

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

**РЕПРОДУКТИВЕН ОТГОВОР ПРИ ПЪРВОТЕЛКИ
И МНОГО РАЖДАЛИ БИВОЛИЦИ ОТ ПОРОДАТА
БЪЛГАРСКА МУРРА С ОВАРИАЛНА ХИПОФУНКЦИЯ
СЛЕД ПРИЛОЖЕНИЕ НА GnRH-PGF2 α -GnRH ТЕРАПИЯ**

АНАТОЛИ АТАНАСОВ

Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет - Стара Загора

Популацията на домашния бивол в световен мащаб прогресивно се увеличава (Barile, 2005). Подобна тенденция се забелязва и в нашата страна, но темповете на нарастване са значително по-бавни (Бюлетин Агростатистика, 2014).

Ниската репродуктивна ефективност обуславя продълг период за възпроизвеждане на този животински вид. Една от основните причини за това е проявата на следродилен анеструс, при който липсва изява на естрално поведение и овулация за значителен период от време (El-Wishy, 2007).

Много изследвания, третиращи репродуктивните смущения при биволицата, сочат овариалната хипофункция като основен фактор за проява на следродилен анеструс, допринасящ в най-голяма степен за безплодието при този вид (Rahman et al., 2012).

Според Ghoneim et al. (1999) липса на овариална активност се регистрира при 36% от анестралните биволици в периода от 45-ия до 240-ия ден след раждането. Shah et al. (2010) съобщават за това патологично състояние при 61.4% от биволиците без естрална изява през лятото. У нас Пранджев (1960) регистрира яйчниковата хипофункция при 56.6% от изследваните биволици с репродуктивни смущения.

Според Nam (2010) основна роля за нейната проява оказват фактори като сезон на отелване, маточна инволюция, наличие на бозаещо малаче, млечна продуктивност, ниво на хранене, телесно състояние при раждане и др.

Ефективният подход при терапия на овариалната хипофункция при биволицата изисква внедряване на съвременни репродуктивни технологии, даващи възможност за своевременно откриване и третиране на засегнатите животни и изкуственото им осеменяване с ценни в генетично отношение мъжки разплодници (Karen et al., 2010).

Терапията на заболяването при биволицата включва различни хормонално базирани схеми (Shah et al., 2010, Yendraliza et al., 2011, Azawi et al., 2012). В литературата се срещат единични съобщения за терапия на биволици от породата Българска Мурра (Yotov et al., 2012).

Информацията за влиянието на броя на предходните раждания върху репродуктивния отговор на биволици с овариална хипофункция след GnRH-PGF2 α -GnRH третиране, е твърде оскъдна.

Целта на настоящото изследване беше да се проучи репродуктивният отговор на първотелки и много раждали биволици от породата Българска Мурра с овариална хипофункция след използване на GnRH-PGF2 α -GnRH (OvSynch) терапия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В проучването бяха включени 45 биволици от породата Българска Мурра с живо тегло от 460 до 620 kg на възраст от 4 до 9 години, телесна оценка 3-4 по скалата, определена от Edmonson et al. (1989). Всички животни бяха без клинични признаци на ендометрит и регистрирана проява на еструс след раждането.

Дажбата на биволиците се състоеше от 5 kg концентриран фураж за лактиращи животни, 2 kg бирена каша, пшеничена слама и те разполагаха с 6 h контролирана паша. Животните имаха постоянен достъп до вода. Проучването беше проведено в периода от м. август до м. ноември.

Биволиците бяха подложени на двукратен трансректален ехографски преглед на матката и яйчниците през интервал от 10 дни. За целта беше използван ехографски апарат SonoScape A5 Vet (SonoScape Co. LTD, Shenzhen, China) и мултичестотен (7-12 MHz) линеарен трансдусер.

Диагнозата овариална хипофункция се базираше на визуализация на фоликули с диаметър <10mm и отсъствие на функционално жълто тяло (CL) при последователните ехографски изследвания.

Сформирани бяха две групи според броя на предходните раждания - I група (първотелки; $n=21$) и II група (много раждали, със среден брой раждания 3.2 ± 1.1 ; $n=24$).

