

АГРАРЕН УНИВЕРСИТЕТ – ПЛОВДИВ

КАТЕДРА ЖИВОТНОВЪДНИ НАУКИ

РАДКА ВАСИЛЕВА МАЛИНОВА

**РЕПРОДУКТИВНА СПОСОБНОСТ НА ПОРОДАТА РОДОПСКО
КЪСОРОГО ГОВЕДО ВЪВ ВРЪЗКА С IN SITU И IN VITRO
СЪХРАНЯВАНЕТО ѝ**

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИЯ ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И
НАУЧНА СТЕПЕН
„ДОКТОР”**

**ПО НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ: 04.02.01 „РАЗВЪЖДАНЕ НА
СЕЛСКОСТОПАНСКИТЕ ЖИВОТНИ, БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНИКА НА
РАЗМНОЖАВАНЕТО (БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНИКА НА
РАЗМНОЖАВАНЕТО)“**

**НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ
ПРОФЕСОР Д-Р ВАСИЛ НИКОЛОВ**

**ВТОРИ НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ
ПРОФЕСОР ДВМН ДИМИТРИНА КАЧЕВА**

**ПЛОВДИВ
2016**

Дисертационният труд е написан на 194 страници, от които 34 страници литературен преглед, 12 стр. „Цел и задачи“ и „Материал и методи“, 116 стр. „Резултати и обсъждане“, 6 стр. „Обобщение“, 2 стр. „Изводи“, една страница „Препоръки“ и 14 стр. „Използвана литература“. Цитирани са 204 източника, от които 67 на кирилица и 137 на латиница. Материалът е онагледен с – 34 фигури и 49 таблици.

Трудът е обсъден на заседание на разширен катедрен съвет при катедра «Животновъдни науки» на Агрономически факултет на Аграрен университет – Пловдив, № 29/07.10.2016г., и насочен за защита.

Защитата на дисертационният труд ще се състои на 20.12.2016 год. от 11:00 часа в 1А аудитория на ФА на Аграрен университет – Пловдив на заседание на Специализирано научно жури, назначено от Ректора на Аграрен университет – Пловдив със Заповед № РД16-1075/09.11.2016 г., в състав:

Рецензенти:

Проф. дн Живка Илиева Герговска, Тракийски университет – Стара Загора
Доц. д-р Иван Николов Иванов, ИБИР - София

Становища от:

Проф. д-р Васил Стоименов Николов, Аграрен университет - Пловдив
Доц. д-р Бойко Атанасов Георгиев, ИБИР - София
Доц. д-р Милко Стоянов Събев, ИБИР - София

Благодарности

Изказвам най – искрена благодарност и огромна признателност към проф. д-р Васил Николов за придобитите знания и опит, за безценната помощ, съветите, както и безкрайното търпение и подкрепа при осъществяването на дисертационния труд.

Изказвам специални благодарности за професионалната подкрепа, креативните консултации и съдействие при провеждането на експериментите свързани с физиологичния статус на животните на доц. Христо Христов и доц. Румяна Иванова, както и на всички колегите от катедра „Животновъдни науки“ за полезните съвети, препоръки и добронамереност.

Специални благодарности изказвам на Института по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“ в лицето на втория ми научен ръководител проф. д-р Димитрина Качева, доц. Бойко Георгиев и гл.ас. д-р Паулина Таушанова за оказаната помощ при разработката на настоящата работа.

Благодаря на зооинж. Светла Боева, като и на целия екип на Държавна станция по изкуствено осеменяване и ИАСРЖ гр. София за оказаното съдействие при изработването на някои от експериментите при биците.

Запазвам края, за да благодаря на моят съпруг и синът ми, които изтърпяха цялото творческото напрежение и ангажираност, с които бе свързано написването на настоящата работа. Тяхната любов и подкрепа през последните години бяха безценна опора за мен.

От автора

Материалите по защитата са на разположение на сайта на Аграрен университет – Пловдив, www.au-plovdiv.bg и в библиотеката на Аграрен университет - Пловдив, гр. Пловдив, бул. „Менделеев“, 12.

1. УВОД

Генетичното разнообразие се определя като една от най - големите ценности на нашата Планета. Чрез съзнателна или не селекция при одомашнените видове от хилядолетия, човекът е създал огромно разнообразие от породи с различни качества и предназначение. През последните десетилетия, базирайки се на достиженията на генетиката, репродуктивните биотехнологии, храненето и отглеждането на животните, чрез интензивна, високоефективна селекция, бяха създадени свръхспециализирани породи с изключително висока продуктивност, които бързо се наложиха в световен мащаб. Но проблемите не станаха по – малко, а дори се задълбочиха. Почти при всички високопродуктивни породи бяха изгубени най – ценните качества, които правят съществуването им възможно – жизнеспособност и репродуктивна способност.

Родопското късорого говедо е една от двете оцелели до наши дни български породи говеда. Усилията, през последните години, го извадиха от ръба на оцеляването, но заплахата не е преодоляна. Разработването на ефективна програма по опазването му е невъзможна без задълбочени проучвания, особено в областта на репродукцията. Това е така, тъй като последната е свързана, както с възможностите за *in situ* съхраняване, чрез потенциала на женските, така и с *ex situ* опазването, чрез възможностите за криоконсервация главно на генетичен материал от мъжките животни.

2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на разработката е да се направи характеристика на репродуктивната способност на породата Родопско късорого говедо в естествения му ареал на разпространение и да се установят аспектите на *in situ* и *in vitro* съхраняване на породата.

За постигане на целта бяха поставени следните задачи:

1. Анализ на популационния и репродуктивния статус на контролирана част на породата Родопско късорого говедо.
2. Характеристика на репродуктивната способност на женските животни.
3. Характеристика на репродуктивните способности на мъжките животни.
4. *In vitro* съхраняване на генетичен материал-криоконсервация на сперма, особености на криоконсервацията.

3. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1.1. За анализ на *популационния и репродуктивния статус* на контролираната част на породата Родопско късорого говедо и динамиката на разпределение на животните в различни по размер стада са използвани данни на Асоциацията за развъждане на местни породи говеда (АРМПП). Изследването

обхваща всички стада под контрола на АРМПГ (п - 97), с всички 4135 крави в основно стадо, през проучвания период.

1.2. Оценката на възпроизводителната способност на женските животни е направена на основата на мониторинг през периода 2011 - 2014г. **Възрастта на първо отелване** е определена при 159 първотелки, а **възрастта на първо заплождане** - при 298 юници.

За проучване на взаимовръзката на половата зрялост и стопанската възраст с **растежа и развитието на женските животни**, през периода 2011 – 2014 г., са снети екстериорни измерения при 253 животни, разделени в пет възрастови групи – от 1 до 5 годишна възраст. Допълнително, за характеристика на регионалните особености на екстериора при кравите, са снети измеренията на 177 крави в четири региона.

При проучване на **половия цикъл** и сезонната му динамика е използвана информацията за 1121 заплождания и 2012 отелвания.

За определяне на връзката между **репродуктивния и физиологичния статус** на женските животни са определени нивата на основни хематологични показатели в два критични за породата периода- преди и след зимния сезон. Кръвта е взета от крави с изравнен физиологичен статус, отглеждани в три различни региона, по шест кръвни проби от регион- обща 36 проби. Хематологичните показатели определихме с полуавтоматичен анализатор, с тестове на фирма "BIOMED".

Продължителността на бременността и факторите, влияещи върху нея са проучени по информация за 964 бременности. За диагностициране на бременността и установяване на някои особености на развитие на плода при породата РКГ бяха направени **ехографски изследвания** при 47 крави на различна възраст и стадии на бременността. Изследванията са направени с преносим ехограф WED3000V с ректален трансдюсер при честота 6,5Mhz.

За **определяне на междуотелния период** са използвани записите за бременността на 1121 крави.

1.3. За **характеристика на репродуктивната способност на мъжките животни** са проучени:- растежът и развитието на бичетата във фермите; -репродуктивната способност на бичите, в станцията по изкуствено осеменяване към Изпълнителната агенция по селекция и репродукция (ИАСРЖ); -качеството и свойствата на спермата, и възможностите за нейната криоконсервация в Института по биология и имунология на размножаването „акад. Кирил Братанов“ към БАН (ИБИР).

Растежът и връзката му с полова зрялост на бичетата е проучен при 14 индивида. Измерванията са извършвани ежегодно, от една до пет годишна възраст- общо 39 измервания в различните възрастови групи. Допълнително, с мерителна лента са измерени обхватът на скротума, дължините на левия и десния тестис. Изчислен е обемът на двойката тестиси по формулата на **Lunstra et al., (1988).**

Спермопродукцията на бичите от породата РКГ е проучена при 4 бика, от Станцията по изкуствено осеменяване (СИО) гр. София, към ИАСРЖ. Снети са данни за половото използване на разплодниците за периода от 27.11.2012 до 16.01.2014г. През този период са получени 338 еякулата. Преценени са **обемът**

на еякулата (с градуирани пипети с точност до 0,1 ml); *прогресивната подвижност на сперматозоидите (%)* (на микроскопски препарат, непосредствено след получаването на еякулата под светлинен микроскоп при увеличение x160); *концентрацията* на сперматозоиди в спермата (с камера на Бюркер).

След преценка, свежата сперма се *разрежда и еквилибрира* за четири часа в хладилник при $t^{\circ} 4\text{ C}^{\circ}$. За целите на експериментите, след разреждане и еквилибриране, част от спермата се пренасяше и изследваше в лабораторията на ИБИР, а останала част се криоконсервираше. В лабораторията на ИБИР, след предварителна подготовка, със спермоанализатор (CASA) се определяха концентрацията на спермата, подвижността на сперматозоидите, характерът и скоростта на движенията им, броят статични и броят подвижни сперматозоиди. За *морфологична преценка* на сперматозоидите се изготвяха натривки, с които се оценяваха: процент нормални сперматозоиди; процент с аномалии в главичката, средната част, опашката; наличие на цитоплазмени капчици. При *биохимичен анализ* на спермата са проучени нивата на ензимите лактат дехидрогеназа (LDH), гамаглутамилтрансфераза (GGT) и алкална фосфатаза (AP). Електрофоретичният профил на ензимите е определен във водоразтворими и тритоноразтворими екстракти на сперматозоидите чрез дискова електрофореза по Дейвис в 7,5%-ов полиакриламиден гел. Биохимичната активност на трите ензима в тритоновите и водните екстракти беше определена чрез Автоматичен спектрофотометър – Mindrai BA 88.

1.4. За проучване на възможностите за *in vitro съхраняване* на генетичния материал по 10 пагети криоконсервирана сперма от получаваните от всеки индивид и през всеки сезон (с повторение на зимния) еякулати, използвани за оценка на свежа сперма, бяха изследвани в ИБИР. След размразяване, се преценяваха настъпилите криогенни увреждания на структурата и функциите на спермалните клетки и преживяемостта на сперматозоидите след криоконсервация. Бяха изследвани кинетичните параметри, морфологията и ензимната активност на сперматозоидите по същите методики като при еквилибрираната сперма.

1.5. Статистическата обработка на всички данни е направена със специализиран софтуер – SPSS Statistics 21, IBM. За обработка на данните е са използвани еднофакторен и многофакторен дисперсионен анализ.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1. АНАЛИЗ НА ПОПУЛАЦИОННИЯ И РЕПРОДУКТИВНИЯ СТАТУС НА КОНТРОЛИРАНА ЧАСТ НА ПОРОДАТА РОДОПСКО КЪСОРОВО ГОВЕДО

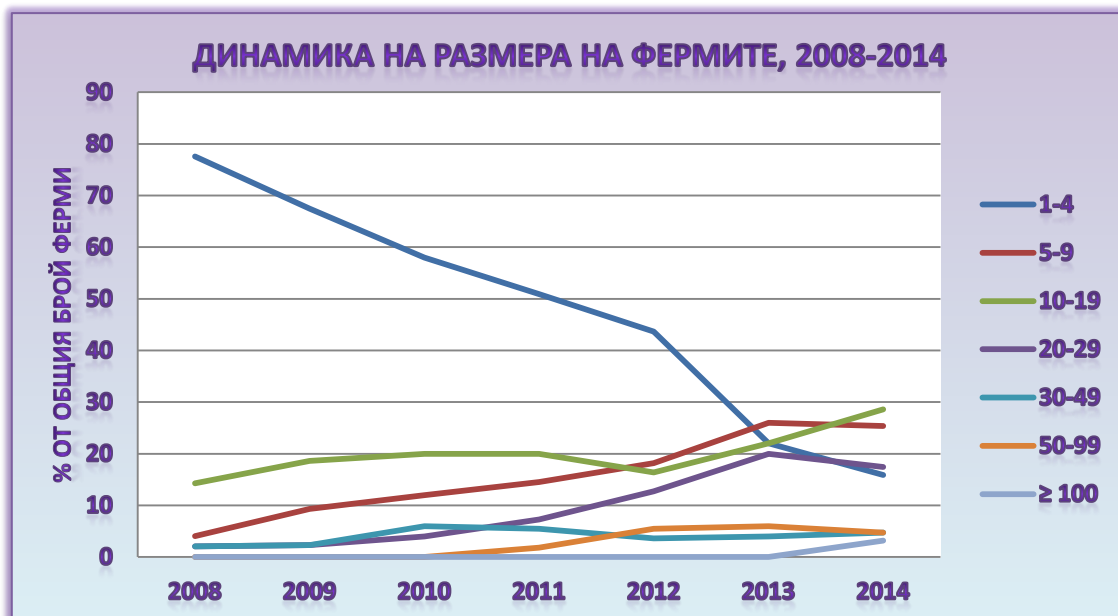
Динамиката на броя животни в контролираната част на породата Родопско късорого говеда дава представа за устойчивостта на популацията и способността ѝ да се възпроизвежда в естествения ареал. Основната част от животните под селекционен контрол от породата се отглеждат в областите Кърджали, Смолян и Хасково, като отделни стада има в Пловдивска, Кюстендилска и Старозагорска област. През последната година на анализа- 2014, под контрол на асоциацията са

54 стада, с 1121 крави в основно стадо. Най – голям брой животни са в Кърджалийска област- под селекционен контрол са 524 крави (46.7% от контролираната популация), като най - големите стада са в община Момчилград, в селата Момина сълза и Летовник. В област Хасково, под селекционен контрол са 397 крави (35.4%). Основната част са във ферми в гр. Маджарово и региона (с. Горно поле, с.Малко Попово и с.Габерово). В област Смолян се контролират 142 животни, но географски, основните ферми от тази област са отдалечени. Едната част се намират в региона на гр.Златоград (с. Кушла), а другата основна част е в региона на гр. Баните.

От поставянето под контрол на породата през 2001 г броят на животните и фермите постоянно нараства (Николов, 2012), тази тенденция се запазва, като за последните 7 години броят на контролираните крави се е увеличил 4,6 пъти. Средният годишен темп на нарастване е с около 30%. Ръстът се дължи, както на увеличаването на броя на животните във фермите, така и на включване на нови ферми под селекционен контрол.

