для воспроизводства лошадей трудно переоценить. Впервые УЗ-сканер на кобылах применил французский исследователь Е. Palmer (1980) [319]. Модификация ультразвукового датчика (нижний обзор) позволила наблюдать и оценивать состояние располагающихся под прямой кишкой половых органов (матки и яичников) в реальном времени. Это событие произвело революционный переворот в ветеринарной медицине и коневодческой практике. Как исследователи, так и специалисты в хозяйствах получили возможность контролировать половой цикл и беременность, своевременно выявлять патологические случаи, выбирать наиболее точный момент для случки/осеменения кобыл. В свою очередь, применение УЗИ в практике разведения лошадей позволило существенно повысить результативность работы специалистов и эффективность племенной работы в хозяйствах [170, 171, 191, 305, 312].

В России ветеринарные ультразвуковые сканеры появились позже. Первые исследования матки и яичников кобыл ультразвуковым методом были начаты во ВНИИ коневодства в 1990-х годах (С. Г. Лебедев, Н. В. Сидорова, Е. В. Котельникова) на отечественном приборе СКАД-9210М (производство НПП «ТеМП», г. Нижний Новгород), но не были доведены до внедрения в производство в связи с экономическими трудностями этого периода в России [72, 78]. Сегодня ситуация меняется к лучшему, уже многие хозяйства в стране

приобрели УЗ-сканеры, но отечественные специалисты остро нуждаются в практическом руководстве по УЗ-диагностике репродуктивной системы кобыл.

Вагиноскопия или исследование преддверия, влагалища и шейки матки с помощью влагалищного зеркала – давний и эффективный диагностический метод в гинекологии кобыл [47, 90, 103, 108, 138]. В СССР ему придавали очень большое значение в качестве метода определения фазы полового цикла и готовности кобылы к случке/осеменению, а также для определения жеребости по состоянию шейки, цвету слизистой, характеристикам выделяемых секретов [15, 25, 38, 54, 150]. Ввиду недостатка в специалистах, владеющих методом ректальной диагностики, вагиноскопию с успехом применяли на производстве при проверке кобыл на жеребость. Диагноз ставили по степени легкости/трудности введения (в сомкнутом виде) влагалищного зеркала в половой тракт кобылы и характеру слизи, извлекаемой на конце зеркала. У кобыл, по мере прогрессирования жеребости, слизь густела, и зеркало можно было продвинуть во влагалище с большим сопротивлением. Специалисты сообщали, что таким способом можно быстро (2-2,5 минуты на кобылу) определять жеребость на сроках один, два и более четырех месяцев с точностью до 100% [54].

В России традиционно использовались металлические, поддающиеся стерилизации зеркала, изготовленные специально для кобыл. Зарубежные аналоги даже в среде своих специалистов уступают предпочтение одноразовым «зеркалам», представляющим собою картонные трубочки диаметром 5-6 см, покрытые изнутри и снаружи блестящей фольгой (Minitube, Германия) или без нее (IMV, Франция).

Помимо определения фаз полового цикла и жеребости, вагиноскопическая процедура позволяет выявить источник происхождения вагинальных истечений, наличие физических аномалий и повреждений влагалища и шейки, спайки, варикоzy, присутствие мочи и фекального материала при разрывах промежности и ректовагинальных свищах и другие аномалии.

Процесс введения зеркала во влагалище позволяет также судить о работе второго защитного барьера полового тракта кобыл по звуку всасываемого воздуха при прохождении вестибуло-вагинального соединения (место сужения и прикрепления девственной плевы), которое у кобылы в норме преодолевается с некоторым трудом. Поэтому беспрепятственное и беззвучное продвижение зеркала через этот участок свидетельствует о некомпетентности второго защитного барьера [31, 47, 108, 192, 219, 281 С. 135-138, 379].

Однако, вагиноскопия, не позволяет оценить состояние недоступных для визуального осмотра участков шейки матки, поэтому важным дополнением к ней является мануальное исследование, то есть непосредственное введение руки во влагалище. Работу самого внутреннего защитного барьера – шейки матки – проверяют, вводя большой палец в канал шейки и прощупывая по окружности указательным пальцем всю ее стенку. Следствиями серьезных повреждений шейки (чаще всего, в результате трудных родов) являются разрывы, рубцы, спайки, кисты на слизистой шейки и, соответственно, прохолост кобыл после неоднократных случек, хронический эндометрит и потери жеребости [47, 48, 108, 216 С. 138-139, 347, 379].

Помимо получения важной информации, вагинальное исследование можно совмещать с забором материала из разных участков полового тракта для цитологического и бактериологического анализа.

Цитологический метод является одним из наиболее важных и, одновременно, доступных аспектов репродуктивной оценки. Информация, полученная с его помощью, содержит ценные сведения для определения функционального состояния репродуктивной системы кобыл, а также может свидетельствовать о наличии генитальных инфекций.

Первые опыты цитологического исследования влагалищной слизи кобыл относятся к 20-м годам прошлого века (метод Бенеша-Куросавы), согласно результатам которых, можно по комплексу макро- и микроскопических показателей вагинальной слизи диагностировать жеребость на ранних сроках у кобыл [124]. Индикаторами при жеребости свыше 30-го дня в мазке являются

слизневые шары и продукты распада клеток мерцательного эпителия [67]. Были выявлены характерные цитологические картинки в мазках для различных стадий полового цикла [25]. Вместе с тем, отмечается невысокая точность метода и возможность ошибки [24]. Сотрудники института коневодства И. Т. Растяпин и Н. М. Рязанцева в 1936 году исследовали влагалищные мазки кобыл с острым и хроническим вагинитом и эндометритом. В обоих случаях было отмечено наличие в мазках большого количества дегенерированных нейтрофилов и клеток плоского эпителия [10, 124].

Дальнейшие исследования в области цитологии секретов полового тракта кобыл привели к развитию техники забора биоматериала (мазки, смывы), совершенствованию методов окрашивания мазков и дифференциальной диагностики их клеточного состава [218]. Среди красителей в настоящее время в гинекологии кобыл наиболее популярны гематоксилин-эозин, Май-Грюнвальда (смесь метиленового синего, эозина и азура), Diff-Quik (модификация Райта-Гимза).

Из литературных источников следует, что по форме эпителиальных клеток и положению ядер в них можно определить фазу полового цикла или беременность у кобыл [25, 150], а присутствие нейтрофилов в мазке является подтверждением воспалительного процесса [149, 218, 281, 308, 331].

Во ВНИИ коневодства (Л. А. Храброва, 1995) были разработаны и изданы методические рекомендации по цитологической диагностике эндометритов у кобыл и получен патент, где также в качестве индикатора воспалительного процесса в половом тракте кобыл выступает количество нейтрофилов в цитологических образцах мазков и смывов [135].

Цитологический метод имеет несомненные преимущества перед другими методами: он безопасен, процедура отбора образцов слизи безболезненная, легко выполняемая, при необходимости ее можно повторить (наблюдения процессов в динамике) и, что немаловажно, дешевая (при самостоятельном исполнении). В частности, в медицине данную процедуру считают «лидером» в диагностике заболеваний репродуктивной системы женского организма [151]. Однако,

несмотря на давнюю историю развития, цитологический метод диагностики состояния полового тракта кобыл в современных коневодческих хозяйствах России практически не применяется.

Возможность определения с помощью цитологического анализа признаков воспаления генитального тракта кобыл, особенно при наличии выделений и истечений из вульвы, нуждается в уточнении вида истинных возбудителей инфекции. С этой целью образцы слизи или смывы с поверхности эндометрия отправляют в бактериологическую лабораторию, где можно выяснить состав бактериальной микрофлоры и устойчивость ее к различным антибиотикам. На основе результатов анализа можно подобрать правильное лечение для кобылы. Вопросам изучения причин контаминации матки и диагностики генитальных инфекций посвящено большое количество работ [31, 137, 194, 313, 336]. В частности, Х. И. Животков отмечал, что у кобыл при микроскопическом и бактериологическом исследованиях чаще всего обнаруживается «гноеродная кокковая (стафило-стрепто-диплококки) микрофлора и редких случаях - возбудители паратифа (сальмонелла)» [47]. По данным зарубежных исследователей [275 С. 151, 185, 201, 297 стр. 1979, 335], среди преобладающих бактерий, извлекаемых из матки кобыл (в том числе в первую после выжеребки охоту и после случки), чаще всего встречаются следующие микроорганизмы: *Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Taylorella equigenitalis*, а также грибы (*Candida spp.*, *Aspergillus spp.*).

С учетом результатов бактериологического анализа предложены различные схемы лечения генитальных инфекций кобыл, основанные на промывании матки и местном или системном введении препаратов, к которым чувствительны возбудители заболевания.

В более серьезных и спорных случаях (субфертильность, бесплодие) необходимо углубленное исследование репродуктивного тракта кобыл, в частности, эндоскопия, гистологическое исследование, гормональный и хромосомный анализы, для проведения которых требуются квалифицированные

исполнители, дорогостоящая аппаратура и специализированная диагностическая база. С сожалением нужно признать, что в России на сегодня возможности для такой работы практически отсутствуют, за исключением единичных клиник, располагающих эндоскопами.

Полная репродуктивная оценка бывает необходима в редких и сложных случаях. Что касается методов ректальной, вагиноскопической, ультразвуковой, цитологической и бактериологической диагностики генитального тракта кобыл, то они вполне и под силу зоотехническим специалистам и доступны в производственных условиях. Для этого необходимы владение технической стороной вопроса и налаженная система оперативной отправки биоматериала в ближайшую, но надежную ветеринарную или медицинскую бактериологическую лабораторию. Поэтому даже в небольших коневодческих хозяйствах в нашей стране сегодня имеются средства и возможности для качественной оценки репродуктивной системы кобыл.

**Резюме.** Суммируя вышеизложенное, можно заключить, что за последние полвека технологии в сфере воспроизводства поголовья в отечественном и мировом коннозаводстве претерпели значительную модернизацию. На основе новых знаний в области биологии репродукции лошадей и, благодаря возможностям современной диагностической аппаратуры (УЗ-сканеры, эндоскопы, программные замораживатели и др.), были разработаны и усовершенствованы методы управления половой цикличностью у кобыл, поддержки жеребости, способы профилактики и лечения гинекологических заболеваний, диагностики наследственных патологий и т.д. Усовершенствованы и созданы вновь искусственные репродуктивные методы, искусственное осеменение спермой различных кондиций и трансплантация эмбрионов, результативность которых в настоящее время может достигать уровня естественной случки. Разработаны технологии хранения и транспортировки спермы, ооцитов, эмбрионов, а также технологические линии для оценки качества, замораживания и разделения по полу семени жеребцов. На пороге

внедрения в практику разрабатываемые биотехнологические репродуктивные методы (IVF-ЭКО, ICSI, GIFT и др.), технологии оценки, культивирования и модификации исходного генетического материала. Все эти достижения позволяют значительно расширить возможности и продвинуть эффективность работы в области воспроизводства лошадей, ускорить селекционный прогресс в коневодстве.

Вместе с тем, подводя итог сравнительному анализу состояния воспроизводства в российском и зарубежном коннозаводстве, приходится констатировать, что в отличие от зарубежного опыта модернизации репродуктивных технологий в производственном цикле размножения лошадей, отечественное коннозаводство не только затормозилось в своем развитии, но даже в некоторой степени растеряло ранее наработанные приемы и технологии управления репродукционным процессом. За редким исключением, динамика показателей воспроизводства со времени советского периода имеет отрицательные тренды, в отличие от выраженных положительных тенденций, которые характеризуют современное зарубежное коннозаводство в последние десятилетия. Дальнейшее улучшение племенного использования высокоценного поголовья лошадей в России предполагает острую необходимость разработки эффективной системы воспроизводства на основе углубленного исследования физиологических и биотехнологических механизмов формирования оптимальных условий для реализации генетически обусловленного уровня плодовитости животных.



## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в течение 1986-1990 годов и 2001-2016 годов на базе экспериментальной конюшни ВНИИ коневодства, в конных заводах Рязанской («Старожиловский», «Рязанский»), Тульской («Прилепский»), Брянской («Локотской»), Нижегородской («Перевозский»), Ярославской («Воронцовский») областей и в многочисленных малых коневодческих хозяйствах. Этапы и сроки проведения работы по основным направлениям исследований представлены ниже:

- |   |                                 |
|---|---------------------------------|
| 1.Выявление видовых особенностей репродуктивной системы кобыл методами ректальной,  | 1983-1992 гг.,<br>1999-2016 гг. |
| вагинальной,  | 2002-2016 гг.                   |
| цитологической,   | 2006-2015 гг.                   |
| бактериологической  | 2007-2016 гг.                   |
| диагностики   |                                 |
| 2.Определение основных ультразвуковых признаков матки и яичников кобыл в различных стадиях полового цикла и жеребости в норме и патологии | 2009-2016 гг.                   |
| 3.Анализ влияния различных факторов на результативность случки и осеменения кобыл   | 2007-2016 гг.                   |
| 4.Определение эффективности действия гормональных препаратов (PGF <sub>2α</sub> , ХГЧ, ПГ) на репродуктивную систему кобыл                | 2001-2016 гг.                   |
| 5. Эксперименты по трансплантации эмбрионов   | 1986-1990 гг.,                  |

лошадей	2001-2016 гг.
6.Определение качества эмбрионов лошадей методами дифференциального окрашивания	1987-1990 гг., 2001-2014 гг.
7.Разработка способа культивирования эмбрионов лошадей	1986-1990 гг.
8.Разработка способа охлаждения эмбрионов лошадей	2012-2016 гг.
9.Разработка способа и сред для криоконсервации эмбрионов лошадей	2004-2014 гг.
10.Анализ состояния воспроизводства в отечественном и зарубежном коннозаводстве в аспекте современных биотехнологических и диагностических методов	2015-2017 гг.
11. Изучение механизма гормональной поддержки ранней жеребости у кобыл	2014-2016 гг.

Материалом для исследований состояния воспроизводства конского поголовья в мире и в России послужили данные, собранные и обобщенные автором из различных источников, включая бюллетени Росстата и ФАО (FAO), ведомости учета случки и выжеребки кобыл и другие документы первичного племенного учета в конных заводах страны, статистические материалы отдела селекции ФГБНУ «ВНИИ коневодства» по различным породам, а также зарубежные аналитические обзоры, статистические сводные отчеты и статьи, опубликованные в научных журналах практикующими иностранными специалистами.

Схема исследований представлена на рисунке 16.

Опытное поголовье было представлено кобылами ахалтекинской, арабской, орловской рысистой, русской рысистой, тракненской, ганноверской, вестфальской, буденновской, донской, русской верховой, башкирской, бельгийской, русской и советской тяжеловозных пород и помесных лошадей в возрасте от двух до двадцати лет. Все кобылы содержались на общем или улучшенном рационе и имели нормальную упитанность.



Рисунок 16 - Схема исследований

По каждой кобыле собирали возможно более подробную информацию о ее плодовой деятельности и половой цикличности в предыдущие годы.

Охоту у кобыл выявляли с помощью жеребца-пробника. Пробу проводили через день (понедельник, среда, пятница).

Осмотр кобылы начинали с наружных половых органов и слизистой преддверия влагалища, отмечая конфигурацию вульвы, шрамы, разрывы и повреждения промежности и вульвы, степень смыкания половых губ, а также цвет слизистой, состояние, цвет и консистенцию вагинальной слизи, наличие и характер выделений из половой щели.

Ректально (по Г. В. Паршутину и П. Н. Скаткину ) (приложение Г, Д) исследовали состояние шейки, матки, яичников на предмет определения фазы полового цикла или жеребости, а также признаков патологий репродуктивных органов.

Ультразвуковое исследование яичников и матки у кобыл проводили с помощью японского ультразвукового сканера марки Honda HS-2000 посредством ветеринарного трансректального линейного датчика HLV-375M на частоте 7,5 МГц. Полученные эхограммы сопоставляли с данными ректальной проверки и поведенческих признаков кобылы на момент каждой УЗ-экспертизы. Эхографические изображения анализировали и группировали в соответствии с половым статусом кобыл (жеребые и нежеребые), репродуктивной фазой года/цикла или сроком жеребости, а также по видам патологий. К категории нежеребых кобыл относили холостых, молодых (впервые в случке), выжеребившихся и абортировавших кобыл и определяли у них репродуктивную фазу в течение календарного года (анэструс, весенний переходный период, овуляторная фаза, осенний переходный период), а в овуляторной фазе выделяли стадию полового цикла (эструс и диэструс) и фиксировали признаки овуляции с помощью УЗИ. Для определения и уточнения видов обнаруженных патологий пользовались дополнительными сведениями (предыдущая репродуктивная история кобылы и записи случных журналов), а также результатами других методов исследования (ректального, вагиноскопического, цитологического,

бактериологического, а в некоторых случаях - гормонального и эндоскопического). В сложных или неопределенных случаях патологий воспроизводительной системы кобыл, а также при лечении гинекологических заболеваний пользовались консультациями ветеринарных специалистов.

Вагинальное исследование осуществляли с помощью металлического влагалищного зеркала, оценивая состояние слизистой влагалища, шейки матки, вагинального и шеечного секрета, наличия аномалий в строении. Экспертизу дополняли мануальным исследованием стенки влагалища и канала шейки матки.

Для цитологических исследований клеточный материал отбирали в период эструса (2-3-й день охоты), диэструса (9-11 день цикла) и овуляции с помощью инструментов (цитологические щеточки) производства фирмы Minitube (Германия) из различных участков генитального тракта кобыл (эндометрий, цервикальный канал, влагалище). Образцы слизи наносили на обезжиренные предметные стекла, подсушивали, фиксировали в 96° этиловом спирте и окрашивали по Май-Грюнвальду. Анализ мазков проводили под световым микроскопом (x 400).

Образцы клеточного материала для бактериологического анализа из матки и цервикального канала получали с помощью специальных инструментов фирмы Minitube, стерильных тампонов в двух защитных чехлах, либо путем забора образца из осадка жидкости после промывания матки. Клеточный материал помещали в транспортную среду и доставляли в бактериологическую лабораторию в течение 2-4 часов. Исследования проводили в Рязанской областной ветеринарно-бактериологической лаборатории, Тульской межобластной ветеринарной лаборатории и лаборатории «Инвитро» (региональные отделения).

Гормональный анализ (концентрация прогестерона) проводили в лаборатории «Инвитро». Забор крови для анализа осуществляли из яремной вены у кобыл перед утренним кормлением (натошак), с помощью вакуумных пробирок. Образцы крови центрифугировали в режиме 3000 оборотов в течение 15 минут,

затем замораживали (хранение не более 1 месяца), после чего доставляли в лабораторию в замороженном виде.

Кобыл случали с жеребцами или искусственно осеменяли свежим, охлажденным или заморожено-оттаянным семенем. В экспериментах использовали сперму, замороженную в формах отечественного (алюминиевые тубы по 5 мл и 15-20 мл и гранулы) и импортного (пластиковые соломинки по 0,5 мл) производства. Осеменение проводили соответствующими инструментами: катетером И. И. Иванова (тубы), либо пипеткой со стилетом Minitube (соломинки) с обязательным контролем качества оттаянной спермы. Результат случки/осеменения устанавливали методами ректальной и УЗ-диагностики, соответственно, с 18-20-го дня и с 11-14-го дня после овуляции.

Эмбрионы получали нехирургическим методом по отечественной технологии (С. Г. Лебедев, 1995) на 6,5-8,5-й день после овуляции от кобыл экспериментальной конюшни ВНИИК, искусственно осемененных свежеполученным семенем или путем естественной случки (Приложение Е).

Для поиска мелких эмбрионов 6,5-7- дневного возраста использовали фильтр конструкции ВНИИ племенного животноводства, либо системы «Miniflush» (Minitube, Германия). Эмбрионы оценивали по 5-балльной шкале (по методике ВНИИК) и измеряли под микроскопом МБС-11.

Для охлаждения эмбрионов использовали среды отечественного производства (НПП «Панэко», Москва): среда Ham's F10, в которую добавляли буфер Hepes, и готовая среда с буфером Hepes (Ham's F12+ Hepes). В среды перед использованием вводили 3% фетальной сыворотки теленка (ФСТ) и санирующего препарата полиген (производство ЗАО Мосагроген, Москва) в концентрации 300 мкг/мл. После 2-3-кратного отмывания в указанной среде эмбрион переносили в пластиковую пробирку объемом 2 мл со свежей средой того же состава, тщательно закупоривали, затем помещали в пластиковую пробирку объемом 10 мл с той же средой и хранили в поролоновом штативе в холодильнике (плюс 4-6°C) в течение 24 часов. После этого извлекали эмбрион, оценивали его состояние по морфологическим признакам (5-балльная шкала) и проверяли уровень

жизнеспособности методами окрашивания красителем голубой Эванса или по результатам фактической пересадки реципиенту.

Криоконсервацию эмбрионов проводили методами программного замораживания на криогенном аппарате ЭМБИ-К производства Института биофизики клетки РАН (г. Пущино) и витрификации (приложения Ж, З). В экспериментах были использованы среды собственного приготовления на основе фосфатно-буферного солевого раствора Дюльбекко (ФБС) и авторской МЖС-среды (50% стерилизованного кобыльего молока + 50% желтка куриного яйца), а также готовая среда (№7) иностранного производства. В качестве криопротекторов использовали диметилсульфоксид (ДМСО), глицерин (Гл), этиленгликоль (ЭГ), сахарозу (С) в разных соотношениях:

Среда 1 : МЖС без криопротектора

Среда 2 : (10-40% ДМСО) на основе МЖС + С

Среда 3 : (10-40%)ЭГ+ДМСО) на основе МЖС + С

Среда 4 : (10% Г ) на основе МЖС

Среда 5 : (10-40% ЭГ+ДМСО) на основе ФБС + С

Среда 6 : (15-50% ЭГ+Г) на основе ФБС + С

Среда 7 : (EquiPro® Vit-Kit™) (Minitube, Германия)

В среды на основе ФБС добавляли 3% фетальной сыворотки телят (ФСТ) и санирующий препарат полиген (ЗАО «Мосагроген») в концентрации 300 мкг/мл.

*Программное замораживание.* Эмбрионы насыщали криопротектором (0,75 М ДМСО + 0,75 М ЭГ + 0,5 М С) в 2 этапа до концентрации 1,5 моля (10%), затем заправляли в соломинку, закупоривали стеклянными шариками и переносили в программный замораживатель ЭМБИ-К. Охлаждение проводили в следующем режиме: от плюс 20 до минус 6°C со скоростью 1°C/мин - индуцируемая кристаллизация (сидинг) - выдержка при минус 6°C в течение 5 минут -

охлаждение со скоростью 0,3°C/мин до температуры минус 33°C - погружение в жидкий азот (минус 196°C/мин).

*Витрификация* (приложение И). Эмбрионы поэтапно (по 5 минут на начальных и по 1 минуте на последнем этапе) насыщали криопротектором до 10-50% концентрации. Затем эмбрионы упаковывали в соломинки и закупоривали стеклянными шариками, выдерживали в парах азота в течение 1 минуты и опускали в жидкий азот.

Оттаивание эмбрионов проводили в течение 8 сек. на воздухе, затем 20 сек. в воде при температуре плюс 21-24°C. Эмбрионы отмывали от криопротектора, поэтапно снижая его концентрацию до чистого ФБС Дюльбекко с 3% ФСТ.

Окрашивание эмбрионов проводили двумя методами:

1) Окрашивание в 0,05% растворе голубого Эванса на базе ФБС Дюльбекко. Эмбрионы выдерживали в красителе в течение 10 минут, после чего трижды (по 5 минут) отмывали в ФБС Дюльбекко, переносили на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и исследовали под световым микроскопом. Пропорцию живых (неокрашенных) и погибших (окрашенных) клеток в эмбрионе оценивали глазомерно (увеличение  $\times 56-98$ ).

2) Окрашивание флуо- и ДНК-красителями Hoechst 33342, FITC (fluorescein isothiocyanate), L/D RBCVK (live/dead Reduced Biohazard Cell Viability Kit) и PI (propidium iodide) проводили на кафедре эмбриологии МГУ под руководством д-ра биол. наук М. Л. Семеновой. Продолжительность окрашивания составляла 15 минут, после чего эмбрионы дважды отмывали в ФБС Дюльбекко и оценивали результат окрашивания под люминесцентным и конфокальным микроскопом K. Zeiss Axiovert 200 S10 Meta.

Пересадку эмбрионов осуществляли нехирургическим методом с использованием инструментов фирмы Minitube (Германия). Синхронность овуляции реципиента составляла интервал в 4 дня (минус 1 день – плюс 3 дня) относительно овуляции донора.

Гормональные инъекции кобылам осуществляли с целью вызова внеочередной охоты, стимуляции овуляции, синхронизации половых циклов,



поддержки жеребости, прерывания жеребости. Для этого использовали простагландин F<sub>2α</sub> (Магэстрофан, ЗАО Мосагроген) в дозе 0,7-1,0 мл однократно внутримышечно, хорионический гонадотропин человека (ХГЧ, Московский эндокринный завод, хорулон, Интервет, Нидерланды) 1500-3000 МЕ внутривенно или внутримышечно и прогестерон (2,5% масляный раствор, БиоХимФарм, Россия) 4 мл (100 мг) внутримышечно.

По всем исследованиям вели подробные записи о результатах анализов, проведенных процедур, пробы, случки, осеменения, эмбриотрансплантации и выжеребки в лабораторных журналах.

Полученные в результате исследований данные обрабатывали статистическим методом по Е. К. Меркурьевой [88], а также с помощью компьютерных программ «Excel 2003» и «Statistica 6.0».

## ГЛАВА 3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Технологии воспроизводства поголовья в коневодстве разных направлений

Как уже упоминалось выше, в коневодстве одним из наиболее значимых технологических аспектов является организация воспроизводства поголовья. Будучи биологически одноплодным животным с коэффициентом размножения теоретически равным единице, но фактически существенно меньшим, лошадь заведомо уступает в экономической конкуренции большинству видов сельскохозяйственных животных с более интенсивными темпами воспроизводства поголовья. В племенном коневодстве эта особенность имеет ещё большее значение, чем в рабоче - пользовательном, поскольку прямо определяет интенсивность смены поколений и темпы селекционного улучшения пород. Исходя из этого, нами была изучена технология организации процесса воспроизводства конского поголовья в коневодческих хозяйствах разных регионов страны различных направлений использования лошадей. Были последовательно рассмотрены традиционные технологии естественной случки кобыл, искусственное осеменение и трансплантация эмбрионов. Биотехнологические методы воспроизводства конского поголовья, актуальные для интенсификации племенной работы с породами лошадей, рассматривались нами как инструмент развития возможностей селекции и для оптимизации процесса репродукции в племенном коневодстве.

#### 3.1.1 Естественная случка

Был сделан анализ показателей воспроизводства лошадей за последние годы в хозяйствах с технологиями косячной, варковой и ручной случки кобыл. Та или иная из указанных технологий применяется в зависимости от способа содержания

лошадей, целей и традиций разведения, кадровой обеспеченности, породных особенностей поголовья, условий кормления и других факторов. В данном порядке - косячная, варковая и ручная - технологии расположены по мере возрастания трудозатрат и усложнения процесса случки. При этом последовательно достигается дополнительно решение задач, выходящих за рамки обеспечения максимальных показателей зажеребляемости и благополучной выжеребки, но имеющих селекционное, экономическое, ветеринарно-зоотехническое и иное значение.

Для сравнения были выбраны хозяйства с достоверной информацией о двух основных показателях воспроизводства (зажеребляемость и благополучная выжеребка). Итоговый выход деловых жеребят в данных исследованиях не учитывался, поскольку эта величина больше отражает специфику технологии кормления, содержания и ветеринарного обслуживания поголовья, чем технологическую эффективность самой случки.

В качестве примера косячной случки изучены ведущие хозяйства по разведению новоалтайской породы (Республика Алтай, Алтайский край) [102,123], а также 2 хозяйства (КФХ Шальнев, Ставропольский край, КФХ Аргамак, Республика Ингушетия), практикующих косячную случку в работе с терской породой лошадей. При этой технологии жеребцы продуцируют в косяках по 15-20 голов, круглосуточно находясь с кобылами. Обычно жеребцов отбивают из косяка в августе, чтобы не допустить поздней случки. Но на Алтае при табунном содержании лошадей принято забирать жеребцов из косяка в феврале, чтобы они не слишком худели, в то время как всю осень (основной этап наживки) жеребцы водят свой косяк на пастбище. Нередко жеребцы остаются в косяках круглогодично.

При работе с терской породой, ориентированной на производство лошадей для спорта и шоу, в конных заводах применялась ручная случка. Однако последние десятилетия для этой породы были особенно трудными, в результате чего, в отсутствие персонала и средств на его содержание, некоторые заводчики перешли на более экономичную технологию косячной случки, к которой жеребцы

терской породы оказались хорошо приспособлены. Ниже приводятся показатели воспроизводства лошадей в изученных хозяйствах в разные годы, полученные при косячной технологии случки (таблица 4).

Таблица 4 - Показатели воспроизводства при косячной технологии случки в новоалтайской и терской породах лошадей

Зона разведения лошадей, хозяйства	Год (ы)	Кобыл в случке, гол.	Зажеребляемость		Благополучная выжеребка	
			п	%	п	%
<b>Новоалтайская порода</b>						
<i>Алтайский край, Республика Алтай,</i> СПК Кырлык, ПСК Беш-Озек, СПК Амурский, ЗАО Новый Путь, ОПХ Новоталицкое, ЗАО Сибирь, ЗАО Башчелак, К.Х.Вяткина	2004-2005	2964	2282	77,0	2252	76,0
	2013	1743	-	-	1254	71,9
Всего по хозяйствам	-	4707	-	-	3506	74,5
<b>Терская порода</b>						
<i>Ингушетия,</i> КФХ Аргамак	2010-2013	222	178	80,2	177	79,7
<i>Ставропольский край,</i> КФХ Шальнев	2008-2012	105	87	82,6	78	74,3
Всего по хозяйствам		327	265	81,0	255	78,0
Итого	-	5034	2547*	79,9*	3761	75,3*
Примечание: * в среднем по хозяйствам						

Из данных таблицы следует, что технология косячной случки новоалтайских и терских лошадей в условиях, максимально приближенных к естественным, как правило, не обеспечивает биологически возможный, 100-процентный уровень зажеребляемости и благополучной выжеребки кобыл. В среднем, эти показатели составили 79,9 и 75,3%, соответственно. В терской породе в целом зажеребляемость и благополучная выжеребка на 4-4,5% выше, чем в новоалтайской. Потери жеребости при косячной технологии составляют 1-8%. Но, по свидетельству регистраторов новоалтайской и терской пород, при содержании кобыл с жеребятками в косяках основной отход молодняка от волков и змей приходится на период с рождения до отъема.

Специально проведенные исследования [123] по выявлению максимальной плодовитости жеребцов в новоалтайской породе показали, что среди 30

производителей тяжелоупряжных пород, работавших в косяках в течение 1977-1993 годов, было 11 жеребцов, которые обеспечили в отдельные годы благополучную выжеребку своих кобыл на уровне 90-94,4% (таблица 5). Нагрузка на них составляла от 11 до 21 кобылы в косяке. Продолжительность использования жеребцов в косяках достигала 13-14 лет. Тем не менее, средний показатель благополучной выжеребки в косяках по всем жеребцам за исследуемый период составил 76,2%.

Таблица 5 - Показатели плодовитости косячных жеребцов в новоалтайской породе

Срок использования жеребцов в косяках, лет	Число жеребцов в группе	Количество покрытых кобыл, гол.		Родилось жеребят, гол.	Процент благополучной выжеребки (%)	
		всего	на 1 жеребца		средний	максимальный по жеребцам
14	1	162	11,6	135	83,3	94,4
13	1	194	14,9	161	83,0	88,2
9	2	252	14,0	178	70,6	84,6-93,3
8	4	546	17,1	393	72,0	86,3-92,9
7	1	135	19,3	97	71,9	88,4
6	4	422	17,6	318	75,4	82,3-94,4
5	3	247	16,5	185	74,9	85-87,5
4	7	424	15,1	342	80,7	77,8-93
3	4	154	12,8	123	79,9	76,4-92,3
2	2	38	9,5	30	79,0	84,6-88,9
1	1	24	24,0	18	75,0	-
Всего	30	2598	15,6	1980	76,2	76,4-94,4

Очевидно, фактором, определяющим конечные результаты воспроизводства при косячной случке, является степень развития у жеребцов и маток приспособительных качеств к условиям продолжительного пастбищного содержания. В установленных случаях получения близких к максимальному значению показателей зажеребляемости и благополучной выжеребки имело место полное совпадение физиологических возможностей лошадей с внешними технологическими и природными условиями их содержания.

Для исследования результативности технологии варковой случки были взяты показатели воспроизводства кобыл-биопродуцентов СЖК (сыворотки жеребых кобыл – источника лошадиного хорионического гонадотропина) в коневодческом хозяйстве ООО «Башагроген» в Башкирии (региональное отделение Московского завода «ЗАО Мосагроген» по производству ветеринарных и биологических препаратов) (таблица 6). Состав маточного поголовья здесь преимущественно представлен кобылами башкирской породы и помесными лошадьми. В качестве производителей использовались башкирские, орловские рысистые и русские рысистые жеребцы.

Случную кампанию в хозяйстве начинают с февраля. По мере выжеребки, из кобыл-доноров формируют группы. Жеребцов для варковой случки подбирают из числа таких, которые не агрессивны по отношению к жеребяткам, дважды в сутки производят замену жеребцов («ночные» и «дневные»). Следовательно, кобылы находятся в варке с жеребцом постоянно. В пик случного сезона численность кобыл в группе может достигать до 20-30 голов. Через полтора-два месяца после начала случки проводят периодические, с интервалом в 15 дней, проверки всех кобыл на жеребость с помощью УЗИ. При обнаружении эмбриона у кобыл начинают производить забор значительного объема крови в течение всего цикла активного функционирования эндометриальных чаш в матке у жеребых кобыл. При таком специфическом использовании кобыл, процент благополучной выжеребки в хозяйстве существенно снижается, поэтому процент зажеребляемости является самым информативным тестом результативности варковой случки.

Данные таблицы 6 показывают более высокий уровень зажеребляемости кобыл (80,1%) при варковой технологии случки при сравнении с косячной (77,4%). Это неслучайно, поскольку варковая технология дополнена, в сравнении с косячной, более благоприятными условиями содержания и кормления поголовья, а также элементами учета, приборного контроля и гормональной поддержки жеребости кобыл.

Таблица 6 - Зажеребляемость кобыл при варковой технологии случки

Хозяйство, порода	Годы	Кобыл в случке, гол.	Зажеребляемость	
			n	%
ООО «Башагроген», Башкирия, башкирская, помеси	2010	156	94	60,3
	2011	188	151	80,3
	2012	164	119	72,6
	2013	215	182	84,6
	2014	208	164	78,8
	2015	217	177	81,6
	2016	248	231	93,1
Всего	2010-2016	1396	1118	80,1

Использование в последний период исследований ультразвуковой диагностики значительно улучшило и систематизировало работу по выявлению жеребых и абортировавших кобыл и обеспечило возможность получить 93,1% зажеребляемости в случке 2016 года.

Эффективность технологии ручной случки, самой прогрессивной и затратной среди видов естественной случки, нами исследована на материале наиболее успешных конных заводов, разводящих лошадей ведущих заводских пород. В этих заводах в ходе случной компании используется, как минимум, два основных метода репродуктивной оценки кобыл (ректальная диагностика и УЗИ) и проводится системное выявление и лечение гинекологических заболеваний. Априори, данная технология должна быть более результативной, чем упрощенные технологии косячной и варковой случки, рассмотренные выше. Показатели воспроизводства за последние пять лет по большинству хозяйств и в целом по выборке подтверждают данное утверждение (таблица 7).

В ведущих конных заводах при ручной случке достигаются более высокие показатели, чем в изученных примерах использования косячной и варковой технологий случки. В среднем по всему материалу уровни зажеребляемости кобыл в разрезе технологий случки выглядят по мере возрастания следующим образом: косячная – 79,9%, варковая – 80,1%, ручная – 86,4%. То есть, в ведущих конных заводах при ручной случке сегодня достигаются более высокие

показатели, чем в изученных примерах использования косячной и варковой технологий случки. Они также на 7-20% превышают рассчитанные нами средние показатели по соответствующим породам (таблица 1), что свидетельствует о существенной зависимости качественных результатов от технического и технологического обеспечения случной компании.

Таблица 7 - Показатели воспроизводства в ведущих российских конных заводах при ручной технологии случки

Хозяйство, порода	Годы	Кобыл в случке, гол.	Зажеребляемость		Благополучн. выжеребка	
			п	%	п	%
к/з Восход , ч/к верховая	2010-2015	345	288	83,5 (76,7) <sup>1)</sup>	240	69,6
Волгоградский к/з, ч/к верховая	2010-2015	262	226	86,3 (76,7) <sup>1)</sup>	184	70,2
к/з А.А.Казакова орловская рысистая	2011-2015	109	96	88,1 (81,3) <sup>1)</sup>	73	67,0
Терский к/з № 169, арабская	2010-2016	614	510	83,1 (86,2) <sup>1)</sup>	454	73,9
Гергенбург к/з, трак./ голш./ ганн. помеси	2010-2015	227	204	90,0 (70,6-78,6) <sup>1)</sup>	151	66,5
к/з Локотской <sup>3)</sup> русск., америк., франц. рысистые	2013-2016	582	510	87,6 (70,7) <sup>1)</sup>	453	77,8
Итого		2139	1834	86,4 <sup>2)</sup>	1555	70,8 <sup>2)</sup>

Примечание: <sup>1)</sup> в среднем по породе (таблица 1); <sup>2)</sup> в среднем по хозяйствам; <sup>3)</sup> используется осеменение свежавзятим, разбавленным семенем

Там, где этот процесс наиболее профессионально организован и технически выше оснащен, получают близкие к биологическому пределу показатели (95,5% «к/з А.А.Казакова» (2012 год), 93,9% «Георгенбург» (2013 год), 91,7% «Волгоградский» (2015 год), 93,1% «Локотской» (2016 год). Интересно в этой связи упомянуть цифры, приведенные в Е.А.Давидовичем в «Книге о лошади», изданной в 1933 году [33, С. 247]. По данным автора, за 1928-1930 годы средний процент жеребости по конному заводу им. С.М.Буденного составил при косячной, варковой и ручной случке 88,6, 81,4 и 75,0%, соответственно. Наши



исследования свидетельствуют об изменении ситуации в современном коннозаводстве в пользу более совершенного метода ручной случки и о существенно возросшем уровне этой технологии за прошедшие 85 лет.

Вместе с тем, процент благополучной выжеребки в некоторых исследованных хозяйствах опускается ниже среднего уровня в породах (таблица 1). Это говорит о том, что потери на этапе плодоношения и выжеребки (аборты и мертворожденные) в конных заводах с высоким уровнем организацией случки остаются весьма значительными. Понятно, что на этот показатель оказывают существенное влияние факторы, прямо не относящиеся к работе репродуктологов, в том числе условия кормления, содержания и ветеринарного обслуживания жеребых кобыл. Но, вероятно, этот факт является следствием упущений в других технологических звеньях процесса воспроизводства, в частности, ослабления контроля результатов случки.

Доминирующее значение уровня организации случной компании и профессиональной компетенции специалистов в конечных результатах воспроизводства подтверждено также в ходе анализа показателей работы конных заводов, не имеющих современного диагностического оборудования (например, Злынский (Орловская обл.) и Куединский (Пермский край) конные заводы). При этом выяснилось, что высокий профессионализм опытных специалистов, в совершенстве владеющих методами ректальной диагностики, компенсирует недостаток современного оборудования и обеспечивает хорошие результаты работы по воспроизводству в конных заводах. Однако, это скорее исключение из правил.

**Заключение.** Каждый из трех основных видов естественной случки (косячная, варковая и ручная) не обеспечивает абсолютный биологический максимум плодовитости маток и жеребцов-производителей, но при оптимальном сочетании технологических и иных сопутствующих факторов позволяет получать свыше 90% зажеребляемости в ходе случной компании. Тренд зажеребляемости кобыл в результате применения разных технологий случки ориентирован на возрастание качественных показателей по мере роста технической оснащенности

процесса от простого к более сложному: косячная, варковая, ручная. Вместе с тем, при всех технологиях случки главенствующее значение имеет уровень организации случной компании в хозяйстве и компетенция исполнителей.

### 3.1.2 Искусственное осеменение

Несмотря на давнюю историю применения метода искусственного осеменения маток в коневодческой отрасли, признанной колыбелью данной инновации в качественном совершенствовании массивов сельскохозяйственных животных, во все периоды и до сих пор живет необходимость модернизации отдельных важных элементов данной технологии воспроизводства с целью повышения её эффективности.

#### 3.1.2.1 Факторы, повышающие эффективность осеменения

В соавторстве с коллегами М.М. Атрощенко и С.А. Бурмистровой (2015), в период с 2007 по 2014 год была решена задача определения значимости основных факторов, влияющих на результат искусственного осеменения племенных кобыл заморожено-оттаянным семенем жеребцов-производителей. Работу проводили в Терском конном заводе, в хозяйстве А.А. Казакова и на экспериментальной конюшне ВНИИ коневодства. Кобыл разделяли на 5 групп в соответствии с изучаемыми факторами:

- а) технология замораживания (фасовка) спермы (гранулы, тубы, соломины),
- б) активность спермы,
- в) время осеменения относительно овуляции,
- г) репродуктивная группа кобыл (молодые и холостые, подсосные, после позднего аборта),
- д) исходное гинекологическое состояние кобыл (без видимых признаков патологии, с видимыми признаками патологии).

Для осеменения использовали сперму жеребцов, криоконсервированную по разным технологиям и с различными показателями активности. Следует уточнить, что в данной работе была использована сперма, зарезервированная в криобанке

ВНИИ коневодства в опытах с 1980-х годов, в том числе качеством ниже требований ГОСТа (минимальная активность 2,5 балла [59]), которой осеменяли кобыл с целью восстановления утраченных в породах линий специалисты высокой квалификации. К производственному использованию такая сперма не рекомендована.

В опытах были включены дозы спермы из банка института, замороженные по трем отечественным технологиям: расфасованную в гранулах (технология №1, Е. М. Платов, [120]), в тубах по 15-25 мл (технология № 2, А. И. Науменков, Н. К. Романькова, [96]) и в тубах по 5 мл (технология № 3, Е. Л. Фомина, [145]), а также импортная сперма (зарубежные технологии) в соломинах по 0,5 мл (от 3 до 8 соломин в дозе).

Активность семени после оттаивания определяли стандартным методом, в соответствии с рекомендациями [59]. Всю сперму в различных фасовках разделили на две группы с активностью выше и ниже 1,5 баллов. В группе «отечественная технология № 2», включающей сперму с пониженной активностью, при сравнении с импортной спермой, было выделено 2 подгруппы: сперма с активностью выше и ниже 2 баллов.

Степень зрелости фолликула контролировали методами ректальной и УЗ-диагностики с интервалом в 6 часов. В рамках временного периода от 12 часов перед овуляцией до 6 часов после овуляции, рекомендованного для искусственного осеменения замороженным семенем, мы выделили три интервала - 1) не более 12 часов до овуляции, 2) во время овуляции и 3) не более 6 часов после овуляции - и проследили за результатом осеменения в каждом из них. По итогам года учитывали два показателя плодовой деятельности кобыл: процент зажеребляемости и процент благополучной выжеребки. В дополнение к ним рассчитали в каждой группе процент абортос (или эмбриональной гибели), как отношение числа зарегистрированных случаев потери жеребости к числу зажеребевших кобыл.

По функциональному состоянию репродуктивной системы к моменту осеменения были выделены три репродуктивные группы кобыл: 1) холостые и

молодые (впервые идущие в случку); 2) подсосные (лактлирующие), 3) кобылы после позднего (6 и более месяцев жеребости) аборта.

По гинекологическому состоянию кобыл делили на 2 группы: 1) с патологиями и 2) без патологий. К видимым, то есть диагностированным при ректальном, ультразвуковом или вагиноскопическом исследовании, признакам патологии относили выделения из вульвы, жидкость или воздух в матке, посткоитальный эндометрит.

В обработку были включены данные по 106 половым циклам кобыл, в которых проводилось искусственное осеменение криоконсервированной спермой жеребцов российского и зарубежного производства. Результаты исследований представлены в таблицах 8, 9, 10.

Сравнение результативности осеменения кобыл спермой, замороженной по разным технорлогиям (в разной фасовке) показало, что зарубежная технология (группа 4, соломины по 0,5 мл) сходна по уровню зажеребляемости кобыл с группой 1 (гранулы), но достоверно ( $p < 0,05$ ) превосходит группу 2 (тубы по 15-25мл) (таблица 8).

Однако активность импортной спермы в группе 4 не опускалась ниже 2-2,5 баллов, тогда как в группе 2 этот показатель в некоторых случаях не превышал 0,5 баллов. Поэтому мы разделили группу 2 на две подгруппы с активностью спермы выше и ниже 2 баллов. В результате зажеребляемость в группе 2.1 (тубы с высоким качеством спермы) выросла до 69,6% и перестала достоверно отличаться от группы 4. Соответственно в группе 2.2 снижение активности спермы привело к падению уровня зажеребляемости кобыл до 43,5%, однако разница между подгруппами 2.1 и 2.2 была не достоверна.

Процент благополучной выжеребки имеет некоторую тенденцию к повышению в группе 4 (соломины). Достоверно ( $p < 0,05$ ) этот показатель отличался лишь от подгруппы 2.2 (сперма низкого качества в тубах по 15-25 мл). Однако если рассмотреть процент абортос по отношению к числу жеребых кобыл, то разница нивелируется. Во всех остальных случаях разница между группами оказалась недостоверной.

Таблица 8 - Результаты осеменения кобыл спермой, замороженной по различным технологиям

Кобыл (циклов)	Зажеребляемость		ЭГ*	Благополучная выжеребка, %	
	гол.	%		гол.	от зажеребевших
1. Гранулы (отечественная технология № 1, активность спермы 1-1,5 балла)					
7	5	71,4±17,1	1	80,0±17,9	57,1±18,7
2. Тубы по 15-25 мл (отечественная технология № 2)					
46	26	56,5±7,31 <sup>a</sup>	5	80,8±7,7	45,7±8,0
2.1. в т.ч. с активностью спермы выше 2 баллов					
23	16	69,6±9,59	4	75,0±10,8	52,2±10,4
2.2. в т.ч. с активностью спермы ниже 2 баллов					
23	10	43,5±10,34	1	90,0±9,5	39,1±10,2 <sup>d</sup>
3. Тубы по 5 мл (отечественная технология № 3, активность спермы выше 2 баллов)					
3	2	66,7±27,15	1	50,0±35,4	33,3±27,2
4. Соломины по 0,5мл (зарубежные технологии, активность спермы выше 2 баллов)					
50	37	74,0±6,20 <sup>b</sup>	4	89,2±5,1	66,0±6,7 <sup>c</sup>
Примечание: * эмбриональная гибель; <sup>a,b</sup> p<0,05; <sup>c,d</sup> p<0,05					

На основании статистической обработки полученных данных можно заключить, что результативность осеменения кобыл спермой, замороженной и фасованной по разным технологиям (3 отечественные и зарубежная), колеблется в пределах 69-72% (в расчете на 1 цикл) и не имеет достоверных различий.

Были также проанализированы показатели зажеребляемости и благополучной выжеребки кобыл, в зависимости от времени осеменения и активности используемого семени (таблица 9).

Достоверной разницы в зажеребляемости кобыл (в одном цикле) после осеменения в трех временных группах (менее чем за 12 часов до овуляции, во время овуляции и в течение 6 часов после овуляции) не обнаружено, а средние значения этого показателя по всем группам не выходят за рамки 52-68%. Отмечено также отсутствие достоверных различий между группами в уровнях благополучной выжеребки и аборттов.

Таблица 9 - Результаты осеменения кобыл, в зависимости от активности спермы и времени осеменения

Голов (циклов)	Зажеребляемость		ЭГ*	Благополучная выжеребка, %	
	гол.	%		гол.	от зажеребевших
<b>Активность спермы</b>					
1,5 балла и выше					
59	46	78,0±5,39 <sup>a</sup>	7	84,8±5,29	66,1±6,16 <sup>c</sup>
ниже 1,5 баллов					
28	5	17,9±7,24 <sup>b</sup>	1	80,0±17,88	14,3±6,61 <sup>d</sup>
<b>Время осеменения</b>					
менее чем за 12 часов до овуляции					
20	13	65,0±10,67	1	92,3±7,39	60,0±10,95
во время овуляции					
21	11	52,4±10,90	2	81,8±10,70	42,9±10,80
в течение 6 часов после овуляции					
65	44	67,7±5,80	7	84,1±5,51	56,9±6,14
Примечание: * эмбриональная гибель; **посткоитальный эндометрит; <sup>a,b</sup> p<0,001, <sup>c,d</sup> p<0,001, <sup>e,f</sup> p<0,001, <sup>g,h</sup> p<0,01					

Анализ результатов зажеребляемости после осеменения кобыл спермой с активностью ниже и выше 1,5 баллов, независимо от технологии замораживания (вида фасовки), показал высоко достоверную разницу между группами (p<0,001). Это означает, что качество спермы при осеменении играет важнейшую роль и кардинально влияет на зажеребляемость кобыл. Достоверной оказалась также разница в показателе благополучной выжеребки между сравниваемыми группами (p<0,001).

Анализ данных по уровню зажеребляемости кобыл в трех репродуктивных группах не выявил достоверных различий между ними (таблица 10). При этом величины данного показателя в группах 2 (подсосные кобылы) и 3 (абортировавшие на поздних сроках кобылы) отличаются на 31,3%, т.е. должны выходить за рамки статистической погрешности. Однако количество кобыл в 3 группе оказалось недостаточным для получения высокого значения критерия достоверности разницы.

Таблица 10 - Результаты осеменения кобыл разных репродуктивных групп

Голов (циклов)	Зажеребляемость		ЭГ*	Благополучная выжеребка, %	
	гол.	%		гол.	от зажеребевш.
Репродуктивные группы кобыл					
1. молодые (впервые в случке) и холостые					
46	26	56,5±7,31	5	80,8±7,72	45,7±7,34
2. подсосные					
25	13	52,0±10,0	1	92,3±7,4	48,0±10,0
3. после позднего аборта					
6	5	83,3±15,23	2	60,0±21,9	50,0±20,4
Гинекологическое состояние кобыл					
без видимых отклонений					
18	16	88,9±7,40 <sup>a</sup>	3	81,2±9,77	72,2±10,56 <sup>c</sup>
патологии (жидкость или воздух в матке, выделения из вульвы, ПКЭ**)					
18	7	38,9±11,49 <sup>b</sup>	3	57,1±18,70	22,2±9,80 <sup>d</sup>
Примечание:					
* эмбриональная гибель; **посткоитальный эндометрит;					
<sup>a,b</sup> p<0,001; <sup>c,d</sup> p<0,01					

Тем не менее, можно заключить, что, несмотря на готовность к зачатию кобыл, перенесших поздний аборт (зажеребляемость 83,3%), полного восстановления нормального физиологического статуса репродуктивной системы у них не произошло, что имело отражение в повышенном проценте эмбриональной гибели (40%).

Осеменение кобыл при наличии и отсутствии признаков патологий воспроизводительной системы выявило высоко достоверные различия в последующей зажеребляемости ( $p<0,001$ ) и уровне благополучной выжеребки ( $p<0,01$ ) в пользу гинекологически здоровых кобыл. Однако, повышение процента аборт у кобыл с патологиями также статистически недостоверно, несмотря на колоссальную разницу этого показателя между группами (30,5%). Все же, столь значительная разница в показателях воспроизводства является весомым аргументом, мотивирующим констатацию объективного преимущества гинекологически здоровых кобыл в сравнении с больными.

**Заключение.** Проведенные исследования позволяют выделить наиболее важные и определяющие положительный результат осеменения кобыл заморожено-оттаянным семенем факторы из числа изученных. В первую очередь, это высокое качество спермы после оттаивания, а также благополучное гинекологическое состояние кобыл. Технология криоконсервации, виды фасовки спермы и принадлежность кобыл к различным репродуктивным группам (холостые и молодые, подсосные и после позднего аборта), при условии проведения осеменения на высоком профессиональном уровне, имеют второстепенное значение. Кроме того, важным для практики является вывод о том, что осеменение кобыл одной дозой спермы в течение 6 часов после овуляции обеспечивает такой же уровень зажеребляемости, как и осеменение в 12-часовой период до овуляции или непосредственно в момент выхода яйцеклетки из фолликула. Это означает, что ректальная и УЗ-диагностика яичника кобылы во время созревания фолликула может быть ограничена 6-часовым интервалом, и по факту овуляции следует незамедлительно проводить осеменение. Такой режим позволит сэкономить дозы дорогостоящего семени и обеспечить высокую зажеребляемость кобыл.

### 3.1.2.2 Результативность случки/осеменения кобыл в послеродовую охоту

После выжеребки половая цикличность у кобыл налаживается довольно быстро и первая (послеродовая) охота наступает, в среднем, на 5-7-й день. Но организму кобылы требуется определенный период времени для восстановления полноценной работы репродуктивного тракта, очищения и инволюции матки. С целью выявления в связи с этим оптимальных сроков осеменения (случки) кобыл после выжеребки нами был проанализирован уровень зажеребляемости кобыл в послеродовую и две последующие охоты в результате естественной случки и искусственного осеменения замороженным семенем.

Исследования проведены на материале племенного коневодческого хозяйства А. А. Казакова за 2012-2014 годы в соавторстве с С.А. Бурмистровой



(2015 год). В обработку включена плодовая деятельность 34 кобыл орловской и русской рысистой пород за данный период. Всего отслежено 67 плодовых лет, в каждом из которых наблюдали результаты случки/осеменения кобыл в трех последовательных циклах, начиная с послеродовой охоты, а также итоговые показатели зажеребляемости и благополучной выжеребки на конец года.

Кобылы после выжеребки назначались в случку на основании результатов визуального, ректального, вагинального и ультразвукового исследований репродуктивного тракта. Из 67 ожеребившихся кобыл первую послеродовую охоту пропустили у 33 голов (задержание последа, субинволюция матки, ранняя выжеребка). Вторая охота была пропущена у 9 голов из 49 (не приходили в охоту, эмбриональная гибель, тихая охота), 3-я охота пропущена у 5 голов из 22 (лактационный анэструс, эмбриональная гибель).

Жеребцов, участвующих в случке тестировали по качеству семени перед началом случного сезона. Качество замороженной спермы контролировали после оттаивания по показателям активности и количества спермиев с прямолинейно-поступательным движением (ППД) в дозе. Степень зрелости фолликула определяли ректальным и ультразвуковым методами. Кобыл в случку назначали при 3 степени зрелости фолликула (Ф3) с интервалом в 24-48 часов до установления овуляции. Осеменение кобыл замороженным семенем проводили в интервале от минус 12 до плюс 6 часов вокруг овуляции.

По результатам случки/осеменения ожеребившихся кобыл определяли процент зажеребляемости и процент благополучной выжеребки в послеродовую охоту и в двух последующих циклах. Прохолостевших кобыл, в отсутствие противопоказаний, осеменяли/крыли повторно, поэтому они учитывались в следующей группе. Фиксировали также число ранних эмбриональных потерь по каждому циклу. На конец года к ним прибавляли число поздних аборт, выявленных по результатам осенней контрольной проверки. Дополнительно вычисляли процент благополучной выжеребки от числа осемененных/покрытых кобыл для оценки эффективности работы с маточным поголовьем. Результаты исследований представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Результаты случки/ осеменения ожеребившихся кобыл

Вид случки	Кобыл (циклов)	Зажеребляемость		ЭГ*	Благопол. выжеребка, %	
		n	%		от зажереб.	от слученн.
Первая (послеродовая) охота						
ЕС**	29	19	65,6±8,82 <sup>a</sup>	1	94,7±3,83	62,1±9,01 <sup>e</sup>
ИО з.с.***	5	0	0 <sup>b</sup>	-	-	0 <sup>f</sup>
Всего	34	19	55,9±7,56	1	94,7±3,83	52,9±8,56 <sup>i</sup>
Вторая охота						
ЕС	22	21	95,5±4,45 <sup>c</sup>	0	100%	95,5± 4,45 <sup>g</sup>
ИО з.с.	18	7	38,9±11,49 <sup>d</sup>	1	85,7±8,25	33,3±11,10 <sup>h</sup>
Всего	40	28	70,0±4,74	1	96,4±2,94	67,5± 7,41
Третья охота						
ЕС	6	5	83,3±15,23	0	100%	83,3±15,23
ИО з.с.	11	7	63,6±13,90 <sup>p</sup>	0	100%	63,6±13,90 <sup>q</sup>
Всего	17	12	70,6±11,05	0	100%	70,6±11,05
Итого на конец года						
голов	67	59	88,1± 3,79	6	89,8±3,94	79,1±4,97 <sup>j</sup>
циклов, в т.ч.	91		64,8± 5,0		-	-
ЕС	57	45	79,0±10,46 <sup>k</sup>	5	88,9±4,68	70,2±6,06 <sup>m</sup>
ИО з.с.	34	14	41,2±8,44 <sup>l</sup>	1	92,9±6,86	38,2±8,33 <sup>n</sup>
Примечание:						
* эмбриональная гибель;						
** естественная случка;						
*** искусственное осеменение замороженной спермой;						
<sup>a,c</sup> p<0,01, <sup>b,d</sup> p<0,01; <sup>a,b</sup> p<0,001; <sup>c,d</sup> p<0,001; <sup>e,f</sup> p<0,001;						
<sup>g,h</sup> p<0,05; <sup>i,j</sup> p<0,001; <sup>k,l</sup> p<0,01; <sup>m,n</sup> p<0,001; <sup>b,p</sup> <0,001; <sup>p,q</sup> p<0,001						

В среднем, показатели зажеребляемости и благополучной выжеребки за исследуемый период составили, соответственно, 88,1 и 89,8%, что отражает высокий уровень организации репродуктивного процесса в хозяйстве, учитывая использование технологии искусственного осеменения замороженной спермой. Однако в расчете на 1 цикл показатель зажеребляемости снижается до 64,8%, а процент благополучной выжеребки в расчете на 1 покрытую/осемененную кобылу - до 79,1 %. Таким образом, на одно плодотворное осеменение/покрытие кобылы в хозяйстве приходится, приблизительно, 1,5 цикла. Разница между

результатами естественной случки и осеменением замороженной спермой в расчете на 1 цикл, по итогам года составила 37,8%.

