

ЗАПЛОДЯЕМОСТ НА МАЛАКИНИ ОТ ПОРОДАТА БЪЛГАРСКА МУРРА СЛЕД ПРИЛОЖЕНИЕ НА OVSYNCH ПРОТОКОЛ ПРЕЗ НЕРАЗМНОЖИТЕЛНИЯ СЕЗОН

Йорданка Илиева¹, Пенчо Пенчев¹, Иван Фасулков², Радена Ненова³, Наско Василев^{2*}

¹Селскостопанска академия, Земеделски Институт, Шумен

²Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет, Стара Загора

³Задочен докторант, Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет, Стара Загора

*Автор за кореспонденция: nasvas@abv.bg

Резюме

Целта на представеното проучване беше да се установи заплодяемостта на малакини от породата Българска Мурра, подложени на синхронизация на еструса чрез Ovsynch протокол през зимен сезон (м. януари). В експеримента бяха включени 12 животни на възраст 820-840 дни, живо тегло 450-470 kg с хормонално третиране както следва: Ден 0 – 100 µg GnRH, Ден 7 – 25 mg Dinoprost trometamol, Ден 9 – 100 µg GnRH и двукратно изкуствено осеменяване на 16-я и 24-я час след последната GnRH инжекция. Малакините бяха изследвани чрез трансректална ехография за определяне на яйчниковите структури в деня на изкуственото осеменяване и за доказване на ранна бременност на 35-я ден. На ден 22 след изкуствено осеменяване беше получена кръв за определяне на прогестерона в серума. При първоначалното ехографско изследване се установи наличие на жълто тяло в 58.33% (7/12) и фоликули с диаметър ≥ 10 mm в 41.67% (5/12) от случаите. Индикативни стойности на серумния прогестерон за бременност бяха регистрирани при 66.67% (8/12) от малакините. Бременност чрез ехографско изследване беше установена при 50.00% (6/12) от животните, съответно 16.67% (2/12) при малакините с жълто тяло и 33.33% (4/12) при налични фоликули с диаметър ≥ 10 mm. Тези резултати показват, че Ovsynch протоколът може успешно да се използва за предизвикване на еструс и заплождане на малакини през неразмножителния сезон.

Ключови думи: малакини, синхронизация на еструса, заплодяемост

Увод

Фермерите се сблъскват с предизвикателства при откриването на еструса, като при биволиците има тенденция да се увеличава относителния дял на тих еструс. Освен това, забавено настъпване на пубертета, сезонност, невъзможност за демонстриране на клинични признаци на еструс и големи вариации в продължителността на еструса възпрепятстват подобро им репродуктивно управление и генетичния прогрес (Abdalla, 2003).

Изкуственото осеменяване се доказва като важна репродуктивна биотехнология при размножаването на биволи, водеща до подобряване на генетичния потенциал и контрол на полово предаваните инфекции. Понастоящем изкуственото осеменяване с фиксирано време се прилага рутинно в репродуктивните програми в биволовдните ферми. Тези протоколи са предназначени да контролират както лутеалната, така и фоликуларната фаза на половия цикъл, позволявайки изкуствено осеменяване без откриване на еструс и постигане на задоволителна заплодяемост по време на неразмножителния сезон (Rabida and Gofur, 2017).

Третирането с гонадотропни хормони и простагландини оптимизират отделните фази на половия цикъл и целят синхронизиране на еструса и овулацията (De Rensis & Lopez-Gatius, 2007; Hammam et al., 2009). Протоколът Ovsynch приложен при биволици води до увеличаване процента на овулациите и подобрява заплодяемостта, когато се комбинира с фиксирано изкуствено осеменяване (Hoque et al., 2011).

При малакините пропускането на момента за заплождаване заради изпадането в сезонен анеструс оказва съществено негативно влияние върху рентабилността на фермите, предвид на особено високото икономическо тегло на признака възраст на първо омалачване (Peeva, 2000). Приложение на Ovsynch протокол има при малакини от различни породи, с постигнати добри резултати за процент предизвикан еструс и заплодяемост (Purohit et al., 2019; Wagan et al., 2019), но при малакини от породата Българска Мурра такива опити не са провеждани.