Третирането в двете групи беше извършено по идентична схема. На ден 0 беше инжектиран интрамускулно 100 μ g GnRH аналог (Gonavet Veux[®], Veux-Pharma

GmbH Soehreweg, Schwarzenborn, Germany). На седмия ден беше аплициран интрамускулно 500µg PGF_{2α} (Cloprostenol, Veux® forte, Veux-Pharma GmbH Soehreweg, Schwarzenborn, Germany), а 48 h след това се прилагаше с 1500 IU hCG (Chorulon®, MSD, Animal Health).

Всички биволици бяха изкуствено осеменени на 16-ия и 25-ия час след hCG инжекцията. Използвана беше криоконсервирана семенна течност под формата на пайети, произхождаща от сартифициран биволски бик.

Непосредствено преди изкуственото осеменяване чрез ехографския метод бяха отчетени местоположение и диаметърът на най-големия фоликул. Регистрирани бяха и клиничните признаци на еструс - повишен тонус на маточната стена, наличие на естрален секрет и добра проходимост на маточната шийка (Loeffler et al., 1999).

Седем дни след изкуственото осеменяване беше проведено изследване за доказване на овулация. Като критерий за настъпила овулация се приемаше визуализацията на жълто тяло в яйчника с наблюдаван при предходния преглед преовулаторен фоликул.

Ехографска диагностика за ранна бременност беше направена на 35-тия ден след осеменяването. Тя се базираше на доказването на увеличен маточен лумен, изпълнен с анехогенна околоплодна течност и наличие на ехогенен ембрион.

След обработка на данните бяха изчислени средните диаметри на най-големите фоликули в началото на терапията и деня на изкуствено осеменяване, относителният дял (%) на биволиците с клинични признаци на еструс, на животните с настъпила овулация и на бременните биволици. Данните бяха обработени статистически чрез

компютърна програма Statistica 6.0 (Microsoft corp. Ink 1990-1995), а разликите приемани за достоверни при $P < 0.05$.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Получените резултати от експеримента са отразени в табл. 1.

В началото на терапията (ден 0) средните диаметри на най-големите фоликули при биволиците от I и II група, бяха съответно 5.41 ± 2.07 и 6.31 ± 2.01 mm, но без статистически достоверна разлика. Подобна находка при ациклически биволици е установена от **Karen et al.** (2010) и **Yotov et al.** (2012). **Derar et al.** (2012) съобщават за по-голям размер (5-8 mm) на фоликула в началото на терапията, но при биволици със запазена половоциклична дейност.

В деня на осеменяването средният диаметър на преовулаторния фоликул при биволиците от I група (11.78 ± 1.81 mm) беше достоверно ($P < 0.05$) по-малък, в сравнение с регистрирания (13.47 ± 2.35 mm) във II група. Подобна разлика ($P < 0.05$) в двете опитни групи беше доказана след сравняване размера на фоликулите при старта на терапията и непосредствено преди осеменяването. В съответствие с получените данни **Derar et al.** (2012) също установяват статистически значима разлика между размерите на преовулаторните фоликули между малакини и много раждали биволици. Вероятни причини за разликата в размера на фоликулите могат да бъдат по-високите енергийни нужди при по-младите биволици, свързани с обезпечаване на млекообразуването и все още незавършилия растеж (**Yotov et al.**, 2013)

Таблица 1. Репродуктивен отговор на първотелки и много раждали биволици с овариална хипофункция след GnRH-PGF2α-GnRH терапия

Table 1. Reproductive response primiparous and multiparous buffaloes with ovarian inactivity after GnRH-PGF2α-GnRH терапия

Репродуктивен отговор	Групи		P - нива
	I (n= 21)	II (n= 24)	
Среден диаметър на най-големия фоликул, mm			
Начало на третирането	5.41 ± 2.07^a	6.31 ± 2.01^a	0.14
Ден на осеменяване	11.78 ± 1.81^b	13.47 ± 2.35^c	0.01
Клинични признаци на еструс %, n			
Повишен тонус на маточна стена	100 (21/21)	95.8 (23/24)	0.22
Естрални изтечения	66.7 (14/21)	62.5 (15/24)	0.39
Добра проходимост на маточната шийка	71.4 (15/21)	70.8 (17/24)	0.47
Репродуктивен отговор %, n			
Овулирали животни	81 (17/21)	75.0 (18/24)	0.31
Бременни животни	38.1 (8/21)	33.3 (8/24)	0.36

^{abc} Стойностите за един и същ показател в колоната или редицата, обозначени с различни букви се различават при $P < 0.05$

Относителният дял на третираните биволици с повишен маточен тонус, естрални изтечения и добра проходимост на цервикса при I група беше съответно 100%, 63.6% и 71.4%. При животните във II група стойностите на горепосочените показатели бяха 95.8%, 62.5% и 70.8%. Статистически достоверна разлика обаче липсваше. Резултатите относно клиничната изява на еструс са близки до установените от **Yotov et al.** (2012).

