

ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

ИНДУЦИРАНЕ НА ЕСТРУС
ПРИ МЕСТНИ ПОРОДИ МАГАРИЦИ СЛЕД ТРЕТИРАНЕ
С GnRH И hCGНАСКО ВАСИЛЕВ, АНАТОЛИ АТАНАСОВ, АНТОН АНТОНОВ,
ИВАН ФАСУЛКОВ, АКСЕЛ ВЕРЕНД*

Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет-Стара Загора,

*Клиника по акушерство, гинекология и андрология на едрите и дребни животни, Юстус-
Либих, Гисен, Германия

Управлението на размножителния процес при магариците е предизвикателство, защото проучванията по този въпрос са ограничени (**Ginther et al.**, 1982; **Blanchard et al.**, 1999). През годините се наблюдава повишен интерес в областта на репродукцията при магариците. Асистираните репродуктивни технологии са важни за запазване на вида, включително хормоналното третиране за предизвикване на еструс и овулация, както и за последващо размножаване. Спонтанната овулация настъпва непредсказуемо по време на еструса. Възможностите за индуциране и ускоряване са важни за репродуктивния мениджмънт при еднокопитните. При прилагането на репродуктивните техники, като изкуствено осеменяване със замразена семенна течност и *in vitro* оплождане, синхронизирането на еструса и овулацията са изключително важни за постигане на успешно заплождане. Замразената семенна течност е в малки дози и специалистите могат да използват само една осеменителна доза по време на еструса. При това овулацията трябва да е индуцирана и осеменяването да се извършва в определено време (**Duchamp et al.**, 1987; **Barbacini et al.**, 2000). В допълнение, индуцирането на овулация трябва да се извършва и

при синхронизиране на донорите и реципиентите при трансфер на ембриони (**Barrier-Battur et al.**, 2001).

Различни хормонални препарати могат да бъдат използвани за индуциране на овулацията, включително човешки хорион гонадотропин (hCG), непречистен конски гонадотропин (CEG) и гонадотропен релизинг хормон (GnRH). Най-често е използван човешкият хорион гонадотропин (hCG) при проучвания, извършени с цел установяване на неговата ефективност за индуциране на овулацията при циклиращи кобили (**Voss et al.**, 1975; **Michel et al.**, 1986; **Blanchard et al.**, 2001; **McCue, et al.**, 2007). **Barbacini et al.** (2000) установяват, че над 90% от овулациите настъпват до 48 часа след третирането с 2 000 IU hCG, при регистриран нарастващ фоликул с диаметър не по-малко от 35 mm. При 75% от кобилите овулация е настъпвала между 25-ия и 48-ия час след третирането. Авторите изказват хипотеза, че резултатите от третирането с hCG са в зависимост от репродуктивния статус и възрастта на кобилите. В друго проучване **Sieme et al.** (2003) регистрират овулация до 48-ия час при 97.5% от кобилите, третирани с 1 500 UI hCG

при диаметър на нарастващия фоликул >40 mm. Интервалът между третирането с hCG и овулацията не е статистически значимо повлиян от репродуктивния статус или възрастта на кобилите, но е зависим от годишния сезон (овулацията настъпва по-рано през пика на физиологичния размножителен сезон). **Camillo et al.** (2004) също публикуват подобни резултати. Те установяват, че при 97.6% от кобилите овулацията настъпва до 48-ия час след третирането при диаметър на фоликула >32 mm и доза 2 500 UI hCG венозно.

Voss et al. (1975) докладват, че повторното прилагане на hCG може да стимулира образуването на антитела, които да доведат до понижаване ефективността от последващите синхронизации на кобилите.

Irvine et al. (1975) предлагат гонадотропният релизинг хормон (GnRH) да се използва като алтернатива на hCG за индуциране на овулацията. През годините са проведени множество опити за индуциране на овулацията след третиране с гонадотропен релизинг хормон (**Barrier-Battut et al.**, 2001; **McCue et al.**, 1991; **Squires et al.**, 1994). Извършените проучвания обаче показват незадоволителни резултати след третиране с GnRH или неговите аналози еднократно или продължително при циклиращи кобили. При едно проучване за индуциране на овулацията са били получени добри резултати (**Irvine et al.**, 1975), а при други - непотвърдителни (**Duchamp et al.**, 1987; **Vidament et al.**, 1992). **Lindholm et al.**, (2010) извършват сравнително проучване на десторелин и бусерелин при циклиращи кобили за индуциране на овулацията. Авторите установяват, че двата GnRH прапарата могат да се използват при кобилите, като овулацията настъпва до 48-ия час след третиране.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В проучването бяха включени 15 магараци, на възраст от 4 до 16 години и живо тегло 180-210 kg. През зимните месеци животни-

