

## UTJECAJ PRIMJENE RAZLIČITIH METODA ZA INDUKCIJU ESTRUSA NA POSTOTAK GRAVIDNOSTI U KOBILA PASMINE ENGLESKI PUNOKRVNJAK

### *Influence of application of different methods for oestrus induction on pregnancy rate in Thoroughbred mares*

Nikica Prvanović, Antun Tomašković, Marijan Cergolj, Juraj Grizelj, Tomislav Dobranić, Iva Getz, Samardžija Marko

Klinika za porodništvo i reprodukciju, Veterinarski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu  
Clinic for obstetrics and reproduction, Faculty of veterinary medicine, Zagreb, Croatia

#### Kratak sadržaj

Na ergeli engleskih punokrvnjaka u neposrednoj okolici Zagreba, ginekološki je praćena reprodukcija 9 kobila u dobi od 4 do 11 godina. Životinje su pregledavane rektalno i ultrazvučno počevši od poroda pa sve do koncepcije koja se u tom uzgoju utvrđuje 18-22 dana nakon pripusta.

Četiri kobile su imale pravilne cikluse i redovito su se preganjale, a 5 kobila se nepravilno i neredovito tjeralo. U sezoni je koncipiralo 7 kobila (78 %) od kojih četiri bez ikakvih intervencija; a 3 nakon parenteralne hormonalne aplikacije. Od 5 tretiranih kobila, četiri su imale nepravilno i produljeno tjeranje a jedna je bila u laktacionoj anestriji, pa su liječene s pomoću hormona. Sve tri kobile koje su na osnovi ultrazvučnog nalaza bile u lutealnoj fazi tretirane su analogima PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (Dynolitic). Potom su 48-72 h nakon aplikacije imale dobro izražen estrus i pripuštene su dvokratno u razmaku od 24 h. Koncipirale su dvije (67%) , a treća se preganjala nakon 21 dan, ali kasnije nije pripuššana. Preostale dvije kobile u kojih su ultrazvučnim pregledom bili nađeni folikuli promjera 4 i 5 cm, inducirali smo ovulaciju s pomoću hCG (Chorulon), te pripustili kobile a gravidnost je potvrđena samo kod jedne. Na osnovi svega navedenog logičan je zaključak da sustavnim ultrazvučnim praćenjem kobila u rasplodu, te ciljanom aplikacijom hormonalnih pripravaka možemo značajno povećati broj gravidnih grla u uzgoju.

**Ključne riječi:** kobila, engleski punokrvnjak, indukcija estrusa, gravidnost

#### Abstract

On thoroughbred studfarm near Zagreb we regularly examined mares from parturation till confirmed gestation using rectal exploration and transrectal ultrasound. In total we had 9 mares of different age (4-11 years) and 4 of them (45%) conceived without any intervention. After preformed diagnostic and therapy 3 mares more conceived, or 7 in total (78%). Four mares conceived spontaneously after mating and three after preformed treatment. Mares in luteal phase was administered PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (Dynolitic) which successfully caused luteolysis and came into heat, they were mated and two conceived. We also induced ovulation in two mares with prolonged heat, who had follicles >35 mm on ovaria using hCG (Chorulon) and one conceived. We can conclude that continous ultrasound monitoring of mares during season and application of target hormon in the right time can significantly increase pregnancy rate on the farm.

**Key words:** mare, thoroughbred horse, oestrus induction, pregnancy

#### Uvod

Uzgoj konja, posebice engleskih punokrvnjaka ima specifičnosti koje se temelje na reprodukcijским specifičnostima i načinu korištenja konja. Kobile su sezonski poliestrične životinje. U pripusnoj sezoni razlikujemo prijelazni period (veljača i ožujak) i punu sezonu (travanj, svibanj, lipanj). Na početku sezone česti su "split" estrusi i anovulacijski ciklusi sa manifestacijom svih vanjskih znakova estrusa ali bez ovulacije. Uzrok tim pojavama je nedostatak svjetlosti koja na početku uzgojne sezone dostatna za početak folikulogeneze, rast folikula i sintezu estrogena, ali nedostatna za ovulaciju. Vlasnici kobila nastoje pripuššati

kobile što ranije početkom sezone, dakle u prijelaznom periodu, kako bi se kobile iduće godine što ranije ždrijebile i ranije počele trenirati. Kompromis između optimalnog (travanj, svibanj) i vremena poželjnog za pripust od strane trenera i vlasnika kobila (veljača, ožujak) postiže se indukcijom estrusa.