Более детальный анализ результатов плодовой деятельности кобыл выявил тенденцию повышения основных показателей воспроизводства у выжеребившихся кобыл от первого цикла к последующим. Так, в послеродовую охоту процент оплодотворяемости на 14,1% ниже, чем во втором и третьем циклах, в том числе достоверно ( $p < 0,01$ ) в группах естественной случки и искусственного осеменения замороженной спермой. Доля эмбриональных потерь в расчете на кобылу ко второй охоте снижается (1,7%), а в третьем цикле случаи эмбриональной гибели отсутствуют вовсе. Та же тенденция повторяется и в итоговых показателях на конец года: процент кобыл, зажеребевших с первого, второго и третьего цикла, плавно возрастает с 50,0 до 70,6%. Аналогичную динамику отражает уровень благополучной выжеребки (с 82,3 до 100%), то есть доля абортот от числа зажеребевших кобыл снижается с 17,7 до 0%.

Анализ оплодотворяемости кобыл в естественной случке и после искусственного осеменения замороженной спермой выявил существенные, высоко достоверные различия между группами кобыл. В частности, в послеродовую охоту (при 100% прохолосте от искусственного осеменения) эта разница составила 65,6%, ( $p < 0,001$ ). По второму циклу, при очень высокой зажеребляемости естественно покрытых кобыл (95,5%), процент жеребых от искусственного осеменения замороженной спермой был ниже на 56,6% ( $p < 0,001$ ). Кроме того, после естественной случки ни одна кобыла не абортировала, а в группе осемененных замороженной спермой кобыл зафиксирована одна эмбриональная гибель. В третьем цикле во всех группах показатели оплодотворяемости выравниваются, абортот отсутствуют.

Проведенные исследования показали, что в послеродовую охоту кобылы имеют более низкий процент зажеребляемости и благополучной выжеребки, чем в последующие циклы, причем эти различия достоверны как для естественно покрытых, так и осемененных замороженной спермой кобыл. Согласно полученным результатам, 1-ю и 2-ю охоту после выжеребки осеменение кобыл

замороженным семенем дает достоверно более низкие результаты, чем естественная случка, а также более высокий процент эмбриональной гибели.

Результаты наблюдений позволяют сделать вывод о том, что у многих кобыл матка после выжеребки не успевает восстановиться к первой овуляции и не обеспечивает условий для выживания спермы или эмбриона. Рекомендовано проводить тщательное и всестороннее исследование полового тракта кобыл на 2-4 день после выжеребки и, при необходимости, последующий мониторинг. Такие случаи, как трудные роды, задержание последа, замедленная инволюция матки, наличие в ней жидкости с дебрисом, гематомы и повреждения генитального тракта исключают случку/осеменение в послеродовую охоту. При наличии признаков воспаления и субинволюции матки, необходимо пропускать послеродовую охоту и не использовать дорогостоящую замороженную сперму для осеменения кобыл в первом (а в некоторых случаях и во втором) цикле после выжеребки.

Наши данные подтверждают мнение зарубежных специалистов, которые рекомендуют использовать криоконсервированное семя не ранее 30-го дня после выжеребки [275, С. 295].

**Заключение:** В послеродовую охоту кобылы имеют достоверно низкий процент зажеребляемости и благополучной выжеребки, чем в последующие циклы, как для естественно покрытых ( $p < 0,01$ ), так и осемененных замороженной спермой ( $p < 0,01$ ) кобыл. Осеменение кобыл замороженным семенем в первую и вторую охоту после выжеребки дает достоверно более низкие результаты ( $p < 0,001$ ), чем естественная случка, а также более высокий процент эмбриональной гибели.

### 3.1.3 Трансплантация эмбрионов

Исследования по проблеме эмбриотрансплантации в коневодстве проводились автором при содействии Н.В. Сидоровой в периоды с 1986 по

1990 и с 2001 по 2016 годы (таблица 12). В первом периоде было извлечено нехирургическим путем 66 эмбрионов, которые были использованы в опытах по культивированию *in vitro* и для разработки состава питательной среды. В последующих опытах нами была использована авторская питательная среда для культивирования эмбрионов, разработанная в эти годы.

Таблица 12 - Результативность нехирургического извлечения эмбрионов

Год	Количество процедур извлечения эмбрионов	Количество извлеченных эмбрионов
2001	68	40 (58,8%)
2002	50	34 (68,0%)
2003	47	23 (48,9%)
2004	40	12 (30,0%)
2006	37	21 (56,8%)
2007	68	44 (64,7%)
2008	53	27 (50,9%)
2009	48	27 (56,3%)
2010	40	16 (40,0%)
2011	19	10 (52,6%)
2012	9	2 (22,2%)
2013	14	7 (50,0%)
2014	11	4 (36,4%)
2015	14	9 (64,3%)
2016	18	10 (55,6%)
Итого	536	286 (53,4%)

Всего за период 2001-2016 годы в опытах было проведено 536 процедур нехирургического извлечения (вымывания) эмбрионов, в которых удалось получить 286 эмбрионов (53,4%). Результативность нехирургического извлечения эмбрионов варьировала по годам от 22,2 до 68,0%.

Полученные эмбрионы в течение 2001-2016 годы использовали для разработки методов культивирования, охлаждения и витрификации, а также для изучения фундаментальных биологических вопросов (морфология и гистология раннего эмбриогенеза лошадей, стволовые эмбриональные клетки, дифференциальное окрашивание эмбрионов) (Таблица 13).

Таблица 13 - Направления исследований по эмбриотрансплантации

Использование эмбрионов в опытах	Количество эмбрионов
Свежие эмбрионы (контроль)	12
Фиксация и гистология	50
Охлаждение	23
Замораживание	151
Стволовые клетки	4
Отбраковано или утрачено в процессе опытов	46
Всего	286

В процессе экспериментов более 46 эмбрионов было утрачено (повреждено, потеряно) или отбраковано по результатам 5-балльной морфологической оценки, разработанной в лаборатории физиологии ВНИИК.

### 3.1.3.1 Культивирование эмбрионов

Работу проводили в с 1986 по 1989 годы в рамках подготовки автором кандидатской диссертации [279]. Была создана оригинальная молочно-желточно-солевая среда, которая обеспечивала рост и развитие поздних бластоцист лошадей при 37°C в течение 24 часов. Эксперименты по культивированию эмбрионов с целью выявления оптимального процентного соотношения трех ингредиентов в культуральной среде (кобылье молоко, желтка куриного яйца и фосфатно-буферного солевого раствора Дюльбекко) (n=66) были выполнены на основе треугольной трехкомпонентной диаграммы Гиббса-Розебома (Приложение К). Основным критерием в оценке результата опытов служил показатель интенсивности роста эмбрионов, то есть относительный прирост эмбриона в объеме за 24-часовой период культивирования, выраженный в процентах.

Четыре повторности экспериментов выявили «зону роста» эмбрионов, которая соответствовала следующему составу среды: кобылье молоко от 0 до 60%, желток от 20 до 60%, ФБС Дюльбекко от 0 до 60% (таблица 14).

Таблица 14 – Результаты 24-часового культивирования эмбрионов в МЖС-среде в «зоне роста» (4 повторности)

Среда, №	Состав МЖС-среды, %			Относительный прирост эмбрионов в объеме, %
	Молоко	Желток	ФБС Дюльбекко	
4	40	60	-	470,9
5	20	60	20	700,0
6	-	60	40	823,8
7	60	40	-	432,8
8	40	40	20	644,0
9	20	40	40	592,1
10	-	40	60	334,4
11	80	20	-	302,8
12	60	20	20	354,6
13	40	20	40	551,7
14	20	20	60	566,6
15	-	20	80	281,7

Было установлено, что обязательным компонентом в среде является желток, а два других ингредиента взаимозаменяемы. Наибольшая интенсивность роста зародышей (600-800% в объеме) наблюдалась в следующих вариантах среды:

№6 – М – 0%, Ж – 60%, С – 40%

№5 – М – 20%, Ж – 60%, С – 20%

№8 - М – 40%, Ж – 40%, С – 20%

№9 - М – 20%, Ж – 40%, С – 40%

Осмотическое давление и рН сред «зоны роста» эмбрионов находятся в пределах допустимых значений (290-300 мОсМ/кг), установленных при культивировании эмбрионов млекопитающих.

Санирование культуральной МЖС-среды препаратом полиген в концентрации 300 мкг/мл обеспечивает гарантию стерильности культуры в течение двух суток инкубации.

Жизнеспособные эмбрионы в «зоне роста» в МЖС-среде всплывают к поверхности и видны невооруженным глазом, тогда как погибшие эмбрионы

опускаются на дно сосуда. Это обстоятельство позволяет использовать МЖС-среду в качестве экспресс-теста жизнеспособности эмбрионов.

Качество культивированных в течение 24 часов в МЖС-среде 8 дневных эмбрионов лошадей не снижается, что подтверждает цитологический анализ таких эмбрионов на уровне электронной микроскопии в сравнении с 9 дневными свежеизвлеченными эмбрионами. Полноценность прокультивированных в течение суток зародышей также подтверждена двумя успешными пересадками кобылам-реципиентам. Одна беременность закончилась на 7 месяце травматическим абортom без признаков отклонения в развитии плода. Вторая беременность завершилась рождением нормальной кобылки.

Результаты данного этапа исследований автором включены в материалы кандидатской диссертации. На разработанную МЖС-среду в соавторстве с С.Г. Лебедевым получено авторское свидетельство (№ 1497215 от 1.04.1989 года). Позднее было издано наставление по культивированию эмбрионов лошадей. Некоторые методические авторские разработки того периода использовались нами в последующих экспериментах.

### 3.1.3.2 Оценка качества эмбрионов

Важный этап в экспериментах по разработке технологий эмбриотрансплантации предусматривает оценку степени воздействия на жизнеспособность извлеченных эмбрионов тех или иных регламентных факторов, связанных с процедурами их культивирования, охлаждения, криоконсервации. Недостаточная информативность морфологической оценки жизнеспособности эмбрионов под микроскопом, дефицит экспериментальных кобыл (доноров и реципиентов) в сочетании с низкой «продуктивностью» доноров (1 эмбрион в 1 половом цикле), высокая затратность цикла трансплантации стимулировали нас к поискам альтернативных методов оценки жизнеспособности эмбрионов, не требующих пересадки суррогатным матерям.



Было апробировано 2 способа оценки эмбрионов на основе дифференциального окрашивания зародышевых клеток флуоресцентными и ДНК-красителями и витальным красителем голубой Эванса. Эксперименты, проведенные на кафедре эмбриологии биофака МГУ совместно с д.б.н. М.Л. Семеновой (2009 год) с использованием конфокального лазерного микроскопа (КФМ) показали принципиальную возможность оценки качества эмбрионов лошадей с помощью красителей FITS (fluorescein isothiocyanate), Hoechst 33342, L/D RBCVK (live/dead Reduced Biohazard Cell Viability Kit) и PI (propidium iodide). Ядра мертвых клеток интенсивно высвечивались красным цветом, тогда как через мембраны живых клеток красители PI и RBCVK не проникали. Из 9 эмбрионов, окрашенных после процедур витрификации и оттаивания, 3 были признаны условно живыми, а 6 погибшими (рисунок 17).

Тот же принцип селективной проницаемости мембран живых и погибших клеток действует при использовании витального красителя голубой (синий) Эванса, окрашивающего мертвые клетки в синий цвет под световым микроскопом ( x 32-56) (рисунок 18).

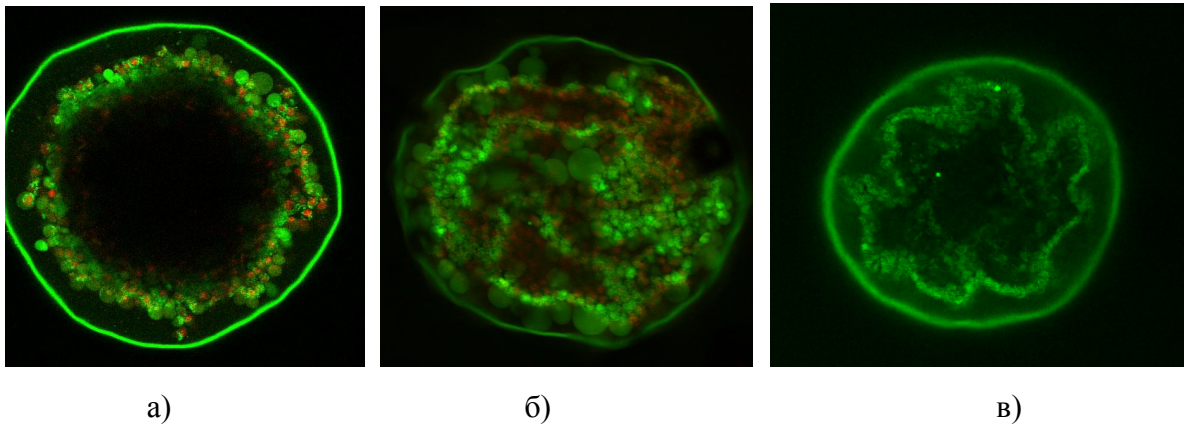


Рисунок 17 – Эмбрионы лошади после размораживания и окрашивания ДНК-красителями FITS и PI (ядра погибших клеток высвечены красным цветом): а), б) 7-дневный погибший эмбрион в) 8 дневный условно живой эмбрион. Конфокальный лазерный микроскоп (Фото М. Л. Семеновой)

Однако округлая объемная форма эмбриона не позволяет под световым микроскопом увидеть и определить уровень повреждения всех клеток в эмбрионе. Нами был применен новый методический подход: эмбрион поместили на

предметное стекло и, накрыв покровным стеклом, сделали его плоским. В таком варианте вся клеточная масса хорошо видна под световым микроскопом, а в случае разрыва оболочки и выхода клеток наружу, можно оценить пропорцию живых и мертвых клеток в эмбрионе после различных манипуляций.

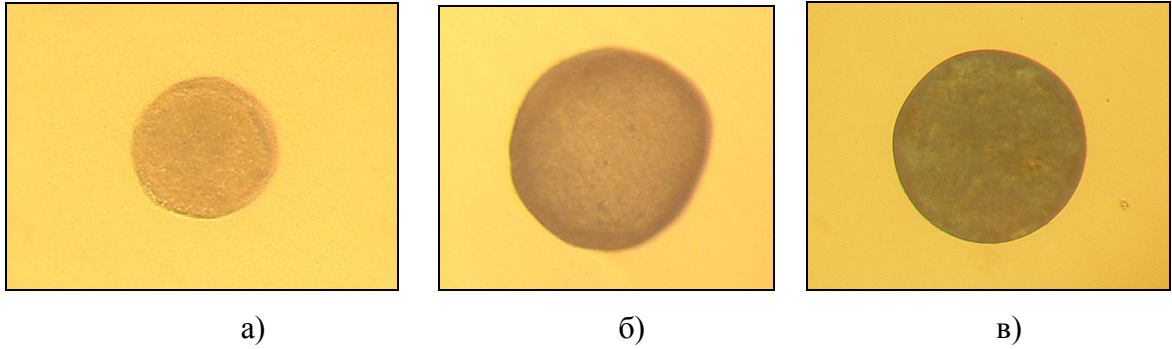


Рисунок 18 – эмбрионы, окрашенные голубым Эванса: а) жизнеспособный, б) сомнительный, в) погибший

Результаты экспериментов показали, что жизнеспособные эмбрионы не пропускают краситель внутрь клеток. Эмбрионы категории, «сомнительный», могут содержать от 0 до 30% мертвых (окрашенных) клеток, в зависимости от степени повреждения. У «погибших» по внешним признакам эмбрионов вся клеточная масса (100%) интенсивно окрашивается в синий цвет (рисунок 19).

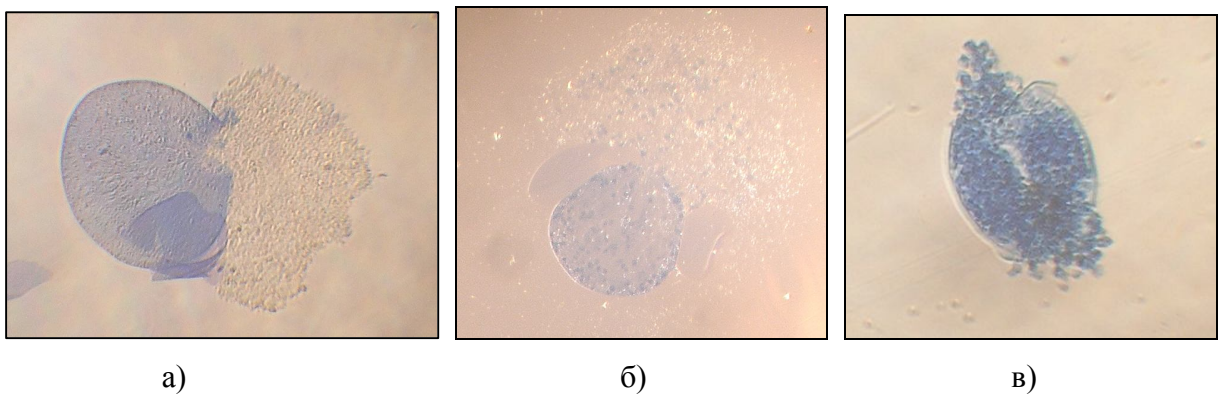


Рисунок 19 – Эмбрионы, окрашенные голубым Эванса и помещенные под покровное стекло (клеточная масса частично вышла из оболочки наружу): а) жизнеспособный, б) сомнительный, в) погибший. Поврежденные клетки окрашены в синий цвет

Этот метод оценки качества эмбрионов стал опорным в дальнейшей работе. Все подготовительные этапы отработки состава сред и концентрации криопротекторов были выполнены на основе контроля результата методом

окрашивания эмбрионов голубым Эванса. Лишь после достижения высокого уровня сохранности клеток в эмбрионах, установленного по результатам окрашивания, приступали к трансплантации эмбрионов реципиентам.

**Заключение.** Методы дифференциального окрашивания эмбрионов лошадей витальным (голубой Эванса) и ДНК-красителями позволяют с высокой точностью определять уровень жизнеспособности эмбрионов после различных манипуляций по пропорции окрашенных и не окрашенных клеток.

### 3.1.3.3 Охлаждение эмбрионов

При разработке подходов к хранению эмбрионов лошадей при плюс 5°C были использованы среды отечественного производства Nam's F10 и Nam's F12+ Neres (производство НПП ПанЭко, Москва). Среда похожа по составу, но имеет в основе бикарбонатный буфер, который на воздухе довольно быстро меняет pH в щелочную сторону, поэтому для культивирования эмбриона требуется специальный газовый режим (5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> и 90% N<sub>2</sub>). Для стабилизации pH в среду Nam's F10 вводили буфер Neres, а вторая среда уже включает в свой состав этот компонент в готовом виде и обладает более богатым набором ингредиентов.

Эмбрионы распределили по группам, в соответствии с диаметром (малые 150-400 мкм, средние 400-800 мкм и крупные, более 1000 мкм). После 24 часов хранения в гипотермических условиях (плюс 5°C) в испытуемой среде 7 эмбрионов были окрашены витальным красителем голубой Эванса, 10 эмбрионов было пересажено реципиентам (таблица 15).

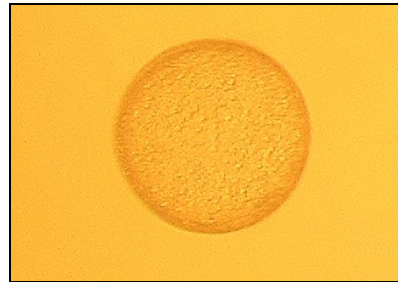
Было установлено, что у крупных эмбрионов (старше 8 суток, размер более 1200 мкм) после 24 часов гипотермического хранения клеточный пласт под оболочкой темнеет и сморщивается (рисунок 20 а). В обоих случаях пересадки этих эмбрионов не дали положительного результата.

Таблица 15 - Результаты окрашивания или пересадки охлажденных эмбрионов

Среды	n	Диаметр эмбрионов, мкм	Морфологическая оценка после охлаждения, баллов	Результат
Окрашивание голубым Эванса				мертвых клеток, %
Среда 8	1	250	4-	0
Ham's F10+ Hepes	1	1150	3	1%
Среда 9	2	175-250	4-5-	0%
(Ham's F12+ Hepes)	4	450-675	5-	0%
	1	1200	3-4	0%
Пересадка реципиенту				зажеребляемость, %
Среда 9	3	200-350	3	0 (0/3)
(Ham's F12+ Hepes)	5	500-800	5-	40 (2/5)
	2	1200-1800	3	0 (0/2)
Итого	17	-	-	-



а)



б)

Рисунок 20 - Эмбрионы после 24 часов хранения при температуре плюс 5°C: а) возраст 8,5 суток, диаметр 1200 мкм, б) возраст 7,5 суток, диаметр 500 мкм.

Морфологическая (5-балльная) оценка мелких эмбрионов (6,5-7-суточного возраста, размер 175-250 мкм) после гипотермического хранения была в целом ниже, чем у 7,5-8-суточных эмбрионов. 2 пересадки эмбрионов в возрасте 6,5 и 7,5 суток оказались безрезультатными.

Проведенные экспериментов показали, что наиболее подходящей фазой для хранения эмбрионов в охлажденном состоянии в испытанной среде (Ham's F12 с Hepes) является возраст 7,5-8 суток, когда размер эмбриона укладывается в диапазон 450-800 мкм (рисунок 20 б). Из семи эмбрионов, выдержанных при

плюс 5°C в течение 24 часов, шесть имели оценку 4-5 баллов, и один – оценку 3 балла. Пять пересадок эмбрионов этой группы принесли в двух случаях положительный результат.

Окрашивание семи эмбрионов красителем голубой Эванса не выявило глубоких повреждений на клеточном уровне в результате воздействия гипотермии. Единичные окрашенные клетки были обнаружены только у охлажденного крупного эмбриона диаметром 1150 мкм. В остальных случаях мертвых (окрашенных) клеток в эмбрионах не наблюдали, несмотря на присутствие в них внешних морфологических признаков снижения качества под световым микроскопом (небольшое отслоение оболочки, вмятины, неровности клеточного пласта). Вероятно, процессы клеточной гибели в результате воздействия гипотермии наступают в эмбрионах позднее и отмеченные морфологические изменения могут иметь обратимый характер.

**Заключение.** Полученные результаты дают основание полагать, что испытанная среда обеспечивает сохранность клеток в 7,5-8 суточных эмбрионах в условиях гипотермии в течение 24 часов. Этот факт подтверждают результаты морфологической оценки и окрашивания эмбрионов витальным красителем голубой Эванса, а также 2 случая зажеребляемости от пересадки охлажденных эмбрионов данного возраста.

#### 3.1.3.4 Криоконсервация эмбрионов

На данном этапе исследований нами была решена задача разработать метод криоконсервации эмбрионов лошадей на основе собственных криопротективных сред. Были проведены эксперименты по определению воздействия криопротектора и режима замораживания (медленный и ультрабыстрый) (приложение И) на сохранность клеток в эмбрионе после оттаивания (таблица 16). Опыты с поэтапным введением-выведением (0%-10%-20%-30%-40%-30%-20%-10%-0%) криопротектора без замораживания (среда 5) показали, что клетки начинают гибнуть в эмбрионе уже на этапе насыщения криопротектором. Кроме

того, эмбрионы крупнее 350 мкм в диаметре оказались более уязвимыми по отношению к стресс-фактору (таблица 16, рисунок 21).

Та же закономерность прослеживалась и в эмбрионах после замораживания-оттаивания (рисунки 22, 23). Оба режима криоконсервации вызывали клеточную гибель.

Таблица 16 - Результаты оценки качества эмбрионов на различных этапах криоконсервации методами дифференциального окрашивания

Среды	n	Диаметр эмбрионов	Результат окрашивания, % мертвых клеток
<b>Окрашивание витальным красителем Голубой Эванса</b>			
<b>Контроль (свежие эмбрионы):</b>			
Оценка 5 (жизнеспособный)	5	160- 850	0%
Оценка 3 (сомнительный)	5	160-1000	0-30%
Оценка 1 (погибший)	10	150-1250	100%
<b>Проводка по криопротекторам без замораживания</b>			
Среда 5 (ЭГ <sup>3)</sup> + ДМСО <sup>2)</sup> ) на ФБС <sup>5)</sup> +С <sup>6)</sup>	4	<350	1-25%
	3	>350	15-80%
<b>Программное замораживание</b>			
Среда 5 (ЭГ+ДМСО) на ФБС+С	3	<350	2-50%
	2	>350	35-55%
<b>Витрификация</b>			
Среда 2 (ДМСО) на МЖС <sup>1)</sup> +С	2	480-960	0%
Среда 3 (ЭГ+ДМСО) на МЖС+С	3	950-1275	35-80%
Среда 4 (Г <sup>4)</sup> ) на МЖС	4	640-950	10-95%
Среда 5 (ЭГ+ДМСО) на ФБС+С	6	<350	5-70%
	5	>350	30-98%
Среда 6 (ЭГ+Г) на ФБС+С	5	<350	3-5%
	5	650	40%
Среда 7 (EquiPro® Vit-Kit™)	1	650	2-3%
<b>Окрашивание флуо- и ДНК-красителями (КФМ*)</b>			
Среда 5 (ЭГ+ДМСО) на ФБС +С	7	400-625	1-живой, 1-условно живые, 5-погибшие
Среда 3 (ЭГ+ДМСО) на МЖС	2	600	1-условно живой, 1- погибший
Итого	69		
<p>Примечание: * КФМ – конфокальная лазерная микроскопия</p> <p><sup>1)</sup> МЖС- авторская культуральная среда : 50% молока+50% желтка</p> <p><sup>2)</sup> ДМСО – диметилсульфоксид</p> <p><sup>3)</sup> ЭГ – этиленгликоль</p> <p><sup>4)</sup> Г – глицерин</p> <p><sup>5)</sup> ФБС – фосфатно-солевой буферный раствор Дюльбекко</p> <p><sup>6)</sup> С – сахараза</p>			

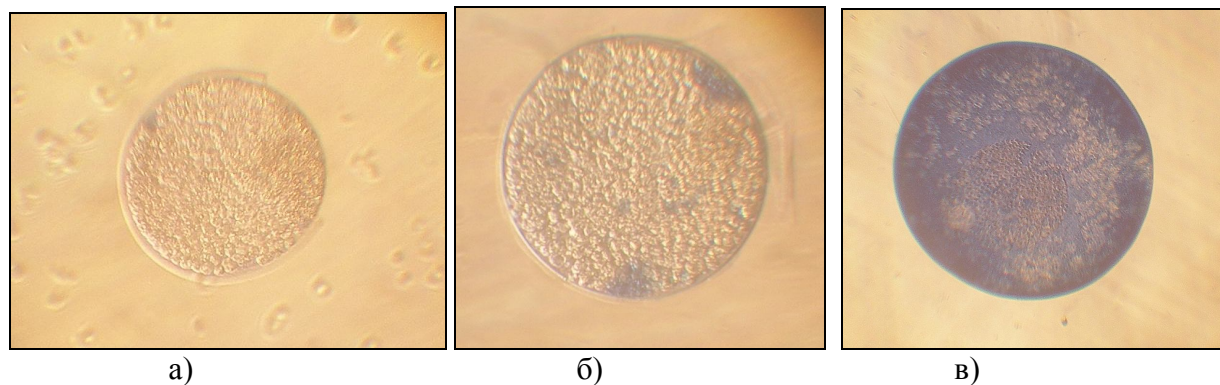


Рисунок 21 - Эмбрионы после проводки по криопротекторам (окрашивание голубым Эванса):  
 а) возраст 7 суток, 175 мкм, б) возраст 7 суток, 275 мкм в) возраст 8 суток, 600 мкм.  
 Погибшие клетки окрашены в синий цвет

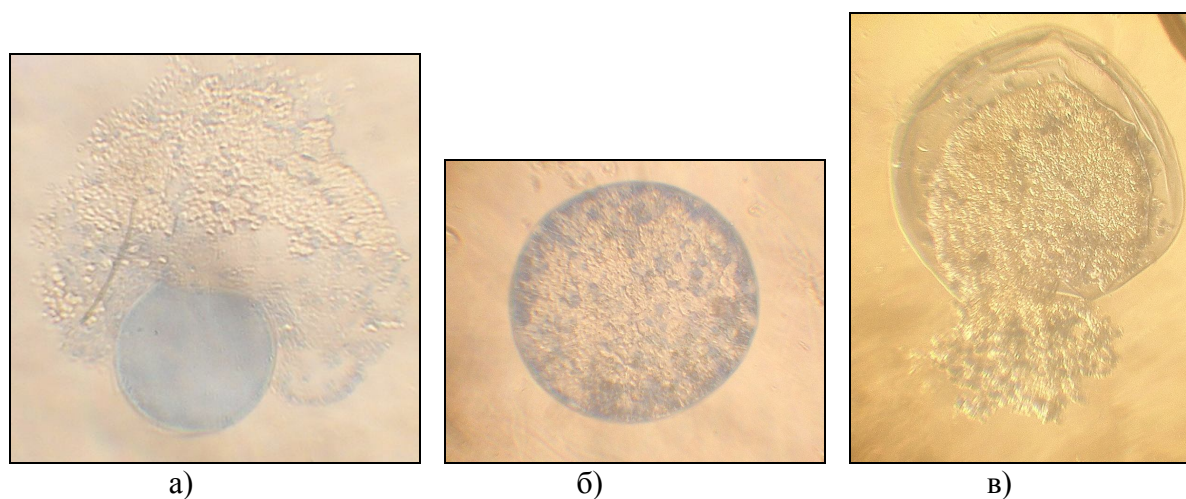


Рисунок 22 - Результат программного замораживания (окрашивание голубым Эванса): а)  
 эмбрион 6,5 суток, 275 мкм; б) эмбрион 7 суток, 250 мкм; в) эмбрион 8 суток, 500 мкм.  
 Погибшие клетки окрашены в синий цвет

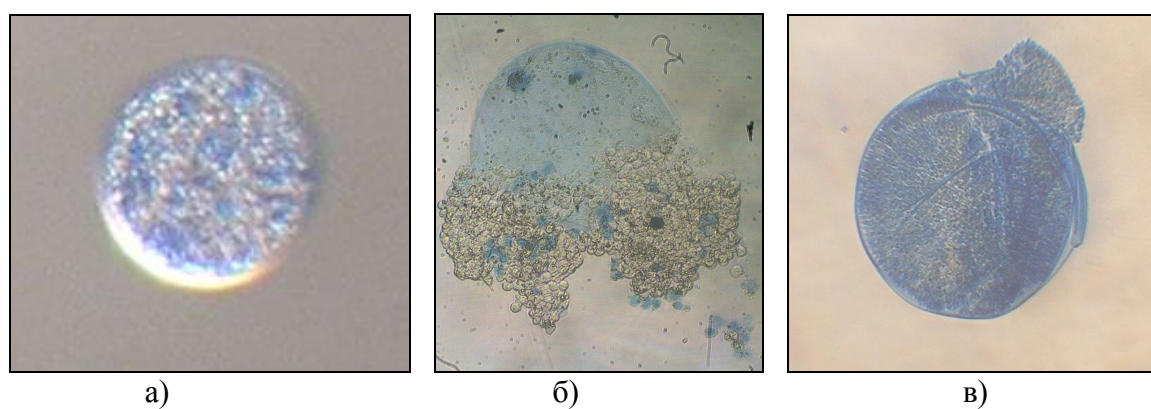


Рисунок 23 - Результат витрификации (окрашивание голубым Эванса):  
 а) эмбрион 6,5 суток, 175 мкм; б) эмбрион 6,5 суток, 225 мкм; в) эмбрион 8 суток, 550 мкм.  
 Погибшие клетки окрашены в синий цвет

В группе программного замораживания она составила 2-50%, а в группе витрификации 10-95%. Количество погибших клеток возрастало с увеличением размера/возраста эмбрионов (таблица 16). Эти наблюдения согласовывались с результатами исследований зарубежных авторов [227, 309, 290].

В опытах по витрификации (ультрабыстрого замораживания путем погружения соломинки с эмбрионом в жидкий азот) было апробировано шесть вариантов криопротективных сред собственного приготовления (таблица 17). Использование в качестве основы для них среды МЖС, разработанной ранее для культивирования 7,5-8 дневных эмбрионов (50% молока и 50% желтка), с различными криопротекторами (среды 2, 3, 4) подходило только для работы с крупными эмбрионами (более 500 мкм в диаметре), поскольку мелкие эмбрионы в непрозрачной МЖС-среде не видны. Однако после размораживания и последующего 24-часового культивирования в чистой МЖС-среде ни один из 8 витрифицированных эмбрионов не показал признаков роста и развития.

Опыты по витрификации эмбрионов были перенесены на прозрачные среды на основе ФБС Дюльбекко, что позволило приступить к извлечению более ранних (6,5-7 дневных) эмбрионов диаметром 150-350 мкм. Результаты окрашивания витрифицированных эмбрионов в средах 5 и 6 показали, что наилучшая сохранность клеток (2-5% погибших) наблюдается в эмбрионах диаметром менее 350 мкм.

На основе морфологической оценки и результатов окрашивания эмбрионов были проведены опыты по трансплантации витрифицированных эмбрионов кобылам-реципиентам (таблица 17).

Пересадки эмбрионов, витрифицированных в средах на основе МЖС (среды 1, 2, 3, 4) ни в одном случае они не дали положительного результата. Витрификация в среде 5, содержащей ЭГ и ДМСО, несмотря на высокую сохранность клеток в опытах по окрашиванию (таблица 16), также не завершилась приживлением эмбрионов после пересадки.

Замена ДМСО в витрификационной среде на глицерин и разработка собственной технологии серийного приготовления комплекта витрификационных



сред (среда 6) в лабораторных условиях на основе реактивов от российских поставщиков принесли хорошие результаты. Уровень сохранности витрифицированных в этой среде эмбрионов после оттаивания, выведения криопротектора и окрашивания голубым Эванса был высоким (95-97% живых клеток).

Таблица 17 – Результаты пересадки эмбрионов в опытах по витрификации эмбрионов в различных средах

Витрификационные среды	Число пересадок	Диаметр эмбрионов	Зажеребляемость после пересадки, %
Контрольная пересадка свежих эмбрионов	2	880-960	100% (2/2)
<b>Витрификация эмбрионов</b>			
Среда 1 МЖС <sup>1)</sup> без криопротектора	1	600	0 % (0/1)
Среда 2 (ДМСО <sup>2)</sup> ) на МЖС	17	380-960	0 % (0/17)
Среда 3 (ЭГ <sup>3)</sup> +ДМСО) на МЖС	3	725-950	0% (0/3)
Среда 4 (Г <sup>4)</sup> ) на МЖС	5	640-1700	0 % (0/5)
Среда 5 (ЭГ+ДМСО) на ФБС <sup>5)</sup>	7	<350	0 (0/7)
	11	>350	0 (0/11)
Среда 6 (Г+ЭГ) на ФБС+С	4	<350	50.0 % (2/4)
Среда 7 (EquiPro® Vit-Kit™)	9	<350	11.1% (1/9)
Итого	68		
Примечание: <sup>1)</sup> МЖС- авторская культуральная среда : 50% молока+50% желтка <sup>2)</sup> ДМСО – диметилсульфоксид <sup>3)</sup> ЭГ – этиленгликоль <sup>4)</sup> Г – глицерин <sup>5)</sup> ФБС – фосфатно-солевой буферный раствор Дюльбекко <sup>6)</sup> С – сахара			

В 2010 году из Германии были привезены инструменты для пересадки и запатентованный набор сред для витрификации эмбрионов лошадей EquiPro® Vit-Kit™ фирмы Minitube (рисунок 24), что позволило провести сравнительные опыты по трансплантации эмбрионов, витрифицированных в средах импортного и авторского производства. Для этих экспериментов были отобраны эмбрионы 6,5-7 суточного возраста, не превышающие в диаметре 350 мкм.



Рисунок 24 - Набор Vit-Kit (Minitube, Германия) для витрификации эмбрионов лошадей

В результате исследований была получена одна зажеребляемость в 10 пересадках эмбрионов, витрифицированных по технологии “Vit-Kit” (рисунок 25). Но нормальный доношенный жеребенок задохнулся в пузыре при родах, что никак не связано с качеством пересаженного эмбриона. Неудачи в остальных пересадках, возможно, были связаны с несоблюдением режима хранения сред при транспортировке в Россию. Поэтому полученный низкий результат не может быть отнесен к недостаткам запатентованной имортной технологии.

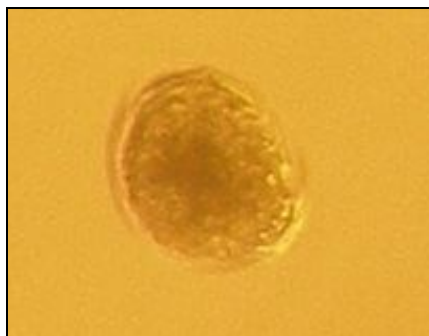


Рисунок 25 – Эмбрион, витрифицированный по технологии “Vit-Kit”, после оттаивания, перед пересадкой реципиенту

Четыре пересадки эмбрионов, витрифицированных в среде собственного приготовления (среда б) сразу дали две зажеребляемости (50%) (рисунок 26).

В результате, в 2012 году на экспериментальной конюшне ВНИИ коневодства родились первые в России жеребята от пересадки витрифицированных эмбрионов (рисунок 27).

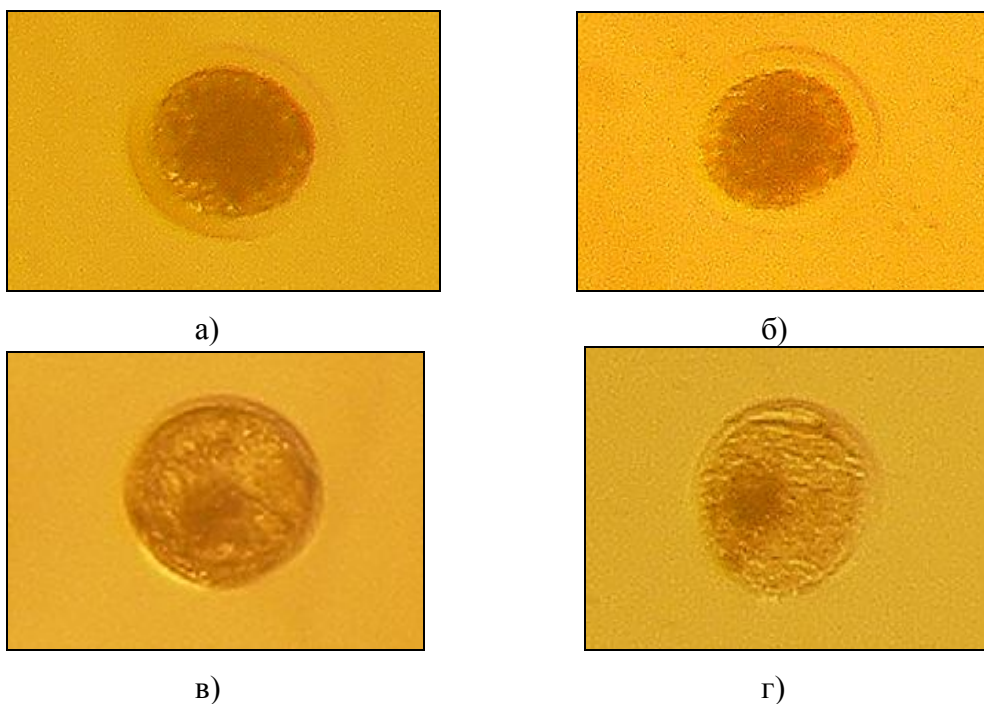


Рисунок 26 - Отечественная технология криоконсервации. Два эмбриона, которые прижились после витрификации в средах авторского производства: а), в) перед замораживанием б), г) после оттаивания, перед пересадкой реципиенту



Жеребчик Кристалл



Кобылка Крионика

Рисунок 27 - Жеребята, полученные после пересадки витрифицированных эмбрионов с использованием авторской криопротективной среды

**Заключение.** Усовершенствованные способы оценки жизнеспособности эмбриональных клеток, модернизация отдельных технологических приемов подготовки кобыл-доноров и реципиентов, развитие методов извлечения,

культивирования и подготовки эмбрионов к трансплантации, а также отработка методик их витрификации позволила создать доступную технологию размножения ценных генотипов лошадей методом трансплантации свежих, охлажденных и замороженных эмбрионов. Ключевым звеном в данной технологии является разработанная нами в ходе экспериментов авторская криопротективная среда, которая обеспечивает высокую сохранность живых клеток после витрификации и пригодна для криоконсервации 6,5-7-дневных эмбрионов лошадей.

### 3.2 Комплексная оценка функционального состояния репродуктивных органов кобыл

Процесс воспроизводства в коневодстве является одним из наиболее значимых с позиции селекционной и экономической оценок. Особо важное значение этому технологическому звену придается в коннозаводстве, где назначение в воспроизводство молодых кобыл имеет строго индивидуальный характер, а приобретение и содержание маточного поголовья стоит значительных средств. Передержка свыше года холостых маток и недополучение части приплода по причинам нарушений репродуктивной функции у кобыл в этих условиях недопустимы. В связи с этим особую актуальность имеет создание эффективной системы оценки состояния половых органов, диагностики, профилактики и лечения гинекологических заболеваний, а также контроля и оптимизации данной функции с помощью гормональных средств. Целью наших исследований в этом направлении явилась разработка наиболее информативного метода оценки состояния воспроизводительной системы кобыл с использованием современных средств диагностики и регулирование репродуктивной функции с помощью гормональных и терапевтических средств.

### 3.2.1 Визуальный осмотр наружных половых органов

В ходе исследований в этом направлении с 2002 по 2016 год проводили оценку состояния наружных половых органов у 380 кобыл. Из них у 113 голов был выявлен ряд патологических отклонений от нормы (таблица 18).

На базе двух племенных конных заводов (ООО «Рязанский конный завод» ЗАО «конный завод Локотской») совместно с Е.В. Солодовой (2017) нами были проведены исследования по определению влияния состояния наружных половых органов кобыл на их плодовую карьеру.

Таблица 18 - Виды патологий, обнаруженных при осмотре наружных половых органов кобыл

Виды патологий	Встречаемость, гол.	
	n	%
1.Глубокое западение ануса	29	25,7
2.Гиперемия слизистой преддверия влагалища при отсутствии охоты	33	28,2
3.Выделения, истечения из вульвы (или следы)	28	24,8
4.Зияние половой щели	6	5,3
5.Шрамы, разрывы, повреждения вульвы и промежности	5	4,4
6.Следы герпес вирусной инфекции на вульве и промежности	12	10,6
Итого случаев	113	100

При наружном осмотре определяли общее состояние и конфигурацию вульвы и промежности, характер расположения линии «анус-верхняя треть вульвы» по отношению к вертикали (рисунок 28). К категории потенциально проблемных относили кобыл с отклонением этой линии в краниальном направлении более чем на 10°.

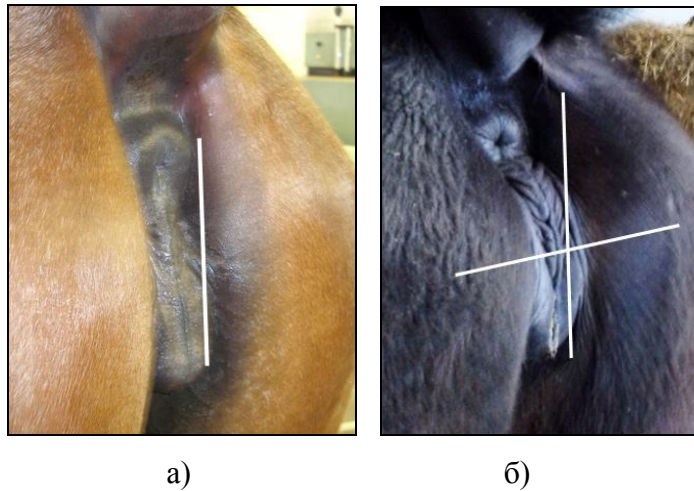


Рисунок 28 - Строение наружных половых органов кобыл (краниальный уклон вульвы):  
а) норма, б) патология

Всего в Локотском конном заводе было обследовано 107 кобыл производящего состава, в том числе 35 голов, импортированных из Европы и США. По результатам исследования кобыл разделили на 3 группы, в соответствии с характером строения наружных половых органов: 1) без уклона вульвы, 2) уклон вульвы меньше  $10^\circ$  и 3) уклон вульвы больше  $10^\circ$ . У 6 кобыл была проведена операция Каслика по ушиванию вульвы (1 группа – 2 головы, 2 группа – 3 головы, 3 группа – 1 голова). В Рязанском конном заводе обследовали 22 кобылы, из которых сформировали 2 группы: без уклона вульвы и с уклоном вульвы больше  $10^\circ$ .

В Локотском конном заводе половину (51,4%) составляли кобылы с нормальным (прямым) строением линии «анус-вульва», с легким уклоном меньше  $10^\circ$  - 42 головы (39,2%), с сильным западением ануса больше  $10^\circ$  – 10 голов (9,3%). Во все трех группах среднее число плодовых лет на 1 кобылу составило 4,1-4,5 года. В Рязанском конном заводе из 22 кобыл 12 голов (54,5%) имели краниальный уклон вульвы больше  $10^\circ$ , у 10 кобыл (45,5%) было нормальное строение линии «анус-вульва». Число плодовых лет на кобылу в группе проблемных кобыл было в два раза больше, чем в группе с нормальным строением вульвы (6,9% и 3,4%, соответственно). По всем исследованным кобылам были обобщены данные о результатах их плодовой деятельности в течение всего периода использования в маточном составе.

Результаты статистической обработки материала приведены в таблице 19 и на рисунках 29 и 30.

Таблица 19 - Показатели воспроизводства кобыл с разным строением наружных половых органов

Степень уклона вульвы у кобыл	Голов	Плодовых лет		Зажеребляемость		Аборты, с/р, м/р*		Выход жеребят	
		n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Локотской конный завод</b>									
1 Норма	55	225	4,1	184	81,8	27	12,0	157	69,8
2. <10°	42	190	4,5	155	81,6	20	10,5	135	71,1
3. >10°	10	45	4,5	36	80,0	6	13,3	30	66,7
<b>Всего</b>	<b>107</b>	<b>460</b>	<b>4,3</b>	<b>375</b>	<b>81,5</b>	<b>53</b>	<b>11,5</b>	<b>322</b>	<b>70,0</b>
<b>Рязанский конный завод</b>									
1. Норма	10	34	3,4	25	73,5	5	14,7	20	58,8
2. >10°	12	83	6,9	62	74,7	4	4,8	58	69,9
<b>Всего</b>	<b>22</b>	<b>117</b>	<b>5,3</b>	<b>87</b>	<b>74,4</b>	<b>9</b>	<b>7,7</b>	<b>78</b>	<b>66,7</b>
Примечание - *с/р слаборожденные, м/р мертворожденные жеребята									

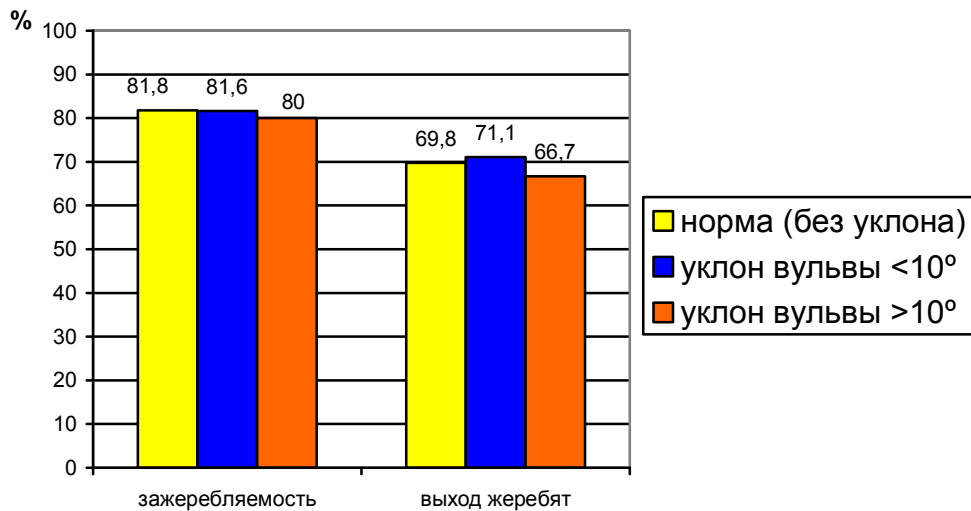


Рисунок 29. Показатели плодовой деятельности кобыл, в зависимости от строения наружных половых органов (краниальный уклон вульвы) в Локотском конном заводе (Брянская область)

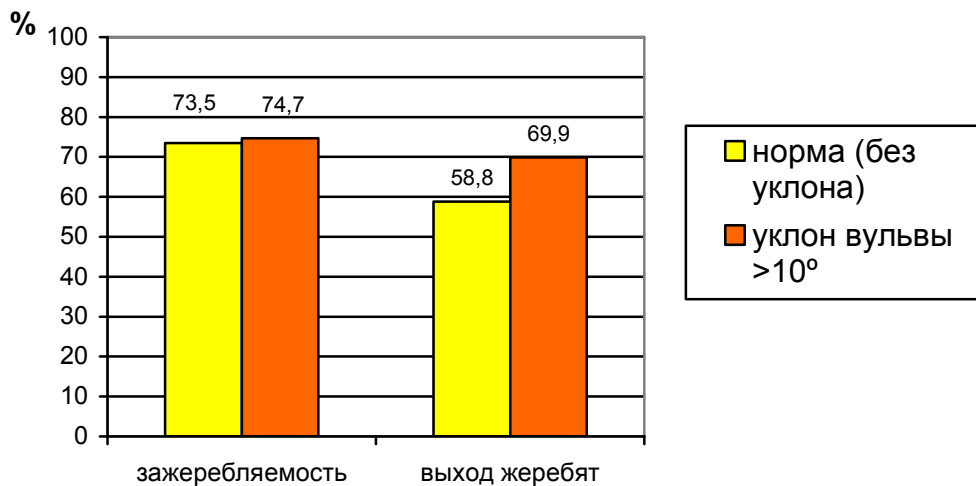


Рисунок 30 - Показатели плодовой деятельности кобыл, в зависимости от строения наружных половых органов (краниальный уклон вульвы) в Рязанском конном заводе (Рязанская область)

Как выяснилось в результате анализа, показатели зажеребляемости в обоих заводах в среднем по всем группам кобыл оказались практически одинаковыми: 80,0-81,8% - в Локотском и 73,5-74,7% - в Рязанском. Выход жеребят в Локотском заводе в третьей группе был на 3,1% ниже, чем в первой и на 4,4% ниже, чем во второй группе. В Рязанском заводе разница между группами по этому показателю составила 10,1% в пользу проблемных кобыл. И в том, и в другом случае различия между группами статистически недостоверны. Таким образом, можно заключить, что факт наличия краниального уклона вульвы более 10° у кобыл не является существенной причиной снижения их плодovitости.

Нами был изучен характер возрастных изменений положения ануса и верхней части вульвы в связи с их влиянием на показатели плодовой деятельности кобыл. Анализ показал, что в Локотском конном заводе в каждой из трех выделенных групп имелись матки всех возрастных категорий, однако при этом доля кобыл старше 10 летнего возраста последовательно возрастала от первой группы к третьей: 19,6, 35,7 и 60%, соответственно. В Рязанском конном заводе наблюдали сходную картину. В группе кобыл с нормальным строением наружных половых органов 4 кобылы из 10 (40%) были старше 10-летнего возраста. В проблемной группе таких кобыл оказалось 11 из 12 (91,7%). Следовательно, частота появления данного отклонения в строении наружных половых органов у



кобыл прямо связана с их возрастом. Очевидно, что именно возраст маток и является основным лимитирующим фактором плодовитости, что подтверждено специальным исследованием [338, 360].

Мы провели исследование плодовой деятельности кобыл во всех группах по годам использования в воспроизводстве, т.е. фактически с учетом возраста. Как установлено в ходе анализа, тенденция в изменении плодовитости во всех трех группах не имеет выраженной связи с особенностями в строении наружных половых органов у кобыл (таблица 20, рисунки 31, 32).

Таблица 20 - Показатели воспроизводства кобыл с разным строением наружных половых органов в Локотском (1999-2015 годы) и Рязанском (1999-2011 годы) конных заводах по годам использования в маточном составе

Показатели воспроизводства	Период использования, годы				
	с 1 по 3	с 4 по 6	с 7 по 9	с 10 по 13	свыше 14
Группа 1 (без уклона вульвы)					
<i>Локотской к/з</i>					
зажеребляемость,%	78,3	89,7	89,3	71,4	-
выход жеребят,%	75,0	74,1	71,4	57,1	-
число плодовых лет, n	120	58	28	7	3
<i>Рязанский к/з</i>					
зажеребляемость,%	84,2	77,8	60,0	-	-
выход жеребят,%	68,4	55,6	40,0	-	-
число плодовых лет, n	19	9	5	-	-
Группа 1а (уклон вульвы меньше 10°)					
<i>Локотской к/з</i>					
зажеребляемость,%	84,8	90	73,7	88,9	28,6
выход жеребят,%	81,5	82,5	68,4	72,2	28,6
число плодовых лет, n	92	40	19	18	7
Группа 2 (уклон вульвы больше 10°)					
<i>Локотской к/з</i>					
зажеребляемость,%	80	90,9	62,5	83,3	-
выход жеребят,%	66,7	90,9	50	83,3	-
число плодовых лет, n	17	11	8	6	-
<i>Рязанский к/з</i>					
зажеребляемость,%	71,9	75,0	75,0	100	-
выход жеребят,%	59,4	71,4	75,0	100	-
число плодовых лет, n	32	28	20	2	-
Всего плодовых лет, n					
<i>Локотской к/з</i>	229	109	55	31	10
<i>Рязанский к/з</i>	51	37	25	2	-

Наиболее высокий уровень плодовитости наблюдается во всех трех группах у кобыл в первые 6 лет использования, то есть, приблизительно, с 4 до 10 летнего возраста.

Однако число кобыл в группах резко снижается после 3-4 года репродуктивной карьеры, что, вероятно, объясняется постепенным выбытием менее ценных или проблемных маток. По этой причине на 7-9 годы использования показатели воспроизводства все еще высокие, и даже 14-16летние кобылы, оставшиеся в маточном составе Локотского к/з, демонстрируют высокую зажеребляемость на уровне 83-84% (группы 1а и 2). Однако, выход жеребят у старых кобыл снижается (57,1-68,4%), за исключением группы 2 (83,3%), в которой у двух учтенных кобыл между 11 и 13 годом использования был годичный отдых, а третья кобыла выбыла из группы к 12 году.

В Рязанском к/з в группе кобыл с нормальным строением вульвы показатели воспроизводства также постепенно снижаются к 7-9 году использования (зажеребляемость 84,2 - 77,8 - 60,7%, выход жеребят 68,4 - 55,6 - 40,0%). В группе проблемных кобыл, зажеребляемость сохраняется, примерно, на одном уровне (71,1 - 75,0%). Динамика выхода жеребят при этом имеет характер плавного роста (59,4 - 71,4 - 75%) от первого до последнего года использования кобыл в воспроизводстве. Следует добавить, что в этой группе все кобылы, включая самых старых (5 голов 1999-2002 годов рождения), благополучно ожеребились в 2016 году, в том числе 2 кобылы в возрасте 15 и 16 лет (кобыла Хлопика, рисунок 28 б).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что отмеченная возрастная тенденция затягивания ануса и верхней части вульвы в краниальном направлении у племенных кобыл не связана напрямую со снижением их фертильности. Отклонения в конфигурации ануса и вульвы, при условии нормальной работы остальных защитных барьеров и более глубоких отделов генитального аппарата кобыл, не оказывают существенного влияния на воспроизводительные качества.