На 7-ия ден след осеменяването овулацията беше потвърдена при 81% и 75% от биволиците, съответно в I и II група. За разлика от нас **Karen et al.** (2010) съобщават за настъпила овулация едва при 30% и 60% от ацикличните малакини и много раждали биволици, подложени на същата терапия. Това вероятно се дължи на сезонното влияние. Тяхното проучване е проведено през лятото, когато температурата на околната среда е много по-висока и овулацията е потисната.

При изследването за бременност относителният дял на бременните биволици от двете опитни групи беше съответно 36.4% за първотелки и 33.3% за много раждали животни. Значително по-ниски стойности са посочени от **Karen et al.** (2010), докато **Yotov et al.** (2012) установяват близки до констатираните в представения опит резултати, без обаче да отчитат влиянието на броя на предходните раждания.

ИЗВОДИ

GnRH-PGF2 α -GnRH (Ovsynch) терапията на биволици с овариална хипофункция обуславя пълноценен репродуктивен отговор с клинична проява на естрални признаци, индукция на овулация и последващо заплъждане.

Предовулаторният фоликул при многораждалите биволици в деня на изкуствено осеменяване е достоверно ($P < 0.05$) по-голям от този при първотелките.

Използваната хормонална терапия може да се прилага с успех за лекуване на овариална хипофункция при много раждали биволици и първотелки от породата Българска Мурра.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Бюлетин Агростатистика**, 2014. <http://www.mzh.government.bg/MZH/Libraries>
- Пранджев, И.**, 1960. Проучвания на половата дейност и безплодието у биволиците. София, Дисертационен труд, 135–140.
- Azawi, O.I., M.D. Ali, S.A. Oday, A. Salih, A.S. Al-Hadad, S.J. Mouayad, A.S. Abdul-Hussien**, 2012. Comparative efficacy of different CIDR protocols for the treatment of postpartum anoestrous in Iraqi buffaloes. *Vet. World* 5: 201–205.
- Barile, V.L.**, 2005. Improving reproductive efficiency in female buffaloes. *Livestock Prod. Sci.*, 92: 183–194.
- Derar, R, H. A. Hussein, S. Fahmy, T. 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.
- Edmonson, A. J., I. J. Lean, L. D. Weaver, T. Farver, G. Webster**, 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 68–78.
- El-Wishy, A. B.**, 2007. The postpartum buffalo II. Acyclicity and anoestrus. – *Anim. Reprod. Sci.* 97: 216–236.
- Ghoneim, I. M., M. I. Tayesser, M. S. S. Abdou**, 1999. Assessment of ovarian activity in postpartum buffalo by use of milk progesterone assay. – *J. Egypt. Vet. Med. Assoc.* 59: 757–767.
- Karen, A. M., S. A. Darwish**, 2010. Efficacy of Ovsynch protocol in cyclic and acyclic Egyptian buffaloes in summer, *Anim. Reprod. Sci.* 119: 17–23.
- Loeffler, S. H., M. J. Vries, Y. H. Schukken, A. C. Zeeuw, A. A. Dijkhuizen, F. M. Graaf, A. Brand**, 1999. Use of AI technician scores for body condition, uterine tone and uterine discharge in a model with disease and milk production Parameters to predict pregnancy risk at first AI in Holstein dairy cows. *Theriogenology* 51: 1267–1284.
- Nam, N. H.**, 2010. Characteristics of reproduction of the water buffalo and techniques used to improve their reproductive performance. *J. Sci. Dev.* 8: 100–110.
- Rahman, M. S., A. S. Shohag, M. M. Kamal, N. Parveen, M. Shamsuddin**, 2012. Application of ultrasonography to investigate postpartum anoestrus in water buffaloes. *Reprod. Dev. Biol.* 36: 103–108.
- Shah, S. K., T. Nakao**, 2010. A clinical study of anoestrus buffaloes in southern Nepal. – *J. Repr. Devel.* 56: 208–211.
- Yendraliza, Z., B. P. Udin, Z. Jaswandi, C. Arman**, 2011. Effect of combination of GnRH and PGF2 α for estrus synchronization on onset of estrus and pregnancy rate in different postpartum swam buffalo in KAMPAR regency. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 36: 8–13.
- Yotov, S. A., A. S. Atanasov**, 2013. Ultrasonographic Determination of Follicle Development and Resumption of Ovarian Activity in Postpartum Bulgarian Murrah Buffaloes during the Breeding Season. *Animal Vet. Sci.* 5: 36–41.
- Yotov, S., A. Atanasov, Y. Ilieva**, 2012. Therapy of ovarian inactivity in postpartum Bulgarian Murrah buffaloes by PRID and Ovsynch estrus synchronization protocols. *Asian Pacific J. Reprod.*, 1 (4): 293–299.
- Zaabel, S. M., A. O. Hegab, A. E. Montasser, H. El-Sheikh**, 2009. Reproductive performance of anoestrous buffaloes treated with CIDR. *Anim. Reprod.* 6: 460–464.