### **Podaci iz literature:**

Indukcija estrusa može se provoditi u prijelaznom periodu i punoj sezoni, a također je moguće inducirati ovulaciju.

Estrus u prijelaznom periodu možemo potaknuti promjenom svjetlosnog režima pri čemu je najranije moguće izazvati estrus krajem prosinca i početkom siječnja (Nagy i sur. 1998). Ukoliko samo promijenimo svjetlosni režim i povećavamo broj svjetlosnih sati (simulacija produljenja dana) možemo u siječnju i veljači izazvati pojavu ciklusa, ali ne možemo izbjeći prijelazni period, pa su inducirani ciklusi često nepravilni i nepotpuni jer završavaju atrezijom folikula umjesto ovulacijom, a česti su i «split» estrusi. Ukoliko uz promjenu svjetlosnog režima kobili višekratno apliciramo GnRH, ciklusi postaju kraći i pravilniji (Lowis i sur., 1991).

Ginther i Berfelt (1990) navode da se i u prijelaznom periodu može izazvati estrus i ovulacija višednevnom parenteralnom aplikacijom GnRH svakih 12 sati. Da i prvi ciklusi u sezoni budu potpuni i završe spontanom ovulacijom Ginther i Berfelt (1990) preporučuju, da se preventivno prije prvih ciklusa tijekom 15 dana svakodnevno aplicira progesteron. Prije aplikacije progesterona kobile treba pripremiti za prijelazno razdoblje (Allen, 1990.) primjenom svjetlosnog režima, vitamina i minerala, prvenstveno selena. Naime, Nagy i sur. (1998.) su dokazali da primjena progesterona tijekom zimskih mjeseci ne daje nikakve rezultate, dok ista doza i režim u rano proljeće inducira ovulaciju, što vezuju s promjenom ne samo svjetlosnog režima već i temperature i hranidbe. Kako kobile mogu ovulirati već tijekom tretmana, poželjno je posljednjeg dana aplicirati prostaglandine (PGF2 $\alpha$  i/ili njegove analoge), kako bismo izazvali novi estrus. Ukoliko se kobilica tjera dulje nego što je to uobičajeno, a na jajniku perzistira folikul veći od 3,5 cm, indicirano je aplicirati hCG koji će izazvati ovulaciju.

Indukcija estrusa tokom pune sezone koristi se u kobila sa nepravilnim ciklusima i za skraćivanje razdoblja između ždrebećeg i prvog idućeg estrusa. Zbog puerperalnih infekcija i usporene involucije maternice plodnost kobila u ždrebećem estrusu je smanjena, stoga mnogi uzgajivači radije pripuštaju kobile u prvom idućem estrusu (Gomez i sur.1995). Poticanje pojave idućeg estrusa ili prekid laktacijske anestrije koja također može nastupiti nakon ždrebećeg estrusa, postiže se aplikacijom prostaglandina (PGF2 $\alpha$  i njegovih sintetskih analoga) 4 do 6 dana nakon ždrebećeg estrusa. Ukoliko je nepoznato vrijeme ovulacije, kobilica se pregledava ultrazvučno sve dok na jajniku ne dijagnosticiramo razvijeno žuto tijelo sposobno za reakciju na aplikaciju PGF2 $\alpha$ . Ukoliko kobile iz bilo kojeg razloga nije moguće pregledati, tada apliciramo prostaglandine dvokratno u razmaku od 14-18 dana. U većine kobila luteoliza nastupa 48-72 h nakon aplikacije PGF2 $\alpha$  ili njegovih analoga a da bi PGF2 $\alpha$  i njegovi analozi mogli djelovati, potrebno je da prođe minimalno 4 dana od prethodne ovulacije (Meyers i sur.,1997). U načelu se može kazati, da će aplikacija PGF2 $\alpha$  ili njegovih analoga 5 do 9 dana nakon ovulacije izazvati luteolizu i posljedično estrus i ovulaciju za 3-4 odnosno za 9-10 dana nakon aplikacije.