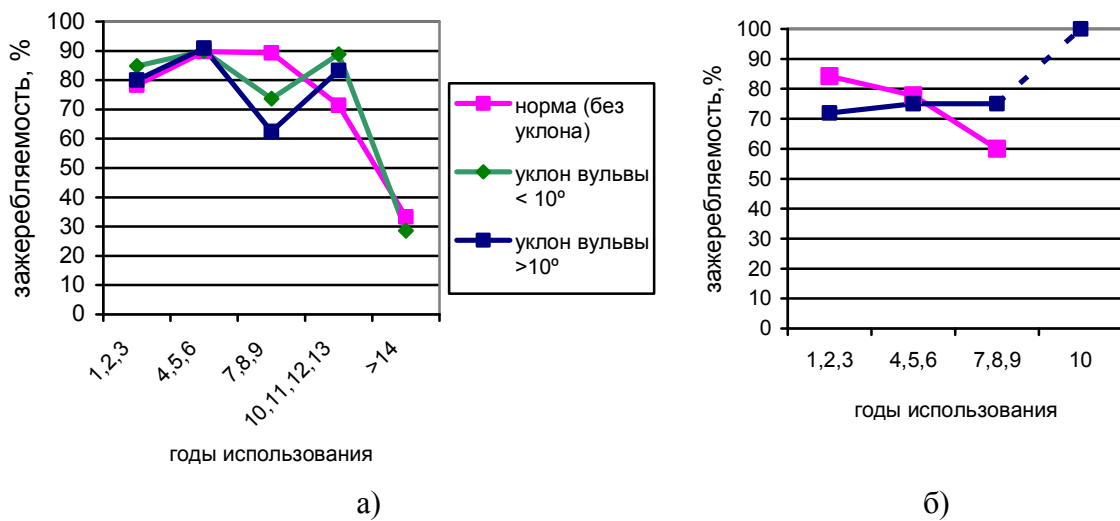


Рисунок 31 - Зажеребляемость кобыл по годам использования: а) в Локотском конном заводе, б) в Рязанском конном заводе

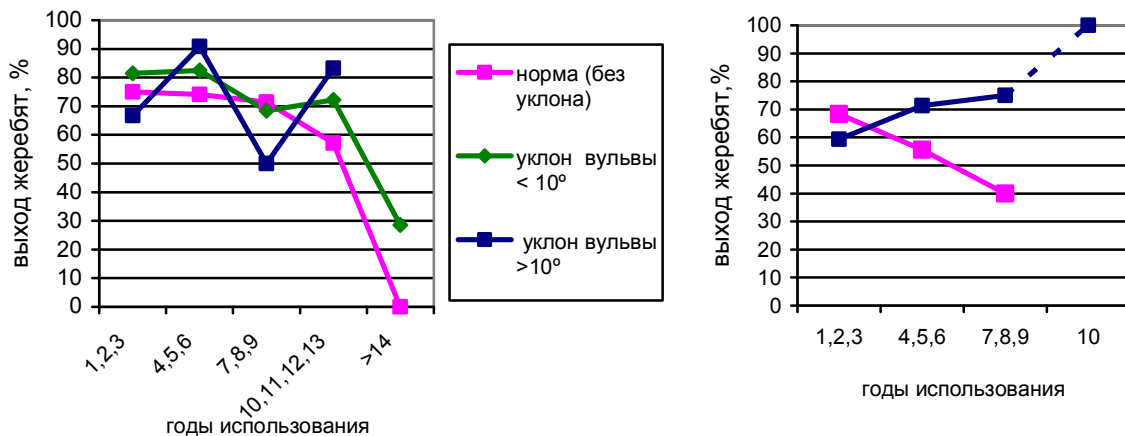


Рисунок 32 - Выход жеребят по годам использования кобыл: а) в Локотском конном заводе, б) в Рязанском конном заводе

Другая выявленная аномалия наружных половых органов у кобыл - зияние половой щели (некомпетентность наружного защитного барьера на уровне вульвы) - в сочетании со звуком втягиваемого в нее воздуха ассоциировалось в наших исследованиях с признаками пневмо- и утеровагины. Попытка медикаментозного лечения этого заболевания в опытах оказалась безуспешной. Вместе с тем известно, что этот дефект негативно влияет на воспроизводительную функцию кобыл в связи с повышенной доступностью для микробной контаминации генитального тракта. Следовательно, наличие у кобылы такой

аномалии может явиться причиной для исключения её из племенного использования.

Наиболее серьезными причинами для отстранения кобылы от случки или искусственного осеменения, как показали наши исследования, являются гиперемия слизистой преддверия влагалища (в отсутствие эструса) и выделения/истечения (или следы выделений) из вульвы (рисунок 33 а), которые прямо указывают на воспалительный процесс в матке или влагалище. Такие кобылы являются кандидатами на прохождение тщательного исследования остальными методами репродуктивной оценки для выявления локализации, масштаба и источника воспаления.

К разряду кобыл, которых нельзя допускать к случке, относятся также кобылы с признаками герпес вирусной инфекции (тип 1 - ринопневмония и тип 3 - коитальная экзантема) (рисунок 33 б). В наших экспериментах по эмбриотрансплантации ни в одной из пяти попыток не удалось извлечь нормальный эмбрион из кобылы со следами этой инфекции.



а)

б)

Рисунок 33 – Наружный осмотр: а) выделения из вульвы (фото И.Шмелевой), б) герпес вирусная инфекция (фото автора)

**Заключение.** 1) Экспериментально показано, что прогноз потенциальной плодовитости кобыл на основании строения наружных половых органов (степень краниального уклона вульвы) не является достоверным. Средние показатели зажеребляемости и выхода жеребят в группе кобыл с уклоном вульвы больше 10°

(Локотской к/з 80,0 и 66,7%, соответственно) не имеют достоверных различий с группой кобыл нормального строения (81,8 и 69,8 %) и небольшого, менее 10°, (81,6 и 71,1%) уклона вульвы. Этот дефект наружных половых органов у кобыл прогрессирует с возрастом, который и является лимитирующим фактором их использования в разведении. Однако при условии нормальной работы более глубоких защитных барьеров генитального аппарата кобыл, данный дефект не препятствует работе с ними в воспроизводстве.

2) Осмотр наружных половых органов кобыл в системе комплексной репродуктивной оценки дает достаточную информацию для выявления таких существенных патологий, как воспаление полового тракта и пневмовагина, и является основанием для отстранения кобыл от случки с целью дальнейшего исследования и лечения.

### 3.2.2 Ректальная пальпация

Оценка информативности и эффективности применения метода ректального исследования (по Х. И. Животкову, Г. В. Паршутину, П. Н. Скаткину) в процессе воспроизводства племенных лошадей нами экспериментально проводилась в течение 27 лет (более 20000 исследований). По результатам проведенной работы было подтверждено, что метод ректальной диагностики является высокоточным экспериментальным способом исследования функционального состояния матки и яичников кобыл. Он позволяет пальпировать фолликулы и желтые тела в яичниках, с высокой точностью определять фазу полового цикла и овуляцию, диагностировать жеребость и ее сроки, а также выявлять некоторые аномалии строения и патологические состояния матки и яичников. Основными критериями диагностики служат размер, форма и консистенция фолликулов тонус и размер матки, наличие или отсутствие в ней флюктуации жидкости, размер, положение плодного пузыря и движение плода. Было выяснено и в последствие использовано в работе, что через прямую кишку можно также пальпировать шейку матки и определять ее положение, величину и степень расслабления (эструс/диэструс/анэструс). Незаменимыми возможностями ректального метода

является определение тонуса, размера, формы, плотности и консистенции внутренних половых органов.

На основании результатов ректальной пальпации в многочисленных экспериментах нами были выявлены патологии (n=172) воспроизводительной системы у исследованных кобыл. Наиболее точно идентифицированы аномалии (нарушения, патологии, отклонения от физиологической нормы), приведенные в таблице 21.

Таблица 21 - Виды патологий, обнаруженных при ректальной пальпации матки и яичников кобыл

Виды патологий	Встречаемость, гол.	
	n	%
1. Увеличенная и толстостенная матка у холостых кобыл, а также у ожеребившихся кобыл после 20 дня	54	31,4
2. Атоничная и опущенная в брюшную полость матка	32	18,6
3. Несоответствие размеров эмбрионального / плодного пузыря срокам жеребости	37	21,5
4. Флюктуация жидкости в матке у холостых кобыл	8	4,7
5. Плотные «склеротические» яичники без признаков фолликулярной активности в период физиологического случного сезона	6	3,5
6. Геморрагические фолликулы (в сочетании с поведенческими признаками в динамике)	9	5,2
7. Слабый тонус матки при 20-35-дневной жеребости	7	4,1
8. Высокий тонус матки в отсутствие жеребости	5	2,9
9. Гематома яичника (в динамике)	5	2,9
10. «Тупые» или «обрубленные» концы рогов матки	4	2,3
11. Новообразования в/на яичнике (гранулезная опухоль и киста, в динамике)	3	1,7
12. Воздух в матке (утеровагина)	1	0,6
13. Недоразвитая (инфантильная) матка и яичники	1	0,6
Всего	172	100

Заключения по результатам ректального исследования кобыл были нами сопоставлены с данными параллельного использования средств инструментальной диагностики (УЗИ), что позволило признать ректальный метод

обеспечивающим достаточно достоверную информацию о патологиях матки и яичников в случаях, пронумерованных выше в пунктах 1, 2, 5, 7, 8, 10, 13.

Флюктуация жидкости, воздух в матке (случаи 4, 12) становятся ощутимы во время ректального исследования только при достижении значительного объема, то есть в фазе активного развития воспалительного процесса или при свободном прохождении воздуха в генитальный тракт (пневмо- и утеровагина) В то же время посткоитальный эндометрит, начальные стадии или хроническая форма генитальных заболеваний не всегда поддаются определению ректальным методом. Геморрагические фолликулы, гематомы яичника и новообразования (случаи 6, 9, 11) требуют дополнительного уточнения диагноза с помощью ультразвуковой экспертизы о внутреннем содержимом этих структур. Несоответствие в размерах пальпируемого эмбрионального/плодного пузыря сроку жеребости (случай 3) – частое явление, поэтому необходимо использование УЗИ для определения точного возраста эмбриона/плода в соответствии со шкалой эмбрионального развития у лошадей.

**Заключение.** Метод ректальной диагностики является базовым и высокоинформативным при исследовании функционального состояния матки и яичников кобыл и должен быть обязательной составной частью комплексной репродуктивной оценки. При определенных видах патологий (посткоитальный эндометрит, хроническая форма генитальных заболеваний, гематомы, геморрагические фолликулы, опухоли яичников) требуется уточнение диагноза с помощью других методов исследования.

### 3.2.3 Вагиноскопия и мануальное исследование влагалища

Исследование с использованием данного метода проводили в течение 15 лет (2002-2016 годы). Всего исследовано 175 кобыл в разные фазы половой активности. Осмотр внутренних отделов полового тракта кобылы с помощью влагалищного зеркала (рисунок 34) дополняли последующей мануальной пальпацией (непосредственно рукой) стенки влагалища и канала шейки матки на предмет целостности и проходимости.

В **норме** у кобыл в эструсе (n=69) в процессе вагиноскопии отмечали блестящую гладкую, слегка красноватую слизистую влагалища с небольшим до обильного количеством прозрачной слизи, слегка отекшую и опущенную к нижнему своду шейки матки. При мануальном исследовании убеждались, что цервикальный канал полностью проходим и раскрыт на 1-4 пальца, в зависимости от стадии охоты.

В диэструсе (n=43) наблюдали бледную слизистую с более выраженной сетью кровеносных сосудов, плотно закрытую, узкую шейку матки, вдающуюся конусом в просвет влагалища и расположенную более центрально, вязкую слизь в небольшом количестве и затрудненное продвижение зеркала вглубь влагалища.

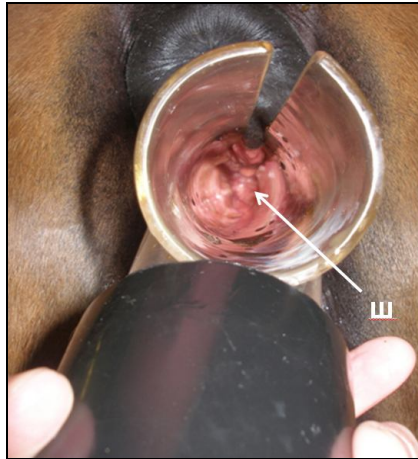


Рисунок 34 – Вагиноскопия (Ш - шейка матки)

В анэструсе (n=15) выявляли сухую и бледную с синюшным оттенком слизистую, с просвечивающей разветвленной сосудистой сетью, вялую, расслабленную шейку, отсутствие вагинального секрета.

С помощью данного исследования было идентифицировано семь видов патологий (таблица 22).

Отмеченные патологии (в частности, признаки воспаления полового тракта (пункт 1, 2) имели непосредственную связь с бесплодием, снижением уровня зажеребляемости и благополучной выжеребки у кобыл.



Таблица 22 - Виды патологий, обнаруженных при вагиноскопии и мануальном исследовании полового тракта кобыл

Виды патологий	Встречаемость, гол.	
	n	%
1. Гиперемия и отечность слизистой влагалища и шейки матки (в диэструсе) - воспаление	13	27,1
2. Наличие экссудата (от катарального до гнойного и кровянистого) и мочи в цервикальном канале и влагалище - воспаление	10	20,8
3. Нарушения работы цервикального и вестибуло-вагинального защитных барьеров (свободное прохождение зеркала и руки во влагалище, зияние шейки в диэструсе)	12	25
4. Разрывы, шрамы и кисты в цервикальном канале и влагалище	8	16,7
5. Тяжелый спаечный процесс во влагалище и шейке матки	2	4,2
6. Влагалищный варикоз	2	4,2
7. Персистентная девственная плева	1	2,0
Всего	48	100

С помощью вагиноскопии выявляли источник, характер и объем экссудата во влагалище при воспалении полового тракта. При этом отмечали сопутствующую гиперемию и отечность слизистой влагалища и шейки со следами выделений в цервикальном канале.

В одном случае искусственное осеменение оказалось невозможным, вследствие «прошивания» всего влагалища спайками, в другом – процесс зарастания спайками канала шейки матки требовал периодических проверок, восстановления его проходимости и лечения для дальнейшего использования кобылы в опытах (пункт 5). Тщательный мониторинг состояния шейки позволил неоднократно добиваться зажеребляемости кобылы и извлекать из матки эмбрионы.

Редкий случай персистентной девственной плевы (пункт 7) был диагностирован у 3-летней кобылы дистанционно, по описаниям наблюдений врача (ректальное, мануальное исследования) и фотографии (рисунок 35). Заочный диагноз оказался верным: плотный тканевой пласт перекрывал вход из

преддверия во влагалище и становился видимым снаружи лишь во время охоты у кобылы. Хирургическое удаление персистентной девственной плевы ветеринарным врачом открыло доступ к нормально развитым более глубоким отделам полового тракта и сделало возможным использование кобылы в воспроизводстве.

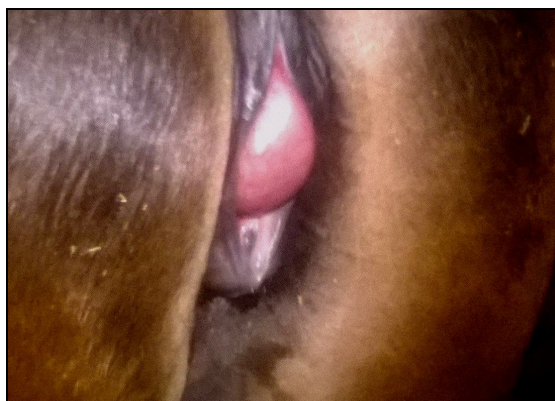


Рисунок 35 – персистентная девственная плева

В одном случае половом тракте была обнаружена моча (пункт 2) в результате повреждения сфинктера мочеиспускательного канала во время родов и затекания мочи во влагалище и матку.

В двух случаях (пункт 6) посредством вагиноскопии был обнаружен источник кровянистых выделений (влагалищный варикоз).

При введении зеркала во влагалище обращали пристальное внимание на легкость и характер звука при прохождении вестибуло-вагинального барьера. Отсутствие звука и свободное продвижение зеркала (или руки) во влагалище квалифицировали как плохую работу второго защитного барьера в половом тракте кобылы (пункт 3). Мануально отмечали также наличие разрывов, шрамов и кист в цервикальном канале и влагалище, препятствующих нормальной работе генитального аппарата (пункт 4) и степень смыкания шейки во время диэструса (показатель работы третьего защитного барьера, рисунок 14).

**Заключение.** По результатам проведенной диагностики сделано заключение, что метод вагиноскопии в сочетании с мануальным исследованием

влагалища и шейки матки обеспечивает дополнительную и важную информацию о полноценности протекания полового цикла, компетентности внутренних защитных барьеров, наличии патологий (спайки, разрывы, повреждения, воспаления полового тракта), нарушающих воспроизводительную функцию кобыл, и должен входить в число основных методов комплексной репродуктивной оценки кобыл.

#### 3.2.4 Цитологический метод

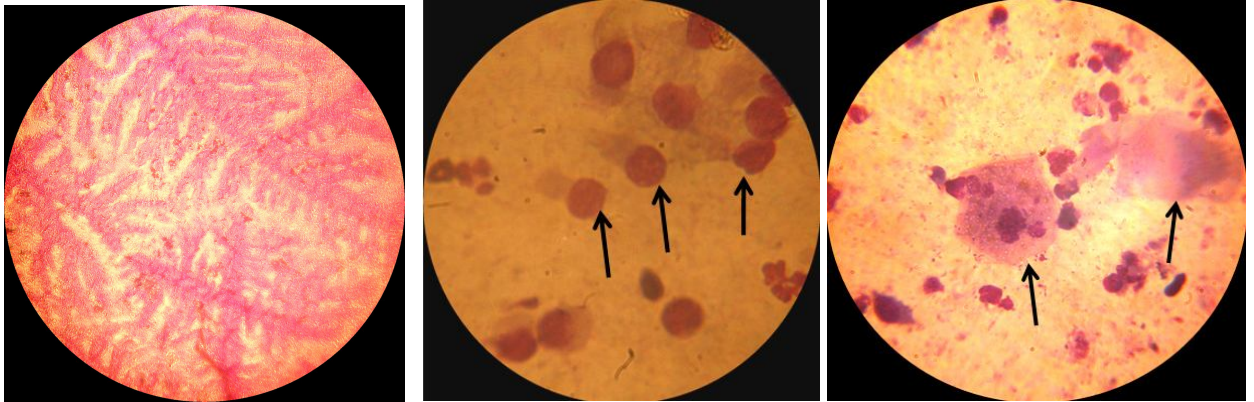
В течение 10 лет (2006-2015 годы) нами были собраны и проанализированы данные об основных видах клеток, присутствующих в мазках слизи, полученной из разных участков репродуктивного тракта кобыл в различные фазы полового цикла, в норме и патологии. Мазки из влагалища и шейки матки у жеребых кобыл не брали из-за риска нарушения стерильной среды в половых путях и внесения ятрогенной инфекции.

Всего было приготовлено и исследовано 430 цитологических препаратов, составлена коллекция из 150 слайдов с характерными цитологическими признаками нормального и патологического состояния полового тракта кобыл.

Цитологический анализ полученных материалов показал, что в эстральной фазе цикла влагалищная слизь имеет характерный рисунок, напоминающий листья папоротника (рисунок 36а). Этот признак отмечен О. В. Баковецкой, как характерный для предовуляторной стадии зрелости фолликула [8, 7].

У гинекологически здоровых кобыл в начале эструса в цервикальном мазке присутствуют эпителиальные клетки, преимущественно ассоциированные в широкие клеточные пласты. Они имеют характерную вытянутую форму, с базальным расположением ядра и цитоплазмой, напоминающей «шлейф» (рисунок 36 б). Это клетки плоского эпителия, имеющие в начале эструса многочисленные реснички на конце «шлейфа». Позднее реснички опадают, образуя клеточный дебрис. Вагинальные эпителиальные клетки более крупные, с большим количеством цитоплазмы и интенсивно окрашенным ядром.

Характерным признаком для них являются острые (незакругленные) края. Это чешуйчатый тип клеток (рисунок 36 в).



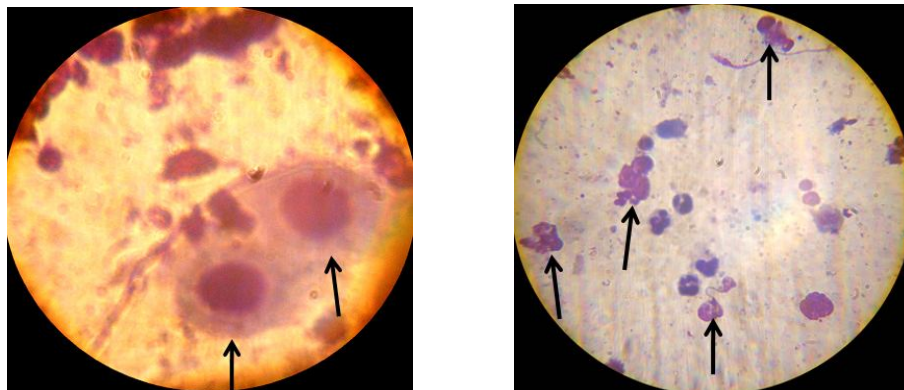
а)

б)

в)

Рисунок 36 – Эструс. Цитологические образцы: а) – цервикальная слизь, б) клетки плоского эпителия, в) две вагинальные чешуйчатые клетки

К середине диэструса форма эпителиальных клеток становится менее вытянутой, ближе к эллипсоидной. Ядро в них перемещается ближе к центру (рисунок 37а). Они частично набухают и постепенно дегенерируют, в результате чего в мазке появляются одиночные полуразрушенные ядра эпителиальных клеток на разных стадиях деградации (рисунок 37 б). Слизистый секрет становится вязким и теряет «папоротникообразный» рисунок.



а)

б)

Рисунок 37 – Диэструс. Цитологические образцы:  
а) крупные эпителиальные клетки с центрично расположенным ядром,  
б) разрушающиеся ядра эпителиальных клеток

В мазках цервикальной слизи кобыл с признаками воспаления присутствовали лейкоцитарные клетки – нейтрофилы - с сегментированными,

интенсивно окрашенными ядрами (рисунок 38 а). Полученные нами данные подтверждают результаты предыдущих исследований [124, 149, 218] в том, что у кобыл с признаками воспаления генитального тракта в мазке количество нейтрофилов существенно повышается (от более чем 10 в поле зрения до сплошного рисунка). Однако краткосрочный нейтрофильный ответ в цервикальном мазке (1-3 нейтрофила в поле зрения) мы наблюдали также и у гинекологически здоровых кобыл после случки (рисунок 38 б). Это нормальный механизм защиты матки от микробной контаминации.

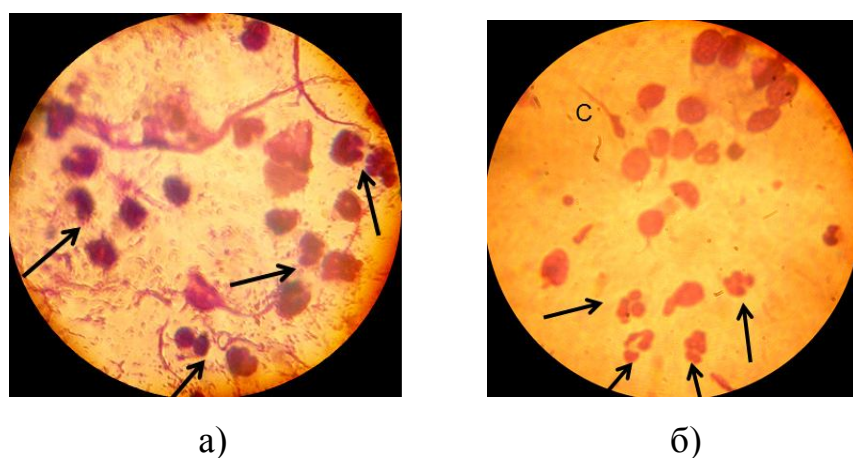


Рисунок 38 – Нейтрофилы в мазках цервикальной слизи кобыл: а) при воспалении. б) после случки (С - сперматозоид)

Лимфоциты - клетки с крупными, ярко окрашенными ядрами и еле заметной по контуру голубоватой цитоплазмой – наблюдали в мазках цервикальной слизи у кобыл с проблемами зажеребляемости. Согласно литературным источникам [282], лимфоциты в мазке появляются в образцах слизи в результате перехода гинекологического заболевания в хроническую форму. По размеру лимфоциты занимают промежуточное положение между эпителиальными клетками и нейтрофилами (рисунок 39 а).

Эозинофилы встречались в мазках довольно редко. Они отличаются от остальных клеток более крупным размером и наличием характерной зернистости красноватого оттенка (рисунок 39 б). Их присутствие связывают с напряжением иммунной системы в результате, например, проникновения воздуха

(пневмовагина) или мочи (уровагина) в матку кобылы, либо с наличием гельминтоза [108, 218].

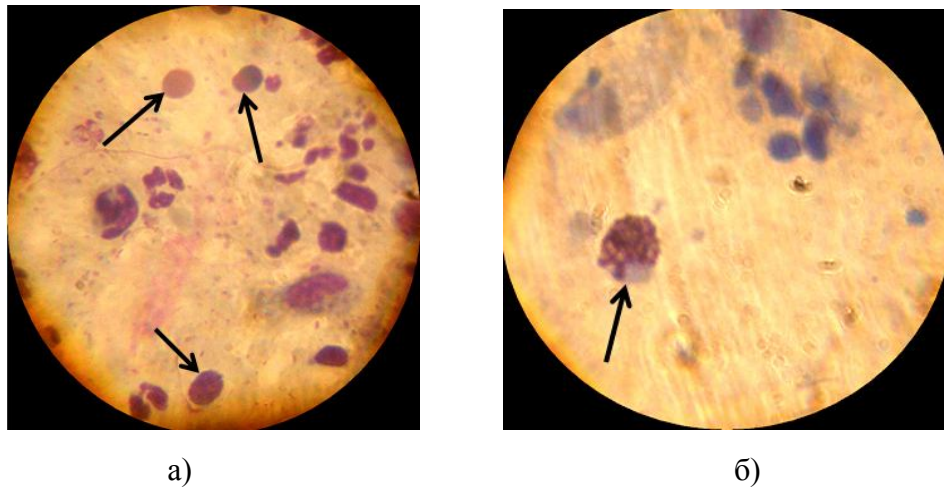


Рисунок 39 – Цервикальные мазки: а) лимфоциты, б) эозинофил

Тем не менее, нужно отметить, что цитологический метод не является абсолютно точным диагностическим методом и имеет погрешности на уровне количества и качества взятого образца, приготовления препарата и интерпретации результата. Наиболее точный результат был получен при подтверждении воспаления генитального тракта у кобыл по количеству нейтрофильных лейкоцитов в мазке.

**Заключение.** Цитологический анализ влагалищной и цервикальной слизи является доступным и информативным диагностическим методом, дополняющим оценку функционального состояния репродуктивного тракта кобыл. Присутствие в цитологическом мазке нейтрофилов в количестве более 7-10 в поле зрения является характерным признаком воспалительного процесса в генитальном тракте кобылы.

### 3.2.5 Бактериологический анализ

Эндометриальные и цервикальные мазки были взяты у 26 кобыл с подозрениями на бактериальную инфекцию генитального тракта. Из 26 исследованных образцов 18 оказались положительными, в том числе 5 показали

наличие грибов. Среди выявленных микроорганизмов подавляющее большинство составляла кишечная палочка (*Escherichia coli*) (n=6, 33,3%) и стафилококки (*S. aureus*, *S. epidermidis*) (n=5, 27,8%), реже присутствовали стрептококки (*S. equi*, *S. zooepidemicus*) (n=3, 16,7%), энтерококки (n=2, 5,6%), синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) (n=2, 5,6%). Среди возбудителей грибковых инфекций были обнаружены *Aspergillus fumigatus* (n=4, 22,2%), *Penicillium* (n=2, 11,1%), *Candida albicans* (n=1, 5,6%). В том числе в образцах присутствовали смешанные инфекции. Следует отметить, что у молодых кобыл нет ни одного положительного анализа на грибы, а у старых – 5 случаев, что говорит о наличии застарелых хронических заболеваний, последствиями которых, как правило, является развитие грибковых и дрожжевых инфекций.

По результатам тестирования выявленных микроорганизмов на чувствительность к антибиотикам выбирали вариант лечения кобыл, в числе которых было промывание матки солевыми и йодными растворами, курс внутриматочных вливаний растворов с антибиотиком (гентамицин), введение в матку пенообразующих таблеток «гинобиотик» (неомицин+ окситетрациклин, производство ЛЕК, Словения), системная обработка (в/м инъекции ампициллина, цефазолина, гентамицина). Через 10-15 дней после окончания лечения делали повторный бактериологический анализ и при наличии отрицательного результата приступали к осеменению кобылы. В случае положительного результата лечение продолжали до полного выздоровления кобылы.

Лечение по результатам бактериологического анализа с выявленной чувствительностью возбудителя к антибиотикам было проведено на 12 кобылах. В 10 случаях после лечения показанными препаратами кобылы зажеребели, но позднее у двух кобыл произошла эмбриональная гибель плода.

**Заключение.** Бактериологический анализ является опорным диагностическим методом в лечении гинекологических заболеваний у кобыл и должен быть обязательной частью в комплексной системе репродуктивной оценки маточного поголовья перед началом случной кампании в племенных хозяйствах.

### 3.2.6 Ультразвуковое исследование (УЗИ)

В период с 2009 по 2016 годы нами было проведено более 4000 УЗ-экспертиз, отобрано и систематизировано около 2000 эхограмм с целью изучения возможностей данного метода для диагностики физиологического состояния репродуктивных органов кобыл. В данном разделе изложено описание основных УЗ-признаков матки и яичников нежеребых кобыл, которые могут быть выявлены при проведении комплексной репродуктивной оценки. В зависимости от плотности ткани, ее эхографическая картинка имеет цвет от черного (фолликулярная, плодная жидкость) до светло-серого (хрящевая, костная ткань, воздух).

*Признаки половой охоты.* Наиболее характерным признаком охоты служит складчатость (отек) в матке. Благодаря продольной складчатости эндометрия у кобыл, УЗ-изображение поперечного среза рога матки во время эструса имеет характерный дольчатый вид, получивший название «колеса телеги» (рисунок 40 а). Рога матки имеют четкую округлую форму. Эндометрий в теле матки (продольный срез) тоже имеет складчатый вид (рисунок 40 б). Фолликулы, поскольку они заполнены прозрачной жидкостью, на экране УЗ-сканера, выглядят, как черные (анэхогенные) округлые образования (рисунок 40 в).

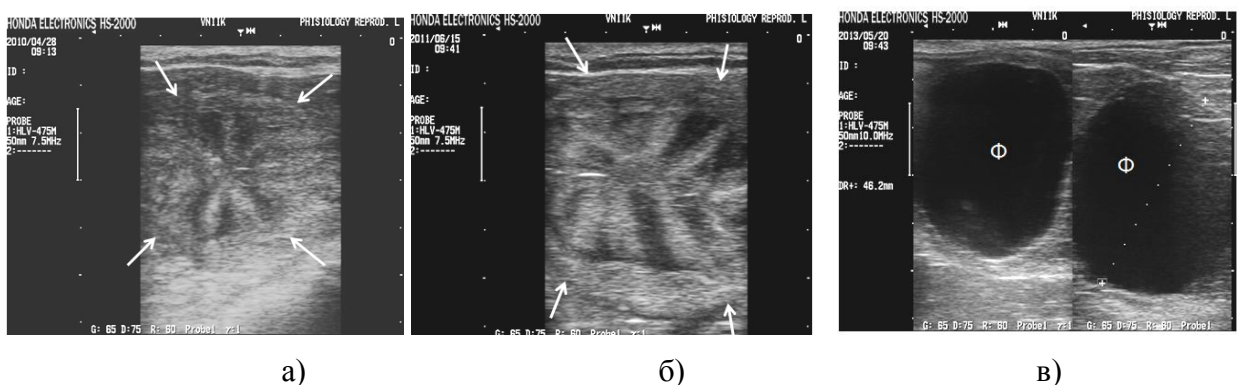


Рисунок 40 - Эхограммы половых органов кобылы в эструсе: а) рог матки, б) тело матки, в) зрелые фолликулы (ф) в яичниках



Отек развивается постепенно. Максимальная складчатость наблюдается на 2-3 день охоты, но эти сроки зависят от продолжительности эструса у кобылы (индивидуальные колебания от 4 до 9 дней). Приблизительно, за 12-36 часов до овуляции отек в матке начинает спадать (рисунок 41).

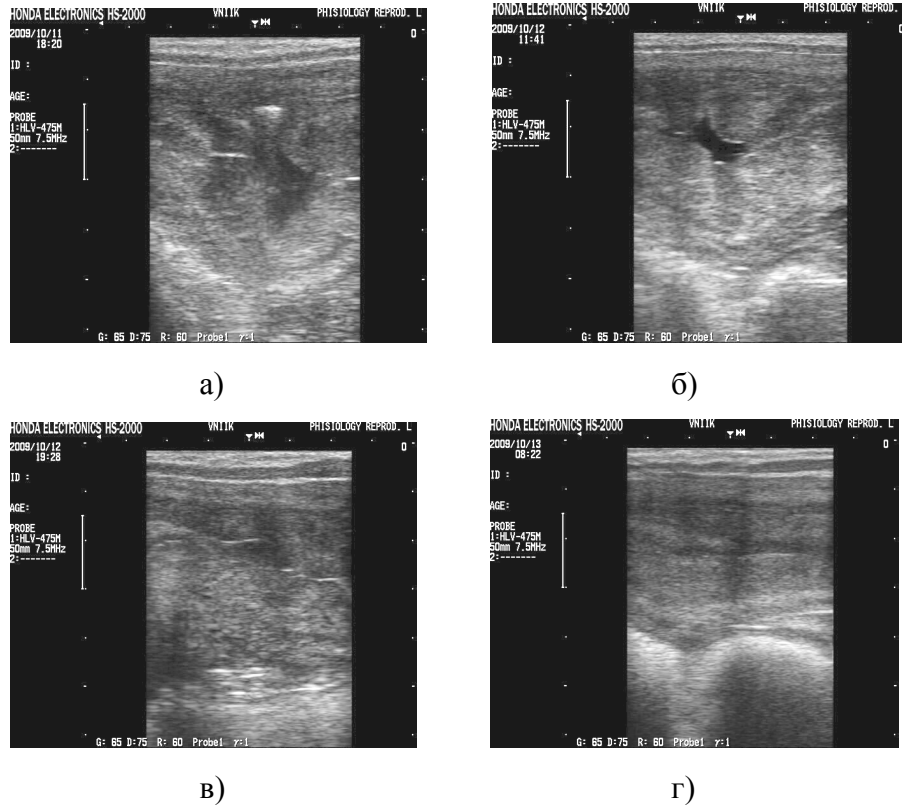


Рисунок 41 - Тело матки. Уменьшение складчатости эндометрия: а) за 30 часов до овуляции, б) за 13 часов до овуляции, в) за 5 часов до овуляции, г) через 8 часов после овуляции

Этот момент имеет решающее значение при определении времени осеменения кобыл и служит важнейшим диагностическим признаком приближения овуляции. В яичнике в это время преовуляторный фолликул меняет округлую форму на грушевидную или неправильную, вытягиваясь в направлении овуляционной ямки (рисунок 42 а). Этот признак также служит опорным при определении времени осеменения кобылы. После овуляции складчатость эндометрия практически полностью исчезает (рисунок 41 г), а на месте бывшего фолликула появляется эхогенное образование – геморрагическое тело (рисунок 42 в, г).

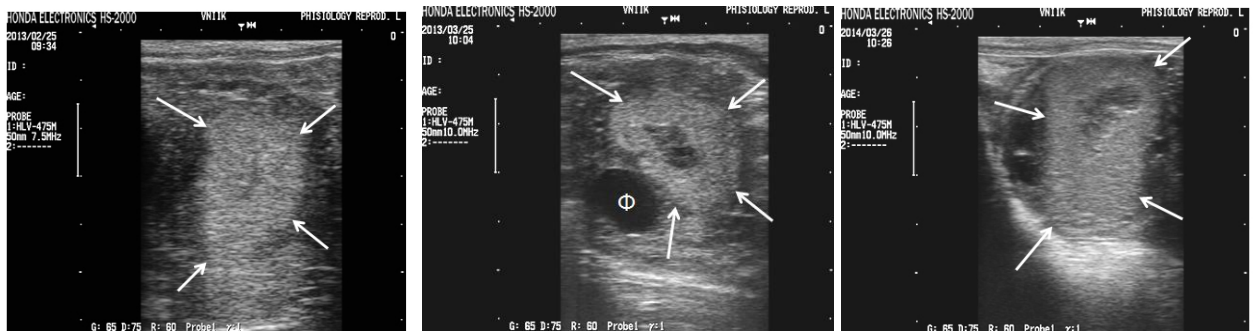
Эта структура, по мере уплотнения кровяного сгустка (фибринизации), становится светлее (повышается ее эхогенность) и нередко имеет внутри участки с прозрачной (анэхогенной) жидкостью. Образование и разрастание лютеиновой ткани от периферии к центру постепенно превращает молодое желтое тело (приблизительно, к 5 дню после овуляции) в компактное и, наконец, зрелое желтое тело, активно секретирующее прогестерон (рисунок 42 е).



а)

б)

в)



г)

д)

е)

Рисунок 42 – Яичник кобылы: а) преовуляторный фолликул (Ф), б) овуляция, в), г) геморрагическое тело д) желтое тело через два дня после овуляции (Ф – фолликул), е) зрелое 8-дневное желтое тело

*Признаки диэструса.* В диэструсе отечность тела и рогов матки отсутствует (рисунок 43 а, б), слизистая уплотняется. В середине диэструса (8-9 день после овуляции) в теле матки хорошо заметна граница между плотно сомкнутыми слоями эндометрия (канал матки) в виде пунктирной белой (гиперэхогенной) линии (рисунок 43 а).

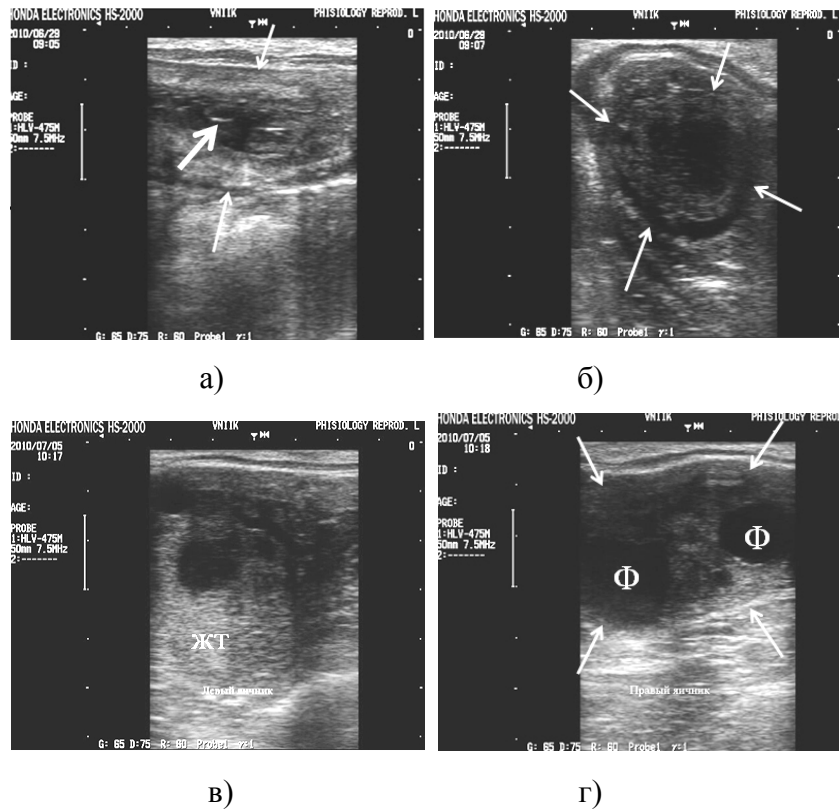


Рисунок 43 - Диэструс: а) тело матки (толстая стрелка – канал матки), б) рог матки, в) левый яичник с желтым телом (жт), г) правый яичник с двумя фолликулами (ф)

Фолликулярная активность в этой фазе цикла в обоих яичниках низкая, но к 10-11 дню полового цикла (0 – день овуляции) наблюдается новая фолликулярная волна (рисунок 43 г). Из нее к концу диэструса выделится лидирующий фолликул, который дойдет до овуляции в завершающей фазе цикла. Желтое тело в конце диэструса уменьшается в размере, сохраняя гиперэхогенность на УЗИ-снимках (рисунок 43 в), и может присутствовать в яичнике на протяжении последующего цикла(ов).

*Признаки анэструса.* В фазе зимнего полового покоя (анэструс) в яичниках кобыл отсутствуют растущие и созревающие фолликулы и желтые тела, репродуктивный тракт не подвергается циклическим структурным изменениям. УЗ-изображения тела и рогов матки могут иметь темные очертания и границы (рисунок 44 а, б). Яичники маленькие, плотные и неактивные, отображаются на эхограммах в виде небольших округлых тел с неясной структурой и вкраплением очень мелких антральных фолликулов (рисунок 44 в). Желтые тела в них отсутствуют.

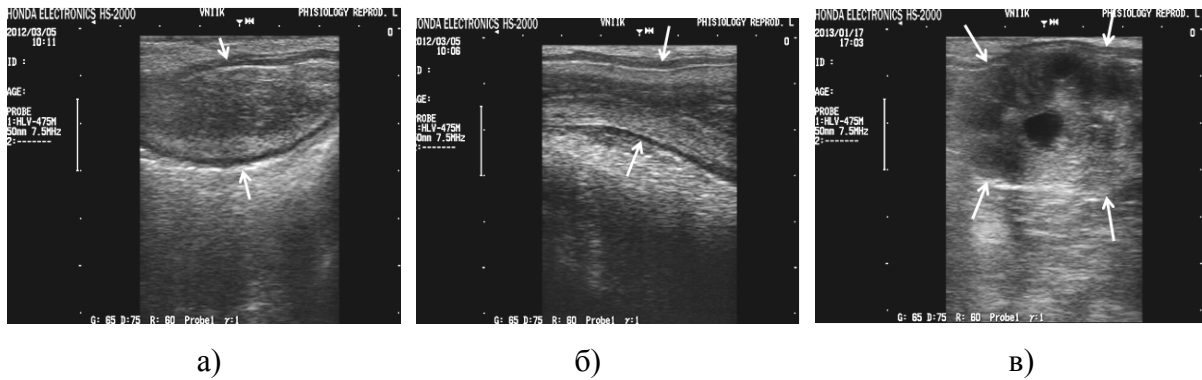


Рисунок 44 – Анэструс: а) рог матки, б) тело матки, в) яичник

В *весенний переходный период* на экране УЗ-сканера очертания шейки, тела и рогов матки становятся более размытыми (рисунок 45). В яичниках в это время можно наблюдать множество мелких и средних фолликулов, иногда из них выделяется лидирующий фолликул, однако до первой овуляции желтое тело в яичниках в переходный период будет отсутствовать. Нередко охота в переходный период не сопровождается отеком в матке.



Рисунок 45 - Весенний переходный период: а) тело матки, б) рог матки, в) яичник (φ – фолликулы)

В ходе исследования были также проанализированы УЗ-признаки генитального тракта у кобыл в послеродовую охоту и даны рекомендации по назначению выжеребившихся кобыл в случку. Как показали наши исследования, матка выжеребившейся кобылы к первой охоте бывает, как правило, увеличенной, утолщенной вследствие послеродового отека, и может содержать жидкость разной степени экзогенности (рисунок 46). Количество ее обычно нарастает ко 2

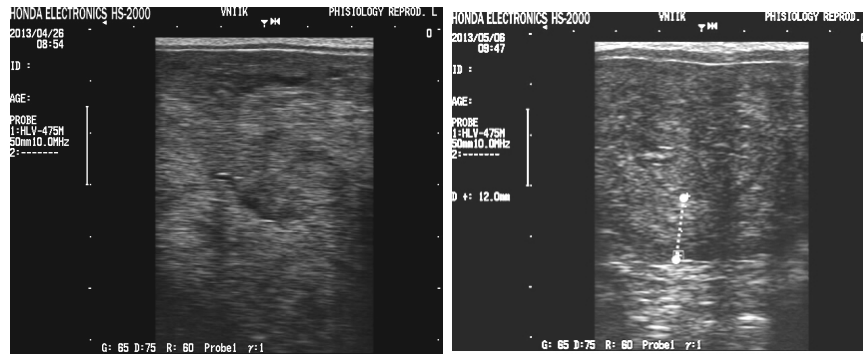
дню после выжеребки, затем постепенно уменьшается между 4-7 днем, а после 16 дня в норме жидкость в матке должна полностью отсутствовать [273].



а) 3 день

б) 4 день

в) 5 день



г) 10 день

д) 20 день

Рисунок 46 - УЗ-изображение матки кобыл после выжеребки: а), б), в), г) тело матки (ж - жидкость), д) рог матки (отмечена толщина стенки рога матки)

Характерной особенностью матки в стадии инволюции является утолщенная стенка, которая выглядит, как неоднородная, волнообразная или складчатая (в эструсе) экзогенная масса (рисунок 46 а-г). При задержанной инволюции, утолщенную стенку матки можно наблюдать и позже (рисунок 46 д).

У абортировавших кобыл состояние матки определяется сроком потери плода и периодом между абортom и УЗ-исследованием, а также его причиной и факторами, влияющими на скорость восстановительных процессов в организме кобылы. УЗ-признаки в таких случаях отражают либо нормальное состояние матки, характерное для нежеребых кобыл, либо наличие патологий.

На основании описанных в ходе ультразвукового исследования характеристик признаков репродуктивной системы у здоровых нежеребых кобыл в различные фазы годового цикла воспроизводства нами была составлена диагностическая таблица (таблица 23).

Таблица 23 – Характерные признаки матки и яичников нежеребых кобыл в различные фазы годового цикла воспроизводства по данным ультразвукового исследования

Репродуктивная фаза	Диагностические УЗ-признаки	
	матка	яичники
Анэструс	Матка и рога тонкие, уплощенные, с гомогенной структурой, могут иметь более темные границы	Яичники маленькие, с неясной структурой и вкраплением мелких фолликулов. Желтые тела отсутствуют
Весенний переходный период	Матка более рыхлая, с нечеткими очертаниями. Отек присутствует в разной степени интенсивности, либо отсутствует	Множество мелких и средних фолликулов (фолликулярные волны). Могут быть лидирующие или лютеинизированные фолликулы. Желтого тела нет.
Эструс (охота)	Отек в теле матки, в рогах – «колесо телеги». В просвете матки возможно небольшое колво ( $\leq 1$ см) анэхогенной жидкости (слизь)	Лидирующий фолликул округлой формы*
12-36 часов до овуляции	Отек спадает. Складки расправляются. У покрытых/осемененных кобыл остатки спермы (повышенной эхогенности) в просвете матки	Лидирующий фолликул грушевидной (каплевидной) формы с тонкой стенкой (может повышаться ее эхогенность)
Овуляция	Отек очень слабый или отсутствует (в норме через 24-36 часов после овуляции в просвете матки нет следов спермы или жидкости)	Эхогенное геморрагическое тело**
Диэструс	Рога и тело матки гомогенно-серого цвета. В середине тела матки видна белая пунктирная линия (канал – смыкание слоев эндометрия)	Эхогенное желтое тело (в середине могут быть менее эхогенные участки) **, мелкие фолликулы. В конце диэструса один или более лидирующих фолликулов
Послеродовая охота	Утолщенная стенка, неоднородная, складчатая, эхогенная масса. В матке может находиться жидкость разной степени эхогенности	Лидирующий фолликул округлой формы*
Осенний переходный период	Матка спокойная, с гомогенной структурой. Может быть видна гиперэхогенная линия канала матки	Один или несколько крупных «осенних» (ановуляторных, лютеинизированных) фолликулов, либо желтое тело(а)

Примечание:  
\* может быть несколько лидирующих фолликулов в одном или разных яичниках;  
\*\*при множественной овуляции в одном цикле количество желтых тел; соответствует числу овулировавших фолликулов

В ходе УЗИ половых органов нежеребых кобыл нами были также выявлены различные патологии, среди которых: пролонгированные эструс («нимфомания»), прологированный диэструс, лютеинизация фолликула, гематома и гранулезная опухоль яичника, наличие воздуха в матке, эндометриты, маточные и паровариальные кисты.

*Нимфомания* (n=4). Длительное и нерегулярное эстральное поведение у кобыл связано с периодически возникающими в яичниках волнами растущих и регрессирующих фолликулов, развитие которых не завершается овуляцией. Такое поведение характерно для весеннего переходного периода, и после перестройки организма на овуляторную фазу ситуация нормализуется. Истинная нимфомания проявляется у кобыл в сезон размножения и связана с серьезными гормональными нарушениями, воспалительными процессами в матке и другими отклонениями.

На эхограммах яичники кобыл имеют вид «мультикистозных» образований с большим числом мелких и средних фолликулов, не достигающих до овуляции (рисунок 47 а). Характерно отсутствие желтого тела. Внешние признаки охоты не всегда сопровождаются появлением отека в матке.

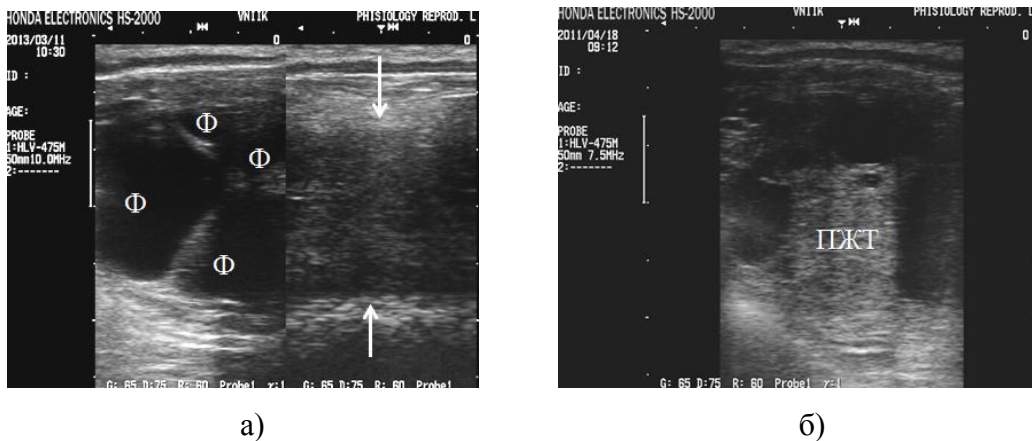


Рисунок 47 – Патологии. а) Нимфомания. Слева: яичник с мелкими и средними фолликулами, желтое тело отсутствует, справа: матка без признаков отека, б) персистентное желтое тело (ПЖТ)

*Прологированный диэструс* (n=12). Патология возникает при задержке желтого тела в яичнике (персистентное желтое тело), диэстральной овуляции и вследствие других причин. Прогестерон, вырабатываемый желтым телом, через

воздействие на гипофиз не дает фолликулам дойти до овуляции и препятствует наступлению очередного эструса. УЗ-изображение персистентного желтого тела практически не отличается от зрелого желтого тела полового цикла (рисунок 47 б), за исключением пролонгированного периода его присутствия в яичнике. Без вмешательства оно может функционировать на протяжении 2-3 месяцев и иметь на УЗ-снимке вид интенсивно-эхогенного образования в яичнике.

*Лютеинизация фолликула* (n=53). Процесс лютеинизации, то есть образования лютеальной ткани в фолликуле без овуляции (ановуляторный, геморрагический фолликул) часто наблюдали в весенний и осенний переходные периоды, то есть в фазе установления и угасания полноценной (с овуляцией) половой цикличности кобыл. Предположительно, это связано с недостаточной гонадотропной функцией гипофиза для индукции овуляции (ЛГ), либо с пониженным уровнем эстрогенов, секретируемых самим фолликулом [275, С. 168]. УЗ-изображение лютеинизирующегося фолликула имеет характерные признаки. Первыми признаками начала лютеинизации является появление белых точечных вкраплений или черточек в гомогенно-черной фолликулярной жидкости и уплотнение стенки фолликула (рисунок 48 а).

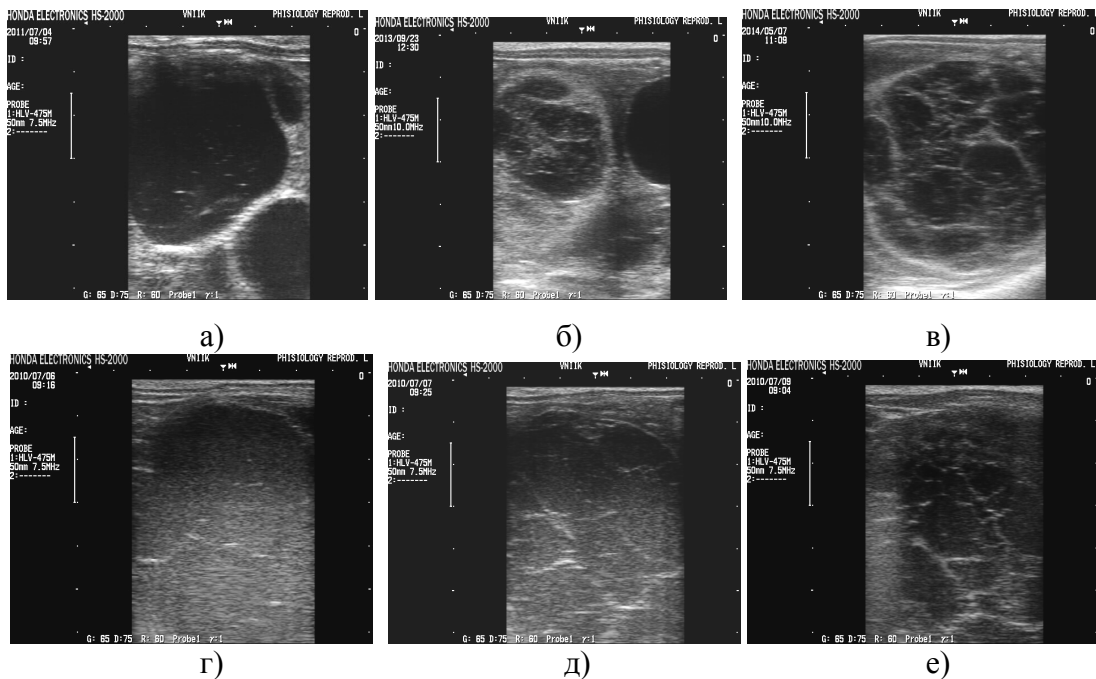


Рисунок 48 - Лютеинизация фолликула: а) начальная стадия; б), в) прогрессирующая стадия; г-е) процесс лютеинизации в динамике: г) начало процесса; д) тот же фолликул через сутки; е) через 3 суток



Процесс прогрессирует в направлении разрастания экзогенных нитевидных перегородок в фолликулярной полости и сопровождается повышением экзогенности структуры (рисунок 48 б, в, г-е). Сопутствующим внешним признаком лютеинизации в яичнике является прекращение охоты у кобылы.

Редкий случай *частичной лютеинизации* был описан нами у одной кобылы. Образование имело ультразвуковые характеристики не до конца сформированного желтого тела (рисунок 49). Оно присутствовало в яичнике кобылы на протяжении 3,5 месяцев после отъема жеребенка. Однако кобыла около 1,5 месяцев проявляла непрерывную охоту при наличии постоянного роста мелких фолликулов в том же яичнике. После курса прогестиновой терапии охота у кобылы на время обработки прекратилась. Затем ей была сделана инъекция простагландина. Кобыла на третий день после инъекции пришла в охоту и через 7 дней овулировала фолликулом, созревшим на втором яичнике. Перед овуляцией она была покрыта, и на 6,5 день у нее из матки был вымыт жизнеспособный эмбрион. Последующие циклы имели нормальную продолжительность, кобыла жеребела, но лютеоподобное образование продолжало присутствовать у нее в яичнике и окончательно лизировалось только через 3,5 месяца с момента обнаружения.

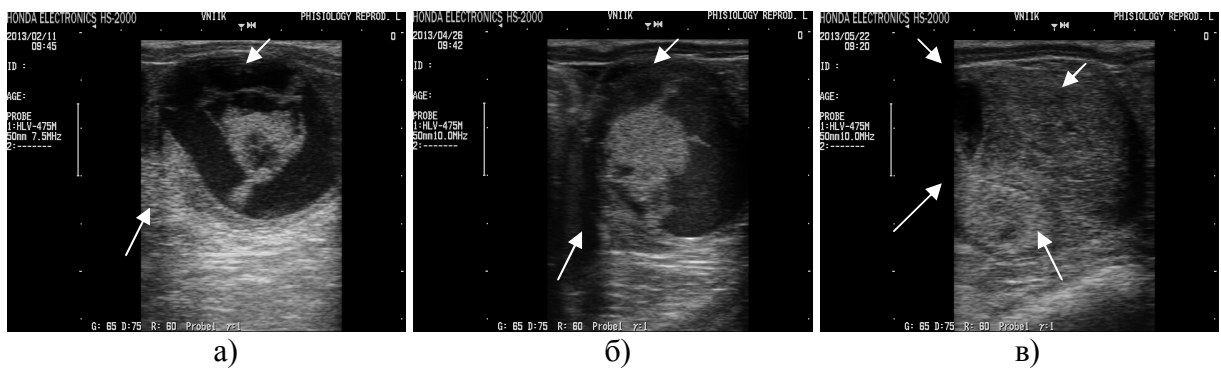


Рисунок 49 - Генез лютеоподобной структуры в яичнике кобылы после отъема жеребенка: а) 11.02.2013 г., б) 26.04.2013 г., в) 22.05.2013 г.

*Гематома яичника* (n=4) после овуляции встречается нечасто и характеризуется чрезмерным кровоизлиянием в полость опорожненного фолликула при выходе яйцеклетки из фолликула, вследствие чего яичник резко увеличивается в размере, иногда до 10 и более см. Такая картина может

сохраняться до 10-14 дней, после чего гематома самопроизвольно регрессирует. УЗ-изображение содержимого гематомы представляет собой сероватую массу с более и менее плотными (эхогенными) участками, которые, вследствие большого размера объекта, можно наблюдать фрагментарно (рисунок 50). С течением времени, структура уплотняется, прорастает соединительно-тканными перегородками, приобретая вид желтого тела.



Рисунок 50 - Гематома яичника

*Паровариальные кисты яичников (n=1).* На рисунке 51 (а-г) приведены фото- и УЗ-снимки доброкачественного новообразования величиной 4-5 см, выявленного нами в яичнике кобылы, напоминающего на ощупь (трансректально) зрелый фолликул. Однако, на эхограммах, вместо прозрачной черной (анэхогенной) жидкости в фолликулярной полости, можно было наблюдать мутную, с эхогенными включениями жидкость неоднородно-серого цвета (рисунок 51 б).