С нарастване на броя на отглежданите животни и интереса към породата се променя и размерът на стадата, от който до голяма степен зависи икономическата стабилност и оцеляването на породата.

Най – силен и устойчив темп на растеж имат стопанствата с размер от 10 до 19 крави и при тези с 20 до 29 (фиг. 1). В такива стопанства се отглеждат 51 – 61 % от кравите, през разгледания период. По – големите по размер стопанства особено с над 10 крави най – често са единствено източник на доходи за фермера.



Фиг. 1. Динамика на размера на фермите, 2008 – 2014г.

Очевидно, фермите с размер 10-29 крави, са икономически устойчивата единица за породата РКГ, на фона на намаляващия брой на по – малките, и неустойчивата тенденция на развитие при по – големите ферми (фиг. 1).

Контролираната част на популацията на РКГ е с добър развъден статус, устойчив през годините (табл.4). През 2012 г. броят на юниците е 20% от броя на кравите, а на женските телета за разплод – 5.6%. През 2014 г. юниците са 13.4% от кравите, а женските телета – 10.3%, като и през двете години, относителният дял на младите животни за разплод е над 20%. Отчитайки продължителния период на използване на кравите от породата РКГ, този процент е достатъчен достатъчно дори за разширено възпроизводство.

Табл. 4. Развъдната структура на контролираната част на популацията

Област	Крави бр.	Юници бр.	Телета, бр.		Бици бр.
			женски	мъжки	
2012					
Кърджалийска	228	53	5	35	21
Смолянска	152	19	19	38	8
Хасковска	277	55	11	14	11
Пловдивска	14	7	3	0	1
Кюстендилска	18	4	0	2	0
Старозагорска	6	1	0	0	0
Общо	695	139	38	89	41
2014					
Кърджалийска	524	65	68	18	29
Смолянска	142	20	28	21	7
Хасковска	397	43	10	2	19
Пловдивска	20	3	7		
Софиска	3	4	1	1	
Кюстендилска	29	15			1
Старозагорска	6		1		
Общо	1121	150	115	42	56

В породата се отглеждат и достатъчен брой бици за естественото покриване, като половото съотношение е по – малко от 20 : 1 спрямо кравите и 30: 1 спрямо кравите и юниците. Достатъчен е броят и на мъжките телета за разплод.

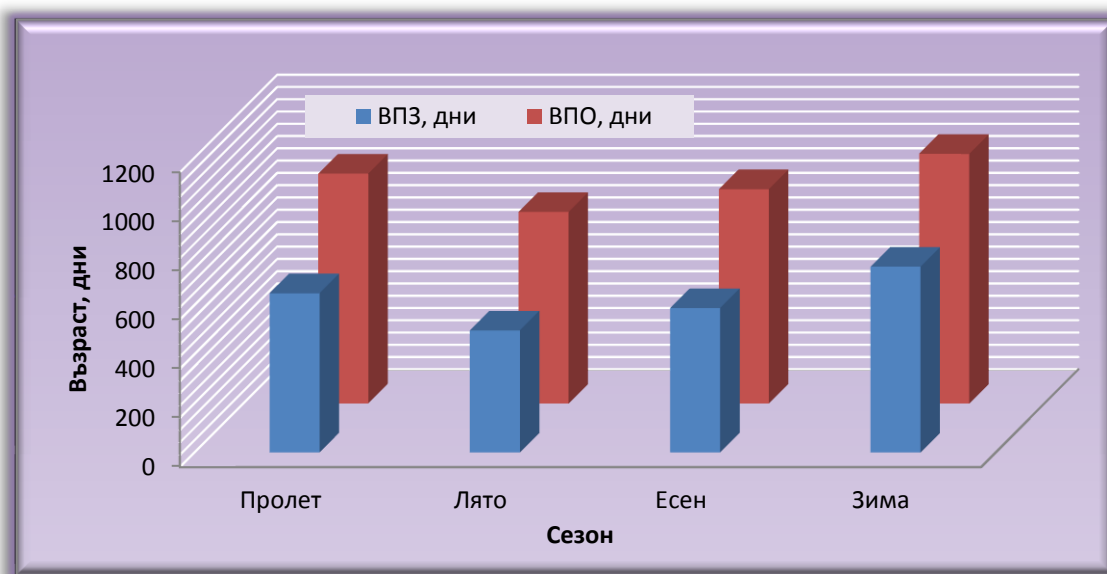
Наред с посоченото, в изпълнение на Развъдната програма за породата и осигуряване на успеваемостта на водената консервационна политика, през 2012 г. в ИАСРЖ се постъпили 4 бика, от които се стокира семенен материал. В Националната генетична банка има съхранена сперма и от още 3 бика, като към края на 2015 г, общият брой дози замразен семенен материал от 7-те бика е 19500 дози. Посоченото показва, че стадата, в които не се отглеждат мъжки разплодници, са обезпечени със семенен материал, както и не съществува опасност от принудително родствено съешаване в тази малка, затворена популация.

4.2. ХАРАКТЕРИСТИКА НА РЕПРОДУКТИВНИТЕ СПОСОБНОСТИ НА ЖЕНСКИТЕ ЖИВОТНИ

4.2.1. Полова и стопанска зрялост

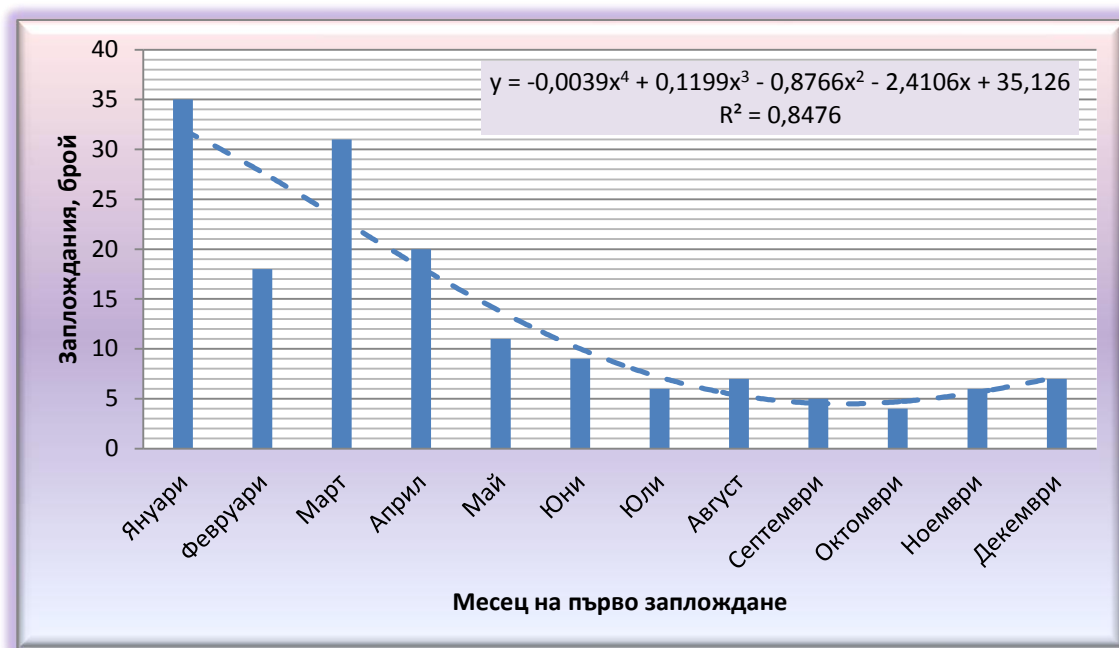
Върху възрастта на първо заплождане и възрастта на първо отелване, при юниците от породата РКГ, най – значително и достоверно влияние оказват сезонът на раждане и фермата.

Най – ниска ВПЗ и ВПО – $522 \pm 36,13$ дни (17,1 месеца) и $803,02 \pm 36,88$ дни съответно, имат юниците, родени през лятото (фиг. 2).



Фиг. 2. Влияние на сезона на раждане върху възрастта на първо заплождане и възраст на първо отелване при РКГ

Тези животни са се заплодили на следващата година, в края на есента и началото на зимата, в периода, в който са регистрирани сравнително малък брой заплождания (фиг. 3).



Фиг. 3. Разпределение на заплжданията на юниците по месеци (2000-2014).

Родените през есента, се заплждат по – късно, но имат сравнително ниска възраст на първо заплждане - $569,85 \pm 39,88$ дни. При тях заплждането е настъпило от края на пролетта до началото на лятото, когато се отчита постепенно намаляване на пика на заплжданията (фиг. 3).

Родените през пролетта се заплждат за първи път на 669,45 дни (22 мес.), а през зимата – на две годишна възраст. Така юниците и от двете групи са се заплждали от средата на зимата до началото на пролетта, когато са отчетени най – много заплждания (фиг 3).

Очевидно върху заплждането на юниците водещо значение има възрастта на достигане на полова зрялост, която силно се влияе от сезона на раждане. И все пак, сезонност на заплждане се отчита и при юниците и тя е добре видна от фиг. 4, на която е представена възрастта на първо отелване по възрастови групи. Налице са два пика на отелванията- първият на 23-24 месечна възраст, а вторият - след една година – на 35-36 месечна възраст. Вероятно, значителна част от животните, които не достигат полова зрялост в рамките на размножителния сезон, се разгонват и заплждат през следващия.



Фиг. 4. Разпределение на кравите според възрастта на първо отелване

Отчитайки връзката на възрастта на настъпване на полова и стопанска зрялост с растежа и развитието на юниците, за обяснение на получените от нас значителни регионални различия по отношение на половата зрялост, направихме екстериорна характеристика на различни възрастови групи женски животни в основните региони на ареала на РКГ.

С най – добър екстериор при РКГ са животните (от Смолянски регион), при които условията благоприятствуват първо заплождане на възраст 20-21 месеца и съответно първо отелване на 29-30 месеца (табл 7).

Табл. 7. Основни екстериорни измерения при крави от породата РКГ в различни региони на отглеждане, cm

Признак	F-критерий и степен на достоверност	За породата N=177	Смолян N=29	Кърджали N=19	Златоград N=79	Хасково N=50
		LSM ± SE				
Височина при холката	10,346***	107,2 ± 0,462	106,7 ± 0,992	112,2 ± 1,225	105,2 ± 0,601	104,6 ± 0,755
Коса дължина	3,670**	129,3 ± 0,894	126,2 ± 1,917	135,5 ± 2,372	127,5 ± 1,163	128,1 ± 1,462
Широчина на гърдите	2,524*	28,94 ± 0,303	29,45 ± 0,650	28,26 ± 0,803	28,23 ± 0,394	29,81 ± 0,496
Дълбочина на гърдите	1,922	56,46 ± 0,303	57,28 ± 0,651	57,00 ± 0,804	55,70 ± 0,395	55,85 ± 0,496
Обхват на гърдите	10,659***	152,5 ± 0,664	157,4 ± 1,426	152,7 ± 2,949	148,20 ± 0,864	151,2 ± 1,086
Обхват на свирката	1,719	14,74 ± 0,088	14,81 ± 0,188	14,90 ± 0,233	14,47 ± 0,114	14,78 ± 0,143

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

Според *Essien and Adesope (2003)* линейните измерения дават обективна преценка за проследяване на растежа и развитието на говедата. От данните за изменение на линейните параметри с възрастта, при РКГ (табл. 10) обаче е видно, че използването на линейните параметри за тази цел трябва да се прави комплексно и твърде внимателно, като се отчита спецификата на отделните породи, интензивността на растеж в млада възраст, скорозрелостта на породата и т.н.

Табл.10. Възрастови изменения на височините на тялото при женските животни

Признак	Възрастова група	N	LSM	± SE	SD	Min	Max
Височина при холката	1	5	92,2	2,48	13,18	73,0	106,0
	2	8	104,2	1,96	5,27	96,5	112,0
	3	43	104,5	0,84	3,84	95,0	112,0
	4	20	105,9	1,24	4,04	98,0	114,0
	5	177	106,0	0,41	5,74	89,0	118,0
Височина при гърба	1	5	91,8	2,46	13,23	74,0	104,0
	2	8	105,3	1,94	4,42	98,0	111,0
	3	43	105,5	0,84	3,08	98,0	112,0
	4	20	106,3	1,23	3,42	98,0	114,0
	5	177	106,1	0,41	5,48	89,0	118,0
Височина при поясницата	1	5	94,5	2,31	11,91	78,0	106,0
	2	8	108,4	1,83	3,33	104,0	113,0
	3	43	108,5	0,79	3,61	98,0	116,0
	4	20	108,9	1,16	4,63	101,0	118,0
	5	177	108,9	0,39	5,36	93,0	122,0
Височина при кръстеца	1	5	96,2	2,37	12,63	78,0	107,0
	2	8	109,3	1,87	2,76	106,0	114,0
	3	43	110,4	0,80	3,97	102,0	119,0
	4	20	110,1	1,18	4,53	102,0	117,0
	5	177	110,9	0,39	5,45	96,0	125,0
Височина при корена на опашката	1	5	95,2	2,37	12,77	78,0	105,0
	2	8	107,5	1,88	3,38	103,0	112,0
	3	43	108,5	0,81	4,25	99,0	118,0
	4	20	108,3	1,18	4,54	99,0	116,0
	5	177	108,8	0,40	5,40	91,0	121,0
Височина при седалищните възвишения	1	5	86,1	2,64	11,83	70,0	96,0
	2	8	95,8	2,09	3,37	91,0	101,0
	3	43	96,9	0,90	4,93	87,0	106,0
	4	20	96,2	1,32	4,89	87,0	103,0
	5	177	97,5	0,44	6,10	80,0	115,0

Още на 1- годишна възраст, височината при холката на женските телета от породата РКГ достига 87,0% от тази на кравите, завършили растежа си, а височините при гърба, поясницата, кръстеца, корена на опашката и седалищните възвишения- 86,5; 86,9; 86,7; 87,5; 88,3%, съответно. На 2- годишна възраст, растежът на височина е практически завършен, като при юниците, посочените по – горе височини заемат съответно 98,3; 99,2; 99,5; 98,5; 98,8; 98,2% от съответните височини при кравите. Разликите във височините между следващите възрастови групи са практически нищожни.

Към 2 годишна възраст, юниците от породата РКГ имат размери и пропорции на тялото близки до тези на завършилите растежа си крави, което ги прави годни за разплод. По основните екстериорни измерения височина при холката, коса дължина на тялото, обхват на гърдите и обхват на свирката на 2 годишна възраст юничките достигат съответно 98.3, 92.8, 95.4 и 94.9% от съответните параметри на завършилите растежа си крави.

4.2.2. Полов цикъл

Макар, че говедото не се отнася към сезонно- полицикличните видове, при някои примитивни породи се наблюдава добре изразена сезонност на отелванията ЕАО (1980), вероятно свързана с адаптацията на животните към околната среда. От фиг. 9 е видно, че при изследваната от нас популация на Родопското късорого говедо се наблюдава ясно изразена сезонна полова цикличност. През пролетта и лятото са се заплодили 81% от всички животни , а през есента и зимата – едва 19%. Наред с това се наблюдава и ясна закономерност на намаляване на броя на запложданията от пролетта към зимата.