те бяха отглеждани в затворени помещения, а през летните - на пасище, с постоянен достъп на вода. Наблюденията за установяване на признаците на еструс се извършваха ежедневно с помощта на магарешки жребец. След регистриране на първите признаци на еструс, нарастването на фоликулите се проследяваше чрез серийни ехографски изследвания, извършвани с ехографски апарат Aloka SSD 500 Micrus (Tokyo, Japan), линейна сонда с честота 5 MHz и трансректален достъп. Сканиранията се провеждаха един път дневно, а при достигане диаметър на фоликула >30 mm – през 6 h до настъпване на овулацията. През посочения период бяха проследени 21 еструсни цикъла.

Животите бяха разпределени в три групи. В I група магарците бяха третирани еднократно мускулно с доза от 100 µg GnRH (Ovarelin, Ceva Animal Health, UK), а във II – еднократно венозно с 2 500 UI hCG (Chorulon, Intervet, Nederland) при диаметър на фоликула ≥30 mm. Животните от III група (контролна) не бяха третирани и се проследяваше спонтанното настъпване на овулацията.

Получените резултати за диаметър на фоликула преди третиране и при последното изследване бяха обработени статистически посредством компютърна статистическа програма StatSoft (Microsoft Corp. 1984-2000 Inc.). Използвани бяха опциите ANOVA и непараметричен анализ за сравнение на пропорции, посредством *t*-критерия на Student. Данните са представени чрез средни стойности и тяхното отклонение.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Данни за средните диаметри на фоликулите по време на третиране и при последното изследване преди овулацията при отделните групи са показани в табл. 1. Регистрира се статистически значима разлика ($P < 0.001$) за средните стойности на диаметъра на фоликулите при последното изследване между контролната и опитните групи.

Таблица 1. Среден размер на фоликула при третиране и при последното изследване преди овулацията при опитните и контролните магарици
 Table 1. Mean follicle size at treatment and during the last examination prior to ovulation in experimental and control jennets

Група	Брой животни	Еструсни цикли	Диаметър на фоликула при третиране	Диаметър на фоликула при посл. изследване
Третирани с GnRH	6	8	33.4±1.23	38.4±1.72*
Третирани с hCG	6	8	33.1±1.19	37.9±1.44 *
Контролна	3	5	32.7±1.38	43.2±1.93

*Статистически достоверна разлика спрямо контролната група при $P < 0.001$

Третирането с препарати за индуциране на овулацията не води до статистически значими разлики по отношение продължителността на интервала от третирането до настъпването на овулацията (44 h за GnRH групата, спрямо 43 h за hCG групата). **Duchamp et al.** (1987) докладват за 40% и 84% овулация до 48-ия час при кобили, третирани с единична доза на GnRH и hCG, съответно. **Camillo et al.** (2004) получават подобни резултати, а именно че двукратно дневно третиране с GnRH-агонист води до по-продължителни интервали от третиране до настъпване на овулацията, сравнено с прилагането на hCG (75 h, спрямо 47 h, съответно).

Времето от третирането до настъпването на овулацията при третираните групи беше приблизително еднакво, съответно 44.3 ± 10.4 h за GnRH групата и 42.8 ± 11.0 h за hCG групата. Основната цел на индуцирането е точно предсказване на времето за настъпване на овулацията, разликите между групите са вариабилни във времето. Не са регистрирани статистически разлики между отделните групи. При този вид животни е добре да се използва човешки хорионгонадотропин, защото покрива критерия - индуциране на овулацията.

Действително тя настъпва до 48-ия час при 87.5% (hCG) от третираните магарици (табл. 2), което е в съответствие с резултатите, докладвани от **Camillo et al.** (2004) при проучвания, извър-

шени с кобили. Резултатите от изследването на **Carluccio et al.** (2007) показват, че ефективността от прилагането на лицерилин (GnRH-аналог) за индуциране на овулацията са в зависимост от размера на фоликула при третирането и не е установена статистически значима разлика при третиране с hCG. Обаче, когато се извършва съпоставка между третираните магарици и тези от контролната група се установява висока, статистически достоверна, разлика между тях.