Киста присутствовала в яичнике кобылы на протяжении 5 лет, не мешая нормальной половой цикличности, развитию и овуляции фолликулов в пораженном яичнике, а также зажеребляемости. Кобыла пала на сроке 4 месяца жеребости, и пораженный яичник был отпрепарирован. Киста была ассоциирована с яичником, и внутри нее была обнаружена слегка вязкая жидкость грязно-коричневого цвета (рисунок 51 в).

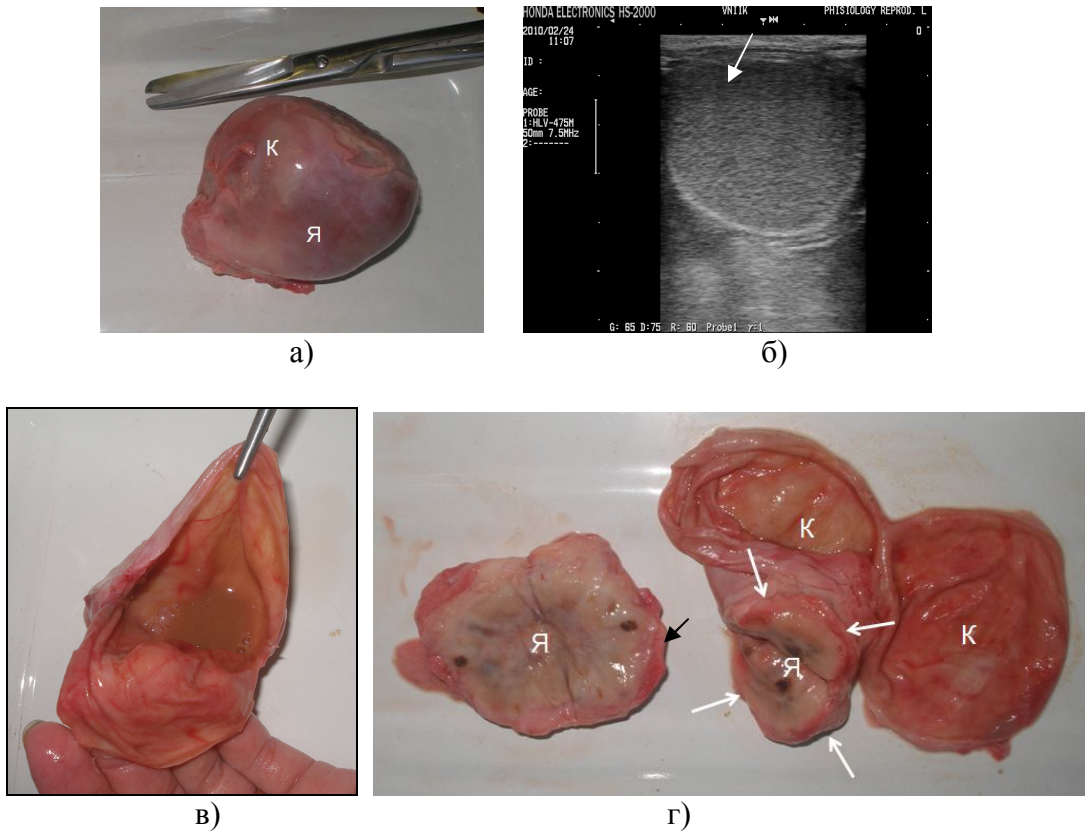


Рисунок 51 - Паровариальная киста: а) яичник (я) с кистой (к), б) эхограмма кисты, в) содержимое кисты (остатки после вскрытия кисты), г) нормальный (слева) и пораженный (справа) яичники в разрезе (4,5 месяца жеребости)

*Одиночные и множественные кисты в матке (n=14).* Зафиксированы маточные (эндометриальные) кисты одиночные или множественные, ассоциированные в одно образование (либо одна киста может быть разделена перегородками на полости) (рисунки 52 и 53). Размер маточных кист варьирует от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров. Они или непосредственно углубляются в эндометрий или имеют «ножку», вдаваясь в просвет матки. На рисунке 28 представлен выраженный кистозный процесс в матке кобылы, у которой было обнаружено 3 эндометриальные кисты, самая крупная из которых (более 5 см) располагалась в области бифуркации, у основания правого рога (рисунок 28 а, в). Диагноз, поставленный при ультразвуковом исследовании был впоследствии подтвержден с помощью эндоскопии (рисунок 28 б, г).

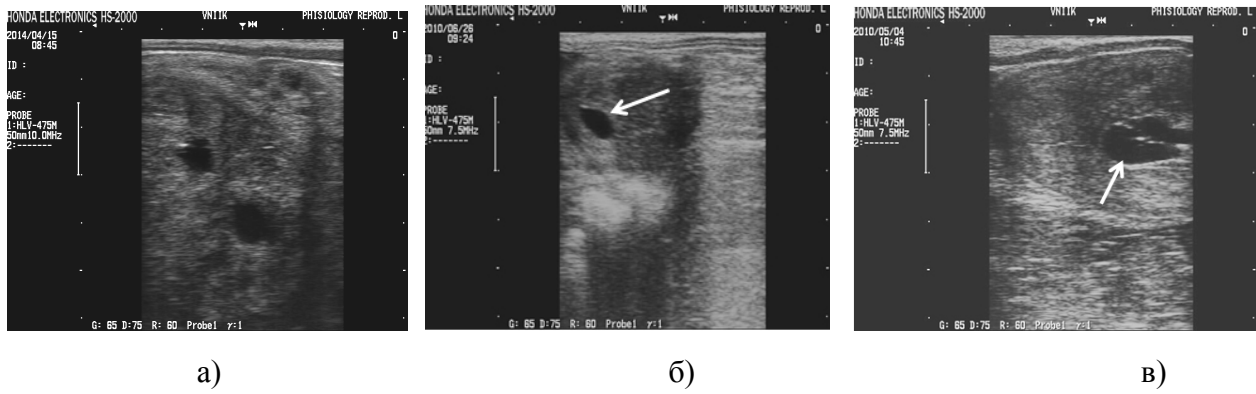


Рисунок 52 - Эхограммы одиночных кист в теле (а) и в рогах матки (б, в)

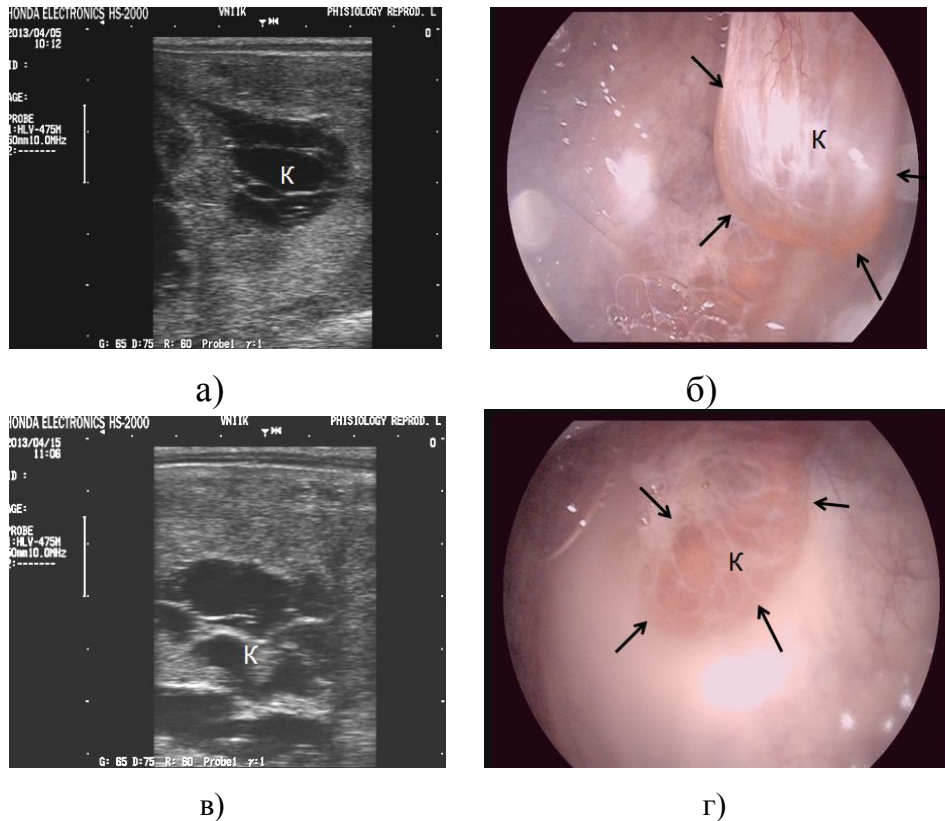
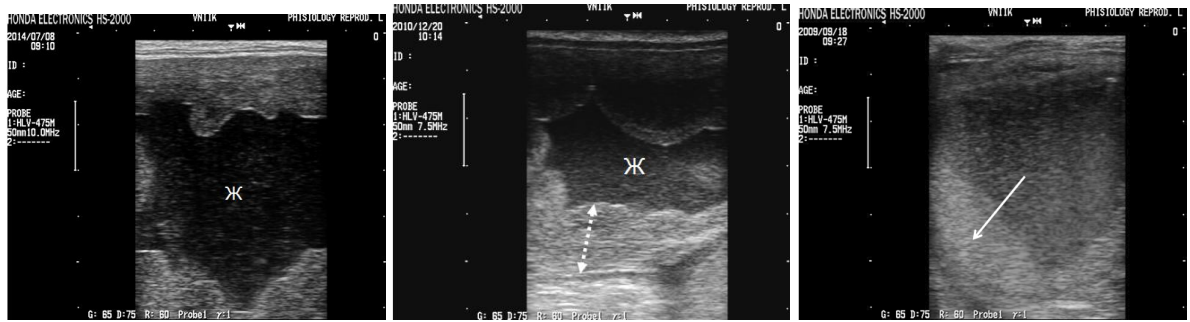


Рисунок 53 - Эхографические и эндоскопические (фото М.В.Жуковой, ООО «Эквимедика») снимки множественных кист (К) в теле матки (а, б) и у основания правого рога матки (в, г)

*Эндометриты* (n=52). Наиболее характерным признаком эндометрита является аккумуляция жидкости в матке. Наблюдения показали, что, в зависимости от формы эндометрита, консистенция жидкости меняется и, соответственно, имеет разный вид на экране УЗ-сканера: от черного (катаральный) до серого (гнойно-катаральный и гнойный эндометриты) цвета, иногда с осадком более светлого тона (рисунок 54). В процессе исследования движения датчика могут способствовать перемещению жидкости и перемешиванию содержимого матки, что дает возможность оценить его

количество и качество. Повышенная эхогенность и утолщение стенок матки свидетельствовали об усугублении заболевания.



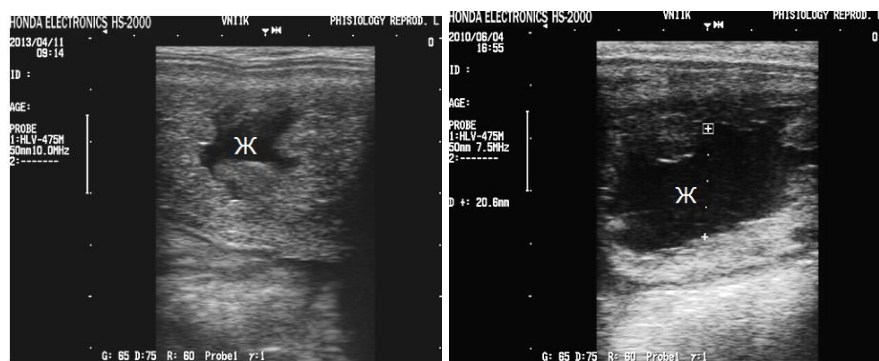
а)

б)

в)

Рисунок 54 - Эндометриты: а) катаральный, б) гнойно-катаральный (стрелка- толщина стенки матки), в) гнойный (Ж – жидкость, стрелка – осадок)

*Посткоитальный эндометрит (n=7).* Сбой естественного очищения матки у кобыл после случки или осеменения связывают с ослаблением иммунной защиты и с нарушением механизмов физического и лимфатического дренажа в матке. В таких случаях жидкость, как естественная краткосрочная воспалительная реакция организма в ответ на внедрение в половой тракт различных агентов, в том числе спермы жеребцов, задерживается в матке после осеменения в течение более чем 24-36 часов (задержанный клиренс), создает основу для развития воспалительного процесса и препятствует нормальной зажеребляемости кобыл [364, 372]. В наших исследованиях изображения жидкости при посткоитальных эндометритах у кобыл имели чаще всего анэхогенный вид и выглядели, как темная полоска или темный фрагмент в просвете матки (рисунок 55). Остатки нежизнеспособной спермы придавали жидкости серый оттенок.



а)

б)

Рисунок 55 - Посткоитальный эндометрит, жидкость (ж) в просвете матки: а) 24 часа после осеменения б) 36 часов после осеменения

*Наличие воздуха в матке* (n=15). Проникновение воздуха в матку расценивается, как нарушение (некомпетентность) защитных барьеров генитального тракта кобыл и предвестник или свидетельство серьезного заболевания (пневмовагина, утеровагина), связанного с постоянной контаминацией матки, приводящей к бесплодию. Воздух отображается в просвете тела и рогов матки у верхнего свода в виде белых черточек (рисунок 56).

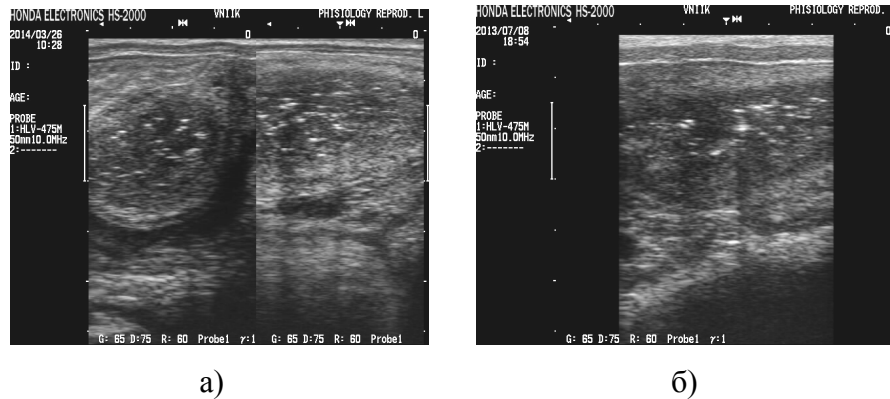


Рисунок 56 - Присутствие воздуха (белые черточки) в матке

Такую картину мы обнаруживали у кобыл с утеровагиной (рисунок 56 а), либо временно наблюдали после внутриматочных манипуляций, в частности вымывания эмбриона, промывания матки или введения лекарственных средств (рисунок 56 б).

*Гранулезная опухоль яичника* была выявлена у трех кобыл (n=3). Овариальные опухоли яичников у кобыл считаются серьезной патологией. Описаны следующие виды опухолей: гранулезная опухоль, тератома, кистаденома (доброкачественные), дисгерминома (злокачественная) [281 С. 170-173]. Наиболее часто встречается гранулезная опухоль с характерной твердой консистенцией и различными УЗ-изображениями, в зависимости от ее содержимого (от «сотовой» до мультикистозной структуры). Пораженный яичник секретирует гормон ингибин, поэтому второй яичник резко уменьшается в размерах и прекращает функционировать. Опухоль довольно активно растет и может достигать 30 см в диаметре, что приводит к бесплодию, если не удалить поврежденный яичник. На

рисунках 57 и 58 приведены эхограммы яичников у двух кобыл в начальной и прогрессирующей стадии опухолевого процесса.

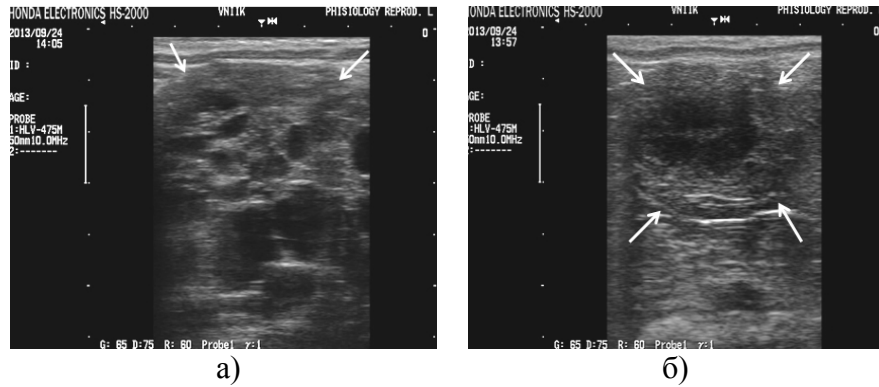


Рисунок 57 - Гранулезная опухоль с 3-летней историей развития: а) пораженный яичник, б) парный яичник

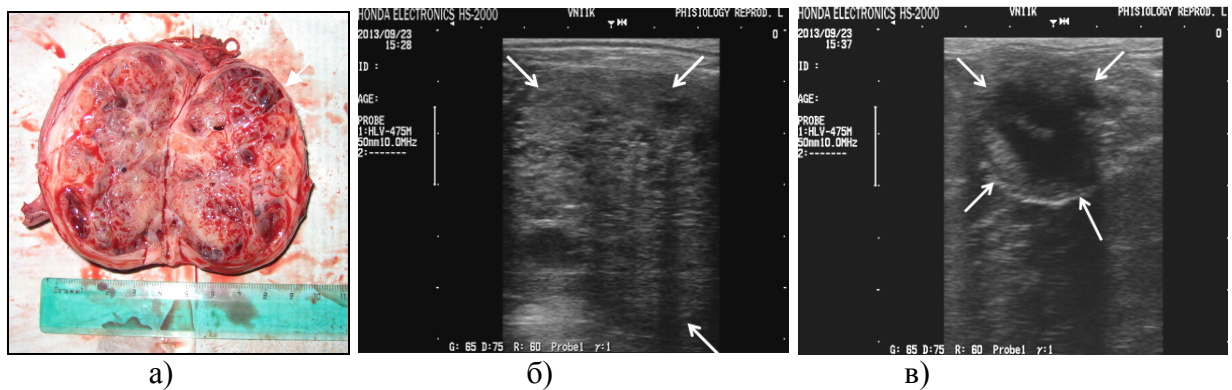


Рисунок 58 - Гранулезная опухоль в начальной стадии развития: а) в разрезе после овариоэктомии (фото Е.А.Трутневой), б) на эхограмме. в) парный яичник

У кобылы с 3-летней историей развития опухоли размер яичника достигал 18 см, был жестким на ощупь и глубоко затянут в брюшную полость. Его изображение имело «сотую» структуру (рисунок 57 а). У второй кобылы, с начальной стадией заболевания, пораженный яичник был слегка увеличен, но имел на ощупь характерную твердую консистенцию, более плотную и более однородную структуру на снимках (рисунок 58 а). Наиболее ярким признаком, указывающим на характер этого вида опухоли, было состояние второго яичника у обеих кобыл. Парные яичники и у одной, и у другой кобылы были размером и формой с зерно фасоли, без всяких признаков функциональной активности. Внутренняя их структура, отраженная на снимке, свидетельствовала об отсутствии нормальной работы яичника, то есть отсутствии развивающихся фолликулов и желтых тел (рисунки 57 б, 58 б). У кобылы с опухолью в начальной

стадии процесса яичник был удален. Через полтора года она зажеребела, но не доносила плод, абортировав в 7 месяцев. На следующий год кобыла принесла здорового жеребенка.

На основании результатов ультразвуковых исследований различных патологических отклонений в состоянии матки и яичников у кобыл, нами была составлена таблица характерных признаков основных патологий, (таблица 24) и разработан алгоритм проведения УЗ-экспертизы для нежеребых кобыл (рисунок 59).

Таблица 24 - УЗ-признаки основных патологий матки и яичников нежеребых кобыл

Патология	Диагностические УЗ-признаки	
	матка	яичники
Нимфомания. Персистентный или с небольшими герерывами (2-4 дня) эструс	Отсутствие отека в матке при наличии признаков охоты, либо очень слабый отек (следы)	Мелкие и средние анэхогенные фолликулы, не достигающие до овуляции
Пролонгированный диэструс. Задержка желтого тела в яичнике (до 2-3 месяцев). Отсутствие охоты	Отека нет. Матка в тонусе. Гиперэхогенная пунктирная линия в середине тела матки	Эхогенное персистентное желтое тело, либо желтое тело от второй (диэстральной) овуляции в середине цикла
Лютеинизированный (геморрагический, персистентный, ановуляторный) фолликул. Развитие фолликула не завершается овуляцией	Отек спадает (начало процесса) или отсутствует (прогрессирующая фаза) на фоне прекращения охоты	Белые (эхогенные) черточки в фолликулярной жидкости и/или повышение ее эхогенности (начальная стадия). «Сотовая» структура содержимого фолликула (прогрессирующая стадия)
Гематома яичника (чрезмерное кровоизлияние в полость фолликула после овуляции)	Отек спал на фоне прекращения охоты	Неоднородная эхогенная масса внутри фолликула. Разрастание эхогенных перегородок внутри гематомы, превращение ее в желтое тело
Эндометрит (от катарального до гнойного). Воспаление эндометрия, жидкость глубиной более 1 см в матке (сохраняется в диэструсе)	Один или несколько участков в теле и/или рогах матки с содержимым от анэхогенного до эхогенного вида (с более плотными включениями или осадком). Утолщенная стенка матки. Могут присутствовать складки эндометрия (эструс)	В зависимости от стадии полового цикла, в яичниках могут содержаться фолликулы разного размера и/или желтое тело



Продолжение таблицы 24

Патология	Диагностические УЗ-признаки	
	матка	яичники
Посткоитальный эндометрит. Жидкость в матке в небольшом количестве через 24-36 часов после случки/ осеменения и позже	В теле матки (в роге) участок с анэхогенным содержимым. Может включать более эхогенные частицы (сперма). В эструсе – отек, после овуляции – следы или отсутствие отека	До овуляции – созревающий фолликул(ы), после овуляции – геморрагическое, а затем желтое тело
Воздух в матке. Нарушение защитных барьеров полового тракта. Пневмовагина	В просвете тела и рогов матки, гиперэхогенные вкрапления/ черточки. С развитием заболевания могут появляться признаки эндометрита	Соответственно фазе полового цикла
Паровариальные кисты (новообразования, ассоциированные с телом яичника)	Соответственно фазе полового цикла	Анэхогенные или эхогенные единичные или множественные округлые образования, примыкающие к телу яичника
Гранулезная опухоль яичника	Картина диэструса или признаки отека, в зависимости от гормонального фона	В одном из яичников мультикистозная, либо с более крупными анэхогенными областями структура, прогрессирующая в размере. Второй яичник очень маленький с плотной эхогенной стромой и отсутствием растущих фолликулов и желтых тел

**Заключение.** Ультразвуковой метод исследования является основным и наиболее информативным методом исследований воспроизводительной системы кобыл и должен стать обязательной составной частью общей репродуктивной оценки маточного поголовья племенных хозяйств. При этом следует подчеркнуть, что характеристики матки и яичников кобылы, полученные при ультразвуковом исследовании, могут уточняться с учетом данных ректального, вагиноскопического, цитологического, гормонального, а в некоторых случаях гистологического и хромосомного анализов. Следует также учитывать информацию о предыдущей репродуктивной истории кобылы (анамнез). Данное заключение предопределяет необходимость проведения комплексного исследования состояния воспроизводительной системы кобыл в каждом конкретном случае.



Рисунок 59 – Оценка функционального состояния репродуктивной системы кобыл методом ультразвуковой диагностики

### 3.2.7 Комплексное исследование

Мы поставили задачу оценить сравнительную информативность и эффективность основных методов оценки репродуктивной системы у кобыл: ректального, ультразвукового, цитологического, вагинального и бактериологического по выявлению и диагностике патологий полового тракта при их комплексном применении. В ходе работы было проведено обследование 51 кобылы, в том числе 20 кобыл 4-10 летнего возраста и 31 кобылы 11-22 летнего возраста. Полное обследование (все пять методов исследования) было выполнено на 13 кобылах, по 4 видам исследований – на 27, по 3 видам исследований – на 11 головах. Исходя из результирующих оценок каждого метода, делали вывод о наличии или отсутствии признаков воспаления в половом тракте кобыл. К признакам воспаления относили выделения/истечения из половой щели, покраснение слизистой влагалища/преддверия, отекшую и утолщенную шейку матки (вне охоты), увеличенную и опущенную в брюшную полость или флюктуирующую матку, наличие жидкости в просвете матки более 2 см по показаниям УЗИ, присутствие нейтрофилов и лимфоцитов в мазке, соответственно, более 7-10 в поле зрения, а также положительный результат бактериологического анализа на микрофлору и грибы. Результаты исследований представлены в таблице 25.

Таблица 25 - Данные о наличии или отсутствии признаков воспаления полового тракта кобыл, результатах их лечения и зажеребляемости, диагностируемых различными методами исследования

№ кобылы	Методы исследования					Лечение, да/нет	Зажеребела, да/нет
	рект.	УЗИ	цит.	вагин.	бак.		
Кобылы 4-10 летнего возраста							
1	+ <sup>1)</sup>	+	+	+	+	да	да
2	- <sup>2)</sup>	-	-	-	-	нет	нет
3	-	-	-	-	+	да	да
4	+	+	+	+	+	да	да
5	-	+	+	+	-	да	да
6	-	-	-	-	н/д <sup>3)</sup>	нет	да
7	-	+	+	+	н/д	н/д	н/д
8	-	-	+	+	н/д	да	да
9	-	-	-	-	н/д	нет	да

Продолжение таблицы 25

№ кобылы	Методы исследования					Лечение, да/нет	Зажеребела, да/нет
	рект.	УЗИ	цит.	вагин.	бак.		
10	+	+	-	+	н/д	нет	нет
11	-	н/д	+	+	+	да	да/ ЭГ <sup>4)</sup>
12	+	+	н/д	+	+	да	да
13	-	н/д	+	+	н/д	нет	да
14	-	н/д	-	-	н/д	нет	да
15	-	-	+	н/д	н/д	да	да
16	-	-	н/д	-	н/д	нет	нет
17	-	+	н/д	-	н/д	нет	нет
18	-	+	н/д	+	н/д	нет	н/д
19	+	+	н/д	н/д	+	да	нет
20	+	+	н/д	н/д	+	да	да
Кобылы 11-22 летнего возраста							
21	+	+	+	+	+/грибы	да	да
22	+	+	+	+	+	да	да
23	+	+	+	+	+	да	нет
24	+	+	+	-	+	нет	нет
25	+	+	-	+	-	нет	нет
26	-	-	-	-	+	нет	нет
27	-	-	-	-	-	нет	н/д
28	-	-	-	-	-	нет	нет
29	-	-	+	-	н/д	да	да
30	-	-	+	-	н/д	да	да
31	-	-	+	-	н/д	нет	да
32	-	-	-	-	н/д	нет	да
33	+	+	+	+	н/д	да	да
34	-	-	-	-	н/д	нет	да / ЭГ
35	-	+	+	+	н/д	нет	да / ЭГ
36	+	+	+	+	н/д	да	да
37	-	+	+	+	н/д	да	да
38	+	+	+	+	н/д	да	да
39	-	-	-	-	н/д	нет	да
40	+	+	-	-	н/д	да	да
41	+	+	н/д	+	-	нет	да
42	+	+	н/д	+	+/грибы	нет	да / ЭГ
43	+	+	н/д	+	+	да	да / ЭГ
44	-	+	н/д	-	-	да	да
45	-	+	н/д	+	+	да	да
46	+	н/д	-	-	-	н/д	н/д
47	-	н/д	-	-	+/грибы	н/д	н/д
48	-	н/д	-	-	+/грибы	нет	нет
49	-	н/д	+	+	н/д	нет	нет
50	-	н/д	н/д	-	+/грибы	нет	да / ЭГ
51	-	-	н/д	-	н/д	нет	да

Примечание: <sup>1)</sup> наличие признаков воспаления; <sup>2)</sup> отсутствие признаков воспаления; <sup>3)</sup> нет данных; <sup>4)</sup> эмбриональная гибель

Анализ полученных данных показал, что по всем пяти видам исследования результаты совпали в 8 случаях из 13 (69,2%) (5 положительных и 3 отрицательных), по четырем методам – совпадение обнаружилось в 22 случаях из 40 (55%) (12 положительных и 10 отрицательных), по трем видам – в 41 случае из 51 (80,4%) (21 положительный, 20 отрицательных). Сравнение результатов попарных исследований выявило, что в наибольшей степени совпадают результаты УЗИ и вагиноскопии (34 из 39, 87,2%), цитологии и вагиноскопии (32 из 38, 84,2%), ректальной диагностики и УЗИ (36 из 44, 81,8%). Наименьшее число совпадений отмечено между ректальным и цитологическим (22 из 39, 56,4%), ректальным и бактериологическим (17 из 28, 60,7%) методами исследования. В остальных сочетаниях результаты, полученные разными методами, совпадают на уровне 64-73,5%, что также превышает средний уровень точности диагностики заболеваний. Данное исследование подтвердило эффективность каждого из используемых методов исследования с преимуществом метода УЗИ. Кроме того, учитывая и достаточно высокую результативность каждого в отдельности метода исследования при его сравнении с УЗИ, важно применять их в комплексе, достигая задачи точной диагностики и направленного лечения заболеваний.

В итоге была составлена таблица основных патологий эстрального цикла и жеребости кобыл, выявляемых различными диагностическими методами (таблица 26).

Таблица 26 - Возможности различных диагностических методов при определении основных репродуктивных патологий кобыл

Виды патологий	Выявляется (+) или не выявляется (-) следующими методами исследования						
	наружн. осмотр	ректальная пальпация	УЗИ	вагинальный осмотр		цитология	бак. анализ
				с зеркалом	мануально		
<b>Нежеребые кобылы</b>							
Воспалительные процессы органов	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+	+
Посткоитальный эндометрит	-	-	+	-	-	-	-
Разрывы, спайки, рубцы вульвы, влагалища и шейки матки	+/-	-	-	+	+	-	-
Воздух в матке (пневмовагина)	-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	-
Влагалищный варикоз	+/-	-	-	+	+/-	-	-
Персистентная девственная плева	+/-	-	-	+	+	-	-
Паровариальные кисты	-	+/-	+	-	-	-	-
Маточные кисты	-	-	+	-	-	-	-
Лютеинизация фолликула	-	-	+	-	-	-	-
Гематома яичника	-	+/-	+	-	-	-	-
Овариальные опухоли	-	+/-	+	-	-	-	-
Персистентное желтое тело	-	-	+	-	-	-	-
Инфантильная матка и яичники	-	+	+	-	-	-	-
<b>Жеребые кобылы</b>							
Слабый тонус матки	-	+	-	-	-	-	-
Отставание эмбриона в развитии	-	-	+	-	-	-	-
Эмбриональная гибель	-	+/-	+	-	-	-	-
Выраженный отек в матке	-	-	+	-	-	-	-
Двойня	-	+/-	+	-	-	-	-
Отсутствие сердцебиения плода	-	+/-	+	-	-	-	-

По результатам комплексной репродуктивной оценки нами был проведен эксперимент по лечению 36 проблемных кобыл, имеющих признаки воспаления полового тракта, с последующим осеменением. В контроле было 10 кобыл без признаков заболевания. Среди проблемных кобыл 23 головы прошли рекомендованное на основании полного обследования лечение, а 13 голов – нет. В последующем все кобылы были случены. Результаты случки во всех группах отличаются: зажеребело после лечения – 80%, без лечения – 33,3%. Кроме того, в первой группе было всего 2 эмбриональных потери, а в группе без лечения из 6 зажеребевших кобыл осталось жеребыми лишь 2 головы. У 10 кобыл без признаков воспаления (контроль) зажеребляемость составила 70%, но с учетом 1 эмбриональной гибели в итоге снизилась до 60,0%. (таблица 27).

Таблица 27 – Показатели воспроизводства кобыл с учетом их комплексной репродуктивной оценки и результатов лечения

Возрастные группы и категории кобыл	Показатели воспроизводства, гол.(%)			
	с лечением		без лечения	
	п	зажер./благ.выж.	п	зажер./благ.выж.
от 4 до 10 лет				
проблемные	10	9(90,0) / 8(80,0)	3	1(33,3) / 1(33,3)
здоровые	-	-	5	3(60,0) / 3(60,0)
от 11 до 22 лет				
проблемные	13	12(92,3) / 11(84,6)	10	5(50,0) / 1(10,0)
здоровые	-	-	5	4(80,0) / 3(60,0)
Всего, в т.ч.	23	22(91,3) / 21(82,6)	23	13(56,5) / 8(34,8)
проблемные	23	22(91,3) / 21(82,6)	13	6(46,2) / 2(15,4)
здоровые	-	-	10	7(70,0) / 6(60,0)

Примечательно, что результаты случки свидетельствуют о высокой эффективности проведенного лечения как на молодых, так и на возрастных кобылах, в том числе и по факту ранних эмбриональных потерь. Однако, среди кобыл, не прошедших лечения, в группе старшего возраста итоговый показатель благополучной выжеребки на 23,3% ниже, чем у более молодых, за счет 4 случаев ранней эмбриональной гибели. У «чистых» кобыл разницы в

уровне благополучной выжеребки между молодыми и старыми кобылами не наблюдается (60%), но в старшей группе отмечена 1 эмбриональная гибель.

**Заключение.** Результаты проведенных исследований показывают, что каждый из пяти изученных методов диагностики имеет достаточную эффективность при использовании в разных случаях заболеваний половой сферы. Взятые в отдельности методы гинекологической экспертизы не дают абсолютно полной диагностической характеристики состояния полового тракта и возможного заболевания, а, следовательно, не всегда могут быть объективно истолкованы. Комплексный метод оценки воспроизводительной системы кобылы, позволяющий взглянуть на проблему с разных сторон, даже при неполном совпадении результатов исследования разными методами, дает наиболее точный ответ на вопрос о возможных причинах снижения плодовитости или бесплодия и обеспечивает правильный выбор метода лечения.

Следовательно, при оценке репродуктивных качеств кобыл необходимо применять комплексный подход, включающий пять основных диагностических методов (ректальный, ультразвуковой, вагиноскопический (+мануальный), цитологический и бактериологический), который обеспечивает полный и разносторонний анализ проблем субфертильности/бесплодия и составляет основу для их устранения. Лечение кобыл, назначенное по результатам комплексной оценки, обеспечивает высокую последующую зажеребляемость и благополучную выжеребку (до 80-85%) у кобыл.

### 3.3 Использование гормонов в производственном репродуктивном цикле в коневодстве

В наших опытах по применению гормонального воздействия на репродуктивную систему у кобыл были использованы различные гормональные препараты, что позволило более четко определить механизм действия и фактическую эффективность каждого из них.



### 3.3.1 Простагландин F<sub>2a</sub> (PGF<sub>2α</sub>)

За 15 летний период (2001-2016 годы) препаратом Магэстрофан (PGF<sub>2α</sub>) было обработано 59 нежеребых кобыл. Препарат вводили кобылам не ранее шестого дня после овуляции в дозе 0,8-1 мл внутримышечно (таблица 28).

Таблица 28 - Сроки наступления охоты и овуляции у кобыл после однократной инъекции PGF<sub>2α</sub>

Фазы цикла	Число кобыл, n	Сроки, день
Наступление охоты	54	3,78± 0,14
Наступление овуляции	57+2 лют.**	7,91±0,26
Интервал между началом охоты и овуляцией	48	4,40±0,03

Примечание: \* учтены 2 случая лютеинизации фолликула после обработки PGF<sub>2α</sub>

В результате одноразового воздействия Магэстрофана охота у холостых кобыл наступала, в среднем, на 4 день после инъекции (3,78±0,14). Продолжительность стимулированной охоты составляла, приблизительно, 4,5 дня. Соответственно, овуляцию, в среднем, фиксировали на 8-9-й день после введения препарата. В двух случаях в результате обработки произошла лютеинизация фолликула.

Результат действия инъекции простагландина PGF<sub>2α</sub> на жеребых кобыл изучали в следующих случаях:

- 1) приживления оставшегося в матке кобылы эмбриона после неудачной попытки нехирургического извлечения;
- 2) после извлечения одного из эмбрионов в результате двойной овуляции, когда 1 эмбрион остался в матке и прижился;
- 3) после извлечения 34-36 дневных эмбрионов в рамках фундаментальных исследований раннего эмбриогенеза лошадей;
- 4) по завершении исследований гормонального фона у кобыл на раннем этапе (первые 2-3 месяца) жеребости.

Анализ материала показал, что использование  $\text{PGF}_{2\alpha}$  на кобылах для прерывания жеребости дает неодинаковый результат (таблица 29).

Таблица 29 - Результат воздействия простагландина  $\text{F}_{2\alpha}$  на кобыл, в зависимости от срока жеребости

№	Тавро/кличка кобылы, количество кобыл в группе	Инъекция(и) $\text{PGF}_{2\alpha}$ на сроке жеребости, день	Наступление охоты после инъекции(й) $\text{PGF}_{2\alpha}$ , день
1	01-02	6,5	5
2	04-99	15	4
3	Крионика	16	4
4	09-02	17	4
5	04-02	18	5
6	06-02	19	4
7	09-02	19	4
8	01-02	19	4
9	08-02	20	6
10	04-02	20	4
	Всего в подгруппе, n=10	6,5-20 дней	4,4±0,22
11	01-02	21	3
12	05-02	21	4
13	04-02	22	2
14	08-02	22	2
15	03-02	22	3
16	03-02	24	2
17	04-99	23	8
18	09-01	26	4
19	06-99	26	3
20	01-02	28	3
21	01-02	28	2
	Всего в подгруппе, n=11	21-28 дней	3,27±0,53
	Всего группе, n=21	6,5-28 дней	3,81± 0,31
22	04-02	34	2
23	01-00	34	20
24	05-92	36	14
	Всего в группе, n=3	34-36 дней	-
25	Речка	46	оставлена жеребой
26	07-02	51,57,61,64	оставлена жеребой
27	01-00	60,67,74 (РЖ <sup>1</sup> ), 84,85,86,87	130
28	09-02	59,60,61	141
29	06-00	65,66,67	125
30	01-02	68,69,70,71	3(1 день <sup>2</sup> ), 28(1 день <sup>2</sup> ), 86
	Всего в группе, n= 6	46-87 дней	-
	Итого n=30		

Примечание: <sup>1</sup>) РЖ- осталась жеребой; <sup>2</sup>) продолжительность охоты

Полученные данные свидетельствуют о том, что для прерывания жеребости у кобыл на сроках до 36 дня достаточно однократной инъекции  $\text{PGF}_{2\alpha}$  в обычной дозировке. Охота у кобыл до 34 дня жеребости после такой инъекции наступает, как и у холостых кобыл, в среднем, на 4 день ( $3,81 \pm 0,31$  день).

Сравнение двух подгрупп кобыл с жеребостью до 20 и 21-28 дней показало, что между ними имеется недостоверное, но заметное различие в сроках наступления охоты после инъекции  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . В подгруппе «до 20 дня» охота наступает, в среднем, на сутки позже, чем в подгруппе «21-28 дней».

Если же использовать  $\text{PGF}_{2\alpha}$  для прерывания ранней жеребости, то, согласно полученным нами данным, сроки наступления охоты после инъекции будут одинаковыми для кобыл с 6-28-дневной жеребостью.

После однократного воздействия  $\text{PGF}_{2\alpha}$  на 3 кобыл (таблица 27, № 22, 23, 24) со сроком жеребости 34-36 дней 1 кобыла сразу вышла в охоту, вторая – с задержкой на 2 недели, а третья – через 20 дней. Отмеченные различия, очевидно, отражают перестройку эндокринной функции у жеребых кобыл на 35 (34-36) день жеребости, когда запускается механизм формирования эндометральных чаш.

В группе кобыл с жеребостью после 46 дня картина кардинально меняется. После формирования и полноценного развития эндометральных чаш в яичниках кобыл образуется вторичное желтое тело (40-45 день), а вслед за ним множество аксессуарных желтых тел (после 50-55 дня). Поэтому одиночной инъекции  $\text{PGF}_{2\alpha}$  на этих сроках становится недостаточно. В наших опытах кобылы 07-02, 01-00, Речка (таблица 27, № 25, 26, 27) не отреагировали на однократное введение препарата, а также после 2-3 повторных обработок с уменьшением интервала от 6-7 до 3-4 дней. Жеребость у них сохранялась. Двух кобыл оставили жеребыми (без УЗ-контроля). У остальных во время ультразвукового исследования плод в пузыре продолжал

активно двигаться, сердце его нормально работало, а в яичниках обнаруживался активный рост фолликулов и их лютеинизация.

Гибель плода наступала только после курса ежедневных инъекций  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (1 мл внутримышечно) в течение 3-4 дней. У кобылы 01-00 лишь через сутки после 3 обработки (87 дней жеребости) появились признаки его гибели. В яичниках на протяжении месяца после завершения курса  $\text{PGF}_{2\alpha}$  наблюдались лютеинизированные фолликулы и несколько дополнительных желтых тел. Еще через полмесяца (то есть, после 120-130 дня прерванной жеребости) яичники пришли в норму и появились признаки наступления эструса (доминантный фолликул и отек в матке).

У другой кобылы (№ 30) лишь после 4-дневной обработки  $\text{PGF}_{2\alpha}$  на сроке 72 дня наступила эмбриональная гибель (плод пассивно плавал в пузыре, сердце не работало). Матка быстро очистилась и сократилась. В яичниках по-прежнему шла лютеинизация фолликулов. На третий день после окончания курса  $\text{PGF}_{2\alpha}$  кобыла показала 1 дневную яркую охоту, а затем повторила в ее в том же варианте через месяц. Однако к этому сроку фолликулярные волны в яичниках затихли и кобыла ушла в зимний анэструс (27 ноября). Первые признаки охоты проявились у нее лишь через 86 дней.

У двух других кобыл (№. 28, 29) ежедневную обработку простагландином  $\text{F}_{2\alpha}$  начали на сроках 59 и 65 дней жеребости. Оба эмбриона погибли на следующий день после 2 инъекции, то есть на 3 день после начала курса  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , но кобылам была сделана еще одна контрольная инъекция препарата. Фолликулогенез и лютеинизация в яичниках продолжались на протяжении последующих 20-30 дней, после чего они уменьшились в размере и уплотнились, в них остались лишь старые желтые тела. Через 17 дней матка кобылы 09-02 (№ 28) полностью очистилась, а у кобылы 06-00 (№ 29) остатки плода сохранялись в матке более месяца. В охоту кобылы вышли после 3-3,5 месяцев «отдыха», включая зимний анэструс.

Наши исследования показали, что гибель плода в период работы эндометральных чаш не прерывает цикл их развития, вероятно, до полного его завершения. Этот факт имеет отражение в продолжающихся в яичниках активных процессах фолликулогенеза и лютеинизации. В свою очередь, такая картина может служить доказательством произошедшей после 35 дня эмбриональной гибели при УЗИ матки и яичников покрытой 2-3 месяца назад кобылы, у которой плод не обнаружен. Наступление охоты у кобылы после стимулированной или спонтанной эмбриональной гибели в этот период существенно задерживается.

Полученные нами результаты подтверждают наблюдения зарубежных исследователей, о том, что 35-й-день является контрольным сроком для решения всех вопросов, связанных с прерыванием жеребости, чтобы еще раз успеть покрыть/осеменить кобылу в случном сезоне [275 С. 244, 297 С. 2116].

**Заключение.** 1) Однократное ведение  $PGF_{2\alpha}$  вызывает наступление охоты у холостых кобыл на 3-4 день, и овуляции - на 8-9 день после инъекции, что следует учитывать при планировании синхронизации половых циклов кобыл в программах по искусственному осеменению и эмбриотрансплантации. 2) Для прерывания нежелательной или проблемной жеребости у кобыл на сроках до 34-35 дня достаточно 1 инъекции (07,-1 мл  $PGF_{2\alpha}$ , внутримышечно). После формирования дополнительных желтых тел (45-50-й день) требуется проводить курс ежедневных инъекций  $PGF_{2\alpha}$  в течение 2-4 дней под контролем УЗИ состояния плода. 3) После вызванной эмбриональной гибели на сроках 35-36 дней и позднее охота у кобыл наступает после завершения цикла работы эндометральных чаш (~100-150-й день жеребости с индивидуальной вариабельностью).

### 3.3.2 Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ)

Исследования проведены в соавторстве с М.М. Атрощенко (2017 год) на базе экспериментальной конюшни ВНИИ коневодства и в Терском конном заводе на кобылах 3-14-летнего возраста. Гормональную обработку кобыл для стимуляции овуляции осуществляли с помощью ХГЧ (гонадотропин хорионический, производство Московский эндокринный завод) или его зарубежного аналога Chorulon (Intervet, Нидерланды). Инъекцию кобылам делали внутривенно или внутримышечно, однократно в дозе 1500, 2000, 2500 или 3000 МЕ при наличии лидирующего фолликула диаметром от 33 до 47 мм. Степень зрелости фолликула, его диаметр и состояние матки отслеживали с помощью УЗИ, сокращая промежутки времени между проверками с 12 до 2 и менее часов по мере приближения фолликула к овуляции. Общее время от инъекции до овуляции вычисляли, суммируя все промежутки и половину времени между последними двумя проверками. Полученные данные разделили на две группы обработки, в зависимости от дозировки препарата: 1) 1500 МЕ и 2) 2000-3000 МЕ. В каждой группе выделили по 3 подгруппы, в соответствии с диаметром фолликула на момент инъекции ХГЧ: 1) 33-37 мм, 2) 38-41 мм) и 3) 42-47 мм.

Были проанализированы данные ХГЧ-обработки 48 кобыл в 63 половых циклах, в том числе повторные на некоторых кобылах в 2-3 случных сезонах подряд. У двух кобыл (по одной в каждой группе) была зафиксирована в первом случае регрессия фолликула (38 мм, 1500 МЕ), а во втором - лютеинизация фолликула (36 мм, 3000 МЕ). ХГЧ-обработки у них были проведены в конце марта (весенний переходный период). Эти кобылы не были включены в статистический анализ. Результаты работы представлены в таблице 30.

В целом по двум основным группам было выявлено, что введение 1500 МЕ ХГЧ обеспечивает овуляцию в ожидаемые сроки (36-48 часов) более чем у

половины кобыл (54,1%), в интервале от 24 до 36 часов – у трети кобыл (32,4%), менее 24 часов – у 13,5% кобыл.

Таблица 30 - Частота и время наступления овуляции у кобыл после обработки ХГЧ в различных дозировках с учетом диаметра фолликула

Размер фолликула, мм	Число овуляций после инъекции ХГЧ*				Время наступления овуляции, ч
	n	в т.ч. в интервале времени, n (%)			
		до 24 ч	24-36 ч	36-48 ч	
1500 МЕ ХГЧ					
33-37	6	0 (0)	0 (0)	6 (100)	39,4±1,59 <sup>a</sup>
38-41	14	0 (0)	0 (0)	14 (100)	38,1±0,81 <sup>b</sup>
42-47	17	5 (29,4)	11 (64,7)	1 (5,9)	25,9±1,95 <sup>c</sup>
Всего	37	5 (13,5)	12 (32,4)	20 (54,1)	32,7±0,96
2000-3000 МЕ ХГЧ					
33-37	8	1 (12,5)	3 (37,5)	4 (50,0)	34,1±2,62 <sup>d</sup>
38-41	10	1 (10,0)	4 (40,0)	5 (50,0)	33,0±2,36 <sup>e</sup>
42-47	6	3 (50,0)	3 (50,0)	0 (0)	22,3±4,27 <sup>f</sup>
Всего	24	5 (20,80)	10 (41,7)	9 (37,5)	30,7±1,61

Примечание: \* хорионический гонадотропин человека; а,с p>0,95; b,c p>0,95; d,f p>0,95; e,f p>0,95

Соотношение числа овуляций внутри групп у кобыл с разным диаметром фолликула показывает, что дозировка ХГЧ 1500 МЕ обеспечивает овуляцию у 100% кобыл с диаметром фолликула 33-41 мм между 36 и 48 часами после инъекции. Более крупные фолликулы (больше 42 мм) овулируют быстрее: 64,7% кобыл между 24 и 36 часами и 29,4% менее чем за 24 часа после введения ХГЧ). Из данных таблицы 1 следует, что ожидать наступление овуляции в пределах 36-48 часов можно при введении 1500 МЕ ХГЧ кобылам с фолликулом 33-41 мм. Расчетное время овуляции составит в этом случае 38-40 часов. Более крупные фолликулы имеют достоверно более ранние сроки овуляции (p>0,95), и прогнозировать точное время становится проблематично.

В группе с дозировками ХГЧ 2000-3000 МЕ наблюдался сдвиг наступления овуляции в более ранние сроки. В этой группе лишь половина кобыл с фолликулами 33-41 мм овулировали в течение 36-48 часов после обработки ХГЧ. Овуляция более крупных фолликулов (42-47 мм) у 64,7%

кобыл наступала между 24 и 36 часами, а у 29,4% - в течение суток после инъекции. Увеличение дозы ХГЧ до 2000-3000 МЕ в наших экспериментах показало во всех подгруппах, в среднем, более раннее (через 33-34 часа) наступление овуляции на фоне увеличения ошибки средней. Разница между крайними значениями в подгруппах достоверна ( $p > 0,95$ ).

Задержки овуляции свыше 48 часов ни у одной кобылы не наблюдалось. Однако, 2 случая лютеинизации и регрессии фолликулов после обработки ХГЧ свидетельствуют о возможности такого результата при работе с кобылами в начале весеннего переходного периода.

**Заключение.** 1) Внутривенная или внутримышечная инъекция ХГЧ/Chorulon в дозе 1500 МЕ, при наличии фолликула в яичнике диаметром 38-41 ( $39,4 \pm 1,59$ ) мм, обеспечивает наиболее высокую вероятность овуляции у кобыл в течение последующих 36-48 часов. 2) После введения ХГЧ в дозе 1500-3000 МЕ овуляция фолликулов размером более 42 мм может наступить раньше 36 и даже 24 часов. Вероятность такого результата может возрастать при увеличении дозы препарата.

### 3.3.3 Прогестерон

Задачей данных исследований было выявить характер динамики уровня прогестерона в крови кобыл на сроках жеребости 25, 35 и 45 дней.

Исследование кобыл с установленной жеребостью на фиксированных сроках проводили тремя методами: ректальным, ультразвуковым и гормональным. У кобыл утром натошак брали кровь. После этого ректально определяли тонус, размер и положение матки и эмбрионального/плодного пузыря в ней, а также исследовали яичники на предмет состояния желтого тела беременности и фолликулов. Затем уточняли ректальные признаки при УЗ-исследовании, отмечая состояние эмбриона/плода, формирование фолликулярных волн и образования вторичного желтого тела в яичниках. Полученные данные сопоставляли позднее с результатами анализа



концентрации прогестерона в сыворотке крови. Трех кобылам, ввиду отставания в развитии эмбриона, по результатам УЗ-экспертизы, была назначена прогестиновая терапия в виде ежедневных инъекций 4 мл 2,5% масляного раствора прогестерона.

Анализ полученных данных (таблица 31) позволил сделать вывод о том, что уровень прогестерона в крови кобыл – величина индивидуальная и весьма переменная.

Таблица 31 - Уровень прогестерона в крови кобыл на сроках 25, 35 и 45 дней жеребости

Кличка (тавро) кобылы	Концентрация прогестерона (нмоль/л) на сроках жеребости		
	25 дней	35 дней	45 дней
Кобылы без жеребят			
Барская Причуда	8,7	11,9	18,8
Уска	13,8	11,7	30,5
09-02	19,9	14,8	14,6
06-00	21,1	16,5	21,4
Изумительная	21,6	33,3	34,2
Афина	22,6	29 (с 31 по 41 день ПГ)	28,0 (снята с ПГ*)
Галиция	24,2	51,2(с 26 дня ПГ)	40,1
Полиграфия	24,4	22,0	50,01
01-02	26,3	20,4	25,1
01-00	41,5	38,0	65,9
Ирен Би	19,6	24,8	20,5
Финелла	26,2	22,6(с 26 дня ПГ)	17,8
n	12	9	11
M±m	22,49±2,27	21,49±3,08 <sup>c</sup>	31,95±4,64 <sup>d</sup>
Подсосные кобылы			
Летняя Жара	17,4	16,4	24,0
Формула Любви	18,3	14,4	29,0
Балтика	19,0	16,2	36,3
Бражница	19,3	13,6	24,3
Капелла	19,6	16,8	33,1
Лакомка	21,8	15,9	42,1
Аскания Син	22,7	22,8	36,2
Зубчатка	27,8	32,4	42,4
Карма	16,9	17,9	10,9
n	9	9	9
M± m	20,31±1,13	18,49±1,94 <sup>a</sup>	30,92±3,37 <sup>f</sup>
В целом по всем кобылам			
n	21	18	20
M± m	21,56±1,38	19,99±1,75 <sup>a</sup>	31,49±2,9 <sup>b</sup>

Примечание: \* назначение прогестерона: <sup>a,b</sup> p>0,999; <sup>c,d</sup> p>0,99; <sup>e,f</sup> p>0,999

В наших исследованиях разница в цифровом значении показателя у разных кобыл достигала на сроке 25 дней 19 нмоль/мл (8,7- 27,8 нмоль/л), на 35 дней - 26 нмоль/мл (11,7-38 нмоль/л), на 45 дней - 51 нмоль/л (14,6-65,9 нмоль/л). Между 25 и 35 днем жеребости уровень прогестерона в среднем имеет тенденцию снижаться (разница между группами недостоверна), но у некоторых кобыл он может расти. Так из 21 кобылы у 13 он понизился на 1,6-5,9 нмоль/л, у 5 кобыл повысился на 1-11,7 нмоль/л, у 1 кобылы практически не изменился. У двух кобыл из трех, которым была назначена прогестиновая терапия, уровень прогестерона вырос на 6,4-27,0 нмоль/л), у одной – понизился на 3,6 нмоль/л.

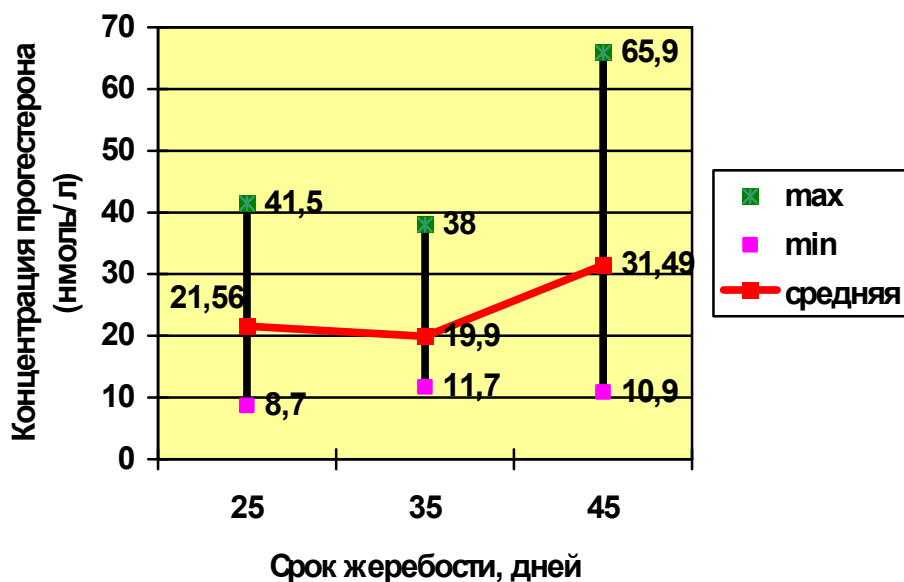


Рисунок 60 - Уровень прогестерона в крови кобыл на ранних сроках жеребости

Между 35 и 45 днем нормальной жеребости, благодаря образованию первого из дополнительных желтых тел, концентрация прогестерона в крови кобыл возрастает. Была отмечена высоко достоверная разница ( $p > 0,999$ ) между средними по этим группам. Исключение составили три кобылы: у двух из них произошло явное (4,3-7 нмоль/л) снижение этого показателя, и одна кобыла осталась с не изменившейся величиной ПГ (22,7-22,8 нмоль/л). Переводной коэффициент между единицами измерения концентрации

прогестерона составляет 3,18 (1нг/мл=3,18 нмоль/л). Это означает, что у двух кобыл уровень прогестерона достиг критического нижнего порога (1,35-2,2 нг/мл) для сохранения жеребости [240, 241 С.72].

Учитывая разный гормональный фон у лактирующих и не лактирующих кобыл, мы проследили динамику уровня прогестерона между этими подгруппами. Общие тенденции снижения к 35 дню и последующего высоко достоверного возрастания к 45 дню этого показателя в обеих подгруппах сохранились, однако, между ними имеется недостоверная разница в сторону увеличения среднего уровня прогестерона у нелактующих кобыл на всех этапах, которая, возможно, обусловлена возрастанием концентрации пролактина у кобыл с подсосными жеребятами (рисунок 61).