Фиг.9. Сезонно разпределение на запложданията (N-1121).

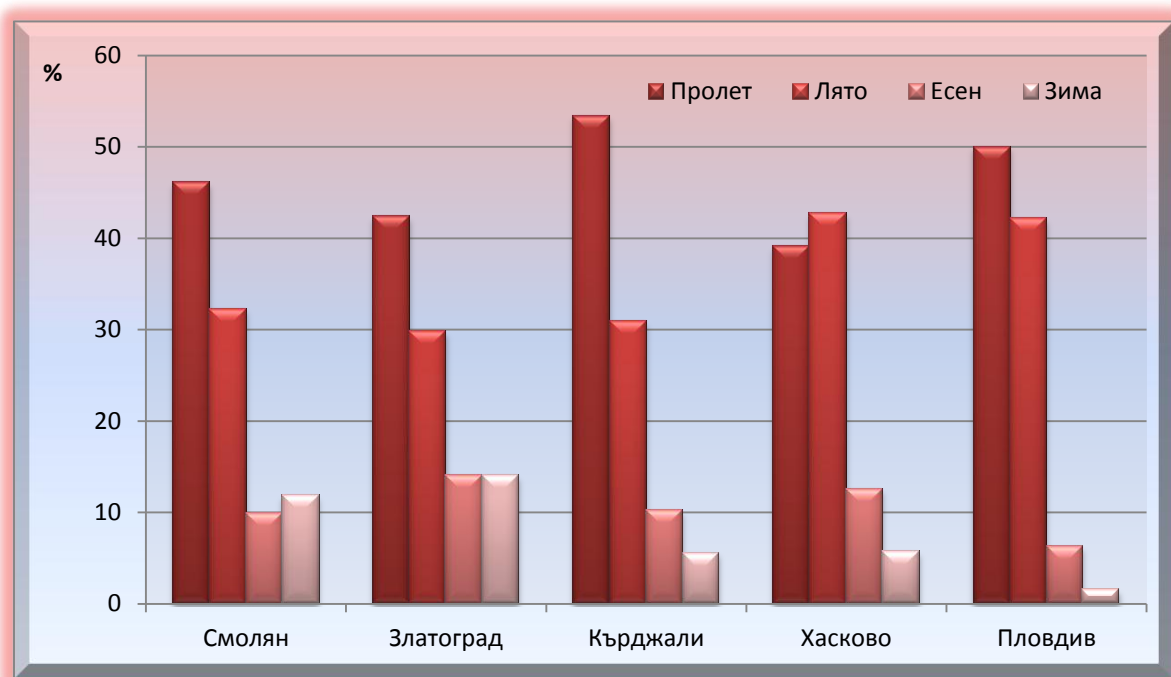


Фиг. 11 Сезонно разпределение на отелванията (N-2012).

Аналогично на сезонността на заплождането е и разпределението на отелванията през отделните сезони (фиг. 11). Най – много отелвания са отчетени през пролетта и зимата – 82%, а най – малко през есенния и летния сезон.

На фиг.13 е представено разпределение на запложданията на животните по сезони, в пет различни региони на разпространение - Смолян (N-152), Златоград (N-222), Кърджали (N-343), Хасково (N-335) и Пловдив (N-64). Във всички региони най – много животни са се заплодили през пролетта и лятото – в региона на Пловдив -92,2%, Кърджали- 84,3%, Хасково- 81,8%.

Най- малък брой заплождания, в най – благоприятните сезони има в Смолянски – 78,3% и Златоградски – 72,1% региони. Както вече отбелязахме тези райони са с по – благоприятни условия за говедата, които очевидно благоприятстват заплождането и отелването и в извън основните сезони.



Фиг. 13 Сезонно разпределението на запложданията в различните региони на разпространение

4.2.3. Бременност

Продължителността на бременността при Родопското късорого говедо не е изучавана до настоящия момент. Тази характеристика на репродукцията е от голямо практическо значение, тъй като би могла да послужи на собствениците на животни по – точно да определят момента на отелването и да осигурят подходящи грижи за бременните животни преди, по време и след самото отелване.

За РКГ, точното определяне на отелването е от още по – голямо значение, тъй като животните се отглеждат целогодишно пасищно, обикновено без надзор и при отелване извън фермата, телетата често се губят или стават жертва на

хищници. От друга страна, по – голяма част от стопаните не са в състояние на осигурят по – продължително отглеждане на кравите в затворени пространства.

Средната продължителност на бременността при породата Родопско късорого говедо е $281,3 \pm 0,31$ дни, което я поставя в междинно положение спрямо месодайните породи (Шароле - 285.2 дни (Crews, 2006); Белгийско синьо говедо– 285 дни (Casas et al., 2014)) и породите за мляко (Джерсей- 278,2 дни (Olson et al., 2009); Хошайн фризийското говедо – 279,1 (Nogalski and Piwczyński, 2012)).

От проучените от нас фактори, достоверно влияние върху продължителността на бременността оказват регионът, фермата, годината на отелване и индивидът. Разгледан самостоятелно, сезонът на отелване не оказва влияние върху продължителността на бременността, но в рамките на региона има високо достоверно влияние ($P < 0,001$).

Все пак, от табл. 17 е видно, че с възрастта, продължителността на бременността последователно нараства и между първо и седмо отелване се увеличава средно с 2,5 дни. Между отделните години обаче, увеличението е в рамките на статистическата грешка. По подобен начин, бавно и последователно с възрастта нараства и минималната продължителност на бременността, докато максималната се изменя непоследователно.

Табл. 17. Продължителност на бременността в зависимост от поредността на отелването

Поредност на бременността	N	LSM	$\pm$ SE	SD	Min.	Max.
1	338	280,2	0,32	4,64	263	299
2	277	280,5	0,32	4,68	269	297
3	166	280,8	0,41	5,16	267	299
4	101	280,9	0,49	4,96	272	293
5	44	281,7	0,73	4,55	272	289
6	24	282,2	0,97	4,57	274	289
7	14	282,8	1,26	4,63	275	289

Наред с възрастовите, при РКГ се наблюдават и достоверни регионални различия по този консервативен признак (табл. 18). Най – кратко продължава бременността при кравите от региона на Кърджали, следвана от тази в Пловдивски и Смолянски регион, а най – продължителна е в регионите на Златоград и Хасково. Разликата между крайните варианти е 2.5 дни, но парадоксните вътрегрупови различия, е достоверна.

Табл. 18. Продължителност на бременността при РКГ в различни региони на разпространение, дни.

Регион	N	LSM	±SE	SD	Min.	Max.
Пловдив	75	280,9	0,58	4,31	272	289
Смолян	154	281,6	0,45	5,35	270	299
Златоград	179	282,2	0,42	4,07	274	290
Кърджали	199	279,9	0,43	3,95	271	290
Хасково	357	282,4	0,37	5,13	263	299

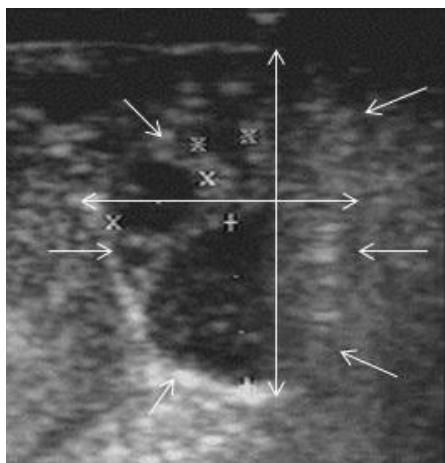
4.2.4. Ранна диагностика на бременността

Наред с продължителността, практическо значение при РКГ има и ранната диагностика на бременността. Причината е в установената по – горе сезонност на заплождане и отелване. Животните се заплождат основно през април – юли, с изключение на 1-2 ферми – естествено и неконтролирано. В същото време, в основния регион на разпространение на породата, най – голямата търговия с животни за месо е през август – септември. Това налага кравите да бъдат изследвани за бременност. В предходния раздел споменахме и за необходимостта от по – точно определяне на стадия на бременността, във връзка с организиране на отелванията.

Съществен принос в едновременното решаване на двата проблема може да даде *ехографското изследване* на половия апарат при женските животни. Освен за точно определяне на стадия на бременността, ехографията би могла да се използва и за по – точното определяне на стадия от половия цикъл, протичането на маточната инволюция след раждането, както и за откриване на някои репродуктивни нарушения при кравите.

Ние извършихме ехографски проучвания при крави в различно физиологично състояние.

Ехографското изследване на яйчниците може да се използва като инструмент за по – точно определяне на оптималния момент за осеменяване, чрез проследяване на нарастването на доминантен фоликул в яйчниците при кравите. Изпълнените с фоликулярна течност фоликули в яйчниците, се наблюдават като тъмни анехогенни структури с овална форма. На сн. 7 е представено изображение на яйчник с диаметър 25x34mm, два по- малки фоликула с диаметри 10 mm и 5 mm и един доминантен фоликул с диаметър 15 mm.



Сн. 7. Яйчник с наличие на доминантен фоликул.

Изследване на крави в начален стадий на бременност – до 3 месец.

Макар да е установено, че плодният мехур може да се забележи с ехограф още на 9-тия ден от бременността, със 100% сигурност бременност може да се установи от 25 – ия ден от заплъждането. На практика, за по – голяма ефикасността (т.е. бързина и точност) и правилна диагноза на бременност, преценката трябва да се прави при крави, при които се очаква да са достигнали 26-тия ден на бременността (Lamb and Fricke, 2005).

При диагностициране на бременността на 35-тия ден след заплъждането се наблюдават зачатъци на плацентомите, които леко проминират към маточната празнина. Сн. 9 е направена на 35-тия ден бременност. Плодният мехур е с диаметър 41 mm, диаметър на коремчето на ембриона 8 mm и дебелина на маточната стена 8 mm.

На 40-ти ден от заплъждането (сн. 10) ясно се наблюдава добре оформен ембрион с дължина 18 mm и диаметър на коремчето 8 mm. Може да се забележи и вече оформената амниотична обвивка около ембриона.

Ехографската фетометрия би могла да служи за определяне на стадия на бременността на база на стадия на развитие и размерите на плода. С напредване на бременността обаче, плодът натежава, матката се измества напред и надолу в коремната кухина. По тази причина, при по – напреднала бременност, най – достъпна за наблюдение е главата и нейните части.



Сн. 9. Стадий на бременността – 35 дни.



Сн. 10. Бременност-40 дни след осеменяване.

При 70-дневен фетус, отделните части ясно се отчитат и могат да бъдат измерени с ехографа. На сн. 12 са представени измеренията на дължината на главата – 34 mm, дължината на лицето – 13 mm, дължината на долната челюст – 23 mm, височина на черепа – 19 mm.

При наблюдение на бременност на 75-ти ден могат да бъдат видени и измерени различни части на тялото на фетуса. На сн. 14 се наблюдават гърдите и коремчето на ембриона, като главата е разположена наляво извън зрителното поле. Диаметърът на коремчето е 37 mm, наблюдават се добре оформени плацентоми с диаметър 23 mm.



Сн. 12. Надлъжен разрез на главата на 70 дневен фетус.



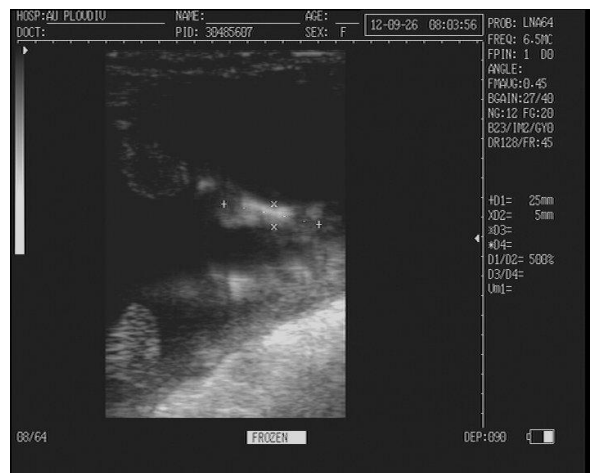
Сн. 14. Надлъжен разрез на тялото в областта на гърдите на 75 дневен фетус

Изследване на крави в късен стадий на бременност – след 3 месец.

На 90 – тия ден от бременността главата все още може да бъде заснета изцяло в едно зрително поле на ехографа. Дължината ѝ на този етап е 50 mm (сн.15), а диаметърът на плацентома е 31 mm. На сн. 17. Измерен е метакарпуса като дължината е 25 mm, а ширината - 5 mm.



Сн. 15. Надлъжен разрез на главата на 90 дневен фетус.



Сн. 17. Преден крайник на фетус на 120-ти ден от развитието си.

4.2.5. Междуотелен период

При екстензивно, пасищно отглеждане на животните и сезонност на отелването, забавянето на заплождането по някакви причини, би довело до значително удължаване на калвинг интервала и по – ниска плодовитост.

В нашето проучване установихме, че средната продължителност на междуотелния период при породата Родопско късорого говедо е $464 \pm 5,66$ дни.

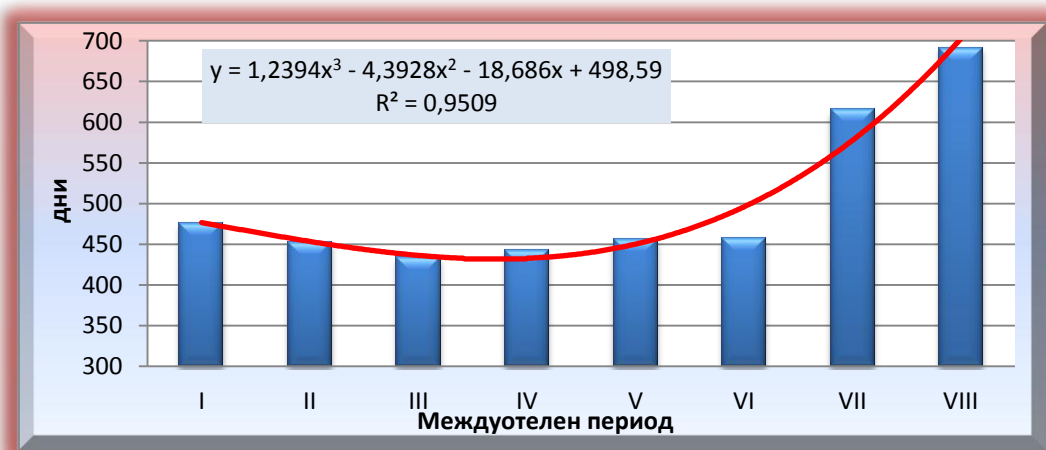
Върху продължителността на междуотелния период при РКГ, влияние оказват значителен брой фактори, но водещ е сезонът на отелване. Достоверно е и влиянието на месеца, в рамките на сезона. Най – кратък е междуотелният период при кравите, отелени през пролетта, следвани от отелените през зимата, а най – продължителен е при отелилите се през летните месеци.

При отелените през зимата, междуотелният период е увеличен с 15,8 дни, през есента – с 24,9, а през лятото – с 51,6, т.е, колкото по - отдалечен е периодът на отелване от най – благоприятния период за заплождане – толкова по – дълъг е междуотелният период (фиг.15).