Carluccio et al. (2006) докладват, че при магариците процентът на овулацията до 36-ия час е бил значим и зависим от диаметъра на фоликула в деня на инжектирането. В действителност 78% от магариците с диаметър на фоликула по-голям от 41 mm овулират до 36-ия час, в сравнение само при 31% от животните с диаметър на фоликула между 36 и 40 mm по време на третирането е настъпила овулация. Размерът на фоликула е от значение за продължителността на интервала от третирането до настъпването на овулацията. Този интервал корелира отрицателно с диаметъра на фоликула, установено е, че малките фоликули изискват продължително време, за да достигнат до овулацията в сравнение с големите фоликули. Това е в съответствие и с резултатите, получени при следващи проучвания при магарици, когато е установен по-къс интервал от третирането до настъпването на овулацията при диаметър на фо-

Таблица 2. Разпределение на овулациите след третиране за индуциране на овулация при опитните и контролните магарици

Table 2. Distribution of post treatment ovulations in experimental and control jennets

Група	Овулация между 25-48-ия час	Овулация до 48-ия час
Третирани с GnRH	5/8-62.5%	6/8-75.0%
Третирани с hCG	6/8-75.0%	7/8-87.5%
Контролна	0/5-0 %	1/5-20.0%

ликула >41 mm в сравнение с малки фоликули, регистрирани по време на прилагането на 2 500 UI hCG (Carluccio et al., 2007).

При нашите изследвания магариците, третирани с GnRH-аналог или човешки хорионгонадотропин имат значително по-малък среден диаметър на фоликулите при овулация в сравнение с контролните животни, при които овулацията е била спонтанна. Получените резултати показват, че и двата използвани препарата предизвикват овулация при третираните магарици в предсказуемо време.

Ефектът от единичното прилагане на GnRH при магариците е различен от този, наблюдаван при кобилите. Проведените проучвания не установяват положителен ефект от еднократното или двукратно прилагане на GnRH (Duchamp et al., 1987; Vidament et al., 1992; Camillo et al., 2004). В противовес прилагането на еднократна доза от GnRH-аналог на магарици предизвиква подобни резултати, както при използването на hCG по отношение интервала от третиране до овулация. Наблюдавано е настъпване на овулация дори при диаметър на фоликула, по-малък от този на контролните животни (Camillo et al., 2004).

При кобилите прилагането на hCG е най-ефективният метод за предизвикване и синхронизиране на овулацията (Barbacini et al., 2000). При магариците еднократното прилагане на GnRH-аналог успешно предизвиква овулация, когато третирането е извършено при диаметър на фоликула ≥ 30 mm. Съществува риск от намаляване на ефекта при повторно

третиране с hCG поради формирането на анти-тела, докато при използването на GnRH-аналог при магарици не е установено продуцирането на антитела (Carluccio et al., 2007).

ИЗВОДИ

В условията на проведения опит овулацията при хормонално третираните групи магарици настъпваше в рамките до 48-ия час след третирането, без статистически достоверна разлика между тях.

Средният диаметър на фоликулите преди овулация при опитните групи беше по-малък, спрямо контролната.

За синхронизиране на овулацията при местни породи магарици може да се използват и GnRH – аналози.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barbacini, S., G. Zavaglia, P. Gulden, V. Marchi, D. Necchi, 2000. Retrospective study on the efficacy of hCG in an ewuine artificial insemination programe using frozen semen. Equine Vet Edu. 12: 312-317.
2. Barrier-Battut, I., N. Le Poute, E. Trocherie, S. Hecht, Grandchamp des Raux, J. L. Nicaise, et al. 2001. Use of buserelin to induce ovulation in the cycle mare. Theriogenology, 55:1679-1695.
3. Blanchard, T.L., S. P. Brisko, S. L. Rigby, 2002. Effects of destorelin or hCG administration on reproductive performance in first post-partum estrous mares. Theriogenology, 55:165-169.