Цел. Проучване заплодяемостта на малакини от породата Българска Мурра след приложена синхронизация на еструса чрез Ovsynch протокол през неразмножителен (зимен) период.

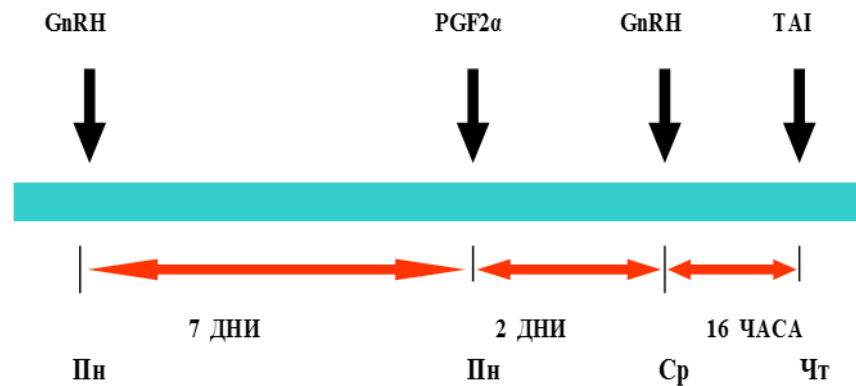
Материал и методи

Животни

В проучването бяха включени дванадесет малакини от породата Българска Мура. Животните се отглеждаха в биволовдна ферма при Земеделски институт, Шумен. Дажбата на биволиците се състоеше от концентриран фураж, люцерново сено, слама и постоянен достъп до вода. Биволиците бяха с живо тегло от 450 - 470 kg и възраст 820 – 840 дни.

Експериментален дизайн

По приложеният протокол Овсинх протокол както следва: бяха извършени следните третираня: ден 0 100 µg Ovarelin (Gonadorelin, Ceva Sante Animale, France), 7 ден 25 mg Enzaprost (Dinoprost trometamol, Ceva Sante Animale, France), 9 ден 100 µg Ovarelin (Gonadorelin, Ceva Sante Animale, France) и изкуствено осеменяването с фиксирано време 16 часа след последното третиране с GnRH (фиг. 1.). Всички третираня бяха извършени в 8.00 часа на съответния ден. Изкуственото осеменяване беше извършено от техник осеменител.



Фигура 1. Приложен Ovsynch протокол
Figure 1. Ovsynch protocol attached

Ултразвуково изследване

Ехографско изследване беше извършено с апарат SonoScape S2 Vet (SonoScape Co. LTD, Shenzhen, China), мултичестотна (7-12 MHz) линейна сонда и трансректален достъп беше извършено в ден 0 за регистриране образуванятия в яйчниците и ден 35-ти след програмираното изкуствено осеменяването за диагностика на бременността. Критерии за ранна бременност на 35-ия ден след фиксирано изкуствено осеменяване бяха визуализация на увеличен маточен лумен, анехогенна околоплодна течност и ехогенен ембрион.

Определяне стойностите на прогестерон в серум

На ден 11-ти и 22-ри след програмираното изкуствено осеменяване бяха получени кръвни проби за определяне на прогестерон в серум.

Определянето на серумните нива на прогестерон се извършваше с ELISA анализатор Huma Reader (HUMAN, Germany), като беше използван кит Progesterone EIA 96 TEST (Linear Chemicals, Spain). Тестът е конкурентно базирана „сандвич“ ELISA за количествено определяне на прогестерон в биологични течности. Ензимната активност се отчиташе фотометрично при дължина на вълната 450 nm на Huma Reader (HUMAN, Germany). От построената стандартна крива, оптичните плътности на изследваните проби бяха трансформирани в концентрации на прогестерон в ng/ml.

Статистически анализи

Резултатите в двете групи бяха обработени чрез компютърна статистическа програма Statistica 7 и сравнени чрез непараметричен метод. Разлики с $p < 0,05$ се считат за значими.

Резултати

Резултатите от изследваните показатели са отразени в таблица 1. При първоначалното ехографско изследване (ден 0) беше установено наличие на жълто тяло и фоликул с диаметър ≥ 10 mm в 58.33% (7/12) и само фоликул с диаметър ≥ 10 mm в 41.67% (5/12) в яйчниците на малакините.