Логиката ни на разсъждение се потвърждава и от фиг. 16, на която е представена динамиката на продължителността на междуотелния период, в зависимост от неговата поредност. Най – удължен е I-ви междуотелен период, до трети, включително, продължителността намалява, а след това, от 4-то към 9-то отелване, постепенно нараства.



Фиг. 15. Влияние на сезона на отелване върху продължителността на междуотелния период



Фиг. 16. Продължителност на междуотелния период в зависимост от поредността на отелване.

Що се отнася до удължените I и II – ри калвинг периоди, очевидно тогава се извършва по – съществен преход и животните постепенно се „настройват“ към най – подходящите периоди на заплождане и отелване за съответния регион.

4.2.6. Възможности за използване на някои показатели на кръвта, при характеристика на репродуктивната способност

В свое проучване Ježek et al. (2013) са установили, че при крави с репродуктивни проблеми, породени от небалансирано хранене се наблюдават изменения в кръвните показатели. Според авторите, изследванията на кръвта са важен диагностичен инструмент за оценка на хранителния, метаболитния и здравния статус на кравите.

Кравите от породата РКГ се отглеждат при тежки природно – климатични условия, при сравнително оскъдно хранене. Отчитайки посоченото по – горе, в търсене на обяснение на наблюдаваните значителни регионални и сезонни различия в репродуктивната способност, проучихме някои хематологични

показатели при кравите преди и след периода на масово отелване – през есента и пролетта, в различни региони на основния ареал.

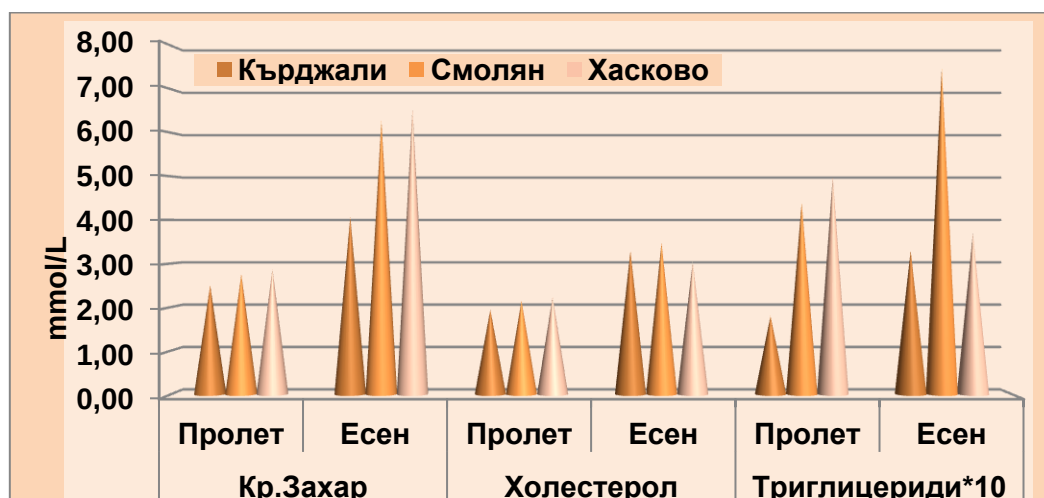
От табл. 23 е видно, че през пролетта средните стойности на кръвната захар са в нормата и са близки до стойностите през зимния период (*Николов и др., (2012)*). Очевидно напрежение в обмяната на въглехидратите, от проучените три сезона има единствено през есента, като сезонните разлики, получени от нас са достоверни.

Табл. 23. Съдържание на кръвна захар, общ белтък, холестерол, триглицериди и креатинин в кръвната плазма на крави през пролетта и есента.

Признак	Сезон	N	LSM	± SE	SD	Min.	Max.
Кръвна захар, mmol/L	Пролет	18	2,712	0,148	0,453	1,940	3,600
	Есен	18	5,640	0,148	1,353	3,390	7,460
Общ белтък, g/L	Пролет	18	61,16	0,691	6,319	54,03	73,59
	Есен	18	48,47	0,691	4,306	40,30	54,50
Холестерол, mmol/L	Пролет	18	2,108	0,114	0,299	1,390	2,510
	Есен	18	3,272	0,114	0,610	2,340	4,260
Триглицериди, mmol/L	Пролет	18	0,374	0,030	0,188	0,120	0,700
	Есен	18	0,485	0,030	0,227	0,170	0,920
Креатинин, μmol/L	Пролет	18	245,8	7,422	39,41	173,0	325,0
	Есен	18	222,0	7,422	30,55	170,1	309,8

Подобни, значителни достоверни регионални различия се наблюдават и по отношение на съдържанието на триглицериди в кръвната плазма.

Като цяло, през есента, съдържанието им в кръвната плазма е с 29,6% по – високо от това през пролетта (табл. 23). От фиг. 20 обаче е видно, че посоченото е релативно за два от проучваните региони – Кърджалийски и Смолянски. При



Фиг. 20 Сезонна динамика на съдържанието на кръвна захар, холестерол и триглицериди в кръвната плазма на крави от продота РКГ, оглеждани в различните региони.

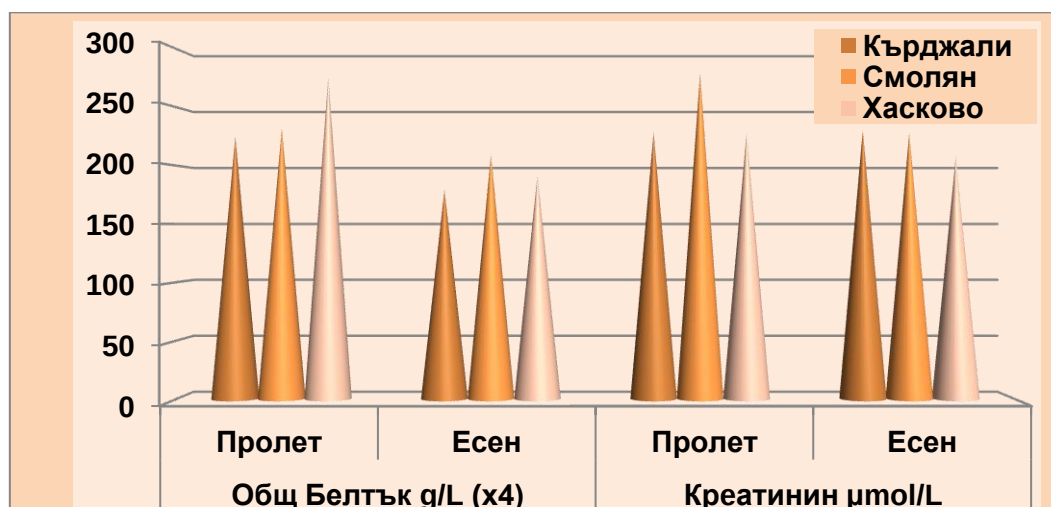
кравите, отглеждани в Хасковски регион, през пролетта съдържанието на триглицериди в кръвната плазма е с 35,1% по – високо, отколкото през есента.

По отношение на холестерола, достоверен източник на вариране е сезонът ($P<0,001$), докато регионът не оказва достоверно влияние.

Нивата на общият белтък са с по – ниски стойности от референтните за говедата, като през пролетта са близки до минималната референтна стойност. Основно влияние върху нивото на протеините в кръвта оказва храненето. То се влияе и от състоянието на черния дроб, бъбреците, стомашно чревния тракт, стресът, загубата на вода и т.н.. През по – неблагоприятния сезон – есента, нивото на общия белтък в кръвта е достоверно ($P<0.001$) по – ниско - с 20,4%, като най – значително е намалението в Хасковски регион (фиг. 21) – с 30,5%, а най – минимално в Смолянски – 9,6%.

Креатининът се образува в мускулите и обикновено е с постоянно ниво. При изследваните от нас животни, през двата сезона съдържанието на креатинин в кръвта е в близки граници, но е значително над физиологичната норма ($165 \mu\text{mol/l}$).

Родопското късорого говедо е изключително подвижно и динамично, поради което можем да предположим, че установените стойности на креатинин вероятно са близки до физиологичните за породата. Регионът оказва достоверно ($P<0.05$) влияние върху съдържанието на креатинин в кръвта на РКГ, но в рамките на сезона, регионалните различия са недостоверни.



Фиг. 21 Сезонна динамика на общия белтък и креатинина в кръвната плазма на крави от породата РКГ, отглеждани в различните региони

При всички изследвани макроеlementи в кръвта, по – високи са стойностите през есента, отколкото през пролетта. Причината вероятно е в по – високата концентрация на елементите в изсъхналата вече трева през есенния период.

Табл. 25. Съдържание на макроелементи в кръвната плазма на крави през пролетта и есента.

Признак	Сезон	N	LSM	± SE	SD	Min.	Max.
P, mmol/L	Пролет	18	1,523	0,047	0,174	1,280	1,820
	Есен	18	1,726	0,047	0,357	1,090	2,280
Ca, mmol/L	Пролет	18	2,241	0,041	0,239	1,910	2,770
	Есен	18	4,061	0,041	0,089	3,890	4,250
Mg, mmol/L	Пролет	18	0,628	0,056	0,067	0,500	0,740
	Есен	18	1,695	0,056	0,820	0,560	2,870

При нивата на фосфора разликата е минимална, докато при калция, нивото е почти два пъти по – високо през есента. През пролетта, магнезият е в долните физиологични граници, а през есента е 2,7 пъти повече.

4.3. ХАРАКТЕРИСТИКА НА РЕПРОДУКТИВНИТЕ СПОСОБНОСТИ НА МЪЖКИТЕ ЖИВОТНИ

4.3.1. Полова зрялост.

При проучване на *растежа*, като основен показател се използва височината при холката, но ние направихме анализ на възрастовата динамика на основните екстериорни измерения (табл. 27).

За разлика от женските животни от породата РКГ, при мъжките се наблюдава по – бавно нарастване от една до двегодишна възраст и значително увеличаване на темповете на растеж след този период. Най – значителен е растежът във височина от третата до четвъртата година, когато основните височини се изменят с от 11,8%- на височината при корена на опашката, до 14,2%- на височината при седалищните възвишения. Високият темп на растеж се запазва и през следващата година, като изменението е с от 5,3%- на височината при седалищните възвишения, до 8,8% на височината при холката. Темпът на нарастване през този период, е сходен с нарастването от 2 до 3 годишна възраст.

На 2 годишна възраст, височините на тялото са от 74,9%- при холката, до 75,9% при поясницата, от тези на 5 годишна.

Табл. 27. Възрастови изменения на височините на тялото при мъжки животни за разплод

Признак	Възрастова група	N	LSM	± SE	SD	Min.	Max.
Височина при холката	1	10	79,5	1,26	3,62	72	85
	2	9	81,9	1,33	2,71	78	87
	3	6	89,3	1,63	5,39	81	97
	4	6	100,5	1,63	3,72	96	105
	5	8	109,4	1,41	4,65	100	114
Височина при гърба	1	10	79,1	1,36	3,87	72	85
	2	9	81,8	1,44	2,99	76	85
	3	6	89,3	1,76	4,63	81	94
	4	6	100,5	1,76	4,50	92	105
	5	8	108,7	1,52	5,60	97	117
Височина при поясницата	1	10	80,4	1,26	3,47	75	86
	2	9	83,9	1,33	2,97	77	87
	3	6	91,1	1,62	4,30	83	96
	4	6	102,5	1,62	4,55	95	107
	5	8	110,5	1,41	4,87	100	115
Височина при кръстеца	1	10	80,9	1,07	3,03	76	85
	2	9	84,7	1,13	1,87	81	87
	3	6	92,5	1,39	4,80	84	98
	4	6	104,0	1,39	3,52	101	110
	5	8	110,7	1,20	3,91	102	114
Височина при корена на опашката	1	10	78,5	1,27	3,62	72	83
	2	9	82,8	1,34	3,45	77	87
	3	6	90,5	1,64	5,39	81	97
	4	6	101,1	1,64	3,37	95	105
	5	8	109,8	1,42	4,35	100	115
Височина при седалищните възвишения	1	10	71,5	1,05	1,26	70	73
	2	9	75,2	1,11	3,89	70	82
	3	6	83,2	1,35	4,70	76	89
	4	6	95,0	1,35	4,05	91	99
	5	8	100,0	1,17	2,61	95	103

При преценката на мъжките животни, особено внимание се обръща на развитието на тестисите. В табл. 32 са представени данните за възрастовите изменения на размерите на тестисите при РКГ.

Табл. 32. Възрастово изменение на размера на тестисите при мъжките животни.

Признак	Възрастова група	N	ΔX	SD	$\pm SE$	Min.	Max.
Обхват на скротума, см	1	10	14,6	1,67	0,76	11,0	17,0
	2	9	19,8	2,54	0,80	15,0	23,0
	3	6	24,0	2,81	0,98	21,5	29,0
	4	6	24,9	1,37	0,98	23,0	27,0
	5	8	30,0	3,27	0,85	23,0	34,0
Дължина на ляв тестис, см	1	10	6,19	0,68	0,34	5,3	7,2
	2	9	8,22	0,81	0,36	6,9	9,4
	3	6	9,90	1,17	0,44	8,5	11,5
	4	6	10,7	1,48	0,44	9,2	13,0
	5	8	12,4	1,39	0,38	11,0	15,1
Дължина на десен тестис, см	1	10	6,42	0,78	0,40	5,3	7,6
	2	9	8,64	1,21	0,42	7,2	11,0
	3	6	9,95	1,17	0,51	8,9	11,6
	4	6	11,1	1,63	0,51	9,8	14,0
	5	8	12,2	1,52	0,45	10,4	15,2
Обем на тестисите, см ³	1	10	54,3	15,2	21,4	28,8	79,6
	2	9	136,8	46,3	22,6	68,6	199,1
	3	6	235,1	83,6	27,7	159,3	384,8
	4	6	268,8	44,7	27,7	222,5	348,0
	5	8	449,0	115,0	24,0	230,5	614,5

На 5 годишна възраст, обхватът на скротума е 30,0 см. Това е по- малко в сравнение например с породите Херефорд – 34,0 см, Абердин Ангус – 35,6 см, Шароле – 35,3 см и Симентал – 37,1 см (*Latimer et al., 1982*), но съпоставено с размера на тялото при биците от тази порода, обхватът на скротума може да бъде определен като значителен. *Mokgadi et al. (2016)* са установили достоверни различия между индивидите по отношение на този показател и живата маса на животните, като бикът с най – висока жива маса е бил и с най – голяма скротална обиколка. От посочените по – горе данни е видно, че това едва ли се отнася за породите, като цяло.

В рамките на изследвания период, обхватът на скротума, се е увеличил двукратно. Левият и десният тестис са нараствали практически равномерно, като между 1- и 5- годишна възраст, дължината им се е увеличила 2 пъти.

Предложението на авторите за използването на обиколката на скротума, като критерий за достигане до полова зрялост, е практически не приложимо при биците от породата Родопско късорого говедо. Те достигат препоръчания обхват на скротума на четири и пет годишна възраст, а включените в проучването на спермопродуктивността животни на възраст 18 месеца имат значително по – добри показатели на спермата. Очевидно при РКГ, мъжките животни достигат полова зрялост при значително по – малък обхват на скротума.