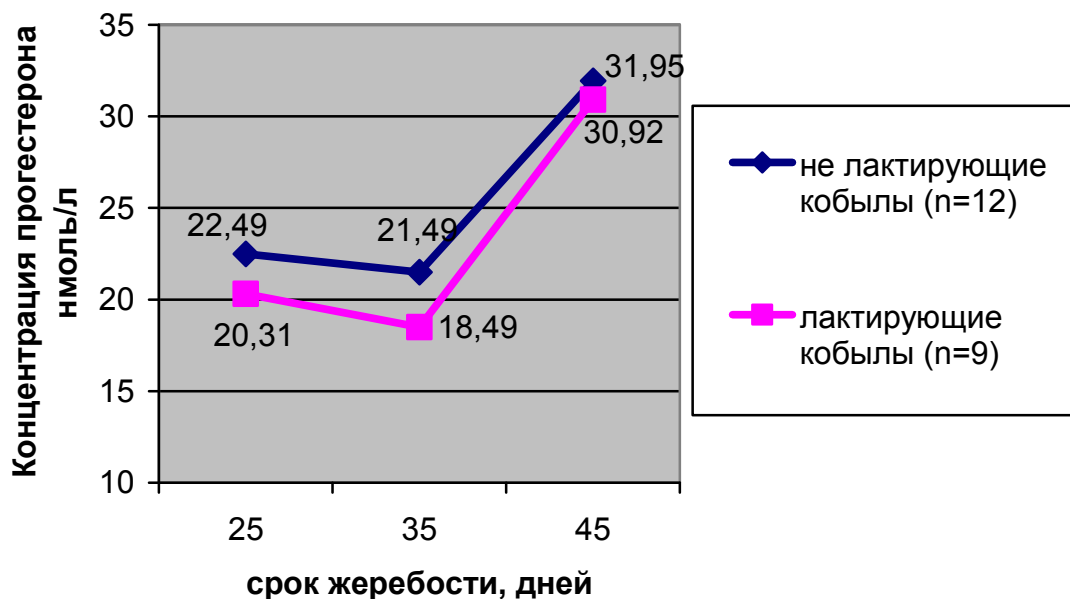


Рисунок 61 - Уровень прогестерона в крови жеребых кобыл с подсосными жеребятами и без жеребят

Наблюдения за дальнейшим протеканием жеребости у кобыл с понижением уровня прогестерона между 35 и 45 днем показали, что у всех трех кобыл произошла эмбриональная гибель. У одной кобылы к 23-25 дню эмбрион не был виден в эмбриональном пузырьке, и ей назначили с 26 дня

курс прогестерона, но его уровень в крови продолжал снижаться. У двух других кобыл на УЗИ и ректально не были обнаружены признаки отклонения от нормы, и эмбриональная гибель у них произошла после 45 дня.

Высокий уровень эмбриональных потерь у кобыл на доимплантационном этапе отмечается всеми исследователями, как видовая особенность [215, 220, 244, 263, 371]. Поэтому уровень прогестерона – гормона беременности – рассматривается в качестве основного показателя нормального протекания жеребости [29, 263, 259, 298].

**Заключение.** 1) Концентрация прогестерона в крови жеребых кобыл в первые 2 месяца жеребости варьирует в широких пределах. 2) В качестве индикатора состояния эмбриона на ранних сроках развития следует использовать не величину, а характер изменений концентрации прогестерона между 35 и 45 днем жеребости. 3) Падение уровня прогестерона на этом сроке может рассматриваться как угроза потери жеребости и основание для применения гормональной поддержки (прогестиновой терапии).

***Прогестиновая поддержка жеребости.*** В задачу исследований входила апробация отечественного гормонального препарата прогестерон (БиоХимФарм, Россия) для поддержки ранней жеребости у кобыл.

Прогестиновую обработку кобыл начинали с 3-30 дня жеребости на основании: 1) сведений из предыдущей репродуктивной истории кобылы (эмбриональная гибель на ранних сроках), 2) данных УЗИ-диагностики, которые показали отставание эмбриона в росте и развитии, в соответствии со шкалой; 3) в опытах по трансплантации эмбрионов. Прогестерон в виде 2,5% масляного раствора вводили кобылам внутримышечно один раз в день или через день в дозе 4 мл (100 мг). В одном случае крупной кобыле бельгийской породы (масса 800-900 кг) дозу препарата увеличили до 6 мл (150 мг). В процессе обработки периодически проводили ректальную и УЗИ-диагностику состояния эмбриона/плода, контролируя его размер, положение и

сердцебиение, в соответствии со шкалой роста и развития. Параллельно отслеживали состояние яичников (желтое тело, дополнительные желтые тела, фолликулы), а также тонус матки. Период обработки составлял от 10 до 68 дней, в зависимости от его начального срока и состояния эмбриона. При отсутствии признаков неблагополучия плода курс прекращали на 44-46 день жеребости, опираясь на теоретические сроки начала плацентации. На более поздних сроках (более 50 дней) обращали внимание на количество и вид лютеинизированных фолликулов, как косвенного доказательства полноценной работы эндометриальных чаш. В двух случаях обработку прекратили раньше (35 и 41 день) из-за строптивного нрава кобыл. Результаты исследований представлены в таблице 30.

УЗ-мониторинг ранней жеребости выявил у 10 кобыл отставание эмбриона в развитии, а именно: поздние сроки его появления в матке при УЗ-экспертизе (14-15 день), мелкий для своего возраста размер и несоответствие в УЗ-картинке ключевым этапам раннего эмбриогенеза. Четырем кобылам курс прогестерона провели после пересадки эмбрионов. Одной кобыле назначили прогестиновую поддержку, как продолжение полностью стимулированного репродуктивного цикла «сурфагон (фолликулогенез) – простагландин  $F_{2\alpha}$  (эструс) - ХГЧ (овуляция) - осеменение»). Одна кобыла прошла курс ПГ после манипуляций (ректальным методом) по передвижению крупного, застрявшего в теле матки 16 дневного эмбриона в основание рога матки.

В результате из 16 обработанных прогестероном кобыл 11 принесли здоровых жеребят, у 2 кобыл нормально развитые доношенные жеребята задохнулись после быстрых родов в неразорвавшемся пузыре, 2 кобылы абортывали на сроке 4 и 7 месяцев (при этом первая кобыла сама пала через 2 месяца после аборта – травма в табуне). В одном случае курс прогестерона начали через 2 дня после того, как были замечены признаки эмбриональной

гибели, и эмбрион спасти не удалось. Общий процент эмбриональных потерь составил 18,7%, мертворожденных 12,5% (таблица 32).

Таблица 32 - Результаты прогестиновой поддержки жеребости у кобыл

Предыдущая репродуктивная история кобылы	Период обработки, день жеребости	Срок обработки, дней	Исход жеребости
1. ЭГ после 30 дня, Ос. - хол.	13-45	32	ОЖ
2. После курса гентамицина	15-50	35	ОЖ
3. Два Ос., холостая	16-46	30	ОЖ
4. ЭГ после Ос.	24-45	21	ОЖ
5. Не жеребилась	5-52	47	ОЖ
6. После родов двойней	22-62	40	м/рожд.
7. ЭГ после 35-го дня	3-54	51	ОЖ
8. Не жеребилась	6-74	68	ОЖ
9. Холостая с предыд. года	25-45	20	ОЖ
10. Подсосная	45-55	20	ОЖ
11. Холостая с предыд. года	31-41	10	аборт на 7 мес.
12. Холостая	24-45, с 22 дня ЭГ	21	ЭГ
13. Не жеребилась (ТЭ)	13-44	31	м/рожд.
14. Не жеребилась (ТЭ)	25-36	11	ОЖ
15. Не жеребилась (ТЭ)	12-45	33	аборт на 4 мес., пала
16. Жеребилась (ТЭ)	20-46	26	ОЖ
<b>Итого:</b> ОЖ м/рожд. ЭГ/ аборты	-	-	11 (68,8%) 2 (12,5%) 3 (18,9%)
Примечание: Ос. – искусственное осеменение; ТЭ – трансплантация эмбрионов ; ОЖ – ожеребилась; м/рожд. – мертворожденные; ЭГ – эмбриональная гибель			

В целом отмечен положительный эффект при назначении курса прогестерона кобылам с признаками отставания эмбриона в развитии, по результатам УЗ-диагностики (68,8% живых жеребят). Вместе с тем, нельзя утверждать, что благополучный исход жеребости зависит исключительно от уровня прогестерона, особенно на ранних сроках. Не менее важными факторами в этом случае являются качество эмбриона, состояние репродуктивного тракта кобыл, физическое и физиологическое воздействие на кобылу (стрессы, лечение, кормление и др.). Особенно это относится к пересадкам эмбрионов после охлаждения и криоконсервации.

**Заключение.** Своевременная прогестиновая поддержка жеребости у кобыл с признаками отставания в развитии эмбриона в режиме ежедневных инъекций (4 мл 2,5% масляного раствора прогестерона, в/м) до 45-жеребости (и далее) оказывает положительный эффект на исход жеребости (благополучная выжеребка – 68,8%).

### 3.3.4 Применение гормонов в производственном репродуктивном цикле с использованием биотехнологий

На основе результатов исследований гормонального воздействия на организм кобыл нами предложены схемы гормональной обработки маток тремя препаратами (простагландин  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), человеческий хорионический гонадотропин (ХГЧ) и прогестерон (ПГ)) в следующих случаях:

- 1) **Инициирование внеочередного эструса.** Однократная инъекция  $PGF_{2\alpha}$  (препарат «Магэстрофан», производство ЗАО «Мосагроген») в дозе 0,7-1 мл, в/м. Выход кобылы в охоту, в среднем на 4-й день, овуляция – на 8-9 день после инъекции.
- 2) **Стимуляция овуляции.** Однократная инъекция ХГЧ (производство «Московский эндокринный завод») в дозе 1500 МЕ в/в или в/м при наличии фолликула в яичнике больше 33 мм. Гарантированное наступление овуляции в течение 36-48 часов после инъекции при диаметре фолликула 38-41 мм.
- 3) **Искусственное осеменение.**
  - а) Свежеразбавленная и охлажденная сперма (*а также естественная случка*). Осеменение (*случка*) кобыл в пределах 24 часов после инъекции ХГЧ (при наличии фолликула более 33 мм), в зависимости от активности и выживаемости спермы, под ректальным/ультразвуковым контролем овуляции.
  - б) Криоконсервированная сперма. Осеменение кобыл через 36-48 часов после инъекция ХГЧ (при наличии фолликула 38-41 мм) под

УЗ-контролем овуляции в режиме 6-часового интервала между ректальными/ультразвуковыми проверками состояния фолликула.

4) **Перерывание жеребости.**

а) Жеребость до 35-го дня. Однократная инъекция  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Охота через 3-4 дня.

б) Жеребость 34-36 дней. Однократная инъекция  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Возможна задержка охоты на 2-3 недели.

в) Жеребость после 45-50-го дня. 2-4-дневный курс ежедневных инъекций  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Задержка охоты до завершения цикла работы эндометриальных чаш на 2-4 месяца (индивидуально).

5) **Поддержка жеребости.** Курс ежедневных инъекций ПГ (4 мл 2,5% масляного раствора прогестерона, в/м или подкожно) до 45-100-го дня жеребости (и более).

б) **Синхронизация половых циклов донора и реципиента в программах эмбриотрансплантации** (желательно 2-3-реципиента на 1 донора).

а) Инъекция  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (препарат «Магэстрофан») донору и реципиенту(ам) (не ранее 6-го дня после овуляции) с разницей в 1-2 дня. Инъекция ХГЧ реципиенту, отстающему по овуляции от донора более чем на сутки.

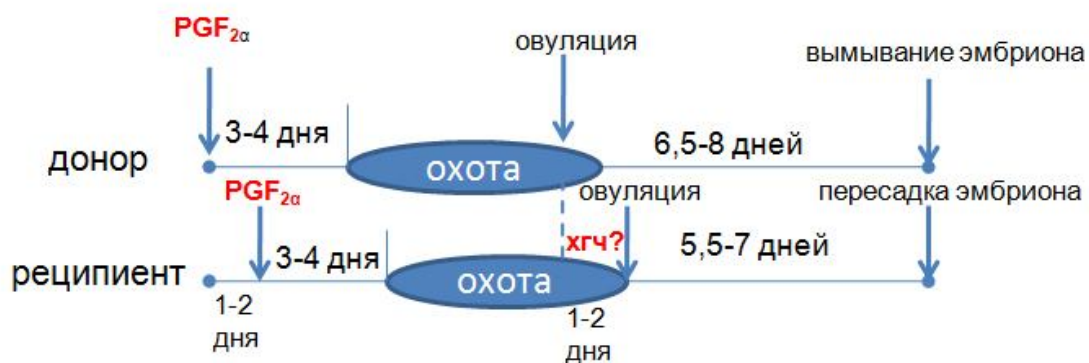


Рисунок 62 – Схема 1 гормональной обработки донора и реципиента для синхронизации овуляции



б) Инъекция  $PGF_{2\alpha}$  реципиенту (не ранее 6-го дня после овуляции) в первый день эструса донора. Инъекция ХГЧ реципиенту в день овуляции донора.

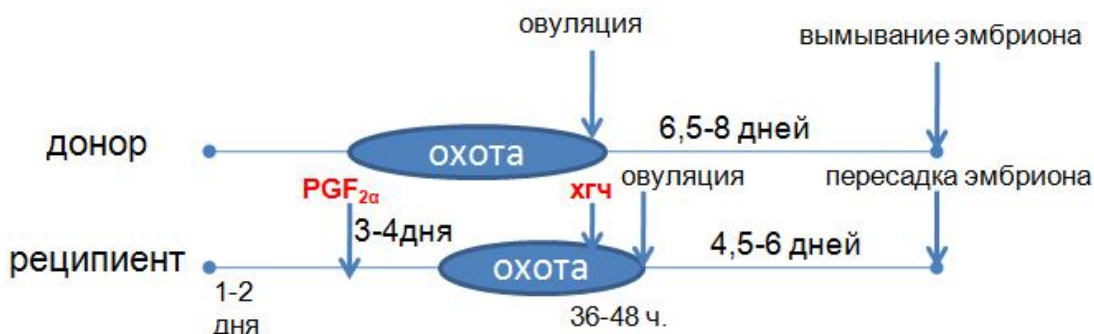


Рисунок 63 – Схема 2 гормональной обработки реципиента для синхронизации овуляции с донором

в) Овуляция у реципиента раньше, чем у донора, на 3 дня и более. Курс ежедневных инъекций ПГ реципиенту с 1-9-го дня после овуляции (с 11-13-го дня цикла начинается снижение концентрации прогестерона у нежеребых кобыл). Пересадка эмбриона реципиенту. Продолжение курса ПГ до 45-100-го дня жеребости.

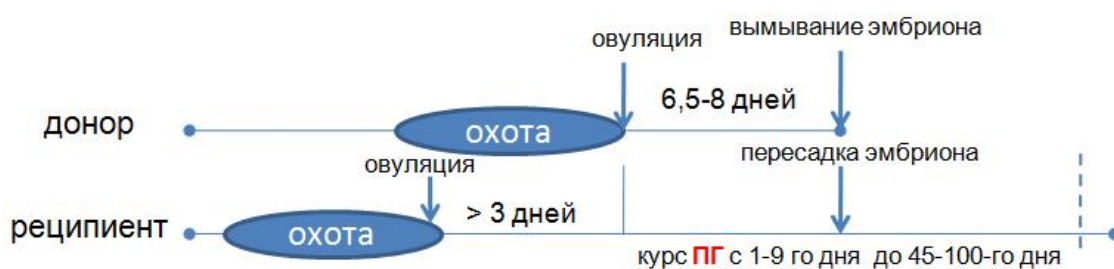


Рисунок 64 – Схема 3 гормональной обработки реципиента для синхронизации овуляции с донором

**Заключение.** Гормональные препараты отечественного производства магэстрофан ( $PGF_{2\alpha}$ ), ХГЧ и прогестерон в рекомендованных дозах и режимах использования обеспечивают полный цикл работ в производственных биотехнологиях (искусственное осеменение и трансплантация эмбрионов).

### 3.4 Контроль результатов случки, искусственного осеменения и эмбриотрансплантации и УЗ-мониторинг жеребости

Цель исследований состояла в разработке системы контроля результативности случки / искусственного осеменения и мониторинга жеребости на основе УЗ-диагностики матки и яичников кобыл.

Через 8-12-24 часа после искусственного осеменения кобыл замороженным семенем проверяли состояние матки на предмет посткоитального эндометрита у кобыл с прохолостом от предыдущего искусственного осеменения. При наличии замедленного очищения матки и сохранения в ней жидкости в количестве более 2 см проводили промывание матки солевым санированным раствором с последующей инъекцией окситоцина (40 МЕ в/м). Мониторинг матки продолжали, применяя повторную инъекцию окситоцина в случае сохранения жидкости до 3 суток после овуляции.

Поиск эмбриона у покрытых/осемененных кобыл начинали с помощью УЗИ с 12-14 дня после овуляции и продолжали наблюдение за развитием эмбриона с интервалом 1-2 дня. После 45-50 дня промежутки между исследованиями увеличивали до 5-7 дней. После 3 месяцев УЗ-мониторинг проводили выборочно, 2-3 раза в месяц. Изучение основных УЗ-признаков последовательных стадий развития эмбриона, а также состояния матки и яичников во время жеребости проводили поэтапно: 1) жеребость до 3 месяцев и 2) жеребость после 3 месяцев. В первой группе отдельное внимание уделяли УЗ-признакам ранних сроков жеребости (10-50 день – шкала развития эмбриона), а также определению пола плода (55-75 день). В каждой группе выделяли нормальные и патологические УЗ-признаки. У жеребых кобыл в качестве патологий рассматривали многоплодную жеребость (двойни), эмбриональную гибель на сроках до и после 35 дня, плацентиты и

лютеальную недостаточность. Кроме того, были выделены случаи/виды ложной жеребости и способы ее определения с помощью УЗИ.

**Посткоитальный эндометрит.** Из 41 цикла, в которых проводилось искусственное осеменение замороженным семенем, признаки посткоитального эндометрита были обнаружены у 7 кобыл. В результате промывания матки и инъекции окситоцина жеребыми остались 5 кобыл, у 2 произошла эмбриональная гибель. Трех кобылам была назначена прогестинотерапия. В результате все 5 кобыл благополучно ожеребились.

**Жеребость.** На основании 7-летних (2009-2016 годы) исследований (65 жеребых кобыл, около 1000 УЗ-экспертиз) была предложена схема (рисунок 65) последовательных действий и УЗ-признаков матки и яичников жеребых кобыл и составлена коллекция из более чем 800 эхограмм на разных сроках жеребости в норме и патологии.

#### 3.4.1 Физиологические и ультразвуковые характеристики матки и яичников кобыл при нормальной жеребости

**Жеребость до 3 месяцев.** Исследования показали, что беременность у большинства кобыл возможно зафиксировать с помощью УЗИ с 10-11 дня. Однако эмбрионы, полученные от искусственного осеменения кобыл замороженной спермой после овуляции, могут появляться в матке позже и визуализироваться на 13-14 день.

Эмбрион в этот период находится в мобильной фазе, поэтому при повторных УЗ-экспертизах его можно обнаружить в виде небольшого черного шарика как в теле, так и в рогах матки (рисунок 65 а, б). Активная миграция эмбриона по половому тракту связана с механизмом распознавания беременности материнским организмом и крайне важна для ее сохранения. В месте соприкосновения с эндометрием оболочка эмбриона испытывает

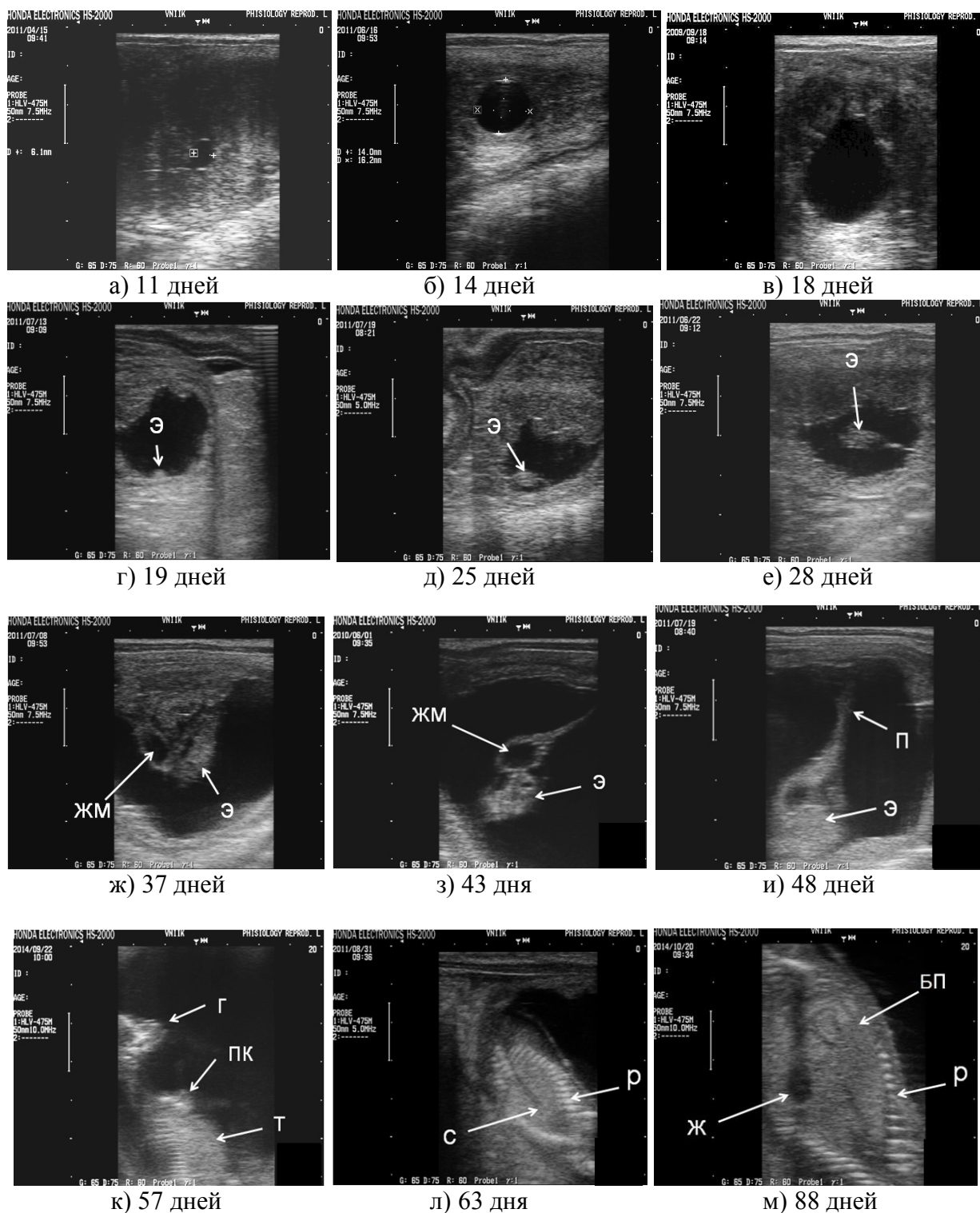


Рисунок 65 – – УЗ-изображение эмбриона лошади

Примечание: срок жеребости ( в днях) указан в нижнем правом углу;  
 Э – собственно эмбрион в пузыре; ЖМ – желточный мешок; П – пуповина;  
 Г – голова; Т – туловище; ПК – передние конечности; С – спина; Р – ребра;  
 Ж – желудок; БП – брюшная полость

большее давление и уплотняется, поэтому, как правило, с вентрального и дорсального полюсов на эхограммах эмбриональный пузырек имеет две

гиперэхогенные черточки. Затем он быстро начинает увеличиваться в размерах (примерно, с 6 до 24 мм в диаметре) вплоть до 17-18 дня развития.

Достигая к 15-17 дню развития предельной для свободного передвижения по матке величины, эмбрион останавливается у основания одного из рогов, то есть в самом широком ее месте. Затем он меняет округлую форму на неправильную, ближе к конусовидной, несколько снижая энергию роста (рисунок 65 в). В это время у верхнего свода эмбрионального пузырька, как правило, становятся заметны складки эндометрия, вследствие нарастания тонуса матки, благодаря чему на данном сроке первые признаки жеребости начинают ощущаться ректально («колбасовидные» рога матки).

С 19-20 дня у дна плодного пузыря начинает обособляться собственно эмбрион в виде эхогенной чешуйки (рисунок 65 г). Затем под эмбрионом обозначается полость с жидкостью (аллантаис), которая разрастается, занимая место уменьшающегося желточного мешка, и смещает эмбрион к вершине пузыря (рисунок 65 д, е) (приложение Л). С 23-25 дня развития у него можно обнаружить сердцебиение. УЗ-изображение сердца в реальном времени выглядит как пульсирующее эхогенное (чуть меньшей плотности, чем окружающие ткани) пятнышко в середине тела эмбриона. Эндометрий у верхнего полюса эмбрионального пузырька утолщен (рисунок 65 д), сохраняя складчатость и отражая повышенный тонус матки. К 28-30 дню эмбрион занимает срединное положение в пузыре (рисунок 65 е), поскольку желточный мешок и аллантаис имеют приблизительно равный объем. Это служит опорным признаком нормального развития эмбриона на данном сроке.

К 38-40 дню развития эмбрион лошади достигает верхнего полюса плодного пузыря (рисунок 65 ж), а затем вновь опускается (45-48 день) ко дну (рисунок 65 з, и). Желточный мешок истощает свой резерв, спадается, из его стенок образуется пуповина.

После 40 дня зафиксированы первые движения эмбриона внутри плодного пузыря. У полуторамесячного плода, согласно данным К. М.

Курносова, имеются хрящевые закладки осевого и периферического скелета, а в два месяца у плода начинает формироваться костная ткань [77], вследствие чего при ультразвуковом исследовании становятся хорошо заметными позвоночник, ребра, голова и конечности. Начинают различаться внутренние органы (сердце, желудок) (рисунок 65 к, л, и).

После 75 дня трансректальное сканирование становится затруднительным, поскольку плодный пузырь растет, углубляясь в брюшную полость, в то время как сам плод еще небольшой и занимает в нем положение. Кроме того, плод активно двигается в пузыре, что вносит дополнительные трудности в процесс ультразвукового исследования. Ситуация, с позиции удобства для УЗ-экспертизы, выправляется лишь к 3-месячному сроку жеребости, когда плод увеличивается в размере и возвращается в поле зрения УЗИ (рисунок 65 м).

*Определение пола плода.* Пол жеребенка на УЗИ трансректально удобно определять в интервале между 55 и 75 днем развития по положению генитального бугорка. Эта гиперэхогенная структура размером около 2-3 мм является предшественником наружных половых органов (у самцов – пениса, у самок - клитора), и ее можно увидеть уже с 52-53 дня эмбриогенеза. У плодов обоего пола в этом возрасте генитальный бугорок занимает одинаковое положение: с вентральной стороны между задних конечностей. Но после 55 дня у самок он начинает смещаться к хвосту, а у самцов – к пуповине. Однако наши наблюдения показали, что контрольный срок может наступать на 3-4 дня позже (рисунок 66 а). Поэтому надежнее избрать для экспертизы 60-65 день жеребости.

Ориентирами должны служить следующие гиперэхогенные точки: срезы берцовых костей задних конечностей и основания хвоста, образующие подобие треугольника (рисунок 66 б, в, г, д). Соответственно, у самок генитальный бугорок будет располагаться внутри треугольника, ближе к основанию хвоста (рисунок 66 г, д), а у самцов он будет выходить в

краниальном направлении за линию, соединяющую задние конечности (рисунок 66 б, в).

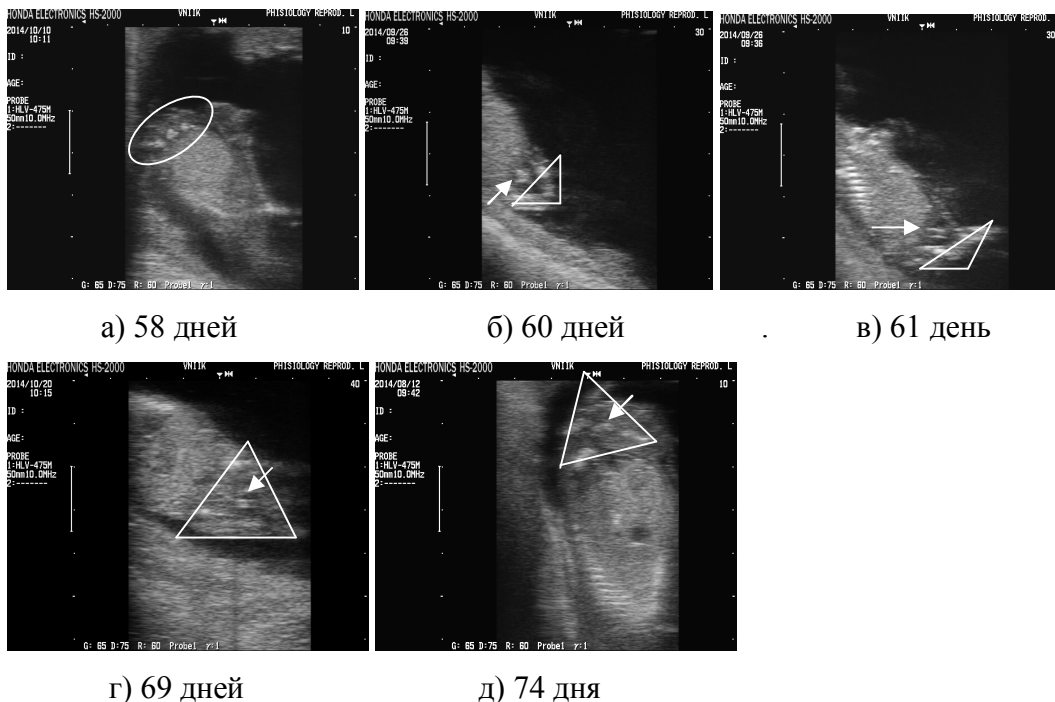


Рисунок 66 - Определение пола плода. Треугольник – ориентиры для определения положения генитального бугорка (стрелка) относительно задних конечностей: б, в) пол плода – жеребчик, г, д) пол плода – кобылка

*Жеребость после 3 месяцев.* К началу четвертого месяца жеребости плодный пузырь и сам плод уже не вмещаются в экран УЗ-сканера, поэтому можно видеть лишь отдельные части тела плода, например, спину (рисунок 67 а, продольное сечение), брюшной или грудной отдел позвоночника (рисунок 67: б) поперечное сечение, в) продольное сечение) часть или грудной отдел позвоночника с участками ребер (рисунок 67 в). На сроке в пять месяцев жеребости, благодаря активным движениям плода, можно зафиксировать его фрагменты во время подъема к верхнему своду пузыря. На эхограммах выборочно представлены: голова (рисунок 67 г), грудной отдел с работающим сердцем (рисунок 67 д), хвост (рисунок 67 е). Толчки плода на этом сроке начинают ощущаться ректально. В шесть месяцев жеребости плод смещается глубже в брюшную полость и доступен для исследования фрагментарно. В зависимости от его положения, можно наблюдать головную

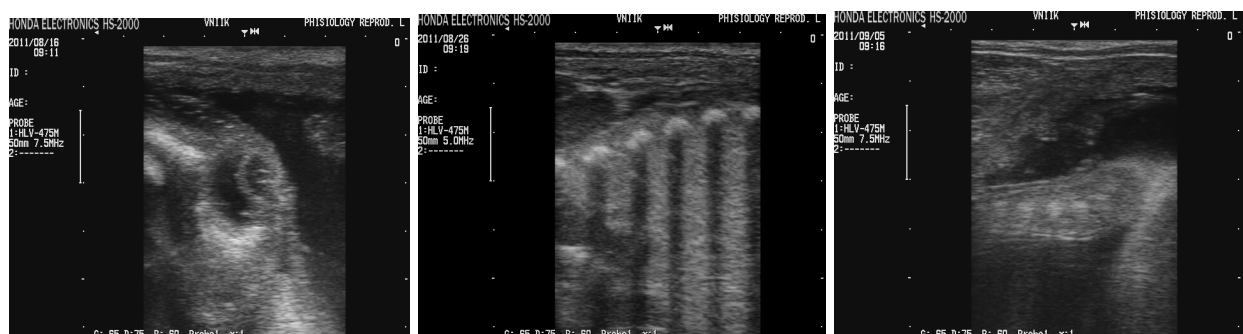
или хвостовую части и соответствующие им органы (рисунок 67: ж) поперечное сечение брюшного отдела, з) продольное сечение головы).



а) 95 дней

б) 104 дня

в) 114 дней



г) 143 дня

д) 153 дня

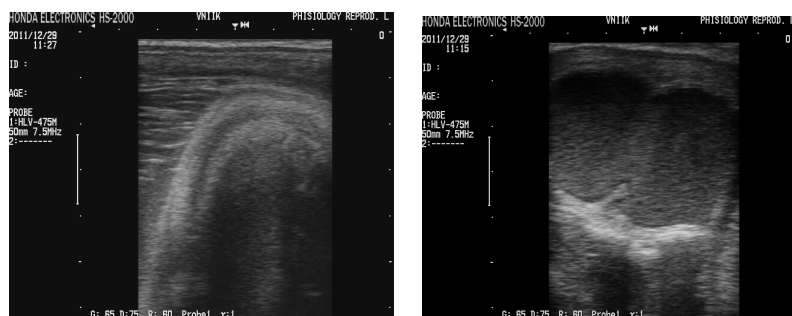
е) 163 дня



ж) 185 дней

з) 220 дней

и) 245 дней



к) 279 дней.

л) 279 дней

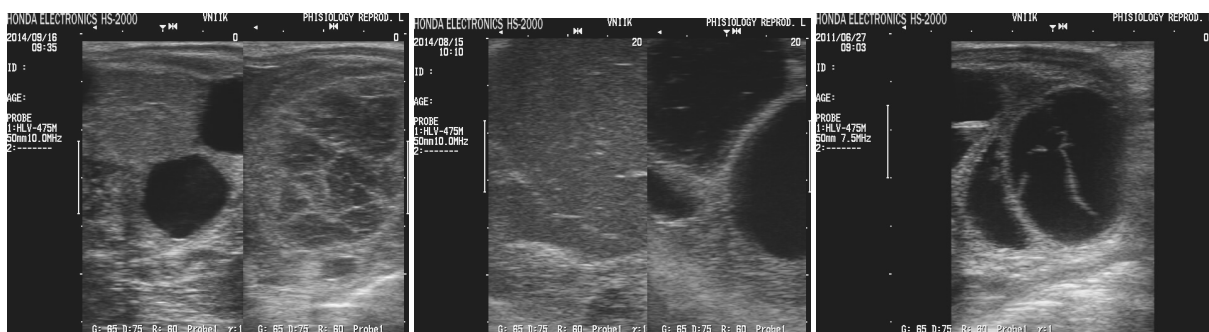
Рисунок 67 - Эхограммы эмбриона/плода лошади и его фрагментов на разных сроках жеребости (объяснения в тексте)



По мере приближения к выжеребке плод в большинстве случаев принимает головное предлежание. В этом случае становятся доступны для УЗ-исследования, в основном, фрагменты головы. На полученных нами эхограммах представлены: глаз (рис. 37 и), область рта с хорошо заметными волосками на губах (рисунок 37 к) и мозг (рисунок 37 л, м).

УЗ-диагностика во второй половине жеребости обоснована при наблюдении за кобылами группы риска и с признаками нарушения нормального течения беременности.

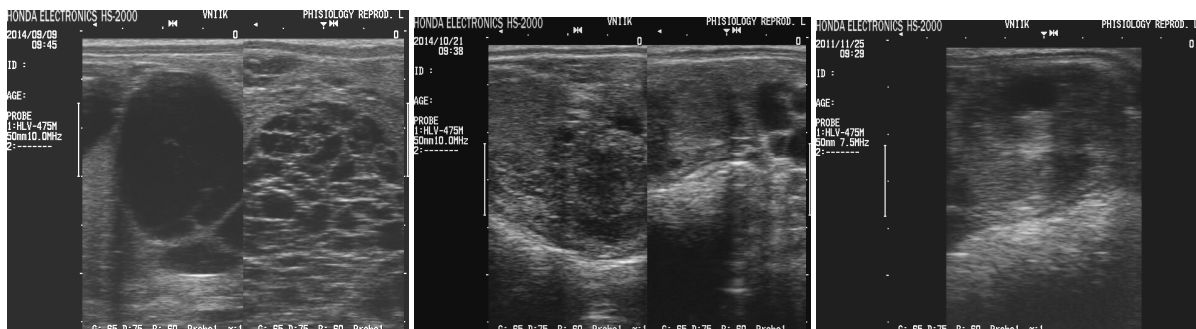
***Яичники кобылы во время жеребости.*** Яичники у жеребых кобыл имеют свои характеристики, соответствующие срокам беременности. УЗИ яичников полезно при определении количества и качества желтых тел, фолликулов и новообразований. Состояние яичников жеребой кобылы на разных сроках определяется специфическими особенностями физиологии жеребости и уровнем основных половых гормонов, задействованных в процессе плодоношения. Внутренняя УЗ-структура яичников в начале жеребости соответствует картине диэструса, то есть в одном из яичников присутствует желтое тело (при одиночной овуляции) и несколько мелких фолликулов. К концу первого месяца у большинства кобыл в яичниках можно наблюдать фолликулярную волну, из которой выделяется 1-2 лидирующих фолликула (рисунок 68). Как правило, один из них доходит до овуляции между 40-45 днем жеребости, образуя вторичное (дополнительное или акцессорное) желтое тело. На втором и третьем месяцах жеребости в яичниках продолжают процессы фолликулогенеза, однако развитие фолликулов чаще завершается лютеинизацией. Поэтому в одном или обоих яичниках на УЗИ в этот период можно увидеть несколько крупных геморрагических фолликулов с характерной «сотовой» структурой (рисунок 68 а-г), а сами яичники на этих сроках крупные, рыхлые, иногда с трудом помещаются в ладонь при ректальном исследовании. Лютеинизированные фолликулы постепенно превращаются в дополнительные желтые тела.



а) 51 день

б) 77 дней

в) 91 день



г) 102 дня

д) 142 дня

е) 245 дней

Рисунок 68 - Яичники кобыл на разных сроках жеребости. Процессы лютеинизации фолликулов и образования дополнительных желтых тел

Функция аксессуарных желтых тел – гормональная (секреция прогестерона) поддержка жеребости в период формирования плаценты.

По завершении цикла работы эндометральных чаш (100-150 день) яичники кобыл уменьшаются в размере и уплотняются. На эхограммах во второй половине беременности в них можно увидеть старые желтые тела на разной стадии деградации и мелкие фолликулы (рисунок 68 д, е, рисунок 51 г).

В результате проведенных исследований была составлена ориентировочная шкала роста эмбриона с указанием его возможной локализации в матке (таблица 33).

Таблица 33 - Ультразвуковые характеристики матки и яичников кобыл на разных сроках нормальной жеребости (шкала роста и развития эмбриона/плода в матке кобылы)

Срок жеребости (возраст эмбриона/ плода), дней	Диагностические УЗ-признаки	
	матка	яичники
10-11	Эмбриональный пузырек в виде черного (анэхогенного) шарика (4-6 мм) в теле или рогах матки	Эхогенное желтое тело* и мелкие фолликулы
12-14	Активная мобильная фаза. Эмбриональный пузырек (14-16 мм) может находиться в любой части тела или рогов матки	Эхогенное желтое тело и мелкие фолликулы
15-17	Эмбрион (18-21 мм) снижает активность и останавливается у основания одного из рогов матки	Эхогенное желтое тело и мелкие фолликулы
18-19	Эмбриональный пузырек (24-27 мм) теряет сферическую форму (ближе к треугольной). Повышенный тонус матки (складки эндометрия у вентрального полюса пузырька)	Гиперэхогенное желтое тело и мелкие фолликулы
20-22	Становится заметным собственно эмбрион у вентрального полюса пузырька в виде эхогенной чешуйки. Тонус матки повышенный	Гиперэхогенное желтое тело и мелкие фолликулы
23-24	Эмбрион в пузырьке отделяется от вентрального полюса, под ним видна анэхогенная область – аллантоис. Желточный мешок уменьшается. Складки у верхнего свода пузырька сохраняются	Гиперэхогенное желтое тело, мелкие и средние фолликулы
25-27	Эмбрион в амнионе, отесняемый растущим аллантоисом, поднимается в дорсальном направлении. Можно наблюдать работу сердца. Матка в тонусе.	Фолликулярная волна. Возможно наличие средних и крупных фолликулов. Эхогенное желтое тело беременности
28-30	Эмбрион занимает срединное положение в эмбриональном пузырьке между желточным мешком и аллантоисом. Хорошо видно работающее сердце. Тонус матки сохраняется	Фолликулярная волна. В яичниках средние и крупные фолликулы. Эхогенное желтое тело беременности

Продолжение таблицы 33

Срок жеребости (возраст эмбриона/ плода), дней	Диагностические УЗ-признаки	
	матка	яичники
30-33	Эмбрион продолжает подниматься к дорсальному полюсу. Желточный мешок меньше аллантоиса. Тонус матки сохраняется	Выделение лидирующего фолликула. Эхогенное желтое тело беременности
34-37	Эмбрион достигает верхнего полюса пузыря. Желточный мешок истощается. Аллантоис растет. Тонус матки сохраняется	Созревание лидирующего фолликула. Возможна овуляция созревшего фолликула (первое из дополнительных желтых тел)
38-45	Образование пуповины. Обратное движение эмбриона к вентральному полюсу. Тонус матки спадает	Созревание и овуляция лидирующего фолликула (первое из дополнительных желтых тел)
46-50	Эмбрион у дна плодного пузыря, заполненного аллантоисом. Возможны первые движения эмбриона внутри пузыря.	Два желтых тела (ж.т. беременности и аксессуарное желтое тело). Продолжается развитие фолликулов, возможна лютеинизация.
50-75	В теле плода видны эхогенные хрящевые закладки осевого скелета и зачатков конечностей. С 55-го дня возможно определение пола плода. Ориентир – работающее сердце в грудном отделе и положение генитального бугорка	В яичниках несколько желтых тел и фолликулы на разных стадиях созревания и лютеинизации
75-95	Плод уходит глубже в матку, активно движется. Его сканирование и определение пола затруднительно	В яичниках несколько желтых тел и фолликулы на разных стадиях созревания и лютеинизации
95-150	Плод доступен для УЗ-исследования фрагментарно при фокусировке на большей глубине. Доступны для УЗИ внутренние органы (желудок, сердце, печень, мозг, гонады)	Завершается цикл работы эндометриальных чаш (индивидуально). Могут быть либо крупные лютеинизированные фолликулы и желтые тела, либо старые желтые тела и мелкие фолликулы
150 дней - выжеребка	УЗИ показано для кобыл группы риска и признаках осложнения жеребости (движение, сердцебиение плода, отслоение плаценты)	Мелкие старые желтые тела. Единичные мелкие фолликулы

Примечание: \* желтых тел и, соответственно, эмбрионов может быть несколько

### 3.4.2 Физиологические и ультразвуковые характеристики матки и яичников жеребых кобыл при различных патологиях

К патологиям жеребости, в первую очередь, относится эмбриональная гибель в результате различных причин, главными из которых являются неадекватная среда в матке, недостаточная гормональная функция желтого тела беременности и двойни. На поздних сроках плодношения к ним присоединяются инфекции (плацентиты), травмы и другие причины.

*Многоплодная жеребость (двойни) у кобыл.* Наблюдения показали, что двойню можно гарантированно обнаружить в матке кобылы не ранее 14 дня после овуляции, учитывая максимальную степень асинхронности между двумя овуляциями в одном цикле. При естественной случке или осеменении свежей спермой шансов получить двойню больше, чем при использовании охлажденного или замороженного семени, у которого выживаемость в половых путях кобылы существенно короче, чем у свежей спермы. Дополнительным свидетельством двойной (множественной) овуляции будет наличие двух (и более) желтых тел в яичниках.

Обнаружить близнецов в матке кобылы в мобильной фазе (до 16-17 дня развития) можно в любой ее части. Двойнёвые эмбрионы могут присутствовать как в теле, так и в рогах матки, рядом или по отдельности (рисунок 69). Их локализация постоянно меняется в результате активного перемещения.

Отдавливание одного из эмбрионов трансректально с разным успехом возможно до 30-40 дня развития, но предпочтительнее проводить эту процедуру в мобильной фазе и удалить меньший из двух эмбрионов. Для этого под контролем УЗИ нужно определить местоположение эмбриональных пузырьков (удобнее выбрать момент, когда эмбрионы находятся отдельно друг от друга). Если они расположены по соседству, то их можно попытаться аккуратно разделить рукой или датчиком.

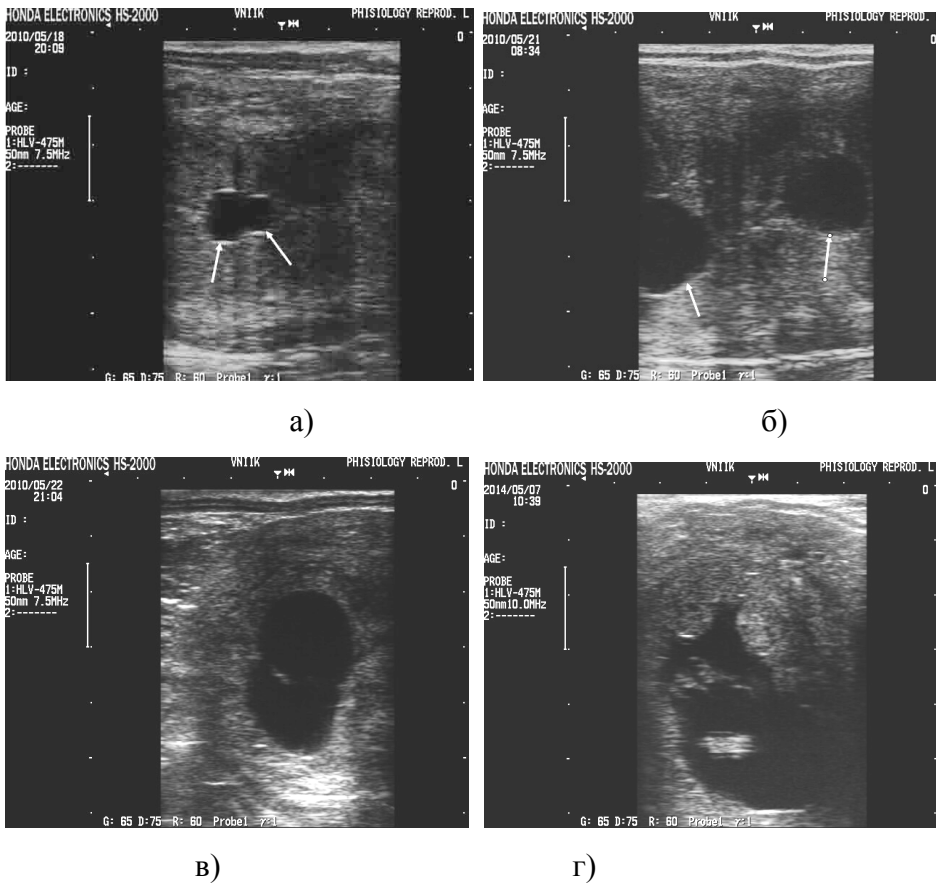


Рисунок 69- Двойнёвые эмбрионы: возраст а) 13 дней, в роге матки, б) 16 дней, в теле матки, в) 17 дней, в) 25 дней

Через прямую кишку аккуратными мягкими движениями, сжимая рог матки между большим и указательным пальцами, эмбрион следует перегнуть к вершине рога, зажать ладонью и раздавить его, ощущая легкий хлопок. Тот же метод можно применить с использованием УЗ-датчика в качестве пресса, но с большой осторожностью. Результат процедуры необходимо проверить на УЗИ. Успешным исходом считается отсутствие второго эмбриона в просвете матки или его необратимое повреждение. При раздавливании более крупного эмбриона можно наблюдать небольшое количество анэхогенной жидкости в роге матки. В наших исследованиях отдавливание эмбрионов было проведено у трех кобыл. В двух случаях процедура прошла успешно на сроке 15 дней. В одном случае на сроке 17 дней крупные эмбрионы, плотно прилегающие друг другу, не удалось разделить, и при попытке раздавить один из них был задет второй эмбрион. В результате оба эмбриона погибли.

*Эмбриональная гибель.* Исследования показали, что первым признаком нарушения эмбриогенеза является отставание эмбриона в росте и развитии. В норме после выхода из яйцевода в матку (6 день после овуляции) и, соответственно, после визуализации в матке, эмбриональный пузырек должен быстро увеличиваться в размере (с 4-6 мм до 20 мм в мобильной фазе). Поэтому замедление увеличения диаметра эмбриона может служить первым признаком патологии жеребости. Затем начинают заметно меняться очертания эмбрионального пузырька, он теряет округлую форму и приобретает вид небольшого участка жидкости в просвете матки, иногда с эхогенными включениями (рисунок 70).

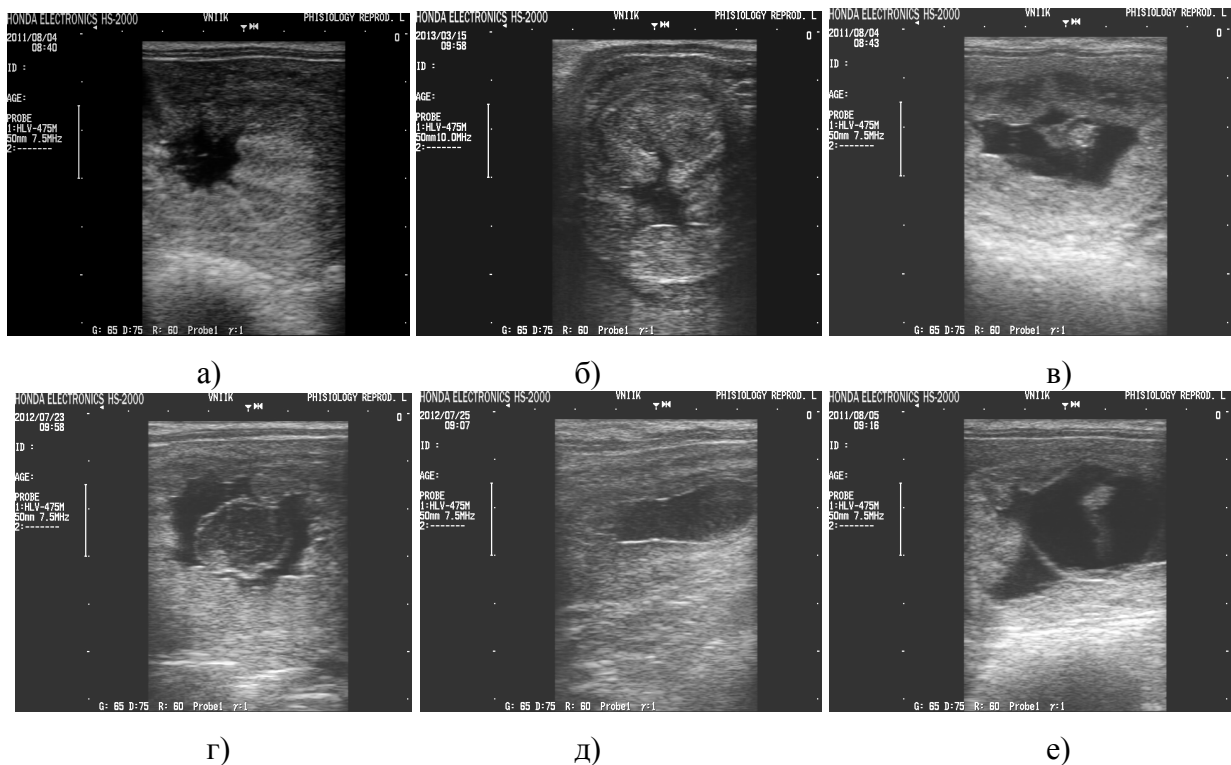


Рисунок 70 - Ранняя эмбриональная гибель

Присутствие выраженного отека в матке свидетельствует об ослаблении функциональной активности желтого тела беременности, чревато ранней эмбриональной гибелью (рисунок 70 а, б). Несоответствие развития эмбриона контрольным срокам – тоже тревожный сигнал, в частности, когда к 19-22 дню в эмбриональном пузырьке не видно собственно эмбриона, либо он не отделяется от дна пузырька и не продвигается в дорсальном направлении (Рисунок 71).





Эмбриональная гибель была вызвана на сроках жеребости 59-84 дня ежедневными однократными инъекциями простагландина F<sub>2a</sub> (препарат магэстрофан) на протяжении 2-4 дней. Явными признаками, подтверждающими, что плод не жизнеспособен, были: отсутствие у него двигательной активности и сердцебиения, появление экзогенных включений в околоплодной жидкости, отслоение оболочки плода, уменьшение в объеме амниона и всего плодного пузыря (рисунок 72 а, в).

Дальнейшие наблюдения показали, что у двух кобыл на сроках 59 и 68 дней плоды были абортированы полностью, и через 1-2 недели после окончания курса магэстрофана матка по размеру и внутренней структуре приблизилась к холостому состоянию.

У двух других кобыл со сроками жеребости 65 и 84 дня мы наблюдали в первом случае к 16 дню после обработки почти полное исчезновение околоплодных вод и смыкание слоев эндометрия вокруг тела плода (рисунок 72 б, г, д). Еще через 7 дней плода в матке мы не обнаружили, но, спустя месяц, в просвете матки еще оставались его гиперэхогенные (костные) фрагменты. У другой кобылы плод тоже вышел не полностью, и на протяжении последующих 3 месяцев в полости матки в разных местах присутствовали три гиперэхогенных костных остатка плода (рисунок 72 е).

**Плацентит.** Второй по значимости проблемой на этапе плодоношения у кобыл является плацентит или воспаление плаценты, следствием которого может стать ее преждевременное отслоение, гибель плода и аборт. С помощью УЗИ можно выявить ранние признаки начала заболевания. Состояние плаценты принято исследовать в области цервикальной звезды, то есть области примыкания плодного пузыря к внутреннему зеву шейки матки (рисунок 73 а). Вместе со стенкой матки плацента образует единый комплекс - «маточно-плацентарное соединение» (МПС). В норме между этими двумя слоями не должно быть никакого пространства (рисунок 73 а, б). Отделение плаценты от эндометрия – это признак нарушения нормального протекания жеребости, чреватая ее прерыванием. При ультразвуковом исследовании между этими двумя слоями

появляется жидкость в виде темной линии (рисунок 73 в). С развитием заболевания полоска между слоями становится шире, а эхогенность ее повышается. Наружным признаком могут быть выделения из вульвы.

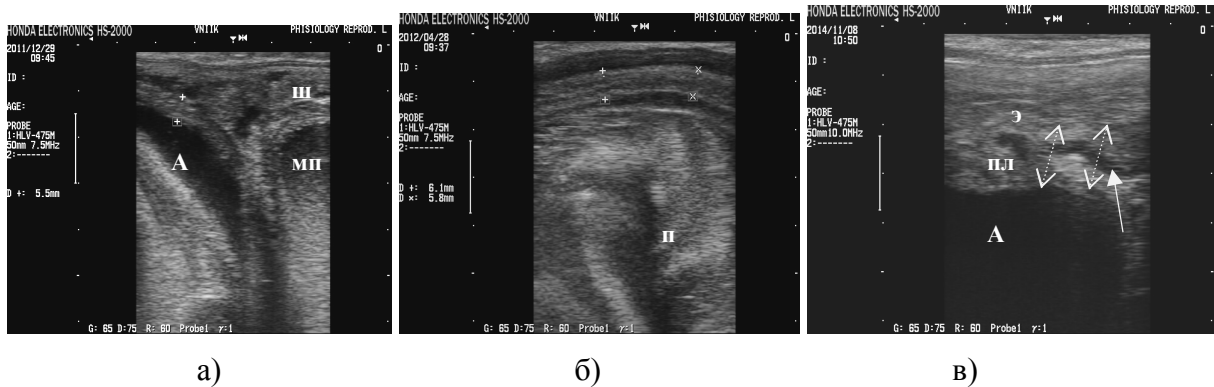


Рисунок 73 - Маточно-плацентарное соединение (МПС) (отмечено звездочками и пунктирными стрелками): а) жеребость 213 дней; б) жеребость 284 дня; в) отслоение плаценты – жидкость между эндометрием и плацентой (сплошная стрелка).

Примечание: ш – шейка; А – аллантаис; мп - мочевого пузыря; п – плод; э – эндометрий; пл – плацента

*Лютеальная недостаточность.* Ультразвуковое изображение первичного желтого тела беременности с недостаточной гормональной активностью, не имеет на эхограммах особенностей, которые отличали бы его от нормального желтого тела беременности или желтого тела полового цикла (рисунок 43 в). Поэтому выявление этой патологии возможно только с привлечением гормонального анализа. Обычным следствием снижения уровня прогестерона будет возобновление фолликулярной активности в яичниках кобылы и появление отека в матке.

#### *Ошибки при определении жеребости*

1. Персистентное желтое тело (ложная беременность, Тип А). Сопутствующие ректальные и внешние признаки жеребости (высокий тонус матки, кобыла не приходит долгое время в охоту и на пробе агрессивна по отношению к жеребцу) являются следствием работы персистентного желтого тела. Оно может задержаться в яичнике и в случае ранней гибели эмбриона, которая наступила после того, как от него прошел сигнал материнскому организму (после 16 дня). Поэтому, наряду с отсутствием эмбриона в матке, при УЗ-исследовании в яичник обнаруживается четко очерченное желтое тело.

2. Эмбриональная гибель после 35 дня (ложная беременность, Тип Б) не сопровождается наступлением эструса, потому что после запуска цикла работы эндометриальных чаш кобыла будет долго ощущать себя жеребой даже в случае отсутствия плода в матке. В этом случае при сканировании матки кобылы в ней не обнаруживается плод. Но косвенным подтверждением того, что кобыла, действительно, была жереба, на сроке 2-3 месяца в яичниках могут быть аксессуарные желтые тела и лютеинизированные фолликулы (рисунок 68 а-г).