Индикативни стойности (>1 ng/ml) на серумния прогестерон за настъпване на овулация на 11-я ден след програмираното изкуствено осеменяване (ПНО) бяха регистрирани при 83,33% от малакините. Ранна бременност на 22-я ден от ПНО посредством определяне стойностите на прогестерон в кръвен серум беше установена при 66,67 (8/12) от животните.

Таблица 1. Относителен дял на малакините с образуванията в яйчниците на ден 0, стойности на прогестерон (P4) на 11-я и 22-я ден след ПНО и ранна бременност на 35-я ден, въз основа на ехографски преглед

Table 1. Relative proportion of buffalo heifers with ovarian structures on day 0, progesterone values (P4) on days 11 and 22 after TAI and early pregnancy on day 35, based on ultrasound examination

Ехографска находка Ultrasound finding	% (n)	P4 на ден 11-ти след ПНО P4 on the 11th day after TAI > 1 ng/ml % (n)	P4 на ден 22-ри след ПНО P4 on the 22th day after TAI > 1 ng/ml % (n)	Бременност 35 дни след ПНО Pregnancy 35 days after TAI % (n)
Жълто тяло и фоликул Corpus luteum and follicle ≥ 10 mm	58.33% (7/12)	50.00% (6/12)	33.33% (4/12)	16.67% (2/12)
Фоликул Follicle ≥ 10 mm	41.67% (5/12)	33.33% (4/12)	33.33% (4/12)	33.33% (4/12)
Общо Total		83.33% (10/12)	66.67% (8/12)	50.00% (6/12)

Регистрираната заплодяемост при групата малакини с жълто тяло, беше съответно 16.67% (2/12) и 33.33% (4/12) при налични фоликули с диаметър ≥ 10 mm без статистически значима разлика. Обща заплодяемост от 50.00% (6/12).

Обсъждане

Третирането с GnRH на ден 0 и PGF2 α на Ден 7 индуцирана овулация на доминантния фоликул и регресия на жълтото тяло (CL), и съответно второто приложение на GnRH на Ден 9 контролира овулацията на новия доминиращ фоликул. Нарастването на LH на случаен етап от еструсния цикъл е предизвикан от приложението на GnRH, което впоследствие предизвика лутеинизация на преобладаващи фоликули (Hoque et al., 2011).

Оптималното време за стартиране на протоколите за синхронизация може да бъде установено чрез определяне на образуванията в яйчниците чрез ултразвук (De Rensis и López-Gatius, 2007). Наличието на доминиращ фоликул и активно жълто тяло (CL) определят до голяма степен резултатите от синхронизацията.

Установеният от нас процент за настъпили овулации след второто третиране с GnRH от 83,3% (10/12) се потвърждава от проведените изследвания на редица авторски колективи. Baruselli (2001) съобщават за индуциране на овулация при 70,0% от третираните биволи, Ноке et al. (2011) за 80,0% и 90,0% при прилагане на протокола Овсинх от Paul and Prakash (2005) и 93,3% овулация при проучването на Berber et al. (2002). В други предишни проучвания, Bridges et al. (2012) и Baruselli et al. (2003) установяват, че GnRH предизвиква овулация в 60% –86,0% от опитните крави и при 60,0% от следродилните биволици. В проучване, предназначено за отчитане ефекта от поредността на раждане върху ефикасността на протокола Ovsynch при биволи в Египет, Derar et al. (2012) регистрират овулация при всичките осем малакини след второто GnRH и при 88,8% от биволиците.

Постигната заплодяемост от 50.00% (6/12) при малакини е в границите на приемливата за този животински вид. Neglia et al. (2003) съобщават за 36% –57,0% заплодяемост при биволици третирани с различни протоколи за синхронзация, като Овсинх. В експеримент, използвайки Ovsynch протокол с фиксирано време за изкуствено осеменяване Rabida and Gofur (2017) в своето проучване при местни биволи от речен тип в Бангладеш отчитат 56,70% заплодяемост. В изследването на Berber et al. (2002) при кръстоски (Murrah x Средиземноморски биволи) и Bartolomeu et al. (2002) с бразилски биволи, отчетената заплодяемост била съответно 55,6% и 64,2% след програмирано изкуствено осеменяване, които са подобни на настоящото проучване. Причините за разликата в процента на реализираната заплодяемост въпреки приблизително еднаквите протоколи може да се дължи на разликите в породата и състоянието на заобикаляща среда. Сравнително висок процент на заплождаване при юниците от 62,5% (429/686), спрямо 22,7% (62/273) при биволски крави е бил регистриран от Derar et al. (2012). Berber et al. (2002) изразяват становището, че протокола Ovsynch е по-ефективен при раждали биволици, отколкото при малакини.