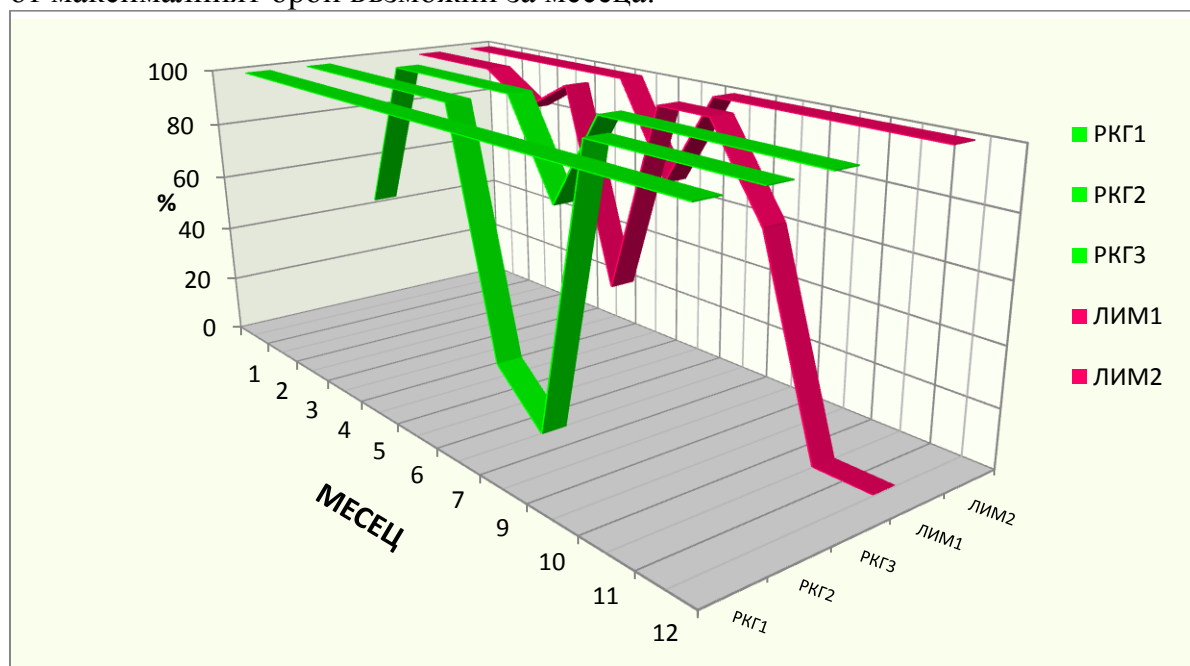
У нас е прието биците да се включват в разплод на 15-18 месечна възраст. Както, ще коментираме в следващите раздели, на 2-годишна възраст биците от породата РКГ имат добра спермопродукция и качество на спермата. На тази възраст параметрите на тестисите достигат 66,3% за обхвата на скротума, 65,9% за дължината на левия и 70,4% за дължината на десния тестис и едва 30,5% от обема на тестисите при 5-годишните бици.

4.3.2. Полова потентност, спермопродукция, характеристика на спермата

Репродуктивната способност при мъжките животни е съвкупност от показатели, най – важните, от които са половата потентност и качеството на спермата.

Биците от породата РКГ имат добра полова потентност и високо качество на спермата. Проучваните от нас животни са използвани в СИО 14 месеца. През първите 2, са приучвани към получаване на сперма по метода на изкуствената вагина. През този период са получени 9 еякулата за преценка на качеството на спермата. По време на използването, 1 месец през лятото (август), сперма не се получава и биците почиват. Така, за 11 месеца стопанско използване от биците от породата РКГ са получени от 62 до 66 еякулата – средно 5,5 еякулата месечно от бик. Първичен брак на еякулати (на свежа сперма, поради ниско качество) не е правен, а при вторичния (на замразена сперма след размразяване) – са бракувани общо 3,1% от еякулатите. По този начин, от биците са получени средно по 5,4 качествени еякулата месечно.

Посоченият брой на получените еякулати обаче, не е показател за половата потентност на биците. През отделните месеци, сперма е получавана нерегулярно – от 4 до 10 еякулата на месец. По – точно за потентността може да се съди от фиг. 26, на която са представени процентите на получените еякулати от максималният брой възможни за месеца.



Фиг. 26. Получени еякулати от максимален брой възможни, в периода на стопанско използване на биците

Видно е, че от един от разплодниците от породата РКГ, през всички месеци са получени максималния брой еякулати (100%), при втория са получени 91.9, а при третия 83.3% от максимума. Средно за трите бика, включени в това проучване процентът е 91.7%.

Средният обем на еякулата при биците от породата Родопско късорого говедо, за изследвания период, е $1,63 \pm 0,07$ ml (табл. 33), като при отделните разплодници варира от $1,24 \pm 0,19$ (Борис 0014209) до $2,02 \pm 0,08$ (Винех 0014208). При отделните получавания, минималният обем на еякулата е бил от 0,5 при Винех и Борис до 1,7 при Алек (0014207), а максималният – от 2,0 при Борис до 4,0 при Алек.

Табл. 33. Показатели, характеризиращи качеството на еякулатите при бици от породата Родопско късорого говедо

Показател	N	LSM	$\pm$ SE	SD	Min	Max
Обем, ml	203	1,634	0,072	0,700	0,50	4,00
Подвижност, %	203	73,72	0,333	3,702	70,00	85,00
Концентрация, $1.10^6/\text{ml}$	203	1248,7	13,05	122,4	950,0	1590,0
Тотална концентрация, 1.10^6	203	2044,1	93,04	888,2	485,0	5800,0

Достоверно влияние върху обема на еякулата оказва и месецът на получаване на спермата, както и месецът в рамките на сезона, като самите сезони различия по този показател са недостоверни, въпреки варирането им в широки амплитуди (табл. 35). Най – голям е обемът на еякулата през лятото и най – нисък през зимата, като разликата е 38,2%.

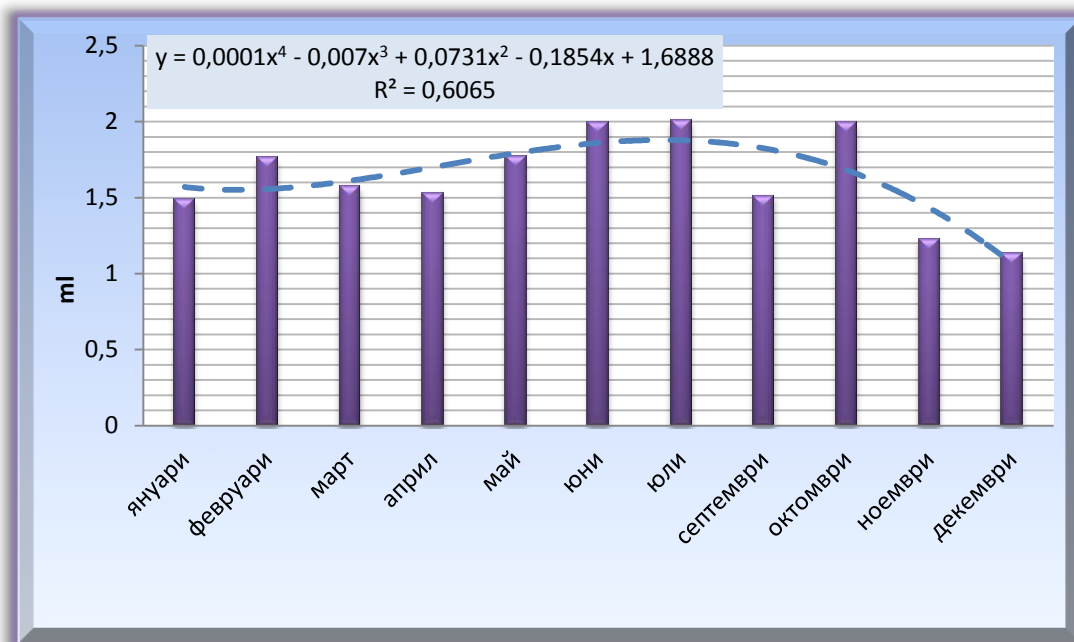
С най – малък обем са еякулатите получени през декември – $1,13 \pm 0,14$, а с най – голям – получените през юли $2,01 \pm 0,43$ (фиг. 27). От фигурата е видно, че обемът на еякулата се задържа на по – високо ниво (от 1,77 ml до 2,00 ml) в периода от май до октомври, а на по – ниско от ноември до април, макар изменението да не е линейно.

Спермата на биците от породата РКГ е с висока концентрация, а сперматозоидите са с висока подвижност (табл. 33), като индивидите достоверно ($P < 0.001$) са се различавали по двата показателя. Подвижността на сперматозоидите при отделните бици варира от $71.7 \pm 0.89\%$ при Борис до $77.6 \pm 0.42\%$ при Телериг (0014206), а концентрацията на спермата – от $1169 \pm 34,74 \times 10^6/\text{ml}$ до $1351 \pm 16.4 \times 10^6/\text{ml}$, съответно при същите два бика.

Табл. 35. Сезонни различия в показателите, характеризиращи качеството на еякулатите.

Признак	Сезон	N	LSM	±SE	SD	Min	Max
Обем, ml	Пролет	60	1,575	0,098	0,684	0,50	3,50
	Лято	11	1,959	0,203	0,481	1,50	3,00
	Есен	72	1,593	0,079	0,733	0,50	4,00
	Зима	60	1,417	0,096	0,671	0,50	3,00
Подвижност, %	Пролет	60	74,16	0,418	3,381	70,00	80,00
	Лято	11	70,85	0,870	1,508	70,00	75,00
	Есен	72	74,88	0,338	3,750	70,00	85,00
	Зима	60	73,48	0,413	3,806	70,00	80,00
Концентрация, $1.10^6/ml$	Пролет	60	1232,9	16,23	93,65	1000	1510
	Лято	11	1217,6	33,76	95,72	1110	1430
	Есен	72	1283,1	13,10	141,8	950,0	1590
	Зима	60	1238,8	16,00	124,7	960,0	1530
Тотална концентрация, 1.10^6	Пролет	60	1949,1	126,5	862,5	680,0	4340
	Лято	11	2384,6	263,3	618,4	1845	3690
	Есен	72	2054,0	102,2	974,4	525,0	5800
	Зима	60	1745,2	124,8	806,2	485,0	3870

Показателно е, че бикът с най – висока концентрация на спермата е имал и най – висока подвижност на сперматозоидите и обратно. При отделните получавания, подвижността на сперматозоидите е била от 70% до 85%, а концентрацията – от 950 до 1590 x $10^6/ml$.



Фиг. 27. Месечна динамика на обема на еякулата

Установените от нас качествените показатели на спермата – подвижност и концентрация, при биците от породата РКГ, са със значително по – високи стойности, от тези на комерсиалните породи, отглеждани у нас.

Установената динамика на качествените показатели на спермата не кореспондира със сезонната динамиката на запложданията. През цялата година, биците имат висока репродуктивна способност, като все пак, в периода на масови заплождания – април – юли тоталната концентрация на сперматозоиди в еякулата е сравнително най – висока. Най – ниски са нивата от ноември до януари, когато се заплождат едва 8% от женските животни.

4.3.3. Морфология, метаболизъм, биоенергетика и кинетика на сперматозоидите.

Важна част при оценката на репродуктивната способност на биците е преценката на морфологията на сперматозоидите в еякулата, техния метаболизъм, биоенергетика и кинетика.

В еякулатите на биците от породата Родопско късорого говедо, 78,3% от сперматозоидите са с нормална **морфология** (Табл.37). Сред патологичните форми (21,7%), най – често срещани са нарушенията в структурата на главичката и в средната част на сперматозоида. Сравнително по – рядко се срещат нарушения в структурата на опашката и наличие на цитоплазмена капчица.

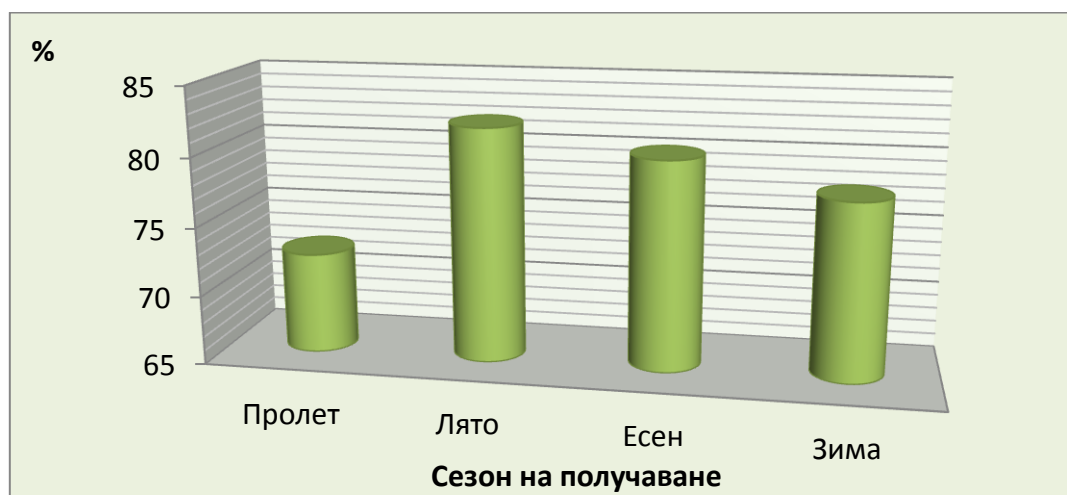
Табл. 37. Морфологично нормални сперматозоиди и сперматозоиди с морфологични нарушения, в еякулати на бици от породата РКГ, % (N-17)

Показател	ΔX	$\pm SE$	SD	Min.	Max.
Нормални сперматозоиди	78,3	1,723	7,104	66	87
Нарушения на структурата на главичката	6,60	1,430	5,894	0	18
Нарушения в средната част	6,13	1,053	4,343	0	20
Нарушения в структурата на опашката	5,35	1,328	5,477	0	18
Наличие на цитоплазмена капчица	3,60	0,931	3,839	0	10
Общо наличие на патологични форми	21,7	1,723	7,104	13	34

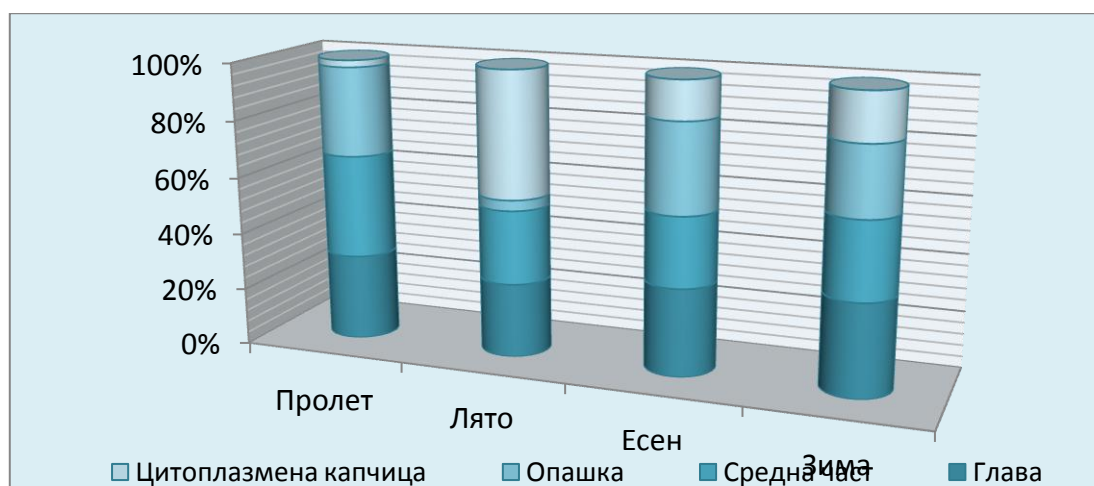
В проведеното от нас проучване установихме, че най – голям брой сперматозоиди с нормална морфология (82.0%) е имало в еякулатите, получени през лятото (фиг. 31). През есента и зимата броят на нормалните сперматозоиди постепенно намалява, за да достигне минимална стойност (72.3%) през пролетта.