Ukoliko je kobilica u punoj sezoni tada je moguće inducirati estrus i peroralnom aplikacijom progesterona dnevno kroz 7 dana, dok je posljednjeg dana potrebno aplicirati PGF2 $\alpha$  da bismo izazvali novi ciklus (Blanchard i sur.2003). Peroralna aplikacija samih progesterona ili u kombinaciji sa estrogenima koristi se u sportskih grla i za uklanjanje vanjskih znakova tjeranja ukoliko kobilica sudjeluje na sportskom natjecanju. Progesteron se aplicira svakodnevno nekoliko dana prije natjecanja, a učinak mu prestaje 2-3 dana nakon posljednje aplikacije (Gordon, 1997).

Indukcija ovulacije indicirana je kod kobila sa produljenim i nepravilnim ciklusom, kao i kobila sa pravilnim ciklusom. Kobile se u pravilu tjeraju 5-7 dana, a uobičajeno je da ih pripuštamo svaki drugi dan sve dok puštaju pastuha. Vanjski znakovi tjeranja nestaju 36 h nakon ovulacije, stoga je broj skokova po kobili značajno veći nego što je potrebno i predstavlja nepotrebne dodatne troškove (boravak kobila kod pastuha ili trošak doza sperme), a kod prirodnog pripusta povećava rizik pojave spolnih zaraza. Zato je vrlo praktično inducirati ovulaciju kada na jajniku postoji folikul veći od 35 mm sposoban za ovulaciju, a potom pripustiti ili osjemeniti kobilicu. Postotak koncepcije je viši 15% nego kod kobila kojima ovulacija nije inducirana (Woods i sur.,1990). Indukcija ovulacije postiže se aplikacijom 1,500-3,000 i.j. hCG i to 4-5 dana nakon PGF2 $\alpha$ . Ukoliko smo pravovremeno aplicirali hCG, ovulacija će u 83-89% kobila nastupiti za 48h (Duchamp i sur.,1987; Hinrichs,1993; Grimmett i Perkins, 2001). Indukciju ovulacije kobila u estrusu može se postići i aplikacijom buserelina, sintetskog analoga GnRH (Duchamp i sur. 1987; Meyers i sur. 1997; Becker i Johnston,1992; McKinnon i sur. 1997; Barrier-Battut i sur. 2001), ali tada je aplikaciju

potrebno višestruko ponavljati svakog dana što je praksi teško primjenjivo. Kobili se može postaviti i sporo otpuštajuće implantate GnRH.