3. Эндометриальные кисты. Еще один важный аспект УЗИ беременности связан с ошибками положительного диагноза, причиной которого могут стать маточные кисты. Одиночные кисты в виде эхогенного шарика, вдающегося в просвет матки, легко спутать с эмбрионом подходящего возраста (10-15 дней) (рисунок 74).

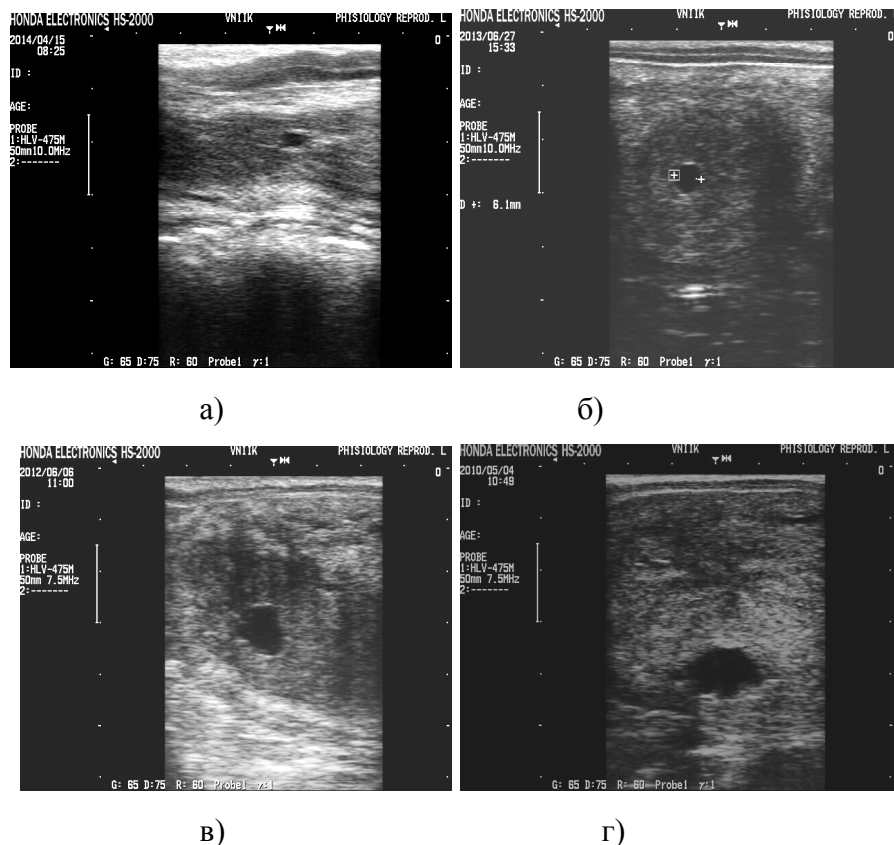


Рисунок 74 – Эндометриальные кисты: а) в теле матки величиной с 9-10 дневный эмбрион; б), в) в роге матки, величиной с 11-12 дневный эмбрионы; г) у основания рога матки величиной с 12-13 дневный эмбрион

В этом случае необходима повторная УЗ-экспертиза через 2-3 дня. Киста будет располагаться на том же месте и иметь прежний размер, тогда как эмбрион увеличится в диаметре и сменит локализацию (мобильная фаза).

4. Жидкость в матке. Дифференцировать жеребость от скопления жидкости в матке (эндометрит) можно по отсутствию эмбрионального (плодного) пузыря в матке или отсутствию в нем собственно эмбриона на определенной стадии развития.

Нередко скопление жидкости в матке бывает следствием эмбриональной гибели (рисунок 75).

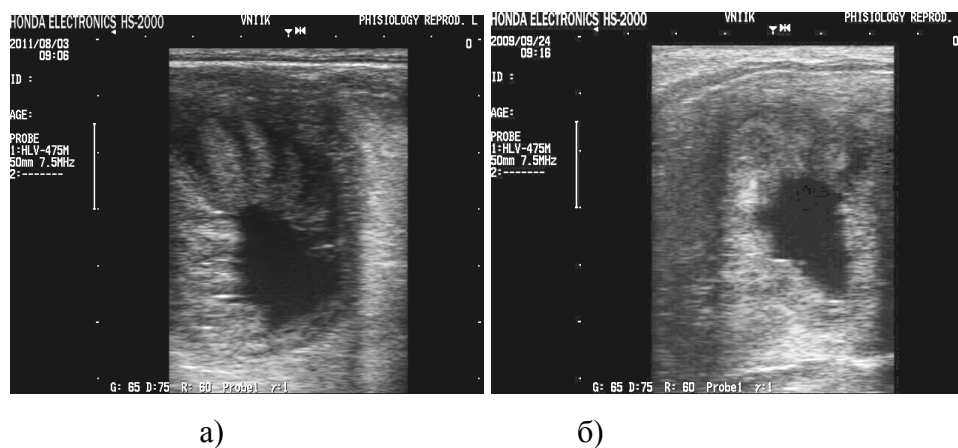


Рисунок 75 - Жидкость в матке. Эмбриональная гибель на сроке а) 22 и б) 24 дня

5. Гранулезная опухоль в яичнике может вызывать длительное диэстральное поведение кобылы, предполагающее жеребость. Увеличение в размере, характерная плотно-жесткая консистенция и «сотовая» или мультикистозная УЗ-структура одного из яичников наряду с уменьшением и полным отсутствием функциональной активности второго яичника (рисунок 58) будут свидетельством в пользу подтверждения диагноза гранулезной опухоли. Дополнительными признаками наличия именно этого вида опухоли будет агрессивное «мужское» поведение кобылы и отсутствие охоты.

### 3.4.3 Контрольные сроки УЗ-диагностики жеребости

Наибольший процент ранних эмбриональных потерь у лошадей падает на первые 1,5-2 месяца жеребости. Основные причины – это слабая связь эмбриона/плода с организмом матери до формирования плаценты (особенно, в первые 1,5 месяца жеребости), генитальные инфекции и двойни. Кроме того, дополнительный вклад в эту проблему, по-видимому, вносит очень плотный «график» наступления основных критических периодов в раннем эмбриогенезе, связанных с переключением на следующую программу развития организма [105]. Отсюда вытекает важность регулярного контроля над протеканием жеребости на ранних сроках у кобыл, чтобы вовремя принять корректирующие меры.

Наши многочисленные наблюдения позволили выделить наиболее информативные, ключевые (с точки зрения характерных УЗ-признаков матки, эмбриона/плода и яичников) сроки жеребости, на которых следует проводить контрольные проверки жеребых кобыл методом УЗИ (таблица 34).

Таблица 34 - Опорные сроки УЗ-диагностики и соответствующие им УЗ-признаки нормального развития эмбриона/плода лошади

Срок жеребости	УЗ-признаки
14 день	Эмбрион диаметром 14-16 мм в теле или рогах матки. В яичнике желтое тело беременности
17 день	Эмбрион неправильной формы (ближе к треугольной) у основания одного из рогов матки. У верхнего свода эмбрионального пузырька складки эндометрия
20 день	Эмбрион у дна эмбрионального пузырька виден собственно эмбрион (эхогенная чешуйка)
30 день	Эмбрион располагается посередине эмбрионального пузырька*
37 день	Эмбрион у вершины пузыря*
48 день	Эмбрион у дна плодного пузыря. Дополнительное желтое тело в яичнике. Первые движения эмбриона в пузыре*
60-65 день	Определение пола плода. Лютеинизированные фолликулы и желтые тела в яичниках*
Примечание: *На указанных сроках дополнительным критерием жизнеспособности эмбриона/плода служит его сердцебиение	

Попутно следует оценивать, сердцебиение, двигательную активность плода, прозрачность околоплодных вод и плотность примыкания оболочки плода к эндометрию.

После 3-3,5 месяцев функцию гормональной поддержки жеребости берет на себя плацента, поэтому УЗ-мониторинг можно ослабить и применять дальнейшие проверки только у проблемных кобыл или в случае признаков патологии. Вместе с тем, сохраняется угроза потери плодов и после вступления в фазу полноценного функционирования плаценты. В этом случае повторно покрыть или осеменить кобыл в текущем случном сезоне уже вряд ли удастся. Но полевые аборты, в том числе инфекционного характера, должны быть обязательно выявлены итоговой ректальной и ультразвуковой проверкой по окончании пастбищного сезона с тем, чтобы успеть провести необходимое лечение и подготовить кобылу к следующему случному сезону перед уходом в зимний анэструс.

**Заключение.** УЗИ матки и яичников жеребых кобыл является основным методом контроля над протеканием жеребости. Рекомендованы ключевые сроки для проведения УЗ-экспертиз в первые 2 месяца жеребости (14, 17, 20, 30, 37, 48, 60-65 дни), позволяющие оценить состояние эмбриона в соответствии со шкалой развития и вовремя выявить отставание в росте и другие патологии. В связи с объективно высокой долей ранних эмбриональных потерь у кобыл на доимплантационном этапе представляется важным вывод о необходимости соблюдения максимально комфортных условий кормления и содержания кобыл именно на ранних сроках жеребости, в отличие от традиционных правил уделять более серьезное внимание глубоко жеребым кобылам.

На основании результатов исследований предложена схема проведения ультразвуковой диагностики матки, яичников и плода жеребых кобыл с опорой на основные диагностические признаки (рисунок 76). В дополнение к ней составлена таблица с более подробным описанием признаков жеребости, помогающих отличить норму от патологии (таблица 35).

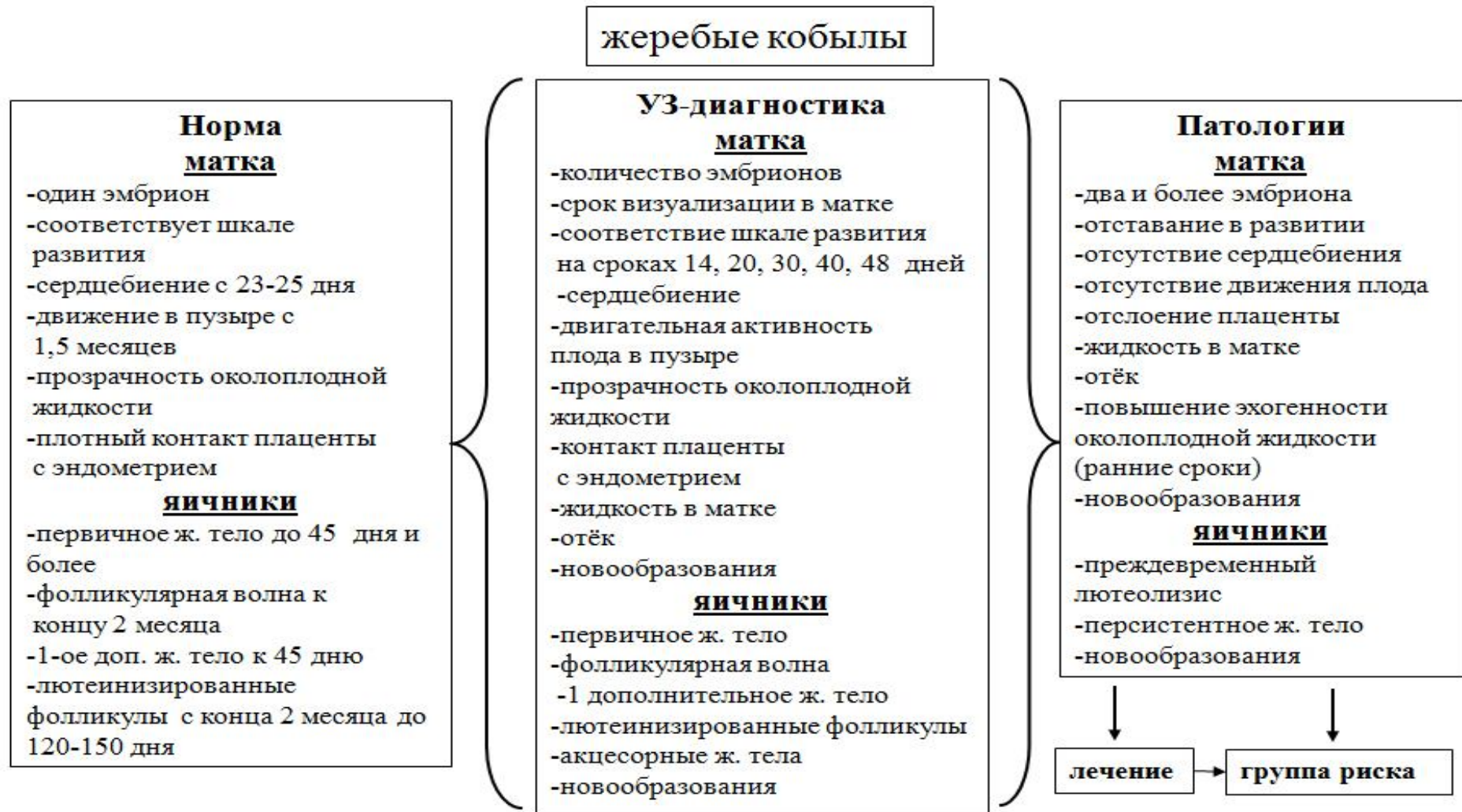


Рисунок 76 - Ультразвуковые признаки нормы и патологии протекания жеребости у кобыл

Таблица 35 – Ультразвуковые характеристики протекания жеребости у кобыл в норме и патологии

Признаки	Норма	Нарушения/патологии/потеря жеребости
<b>Матка</b>		
количество эмбрионов	один	два и более
визуализация эмбриона в матке	с 10-13 дня после овуляции	позднее 14 дня после овуляции
соответствие шкале роста/развития	соответствует	отстает, не соответствует
сердцебиение с 23-25 дня	есть	нет
двигательная активность плода в пузыре	с 1,5 месяцев	отсутствует к двум месяцам
прозрачность околоплодной жидкости	прозрачная (допустимы эхогенные включения к концу жеребости)	повышенная эхогенность с включениями
контакт плаценты с эндометрием	плотный	отслоение, наличие жидкости между слоями
отек	нет	есть
жидкость	нет	есть
новообразования	нет	есть (эндометриальная киста – ложный диагноз жеребости на ранних сроках)
<b>Яичники</b>		
первичное желтое тело (беременности)	есть до 35 дня и позже	преждевременный лютеолизис
фолликулярная волна	к концу 1 месяца	к середине 1 месяца
первое дополнительное желтое тело	к 40-45 дню	к 40-45 дню отсутствует
лютеинизированные фолликулы	с конца второго месяца до 110-150 дня (цикл работы эндометриальных чаш)	присутствуют, но плода в матке нет – аборт (ложная жеребость тип Б)
аксессуарные желтые тела	есть	присутствуют, но плода в матке нет – аборт (ложная жеребость тип Б)
персистентное желтое тело	нет	ложная жеребость (тип А)
новообразования	нет	есть (гранулезная опухоль – отсутствие цикличности – ложный диагноз жеребости)



### 3.5 Схема организации производственного цикла размножения лошадей в современных условиях

На основе результатов собственных исследований и практического опыта работы в области размножения лошадей предлагается схема производственного репродуктивного цикла в коневодстве с привлечением современных и доступных в российских условиях биотехнологических и диагностических методов (рисунок 77).

Принцип организации процесса воспроизводства в коневодческом хозяйстве строится на введении в систему работы с маточным поголовьем обязательной комплексной репродуктивной оценки. В комплекс диагностических методов включены ректальное, ультразвуковое, вагиноскопическое, цитологическое и бактериологическое исследования, посредством которых выявляются неблагоприятное состояние матки и яичников, воспалительные процессы и другие патологии репродуктивной системы. На основе комплексного обследования для воспроизводства отбираются только здоровые кобылы, а больные или неблагоприятные по каким-либо признакам проходят лечение для возвращения в производящий состав, либо выбраковываются.

На основании селекционной программы и репродуктивной оценки из группы здоровых кобыл выбираются наиболее ценные матки для естественной случки и искусственного осеменения свежим, охлажденным и криоконсервированным семенем от ценных производителей, с проверенным качеством спермы, а также кобылы-доноры эмбрионов. Соответственно, из группы менее ценных кобыл с нормальной репродуктивной функцией выбираются проверенные по плодовитости и материнским качествам кобылы-реципиенты.

Работу по искусственному осеменению и трансплантации эмбрионов с ценными кобылами следует начинать только после установления

Анэструс. Подготовка к случному сезону.

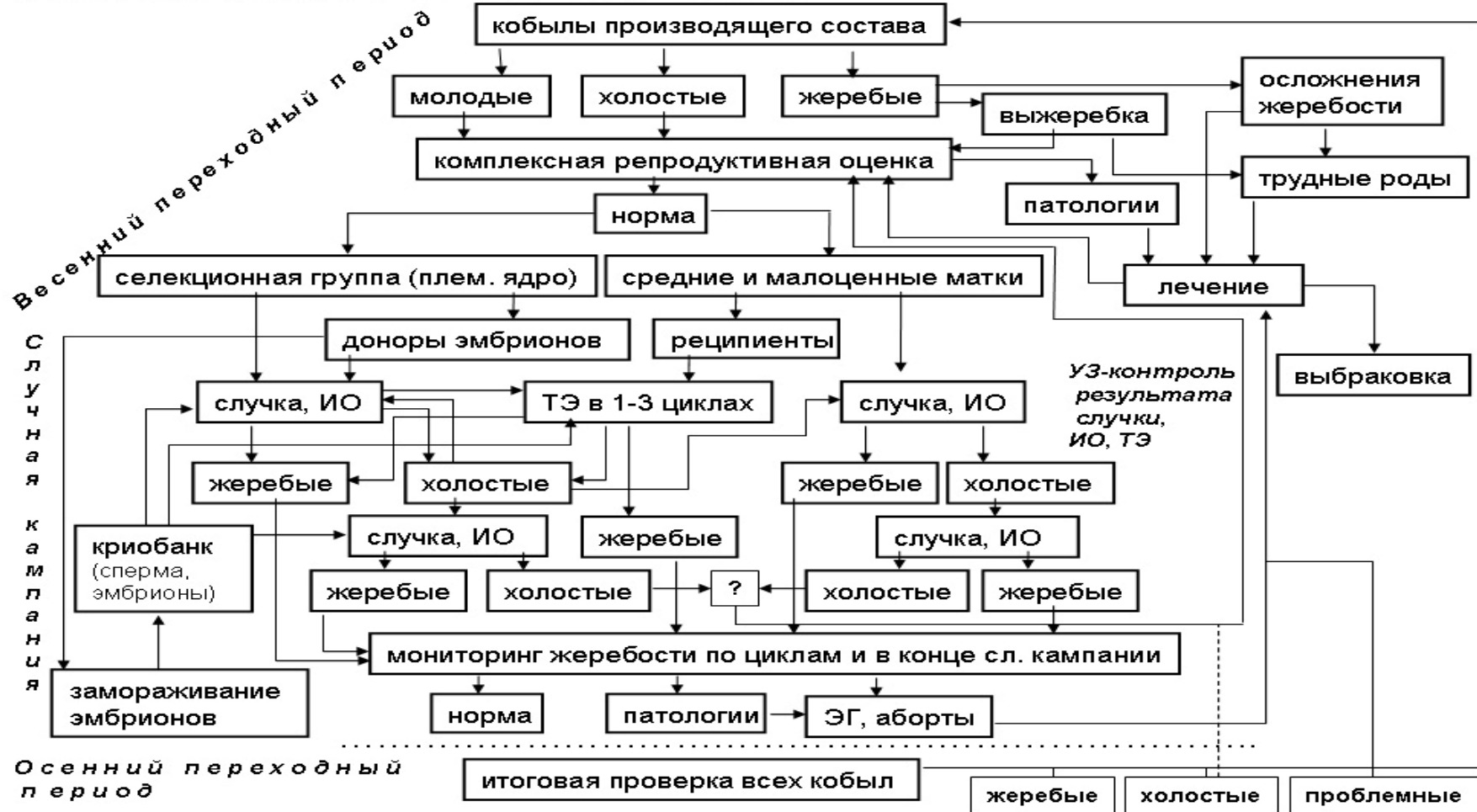


Рисунок 77 - Схема годового цикла воспроизводства лошадей в племенном коневодческом хозяйстве на основе современных биотехнологических, физиологических и диагностических методов

Примечание: ИО - искусственное осеменение свежим, охлажденным и замороженным семенем;  
ТЭ - трансплантация свежих, охлажденных и замороженных эмбрионов, ЭГ – эмбриональная гибель

полноценных (овуляторных) половых циклов. Осеменение ценных кобыл дорогостоящей криоконсервированной спермой можно проводить одной дозой в пределах 6 часов после наступления овуляции. Фиксированные сроки овуляции достигаются однократной инъекцией ХГЧ в дозе 1500 МЕ в пределах последующих 36-48 часов при наличии фолликула в яичнике размером 38-41 мм. У выжеребившихся кобыл случку и осеменение свежим/охлажденным семенем в послеродовую охоту можно проводить только при условии полного очищения и инволюции матки, желательно, не ранее 15 дня после родов. Осеменение замороженной спермой в послеродовую охоту не рекомендуется. Проблемные, а также прохолостевшие в первых циклах кобылы должны пройти повторную репродуктивную оценку для выяснения причин субфертильности и соответствующее лечение.

Кобылы-доноры эмбрионов могут быть использованы в программах по трансплантации эмбрионов в 2-3 первых половых циклах в сезоне, после чего их можно покрыть или осеменить, чтобы они выносили собственных жеребят. Кобыл с поздней выжеребкой нецелесообразно включать в донорское поголовье. Из кобыл, жеребеющих, но не вынашивающих плод, можно вымывать эмбрионы до конца случной кампании для трансплантации их в свежем и охлажденном виде и замораживать эмбрионы в криопротективной среде, приготовленных на основе этиленгликоля, глицерина, сахарозы и ФБС Дюльбекко по авторскому методу. Также для криоконсервации эмбрионов можно использовать не покрытых или оставшихся холостыми, но сохранивших фертильность кобыл донорского поголовья до наступления зимнего анэструса. В число доноров могут быть включены молодые 2 летние кобылы с ценным происхождением, не достигшие физиологической зрелости, от которых можно намораживать эмбрионы и хранить их в жидком азоте до выявления истинной племенной ценности конематок по качеству потомства. Эмбрионы по договоренности с другими хозяйствами можно транспортировать при плюс 5°С в течение суток и пересаживать реципиентам. В качестве транспортной среды

можно использовать готовую среду отечественного производства Nam's F12+Нерес (НПП «Панэко», Москва) с добавлением ФСТ и полигена.

Обязательным элементом работы с кобылами в воспроизводстве должен стать контроль результата случки на предмет посткоитального эндометрита, а также УЗ-мониторинг протекания жеребости, в соответствии со шкалой роста и развития эмбриона. Позднее появление эмбриона в матке (после 14-го дня) и отставание его в развитии является поводом для применения поддерживающей прогестиновой терапии (100 мг 2,5% масляного раствора прогестерона в/м ежедневно), как минимум, до плацентации (45 день) и в некоторых случаях далее, до полного формирования плаценты (100-150 день). Дополнительным тестом нормального протекания жеребости и обеспеченности ее прогестероном является не величина, но динамика концентрации прогестерона в крови жеребой кобылы на сроках 25, 35 и 45 дней. Между 25 и 35 днем жеребости у большинства кобыл происходит некоторое снижение уровня прогестерона, а на сроке 35-45 дней – достоверное увеличение этого показателя. Снижение концентрации прогестерона на этапе 35-45 дней вероятнее всего свидетельствует о недостаточной гормональной функции желтого тела беременности, нарушении или запаздывании образования дополнительного желтого тела, что может привести к эмбриональной гибели.

В случае обнаружения дойневых эмбрионов в матке необходимо отдавить один из них до 15-17 дня (в мобильной фазе), вызвать эмбриональную гибель инъекцией  $PGF_{2\alpha}$  или удостовериться в спонтанной гибели одного из эмбрионов.

Вопросы, связанные с прерыванием нежелательной или проблемной жеребости у кобыл необходимо решать до 35-го дня развития эмбриона. На сроках до 34-35 дня для стимуляции эмбриональной гибели достаточно 1 инъекции  $PGF_{2\alpha}$ . После 45-50 дня требуется проводить курс ежедневных инъекций  $PGF_{2\alpha}$  в течение 2-4 дней под контролем УЗИ состояния плода.

В период между 60 и 75 днем жеребости можно определить пол плода.

Дальнейшие наблюдения за протеканием жеребости могут быть сосредоточены на проблемных кобылах (группы риска). Мы намеренно не касаемся этих вопросов, в том числе вакцинации жеребых кобыл, которые находятся в компетенции ветеринарных специалистов. Не затрагиваются также базовые принципы и непреложные правила соблюдения санитарно-гигиенических требований при проведении всех мероприятий, связанных с работой в сфере гинекологии и репродуктивных биотехнологий (искусственное осеменение и трансплантация эмбрионов) в коневодстве, которые широко известны, доступны и не нуждаются в обсуждении.

Итогом годового цикла воспроизводства должна стать финальная репродуктивная проверка кобыл после окончания пастбищного сезона для выявления жеребых и холостых кобыл, а также дополнительных эмбриональных потерь и полевых аборт. Желательно спланировать сроки этой проверки так, чтобы успеть провести необходимое лечение перед уходом кобыл в зимний анэструс.

Период зимнего полового покоя кобыл нужно использовать для подготовки исследовательской и технологической базы на следующий годовой цикл воспроизводства: приобрести необходимые расходные материалы, гормональные препараты, среды и инструментарий для проведения искусственного осеменения и трансплантации эмбрионов и комплексной репродуктивной оценки кобыл. Провести ремонт и подготовку помещения для работы в стерильных условиях. Главной и обязательной составляющей подготовительной работы является всесторонний глубокий анализ репродуктивной деятельности кобыл на основе записей по ходу прошедшей случной кампании, УЗ-снимков и результатов анализов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате многофакторного сравнительного анализа технологий воспроизводства поголовья племенных лошадей различных пород в Российской Федерации и за рубежом в историческом аспекте выявлены основные условия, обеспечившие развитие и трансформацию производственных методов размножения ценных генотипов в коневодстве, внедрение биотехнологий. Усовершенствование метода размножения от естественной случки до высокоточного инструментального осеменения кобыл приготовленной тем или иным способом спермы жеребцов решало магистральную задачу интенсификации селекционного процесса и явилось эффективным инструментом реализации программ разведения лошадей. Дополнительный вклад в решение этой задачи внесла разработка и практическое применение метода трансплантации эмбрионов, как способа тиражирования генотипов ценных кобыл. В результате, на основе возросшего потенциала технического оснащения репродуктивного процесса, искусственные технологии размножения лошадей сегодня по результативности приближаются к естественным. Итогом внедрения системы физиологических методов и биотехнологий в репродуктивный процесс в коневодстве в мире стало значительное повышение основных показателей воспроизводства и радикальное улучшение качества лошадей.

Исходным моментом в технологическом цикле воспроизводства племенного поголовья является системный отбор кобыл в маточный состав по репродуктивным признакам. Комплексная оценка воспроизводительных качеств кобыл с использованием пяти изученных диагностических методов - ректального, ультразвукового, вагиноскопического, цитологического, бактериологического - способствует оптимизации использования маточного поголовья в размножении и улучшению качества получаемого приплода.

Современные репродуктивные методы в племенном коневодстве в обязательном порядке включают использование гормональных препаратов. Их

перечень широк и продолжает пополняться новыми средствами. Предложенные схемы гормональной обработки кобыл тремя препаратами отечественного производства (магэстрофан, ХГЧ и прогестерон) обеспечивают необходимую коррекцию половой функции и эффективное использование биотехнологий в воспроизводстве.

Искусственное осеменение в коневодстве является наиболее эффективным методом модернизации генотипов лошадей. Замороженная сперма жеребцов – это наиболее доступная форма использования дорогостоящего генетического материала. Экспериментально установлены наиболее подходящие сроки осеменения кобыл во время охоты, что имеет важное экономическое значение при рациональном использовании дорогостоящей спермы выдающихся жеребцов-производителей. С этой точки зрения также важны сведения, полученные в экспериментах по осеменению кобыл в первую и последующие охоты после выжеребки.

Технология эмбриотрансплантации существенным образом повышает коэффициент использования выдающихся кобыл в размножении. Разработанные на основе использования в опытах отечественных реактивов, препаратов и сред рекомендации обеспечивают доступное и результативное применение в эмбриотрансплантации свежих, охлажденных и замороженных эмбрионов лошадей.

Предложенная система организации годового цикла воспроизводства в отечественном коннозаводстве предусматривает использование современных методов, материалов и оборудования, позволяющих вести репродуктивный процесс с высокой результативностью и добиваться существенного повышения качества конского поголовья на основе углубленного исследования физиологических и биотехнологических механизмов формирования оптимальных условий для полной реализации генетически обусловленного уровня плодовитости животных.

## ВЫВОДЫ

1. Сравнительным анализом современного современных технологий воспроизводства в отечественном и зарубежном коннозаводстве, проведенном на обширном статистическом материале, полученном из актуальных информационных источников и первичных данных зоотехнической отчетности племенных хозяйств, выявлены основные технологические факторы, которые определяют достижение максимальных показателей по зажеребляемости кобыл, благополучной выжеребке и выходу молодняка. Установлено, что высокий технологический уровень организации воспроизводства в лучших племенных хозяйствах обеспечивает дополнительный прирост данных показателей на 7-20%.

2. В результате исследования доказано, что тренд показателя зажеребляемости кобыл в отечественном племенном коневодстве при разных технологиях случки отражает его возрастание по мере роста технической оснащенности процесса воспроизводства от простого к более сложному: косячная случка, варковая, ручная. В среднем уровни зажеребляемости кобыл в разрезе технологий случки выглядят следующим образом: косячная – 79,9%, варковая – 80,1%, ручная (в ведущих конных заводах) – 86,4%. Вместе с тем, при использовании любой технологии случки главенствующее значение имеет правильная организация случной компании в хозяйстве, компетенция исполнителей и оптимизация методов воспроизводства.

3. Как установлено, опережающий селекционный прогресс в породах лошадей спортивного назначения в странах с развитой конной индустрией был достигнут при активном использовании методов искусственного осеменения и трансплантации эмбрионов, о чем свидетельствуют широкие масштабы их применения. Так, в спортивном коневодстве Франции и Германии до 90% кобыл осеменяют искусственно (в 2014 году во Франции учтено 29814 осеменений, в том числе 25% замороженным семенем). В США в 2011 году было проведено



6122 пересадки эмбрионов лошадей. Эти показатели многократно превышают объемы использования биотехнологических методов в Российской Федерации.

4. Экспериментально установлено, что наиболее важными факторами, достоверно ( $p < 0,001$ ) определяющими успешный результат искусственного осеменения кобыл, являются качество семени жеребца, замороженного по любой технологии (гранулы, тубы, соломины), и отсутствие патологий воспроизводительной системы у маток. Осеменение кобыл криоконсервированным семенем в течение 6 часов после овуляции обеспечивает такую же зажеребляемость в одном цикле ( $67,7 \pm 5,8 \%$ ), как и осеменение за 12 часов до овуляции ( $65,0\%$ ), что очень важно учитывать на фоне высокочрезвычайно затратных показателей процесса воспроизводства в элитном коннозаводстве.

5. Экспериментальные данные свидетельствуют, что репродуктивный статус кобыл оказывает существенное влияние на результат случки/осеменения. В первую послеродовую охоту кобылы имеют достоверно более низкий процент зажеребляемости и благополучной выжеребки, чем в последующие циклы, как при естественной случке ( $p < 0,01$ ), так и при осеменении замороженно-оттаянной спермой ( $p < 0,01$ ). Осеменение кобыл криоконсервированным семенем в первые две охоты после выжеребки дает достоверно более низкие результаты ( $p < 0,001$ ), чем естественная случка, а также более частые случаи эмбриональной гибели.

6. В опытах доказано, что эффективность процесса воспроизводства может быть в целом обеспечена тремя гормональными препаратами: магэстрофан ( $PGF_{2\alpha}$ ), ХГЧ (хорионический гонадотропин человека) и прогестерон. Высокий эффект применения препаратов достигается при использовании разработанных схем системного гормонального воздействия на организм кобыл в процессе реализации репродуктивных технологий.

7. Экспериментально установлено, что необходимым условием достижения высоких показателей воспроизводства является применение методики отбора кобыл в маточный состав по репродуктивным качествам на основе комплексной диагностики функционального состояния их репродуктивной системы. Результаты исследований показали, что для выявления основных

гинекологических проблем при проведении репродуктивной оценки кобыл целесообразно использовать ректальный, вагиноскопический, ультразвуковой, цитологический и бактериологический методы диагностики. При этом доказана наиболее высокая эффективность лечения кобыл по результатам комплексного диагностического обследования с применением всех указанных методов диагностики.

8. Разработанная в данном исследовании технология мониторинга эстрального цикла и результатов случки/осеменения кобыл на основе применения метода ультразвуковой диагностики состояния матки, яичников и эмбриона/плода позволяет с абсолютной точностью определить на момент исследования актуальную фазу полового цикла, факт овуляции, наличие или отсутствие жеребости, двойнёвости и эмбриональной гибели, а также основных репродуктивных патологий, что позволяет максимально оптимизировать процесс воспроизводства в племенном коневодстве Российской Федерации на основе применения биотехнологических методов.

9. Составленные на основании большого числа экспериментальных наблюдений таблицы диагностических ультразвуковых признаков эмбриона/плода лошади на определенных стадиях развития и предложенные контрольные сроки проведения УЗ-экспертиз (14-й, 17-й, 20-й, 30-й, 37-й, 48-й и 60-65-й дни жеребости), позволяют своевременно выявить ту или иную патологию и принять соответствующие корректирующие меры (прерывание или гормональная поддержка жеребости, удаление лишнего эмбриона и др.), что является инновационным биотехнологическим инструментом для отечественных специалистов-репродуктологов.

10. В развитие ранее разработанной и усовершенствованной с участием автора отечественной технологии извлечения и пересадки свежих эмбрионов лошадей предложены оригинальные методы культивирования, охлаждения и витрификации (ультрабыстрого замораживания) эмбрионов с использованием авторских сред оригинального состава и способа приготовления: среда для 24-часового культивирования (37°C) 8-8,5-дневных эмбрионов (молочно-желточно-

солевая - МЖС), среда для 24-часового гипотермического хранения (плюс 5°C) 7,5-8-дневных эмбрионов (Ham's F12+Нерес), среда для витрификации 6,5-7-дневных эмбрионов (глицерин, этиленгликоль, сахароза, фосфатно-солевой буфер).

11. Усовершенствованная методика оценки эмбриона лошади, окрашенного витальным красителем голубой Эванса, в ходе микроскопического исследования позволяет определять уровень повреждения клеток после различных воздействий, повышать достоверность прогноза качества ранних эмбрионов при разработке новых репродуктивных технологий.

12. Результаты настоящей аналитической и экспериментальной работы позволяют существенно повысить показатели воспроизводства поголовья лошадей в племенных хозяйствах Российской Федерации на основе оптимизации технологии с применением методов: комплексной репродуктивной оценки маточного поголовья, отбора кобыл в селекционную группу, подбора доноров и реципиентов, набора биотехнологических репродуктивных методов с использованием свежего, охлажденного и замороженного биоматериала (сперма, эмбрионы), а также средств гормональной обработки кобыл и современных диагностических приборов и технических средств.

## ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Для оптимизации технологии воспроизводства в племенном коневодстве Российской Федерации и повышения качественных показателей рекомендуется использовать в практике коннозаводства изданные по результатам научных исследований практические рекомендации автора:

1. Инструкция по искусственному осеменению и трансплантации эмбрионов лошадей (Дивово, 2012). Рассмотрена и одобрена научно-техническим советом МСХ РФ 22 декабря 2006 года.

2. Наставление по культивированию эмбрионов лошадей (Дивово, 2014). Одобрено на секции коневодства Отделения зоотехнии Россельхозакадемии 7 декабря 2006 года.

3. Методические рекомендации «Способ приготовления сред для витрификации эмбрионов лошадей (Дивово, 2014). Одобрено на секции коневодства Отделения зоотехнии Россельхозакадемии 11 декабря 2012 года.

4. Наставление по витрификации эмбрионов лошадей (Дивово, 2014), секции коневодства Отделения зоотехнии Россельхозакадемии 24 сентября 2013 г.

5. Пособие для специалистов «Ультразвуковая диагностика репродуктивной системы кобыл в норме и патологии» (Рязань, 2016 г.), Рассмотрено и одобрено на заседании Ученого Совета ФГБНУ «ВНИИ коневодства» 28 декабря 2015 года.

На основании результатов проведенных исследований практикующим специалистам в области репродукции лошадей могут быть даны следующие рекомендации:

1. Для получения высоких показателей воспроизводства необходимо проводить репродуктивную оценку кобыл при отборе в производящий состав. Использовать комплексный подход для оценки функционального состояния репродуктивной системы кобыл на основе современных диагностических методов

(ректальная диагностика, ультразвуковое исследование, вагиноскопия, цитологический, бактериологический и при необходимости гормональный (прогестерон) анализ).

2. Применять в соответствии с предложенными схемами гормоны (простагландин F<sub>2α</sub>, хорионический гонадотропин и прогестерон) для синхронизации половых циклов, стимуляции овуляции и поддержки и прерывания жеребости у кобыл.

3. С целью экономии средств и обеспечения гарантированного результата, снизить дозу препарата хорионического гонадотропина человека (ХГЧ/хорулон) до 1500 МЕ для обеспечения овуляции у кобыл в течение 36-48 часов после инъекции при наличии фолликула в яичнике размером 38-41 мм.

4. Для экономии доз дорогостоящего семени и обеспечения высокой зажеребляемости проводить осеменение кобыл 1 дозой замороженной спермы отечественного (тубы) или импортного (соломнины) производства в течение 6 часов после овуляции.

5. Не использовать осеменение замороженной спермой на кобылах с гинекологическими проблемами и в послеродовую охоту.

6. Применять производственные биотехнологии (искусственное осеменение и трансплантацию эмбрионов) в репродукции лошадей на основе сред отечественного производства.

7. Ввести в практику воспроизводства обязательный контроль и мониторинг результата случки/осеменения/эмбриотрансплантации на основе УЗ-диагностики.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

FAO	-	Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (англ. Food and Agriculture Organization, FAO)
ИО	-	искусственное осеменение
ТЭ	-	трансплантация эмбрионов
Ос	-	осеменение
к/з	-	конный завод
КФХ	-	крестьянское фермерское хозяйство
АФ	-	агрофирма
КРС	-	крупный рогатый скот
ГнРГ	-	гонадотропин рилизинг гормон
ФСГ	-	фолликулостимулирующий гормон
ЛГ	-	лютеинизирующий гормон
ПГ	-	прогестерон
лХГ	-	лошадиный хорионический гонадотропин
ХГЧ	-	хорионический гонадотропин человека
МЕ	-	международные единицы
в/м	-	внутримышечно
в/в	-	внутривенно
ЭКО	-	экстракорпоральное оплодотворение
IVF	-	оплодотворение in vitro (англ. in vitro fertilization)
ICSI	-	интраплазматическая инъекция сперматозоида в яйцеклетку(англ. intracytoplasmic sperm injection)
GIFT	-	перенос гамет в фаллопиевы трубы (англ. gamete intrafallopian transfer)
ОТ	-	перенос ооцитов (англ. oocyte transfer)
ЭГ	-	эмбриональная гибель
ОЖ	-	ожеребилась
м/рожд.	-	мертворожденный
УЗИ	-	ультразвуковое исследование

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алиев, А. И. Усовершенствование технологии замораживания спермы / А. И. Алиев // Коневодство и конный спорт. - 1975. - №7. - С.30.
2. Андрюшин, В. В. Влияние простагландинов на воспроизводительную функцию кобыл / В. В. Андрюшин, Е. Л. Фомина, К. И. Мирошникова // Достижения физиологии и их применение в коневодстве: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. - 1984. - С.116-123.
3. Андрюшин, В. В. Замораживание спермы жеребцов в облицованные гранулы с использованием автоматического оборудования / В. В. Андрюшин, Е. Л. Фомина // Физиологические основы повышения продуктивности с.-х. животных: Тез. Докл. Науч. Конфер. ВНИИК 3 марта 1995 г. - Дивово. - 1995. - С. 22-25.
4. Архипов, Г. Н. К вопросу об оптимальных сроках осеменения кобыл / Г.Н Архипов / Коневодство. - 1957. - №1. - С. 25-27.
5. Архипов, Г. Н. О дозировке семени при искусственном осеменении кобыл / Г.Н. // Коневодство. - 1957. - № 5. - С. 33-34.
6. Архипов, Г. Н. Фистульный метод изучения генитального аппарата лошади: дисс. ... канд. биол. наук / Г. Н. Архипов; Ин-т физиологии им. И. П. Павлова. - М., 1956. -194 с.
7. Баковецкая, О. В. Методические рекомендации по определению оптимального времени осеменения коров и кобыл /О. В. Баковецкая. - Рязань. - 2006. -26 с.
8. Баковецкая, О. В. Структурно-функциональная характеристика вагинальной слизи кобыл в динамике полового цикла: автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 06.02.05 / О. В. Баковецкая; ВНИИ коневодства. - Дивово, 1998. - 16 с.
9. Барминцев, Ю. Н. Книга о лошади. Т. 1 / Ю. Н. Барминцев, С. М. Буденный, И. И. Жадан, Б. А. Зубрилин, М. Б. Игнатьева - М.: Сельхозиздат, 1952. -605с.

10. Барулин, К. И. Бесплодие кобыл и методы лечения/ К. И. Барулин //Проблемы животноводства. – 1935. - №7. – С. 110-118.
11. Барулин, К. И. Диагностика беременности кобыл по моче и крови /К. И. Барулин // Коневодство.- 1932.- №6.-С. 325-328.
12. Барулин, К. И. Синтетические эстрогены и их применение при бесплодии сельскохозяйственных животных /К. И. Барулин //Коневодство. – 1946. - №1. – С.38-34.
13. Беляев, А. Искусственное осеменение в табунном коневодстве / А. Беляев //Коневодство. – 1938.- №3.- С. 26-28.
14. Беляев, С. О кобылах, не приходящих в охоту /С. Беляев //Коневодство. – 1936. - №8. – С. 39-45.
15. Беляев, С. Случная кампания в элитных конзаводах / С. Беляев //Коневодство . – 1935. - №5. – С. 25-28.
16. Бобылев, И. Ф. Коневодство / И. Ф. Бобылев, Б. М. Гопка, К. Б. Свечин - М.: Колос, 1992. -271 с.
17. Буйко, А. Н. Морфологические изменения органов размножения кобыл в период ранней жеребости/ А. Н. Буйко // Работы по физиологии лошади: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – М., 1961.- Т.23. – С.69-80.
18. Буйко, А. Н. Морфологические изменения яичников лошади при созревании фолликула и после овуляции / А. Н. Буйко, П. Н. Скаткин // Работы по физиологии лошади: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – М., 1961.- Т.23. – С.37-56.
19. Буйко-Рогалевич, А. Н. Длительное хранение спермы жеребца / А. Н. Буйко-Рогалевич //Коневодство. – 1949. - №5. – С. 27-34.
20. Буйко-Рогалевич, А. Н. Изменение физико-химических свойств семени жеребца при его разбавлении глюкозо-желточным разбавителем /А. Н. Буйко-Рогалевич // Вопросы физиологии размножения лошадей: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – 1955. - Т. 21. – С.160-184.



21. Витт, В. О. Культурное конепроизводство / В. О. Витт // Книга о лошади. В 2- т. Под ред. С. М. Буденного. – М. - Л.: Сельхозгиз, 1933. – Т.1. - С.191-230.
22. Волосков, П. А. Диагностика жеребости кобыл по реакции Сальковского /П. А. Волосков // Советская ветеринария. – 1939. - №7. – С.76-79.
23. Волосков, П. А. Клинико-цитологический метод определения фаз полового цикла кобыл /П. А. Волосков // Советская ветеринария. – 1939. - №4. – С. 59-64.
24. Волосков, П. А. Новые методы диагностики жеребости кобыл / П.А.Волосков //Коневодство . – 1935. - № 5. – С. 58-61.
25. Волосков, П. А. Охота у кобыл и методы определения овуляции / П.А.Волосков //Коневодство . – 1936. - №10. – С. 47-55.
26. Волосков, П. А. Половой ритм и фазы полового цикла у кобыл //Вестник с.-х. науки. Ветеринария.– 1940. – Вып.3. – С. 83-90.
27. Волосков, П. А. Этапы развития искусственного осеменения сельскохозяйственных животных / П. А. Волосков //Сов. Ветеринария. – 1939. - № 7. – С. 21-24.
28. Волосков, П. А. Этиология и лечение заболеваний полового аппарата кобыл/ П. А. Волосков //Советская ветеринария. - №3 . – 1939.- С.100-106.
29. Гончаров, В. П. Влияние прогестерона на зажеребляемость // Коневодство и конный спорт.-1971 г. - №3. – С.33.
30. Гончаров, В. П. Особенности воспроизводительной функции кобыл и применение прогестерона для повышения их плодовитости: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 102 / Гончаров В. П.; ТСХА. - Москва, 1971. - 20 с.
31. Гончаров, В. П. Профилактика бесплодия лошадей / В. П. Гончаров. – М.: Россельхозиздат, 1984. – 158 с.
32. Григорьев, П. М. К изучению продолжительности охоты у кобыл /П.М.Григорьев //Коневодство.-1947.- №1.- С. 25-29.

33. Давидович, Е. А. Табунное коневодство / Е. А. Давидович // Книга о лошади. В 2- т. Под ред. С. М. Буденного. – М. - Л.: Сельхозгиз, 1933. – Т.1. - С.233-275.
34. Дюльгер, Г. П. Физиология и биотехника размножения лошадей /Г. П. Дюльгер, В. В. Храмцов, Н. М. Кертиева. -М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2012. — 112 с.
35. Ермаченков, Н. Н. Акушерство и гинекология сельскохозяйственных животных/ Н. Н. Ермаченков. - М.: «Колос», 1983. -С. 33-34.
36. Животков, Х. И. Аборты кобыл в ранней стадии жеребости /Х. И. Животков //Ветеринария. – 1952. - №11. – С. 55-57.
37. Животков, Х. И. Бывает ли рассасывание плодов у жеребых кобыл /Х. И. Животков // Коневодство. - 1951. - №2. - С. 26-29.
38. Животков, Х. И. Гинекологический контроль случки и искусственного осеменения лошадей /Х. И. Животков //Коневодство. – 1950. - №5. – С.21-25.
39. Животков, Х. И. Глубокое введение спермы при искусственном осеменении лошадей /Х. И. Животков //Коневодство . – 1941. - №2.- С. 6-7.
40. Животков, Х. И. Еще раз в защиту ректального метода исследования жеребости /Х.И.Животков //Проблемы животноводства.- 1937. - №7. – С.162-170.
41. Животков, Х. И. Зоотехническая и ветеринарная гинекология кобыл /Х.И.Животков // Коневодство. – 1937. - №5.- С.47-49
42. Животков, Х. И. Искусственное осеменение лошадей в сочетании с ветеринарно-зоотехнической гинекологией / Х. И. Животков //Коневодство. – 1939. - №1.- С. 25-30.
43. Животков, Х. И. К вопросу о выбраковке кобыл из плодового состава по гинекологическим данным /Х. И. Животков //Коневодство. – 1949. - №3. – С.16-19.
44. Животков, Х. И. К вопросу о зимней и ранневесенней случке кобыл/ Х. И. Животков //Коневодство. – 1952. - №10. – С. 16-23.
45. Животков, Х. И. Неправильная практика и неправильные выводы / Х. И. Животков //Коневодство. – 1936. - №6. – С. 34-40.

46. Животков, Х. И. Опыт искусственного осеменения лошадей /Х. И. Животков //Коневодство . – 1938. - №3.- С. 16-20.
47. Животков, Х. И. Основы осеменения лошадей/ Х. И. Животков - М.: Сельхозгиз, 1952. - 368 с.
48. Животков, Х. И. Путь для получения стопроцентной жеребости /Х. И. Животков //Коневодство. – 1950. - №11.- С. 27-33.
49. Животков, Х. И. Фистульный метод получения спермы от жеребцов и его применение на практике /Х. И. Животков //Коневодство.- 1939. - №4. – С.44-52.
50. Животков, Х. И. Эффективность осеменения кобыл до и после овуляции / Х. И. Животков, П. Н. Скаткин //Коневодство .-1941. - №1 . – С. 11-13.
51. Жмурин, Л. М. К вопросу о сохранении в замороженном состоянии семени жеребца / Л. М. Жмурин //Коневодство.-1959.-№4.-С.24-27.
52. Завадовский, Б. М. Научное обоснование и производственное применение гормональных методов диагностики беременности / Б. М. Завадовский // Коневодство. – 1937. - №5.-С. 49-50.
53. Завадовский, Б. М. Ранняя диагностика жеребости у лошадей /Б. М. Завадовский //Коневодство . – 1934.- №5. – С.25-33.
54. Залесский, И. Ф. Определение жеребости конематок при помощи влагалищного зеркала / И. Ф. Залесский // Ветеринария. – 1948. - №7. – С.37-38.
55. Зальцман, А. А. Искусственное осеменение лошадей/ А. А. Зальцман, О. Ф. Нейман //М.: Сельхозгиз, 1938. – 48 с.
56. Зальцман, А. А. Получение спермы у лошадей /А. А. Зальцман //Коневодство. – 1936. - №7. – С.54-58.
57. Иванов, И. И. Искусственное оплодотворение у домашних животных: для ветеринарных врачей, сельских хозяев и коннозаводчиков / И. И. Иванов. - С-Пб, 1910. – 80 с.
58. Ильинская, Т. П. Усовершенствование метода длительного хранения спермы жеребца путем замораживания: автореф. дис. ... канд. биол. наук /Т. П. Ильинская; ВНИИ животноводства – М.,1957. – 15 с.

59. Инструкция по искусственному осеменению и трансплантации эмбрионов лошадей.- Дивово: Изд. ГНУ «ВНИИ коневодства», 2012. –72 с.
60. Карш, Ф. Гормональная регуляция размножения у млекопитающих /Карш Ф., Линкольн Д. У., Линкольн Дж. А. [и др.]; под ред. К. Остина, Р. Шорта; - М. : Мир, 1987. - 303,[1] с.
61. Кедров, В. К. Время овуляции у кобыл в течение суток /В. К. Кедров //Коневодство . – 1947. - №5 . – С. 10.
62. Кедров, В. К. Искусственное осеменение кобыл с контролем овуляции и количества вводимых сперматозоидов /В.К.Кедров //Коневодство. – 1940. - №1. – С.15-16.
63. Кедров, В. К. О новом методе определения сроков случки /В. К. Кедров //Коневодство. – 1938. - №1. – С.23-25.
64. Кедров, В. К. Осеменение кобыл разбавленной спермой /В. К. Кедров //Проблемы животноводства. – 1939. - №4. – С.151-155.
65. Кедров, В. К. Ректальный метод выявления овуляции у кобыл / В .К. Кедров // Коневодство. – 1938. - № 8-9. – С.45-47.
66. Кедров, В. К. Реорганизовать работу пунктов искусственного осеменения кобыл / В.К.Кедров //Коневодство. – 1938. - №11. – С. 21-24.
67. Керов, М. А. Сравнительная оценка ректального и вагинального методов диагностики жеребости/ М. А. Керов //Коневодство . – 1940. - №2. – С.16-24.
68. Клинский, Ю. Д. Состояние и перспективы дальнейшего развития гормонального метода повышения плодовитости сельскохозяйственных животных - М.: Колос, 1969. – 68 с.
69. Ключев, В. В. Наблюдения за процессом овуляции у кобыл с фистулой яичника /В. В. Ключев, С. М. Ромбе //Ветеринария . – 1966. - №2. – С.99-101.
70. Ковешников В. С. Развитие мясного табунного коневодства России: мет. Рекомендации. – М.,2007. – С.5(районы разведения) (С.95-воспр.)
71. Корольков, А. Г. К вопросу о двойнях в коневодстве /А. Г. Корольков //Коневодство. – 1951. - №3. – С.20-22.

72. Котельникова, Е. В. Особенности раннего эмбриогенеза лошадей: дисс... канд. биол. наук: 06.02.05 / Е. В. Котельникова; ВНИИ коневодства. - Дивово, 1998. -111 с.
73. Кошаров, О. А. Совершенствование технологии воспроизводства лошадей в конных заводах: автореф. дисс... канд. с.-х. наук: 06.02.04 / О. А. Кошаров; ВНИИ коневодства.- Дивово, 2007.- 26 с.
74. Красников, А. С. Воспроизводство лошадей / А. С. Красников // Коневодство. - М.: Колос, 1973. - С.140-158.
75. Крейнина, Х. М. Определение овуляции кобыл по вагинальным мазкам / Х. М. Крейнина, В. К. Кедров //Тр. лаборатории искусственного осеменения животных / ВИЖ. – Т.1. – 1940. – С.270-277.
76. Кружкова, Е. С. Длительное хранение спермы жеребцов / Ветеринария. – 1970. – №10. – С. 109-111.
77. Курносков, К. М. Рост и формирование телосложения у эмбрионов лошадей // Тр. ин-та экспериментальной биологии. – АН КазССР,1973.- т. 9. - с.180
78. Лебедев, С. Г. Освоение УЗИ-диагностики состояния половых органов кобыл / С. Г. Лебедев, Н. В. Сидорова, Е. В. Котельникова // Новые селекц., физиол., биотехнолог. методы в коневодстве: сб. науч. трудов / ВНИИ коневодства. Дивово, 1999. - С. 158-171.
79. Лебедев, С. Г. Применение хорионического гонадотропина для повышения эффективности осеменения в коневодстве: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13: защищена 14.06.1977/С. Г. Лебедев; ВНИИ коневодства. - Дивово, 1977.- 136 с.
80. Лебедев, С. Г. Проблема двойнёвости в коневодстве / С. Г. Лебедев. – Дивово, 2001. – 28 с.
81. Лебедев, С. Г. Трансплантация эмбрионов лошадей: дисс... д-ра биол. наук: 03.00.13 / С. Г. Лебедев; ВНИИ коневодства. - Дивово, 1994. – 254 л.

82. Линтварева Н. И. Влияние светового фактора на функции размножения животных /Н. И. Линтварева // Вопросы физиологии размножения лошадей: сб. науч. тр./ ВНИИ коневодства. – М.,1955. - Т. 21. – С.44-65.
83. Логинов, Р. О. Влияние различных факторов на биологическую активность гонадотропина сыворотки жеребых кобыл: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13/ Р. О. Логинов; ВИЖ. – Дубровицы, 2006. - 100 л.
84. Мамин, К. И. Изменение яичников у кобыл в период ранней жеребости /К. И. Мамин //Сб. научн. работ ВНИИ жив-ва. – 1970. – Вып. 21. – С.40-43.
85. Мамин, К. И. Морфологические изменения половых органов у жеребых кобыл в период появления и накопления в крови гонадотропного гормона: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03-102 / К. И. Мамин; ВИЖ. - Дубровицы,1970. - 24 с.
86. Мартыненко, Н. А. Эмбриональная смертность сельскохозяйственных животных и ее предупреждение / Н. А. Мартыненко. - Киев: Урожай, 1971. - 298 с.
87. Меркулова, М. В. Выделение, очистка гонадотропного гормона и разработка иммуноферментного набора для его определения в СЖК: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / М. В. Меркулова; ВИЖ.- Дубровицы. - 1997. – 24 с.
88. Меркурьева, Е. К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных / Е. К. Меркурьева. – М.: Колос, 1970. – 424 с.
89. Милованов, В. К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение сельскохозяйственных животных / В. К. Милованов . - М., 1962. – С.581-615.
90. Милованов, В. К. Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных/ В. К. Милованов. – М.: Сельхозгиз, 1938. - 368 с.
91. Милованов, В. К. Итоги трехлетней работы по разбавителям для спермы с.-х. животных /В. К. Милованов //Проблемы животноводства. – 1933. - №4. – С.95-100.
92. Мирская, Л. М. Охота и овуляция у лошади / Л. М. Мирская, А. А. Зальцман // Успехи зоотехнических наук. – 1935. – Т.1, №1. – С. 157-168.

93. Мирская, Л. М. Сокращение нормальной длительности охоты у лошадей применением пролана // Л. М. Мирская, В. В. Петропавловский // Проблемы животноводства. – 1937. - №4. – С. 22-39.

94. Михайлов, Н. Н. Молоко – разбавитель семени животных /Н. Н. Михайлов // Вопросы физиологии размножения лошадей: сб. науч. тр./ ВНИИ коневодства. – 1955. - Т. 21. – С.141-152.

95. Михайлов, Н. Н. Молочные разбавители спермы лошадей /Н. Н. Михайлов // Коневодство . – 1949. - №6. – С. 14-16.

96. Науменков, А. И. Лактозо-хелато-цитрато-желточный разбавитель спермы жеребца / А. И. Науменков, Н. К. Романькова // Теория и практика совершенствования пород лошадей: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. –М., 1971. - Т. 25. - С. 128-132.

97. Науменкова, В. А. Изучение длительности сроков хранения семени жеребцов в состоянии анабиоза/В. А. Науменкова, М. М. Атрощенко, Л. Ф. Лебедева, Р. А. Халилов, Т. Н. Рябова // Коневодство и конный спорт. -2013. -№5. – С. 15-17.

98. Науменкова, В. А. Использование диализа для криоконсервации спермы жеребца: дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / В. А. Науменкова; ВНИИ коневодства. - Дивово, 1994. – 132 с.

99. Науменкова, В. А. Использование искусственного осеменения в рысистом коневодстве России / В. А. Науменкова // Науч. обеспечение развития и повышения эффективности племенного, спортивного и продуктивного коневодства в России и странах СНГ: сб. докладов Междунар. научно - практ. конф. к 75-л. пр. В. С. Ковешникова. – Дивово, 2014. - С.152-155.