През различните сезони на получаване, в спермата на биците от породата РКГ преобладават различни патологични форми на мъжките гамети (фиг. 32).

Най – висок процент патологични сперматозоиди има през пролетта - 27,7%. От тях 8,3% са с нарушения в структурата на главичката, 10% в средната част, 8,7% на опашката и само 0,7% са с цитоплазмена капчица.



Фиг. 31. Сезонна динамика на количеството на морфологично нормални сперматозоиди в еякулата.



Фиг. 32. Сезонна динамика на наличието на дефектни сперматозоиди в еякулата.

Дефектните сперматозоиди с цитоплазмена капчица преобладават през лятото.

Относително сходен, през отделните сезони е процентът на нарушения на главичката на сперматозоидите.

Движението на сперматозоидите е изключително важно за оплождането. За по – подробно и точно проучване на характера и скоростта на предвижване на сперматозоидите се използва компютърно асистиран анализ на семенна течност (CASA), който приложихме и ние за изследване на кинетичните показатели на спермата на бици от породата РКГ. Данните на проучените параметри – скоростта на предвижване по същинската траектория, т.нар. праволинейно настъпателно движение (VCL, $\mu\text{m/s}$), компютърно генерираната

скорост по средно изминатия път (VAP, $\mu\text{m/s}$), скорост по права линия (VSL, $\mu\text{m/s}$), амплитуда на латерално преместване на главичката (ALH, μm), честота на трептене на опашката (BCF, Hz), линейност (LIN, %), изправеност (STR, %) и коефициент на трептене (WOB, %), от изследвани 17 проби, еквилибрирана сперма с 52 566 подвижни сперматозоида, са представени в табл. 39.

Табл. 39. Характеристика на мотилитета на сперматозоиди в еквилибрирана сперма от бици от породата РКГ

Показател	ΔX	$\pm SE$	SD	Min.	Max.
VCL, $\mu\text{m/s}$	95,5	4,71	37,3	24,7	138,0
VSL, $\mu\text{m/s}$	27,2	0,88	10,1	8,51	41,2
VAP, $\mu\text{m/s}$	50,6	1,89	19,2	14,2	70,3
LIN, %	29,0	1,10	3,51	23,5	34,5
STR, %	54,2	1,09	3,59	47,9	59,9
WOB, %	53,4	0,99	3,04	48,4	58,9
ALH, μm	3,99	0,23	1,53	1,02	5,97
BCF, Hz	6,15	0,23	1,60	2,94	8,20

От представените данни е видно, че в еквилибрирана сперма, сперматозоидите на биците от породата РКГ запазват сравнително добра скорост на предвижване по реалната си траектория (VCL), но останалите параметри, характеризиращи скоростта (VSL и VAP), са сравнително ниски. Ниски са и стойностите на параметрите, отнасящи се до прогресивността (LIN, STR, WOB, BCF и ALH).

Що се отнася до сезонните различия в параметрите, характеризиращи движението на сперматозоидите, при отделните показатели варирането на средните стойности е от 4,7% за WOB до 93,7% за VCL, като не се наблюдава последователна сезонна динамика (табл. 41).

Табл. 41. Характер на движенията на сперматозоидите ($\Delta X \pm SE$) през различните сезони на получаване на спермата.

Показател	Пролет	Лято	Есен	Зима
VCL, $\mu\text{m/s}$	73,4 $\pm$ 10,5	118,3 $\pm$ 10,6	70,2 $\pm$ 8,6	120,1 $\pm$ 7,4
VSL, $\mu\text{m/s}$	19,6 $\pm$ 1,9	35,8 $\pm$ 1,9	20,8 $\pm$ 1,6	32,6 $\pm$ 1,4
VAP, $\mu\text{m/s}$	37,4 $\pm$ 4,2	64,7 $\pm$ 4,2	38,1 $\pm$ 3,4	62,5 $\pm$ 3,0
LIN, %	28,4 $\pm$ 2,4	30,2 $\pm$ 2,4	30,1 $\pm$ 2,0	27,4 $\pm$ 1,7
STR, %	54,3 $\pm$ 2,4	55,5 $\pm$ 2,4	55,0 $\pm$ 1,9	52,3 $\pm$ 1,7
WOB, %	52,2 $\pm$ 2,2	54,7 $\pm$ 2,2	54,6 $\pm$ 1,8	52,3 $\pm$ 1,5
ALH, μm	3,24 $\pm$ 0,53	4,72 $\pm$ 0,53	2,99 $\pm$ 0,43	5,03 $\pm$ 0,38
BCF, Hz	4,65 $\pm$ 0,51	7,49 $\pm$ 0,51	5,60 $\pm$ 0,41	6,88 $\pm$ 0,36

Скоростта на сперматозоидите по същинската им траектория на движение (VCL) е най – висока през зимата и лятото, а най – ниска през пролетта и есента, като стойностите за двата сезона са близки. По – високи през зимата и лятото са

и средните стойности на BCF, VSL и VAP, като при последните два, стойностите през зимата и лятото, както и през пролетта и есента са със сходни стойности. През лятото и зимата в сравнение с пролетта и есента стойността на VAP е почти два пъти по – висока. Стойността на ALH е най – висока през зимата, а след това постепенно към есента намалява. При останалите показатели, характеризиращи кинетиката на сперматозоидите (LIN, STR, WOB) се наблюдават по – високи стойности през лятото и есента, в сравнение със зимата и пролетта.

В зависимост от скоростта на предвижване, 92,2% от всички изследвани подвижни сперматозоиди в еквилибрирана сперма от РКГ, са класифицирани като бързи, 6,85% са средно бързи и само 0,70% са с бавна скорост на предвижване (табл.42).

Скоростта на предвижване на сперматозоидите и характерът на движенията им могат да бъдат повлияни, като от наличието на морфологично дефектни форми в спермата, така и от ензимната активност, свързана с енергийната обезпеченост на сперматозоида и податливостта му на оксидативен стрес.

Табл. 42. Процентно разпределение на сперматозоидите според скоростта им (N – 52566 бр.сп.)

Скорост на предвижване	LSM	± SM	SD	Min.	Max.
Бързи, %	92,2	1,018	10,0	66,8	99,9
Средно бързи, %	6,84	0,891	8,83	0,14	28,7
Бавни, %	0,70	0,156	1,03	0	3,45

В табл. 43 са представени резултатите от проведеното проучване върху съдържанието на ензимите лактатдехидрогеназа и гамаглутамилтрансфераза в еквилибрирана сперма от бици от породата РКГ, чрез воден и тритонов екстракт. Средното количество на LDH получено във воден екстракт е $2,57 \pm 0,32$ UI/mg, а на GGT- $0,38 \pm 0,07$ UI/mg.

Табл. 43. Ензимна активност на свежа сперма от бици от породата Родопско късорого говедо във воден и тритонов екстракт.

Показател	N	ΔX	± SE	SD	Min.	Max.
Воден екстракт на LDH, UI/ mg protein	17	2,570	0,317	1,333	0,450	5,670
Тритонов екстракт на LDH, UI/ mg protein	17	2,332	0,300	1,216	0,190	4,870
Воден екстракт на GGT, UI/ mg protein	17	0,375	0,072	0,356	0,020	0,970
Тритонов екстракт на GGT, UI/ mg protein	17	0,466	0,079	0,366	0,030	0,920

4.4. ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА IN VITRO СЪХРАНЯВАНЕ НА ГЕНЕТИЧЕН МАТЕРИАЛ

Възможностите за in vitro съхраняване на генетичен материал се определят от качеството му и от устойчивостта му при криоконсервация.

След криоконсервиране (СК), се съхранява 85,5% от броя на нормалните сперматозоиди.

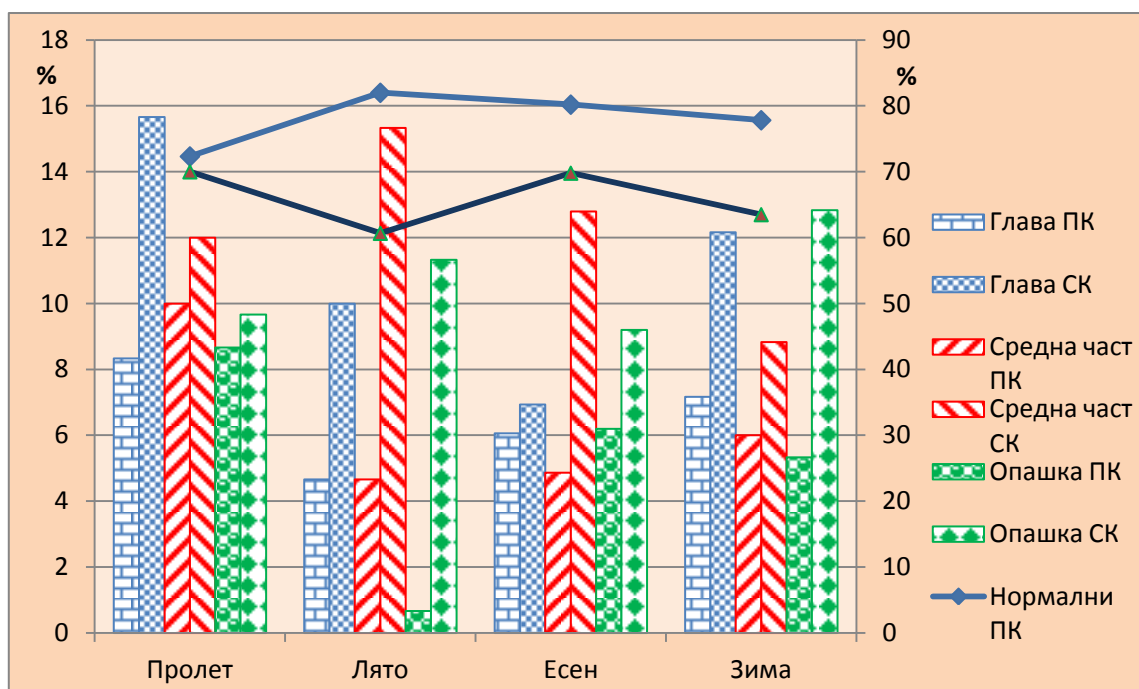
Общият процент патологични сперматозоиди се увеличава достоверно ($P<0.01$), като най – значително нараства броят на сперматозоидите с нарушения на опашката – повече от два пъти ($P<0.01$), следват от нарушенията на главичката – с 69.7% и на средната част – с 51.6%. Единствено броят на сперматозоидите с цитоплазмена капчица не само не се увеличава, но и намалява с 39.5%.

Табл. 45. Изменение на морфологията на спермата след криоконсервация.

Показател	ПК/ СК*	ΔX	$\pm SE$	SD	Min.	Max.
Нормални сперматозоиди, %	ПК	78,1	3,09	7,10	66	87
	СК	66,0	3,09	14,70	34	88
Нарушения на главичката, %	ПК	6,6	1,76	5,89	0	18
	СК	11,2	1,76	7,40	0	28
Нарушения в средната част, %	ПК	6,4	2,14	4,34	0	20
	СК	9,7	2,14	10,9	0	38
Нарушения на опашката, %	ПК	5,2	1,46	5,47	0	18
	СК	10,7	1,46	5,73	0	22
Наличие на цитоплазмена капчица, %	ПК	3,8	0,99	3,83	0	10
	СК	2,3	0,99	4,02	0	14
Общо наличие на патологични форми, %	ПК	21,9	3,09	7,10	13	34
	СК	34,0	3,09	14,70	12	66

**-ПК- преди криоконсервация, СК- след криоконсервация*

Сезонът на получаване на спермата и индивидът не са били достоверни източници на вариране на броя на нормалните сперматозоиди и патологичните форми след размразяване, въпреки, че се наблюдават значителни индивидуални и сезонни различия (фиг. 34).



Фиг. 34. Влияние на криоконсервацията върху съдържанието на нормални и патологични сперматозоиди в еякулати, замразени през различни сезони

От фигурата е видно, че най – малко нормални сперматозоиди са отпаднали от еякулатите, получени през пролетта – 3.2%, а най – много – от замразените през лятото – 26.0%, следвани от получените през зимата (18,4%) и есента (13.0%). Различия се наблюдават и по отношение на причините за отпадане. При еякулатите, замразени през пролетта, най – значителни промени са настъпили в главичките на сперматозоидите, като отпадането по тази причина, след размразяването практически се е удвоило. При замразените през зимата, също се наблюдава по – значително увеличаване на отпадането поради нарушения в главичката, но по – значителни са нарушенията на опашката на сперматозоидите. Нарушенията на опашката са водещи и за отпадане на криоконсервираните сперматозоиди от еякулатите, замразени през лятото, като в сравнение с еквилибрираната сперма, тези нарушения са нараснали почти 10 пъти. На второ място, при тези еякулати е отпадането на сперматозоиди поради нарушения на средната част, и на последно, но отново значително е отпадането поради нарушения в главичката на сперматозоидите. Нарушенията в средната част на сперматозоидите са били водещи за намаляване на броя на нормалните сперматозоиди в еякулатите, получени през есента.

Отпадането на нормални сперматозоиди при криоконсервацията в еякулатите на отделните индивиди е от 7.5 до 21.3%, като най – много сперматозоиди са отпаднали при разплодника с най – висока концентрация, подвижност и брой нормални сперматозоиди в спермата след еквилибрация. На практика, след размразяването, максималната разлика в броя на нормалните сперматозоиди между разплодниците е едва 5.8%.

Измерените стойности на ензимната активност на криоконсервирана сперма от биците, след размразяване, са представени в табл. 46., като са налице

значителни различия при еякулатите, получени и замразени през различните сезони (табл. 47).

Табл. 46. Ензимна активност на криоконсервирана сперма от бици.