## Materijal i metode s rezultatima

Na ergeli engleskih punokrvnjaka u neposrednoj okolici Zagreba, ginekološki je praćena reprodukcija 9 kobila u dobi od 4 do 11 godina. Životinje su pregledavane rektalno i ultrazvučno počevši od poroda pa sve do koncepcije koja se u tom uzgoju utvrđuje 18-22 dana nakon pripusta. Sve su kobile redovito ginekološki pregledavane nekoliko puta tjedno, praćena je folikularna dinamika i provedena rektalna i ultrazvučna dijagnostika graviditeta. Sve kobile koje su pokazivale znakove tjeranja pripuštane su svaki drugi dan do prestanka vanjskih znakova tjeranja. Nakon aplikacije hCG kobile su pripuštane dvokratno, u razmaku od 24h, a redovito bi se za 48h prestale tjerati. Sve su bile u dobroj kondiciji i redovito su u obroku dobivale vitaminske i mineralne dodatke. Od pet kobila koje su se oždrijebile dvije su se tjerale i pripuštene su u ždrebećem estrusu a tri se nakon poroda nisu uopće tjerale više od dva mjeseca, pa smo ih pregledavali u punoj sezoni. Od četiri kobile koje se nisu oždrijebile, sve su pokazivale znakove tjeranja a nalazile su se u prijelaznom periodu. Tjeranje je kod dvije kobile bilo nepravilno i produljeno te je estrus trajao više od tri tjedna, dok su preostale dvije pripuštene i normalno koncipirale. Obje oždrijebljene kobile koje se nisu tjerale redovito smo ultrazvučno pregledavali svakih 48-72h dok nismo dijagnosticirali žuto tijelo na jajniku, potom smo intramuskularno aplicirali 5 mg dinoprost, sintetskog analoga PGF<sub>2</sub>α, nakon čega su se obje tjerale, jedna nakon tri, a druga nakon četiri dana. Obje su pripuštene pri čemu je jedna koncipirala a druga nije. Kobilica koja nije koncipirala ponovno se tjerala nakon 21 dan, a ultrazvučno joj je dijagnosticirano žuto tijelo na jajniku i ponovljena aplikacija dinoprost, nakon čega se tjerala. Drugog dana tjeranja joj je dijagnosticiran folikul veličine 4 cm, apliciran joj je hCG u dozi od 3000 i.j. IM, nakon čega je dvaput pripuštena u razmaku od 24 h a ultrazvučno je dijagnosticirana ovulacija, tj. nestalo je folikula.. Kobilica koja se oždrijebila i potom zapala u laktacionu anestriju 50 dana od poroda je aplicirano 5 mg dinoprost, sintetskog analoga PGF<sub>2</sub>α IM i to dvokratno u razmaku od 16 dana ali unatoč tome nije došlo do estrusa, potom buserelin, sintetski analog GnRH u dozi od 0,02 mg intramuskularno, dvokratno u razmaku od 24h te hCG u dozi 3000 i.j. IM dvokratno u razmaku od 48h, ali na ništa od navedenog nije reagirala. Od četiri kobile koje se nisu oždrijebile dvije su koncipirale bez ikakvih intervencija i kod obje je 18. dana ultrazvučno ustanovljen graviditet. Preostale dvije su imale produljeno tjeranje, obje su pregledane i ustanovljeno je da na jajniku imaju folikul od 4 odnosno 5 cm. Obje su inducirane s hCG, u roku od 48 h su pripuštene i prestale se tjerati. U sezoni je koncipiralo 6 kobila (67%) od kojih četiri bez ikakvih intervencija: dvije u ždrebećem estrusu, dvije kasnije u prelaznom periodu a dvije poslije liječenja. Pet preostalih kobila, od kojih četiri sa nepravilnim i produljenim tjeranjem te jedna sa laktacionom anestrijom, liječene su s pomoću hormona. Pri tome je induciran estrus i ovulacija kako je prikazano u tablici 1. Sve tri kobile koje su bile u lutealnoj fazi tretirane su analogima PGF<sub>2</sub>α (Dynolitic) imale su dobro izražen estrus i pripuštene su 3. i 4. dan od aplikacije hormona. Koncipirale su dvije kobile, dok kobilica u laktacionoj anestriji nije reagirala na terapiju.

Preostale dvije kobile u kojih je bili nađeni folikuli promjera 4 i 5 cm, nakon pripusta i ovulacije inducirane s pomoću hCG(Chorulon), gravidnost je potvrđena samo kod jedne.

**Tablica 1: Rezultati indukcije estrusa i ovulacije i koncepcija svih kobila na ergeli**

kobila	induciran estrus	inducirana ovulacija	ovulirale	koncipirale
1. Sremica	PGF <sub>2</sub> α	hCG	x	
2.Udbina	PGF <sub>2</sub> α	hCG	x	x
3.Vratna Gora	PGF <sub>2</sub> α	hCG	x	x
4.Chalimara		hCG	x	
5.Lucilla			x	x
6.Nika			x	x
7.Atena	PGF <sub>2</sub> α	hCG+GnRH	x	x
8.Beti			x	x
9. Hot Love			x	x