REPRODUCTIVE RESPONSE OF PRIMIPAROUS
AND MULTIPAROUS BUFFALOES OF BULGARIAN MURRAH BREED
WITH OVARIAN INACTIVITY AFTER GnRH-PGF₂ α -GnRH THERAPY

A. Atanasov*

Thrakia University, Faculty of Veterinary Medicine - Stara Zagora

The aim of the present study was to determine the reproductive response of primiparous and multiparous buffaloes of Bulgarian Murrha breed with ovarian inactivity after GnRH-PGF₂ α -GnRH (OVSYNCH) therapy. The study was carried out on 45 Bulgarian Murrha buffaloes without detected clinical estrus from parturition until therapy. The study was conducted during the period from August to November.

The diagnose inactive ovaries was based on the absence of large dominant follicle and corpus luteum, on the two consecutive transrectal ultrasound examinations, which were done 10 days apart.

The buffaloes were assigned to two groups - I Group (primiparous; $n=21$) and II Group (multiparous; $n=24$). Buffaloes in Group I received intramuscular injections of 100 μ g GnRH analogue on the 0 day (day of the second ultrasound examination), 500 μ g PGF_{2 α} analogue on the 7th day and 1500UI hCG on the 9th day. All buffaloes were artificially inseminated twice on 16th and 25th hours after hCG injection. Before the artificial insemination the two groups were subjected to transrectal ultrasound examination and the mean diameter of the largest follicle was determined. In both Groups the clinical signs of oestrus – uterine tone, presence of cervical mucus and ease of cervical passage were defined.

Ovulation was confirmed by ultrasound examination of the ovaries on the 7th day after end of the treatment, by visualization of corpus luteum periodicum. The ultrasound pregnancy check was carried out on the 35th day after insemination, and pregnancy rate was determined in the two groups.

The mean diameters of the largest follicle at the beginning of the experiment (day 0) in Group I and II were 5.41 \pm 2.07 and 6.31 \pm 2.01mm respectively and didn't differ significantly. On the 10th day buffaloes in Group II had bigger follicle (13.47 \pm 2.35mm) compared to the initially found on day 0 ($P<0.05$) and to the animals in Group I (11.78 \pm 1.81mm) ($P<0.05$) on the same period. Such a difference was recorded in the Group I on the 0 and the 10th day of therapy.

Pronounced uterine tone, presence of cervical mucus and good cervical passage were observed in 100%, 63.6% and 71.4% in Group I and in 95.8%, 62.5% and 70.8% in Group II respectively. Ovulation was confirmed in 81% and 75% of buffaloes in Group I and Group II. Pregnancy rate was 36.4% in Group I and 33.3% in Group II.

Implementation of GnRH-PGF₂ α -GnRH (OVSYNCH) therapy to primiparous and multiparous Bulgarian Murrha buffaloes with ovarian inactivity conducted qualitative reproductive response, which is followed by resumption of ovarian activity, ovulation and successful conception. This protocol could be used successfully for treatment of buffaloes with the above mentioned disease.

Key words: buffaloes, anestrus, ovarian inactivity, ovsynch

*Corresponding author: a_stefanov@mail.bg