Показател, UI/ mg protein	N	ΔX	$\pm SE$	SD	Min.	Max.
Ви LDH	27	1,558	0,145	0,516	0,68	2,51
Ти LDH	27	0,963	0,108	0,390	0,21	2,01
Ви GGT	27	1,683	0,174	0,825	0,05	2,30
Ти GGT	27	1,519	0,133	0,762	0,02	1,99
Ви AP	27	0,429	0,013	0,292	0,02	1,06
Ти AP	27	0,247	0,040	0,182	0,04	0,78

Най – високи стойности на лактатдехидрогеназата (воден екстракт) в еквилибрираната и размразената сперма са отчетени в еякулатите, получени през пролетта, а най – ниска – през лятото. При гама-глутамилтрансферазата, най – високи стойности на еквилибрираната сперма са отчетени през лятото, а най – ниски, през есента, а след криоконсервацията ѝ – най – високи отново през лятото, но най - ниски през пролетта. След криоконсервация се наблюдава активиране на ензимите в част от еякулатите. Максималните разликите между индивидите по отношение на Ви LDH в размразената сперма са 32,1%, по Ви GGT – 28,7%, а по Ви AP – 52,9%.

Табл. 47. Ензимна активност на сперма от бици във воден и тритонов екстракт, преди и след криоконсервация в различни сезони ($\Delta X \pm SE$).

Метод на извличане	ПК/СК*	Пролет	Лято	Есен	Зима
Ви LDH (UI/ mg protein)	ПК	4,007 $\pm 0,473$	1,393 $\pm 0,473$	2,964 $\pm 0,366$	1,815 $\pm 0,334$
Ти LDH (UI/ mg protein)		3,663 $\pm 0,402$	1,647 $\pm 0,402$	2,538 $\pm 0,311$	1,495 $\pm 0,284$
Ви LDH (UI/ mg protein)	СК	2,280 $\pm 0,473$	1,517 $\pm 0,473$	1,684 $\pm 0,366$	1,597 $\pm 0,334$
Ти LDH (UI/ mg protein)		1,110 $\pm 0,402$	1,180 $\pm 0,402$	1,124 $\pm 0,311$	0,820 $\pm 0,284$
Ви GGT (UI/ mg protein)	ПК	0,347 $\pm 0,354$	0,650 $\pm 0,354$	0,052 $\pm 0,274$	0,455 $\pm 0,25$
Ти GGT (UI/ mg protein)		0,530 $\pm 0,315$	0,747 $\pm 0,315$	0,076 $\pm 0,244$	0,517 $\pm 0,223$
Ви GGT (UI/ mg protein)	СК	0,083 $\pm 0,354$	1,740 $\pm 0,354$	1,024 $\pm 0,274$	0,863 $\pm 0,250$
Ти GGT (UI/ mg protein)		0,070 $\pm 0,315$	1,800 $\pm 0,315$	0,834 $\pm 0,244$	0,735 $\pm 0,223$

*-ПК- преди криоконсервация; СК – след криоконсервация

Скоростта на придвижване на сперматозоидите по същинската траектория (VCL, $\mu\text{m/s}$) намалява с над 35% след размразяването на криоконсервираната сперма (Табл. 48), но като цяло скоростта на сперматозоидите се запазва в нормални граници ($58,62 \pm 5,60$). Близки резултати, по отношение на този показател са получени от Николов и др.(1994) след размразяване на криоконсервирана сперма от бици от породата Холщайн – фризийско говедо. По отношение на скоростта по средно изминатия път (VAP, $\mu\text{m/s}$) и скоростта по права линия (VSL, $\mu\text{m/s}$) не се наблюдават значителни изменения. Нарастването на линейността (LIN, %) след криоконсервацията се дължи на изменението на съотношението между VSL и VCL. Подобно изменение се наблюдава и при процента на изправеност (STR, %), дължащо се на изменение на съотношението между VSL и VAP. Коефициентът на трептене (WOB,%) също нараства след криоконсервация. Амплитудата на латерално преместване на главичката (ALH, μm) и честотата на трептене (BCF, Hz) не се променят съществено.

Данните представени в табл. 48 показват, че след криоконсервацията макар и да губят от скоростта си на придвижване (VCL и VAP) сперматозоидите запазват нормалната си прогресивност (средни стойности на LIN, STR, WOB и ниски за ALH).

Табл. 48. Влияние на криоконсервацията върху характера на движенията на сперматозоиди от бици.

Показател	CE/CK*	N	Средно	$\pm\text{SE}$	SD	Min	Max
VCL, $\mu\text{m/s}$	CE	52566	93,7	5,60	37,37	24,7	138,0
	CK	66212	58,6	4,78	19,21	35,9	118,2
VSL, $\mu\text{m/s}$	CE	52566	26,6	1,79	10,17	8,5	41,2
	CK	66212	24,2	1,53	8,38	12,8	42,8
VAP, $\mu\text{m/s}$	CE	52566	49,7	2,86	19,19	14,2	70,3
	CK	66212	37,5	2,44	11,11	22,9	61,7
LIN, %	CE	52566	28,9	1,84	3,51	23,5	34,5
	CK	66212	41,4	1,57	9,21	25,1	61,9
STR, %	CE	52566	54,1	1,70	3,59	47,9	59,9
	CK	66212	63,7	1,45	8,66	49,8	83,8
WOB, %	CE	52566	53,4	1,30	3,04	48,4	58,9
	CK	66212	64,5	1,11	6,01	50,4	78,1
ALH, μm	CE	52566	3,93	0,22	1,53	1,02	5,97
	CK	66212	2,99	0,19	0,62	1,90	5,16
BCF, Hz	CE	52566	6,03	0,29	1,60	2,94	8,20
	CK	66212	6,19	0,25	1,30	4,09	8,90

*- CE- след еквилибриране; CK – след криоконсервация

Сезонът на получаване на спермата оказва достоверно влияние върху характера на движенията на сперматозоидите след криоконсервацията. Най – значителни са промените, при спермата, получена през лятото (табл. 49). През

този сезон, преди криоконсервацията сперматозоидите са имали сравнително висока скорост по същинската си траектория, но след криоконсервацията тя е почти три пъти по – ниска.

При еякулатите, получени през зимата е регистрирана най – висока средна скорост по същинската траектория преди и след криоконсервацията на пробите, но най – малка загуба на подвижността има при еякулатите, получени през есента – 13.4% и пролетта – 14.8%.

Табл. 49. Влияние на криоконсервацията през различни сезони върху характера на движенията на сперматозоиди от бици.

Показател	СЕ/СК*	Пролет	Лято	Есен	Зима
VCL, $\mu\text{m/s}$	СЕ	73,47 $\pm$ 12,73	118,3 $\pm$ 12,73	63,13 $\pm$ 9,86	120,1 $\pm$ 9,00
	СК	62,63 $\pm$ 9,00	43,01 $\pm$ 12,73	54,66 $\pm$ 8,33	74,18 $\pm$ 7,35
VSL, $\mu\text{m/s}$	СЕ	19,64 $\pm$ 4,08	35,79 $\pm$ 4,08	18,48 $\pm$ 3,16	32,59 $\pm$ 2,89
	СК	29,57 $\pm$ 2,89	14,74 $\pm$ 4,08	22,40 $\pm$ 2,67	30,05 $\pm$ 2,36
VAP, $\mu\text{m/s}$	СЕ	37,44 $\pm$ 6,51	64,68 $\pm$ 6,51	34,12 $\pm$ 5,04	62,46 $\pm$ 4,60
	СК	41,98 $\pm$ 4,60	26,51 $\pm$ 6,51	34,50 $\pm$ 4,26	47,04 $\pm$ 3,76
LIN, %	СЕ	28,42 $\pm$ 4,18	30,22 $\pm$ 4,18	29,90 $\pm$ 3,24	27,41 $\pm$ 2,96
	СК	48,47 $\pm$ 2,96	34,59 $\pm$ 4,18	41,64 $\pm$ 2,74	41,27 $\pm$ 2,41
STR, %	СЕ	54,25 $\pm$ 3,86	55,16 $\pm$ 3,86	54,80 $\pm$ 2,99	52,25 $\pm$ 2,73
	СК	70,53 $\pm$ 2,73	55,69 $\pm$ 3,86	64,82 $\pm$ 2,53	63,65 $\pm$ 2,23
WOB, %	СЕ	52,21 $\pm$ 2,96	54,66 $\pm$ 2,96	54,46 $\pm$ 2,29	52,24 $\pm$ 2,09
	СК	68,02 $\pm$ 2,09	62,02 $\pm$ 2,96	63,56 $\pm$ 1,93	64,40 $\pm$ 1,71
ALH, μm	СЕ	3,240 $\pm$ 0,51	4,723 $\pm$ 0,51	2,720 $\pm$ 0,40	5,030 $\pm$ 0,36
	СК	3,117 $\pm$ 0,36	2,713 $\pm$ 0,51	2,750 $\pm$ 0,34	3,379 $\pm$ 0,29
BCF, Hz	СЕ	4,653 $\pm$ 0,68	7,487 $\pm$ 0,68	5,082 $\pm$ 0,52	6,877 $\pm$ 0,48
	СК	7,333 $\pm$ 0,48	4,690 $\pm$ 0,68	6,233 $\pm$ 0,44	6,501 $\pm$ 0,39

*- СЕ- след еквилибриране; СК – след криоконсервация

5. ОБОБЩЕНИЕ

При автохтонната породата Родопско късорого говедо има добри перспективи за in situ консервиране – през последните 6 години контролираната част на популацията нараства средно с 30% годишно, като през 2014 г. се контролират 1121 крави.

Животните от породата РКГ се отглеждат във ферми с различен размер. Фермите с до 9 крави са 41.3% от общия брой, като в тях се отглеждат 11.3% от кравите под селекционен контрол; с от 10 до 49 крави са 50.8% от фермите, в тях се отглеждат 53.8% от кравите; с над 50 крави са 7.9% от фермите, в тях се отглеждат 34.9% от контролираните крави.

Контролираната част на популацията има добър развъден статус: броят на младите женски животни за разплод се поддържа на ниво около 20% от броя на кравите; половото съотношение женски към мъжки животни за естествено

покриване е 30: 1; в Националната генбанка има стокирани 19500 дози криоконсервирана сперма от 7 неродствени бика.

Юниците от породата РКГ се заплождат на средна възраст 654,7 дни (21,5 месеца), а средната възраст на първо отелване е 934,6 дни (30,6) месеца, като достоверно влияние върху половата зрялост оказват фермата и сезонът на раждане. Най – рано се заплождат юниците, родени през лятото, а най – късно, родените през зимата, като разликата е над 6 месеца. Разликата във възрастта на първо заплождане между регионите е близо 6 месеца, като най – рано се заплождат юниците от Златоградския, а най – късно от Кърджалийския регион.

Към 2 годишна възраст, юниците от породата РКГ имат размери и пропорции на тялото близки до тези на завършилите растежа си крави, което ги прави годни за разплод. По основните екстериорни измерения височина при холката, коса дължина на тялото, обхват на гърдите и обхват на свирката на 2 годишна възраст юничките достигат, съответно 98.3, 92.8, 95.4 и 94.9% от съответните параметри на завършилите растежа си крави. Регионът оказва достоверно нееднопосочно влияние върху половата и стопанската зрялост, от една и растежа и развитието на животните от друга страна, поради което годността на животните за разплод трябва да се преценява в рамките на региона. Най – дребни са животните от Златоградски регион, най – едри – от Кърджалийски, а с най – добри пропорции на тялото – от Смолянски регион. С най – добър екстериор са животните, при които условията благоприятстват първо заплождане на възраст 20-21 месеца и съответно първо отелване на 29-30 месеца.

РКГ има ясно изразена сезонна полова цикличност. През пролетта и лятото са се заплождали 81% от животните с пик на заплождане от април до юни. Сезонността на заплождане и отелване е свързана с региона на отглеждане. В Пловдивски, Смолянски и Златоградски регион през зимата и пролетта се получават практически еднакъв брой телета, в Кърджалийски през зимата се раждат 24,0% повече, в сравнение с пролетта, а в Хасковски- обратно, през пролетта има 44,6% повече отелвания от зимата.

Пикът на заплождане на юниците (януари-април), не съвпада с този при кравите като цяло (април-юни) и е свързан приоритетно с възрастта на достигане на полова зрялост. През следващите две години, пикът на заплождане и отелване постепенно се изравнява с характерния за региона. Това е свързано с удължаване на I-ви и II-ри междуотелен период, като колкото по – далеч от пика на заплождане на кравите е отелването, толкова по удължен е междуотелният период.

Средната продължителност на бременността при породата Родопско късорого говедо е $281,32 \pm 0,31$. Достоверно влияние върху продължителността ѝ оказват регионът, фермата, годината на отелване и индивидът. С възрастта, продължителността на бременността постепенно нараства и между първо и седмо отелване се увеличава средно с 2,5 дни. Такава е и максималната разлика на средната продължителност на бременността между регионите.

На основата на ехографско изследване установихме, че на 28-ия ден след заплождането ембрионът при РКГ е с дължина 12 mm. На 35-ти ден, плодният мехур е с диаметър 41 mm. На 40-тия ден амниотичната обвивка около ембриона

е оформена; ембрионът е добре оформен с дължина 18 mm и диаметра на коремчето е 8 mm. На 50-ти ден от бременността ембрионът е с диаметър 41 mm и диаметър на коремчето 10 mm. На 75-ти ден се виждат и могат да бъдат измерени различни части на тялото на фетуса; диаметърът на коремчето е 37 mm; плацентомите са добре оформени и са с диаметър 23 mm. На 90 – ти ден от бременността цялата главата все още може да бъде заснета в едно зрително поле на ехографа; дължината на главата на е 50 mm. На 120-ти ден дължината на предния крайник на фетуса е 39mm; диаметърът на пъпната връв - 19 mm, а на окото - 20mm.

Средната продължителност на междуотелния период при породата Родопско късорого говедо е $464 \pm 5,66$ дни, като върху продължителността му достоверно влияние оказват месецът, сезонът и годината на отелване, фермата и индивидът. В сравнение с пролетта, при кравите, отелени през зимата, междуотелният период е увеличен с 15,8 дни, през есента – с 24,9, а през лятото – с 51,6. Най – удължен е I-ви междуотелен период; до трети, включително, продължителността намалява, а след това постепенно нараства. Наред със споменатия преход към най – благоприятния за региона сезон на заплождане, от първо към трето отелване, причина за удължения междуотелен период е и недостатъчния надзор върху репродукцията при кравите, като на фона на преобладаващ брой ферми със средна продължителност на периода от 386 до 445 дни, варирането е от 344 до 731 дни.

Съдържанието на глюкоза, общ белтък, холестерол, триглицериди, креатинин, Ca, P и Mg в кръвната плазма на РКГ достоверно се влияят от сезона. С изключение на холестерола и Ca, при останалите показатели са установени и достоверни регионални различия. По – ниски от физиологичните норми, през проучваните сезони и във всички региони са нивата на общия белтък, а по – високи на креатинина. През есента, в сравнение с пролетта, значително над нормата е съдържанието на кръвна захар, по – високи са нивата на холестерола и триглицеридите, а по – ниски на креатинина и общи белтък. През пролетта нивото на макроелементи в кръвта е по – ниско отколкото през есента, като при всички проучени елементи е под физиологичните норми. Като цяло, по – ниско е съдържанието на макроелементи в Западните Родопи, а напрежението на функциите, през есента – в Хасковския регион.