100. Науменкова, В. А. Памяти появления первого в мире жеребенка от замороженного семени / В. А. Науменкова, Н. К. Романькова // Искусственное осеменение лошадей - истоки биотехнологии в коневодстве: сб. докладов научно-практ. конференции и координац. совещания, посвящ. 100-л. со д.р. Скаткина П. Н. - Дивово, 2004. – С.24-28.

101. Нейман, О. Ф. Случка и искусственное осеменение кобыл / О. Ф. Нейман // Коневодство.- 1937. - №5. – С. 50-51.
102. Никонова, А. И. Современное состояние и дальнейшая работа с новоалтайской породой лошадей / А. И. Никонова // Гос. книга племенных лошадей новоалтайской породы.- Дивово, 2005.-Т.2.- С. 11-27.
103. Ожин, Ф. В. Значение искусственного осеменения и краткие сведения о его развитии / В. Ф. Ожин, П. Н. Скаткин // Ожин, Ф. В. Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных / Ф. В. Ожин, И. И. Родин, Н. В. Румянцев, П. Н. Скаткин, Н. П. Шергин. – Изд. 3. - М., 1961. - С.5-24.
104. Отраслевая целевая программа «Развитие племенного коневодства в Российской Федерации в 2013-2015 годы и на плановый период до 2020 года»: приказ Минсельхоза РФ от 09.04.2013 г. № 173 [Электронный ресурс]. - Режим доступ: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70257726/>
105. Ошуркова, Ю. Л. Морфологическая характеристика развития эмбриона лошади в зародышевый период: : дисс... канд. биол. наук: 03.00.13 / Ю. Л. Ошуркова; ВНИИ коневодства. - Дивово, 2004. – 128 с.
106. Паршутин, Г. В. 50 лет искусственного осеменения лошадей / Г. В. Паршутин // Коневодство. – 1950. - № 1. – с.27-31.
107. Паршутин, Г. В. Глюкозный разбавитель для спермы жеребца /Г. В. Паршутин //Коневодство. – 1940. - №4. – с.39-42
108. Паршутин, Г. В. Искусственное осеменение и случка лошадей /Г. В. Паршутин, П. Н. Скаткин. – Изд. 3-е, допол.– М.: Сельхозгиз, 1953. – 127 с.
109. Паршутин, Г. В. Некоторые вопросы повышения плодовитости лошадей/ Г. В. Паршутин //Коневодство. – 1949. - №3.- С. 19-22.
110. Паршутин, Г. В. О переживаемости сперматозоидов в матке кобылы /Г. В. Паршутин //Коневодство . – 1952. - №9. – С. 12-19.
111. Паршутин, Г. В. Сравнительная оценка методов получения спермы у лошадей /Г. В. Паршутин //Коневодство. – 1937. - №1. – С.36-42.



112. Паршутин, Г. В. Стандарты для определения концентрации спермы жеребцов / Г. В. Паршутин, Е. Ю. Румянцева // Коневодство. – 1938. - №12. – С.44-45.

113. Петропавловский, В. В. Особенности сокращения яйцеводов у кобыл в период полового цикла / В. В. Петропавловский // Труды Ульян. СХИ. –1968. -Т.13. - С.266-279.

114. Петропавловский, В. В. Пролан как средство сокращения длительности охоты у лошадей / В. В. Петропавловский // Коневодство. – 1938. - №3.- С. 21-26.

115. Печников, П. П. Концентрация водородных ионов в сперме жеребца / П. П. Печников // Труды ВНИИ коневодства. – 1947. - Вып.17. – С. 123-131.

116. Печников, П. П. Определение физиологического состояния сперматозоидов методом окраски / П. П. Печников, П. Н. Скаткин // Вопросы физиологии размножения лошадей: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – 1955. - Т. 21. – С.66-73.

117. Печников, П. П. Результаты исследований по замораживанию спермы жеребца при температуре  $-196^{\circ}$  / П. П. Печников // Бюллетень научно-технической информации. - М.:Изд-во МСХ РСФСР, 1959. - № 4-5. - С. 43-45.

118. Печников, П. П. Способ разбавления спермы жеребцов для искусственного осеменения лошадей / П. П. Печников, П. Н. Скаткин // Бюллетень изобретений. – 1949. - №11. – С.36-37.

119. Печников, П. П. Физико-химические свойства семени жеребца / П. П. Печников // Вопросы физиологии размножения лошадей: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – 1955. - Т. 21. – С.74-134.

120. Платов, Е. М. Длительное хранение спермы жеребца / Е. М. Платов, Е. С. Пустовая, А. Д. Лялин, В. А. Котягина // Теория и практика совершенствования пород лошадей: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. –М., 1971. - Т. 25. -С.123-127.

121. Постников, М. Опыт внедрения искусственного осеменения в табунном коневодстве / М. Постников // Коневодство . – 1952 . - №4 . – С.29.

122. Пронин, Б. Г. Клиника неполноценных половых циклов при климатическом и алиментарном бесплодии у лошадей: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Б.Г.Пронин; Казан.гос. вет. ин-т им. Н. Э. Баумана. - Казань, 1960. - 46 с.

123. Разработать селекционную программу совершенствования новоалтайской породы на 2014-2023 гг.: отчет о НИР // А. И. Никонова. – Дивово. – ФГБНУ ВНИИ коневодства, 2014. – 31 с.

124. Растяпин, И. Т. Ранняя диагностика жеребости / Растяпин И. Т., Рязанцева Н. М. //Конепроизводство и конеиспользование: сб. науч. тр./ ВНИИ коневодства. – М., 1936. - С.383-394.

125. Ромбе, С. М. Длительное хранение спермы жеребца при глубоком замораживании / С. М. Ромбе // Коневодство в опытах: сб. науч. тр./ ВНИИ коневодства. — М., 1967.- Т. 24, ч.1. - С. 215-238.

126. Румянцева, В. А. Разработка метода замораживания спермы жеребца при температуре  $-79^{\circ}$  с малым количеством глицерина/ В. А. Румянцева // Бюллетень научно-технической информации / ВНИИ коневодства.– М., 1959. - № 4-5. – С. 39-42.

127. Рылов И. Е. Опыт проведения конской случной кампании на основе предварительного расчета покрытий /И. Е. Рылов // Коневодство. – 1950. - №5. – С. 16-18.

128. Рязанцева, Н. М. Увеличение нагрузки на лучших жеребцов-производителей в естественной случке / Н. М. Рязанцева//Коневодство. – 1950. - №5. – С.19-21.

129. Селекционная программа для орловской рысистой породы на 1999-2008 годы. – Дивово: Изд. ГНУ «ВНИИ коневодства», 2000. – 171 с.

130. Скаткин, П. Н. О разбавлении спермы жеребца /П. Н. Скаткин, А. Н. Буйко //Труды ВНИИ коневодства. –М., 1950. – Вып. 18.- С.227-235.

131. Скаткин, П. Н. Определение жеребости у лошадей в ранние периоды / П. Н. Скаткин. – М.:Сельхозгиз, 1954. – С. 270-276.

132. Скаткин, П. Н. Оптимальные сроки осеменения лошадей /П. Н. Скаткин // Труды ВНИИ коневодства. - М., 1949. - Т.17. - С. 90-113.

133. Скаткин, П. Н. Плодовитость лошадей и методы ее повышения /П. Н. Скаткин // Коневодство. – 1947. - №1. – С.5-9.
134. Сперма жеребцов замороженная. Технические условия: ГОСТ 24168-80. – Введ. 1980-05-12. – М.: Изд-во стандартов, 1980.-4 с.
135. Способ диагностики эндометритов у кобыл: пат. 2102009 Рос. Федерации: МПК А61 В 10/00 / Храброва Л.А.; заявитель ВНИИ коневодства. Зарегистрирован 20.01.1998 г.
136. Степанов, И. М. О перевозке спермы для искусственного осеменения кобыл / И. М. Степанов., С. П. Виноградов //Коневодство. – 1938. - №5. – С. 3-9.
137. Студенцов, А. П. Аборты лошадей и других сельскохозяйственных животных / А. П. Студенцов. - Казань: Татгосиздат, 1947. -54 с.
138. Студенцов, А. П. Диагностика беременности и бесплодия сельскохозяйственных животных/ А. П. Студенцов.- 2-еиспр.изд. -М.: Сельхозгиз,1950. -134с.
139. Суетин, В. Я. Определение жеребости по Бенешу-Куросава /В. Я. Суетин //Коневодство. – 1936. - №9. – С. 47-50.
140. Тарасевич, А. Ю. К вопросу об определении жеребости у кобыл по данным топографической анатомии / А. Ю. Тарасевич // Практик. ветеринария и коневодство. – 1924. - №2. – С.31-37.
141. Темников, Л. А. Об искусственном осеменении в табунном коневодстве /Л. А. Темников //Коневодство. – 1952. - №10. – С.22-23.
142. Федотов, П. А. Коневодство / П. А. Федотов - М.: Колос, 1981. -240 с.
143. Филиппова, Г. А. Преодоление сезоннозависимой гипофункции яичников у кобыл:дис. ...канд. биол. наук: 03.00.13 / Г. А. Филиппова; ВНИИ коневодства.–Дивово, 1998. – 105 л.
144. Флегматов, Н. А. Диагностика ранней жеребости, овуляции и бесплодия кобыл / Н. А. Флегматов//Коневодство. – 1937. - №4. – С. 5-16.
145. Фомина, Е. Л. Новое в технологии криоконсервации спермы жеребца в малых объемах / Е. Л. Фомина, К. И. Мирошникова // Пути ускорения научно-технического прогресса в коневодстве: сб. науч. тр. – ВНИИК, 1989.-С.65-66.

146. Фомина, Е. Л. Сезонные и возрастные изменения содержания половых гормонов в крови кобыл и жеребцов и взаимосвязь между уровнем половых гормонов, половой активностью и устойчивостью к замораживанию спермы: отчет о НИР (промежуточ.): 08-03 / ВНИИ коневодства; рук. Е. Л. Фомина; исполн.: Фомина Е. Л., К. И. Мирошникова, В. В. Андриюшин. – Дивово, 1984. - С.5-31.

147. Фомина, Е. Л. Уровень стероидных гормонов в крови кобыл с нарушенным циклом воспроизведения. / Е. Л. Фомина, М. Ю. Алексеев, В. В. Андриюшин, К. И. Мирошникова [и др.]//Резервы повышения эффективности коневодства и коннозаводства: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – Рыбное, 1987.- С.128-136.

148. Хохлова, Н. А. Пути увеличения делового выхода жеребят лошадей полукровных верховых пород в условиях культурно-табунного содержания: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.04: защищена 15.03.1994 / Хохлова Н.А; ВНИИ коневодства. - Дивово, 1994. - 17 с.

149. Храброва, Л. А. Методические рекомендации по цитологической диагностике эндометритов у кобыл / Л. А. Храброва. – Дивово, 1995. – 18 с.

150. Храброва, Л. А. Цитологический анализ маточной среды кобыл-доноров/ Л. А. Храброва // Состояние исследований и пути совершенствования методов селекции и технологии коневодства: тез.докл. – ВНИИК, 1990. – С. 48-50.

151. Цитологическое исследование в гинекологии [Электронный ресурс]. – 2013. - Режим доступа: <http://fb.ru/article/57386/tsitologicheskoe-issledovanie-v-ginekologii>.

152. Чашкин, И. Н. Современное состояние траккененской породы и методы ее совершенствования /И. Н. Чашкин, И. С. Шахова, Н. В. Дорофеева, С. В. Иванов //Гос. плем. книга лошадей траккененской породы.-М.: Колос, 1980.-Т.2.- С. 7-38.

153. Черных, В. Г. Эндометральные чаши - специфические структуры матки кобыл / В. Г. Черных, Г. А. Игумнов, Р. З. Сиразиев. – Новосибирск: ИПЦ Юпитер, 2004. - 152 с.

154. Шергин, Н. П. Биохимия семени жеребца/ Н. П. Шергин // Вопросы физиологии размножения лошадей: сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – 1955. - Т. 21. – С.135-140.
155. Шилова, А. В. Динамика экскреции стероидных половых гормонов у кобыл в связи с функциональным состоянием половой системы: автореф. дис. ... канд. биол. наук. / А. В. Шилова; ТСХА. – М., 1969. - 17 с.
156. Шилова, А. В. Контроль за жеребостью кобыл / А.В. Шилова // Коневодство и конный спорт. - 1968.- №3. – С.22.
157. Шлыгин, А. Н. Влияние многократного плазмофореза на некоторые показатели крови у жеребых кобыл / А. Н. Шлыгин // Коневодство в опытах: сб. науч. тр./ ВНИИ коневодства. - М.: Моск. рабочий, 1967. - Т. 24, ч.2. - С.169-177.
158. Штамлер, В. М. Гормональная диагностика беременности с.-х. животных /В. М. Штамлер //Советская ветеринария. – 1934. - №5.- С. 37-40.
159. Юров, К. П. Инфекционные и паразитарные болезни лошадей / К. П. Юров, В. Т. Заблоцкий, Н. Е. Косминков. – М.: КолосС, 2010. –255 с.
160. Aguilar, J. Preliminary results on intrafollicular transfer of in vitro-matured oocytes /J. Aguilar, L. Losinno, A. Dalvit, R. Ludueña, M. Miragaya //Havemeyer Foundation Monograph. – 2005. - Series No. 14. – P.30-32.
161. Alexander, S. L. Radioimmunoassay and invitrobioassay of serum LH throughout the equine oestrouscycle / S. L. Alexander, C. H. G. Irvine. //J. Reprod Fertil– 1982. – Vol.32,Suppl.- P. 253–60.
162. Aliev, A. I. The effect of ovaritropin on reproductive function of mares and the optimum time of insemination with frozen-thawed semen /A. I. Aliev // Anim. Breed. - 1980. - № 49. – P. 805.
163. Allen, T. W. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy/ T. W. Allen //Reproduction. –2001. – Vol.121. – P. 513–527.
164. Allen, W. R. Control of the mare's oestrous cycle by prostaglandins / W. R. Allen, L. E. A. Rowson //J. Reprod Fertil. - 1973. – Vol.33. – P. 539–543.
165. Allen, W. R. Factors influencing pregnant mare serum gonadotrophin production/W. R. Allen//Nature. – 1969. – V. 223. - P. 64-65.

166. Allen, W. R. Historical and modern aspects of equine embryo transfer /W. R. Allen//25th Annual Meeting A.E.T.E. – Poznan (Poland), 2009. - P.7-42.
167. Allen, W. R. Maternal recognition and maintenance of pregnancy in the mare / W. R. Allen //Anim. Reprod.– 2005. - Vol.2, N.4. – P. 209-223.
168. Allen, W. R. Maternal recognition of pregnancy and immunological implications of trophoblast-endometrium interactions in equids / W. R. Allen // Maternal Recognition of Pregnancy. Ciba Foundation Symposium. –Amsterdam: Excerpta Medica, 1979. - No.64. -P. 323–352.
169. Allen, W. R. Measurement of equine follicle stimulating hormone and luteinizing hormone: Response of anestrus mares to gonadotropin releasing hormone / W. R. Allen , M. J. Evans, C. H. G. Irvine // Biol. Reprod. -1976. – Vol.15. – P. 477–484.
170. Allen, W. R. Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England / W. R. Allen, L. Brown, M. Wright, S. Wilsher // Equine Vet. J.– 2007. – Vol. 39, №5. – P. 438-445 .
171. Allen, W. R. The 50 year veterinary revolution in equine stud management / W. R. Allen // Pferdeheilkunde. – 2011. – Bd. 27, № 3. – S.204-213.
172. Allen, W. R. The influence of mare numbers and ejaculation frequency on the fertility of Thoroughbred stallions / W. R. Allen, S. Wilsher // Rossdale and Partners Stallion Sub-fertility Course.- Newmarket (UK), 2011. – P. 143-148.
173. Allen, W. R. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells / W. R. Allen, R. M. Moor //J. Reprod. Fertil. – 1972. – Vol. 29. – P. 313–316.
174. Allen, W. R. The Physiology of Early Pregnancy in the Mare / W. R. Allen //Proceedings of the Annual Convention of the AAEP. - 2000. - Vol. 4. - P. 338-354.
175. Allen, W. R. Transfer of ova between horses and donkeys / W.R. Allen, I. E. A. Rowson // Proc.ofthe 7th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. - Munich, 1972. - P. 484-487.

176. Alm, H. Effect of sperm cryopreservation and treatment with calcium ionophore or heparin on in vitro fertilization of horse oocytes / H. Alm, H. Torner, S. Blottner, G. Nurnberg, W. Kanitz // *Theriogenology*. - 2001. –Vol. 56. – P. 817-829.

177. Alvarenga, M. A. Ovarian superstimulatory response and embryo production in mares treated with equine pituitary extract twice daily /M. A. Alvarenga, A. McCue, P. E. L. Squires, J. R. Neves Neto // *Theriogenology* . – 2001. –Vol. 56. – P. 879-887.

178. Annuaire ECUS 2015: Tableau économique, statistique et graphique du cheval en France Données 2014/2015. –Ornes (Fr), 2015. – 68 p.

179. Annual Meeting Proceedings (2005 – 2014) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://www.iets.org/pdf/comm\\_data/](http://www.iets.org/pdf/comm_data/).

180. Asbury, A. C. Endometrial biopsy / P. T. Colahan, J. N. Moore, A. M. Merritt, I. G. Mayhew // *Equine medicine and surgery*. - Mosby(USA), 1999. –P. 1097-1110.

181. Aurich, G. E. Artificial Insemination in Horses. More than a Century of Practice and Research / G. E. Aurich // *J. Equine Veterinary Science*. - 2012. - Vol.32. – P.458-463.

182. Ball, B. A. Hysteroscopic and low-dose Insemination techniques in the Horse [Электронный ресурс]/ B. A. Ball. – 2004. – Режим доступа: [http://www.ivis.org/advances/Reproduction\\_Ball/ball3/IVIS.pdf](http://www.ivis.org/advances/Reproduction_Ball/ball3/IVIS.pdf)

183. Barbacini, S. Management of Mares with Frozen-Thawed Semen / S. Barbacini, D. Necchi, G. Postinger // *Proc. 11th Inter. Congress of World Equine Veterinary Association*.– Guarujá (Brazil). - 2009. –P.78-81.

184. Beg, M. A. Follicle selection in cattle and horses: Role of intrafollicular factors /M. A. Beg, O. J. Ginther // *Reproduction*. – 2006. – Vol. 132. – P. 365-377.

185. Benallou, B. Ultrasonic Measurement of Follicle's Diameter and Bacteriological Examination During Foal Heat in Arabian Mares / B. Benallou, S. Meliani // *Middle-East J. Sci. Res*. – 2011. - Vol. 8.- № 1. – P. 46-51.

186. Benhajali H. Factors influencing conception rates of Arab mares in Tunisia /H. Benhajali [at al.] // *Anim. Reprod. Sci*. –2010. – Vol.117, №1-2. – P.106-110.

187. Benzine, J. Equine Embryo Transfer [ Электронный ресурс]/ J. Benzine, A. Dietsche, R. Dearaujo, Ch. Crawford. – 2007. – Режим доступа: [http://www.ansci.wisc.edu/jjp1/ansci\\_repro/misc/project\\_websites\\_07/thur07/equine\\_embryo\\_transfer/index.html](http://www.ansci.wisc.edu/jjp1/ansci_repro/misc/project_websites_07/thur07/equine_embryo_transfer/index.html).
188. Bergfelt, D. R. Ovulation synchronization following commercial application of ultrasound-guided follicle ablation during the estrous cycle in mares / D. R. Bergfelt, C. Meira, P. D. C. Fleury, J. A. Dell'Aqua, G. P. Adams // *Theriogenology*. - 2007. – Vol.68. – P. 1183–1191.
189. Betteridge, D. The structure and function of the equine capsule in relation to the embryo manipulation and transfer / D. Betteridge // *Equine Vet. J.* - 1989.- Vol.8,Suppl.– P. 92-100.
190. Betteridge, K. J. Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation: observations on fresh specimens /K. J. Betteridge, M. D. Eaglesome, D. Mitchell, P. F. Flood, R. Beriault // *J. of Anatomy* . – 1982. –Vol.135.- P. 191–209.
191. Bosh, K. A. Reproductive performance measures among Thoroughbred mares in central Kentucky, during the 2004 mating season /K.A.Bosh [at al.] // *Equine vet. J.* – 2009. – Vol.41. – P.883-888.
192. Brinsko, S. P. Breeding Soundness Examination of the Mare/ S. P. Brinsko ,T. R. Blanchard, D. D. Varner, J. Schumacher,[at al.] // *Manual of equine reproduction*. -3rd ed. -Mosby,2011. -Chapter 4. -P. 39-53.
193. Brinsko, S. P. Manipulation of Estrus in the Mare /S. P. Brinsko, T. R. Blanchard, D. D. Varner, J. Schumacher [at al.] // *Manual of equine reproduction*.– 3rd ed. -Mosby, 2012. -Chapter 3. -P. 20.
194. Brook, D. Cytological and bacteriological examination of the mare's endometrium /D. Brook // *J. Equine Veterinary Science*. - 1985. – Vol. 5. – P.16–22.
195. Bruck, I. Follicle aspiration in the mare using a transvaginal ultrasound-guided technique /I. Brück, K. Raun B. Synnestvedt, T. Greve // *Equine Vet. J.* - 1992.– Vol. 24. – P. 58-59.



196. Bruck, I. Reproductive performance of Thoroughbred mares on six commercial stud farms / I. Bruck, G. A. Anderson, J. H. Hyland // *Aust. Vet. J.* – 1993. – Vol.70. - P.299–303.

197. Burns, P. J., Evaluation of biodegradable microspheres for the controlled release of progesterone and estradiol in an ovulation control program for cycling mares / P. J. Burns, J. V. Steiner, P. L. Sertich, M. Pozar[at al.] // *J. Eq. Vet. Sci.* - 1993. – Vol.13. – P. 521-524.

198. Canissio, I. F. Premature luteal regression in a pregnant mare and subsequent pregnancy maintenance with the use of oral altrenogest/I. F. Canissio, K. A. Betsart, S. J. Bedford-Guaus // *Equine Veter. J.*. – 2013. – Vol. 45, Issue 1. – P. 97-100.

199. Carnevale, E. M. Clinical use of intracytoplasmic sperm injection in horses / E. M. Carnevale J. Stokes, E. L. Squires, L. F. Campos-Chillon, J. T. Altermatt // *Proc. 53th Annual Meeting of American Association of Equine Practitioners (AAEP).* - Orlando, 2007. - P. 22-24.

200. Carnevale, E. M. Comparison of culture and insemination techniques for equine oocyte transfer /E. M. Carnevale , L. J. Maclellan, S. Coutinho, T. J. Scott, E. L. Squires // *Theriogenology* . – 2000. – Vol. 54.- P.981-987.

201. Carnevale, E. M. Comparison of Ham's F10 with CO<sub>2</sub> or Hepes buffer for storage of equine embryos at 5 °C for 24 H. /E. M. Carnevale , E. L. Squires, A. O. McKinnon // *J. Anim. Sci.* – 1987. – Vol. 65. - P. 1775-1781.

202. Carnevale, E. M. Embryo development rates after vitrification and transfer of equine embryos /E. M. Carnevale, W. D. Eldridge-Panuska, V Caracciolo di Brienza, G. E. Seidel Jr., E. L. Squires // *Havemeyer Foundation Monograph.* -2004. -Series No. 14.-P.45-46.

203. Carnevale, E. M. Oocyte transfer and gamete intrafallopian transfer in the mare/ E. M. Carnevale // *J. Anim. Reprod. Sci.* -2004. – Vol. 82-83. – P. 617-624.

204. Caslick, E. A. The vulva and the vulval-vaginal orifice and its relationship to genital health of Thoroughbred mares / E. A. Caslick // *Cornell Veterinarian.* -1937. - Vol. 27. - P.178-187.

205. Castanheira, P. N. Cryopreservation of equine embryos by vitrification / P. N. Castanheira, D. C. G. Amaral, A. B. Vasconcelos, R. M. E. Arantes [at al.] //Havemeyer Foundation Monograph.- 2004. - Series No. 14. -P. 50-52.
206. Choi, Y. H. Equine blastocyst development after intracytoplasmic injection of sperm subjected to two freeze-thaw cycles /Y. H. Choi, C. C. Love, L. B. Love, D. D. Varner, K. Hinrichs//Theriogenology . -2006. –Vol. 65. – P. 808-819.
207. Choi, Y. H. Techniques for achieving fertilization in vitro in the horse/ Y. H. Choi, C. C. Love, L. B. Love, D.D. Varner, K. Hinrichs // Havemeyer Foundation Monograph. -2003. - Series No 6.- P. 64-65.
208. Cilek, S. The Survey of Reproductive Success in Arabian Horse Breeding from 1976-2007 at Anadolu State Farm in Turke / S. Cilek // J. Animal and Veterinary Advances. - 2009. –Vol. 8. – P. 389-396.
209. Cochran, J. D. Effects of centrifugation, glycerol level, cooling to 5oC, freezing rate and thawing rate on the post-thaw motility of equine sperm /J. D. Cochran, R. P. Aman D. P. Froman, B. W. Pickett //Theriogenology . -1984. –Vol. 22. – P. 25-38.
210. Cochran, R. Live foals produced from sperm injected oocytes derived from pregnant mares /R. Cochran, M. Meintjes B. Reggio, D. Hylan[at al.] //J. Equine Vet. Sci.-1998. –Vol. 18. – P. 736-740.
211. Cole, H. H. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting sexual maturity of the immature rat/ H. H. Cole, G. H. Hart //Amer. J. physiology. – 1930- Vol. 93.- P. 57.
212. Colenbrander, B. Detection of mixoploidy in equine embryos produced in vivo or in vitro / B. Colenbrander, T. A. E. Stout, P.-J. Krijtenburg, H. F. van Drie[at al.] //Havemeyer Foundation Monograph. – 2004. - SeriesNo.14. - P.40-41.
213. Cook, N. L. Transvaginal ultrasound-guided follicular aspiration of equine oocytes /N. L. Cook, E. L. Squires, B. S. Ray, D. J. Jasko //Equine Vet. J. – 1993.- Vol. 15, Suppl. – P. 71-74.
214. Country, Report (For FAO State of the World’s Animal Genetic Resources Process) [Электронный ресурс]. - Tsukuba, 2003. – 128 p. – Режим доступа:

<http://www.fao.org/AG/AGInfo/programmes/en/genetics/documents/Interlaken/countryreports/Japan.pdf>.

215. Daels, P. F. Progesterone Therapy and Pregnancy Loss / P.F.Daels// Proc. of the Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners AAEP. - Rome(Italy),2006. – Режим доступа: [www.ivis.org](http://www.ivis.org).

216. Dascanio, J. Caslick Operation or Vulvoplasty /J. Dascanio, P. McCue //Equine Reproductive Procedures. - First Edition.- John Wiley & Sons, 2014. -P.136-137.

217. Dascanio, J. Deep Horn Insemination / J. Dascanio, P. McCue //Equine Reproductive Procedures. - First Edition.- John Wiley & Sons, 2014. -P. 131-132.

218. Dascanio, J. How to Perform and Interpret Uterine Cytology/J. Dascanio, W. Ley, J. Bowen //Proc. Annual Convention of the AAEP. – 1997. - Vol. 43. – P.182-186.

219. Dascanio, J. Speculum Examination of the Vagina /J. Dascanio, P. McCue //Equine Reproductive Procedures. - First Edition.- John Wiley & Sons, 2014. -P.35-37

220. Davies Morel, M. C. G. Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management / M. C. G. Davies Morel. - 2nd ed. –Wallingford: CABI Pb.,2003. - p.28-36; 68-73.

221. Deleuze, S. Oocytes and Assisted Reproductive Technologies (ARTs) in the horse/S. Deleuze, C. Douet, S. Parrilla-Hernandez, F. Reigner, G. Goudet// Book of Abstracts of the 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science(26 -30 august 2013). –Nantes (Fr.), 2013.-P.124.

222. Deng, L. Advances in the research and application of artificial insemination to Equids in China: 1935-2012 / L. Deng [at al.] // J. Equine Veter. Sci. - 2013. - Vol. 34, №3. – P.351–359.

223. Douglas, R. H. Some aspects of equine embryo transfer /R. H. Douglas// J. Reprod. Fertil.- 1982. – Vol.32,Suppl. – P. 405-408.

224. Driancourt M. A. Ovarian follicular populations in pony and saddle-type mares /M. A. Driancourt [et al.] //Reprod.Nutr.Develop.-1982.- Vol.22, No.6 - P.1035-1047.

225. Dukes, A. Analysis of the Economic Impact of the Irish Thoroughbred Industry [Электронный ресурс] /A. Dukes. – 2009. - 38 p. – Режим доступа: <http://www.IrishThoroughbred.com>.
226. Economic Contribution of the Sport Horse Industry to the Irish Economy [Электронный ресурс]. - Dublin, 2013. - 52 p. – Режим доступа: <http://www.irishdraughthorsebook.com>.
227. Eldridge-Panuska, W. D. Establishment of pregnancies after serial dilution or direct transfer by vitrified equine embryos / W. D. Eldridge-Panuska, G. E. Seidel [et al.] //Theriogenology. – 2005. – Vol. 63. – P. 1308–1329.
228. Embryo Transfer Activities in Europe in other Species [Электронный ресурс] // Annual Meeting Proceedings (2005 – 2014). – Режим доступа: <http://www.aete.eu>.
229. Equine Normals. Pregnantmarenormal [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://betlabs.com/equine-protocols/>.
230. Flood, P. F. The location of eggs retained in the oviducts of mares /P. F. Flood, A. Jong, K. J. Betteridge //J. Reprod. Fertil. - 1979. – Vol. 57. – P. 291-294.
231. Galli, C. Equine assisted reproduction and embryo technologies /C. Galli ,S. Colleoni, R. Duchi, I. Lagutina, G. Lazzari //J. Anim. Reprod. – 2013. -Vol.10,№3. - P.334-343.
232. Galli, C. Frozen-thawed embryos produced by ovum pickup of immature oocytes and ICSI are capable to establish pregnancies in the horse / C. Galli, G. Crotti, R. Turini, G. Duchi[at al.] //Theriogenology .- 2002.- Vol.58. – P.705-708.
233. Galli, C. Pregnancy: a cloned horse born to its dam twin /C. Galli, I. Lagutina, G. Crotti, S. Colleoni[at al.] // Nature. -2003. – Vol. 424. – P.635-636.
234. Gambini, A. Equine cloning: in vitro and in vivo development of aggregated embryos / A. Gambini, J. Jarazo, R. Olivera, D. F. Salamone //Biol. Reprod. -2012.- Vol.87,№15. – P. 1-9.
235. Gastal, E.L. Effect of different doses of hCG on diameter of the preovulatory follicle and interval to ovulation in mares /E. L. Gastal, L. A. Silva, M. O. Gastal, M. J. Evans // Animal Reproduction Science. – 2006. – Vol. 94.- P. 186–190.

236. Gastal, E. L. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares /E. L. Gastal, M. O. Gastal, D. R. Bergfelt, O. J. Ginther //Biol. Reprod. –1997. – Vol. 57. – P.1320–1327.

237. Ginther, O. J. Anatomy of vasculature of uterus and ovaries in the mare / O. J. Ginther, M. C. Garcia, E. L. Squires, W. P. Steffenhagen //Am. J. Vet. Res. - 1972. – Vol.33. – P. 1561–1568.

238. Ginther, O. J. Comparative study of the dynamics of follicular waves in mares and women /O. J. Ginther, E. L. Gastal, M. O. Gastal, D. R. Bergfelt [at al.]// Biol. Reprod. - 2004. –Vol. 71.- P.1195-1201.

239. Ginther, O. J. Equine Pregnancy: Physical Interactions Between the Uterus and Conceptus /O. J. Ginther//Proceedings of the Annual Convention of the AAEP. – 1998. - Vol. 44. – P. 73-104.–3

240. Ginther, O. J. Follicle dynamics and selection in mares / O. J. Ginther [at al.] // Anim. Reprod. –2004. - Vol.1, №.1. – P.45-63.

241. Ginther, O. J. Mobility of the early equine conceptus / O.J.Ginther //Theriogenology. – 1983. – Vol.19. – P. 613–23.

242. Ginther, O. J. Regulation of circulating gonadotropins by the negative effects of ovarian hormones in mares /O. J. Ginther, E. L. Gastal, M. O. Gastal, M. A. Beg // Biol. Reprod. - 2005. – Vol.73. – P. 315–323.

243. Ginther, O. J. Relationships among number of days between multiple ovulations, number of embryos and type of fixation in mares / O. J. Ginther// J. Equine Veter. Sci. – 1987. – Vol.7. - P. 82-88.

244. Ginther, O. J. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects / O. J. Ginther .-2.ed. - Cross Plains(USA): Equiservices Pb., 1992.-P.173–290;317; 324–328; 438–445.

245. Ginther, O. J. The nature of embryo reduction in mares with twin conceptuses: deprivation hypothesis / O. J. Ginther // Amer. J. Veter. Research. – 1989. –Vol.50. - P.45-53.

246. Ginther, O. J. Twinning in mares: a review of recent studies./ O. J. Ginther // J. Equine Vet Sci. – 1982. – vol. 2. - P. 127–135.

247. Ginther, O. J. Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus / O. J. Ginther, R. A. Pierson // *Theriogenology*. – 1984. - Vol.24. – P.505-516.
248. Ginther, O. J. Ultrasonographic imaging and reproductive events in the mare / O. J. Ginther. - Cross Plains, (USA): Equiservices Pb., 1986.- 213 p.
249. Ginther, O. J. Ultrasound imaging and animal reproduction: Horses/O. J. Ginther. - – Cross Plains, (USA): Equiservices Pb.,1995. - Book 2. –394 p.
250. Guignot, F. Genotyping and cryopreservation of equine embryos: New developments / F. Guignot // *Book of Abstracts of the 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (26 -30 august 2013)*. – Nantes (Fr.), 2013. - P.125.
251. Hemberg, E. Reproductive Performance of Thoroughbred Mares in Sweden / E. Hemberg, N. Lundeheim, S. Einarsson // *Reprod. Dom. Anim.* - 2004. – Vol.39. – P.81–85.
252. Hinrichs, K. Birth of a foal after oocyte transfer of a nonovulating hormone-treated recipient mare /K. Hinrichs, P. J. Provost, M. Torello // *Theriogenology*. – 1999. – Vol.51. – P.1251-1258.
253. Hinrichs, K. Equine embryo biopsy, genetic testing, and cryopreservation /K. Hinrichs, Y. Choi//*J. Equine Vet. Sci.* - 2012. –Vol. 32. – P.390-396.
254. Hinrichs, K. Production of cloned foals using roscovitine-treated donor cells and activation with sperm extract and/or ionomycin /K. Hinrichs, Y. Choi, D. D. Varner, D. L. Hartman // *Reproduction*.– 2007. –Vol.134.-P. 319-325.
255. Hinrichs, K. Production of horse foals via direct injection of roscovitine-treated donor cells and activation by injection of sperm extract / K. Hinrichs, Y. Choi, C. C. Love, Y. G. Chung, D. D. Varner//*Reproduction*. -2006. – Vol.131. - P.1063-1072.
256. Hinrichs, K. The relationship of follicle atresia to follicle size, oocyte recovery rate on aspiration, and oocyte morphology in the mare /K. Hinrichs // *Theriogenology*. -1991.- Vol. 36. – P.157-168.

257. Hinrichs, K. Transfer of in vitro-produced equine embryos/ K. Hinrichs, Y. H. Choi, L. B. Love, D. L. Hartman, D. D. Varner // Havemeyer Foundation Monograph. – 2004. - SeriesNo.14.- P. 38-39.

258. Hohenhaus, M. U. Lehmann - Ovaraufbau und Function bei der Stute aus Klinischer sicht unter besonderer Berücksichtigung der Ultrasonographie / M.U.Hohenhaus//Tierartzl.Prax.- 1990.- Bd.18, N2.- S.155-163.

259. Holtan, D. W. Effect of ovariectomy on pregnancy in mares /D.W.Holtan , E. L. Squires, D. R. Lapin, O. J. Ginther //J. Reprod. Fertil. -1979. - Vol.57, Suppl. - P.457-463.

260. Holtan, D. W. Plasma progestins in pregnant, postpartum and cyclic mares / D. W. Holtan, T. M. Nett, V. L. Estergreen //J. Animal Science. - 1975. – Vol. 40. – P. 251–260.

261. International Breeding Statistics (last update May 2016) [Электронный ресурс]. – 2016. – Режим доступа: <http://www.fjordhorseinternational.org/FjHI/index.php/the-fjordhorse/international-statistics>.

262. International Breeding Statistics 2010-2012 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.weatherbys.net/isbc>.

263. Irvine, C. H. G. Changes in plasma progesterone concentrations from days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing pregnancy /C. H. G. Irvine, P. Sutton, J. E. Turner, P.E.Mennick //EquineVet. J.- 1990.- Vol.22. – P. 104-106.

264. Irvine, C. H. G. Kinetics of gonadotrophins in the mare / C. H. G. Irvine // J. Reprod. Fertil. – 1979. – Vol.27, Suppl. - P.131–141.

265. Irvine, C. H. G. Secretory patterns and rates of GnRH, FSH and LH revealed by intensive sampling of pituitary venous blood in the luteal phase mare / C. H. G. Irvine, S. C. Alexander //Endocrinology. - 1993. – Vol. 132. – P. 212–218.

266. Japanese Arabian Stud Book [Электронный ресурс]. – Токуо, 2011. - Vol.1. (1981-2009). – 47 p. – Режим доступа: [http://www.studbook.jp/en/kyokai/pdf/\\_Arabian\\_Stud\\_Book\\_Vol1.pdf](http://www.studbook.jp/en/kyokai/pdf/_Arabian_Stud_Book_Vol1.pdf).

267. Jasko, D. J. Use of progesterone and estradiol in biodegradable microspheres for control of estrus and ovulation in mares /D. J. Jasko, M. E. Farlin, H. Hutchinson, D. M. Moran, E. L. Squires, P. J. Burns //Theriogenology. – 1993. -Vol.40. – P.465-478.

268. Jeffcott, L. B. Twinning as a cause of foetal and neonatal loss in the thoroughbred mare / L. B. Jeffcott, K. E. Whitwell //J. Comparative Pathology.- 1973. – Vol. 83.- P.91-166.

269. Jochle, W. Control of ovulation in the mare with vuplant<sup>TM</sup>, a short-term releasing implant (STI) containing the GnRH analogue Deslorelin acetate/ W. Jochle ,T. E. Trigg // Equine Vet. Sci. -1994.-Vol.14. - P. 632-644.

270. Katila, T. 15-year survey of reproductive efficiency of Standardbred and Finnhorse trotters in Finland - descriptive results / T. Katila [at al.] // Acta Veter. Scand. – 2010. – Vol. 52. – P. 40.

271. Katila, T. Factors affecting reproductive performance of horses / T. Katila [at al.] // Pferdeheilkunde. – 2010. – Bd.26, №1. – S.6-9.

272. Katila, T. Histology of the post partum equine uterus as determined by endometrial biopsies /T. Katila //Acta vet. Scand. – 1988. –Vol. 29. – P. 173–180.

273. Katila, T. The post partum mare / T. Katila, T. Reilas // Pferdeheilkunde.- 2001. – Vol.17. – P. 623–626

274. Klug, E. Untersuchungen von Hengsten zum Einsatz in der instrumentellen Samentübertragung mit Tiefgefriersperma/ E. Klug, A. R. Günzel, H. Merkt, D. Krause //Dtsch Tierärztl Wschr. – 1977. -№ 84. – S.205-252.

275. Knottenbelt, D. C. Equine Stud Farm Medicine and Surgery/ D. C. Knottenbelt, R. R. Pascoe, M. Leblanc, Ch. Lopate. -Philadelphia, PA: Saunders College Publishing, 2003. — P. 410.

276. Koskinen, E. Fertility of mares after postovulatory insemination /E. Koskinen, H. Lindeberg, H. Kuntsi, L. Ruotsalainen, T. Katila //J. Vet. Med. Assoc.- 1990.- Vol.37. –P. 77–80.

277. Landim-Alvarenga, F. C. New assisted reproductive technologies applied to the horse industry:successes and limitations/ F. C. Landim-Alvarenga, C. B. Fernandes,



L. G. Devito, A. A. P. Derussi, I. D. P. Blanco, M. A. Alvarenga // *Anim. Reprod.* – 2008. – Vol.5, N 3/4. – P. 67-82.

278. Lazzari, G. Equine embryos at the compacted morula and blastocyst stage can be obtained by intracytoplasmic sperm injection (ICSI) of in vitro matured oocytes with frozen-thawed spermatozoa from semen of different fertilities / G. Lazzari, G. Crotti, P. Turini, R. Duchi [et al.] // *Theriogenology* .- 2002. –Vol. 58. – P.709-712.

279. Lebedev, S. Culture of equine embryos in media containing EGG yolk, mare's milk and saline: preliminary results /Lebedev S., Lebedeva L. // *Theriogenology*. – 1994. –V. 41. - № 6. - p. 1201-1206.

280. Lebedev, S. G. Fertility effects of crossing thoroughbreds with don mares /S. G. Lebedev, N. A. Khokhlova // *J. Equine Veter. Science.* – Vol. 16, Issue 12. – P. 569–573.

281. LeBlanc, M. M. The Mare / M. M. LeBlanc, C. Lopate, D. Knottenbelt, R. Pascoe // *Equine Stud Farm Medicine and Surgery.* - London: Elsevier.,2003.- P.113–213.

282. LeBlanc, M. M. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares / LeBlanc M. M., J. Magsig, A. J. Stromberg // *Theriogenology*. – 2007. – Vol.68. – P. 403–412.

283. Liljenstolpe, C. Horses in Europe / C. Liljenstolpe. – Ultuna (SLU): Swedish University of Agricultural Sciences, 2009. – 32 p.

284. Long, S. Chromosomal anomalies and infertility in the mare /S. Long // *Equine Veter. J.* – 1988. – Vol. 20, №2. – P. 89–93.

285. Loomis, P. R. Commercial semen freezing: Individual male variation in cryosurvival and the response of stallion sperm to customized freezing protocols / P. R. Loomis, J. K. Graham// *Anim. Reprod. Sci.* – 2008. – Vol.105. – P.119–128.

286. Loomis, P. R. Fertility of unfrozen and frozen stallion spermatozoa extended in EDTA-lactose-egg yolk and packaged in straws / P. R. Loomis, R. P. Amann, E. L. Squires, B. W. Pickett // *J. Anim. Sci.*-1983.-Vol.56, №3.-P.687-693.

287. Loomis, P. R. Storage, Handling, and Distribution of Frozen Equine Semen /P. R. Loomis // *Proc. Annual Convention of the AAEP.* -2001. -Vol. 47. -P.300.

288. Martin, J. C. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws / J. C. Martin, E. Klug, A.-R. Gunzel // *J. Reprod. Fertil.*-1979.-Vol.27.-P.47-51.
289. McCue, P. Ultrasound examination of the pregnant mare / J. Dascanio, P. McCue // *Equine Reproductive Procedures*. - First Edition.- JohnWiley & Sons, P.191
290. McCue, P. M. *Equine Embryo Transfer* / P. M. McCue, E. Squires. –Jackson (USA): Tenton NewMedia. - 2015. – 184 p.
291. McCue, P. M. *Hormone Therapy in Cycling Mares*/ P. M. McCue // Dascanio, J. *Equine Reproductive Procedures* / J. Dascanio, McCue P. M. - JohnWiley & Sons, 2014. - P.151.
292. McCue, P. M. *Management of Seasonal Anestrus: Artificial Photoperiod*/ P. M. McCue //Dascanio, J. *Equine Reproductive Procedures* / J. Dascanio, McCue P. M. - JohnWiley & Sons, 2014. - P. 144-145.
293. McCue, P. M. *Reproductive Evaluation of the Mare*/ P. M. McCue // Dascanio, J. *Equine Reproductive Procedures* / J. Dascanio, McCue P. M. - JohnWiley & Sons, 2014. –P. 3-5.
294. McCue, P. M. *Superovulation: Diagnostic techniques and assisted reproductive technology*/ P. M. McCue, Squires E.L [et al.] // *Vet Clinics North America. Equine Practice*. – 1996. – No 12. - P.1-11.
295. McDowell, K. J. *Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance in mares* / K. J. McDowell , D. C. Sharp, W. Grubaugh, W. W. Thatcher, C. J. Wilcox // *Biol. Reprod.* – 1988. – Vol. 39.- P.340-348.
296. McKinnon, A. O. *Diagnostic Ultrasonography* / A. O. McKinnon, J. L. Voss, E. L. Squires, E. M. Carnevale // *Equine Reproduction*. - Philadelphia (USA):Lea & Febiger, 1993. – P. 266–302.
297. McKinnon, A. O. *Equine Reproduction* / A. O. McKinnon et al.-2nd Edition.-Ames. Iowa: Wiley-Blackwell publishing, 2011. –1067 p.
298. McKinnon, A. O. *Maintenance of Pregnancy* / A. O. McKinnon // *Proceedings of the AAEP Annual Resort Symposium*. – Vail: Colorado, USA., 2009. – P. 81-117.

299. McKinnon, A. O. Predictable ovulation in mares treated with an implant of the GnRH analogue deslorelin/A. O. McKinnon, A. M. Nobelius, S. T. del Marmol Figueroa[et al.] // *Equine Vet. J.* – 1993. – Vol.25. – P. 321–323.

300. McKinnon, A. O. Reproductive Efficiency of horses in Australia / A. O. McKinnon [Электронный ресурс]. - 2009. – Режим доступа: <http://www.gvequine.com.au/reproduction/efficiency>.

301. McKinnon, A. O. The inability of some synthetic progestagens to maintain pregnancy in the mare / A. O. McKinnon, T. B. Lescun, J. H. Walker, J. R. Vasey, W. R. Allen // *Equine Vet. J.* - 2000. – Vol.32.- P.83-85.

302. Meintjes, M. In Vitro fertilization and development of in vitro-matured oocytes aspirated from pregnant mares /M. Meintjes, K. J. Graff, J. B. Paul, R. S. Denniston, R. A. Godke // *Biol. Reprod.* - 1995. -No 1. – P. 309-317.

303. Meintjes, M. Transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval from cyclic and pregnant horse and pony mares for in vitro fertilization /M. Meintjes, M. S. Bellow, J. B. Paul, J. R. Broussard [et al.] // *Biol. Reprod.* -1995. -No 1. – P. 281-292.

304. Morris, L. H. A. Low Dose Insemination/ L. H. A .Morris, S.K. Lyle // *Equine Reproduction.* -2nd Edition - Iowa (USA): Wiley-Blackwell publishing, 2011. – P. 3036-3038.

305. Morris, L. H. A. Reproductive efficiency of intensively managed thoroughbred mares in Newmarket / L. H. A. Morris, W. R. Allen // *Equine Veter. J.*- 2002. –Vol. 34,Issue 1. – P.51–60.

306. Mossman, H. V. Comparative morphology of the mammalian ovary / H. V. Mossman, K. L. Duke. – Wisconsin: Univ. Wisconsin Press Madison, 1973. – 300 p.

307. Mottershead, J. Frozen semen preparation and use /J. Mottershead [Электронный ресурс]. – 2000. – Режим доступа: <http://www.equine-reproduction.com/articles/FrozenSemen.htm/>.

308. Mottershead, J. Uterine Swabs, Smears and Cultures [Электронный ресурс]/ J.Mottershead. – 1996. - Режим доступа: <http://www.equine-reproduction.com/articles/swabs.htm/>.

309. Moussa, M. Slow freezing vs open pulled straw (OPS) vitrification for equine embryo cryopreservation/ M. Moussa, I. Bersinger, P. Doligez, F. Guignot [et al.]//Havemeyer Foundation Monograph. - 2004 .- Series No. 14. -P.47-49.
310. Munroe, G. Female reproductive tract / G. Munroe, M. Campbell, Z. Munroe, M. Hanks // Munroe, G. Equine Clinical Medicine Surgery and Reproduction / G. Munroe, S. Weese. - 1st Edition. - London: Manson, 2011. – P.242-325.
311. Newcombe, J. R. Identification of the corpus luteum in early pregnancy in the mare using ultrasound / J. R. Newcombe //J. Equine Vet. Sci. – 1994- Vol.14. -P. 653-655.
312. Newcombe, J. R. Reducing the examination interval to detect ovulation below 12h does not improve pregnancy rates after postovulatory insemination with frozen/thawed semen in mares / J. R. Newcombe, D. Paccamonti, J. Cuervo-Arango //Animal Reproduction Science -2011. – Vol.123. – P. 60–63.
313. Nielsen, J. M. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy/ J. M. Nielsen //Theriogenology. - 2005. – Vol.64, No.3. – P. 510–518.
314. Oberstein N. Cryopreservation of equine embryos by open pulled straw, cryoloop, or conventional slow cooling methods /N. Oberstein, M. K. O'Donovan, J. E. Bruemmer, G. E. Seidel [et al.] // Theriogenology. – 2001. –Vol.55. –P. 607-613.
315. Oguri, N. Non-surgical egg transfer in mares / N. Oguri, Y. Tsutsumi // J. Reprod. Fert. - 1974. – Vol.41. – P.313-320.
316. Osborne, V. E. An analysis of the pattern of ovulation as it occurs in the annual reproductive cycle of the mare in Australia / V. E. Osborne //Australian Veterinary J. -1966. – Vol. 61. – P.149-154.
317. Palmer, E. Efficiency of the different steps of cloning horses: Modelling the number of attempts needed to obtain one healthy foal /E. Palmer, M. Caillaud, A. P. Reis , P. Chavatte-Palmer//Proc. of the 7th Havemeyer International Symposium on Equine Embryo Transfer. - 2008. –P. 29.

318. Palmer, E. Factors affecting stallion semen survival and fertility /E. Palmer //Proc. of the 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. – Urbana: Champaign, IL., 1984. – P. 377–378.

319. Palmer, E. Use ultrasonic echography in equine gynecology / E. Palmer, M. A. Draincourt// Theriogenology. – 1980. - Vol.13. – P.203-216.

320. Pascoe, D. R. Pregnancy diagnosis and management of twins / D. R. Pascoe// Proc. 19th Bain-Fallon Memorial Lectures. Australian Equine Veterinary Association. – 1997. – P.103-115.

321. Pascoe, R. R. Observations on the length and angle of declination of the vulva and relation to fertility in the mare / R. R. Pascoe // J. Repr. Fert. – 1979. – Vol.27, Supp 1. - P. 299.

322. Pashen, R. L. The application of embryo transfer to polo ponies in Argentina / R. L. Pashen, F. A. Lascombes, M. D. Darrow // Equine veter. J. - 1993. – Vol.25, Suppl.– P.119-121.

323. Pashen, R. L. The role of the fetal gonads and placenta in steroid production, maintenance of pregnancy and parturition /R. L. Pashan,W. R. Allen //J. Reprod. Fert. - 1979. – Vol.57, Suppl. – P. 499–509.

324. Pickett, B. W. The effect of semen extenders and sperm number on mare fertility /B. W. Pickett , J. L. Voss //J. Reprod. Fertil.–1975. – Vol.23, Suppl. – P.95–98.

325. Pinto, C. Reproduction management /C. Pinto, G. S. //Mair, T. S. Equine Medicine, Surgery and Reproduction /T. S. Mair, S. Love, J. Schumacher, R. K. W. Smith, G. S. Frazer. - Second edition. - Saunders Elsevier, 2013. - P.304-305.

326. Proceedings of the 6th International Symposium on Equine embryo transfer.- Newmarket, 2005. – 130 p.

327. Production of Horses in World (1994 – 2014) [Электронный ресурс]. – 2014. – Режим доступа: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize>.

328. Proper Protocol for Receiving a Shipment of Equine Frozen Semen [Электронный ресурс]. – 2014. – Режим доступа: <http://www.selectbreeders.com/news>

329. Pycock, J. F. The relationship between intraluminal uterine fluid, endometritis and pregnancy rate in the mare / J. F. Pycock, J. R. Newcombe // *Equine Pract.* - 1996. –Vol.18. – P. 19-22.

330. Pycock, J. F. Use of Ultrasonography in the Management of the Abnormal Broodmare // Jessica, A.K. *Atlas of Equine Ultrasonography* / A. K. Jessica, K. G. Lu, M. L. Frazer . - John Wiley & Sons, 2014. - 503p.

331. Reilas, T. Uterine luminal environment of the mare / T. Reilas [Электронный ресурс]. – Ypäjä, 2001. – 80 p. - Режим доступа: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/ela/kliin/vk/reilas/uterinel.pdf>.

332. Reproductive Efficiency Reported by SBS Affiliate Labs [Электронный ресурс]. – 2012. - Режим доступа: <http://www.selectbreeders.com/news/169>.

333. Ricard, A. Cloning and embryo transfer in selection plans in horses /A. Ricard, C. Dubois //Proc. 57th Annual EAAP Meeting. – Antalya (Turkey), 2006. – P.305.

334. Ricketts, S. W. The technique and clinical application of endometrial biopsy in the mare /S. W. Ricketts //Equine Veterinary J.- 1975. –Vol.7. – P. 102–108.

335. Ricketts, S. W. Uterine and Clitoral Cultures // A. O. McKinnon , J. L. Voss [et al.] // *Equine Reproduction.* - Philadelphia (USA):Lea & Febiger, 1993. – P. 1963–1978.

336. Riddle, W. T. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice / W. T. Riddle, M. M. LeBlanc, A. J. Stromberg //Theriogenology . – 2007. – Vol.68. – P. 395–402.

337. Riera, F. L. Commercial embryo transfer in polo ponies in Argentina / F. L. Riera, J. McDonough // *Equine veter. J.* - 1993, Suppl.15. – P.116-118.

338. Roberts, S. J. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*/ S. J. Roberts. - 3rd edn. -North Pomfret (USA), 1986. –P.581–635.

339. Rules and Regulations. REG 122. Embryo/Oocyte Transfer for Half-Arabians and Anglo-Arabians [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.arabianhorses.org/registration/rules-regulations>

340. Scoggin, Ch. F. Reinforcement Breeding /Ch. F. Scoggin// Dascanio J. Equine Reproductive Procedures/ J. Dascanio, P. McCue.- First Edition. - JohnWiley & Sons, 2014. - P.119-120.

341. Scott, T.J. Embryo development rates after transfer of oocytes matured in vivo, in vitro, or within oviducts of mares/ T. J. Scott , E. M. Carnevale, L. J. Maclellan, C. F. Scoggin, E.L. Squires //Theriogenology. – 2001. – Vol. 55. – P. 705-715.

342. Sellnow, L. Artificial Insemination for Horses [Электронный ресурс] / L.Sellnow. – 2000. – Режим доступа: <http://www.thehorse.com>.

343. Sharma, S. The impact of uterine therapies on reproductive efficiency in Thoroughbred mares; the possible effect of mare age and reproductive status /S. Sharma, G.S. Dhaliwal, N. S. V. Gosal // Vet. arhiv. - 2011. – Vol.81, № 2. – P.163-173.

344. Sharp, D. C. Photoperiod /A.O.McKinnon [et al.] // Equine Reproduction. - 2nd Edition.- Iowa: Wiley-Blackwell publishing, 2011. – P.1771-1777.

345. Siemea, H. The effects of different insemination regimes on fertility in mares /H. Siemea, T. Schafer, T. A. E. Stout, E. Klug, D. Waberskid //Theriogenology. – 2003. – Vol. 60. – P. 1153–1164.

346. Silveira, M. D. da Mota. Some Peculiarities of Horse Breeding [Электронный ресурс] / M. D. da Mota Silveira, L. de Almeida Regitano Correia. - 2012. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.5772/50519>.

347. Sitters, S. Digital Examination of the Vagina/Cervix /S. Sitters//Dascanio J. Equine Reproductive Procedures / J. Dascanio, P. McCue. - First Edition. – JohnWiley & Sons, 2014. -P. 38-40.

348. Skaife, J. Quality Control is at the Core of the SBS Difference [Электронный ресурс] / J. Skaife. – 2014. – Режим доступа: <http://info.selectbreeders.com/blog/bid/186448/Quality-Control-is-at-the-Core-of-the-SBS-Difference>.

349. Squires, E. L. A review on the use of eFSH to enhance reproductive performance /E.L. Squires, P.M. McCue, K. Niswender, M. Alvarenga //Proc.44rd

Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. - 2003. – Vol. 49. – P. 360-362.

350. Squires, E. L. Advances in equine superovulation/ E. Squires, P. M. McCue, J. Hudson // Havemeyer Foundation Monograph.– 2004. - Series No. 14. - P.71-74.

351. Squires, E. L. Effect of time of insemination and site of insemination on pregnancy rates with frozen semen / E. L. Squires, H. P. Reger, L. J. Maclellan, J. E. Bruemmer // Theriogenology. – 2002. –Vol. 58. – P. 655-658.

352. Squires, E. L. Ovarian changes during estrous cycle and pregnancy in mares /E.L. Squires , R. H. Douglas, W. P. Steffenhagen, O. J. Ginther //J. Anim. Sci. – 1974. – Vol. 38. – P. 330-338.

353. Squires, E. L. Sex-selection of stallion spermatozoa /E. L. Squires, F. C. Lindsey, J. E. Bruemmer // Havemeyer Foundation Monograph. - 2003.- Series №6. -P. 35-37.

354. Squires, E. L. The current status of equine embryo transfer /E. L. Squires, P. M. McCue, D. Vanderwall //Theriogenology. – 1999. - Vol. 51. - P. 91-104.

355. Stewart, F. The binding of FSH, LH and PMSG to equine gonadal tissues /F. Stewart, W. R. Allen//J. Reprod. Fertil.- 1979.- Vol.27, Suppl.- P. 431-440.