В зависимост от това дали са раждали или нераждали биволиците имат различна степен на маточен тонус и техните цервикси са били с различна проходимост. При раждалите цервикса е достатъчно отворен и лесен за катетиризиране по време на изкуственото осеменяване, докато при нераждалите се среща затруднение при част от животните (Ноке et al., 2014).

Размножителният сезон влияе на степента на заплождаване. Baruselli et al. (2007) и Warriach et al. (2008) съобщават, че репродуктивните показатели на биволи през размножителния сезон (есента и зимата) са по-добре представени, спрямо извън размножителния сезон. Serena (2010) намира, че през есента се реализира по-висока заплодяемост в сравнение с пролетта, при прилагане на протокол Ovsynch с програмирано изкуствено осеменяване на Средиземноморски Италиански биволици.

Изводи

Използваният Ovsynch протокол с фиксирано време на изкуствено осеменяване води до успешно заплождаване на малакини от породата Българска Мурра в неразмножителен (зимен) сезон и може успешно да се прилага за преодоляване на сезонния анеструс при младите

животни, навлизащи в разплодна възраст и съответна кондиция през зимния сезон. По-добър резултат се получава при хормонално третиране на животни с размер на фоликула ≥ 10 mm.

Благодарност

Изследванията, довели до тези резултати са финансирани по Национална научна програма „Репродуктивните биотехнологии в животновъдството в България (ННП РЕПРОБИОТЕХ)“ № 0406-105 на Министерството на образованието и науката на Република България.

Conception rate in Bulgarian Murrah heifers after application by Ovsynch protocol during non breeding season

Yordanka Ilieva, Pencho Penchev, Ivan Fasulkov, Radena Nenova, Nasko Vasilev

Abstract

The experiment assigned 12 animals at 820-840 days of age and live weight of 450-470 kg, the hormonal treatment scheduled as follows: Day 0 – 100 µg GnRH, Day 7 – 25 mg Dinoprost trometamol, Day 9 – 100 µg GnRH followed by double artificial insemination (AI) 16 and 24 hours after the final GnRH injection. Transrectal echography was applied to the heifers to establish ovarian structures at the moment of insemination and to early diagnose pregnancy on the 35-th day after AI. On the 7-th and 22-nd day post AI, blood samples were taken to test the serum level of progesterone. The initial ultrasound exam detected corpus luteum (CL) in 58.33% (7/12) and ovarian follicles of ≥ 10 mm in diameter in 41.67% (5/12) of the cases. Levels of serum progesterone diagnostic for gestation were registered in 66.67% (8/12) of the heifers. Pregnancy was echographically diagnosed in 50.00% (6/12) of the animals, respectively in 16.67% (2/12) of the heifers with formed CL and in 33.33% (4/12) of those with follicle of ≥ 10 mm. These results show that the Ovsynch protocol can be successfully used for out-of-season estrus induction and breeding of buffalo heifers.

Key words: *buffalo heifers, estrus synchronization, conception rates*

Литература

Abdalla, E.B. (2003): Improving the reproductive performance of Egyptian buffalo cows by changing the management system. Anim Reprod Sci, 75: 1–8.

Bartolomeu, C.C., A.J.M. Del Rei, E.H. Madureira, A.J. Souza, A.O. Silva, P.S. Baruselli (2002): Timed insemination using synchronization of ovulation in buffaloes using CIDR-B, CRESTAR and Ovsynch. Animal Breeding, 70:332.

Baruselli, P.S., N.A.T. Carvalho, L.U. Gimenes, G.A. Crepaldi (2007): Fixed-time artificial insemination in buffalo. Italian Journal of Animal Science., 6 (2):107-118.