4. **Blanchard T. L., T. S. Taylor C.L. Love,** 1999. Estrous cycle characteristics and response to estrus synchronization asses (*Equus asinus americanus*). *Theriogenology*, 52:pp. 827-834.
5. **Camillo, F., M. Pacini, D. Panzani, D. Vannozzi, A. Rota, G. Aria,** 2004. Clinical use of twice daily injections of bucerelin acetate to induce ovulation in the mare. *Vet Res Commun*. 28 (Suppl 1):169-172.
6. **Carluccio, A., U. Tosi, A. Contri, De Amicis, M. Faustini, M. C. Veronesi,** 2006. Correlation between follicular size and ovulation induction in Martina-Franca jennies. In: *World Ewuine Veterinary Association Proceedings*. 245-246.
7. **Carluccio, A., S. Panzani, U. Tosi, M. Faustini, De Amicis, M. C. Veronesi,** 2007. Efficacy of hCG and GnRH for inducing ovulation in the jenny. *Theriogenology*, 68: 914-919.
8. **Duchamp, G., B. Bour, Y. Combarous, E., Palmer,** 1987. Alternative solution to hCG induction of ovulation in the mare. *J. Reprod Fertil Suppl*. 35: 221-228.
9. **Irvine, D. S., B. R. Downey, W. G. Parker, J. J. Sullivan,** 1975. Duration of oestrus and time of ovulation in mares treated with sintetic GnRH (AY-24, 031) j. *Reprod Fertil Suppl*. 23: 279-283.
10. **Ginther F. I, S. T. Scraba, D.R. Bergfelt,** 1982. Reproductive seasonality of the jenny. *Theriogenology*, 27: 587-592.
11. **Lindholm, A. R. G., E. H. G. Bloemen, R. M. Brooks, R. A., Ferris, P. M. McCue,** 2010. Comparison of destorelin and buserelin in mares : LH response and induction of ovulation. *Animal Reproduction Science*, 1215: 568-570.
12. **McCue, P. M., M. H. T. Troedsson, I. K. M. Liu, G. H. Stabenfeld, J. P. Hughest, B. L. Lasley,** 1991. Follicular and endocrine responses of anoestrous mares to administration of native GnRH agonist. *J. Reprod. Feril. Suppl*. 44: 227-233.
13. **McCue, P. M., Magee, C., Gee, E. K.** 2007. Comparison of compounded destorelin and hCG for induction of ovulation in mares. *J. Equine Vet. Sci*. 27: 58-61.
14. **Michel, T. H., P. D. Rosdalle, R. S. Cash, S. L. Rigby,** 1986. Efficacy of human chorionic gonadotrophin and gonadotrophin releasing hormone for hastening ovulation in Thoroughbred mares. *Ewuine Vet J*.18: 438-442.
15. **Sieme, H., T. A. E. Schfer, E. Klug, D. Waberski,** 2003. The effects of different insemination regimes on fertility in mares. *Theriogenology*, 60:1153-1164.
16. **Squires, E. L., D. M. Moran, M. E. Farlin, D. J. Jasko, T. J. Keefe, S. A. Meyers, E. Figueiredo, P. M. McCue, W. Jochle,** 1994. Effect of dose of GnRH analog on ovulation in mares. *Theriogenology*, 41: 757-769.
17. **Vidament, M., G. Amaud, C. Trillaud-Geyl, G. Duchamp, E. Palmer,** 1992. Analogue of GnRH (licerelin) and PGF2 α do not induce ovulation in mares. In; *Proceeding of the 12 th International Congres on Animal Reproduction*, vol. 4: 1927-1929.
18. **Voss, J. L., J. J. Sullivan, W. G. Picket, L. D. Burwash,** 1975. The effect of HCG on duration of oestrus, ovulation time and fertility in mares. *J. Reprod Fertil Suppl*. 23: 297-301.

INDUCTION OF OVULATION IN JENNIES FROM LOCAL BREEDS AFTER TREATMENT WITH GnRH AND HCG

*N. Vasilev, A. Atanasov, A. Antonov, I. Fasulkov, A. Werend**

Thrakia University, Faculty of Veterinary Medicine- Stara Zagora

**Clinic for Obstetrics, Gynecology and Andrology of Large and Small Animals, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany*

SUMMARY

During the past years, there was an increased interest to reproduction in jennies. Different hormonal preparations could be used for induction of ovulation, including human chorionic gonadotrophin (hCG) and gonadotrophin releasing hormone (GnRH). The aim of the present experiment was to investigate the possibility to induce ovulation in jennies from local breeds, treated with GnRH and hCG at the time when growing follicle attained a specific size. The follicular growth was monitored by means of transrectal echography with 5 MHz linear transducer. The animals were divided in three groups. Jennies from group I were given a single intramuscular dose of 100 µg GnRH, and those from group II – a single intravenous dose of 2 500 IU hCG at follicle size ≥ 30 mm. The third group included untreated controls, in which the spontaneous onset of ovulation was followed out. In hormone-treated groups, ovulation occurred within 48 hours after the treatment, without statistically significant differences between groups. The mean diameter of preovulatory follicles in experimental groups was lower ($P < 0.001$) than in controls. The synchronisation of ovulation in jennies from local breeds could be performed by means of GnRH analogues.

Key words: *jenny, induction of ovulation, GnRH, hCG.*