За разлика от юниците, които към 2 годишна възраст, имат размери и пропорции на тялото близки до тези на завършилите растежа си крави, при бичетата от породата РКГ растежът е по – бавен и продължава до 5-тата година. На 2 годишна възраст – при обичайното стопанско използване на биците от породата, основните телесни измерения – височина при холката, къса дължина на тялото, обхват на гърдите и обхват на свирката, достигат съответно 74,9, 70,4, 72,7 и 75,3% от тези на биците на 5 годишна възраст.

Биците от породата РКГ имат по – добре развити тестиси, в сравнение с други породи, но възрастовата им динамика е по – слаба и параметрите им не могат да служат за определяне на половата зрялост. При бичетата на 2 годишна възраст, обхватът на скротума, дължината на левия и на десния тестиси и обема на тестисите достигат съответно 66.3, 65.9, 70.4 и 30.5% от тези при 5-годишните бици. Независимо от посоченото, отчитайки високата потентност и

доброто качество на спермата, биците на тази възраст могат да се използват за разплод.

Биците от породата Родопско късорого говедо, използвани като донори на сперма в станцията по изкуствено осеменяване има много добра репродуктивна способност. Половата потентност е висока, като резултативни са били 91,7% от скачките. За 11 месеца стопанско използване от тях са получени средно по 5,5 еякулата месечно, от които 5,4 са с високо качество на спермата. Биците от породата реагират по – слабо от комерсиалните на сезонната динамика на природно – климатичните и стопански условия.

Качеството на спермата на биците от породата Родопско късорого говедо е значително по – добро от това на комерсиалните породи, отглеждани при сходни условия. Средният обем на еякулата е $1,63 (\pm 0,07)$ ml, концентрацията на спермата – $1248,7 \pm 13,1 \times 10^6/\text{ml}$, подвижност на сперматозоидите – $73,7 \pm 0,3$ и тотална концентрация на сперматозоиди в еякулата – $2044,0 \pm 93,0 \times 10^6$.

Между подвижност на сперматозоидите и концентрацията на спермата е налице високодостоверна умерена, положителна корелация. Двата показателя практически не се влияят от обема на еякулата, не са определящи и за тоталната концентрация на сперматозоидите. Последната се определя приоритетно от обема на еякулата.

Достоверно влияние върху подвижността на сперматозоидите и концентрацията на спермата оказва сезонът на получаване на спермата. Обемът на еякулата е най – висок през лятото и най – нисък през зимата, като разликата е 38,2%. Подвижността на сперматозоидите и концентрацията на спермата са най – ниски през лятото и най – високи през есента, но максималните разлики между сезоните са 5,7% за първия показател и 5,4% за втория.

В еякулатите на биците от породата РКГ 78,3% от сперматозоидите са с нормална морфология. Най – често срещаните морфологични нарушения се изразяват в изменения в структурата на главичката (6,6%) и в средната част на опашката на сперматозоида (6,1%). Броят на нормалните сперматозоиди и относителният дял на отделните патологични форми се влияе достоверно от сезона на получаване на спермата. Най – голям е относителният дял на нормалните сперматозоиди в еякулатите, получени през лятото, а най – малък през пролетта, като разликата е 10%. Морфологичните нарушения в структурата на сперматозоидите не влияят статистически достоверно върху основните параметри, характеризиращи качеството на еякулатите.

В еквилибрирана сперма 73,7% от сперматозоидите имат праволинейни настъпателни движения. Останалите параметри, характеризиращи скоростта (VSL и VAP), както и стойностите на параметрите, отнасящи се до прогресивността (LIN, STR, WOB, BCF и ALH) се сравнително ниски. Разплодниците, достоверно се различават по някои от параметрите, характеризиращи кинетиката на сперматозоидите (LIN, STR, WOB), а други параметри (VCL, VAP, VSL, , BCF и ALH) достоверно се повлияват от сезона на получаване на спермата. С най – добра подвижност са сперматозоидите от еякулатите, получени през зимата.

92,2% от подвижните сперматозоиди, в еякулатите на биците от породата РКГ са класифицирани като бързи, 6,85% са средно бързи и само 0,70% са с бавна скорост на предвижване.

Като цяло, корелациите на признаците характеризиращи кинетиката на сперматозоидите с ензимната активност и с морфологичните показатели на сперматозоидите са от ниски до средни и недостоверни. Достоверно подвижността на сперматозоидите се повлиява единствено от нивото на гама глутамин трансферазата (GGT) в спермата.

Спермата на биците от породата РКГ има висока криоконсервационна способност. След криоконсервиране, се съхраняват 85,5% от нормалните сперматозоиди, а скоростта на предвижване на сперматозоидите по същинската траектория е 58,6 $\mu\text{m/s}$. Сезонът на получаване на спермата и индивидът не са достоверни източници на вариране на броя на нормалните и патологичните сперматозоиди, но сезонните и индивидуалните различия са значителни. Най – малко нормални сперматозоиди са отпаднали от еякулатите, получени през пролетта – 3,2%, а най – много – от замразените през лятото – 26,0%. Отпадането на нормални сперматозоиди при криоконсервацията в еякулатите на отделните индивиди е от 7,5 до 21,3%. След размразяването, максималната разлика в броя на нормалните сперматозоиди между разплодниците е едва 5,8%.

Биците от породата РКГ достоверно се различават по обем на еякулата, качеството и криоконсервационна способност на спермата. Бикът с вай – висока концентрация на свежата спермата е имал най – висока подвижност на сперматозоидите и най – нисък процент патологични сперматозоиди, но след криоконсервацията при него са отпаднали най – голям брой нормални сперматозоиди.

През цялата година, биците имат висока репродуктивна способност, като все пак, в периода на масови заплождания – април - юли тоталната концентрация на сперматозоиди в еякулата е сравнително най – висока. Най – ниски са нивата от ноември до януари, когато се заплождат едва 8% от женските животни.

6. ИЗВОДИ.

1. При автохтонната порода Родопско късорого говедо има добра перспективи за *in situ* съхраняване. Като икономически устойчива единица за отглеждане на животните от породата се очертават ферми с размер 10 - 29 крави.

2. Родопското късорого говедо е къснозряла порода. Средната възраст на първо заплождане е на 21.5 месеци и достоверно се влияе от региона и фермата.

3. При свободно отглеждане като майки – кърмачки, кравите от породата РКГ проявяват ясно изразена сезонна полова цикличност с пик на заплождане, в зависимост от региона на отглеждане, от април до юни.

4. Заплождането на юниците се влияе по – слабо от сезона и е свързано основно с достигане на половата зрялост. През следващите две години, пикът на заплождане и отелване постепенно се изравнява с характерния за региона, което е свързано с удължаване на междуотелния период.

5. Междуетелният период при РКГ е силно удължен, като освен от индивидуалните особености, достоверно се влияе от месеца на заплождане на юниците, месеца, сезона и годината на отелване, региона и фермата.

6. В периода на масово заплождане, в дажбите на кравите има дефицит на протеин и минерални вещества, който силно се влияе от региона на отглеждане.

7. Бичетата от породата РКГ, физически се развиват по – бавно от юничките, но могат да се използват за разплод на по – ранна възраст, преди достигане на препоръчаното развитие на половите органи за други породи.

8. При използване като донори на семенен материал, биците от породата РКГ имат висока полова потентност, а получаваната сперма е с високо качество и има добра криоконсервационна способност.

9. Половата потентност, биологичното качество на еякулата след получаване и криоконсервираната сперма, достоверно се влияят от индивида и от сезона на получаване, като качеството на спермата получена от отделните разплодници в различните сезони не кореспондира с качеството на спермата след криоконсервация.

10. През цялата година биците от породата РКГ имат висока репродуктивна способност, като сезонната динамика на качествените показатели на спермата не кореспондира със сезонната динамиката на запложданията на кравите.

7. ПРЕПОРЪКИ

1. Включването в разплод на юничките от породата Родопско късорого говедо да се извършва на възраст 20-21 месеца, при достигане на основните телесни измерения на ниво 90 - 95% от това на завършилите растежа си крави.
2. За подобряване на репродукцията на стадата:
 - a. да се премине към контролирано заплождане на кравите;
 - b. след активния размножителен сезон, да се извършва диагностика на бременността и незаплодените крави да се бракуват или подложат на лечение;
 - c. юниците да се заплождат целенасочено в оптималния сезон за заплождане на кравите – април – юни.
 - d. през активния размножителен сезон да се осигури подхранването на животните с протеинови и минерални фуражи.
3. Бичетата от породата Родопско късорого говедо да се включват в разплод на 2 годишна възраст, при достигане на основните телесни измерения на ниво 70 – 75%, на обхвата на скротума – 65% и на обема на тестисите – 30% от тези при възрастните бици.
4. Отчитайки краткия период на изпълнение на производствената програма (около 6 месеца), бичетата да постъпват в станциите по изкуствено осеменяване така, че максималното им използване като донори на семенна течност да е от януари до юни, когато има най – благоприятно съчетание на качествата на свежата и криоконсервираната сперма.

5. В развъдните програми, при определяне на биологичните параметри и факторите на развъдната политика да се отчита регионалните особености на репродукцията при женските животни.

ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Научни приноси:

Установена е определена закономерност за преход към сезонност на размножаването при юниците от породата Родопско късорого говедо след първо отелване, докато първото отелване е свързано основно с достигане на полова зрялост.

Установени са много профилни аспекти на репродуктивната способност при целогодишно свободно отглеждане на кравите, в зависимост от особеностите на агро-екосистемата.

Установено е влияние на сезона и региона на отглеждане и тяхната взаимовръзка, върху репродуктивните признаци на кравите. Въпреки ограничения и не голям географски район на отглеждане на животните от породата РКГ се отчитат различия в отделните населени места и региони.

Проучено е влиянието на различни фактори върху качеството на свежа и криоконсервирана сперма, морфологията и кинетиката на сперматозоидите, както и фенотипни корелации между показателите. Не е установена зависимост между качеството на свежата сперма и криоконсервационната ѝ способност.

Научно-приложни приноси:

Установени са потенциални възможности за *in situ* и *in vitro* съхраняване на родопското късорого говедо.

Установен е размера за икономически устойчивата ферма за отглеждане на автохтонната порода.

Проучена е динамиката на растежа и развитието на женските и мъжките животни от породата и факторите влияещи върху постембрионалното развитие. На тази база е препоръчана биологично и икономически целесъобразната възраст за включване на животните в разплод. РКГ е къснозряла порода и както по- ранното, така и по – късно от 20 – 21 месечна възраст заплождаване на юниците е свързано с неблагоприятно отклонение в екстериорно отношение.

Проучени са параметри и аспекти на сезонността на размножаване и на възпроизводителната способност на кравите и възможността за направляване на репродуктивния процес, чрез факторите, влияещи върху тях, както и регионалните особености на растежа и развитието на женските животни, половото съзряване, продължителността на бременността и междуотелния период и сезонността на размножаване.

Установени са много добри показатели за полова потентност, качеството на спермата и криоконсервационната и способност, при биците от породата Родопско късорого говедо и факторите, влияещи върху тях, което е една добра претпоставка за *in vitro* съхранение на породата.

REPRODUCTIVE ABILITY OF THE RHODOPE SHORTHORN CATTLE BREED IN RELATION TO ITS IN SITU AND IN VITRO CONSERVATION

ABSTRACT

The study is conducted during the years 2011 to 2014 and covers data on some reproductive parameters in females which was collected in the period from 2000 to 2014. The study includes 97 herds with 4135 cows. It analyzes the population and reproductive status of the controlled part of the breed. In females were studied age of puberty and breeding age, oestrous cycle, calving interval, gestation length and the factors that affect them. The opportunities for using an ultrasound method to determine and evaluate the progress of pregnancy of the RShC breed were studied, as well as the possibilities of using some blood indicators when characterizing reproductive capacity.

In males were studied the dynamics of growth and their relation to the timing of onset of puberty in 14 individuals. Sexual potency, sperm production and semen quality – morphology, metabolism, biochemistry and kinetics of sperm were examined by standard methods in Artificial insemination stations – Sofia and the Institute of Biology and Immunology of Reproduction – Sofia with four bulls bred in AIS-Sofia. To assess cryoresistance of sperm, additional studies were conducted on semen after thawing.

The Rhodope Shorthorn cattle breed has a sustainable growth rate, as population grows by an average of 30% per year. Analysis of the viability of differently sized herds shows that the most resistant herds are between 10 and 30 cows, and exactly in such herds are bred over 50% of the animals.

In the RShC cows the established age of first mating is 654.7 days (21.5 months) and the age of first calving is 934.6 days (30.6) months. The average length of pregnancy in the Rhodope Shorthorn breed cattle is $281,32 \pm 0,31$ days. The average duration of the calving interval of the Rhodope Shorthorn cattle is 464 ($\pm 5,66$) days, and the season has a significant impact on its duration. Significant regional differences in the duration of calving interval are established.

Semen quality of the Rhodope Shorthorn cattle breed bulls is significantly better than that of commercial breeds raised under similar conditions. The average ejaculate volume is $1,63 (\pm 0,07)$ ml, sperm concentration is $1248,7 \pm 13,1 \times 10^6/\text{ml}$, progressive sperm motility – $73,7 \pm 0,3\%$ and total sperm concentration in ejaculate – $2044,0 \pm 93,0 \times 10^6$. The mean percentage of morphologically normal sperm in the ejaculate of a bull of the Rhodope Shorthorn cattle breed is 78,3%.

Semen of bulls of the RShC breed has high resistance to cryopreservation. After thawing, 85,5% of sperm with normal morphology are kept and curvilinear velocity (CLV) of spermatozoa is $58,6 \mu\text{m} / \text{s}$. The season of collecting semen and the individual as factors are not reliable sources of variation of the number of normal and abnormal sperm, however, seasonal and individual differences are visible. The smallest losses of normal spermatozoa are from ejaculate generated in the spring – 3,2%, and the largest number – from frozen in the summer – 26,0%. The losses of normal spermatozoa in the ejaculate of different individuals after cryopreservation are from 7,5 to 21,3%. After thawing, the maximum difference in the number of normal sperm between sires is only 5,8%.

Списък на научните публикации във връзка с дисертацията

1. **Малинова, Р. и Николов, В.,** Популационен и репродуктивен статус на контролираната част на породата Родопско късорого говедо. сп. Аграрни науки, Година V, Брой 13, 2013.
2. **Malinova, R. and Nikolov, V.,** Study on the reproductive capacity of bulls of the autochthonous Rhodope Shorthorn cattle breed, Journal of Central European Agriculture, 2015, 16(2), p.47 - 53, DOI: <http://dx.doi.org/10.5513/JCEA01/16.2.1586>.
3. **Радка Малинова, Васил Николов,** Растеж и развитие на женски говеда за разплод от породата *Родопско късорого говедо*. Индекси на телосложението, Аграрен университет – Пловдив, Научни трудове, т. LIX, кн. 2, 2015 г., с. 229-238