Baruselli, P.S., N.A.T. Carvalho, C.E.P. Henriquez, R. Amaral, M. Nichi, R.H. Reichert. (2003): Use of progesterone associated to “Ovsynch” protocol for timed artificial insemination in buffalo

(Bubalus bubalis). In: Proceedings of the II Congresso Nazionale sull’Allevamento del Bufalo. Rome, Italy, 265–268.

Baruselli, P.S. (2001): Control of follicular development applied to reproduction biotechnologies in buffalo. In: Proceedings of the I Congresso Nazionale sull’Allevamento del Bufalo. Eboli, Italy, 128–146.

Berber, R.C., E.H. Madureira, P.S. Baruselli (2002): Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (Bubalus bubalis). Theriogenology, 57:1421–30.

Bridges, D., S. Lake, R. Lemenager, M. Claeys (2012): Timed Artificial Insemination in Beef Cows: What are the Options? West Lafayette, IN, USA: Purdue University Cooperative Extension Service.

Derar, R., H.A. Hussein, S. Fahmy, J.M. El-Sherry, G. Megahed (2012): The effect of parity on the efficacy of an ovulation synchronization (Ovsynch) protocol in buffalo (Bubalus bubalis). Anim. Reprod., 9:52–60.

De Rensis F., F. López-Gatius (2007): Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (Bubalus bubalis): a review. Theriogenology, 67: 209–216.

Hammam, D.M., A. O. Hegab, W. Scott, K.M. Ibrahim (2009): Improvement of fertility in Egyptian buffaloes during summer season using different protocols for estrus synchronization. Mansoura Vet. Med., 1: 1–12.

Hoque, M.N., A. K. Talukder, M.M. Kamal, A.K. Jha, F.Y. Bari, M. Shamsuddin (2011): Ovulation synchronization in water buffaloes guided by milk progesterone assay. J. Embry. Trans., 26:105–109.

Hoque, M.N., A. K. Talukder, M. Akter, M. Shamsuddin (2014): Evaluation of ovsynch protocols for timed artificial insemination in water buffaloes in Bangladesh. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 38: 418–424.

Neglia, G., B. Gasparini, R.D. Palo, C.D. Rosa, L. Zicarelli, G. Campanile (2003): Comparison of pregnancy rates with two estrus synchronization protocols in Italian Mediterranean Buffalo cows. Theriogenology, 60: 125–133.

Serena D.F. (2010): Effect of season on reproductive performances in buffalo species (Bubalus bubalis). PhD Thesis. The University of Naples Federico II, Italy.

Paul, V., B. Prakash (2005): Efficacy of the Ovsynch protocol for synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in Murrah buffaloes (Bubalus bubalis). Theriogenology, 64 (5):1049–60.

Peeva, Tz. (2000): Optimized methods of selection in buffaloes. Dr. Agric. Sci. Dissertation, 320 (Bg).

Purohit, G.N., P. Thanvi, M. Pushp, M. Gaur, C.S. Saraswat, A.S. Arora, S.P. Pannu, T. Gocher (2019): Estrus synchronization in buffaloes: Prospects, approaches and limitations. The Pharma Innovation Journal, 8 (2): 54–62.

Rabida S.K., M.R. Gofur (2017): Synchronization of Estrus Using Ovsynch Protocol and Fixed Timed Artificial Insemination (FTAI) in Indigenous Dairy Buffaloes: An Effective Buffalo Breeding Program in Bangladesh. *Asian Journal of Biology*, 2 (1): 1-8.

Wagan, S.A., A.A. Memon, Q. Kalwer, R.A. Korejo, T.A. Khokhar , Z.A. Khoso, M.H. Mangi, W.A. Vistro (2019): Efficacy of Estrous Synchronization protocols ovsynch and cosynch in kundhi buffalo heifers. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, Volume 12, Issue 2 Ser.

Warriach, H.M., A.A. Channa, N. Ahmad (2008): Effect of oestrus synchronization methods on oestrus behaviour, timing of ovulation and pregnancy rate during the breeding and low breeding seasons in Nili-Ravi buffaloes. *Anim. Reprod. Sci.*, 107: 62-67.