## Rasprava:

U naš rad bio je uključen relativno mali broj kobila, stoga su rezultati tretmana svih kobila navedeni pojedinačno. Primjetno je da su reagirale na terapiju sukladno podacima iz literature. Od velike pomoći bilo je praćenje promjena na maternici i jajnicima rektalno i ultrazvučno što omogućuje točnu dijagnozu, po potrebi pravilan tretman i provjeru rezultata. U svakom slučaju sve su kobile s vidljivim žutim tijelom u roku od 2-3 dana reagirale na terapiju s PGF2 $\alpha$ , što je opisao Meyers (1997). Sve kobile s folikulima većim od 35 mm ovulirale su nakon aplikacije hCG u roku od 48 h (Duchamp i sur.,1987; Grimmitt i Perkins, 2001). Ultrazvučni pregled kobila 18-22 dana nakon pripusta omogućio je pravovremenu dijagnostiku gravidnosti, pa je pravovremenim vraćanjem u ciklus negravidnih kobila poboljšan postotak koncepcije. Na osnovi svega navedenog logičan je zaključak da sustavnim ultrazvučnim praćenjem kobila u rasplodu, te ciljanom aplikacijom hormonalnih pripravaka možemo značajno povećati broj gravidnih grla u uzgoju.

## Literatura:

1. ALLEN WR(1990). Exogenous hormonal control of the mare's oestrus cycle.“ Symposium of Reproduction in Horse“Ghent, Belgium –Compendium of animal reproduction , Intervet international 2003;83-84
2. BARRIER-BATTUT I, LE POUTRE N, TROCHERIE E, HECHT S, GRANDCHAMP DE RAUX A, NICAISE JL, VERIN X, BERTRAND J, FIENI F, HOIER R, RENAULT A, EGRON L, TAINTURIER D, BRUYES JF (2001): Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. *Theriogenology*; 55:1679-1695
3. BECKER SE, JOHNSON AL(1992). Effects of gonadotrophin-releasing hormone infused in a pulsatile or continuous fashion on serum gonadotropin concentrations and ovulation in the mare. *J Anim Sci*:70:1208-1215
4. BLANCHARD TL, D.D. VARNER, J SCHUMACHER, CC LOVE, SP BRINSKO, SL RIGBY(2003): Manual of Equine reproduction, Mosby, A Harcourt Health Sciences Company
5. DUCHAMP G, BOUR B, COMBARNOUS Y, PALMER E.(1987) Alternative solutions to hCG for induction of ovulation in the mare. *J Reprod Fertil; Suppl* 35:221-228
6. GINTHER OJ, BERFELT DR (1990). Effect of GnRH treatment during the anovulatory season on multiple ovulation rate and on follicular development during the ensuing pregnancy in mares. *J Reprod fertil*;88:119-126
7. GOMEZ C., J.M. FLORES, J. SANCHEZ, A. RODRIGUEZ AND M.A. SANCHEZ(1995), Histological changes in the uterus during the postpartum in the mare. *Anat. Histol. Embryol.* 4 pp. 19–23.
8. GORDON I,(1997):Controlled reproduction in Horses,Deer and Camelides,Controlled Reproduction in Farm Animals series, volume 4, CAB international
9. GRIMMETT JB, PERKINS. NR(2001). Human chorionic gonadotrophin (hCG):the effect of dose on ovulation and pregnancy rate in thoroughbred mares experiencing their first ovulation of the breeding season. *N Zealand Vet J* ; 49:88-93
10. HINRICHS K(1993): Embryo transfer in mare-a status report, *Animal Reproduction Science*.33(1-4):227-240
11. LOWIS TC, HYLAND JH (1991): The effect of an extended artificial photoperiod and gonadotrophin –releasing hormone infusions in inducing fertile oestrus in anoestrus mares, *Australian Vet J* 1991; 68:400-402
12. MCKINNON AO, VASEY JR; LESCUN TB, TRIGG TE(1997). Repeated use of a GnRH analogue deslorelin (Ovuplant) for hastening ovulation in the transitional mare. *Eq Vet J* 1997, 29:153-155
13. MEYERS PJ, BOWMAN T, BLODGETT G, CONBOY HS, GIMENEZ T, REID MP, TAYLOR BC, THAYER J, JOCHLE W, TRIGG TE(1997): Use of the GnRH analogue deslorelin ina slow-release implant to accelerate ovulation in oestrus mares. *Vet Rec* 1997 140:249-252
14. NAGY P, HUSZENICZA G, JUHASZ J, SOLTI L, KULSZAR M(1998): Diagnostic problems associated with ovarian activity in barren and post partum mares early in breeding season. *Reprod Dom Anim* , 33: 187-192
15. WOODS J, BERGFELT DR, GINTHER OJ(1990):Effects on time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss rate in mares. *Equine Vet J*.;22:410-415