356. Stout, T. A. E. Equine embryo transfer: a review of developing potential / T. A. E. Stout // Equine Veter. J. - 2006. – Vol.38, №5. – P.467-478.

357. Stout, T. A. E. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus / T. A. E. Stout, W. R. Allen // Reprod. – 2001.- Vol.121. – P. 771–775.

358. Strickland, C. Embryo Transfer for Horses [Электронный ресурс] / C. Strickland. – 2001. – Режим доступа: <http://www.thehorse.com/articles/10245/embryo-transfer-for-horses>.

359. Stroud, B. The year 2009 worldwide statistics of embryo transfer in domestic farm animals summary of the International Embryo Transfer (IETS) Data Retrieval / B. Stroud, G. A. Bó // Acta Sci. Veter. - 2011. – Vol.39, Suppl.1. – P.139 - 146.



360. Talluri, T. R. Application of Caslick's Index in Predicting the Mare Fertility / T. R. Talluri, S. K. Ravi, J. Singh, R. A. Legha, Y. Pal // J. Animal Res. – Vol. 5, No.2. - P. 219-222.
361. Tischner, M. Artificial insemination in horses: a review of current status quo / M. Tischner // Equine vet. Educ. - 1992. – Vol.4, №2. – P.89-92.
362. Tischner, M. Evaluation of deep-frozen semen in stallions /M. Tischner //J. Reprod. Fertil.– 1979. – Vol. 27,Suppl.– P.53-59.
363. Townson, D. H. Size and shape changes in the preovulatory follicle in mares based on digital analyses of ultrasonic images / D. H. Townson, O. J. Ginther// Anim. Reprod. Scin. – 1989. – Vol.21. - P. 63-67.
364. Troedsson, M. H. /Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen //M. H. T. Troedsson, K. Loset, A. M. Alghamdi, B. Dahms, B. G. Crabo // Anim. Reprod. Scie. - 2001.- Vol.68. – P. 273-278.
365. Urošević, M. I. Research on reproductive performance of mares in Serbia using bacteriological examination / M. I. Urošević [at al.] // Biotechnology in Animal Husbandry. - 2011. – Vol.27, №3. - P.883-892.
366. Vanderwall, D. K. Cloned horse pregnancies produced using adult cumulus cells/ D. K. Vanderwall ,G. L. Woods, K. I. Aston, T.D. Bunch, [et al.] //Reprod. Fertil. Dev. - 2004. – Vol.16. – P.675-679.
367. Vanderwall, D. K. Early embryonic development and evaluation of equine embryo viability / D. K. Vanderwall //Vet. Clin. N. Am.: Equine Pract. - 1996. – №12 – P.61-84.
368. Vidament, M. French field results (1985–2005) on factors affecting fertility of frozen stallion semen / M. Vidament // Animal Rep. Sci. - 2005. – Vol. 89, Issues 1. – P.115–136.
369. Viivi. Breeding statistics for Finnhorses [ Электронный ресурс] / Viivi. – 2014. – Режим доступа: <http://finnhorseblog.com/2015/03/08/breeding-statistics-for-finnhorses-2014>.

370. Vogelsang, M. M. Methods for collecting follicular oocytes from mares / M. M. Vogelsang, J. L. Kreider, M. J. Bowen, G. D. Potter [et al.] // *Theriogenology*. - 1988. - Vol. 29. – P.1007-1018.
371. Warriach, H. M. Reproductive Performance of Arabian and Thoroughbred Mares under Subtropical Conditions of Pakistan / H. M. Warriach [at al.] // *Asian-Australasian J. Animal Sci. (AJAS)*. – 2014. - Vol.27,№ 7. – P.932-936.
372. Watson, E. D. Uterine defence mechanisms in mares resistant and susceptible to persistent endometritis: A review / E. D. Watson // *Equine Vet. J.* – 1988. – Vol.20. - №6. – P, 397-400.
373. Webel, S. K. Control of the oestrous cycle in mares with altrenogest /S. K. Webel E. L. Squires//*J. Reprod. Fert.* – 1982. - Vol. 32, Suppl. – P.193-198.
374. Weber, J. A. Prostaglandin E2 hastens oviductal transport of equine embryos / J. A. Weber, D. A. Freeman, D. K. Vanderwall, G. L. Woods // *Biol. Reprod.* – 1991. – Vol. 45. –P. 544–546.
375. Wilsher, S. The influence of maternal size on placental area and foal birthweights in the mare /S. Wilsher, M. Ball, W. R. Allen // *Pferdeheilkunde*. -1999. - №5. – P. 69.
376. Woods, G. L. A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer / G. L. Woods, K. L. White, D. K. Vanderwall, G. P. Li [et al.] // *Science*. -2003. –Vol.301. – P.1063.
377. Woods, G. L. Early pregnancy loss in broodmares /G. L. Woods, C. B. Baker, J. L. Baldwin [et al.]// *J. Repr. Fert.* -1987. –Vol.35, Suppl. – P.455-459.
378. Yang, Y. A survey on characteristics of reproduction in Jeju Thoroughbred mares /Y. Yang, Gil-jae, Nam Tchi-chou Cho // *Korean medical database*. - 2004. - Vol.44, №1. - P.105-111.
379. Zent, W. Steiner J. Vaginal Examination / W. Zent // *McKinnon, A. O. Equine Reproduction* /A. O. McKinnon [et al.]. -2nd Edition.- Iowa: Wiley-Blackwell publishing, 2011. – P.1900-1903.

## СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

## Перечень рисунков

Рисунок 1 - Динамика численности поголовья лошадей в мире [327]. - С. 18.

Рисунок 2 - Численность лошадей по континентам. – С. 19.

Рисунок 3 - Классификация методов размножения лошадей Примечание: ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение, ICSI – интраплазматическая инъекция сперматозоида в яйцеклетку, GIFT –перенос гамет в фаллопиевы трубы (яйцеводы). – С. 23.

Рисунок 4 – Виды фасовки спермы: а) алюминиевые тубы, б) пластиковые соломинки. – С. 37.

Рисунок 5 – Инструменты для введения спермы в матку кобыл: а) отечественные технологии: катетер И. И. Иванова, б) зарубежные технологии: катетер и стилет для соломин (Minitube, Германия). – С. 38.

Рисунок 6- Схема сезонного проявления половой цикличности у кобыл. – С. 68.

Рисунок 7 - Схема гормональной регуляции половой цикличности у кобыл Примечание: ГнРГ – гонадотропин релизинг гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон; ЛГ – лютеинизирующий гормон; ПГ – прогестерон. – С. 69

Рисунок 8 - Строение яичника лошади [306]. – С. 71.

Рисунок 9 - Схема гормональной регуляции эстрального цикла кобыл Примечание: ЛГ-лютеинизирующий гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон. – С. 73.

Рисунок 10 – начальные стадии развития эмбриона. – С. 74.

Рисунок 11 - Эмбрионы лошади в возрасте 6, 7 и 8 суток (фото автора). – С. 75.

Рисунок 12 – Эндометральные чаши в матке кобылы: а) 1,5-2 месяца жеребости - фаза активной секреции ЛХГ [153], б) 4,5 месяца жеребости - фаза отторжения (фото автора). – С. 80.

Рисунок 13 - Схема гормональной регуляции жеребости [60]. – С. 82.

Рисунок 14 – Защитные барьеры генитального тракта кобылы. – С. 88.

Рисунок 15 – а) краниальный наклон вульвы и западение ануса у кобылы (фото автора); б) операция Каслика, отмечена зашитая часть вульвы (фото Е. В. Солодовой). – С. - 89.

Рисунок 16 - Схема исследований. – С. 99.

Рисунок 17 – Эмбрионы лошади после размораживания и окрашивания ДНК-красителями FITC и PI (ядра погибших клеток высвечены красным цветом): а), б) 7-дневный погибший эмбрион в) 8 дневный условно живой эмбрион. Конфокальный лазерный микроскоп (Фото М. Л. Семеновой). – С. 129.

Рисунок 18 – эмбрионы, окрашенные голубым Эванса: а) жизнеспособный, б) сомнительный, в) погибший. – С. 130.

Рисунок 19 – Эмбрионы, окрашенные голубым Эванса и помещенные под покровное стекло (клеточная масса частично вышла из оболочки наружу): а) жизнеспособный, б) сомнительный, в) погибший. Поврежденные клетки окрашены в синий цвет. – С. 130.

Рисунок 20 - Эмбрионы после 24 часов хранения при температуре плюс 5°C: а) возраст 8,5 суток, диаметр 1200 мкм, б) возраст 7,5 суток, диаметр 500 мкм. – С. 132.

Рисунок 21 - Эмбрионы после проводки по криопротекторам (окрашивание голубым Эванса): а) возраст 7 суток, 175 мкм, б) возраст 7 суток, 275 мкм в) возраст 8 суток, 600 мкм. Погибшие клетки окрашены в синий цвет. – С. 135.

Рисунок 22 - Результат программного замораживания (окрашивание голубым Эванса): а) эмбрион 6,5 суток, 275 мкм; б) эмбрион 7 суток, 250 мкм; в) эмбрион 8 суток, 500 мкм. Погибшие клетки окрашены в синий цвет. – С. 135.

Рисунок 23 - Результат витрификации (окрашивание голубым Эванса):

а) эмбрион 6,5 суток, 175 мкм; б) эмбрион 6,5 суток, 225 мкм; в) эмбрион 8 суток, 550 мкм. Погибшие клетки окрашены в синий цвет. – С. 135.

Рисунок 24 - Набор Vit-Kit (Minitube, Германия) для витрификации эмбрионов лошадей. – С. 138.

Рисунок 25 – Эмбрион, витрифицированный по технологии “Vit-Kit”, после оттаивания, перед пересадкой реципиенту. – С. 138.

Рисунок 26 - Отечественная технология криоконсервации. Два эмбриона, которые прижились после витрификации в средах авторского производства: а), в) перед замораживанием б), г) после оттаивания, перед пересадкой реципиенту. – С. 139.

Рисунок 27 - Жеребята, полученные после пересадки витрифицированных эмбрионов с использованием авторской криопротективной среды. – С. 139.

Рисунок 28 - Строение наружных половых органов кобыл (краниальный уклон вульвы): а) норма, б) патология. – С. 142.

Рисунок 29. Показатели плодовой деятельности кобыл, в зависимости от строения наружных половых органов (краниальный уклон вульвы) в Локотском конном заводе (Брянская область). – С. 143.

Рисунок 30 - Показатели плодовой деятельности кобыл, в зависимости от строения наружных половых органов (краниальный уклон вульвы) в Рязанском конном заводе (Рязанская область). – С. 144.

Рисунок 31 - Зажеребляемость кобыл по годам использования: а) в Локотском конном заводе, б) в Рязанском конном заводе. – С. 147.

Рисунок 32 - Выход жеребят по годам использования кобыл: а) в Локотском конном заводе, б) в Рязанском конном заводе. – С. 147.

Рисунок 33 – Наружный осмотр: а) выделения из вульвы (фото И.Шмелевой), б) герпес вирусная инфекция (фото автора). – С. 148.

Рисунок 34 – Вагиноскопия (Ш - шейка матки). – С. 152.

Рисунок 35 – персистентная девственная плева. – С. 154.

Рисунок 36 – Эструс. Цитологические образцы: а) – цервикальная слизь, б) реснитчатые клетки плоского эпителия, в) 2 вагинальные чешуйчатые клетки. – С. 156.

Рисунок 37 – Диэструс. Цитологические образцы: а) крупные эпителиальные клетки с центрично расположенным ядром, б) разрушающиеся ядра эпителиальных клеток. – С. 156.

Рисунок 38 – Нейтрофилы в мазках цервикальной слизи кобыл: а) при воспалении. б) после случки (С - сперматозоид). – 157.

Рисунок 39 – Цервикальные мазки: а) лимфоциты, б) эозинофил. – С. 158.

Рисунок 40 - Эхограммы половых органов кобылы в эструсе: а) рог матки, б) тело матки, в) зрелые фолликулы (ф) в яичниках. – С. 160.

Рисунок 41 - Тело матки. Уменьшение складчатости эндометрия: а) за 30 часов до овуляции, б) за 13 часов до овуляции, в) за 5 часов до овуляции, г) через 8 часов после овуляции. – С. 161.

Рисунок 42 – Яичник кобылы: а) преовуляторный фолликул (ф), б) овуляция, в), г) геморрагическое тело д) желтое тело через два дня после овуляции (ф – фолликул), е) зрелое 8-дневное желтое тело. С. - 162.

Рисунок 43 - Диэструс: а) тело матки (толстая стрелка – канал матки), б) рог матки, в) левый яичник с желтым телом (жт), г) правый яичник с двумя фолликулами (ф). – С. 163.

Рисунок 44 – Анэструс: а) рог матки, б) тело матки, в) яичник. – С. 164.

Рисунок 45 - Весенний переходный период: а) тело матки, б) рог матки, в) яичник (ф – фолликулы). – С. 164.

Рисунок 46 - УЗ-изображение матки кобыл после выжеребки: а), б), в), г) тело матки (ж - жидкость), д) рог матки (отмечена толщина стенки рога матки). – С. 165.

Рисунок 47 – Патологии. а) Нимфомания. Слева: яичник с мелкими и средними фолликулами, желтое тело отсутствует, справа: матка без признаков отека, б) персистентное желтое тело (ПЖТ). – С. 166.

Рисунок 48 - Лютеинизация фолликула: а) начальная стадия; б), в) прогрессирующая стадия; г-е) процесс лютеинизации в динамике: г) начало процесса; д) тот же фолликул через сутки; е) через 3 суток. – С. 168.

Рисунок 49 - Генез лютеоподобной структуры в яичнике кобылы после отъема жеребенка: а) 11.02.2013 г., б) 26.04.2013 г., в) 22.05.2013 г. – С. 169.

Рисунок 50 - Гематома яичника. – С. 170.

Рисунок 51 - Паровариальная киста: а) яичник (я) с кистой (к), б) эхограмма кисты, в) содержимое кисты (остатки после вскрытия кисты), г) нормальный (слева) и пораженный (справа) яичники в разрезе (4,5 месяца жеребости). – С. 171.

Рисунок 53 - Эхографические и эндоскопические (фото М.В.Жуковой, ООО «Эквимедика») снимки множественных кист (К) в теле матки (а, б) и у основания правого рога матки (в, г). – С. 172.

Рисунок 54 - Эндометриты: а) катаральный, б) гнойно-катаральный (стрелка- толщина стенки матки), в) гнойный (Ж – жидкость, стрелка – осадок). – С. 173.

Рисунок 55 - Посткоитальный эндометрит, жидкость (ж) в просвете матки: а) 24 часа после осеменения б) 36 часов после осеменения. – С. 173.

Рисунок 56 - Присутствие воздуха (белые черточки) в матке. – С. 174.

Рисунок 57 - Гранулезная опухоль с 3-летней историей развития: а) пораженный яичник, б) парный яичник. – С. 175.

Рисунок 58 - Гранулезная опухоль в начальной стадии развития: а) в разрезе после овариоэктомии (фото Е.А.Трутневой), б) на эхограмме. в) парный яичник. – С. 175.

Рисунок 59 – Оценка функционального состояния репродуктивной системы кобыл методом ультразвуковой диагностики. – С. 178.

Рисунок 60 - Уровень прогестерона в крови кобыл на ранних сроках жеребости. – С. 194.

Рисунок 61 - Уровень прогестерона в крови жеребых кобыл с подсосными жеребятами и без жеребят. – С. 195.

Рисунок 62 – Схема 1 гормональной обработки донора и реципиента для синхронизации овуляции. – С. 200.

Рисунок 63 – Схема 2 гормональной обработки реципиента для синхронизации овуляции с донором. – С. 201.

Рисунок 64 – Схема 3 гормональной обработки реципиента для синхронизации овуляции с донором. – С. 201.

Рисунок 65 – – УЗ-изображение эмбриона лошади. Примечание: срок жеребости ( в днях) указан в нижнем правом углу; Э – собственно эмбрион в пузыре; ЖМ – желточный мешок; П – пуповина; Г – голова; Т – туловище; ПК – передние конечности; С – спина; Р – ребра; Ж – желудок; БП – брюшная полость. – С. 204.

Рисунок 66 - Определение пола плода. Треугольник – ориентиры для определения положения генитального бугорка (стрелка) относительно задних конечностей: б, в) пол плода – жеребчик, г, д) пол плода – кобылка. – С. 207.

Рисунок 67 - Эхограммы эмбриона/плода лошади и его фрагментов на разных сроках жеребости (объяснения в тексте). – С. 208.

Рисунок 68 - Яичники кобыл на разных сроках жеребости. Процессы лютеинизации фолликулов и образования дополнительных желтых тел. – С. 210.

Рисунок 69 - Двойнёвые эмбрионы: возраст а) 13 дней, в роге матки, б) 16 дней, в теле матки, в) 17 дней, в) 25 дней. – С. 214.

Рисунок 70 - Ранняя эмбриональная гибель. – С. 215.

Рисунок 71 - Отставание эмбриона в развитии в соответствии со шкалой роста и эмбриональная гибель после 20 дня. – С. 216.

Рисунок 72 - Инициированная эмбриональная гибель на сроках 2-3 месяца. – С. 216.

Рисунок 73 - Маточно-плацентарное соединение (МПС) (отмечено звездочками и пунктирными стрелками): а) жеребость 213 дней; б) жеребость 284 дня; б) отслоение плаценты – жидкость между эндометрием и плацентой (сплошная стрелка). Примечание: ш – шейка; А – аллантоис; мп - мочевого пузыря; п – плод; э – эндометрий; пл – плацента. – С. 218.



Рисунок 74 – Эндометриальные кисты: а) в теле матки величиной с 9-10 дневный эмбрион; б), в) в роге матки, величиной с 11-12 дневный эмбрионы; г) у основания рога матки величиной с 12-13 дневный эмбрион. – С. 219.

Рисунок 75 - Жидкость в матке. Эмбриональная гибель на сроке а) 22 и б) 24 дня Рисунок 77 - Ультразвуковые признаки нормы и патологии протекания жеребости у кобыл. – С. 220.

Рисунок 76 - Ультразвуковые признаки нормы и патологии протекания жеребости у кобыл. – С. 223.

Рисунок 77 - Схема годового цикла воспроизводства лошадей в племенном коневодческом хозяйстве на основе современных биотехнологических, физиологических и диагностических методов Примечание: ИО - искусственное осеменение свежим, охлажденным и замороженным семенем; ТЭ - трансплантация свежих, охлажденных и замороженных эмбрионов, ЭГ – эмбриональная гибель. – С. 226.

#### Перечень таблиц

Таблица 1 - Показатели воспроизводства в отечественных породах лошадей. – С. 26.

Таблица 2 - Активность использования эмбриотрансплантации в коневодстве (данные международной ассоциации по трансплантации эмбрионов - IETS) [179]. – С. 56.

Таблица 3 - Условия регистрации жеребят, полученных методами искусственного осеменения и трансплантации эмбрионов в некоторых отечественных и зарубежных породах лошадей. – С. 60.

Таблица 4 - Показатели воспроизводства при косячной технологии случки в новоалтайской и терской породах лошадей. – С. 108.

Таблица 5 - Показатели плодовитости косячных жеребцов в новоалтайской породе. – С. 109.

Таблица 6 - Зажеребляемость кобыл при варковой технологии случки. – С. 111.

Таблица 7 - Показатели воспроизводства в ведущих российских конных заводах при ручной технологии случки. – С. 112.

Таблица 8 - Результаты осеменения кобыл спермой, замороженной по различным технологиям. – С. 117.

Таблица 9 - Результаты осеменения кобыл, в зависимости от активности спермы и времени осеменения. – С. 118.

Таблица 10 - Результаты осеменения кобыл разных репродуктивных групп

Таблица 11 - Результаты случки/ осеменения ожеребившихся кобыл. – С. 122.

Таблица 12 - Результативность нехирургического извлечения эмбрионов. – С. 125.

Таблица 13 - Направления исследований по эмбриотрансплантации. – С. 126.

Таблица 14 - Средняя интенсивность роста эмбрионов в средах “зоны роста” за 24-часовой период культивирования. – С. 127.

Таблица 15 - Результаты окрашивания или пересадки охлажденных эмбрионов. – С. 132.

Таблица 16 - Результаты оценки качества эмбрионов на различных этапах криоконсервации методами дифференциального окрашивания. – С. 134.

Таблица 17 – Результаты пересадки эмбрионов в опытах по витрификации эмбрионов в различных средах. – С. 137.

Таблица 18 - Виды патологий, обнаруженных при осмотре наружных половых органов кобыл. – С. 141.

Таблица 19 - Показатели воспроизводства кобыл с разным строением наружных половых органов. – С. 143.

Таблица 20 - Показатели воспроизводства кобыл с разным строением наружных половых органов в Локотском (1999-2015 годы) и Рязанском (1999-2011 годы) конных заводах по годам использования в маточном составе. – С. 145.

Таблица 21 - Виды патологий, обнаруженных при ректальной пальпации матки и яичников кобыл. – С. 150.

Таблица 22 - Виды патологий, обнаруженных при вагиноскопии и мануальном исследовании полового тракта кобыл. – С. 153.

Таблица 23 – Характерные признаки матки и яичников нежеребых кобыл в различные фазы годового цикла воспроизводства по данным ультразвукового исследования. – С. 166.

Таблица 24 - УЗ-признаки основных патологий матки и яичников нежеребых кобыл. – С. 176.

Таблица 25 - Данные о наличии или отсутствии признаков воспаления полового тракта кобыл, результатах их лечения и зажеребляемости, диагностируемых различными методами исследования. – С. 179.

Таблица 26 - Возможности различных диагностических методов при определении основных репродуктивных патологий кобыл. – С. 182.

Таблица 27 – Показатели воспроизводства кобыл с учетом их комплексной репродуктивной оценки и результатов лечения. – С. 183.

Таблица 28 - Сроки наступления охоты и овуляции у кобыл после однократной инъекции  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . – С. 185.

Таблица 29 - Результат воздействия простагландина  $\text{F}_{2\alpha}$  на кобыл, в зависимости от срока жеребости. – С. 186.

Таблица 30 - Частота и время наступления овуляции у кобыл после обработки ХГЧ в различных дозировках с учетом диаметра фолликула. – С. 191.

Таблица 31 - Уровень прогестерона в крови кобыл на сроках 25, 35 и 45 дней жеребости. – С. 193.

Таблица 32 - Результаты прогестиновой поддержки жеребости у кобыл. – С. 198.

Таблица 33 - Ультразвуковые характеристики матки и яичников кобыл на разных сроках нормальной жеребости (шкала роста и развития эмбриона/плода в матке кобылы) . – С. 211.

Таблица 34 - Опорные сроки УЗ-диагностики и соответствующие им УЗ-признаки нормального развития эмбриона/плода лошади. – С. 221.

Таблица 35 – Ультразвуковые характеристики протекания жеребости у кобыл в норме и патологии. – С. 224.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Форма регистрации процедуры эмбриотрансплантации  
[электронный ресурс]. - режим доступа:

<http://csu-cvmb.colostate.edu/Documents/erl-equine-embryo-transfer-contract.pdf>



### CSU/ERL EMBRYO TRANSFER AGREEMENT

2017



Today's date:		**Please include a copy of the mares registration papers when returning this contact	
MARE INFORMATION			
Registered Name:		Breed:	Registration No:
Barn Name:		Color:	
Is Your Horse Insured? <input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No	Insurance Agency & Contact No:	Type Of Insurance:	Birth date/Age:

OWNER INFORMATION			
Owner Name:		Email Address:	
Address:		City:	State:    ZIP Code:
Primary Ph:	Business Ph:	Mobile Ph:	
Fax:	Agent:	Agent Ph:	
In case of an emergency please provide us with a secondary contact name and number of a person that can authorize veterinary medical or surgical treatment.			Name:
			Ph:
<b>Billing Options:</b> <input type="checkbox"/> Traditional Mail <input type="checkbox"/> Email    Billing Email:			

SERVICES DESIRED	
<b>Services Desired:</b>	<input type="checkbox"/> In House Management of Donor Mare <input type="checkbox"/> Shipment of Embryo(s) to CSU/ERL <input type="checkbox"/> Outpatient Embryo Collection/Transfer <input type="checkbox"/> Embryo Freezing <input type="checkbox"/> Mare Foaling Management <input type="checkbox"/> Transfer Vitrified/Frozen Embryo
<b>Foaling Information:</b>	In foal to: _____ Last Breed Date: _____ Breeding Facility: _____
<b>Board &amp; Care:</b>	<input type="checkbox"/> Daily Mare Board \$22 /day <input type="checkbox"/> Enhanced Care \$3 /day <input type="checkbox"/> Wet Mare Board \$24 /day <i>(Recipient mare board \$16 /day in paddock )</i>

EXPLANATION OF SERVICES	
<ol style="list-style-type: none"> <li><b>In-house management of donor mare</b> includes transrectal palpation, ultrasonography, insemination, hCG or deslorelin administration to induce ovulation, prostaglandin administration to short cycle, embryo collection (flush) and embryo transfer for ONE cycle.</li> <li><b>Shipment of Embryo(s)</b> to CSU/ERL ensures availability of recipient mare to receive shipped embryo.</li> <li><b>Outpatient Embryo Collection</b> includes embryo collection (flush), embryo transfer and prostaglandin administration.</li> <li><b>Embryo Freezing</b> fees are applied to each embryo cryopreserved; monthly storage fee is not included.</li> <li><b>Pregnancy Fee</b> is applied to each pregnant recipient mare at <b>35</b> days of gestation.</li> <li><b>Recipient(s) will be transferred to Donor Mare Owner's</b> account at <b>16</b> days gestation. Board and daily progesterone therapy (if needed) will be assessed from that day forth.</li> <li><b>Recipients will be leased</b> by Donor Mare Owner through CSU/ERL from Rocky Mountain Equine, LLC (RME).</li> <li><b>Recipients should be returned</b> directly to RME or CSU/ERL post weaning for a refund of \$500 deposit. Deposit is held by RME. If mare is NOT returned to RME or CSU/ERL by December 31 of foaling year, \$500 return of deposit is null &amp; void and <b>additional \$500</b> will be assessed to mare owner.</li> <li><b>Live Foal Insurance is optional</b> (additional fee) and will be offered after recipient mare is confirmed in foal.</li> </ol>	

FEE SCHEDULE 2017	
<i>In-house and Shipped-In Embryo Fees are due at the signing of this contract and are non-refundable and non-transferrable.</i>	
<b>Board/Care</b>	
Donor Mare	\$22 /day
Enhanced Care	\$3 /day
<i>(An additional daily rate that includes consistent turnout and grooming, feeding of owner provided supplements and blanketing with owner provided blankets. Added at owner's request.)</i>	
Wet Mare (mare + foal)	\$24 /day
Recipient Mare	\$16 /day (includes Regumate therapy if needed)
<b>Embryo Transfer &amp; Foaling Services</b>	
Embryo Donor Management w/ Fresh or Cooled Semen	\$450 /Cycle
Embryo Donor Management w/ Frozen Semen	\$550 /Cycle
Shipped-In Embryo Fee	\$350 /Cycle /Embryo
Outpatient Embryo Collection Fee	\$350
Embryo Freezing	\$350 /Embryo
Frozen Embryo Storage	\$25 /month for up to 4 embryos
Warming & Transfer of Vitrified/Frozen Embryo <i>(Includes recipient mare synchronization &amp; transfer of embryo)</i>	\$350
Pregnancy Fee	\$2,350 /per pregnant recipient mare
Recipient Lease & Deposit	\$1,800 (\$500 deposit refundable upon return)
Recipient Buy-Out	\$500 (if mare is NOT returned)
Live Foal Insurance	\$300 (optional)
Foaling Service Entry Fee	\$400
<i>Includes video surveillance, Foalert® monitoring, milk calcium screening, NI testing, and colostrum evaluation on the mare. Also included are post-foaling deworming (ivermectin), routine umbilical cord care, administration of an enema, and evaluation of passive antibody transfer in the newborn foal. Owner/Agent agrees to pay veterinary fees and charges associated with additional, non-routine therapy deemed necessary for proper management of the pregnant, foaling or postpartum mare (e.g. oxytocin therapy, uterine lavage or other treatments for retained placenta, etc.) or the newborn foal (e.g. supplementation with additional colostrum and/or plasma, etc.)</i>	
<b>Mare Services</b>	
Ultrasound & Palpation*	\$40 /exam
Artificial Insemination*	\$40
Prostaglandin*	\$21 /treatment
Ovulatory Hormones*	\$40 - \$55
Oxytocin (per day)	\$15 /treatment
Uterine Lavage: Level I	\$50 /treatment
Uterine Lavage: Level II	\$75 /treatment
Uterine Culture & Sensitivity	\$60
Uterine Cytology	\$30
Uterine Biopsy	\$70
Intrauterine Antibiotics	\$40 /treatment
<i>* Procedures are included in donor management contract pricing.</i>	
<b>Miscellaneous Services</b>	
Daily Treatment Fee <i>(owner provided medication)</i>	\$3 /day
Regumate Administration	\$4 /day
Brand Inspection	\$37
Coggins Test (AGID)	\$25
Health Certificate	\$26 <i>(Add'l horse on same certificate \$12)</i>
Shipping- varies by service requested	STBD

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Схема развития эмбриона лошади в зародышевый период [105]

Донейруляци онный подпериод	0	Оплодотворение	Прозрачная оболочка zona pellucida		
	1-5 сутки	Дробление			
	6-7 сутки	Стадия однослойной бластоцисты	Миграция бластоцисты по матке	Глико протеи новая капсула	Хорио желточная плацента
	8-11 сутки	Первая фаза гастроляции			
	12-16 сутки	Вторая фаза гастроляции			
Нейруля ционный подпериод	16-21 сутки	Нейруляция, формирование осевых зачатков и начало органогенеза	Фиксация эмбриона в матке		
Поздний зародышевый подпериод	22-40 сутки	Активный органогенез	Зародыш в амнионе		

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

### Формирование хорионического пояса у эмбриона лошади

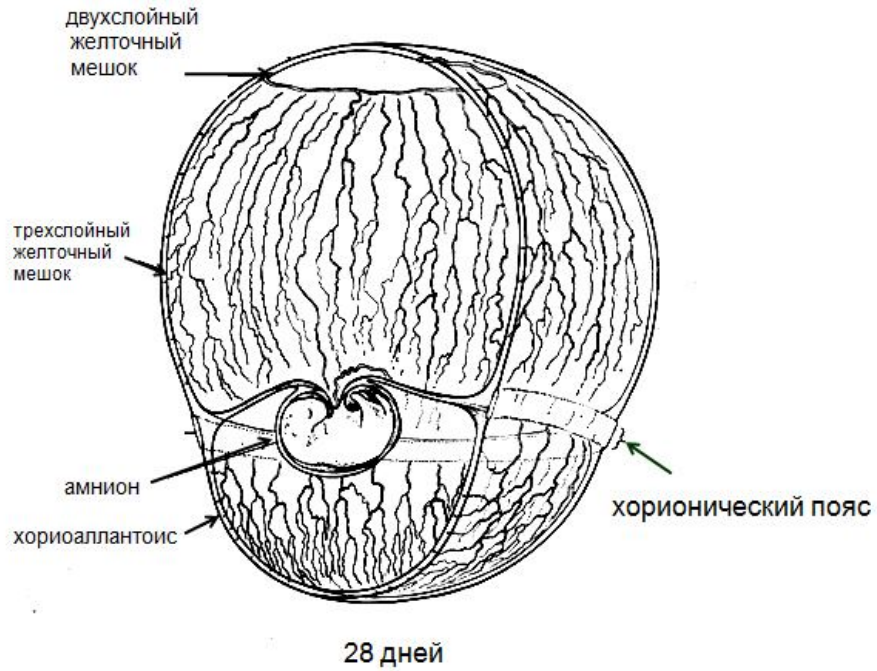
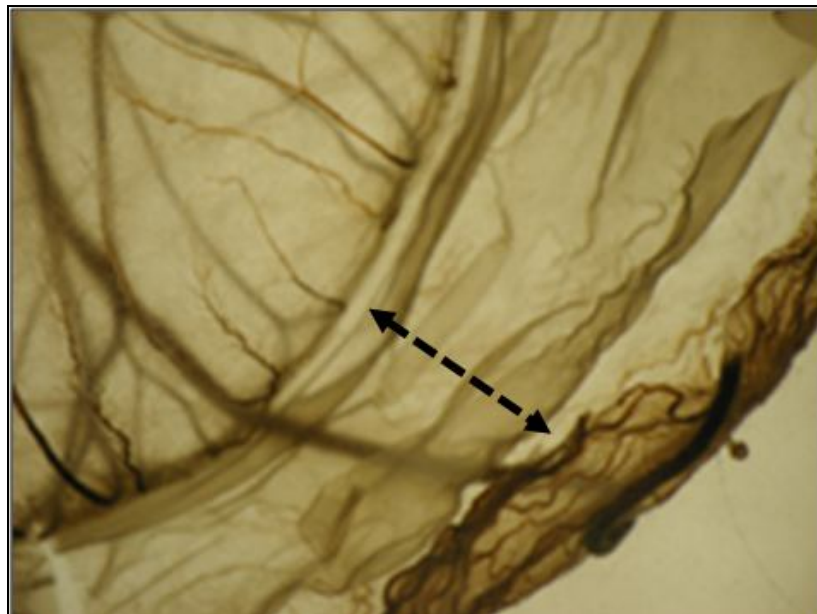


Схема 28-дневного эмбриона лошади в разрезе [60]



26 дневный эмбрион лошади. Хорионический пояс (фото М.Л.Семеновой)



## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Ректальная диагностика созревания фолликула и овуляции у кобыл по

Г.В.Паршутину и П.Н.Скаткину [108]

матки вниз и вправо от яичника, где на расстоянии 3—5 см от него улавливают вершину рога. Рог матки захватывают так, чтобы большой палец располагался сверху, а остальные пальцы спереди и снизу рога; осторожно его прощупывают, для чего руку постепенно перемещают по ходу рога вправо и вниз к телу матки и правому рогу. Затем руку отводят с верхушки правого рога по связке на правый яичник, который исследуют так же, как левый яичник. Правый яичник и правый рог матки удобнее исследовать левой рукой (рис. 20, 21, 22, 23).

Состояние половых органов во время охоты. Яичники у холостых кобыл в состоянии полового покоя имеют форму боба или несколько округлую; они упруго-эластичны, нечувствительны. Поверхность гладкая. Их примерные размеры: длина 3—7 см, ширина и толщина 2—5 см.

В период охоты в одном из яичников, обычно в передней или задней части яичника, созревает фолликул. Вследствие созревания фолликула происходит сильное изменение формы, размеров и плотности яичника.

Различают следующие стадии зрелости фолликула и изменений в состоянии яичника (рис. 24).

ф<sup>1</sup>—начало созревания фолликула: яичник принимает форму неправильного боба за счет увеличения одной его стороны, в которой начинает созревать фолликул, прощупываемый в виде небольшого размягчения.

ф<sup>2</sup>—зреющий фолликул: часть яичника увеличивается в размерах; в фолликуле прощупывается слабое зыбление (колебание) жидкости—флюктуация.

ф<sup>3</sup>—фолликул почти созрел, яичник принимает грушевидную форму; фолликул шарообразный, ясно флюктуирует.

ф<sup>4</sup>—фолликул созрел: напряженно флюктуирует; стенки его сильно истончены.

Ов.—овуляция: напряженность стенок фолликула ослабла; при осторожном надавливании на них пальцами размер фолликула уменьшается.

Ов. к.—овуляция кончилась: яичник сильно уменьшился в размерах; область яичника, где развивался фолликул, мягкая, дряблая, складчатая; флюктуации нет.

Ж. т.—желтое тело: на месте лопнувшего фолликула образовалось желтое тело. Оно имеет форму неправильного, сплюснутого с боков шара, диаметром от 2 до 4 см,

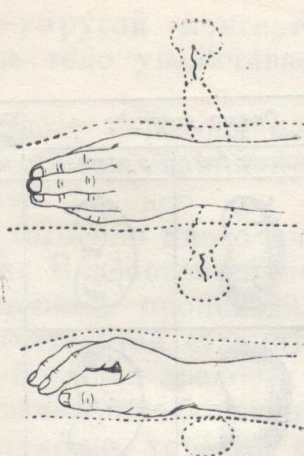


Рис. 20. Введение руки в полость прямой кишки кобылы: вверху—вид сверху, внизу—вид сбоку.

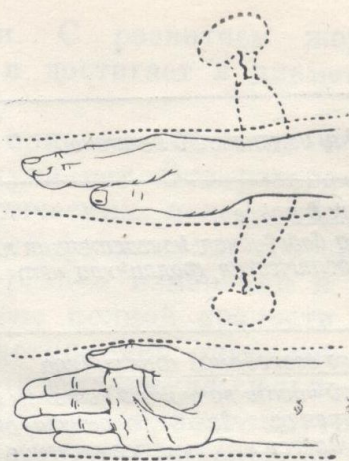


Рис. 21. Положение руки в прямой кишке кобылы: вверху—вид сверху, внизу—вид сбоку.

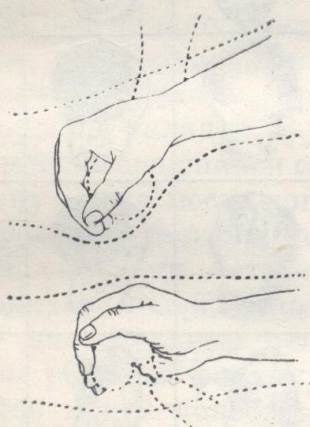


Рис. 22. Исследователь взял яичник в горсть руки. Яичник окружен справа ладонью, с боков—подогнутыми пальцами руки, слева—паховой брюшной стенкой: вверху—вид сбоку, внизу—вид сверху.

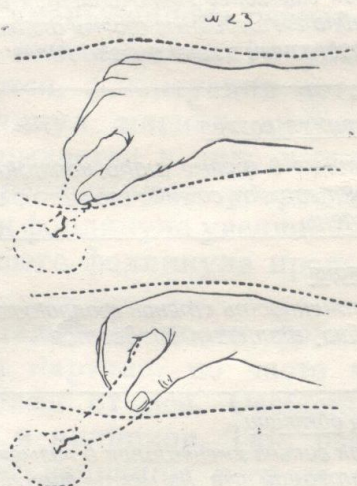


Рис. 23. Рог матки охвачен согнутой кистью руки. Большой палец расположен на верхней поверхности рога, остальные пальпы лежат на его нижней поверхности: вверху—вид сверху, внизу—вид сбоку.

(По Х. И. Животкову).

















Стадии изменений в яичнике	Схема яичника		Условные обозначения
	внешний вид	в разрезе	
<u>Яичник в покое</u> Форма бобовидная, консистенция плотно эластическая, фолликула нет			$\phi^0$
<u>Начало созревания фолликула</u> В одной части яичника, в котором начинается созревание фолликула, происходит небольшое размягчение			$\phi^1$
<u>Зреющий фолликул</u> Яичник увеличивается в размерах, принимает форму неправильного боба за счет увеличения фолликула, при ощупывании фолликул слабо флюктуирует			$\phi^2$
<u>Зреющий фолликул</u> Яичник еще более увеличивается, имеет явно грушевидную форму, фолликул шарообразный и ясно флюктуирует			$\phi^3$
<u>Фолликул созрел</u> Фолликул в форме шара, напряженно флюктуирует, стенки его сильно истончены			$\phi^4$
<u>Овуляция</u> Напряженность стенок фолликула ослабла, фолликул спадается			ов.
<u>Конец овуляции</u> Яичник сильно уменьшился в размере, флюктуаций нет. На месте лопнувшего фолликула мягкие, дряблые складки			ов.к.
<u>Образование желтого тела</u> На месте лопнувшего фолликула образуется желтое тело мягкой-упругой консистенции			Ж.т.

Рис. 24. Созревание фолликула, овуляция и образование желтого тела в яичниках кобылы (схема).

мягко-упругой консистенции. С развитием жеребости желтое тело увеличивается и достигает в диаметре 6—7 см.

Резкого перехода между описанными выше четырьмя стадиями созревания фолликула нет. Это разграничение принято условно для практических целей—облегчения учета того или иного состояния фолликула, особенно при записи. В действительности резкие изменения в состоянии яичника происходят после полной зрелости фолликула (четвертая стадия) и наступления овуляции. В последней стадии зрелости стенки фолликула сильно напряжены вследствие большого давления жидкости внутри него. Флюктуация хорошо ощущается. Шаровидная форма фолликула выражена резко. Стенки его утончены, готовы лопнуть. При таком состоянии фолликула можно ожидать, что овуляция произойдет в ближайшие часы. Иногда при исследовании удается проследить период овуляции. При этом ощущается ослабевающая напряженность стенок, фолликул при слабом надавливании уменьшается, как бы тает в горсти руки и остается уменьшенного размера.

При окончании овуляции, когда фолликул уже лопнул, яичник сильно уменьшается, флюктуации нет; доля яичника, где развивался фолликул, мягкая, дряблая, со спавшимися стенками, прощупывается в виде легко вдавливающихся складок. В дальнейшем место разрыва зарастает, клетки спавшихся стенок фолликула увеличиваются. Таким путем на месте лопнувшего фолликула происходит формирование желтого тела.

При описании четырех стадий зрелости фолликула приводилась яркая, типичная картина, но часто встречаются значительные отклонения от нее. Особенно изменчивы размеры фолликулов и яичников. Так, размеры яичников могут колебаться от величины лесного ореха или боба до размеров кулака (от 1—2 до 10—12 см). Однако при любой величине яичника и фолликула удастся проследить характерные изменения формы, напряженности стенок и флюктуации фолликула. Особенно показательны чувствительность и болезненность яичника при наличии созревающего фолликула. В этом случае уже при легком сжимании яичника кобыла беспокоится, переступает с ноги на ногу.

При ректальном исследовании учитывают результаты пробы кобыл на охоту и вагинального исследования.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Ректальная диагностика жеребости по Г.В.Паршутину и П.Н.Скаткину [108]

Если оба рога мягкие, сплюснутые, одинаковы и нерельефны, а переход одного рога в другой сглажен, то кобыла нежереба.

У кобыл в первые 20—25 дней после выжеребки тело и рога матки прощупываются, как округлые валики, утолщенные в 3—4 раза, мягко-упругие. Матка в силу тяжести слегка опущена.

Яичники у нежеребой кобылы свободно подвешены на связках и расположены в задней части брюшной полости под 2—4-м поясничными позвонками, на ладонь ниже и в сторону от позвоночника.

Состояние матки и яичника у жеребой кобылы по сравнению с нежеребой настолько отлично, что позволяет безошибочно определить жеребость.

Больше того, в связи с развитием плода в матке и соответствующем яичнике происходят характерные изменения, по которым можно судить о давности состояния жеребости.

**П р и з н а к и 20—25-дневной жеребости.** К этому времени изменяется форма рогов матки: из плоских они превращаются в колбасовидные, несколько закрученные. Один из них несколько укорочен. На ощупь рога упруги, плотны. Такое изменение рогов матки указывает на наступление жеребости. Другой характерный признак происшедшего оплодотворения—образование резкого углубления между левым и правым рогом. В одном из яичников легко прощупывается желтое тело диаметром 2—3 см. Определить 20—25-дневную жеребость удастся не у всех кобыл и лишь при наличии большого навыка в работе.

**П р и з н а к и 30—35-дневной жеребости.** В этот период граница между рогами резко выражена. Рог матки, в котором развивается зародыш, расширен у основания. Диаметр расширения равен 5—7 см, т. е. не превышает ширины ладони. Рога матки неодинаковы, несимметричны (рис. 33). Желтое тело увеличивается в размерах, достигая 3—4 см в поперечнике.

**П р и з н а к и 40—45-дневной жеребости.** В этом периоде удастся легко определить жеребость. К 40—45 дням жизни плода очень хорошо выражено расширение рога диаметром 8—12 см. Матка смещена несколько вперед и вниз, но все же при ректальном исследовании под ней можно достать пальцами передний

край лонных костей таза. Рога матки уплотнены, граница между ними хорошо выражена. Местоположение яичников не меняется. Яичник, в котором развивается желтое тело, округло-треугольной формы и увеличен.

**Признаки 55—60-дневной жеребости.** К этому времени стенка рога матки, в котором развивается плод, делается тоньше, наполненный жидкостью плодовый пузырь имеет диаметр 12—18 см. Этот пузырь свешивается в брюшную полость, опускаясь глубже между петлями кишечника, так что передний край лонных

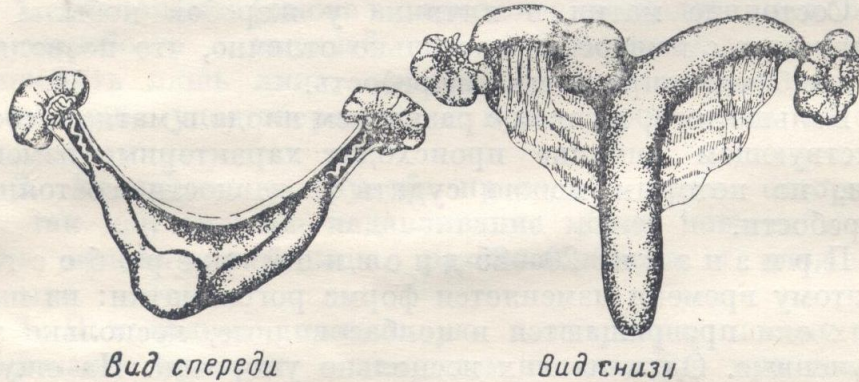


Рис. 33. Матка кобылы при жеребости в 35—40 дней.

костей можно достать пальцами с большим трудом и не всегда. Опущение плодового пузыря влечет некоторое смещение яичника вниз и натяжение его связок. Наиболее часто это происходит с правым яичником, так как плод чаще развивается в правом роге матки.

Плодовый пузырь отличается от наполненного мочевого пузыря тем, что он прикреплен на связке к яичнику; кроме того, от него отходит другой, твердый, упругий рог матки. Такое отличие можно проследить и в последующих, более поздних периодах жеребости. В два месяца жеребости вершина рога с развивающимся плодом еще не заполнена жидкостью плодового пузыря и выпячивается в виде плотного отростка длиной 4—6 см.

**Признаки 75-дневной (2½ мес.) жеребости.** Диаметр плодового пузыря достигает 16—22 см. Беременный рог опущен настолько, что матка с трудом подхватывается пальцами. Край лонных костей можно прощупать только со стороны небеременного рога, кото-

рый начинает заполняться плодовым пузырем. Яичник со стороны беременного рога оттянут еще ниже, и связки его еще более напряжены.

**Признаки 90-дневной (3-месячной) жеребости.** Матка опущена в брюшную полость. Диаметр плодового пузыря достигает 20—26 см. Небеременный рог значительно заполнен плодовым пузырем. Только верхушка рога сохраняет колбасовидную форму. Концы пальцев с трудом можно подвести под матку; лонные кости таза совершенно не прощупываются. Оба яичника опущены, сближены к середине, связки их натянута. Широкие маточные связки уплотнены, задний край их прощупывается в виде натянутых шнуров, направленных вниз и вперед.

**Признаки 4-месячной жеребости.** Верхушки рогов заполнены плодовым пузырем и почти сглажены. Стенка матки довольно равномерно утончена. Матка представляет собой пузырь размером от 25 до 30 см в диаметре. При исследовании обнаруживается большой купол (верх) этого пузыря, в котором легко ощущается флюктуация (зыбление) жидкости. Яичники значительно опущены и находятся поверх передней части купола пузыря. Они сближены настолько, что между ними едва помещается ладонь руки. Шейка матки находится на уровне лонных костей таза.

**Признаки 4½-месячной жеребости.** В 4½ месяца плод подвижен и как бы ныряет в плодовой жидкости. При равномерном, осторожном надавливании всей ладонью руки на купол пузыря ощущаются толчки плода. Ни в этот, ни в другие периоды жеребости ни в коем случае не следует прощупывать части плода пальцами, так как это может повести к повреждению плода и его оболочек и к выкидышу.

**Признаки жеребости в 5—6 месяцев.** Матка глубоко опущена в брюшную полость под петли кишечника. К 6 месяцам жеребости только верхняя часть матки с трудом поддается исследованию. В это время плод в матке очень подвижен, при осторожном нажиме ладонью на стенку матки ощущаются его толчки. Яичники также уходят настолько глубоко, что их трудно прощупать. Наиболее ярким признаком жеребости в этот период и позже является сильная натянутость связок матки и яичников.

**Признаки 7—8-месячной жеребости.** Плод мало подвижен, быстро увеличивается в размерах и потому продвигается к тазовой полости. При исследовании рука наталкивается на части плода.

**Признаки 9-месячной жеребости.** Части растущего плода достигают уровня лонного сращения, находятся близко к тазовой полости.

**Признаки 10-месячной жеребости.** Плод находится у входа в таз.

**Признаки 11-месячной жеребости.** Плод частично находится в тазовой полости. Появляются внешние признаки приближающейся выжеребки: набухание вымени, появление молозива, припухание половой петли, отеки бедер и нижней стенки живота.

По мере роста плода и его оболочек усиливается приток крови к матке. Маточная артерия во второй половине жеребости значительно увеличена. При нажатии на артерию рукой во время ректального исследования можно ощутить ток крови—«маточный шум». Однако этот признак имеет второстепенное значение, так как по нему нельзя определить срока жеребости.

*Вагинальное исследование кобыл на жеребость* служит дополнением к ректальному исследованию при подозрении на заболевание матки; проводится посредством вагинального зеркала или рукой, введенной во влагалище.

У жеребых кобыл влагалище сомкнуто вследствие спадения и склеивания его стенок. При введении зеркала ощущается сопротивление. Слизистая оболочка влагалища и шейки матки бледная, сухая, без блеска.

Во влагалище и на шейке матки слизи мало, и она очень густая, вязкая, клейкая, тянется в виде коротких, толстых нитей. По цвету слизь серовато-белая, саловидная. Шейка матки смещена от центра вправо или влево и вниз, имеет форму соска—конуса, как у холостой кобылы вне охоты. Отверстие канала шейки матки у жеребой кобылы плотно сомкнуто и как бы прикрыто складкой слизистой оболочки и заполнено пробкой из густой вязкой слизи (наиболее яркий признак жеребости).

Перечисленные признаки обнаруживаются около 30-го дня жеребости и остаются до ее окончания.

*Что необходимо учитывать при определении жеребости?* Размеры рогов матки и плодового пузыря указаны приблизительно, они могут быть несколько больше или



ПРИЛОЖЕНИЕ Е  
Трансплантация эмбрионов



Поголовье кобыл экспериментальной конюшни ФГБНУ «ВНИИ коневодства»



Процедура нехирургического вымывания эмбриона из матки кобылы



Катетер для нехирургического извлечения эмбрионов лошадей

## ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

## Режимы замораживания эмбрионов



## ПРИЛОЖЕНИЕ 3

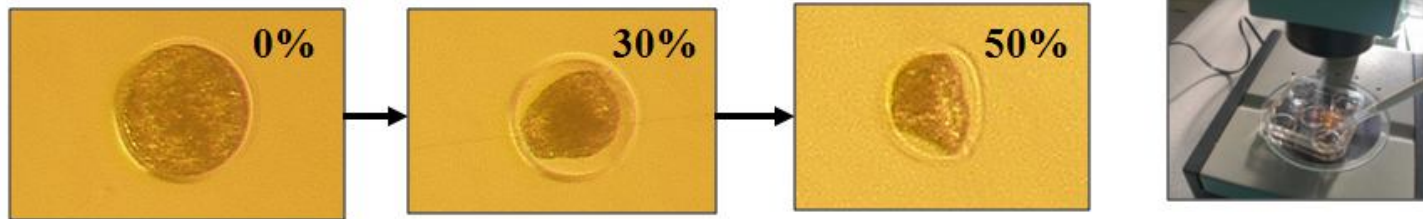
Программный замораживатель ЭМБИК конструкции  
конструкции Института биофизики клетки РАН (г. Пущино)



## ПРИЛОЖЕНИЕ И

## Процедура витрификации эмбрионов лошадей

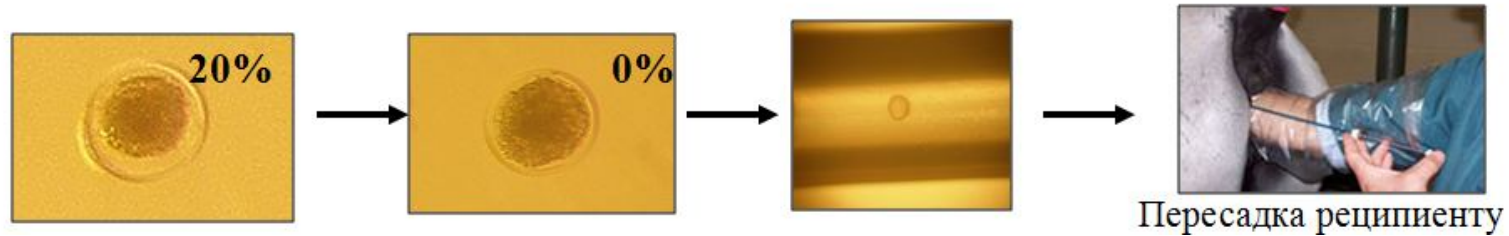
## 1. Насыщение эмбриона криопротектором



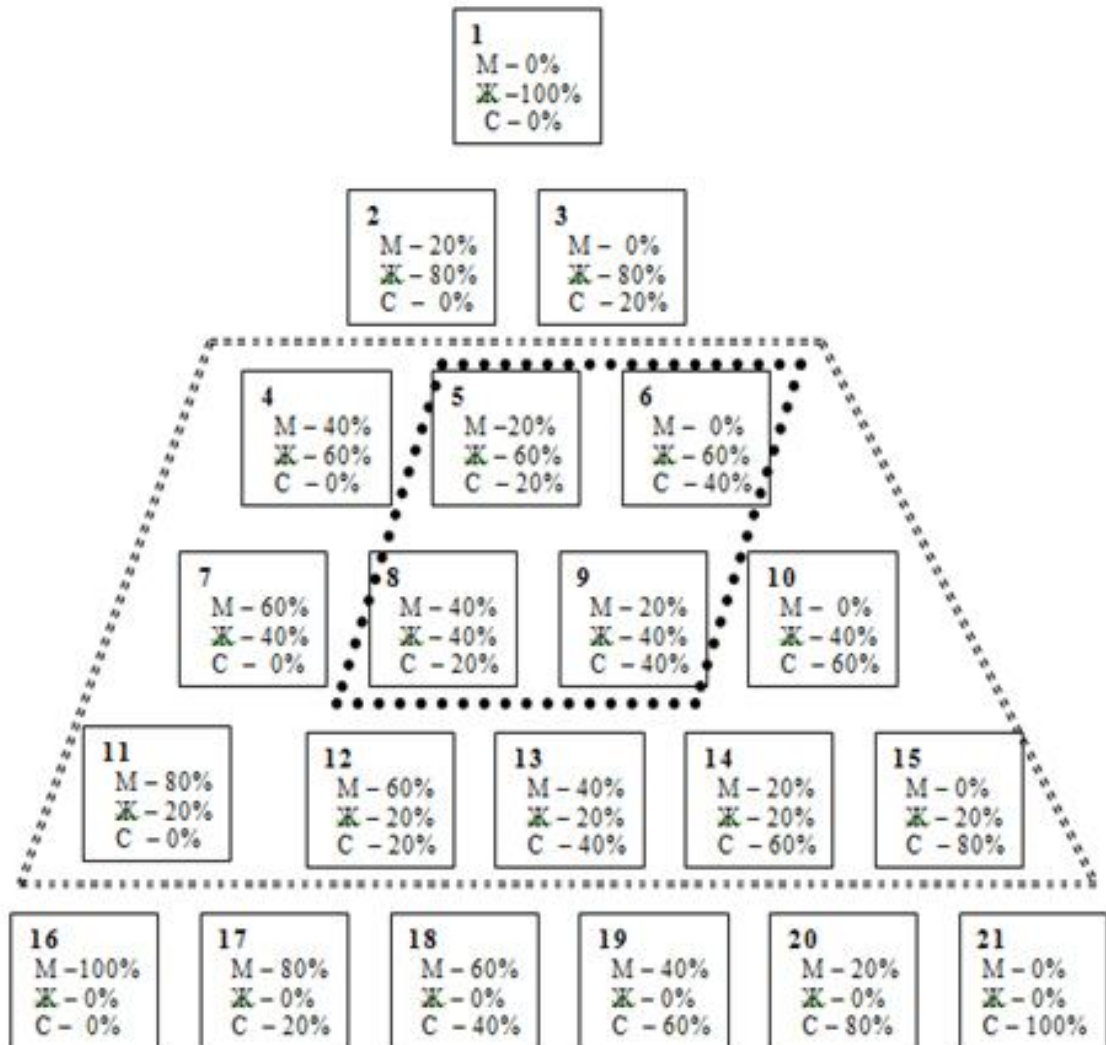
## 2. Заправка в соломинку, укупоривание, выдержка в парах азота и погружение в жидкий азот



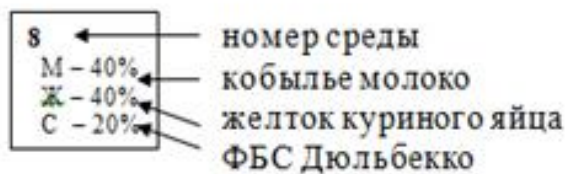
## 3. Размораживание соломинки и выведение криопротектора



ПРИЛОЖЕНИЕ К  
 Диаграмма Гиббса-Розебома



Обозначения:



- ..... «зона роста» эмбрионов  
 ..... варианты среды, обеспечивающие наивысшую интенсивность роста эмбрионов

## ПРИЛОЖЕНИЕ Л

Формирование плодных оболочек у лошадей по О.Л. Ginther [249 ]

